

EFFECTO AGROBIOLOGICO DE CEPAS DE MICROORGANISMOS SOLUBILIZADORES DE FÓSFORO PROCEDENTES DE SUELOS ÁCIDOS

Janet Rodríguez Sánchez¹, Ernesto Mesa Vilorio¹, Grisel Tejada González¹, Yoania Ríos Rocafull¹, Rosa García Gómez¹, Joaquín Echevarría Quintana², Marcia Delgado Espinosa² y Kattia Cañizares Hernández¹

RESUMEN

El aislamiento de microorganismos procedentes de suelos ácidos es una fuente importante para la búsqueda de nuevas cepas con potencial para la elaboración de biofertilizantes destinados a esas condiciones específicas. Para la ejecución del presente trabajo se tomaron muestras de suelo rizosférico en diferentes regiones de Pinar del Río y la Isla de la Juventud. A partir de ellas se purificaron 78 aislados bacterianos, a los cuales se les determinó su potencial solubilizador de fósforo en medio Pikovskaya suplementado con fosfato tricálcico, utilizando tres niveles de pH (5.5, 6.3 y 7.0). De ellas 22 mostraron resultados positivos y se seleccionaron cuatro como promisorias en cuanto al poder de solubilización. También se evaluó el efecto estimulador del crecimiento vegetal sobre posturas de tomate de 21 días de edad, mediante un método de bioensayo. Este permitió seleccionar cinco aislados promisorios debido al incremento de los indicadores de crecimiento y desarrollo evaluados. La identificación morfológica, fisiológica y bioquímica de las 22 cepas solubilizadoras indicó que pertenecen al género *Bacillus* sp.

Palabras claves: aislamiento, suelos ácidos, *Bacillus*, solubilizadores de fósforo

Agrobiologic effect of phosphorous solubilizers microorganisms from acids soils

ABSTRACT

Microorganism isolation of acid soils is an important source to search new strains with high potential for biofertilizer elaboration destined for these specific conditions. In order to make this work, samples of rhizospheric soils in different regions of Pinar del Río and Isla de la Juventud were taken and 78 bacteria strains were isolated. The potential of Phosphorous solubilizer in Pikovskaya medium with tricalcium phosphate supply to use three pH levels (5.5-6.3 and 7.0) were analyzed. Some of them, 22 isolated showed positive results and were selected four of them by solubilization power as promissory. Their effects in vegetables of tomato plants of 21 days of grow were determined by bioassays methods. Five were isolated by the values obtained over the indicators of growth and development parameters were selected. Morphology, Physiology and Biochemistry of characterization test from 22 solubilizer strains indicate that belong of *Bacillus* sp genus.

Key words: isolation, acids soils, *Bacillus*, phosphorous solubilization

Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical «Alejandro de Humboldt» (INIFAT)
Empresa Agroindustrial Frutícola «Comandante Jesús Montané Oropesa». Isla de la Juventud
✉ bioferbiocontrol@inifat.co.cu

INTRODUCCIÓN

El aislamiento y selección de cepas de microorganismos procedentes de suelos ácidos, es hasta hoy, una temática poco abordada en el país. Los suelos Alfticos ocupan amplias zonas de las provincias Pinar del Río, el norte de Ciego de Ávila, el sur de Guantánamo y el Municipio Especial Isla de la Juventud. Poseen como características fundamentales, bajos niveles de materia orgánica, pH menores que cinco, alta presencia de partículas en forma de arena y el predominio del aluminio sobre el hierro, además de estar expuestos continuamente a procesos de erosión debido a la inclusión de aguas marinas, en algunas zonas. Todas estas razones hacen que sean considerados pobres en cuanto a su contenido de nutrientes y con escasa microbiota (Hernández *et al.*, 2007). Los estudios relacionados con el aislamiento y selección de cepas de microorganismos adaptados a condiciones de acidez, posibilitarán definir su potencial en base al desarrollo de nuevos productos biofertilizantes para beneficiar a los cultivos agrícolas de esas regiones, con la consiguiente elevación de la sobrevivencia y el rendimiento de los mismos. Los objetivos del presente trabajo fueron: Aislar microorganismos adaptados a las condiciones de suelos ácidos en Pinar del Río y la Isla de la Juventud, seleccionar cepas eficientes como solubilizadoras de fosfatos y estimuladoras del crecimiento vegetal utilizando el cultivo de tomate como indicador e identificar hasta género las cepas promisorias.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las once muestras de suelo se tomaron en la zona rizosférica de cultivos agrícolas y plantas perennes, situadas en terrenos dedicados a la agricultura intensiva de ambas provincias y en un área semi-protegida en la Isla de la Juventud. Para el aislamiento se tomaron 10 g de suelo que se diluyeron en 90 mL de agua destilada estéril. A esta solución se le aplicó un shock térmico a 80°C durante 15 minutos. Luego se refrescó y se continuó diluyendo hasta 10^4 . A partir de esta solución se tomó 0.1 mL y se sembró en superficie sobre medio Agar Nutriente. Las colonias parecidas a las descritas para el género *Bacillus* (Holt *et al.*, 2004), fueron transferidas a medio Pikovskaya suplementado con fosfato tricálcico

(Pikovskaya, 1948), para purificar las que mostraron la formación de un halo de solubilización. El estudio del potencial fosfo-solubilizador se desarrolló mediante métodos «*in vitro*» sobre medio Pikovskaya a tres niveles de pH: 5.5, 6.3 y 7.0. Las colonias se sembraron en la superficie de placas Petri por el Método de Colonia Gigante con tres réplicas cada una. Las placas fueron incubadas durante 72 horas a una temperatura de 30°C y el halo de solubilización fue medido a las 48 y 72 horas.

Los bioproductos de todas las cepas solubilizadoras de fósforo fueron obtenidos mediante un proceso de fermentación sumergida, en una zaranda rotatoria a 200 rpm y 30°C durante 48 horas, en un medio de cultivo formulado para el género *Bacillus*, cuya composición no se brinda por encontrarse en trámite de patente, donde alcanzaron una concentración final entre 10^8 - 10^{10} UFC.mL⁻¹ (Tejeda *et al.*, 2010).

La selección de las cepas promisorias como estimuladoras del crecimiento vegetal, se hizo utilizando un Método de Bioensayo en bandejas plásticas que contenían 1 kg de un sustrato, bajo dos condiciones: uno preparado a base de 50 % de materia orgánica en forma de humus de lombriz y 50 % de un suelo Ferralítico Rojo Típico con pH cercano a la neutralidad y la otra en suelo ácido procedente de la Isla de la Juventud. En cada una se sembraron 30 semillas de tomate de la variedad 'INIFAT-28' y se aplicaron en el momento de la siembra por aspersión al suelo y las semillas, con una dosis de 0.1 mL/semilla disuelto en agua corriente. Para el estudio se empleó una selección de 16 cepas que mostraban diferentes niveles de solubilización de fosfatos en las condiciones de pH evaluadas *in vitro* y se compararon contra un testigo absoluto y una cepa de *Bacillus megatherium* (BMg).

Los principales indicadores fisiológicos del crecimiento (longitud de la raíz, altura de las plantas, diámetro del tallo, número de hojas, ancho y largo de las hojas y peso fresco de las plantas) fueron valorados cuando las posturas tenían 21 días de edad.

El proceso de identificación de las bacterias solubilizadoras se l Los datos de medición del halo de solubilización y de los indicadores fisiológicos fueron procesados mediante Análisis de Varianza con diseño

Completamente Aleatorizado y se determinó la significación de las diferencias mediante la prueba de Rangos Múltiples de Duncan con el empleo del programa estadístico STATGRAHP 5.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de 11 muestras de suelo provenientes de ambas regiones en estudio con rangos de pH entre 3.5 y 5.0, se purificaron un total de 78 nuevos aislados bacterianos. De ellas solo 22, demostraron capacidad para solubilizar fósforo inorgánico.

Resultados similares han sido obtenidos por otros autores, quienes han aislado cepas de microorganismos desde diversos ambientes, especialmente en zonas con suelos erosionados, áridos y/o ácidos o salinos. Así por ejemplo, Chuang y Wei (2006) aislaron cepas desde zonas costeras de la India, de las cuales seis fueron identificadas como *Bacillus megatherium*. Una de ellas mostró habilidad para solubilizar fosfatos procedentes de tres fuentes de rocas fosfóricas, debido a la producción de una mezcla de ácidos orgánicos e inorgánicos. Chen *et al.* (2006) realizaron el aislamiento de 900 cepas bacterianas a partir de 120 muestras de suelos montañosos con diferentes valores de pH. De ellas, sólo 36 mostraron capacidad solubilizadora de fosfatos *in vitro*. Diez de las cepas se identificaron como *Bacillus* sp. y se comprobó que el mecanismo de solubilización estaba relacionado con la producción de ácidos orgánicos como el cítrico, glucónico, láctico, succínico, propiónico y tres compuestos no identificados hasta ese momento.

También Elcoka *et al.* (2008) lograron aislar e identificar cepas de *Bacillus subtilis* solubilizadoras de fósforo procedentes de distintas regiones con suelos degradados en Brasil. La cepa con mayor potencial solubilizador de fósforo seleccionada, mostró además un efecto estimulador del crecimiento y rendimiento de plantas de chícharo cuando fue aplicado con un bioproducto obtenido a partir de la misma.

Estas investigaciones han conllevado al aislamiento de grandes volúmenes de microorganismos, de los cuales un pequeño número de cepas han sido seleccionadas, debido a la comprobación de su habilidad para producir

ácidos orgánicos e inorgánicos, capaces de solubilizar formas de fosfatos insolubles utilizando distintas metodologías. Sin embargo, en nuestro país se han realizado muy pocos trabajos encaminados a la selección de cepas del género *Bacillus* sp con potencialidad fosfosolubilizadora y en la actualidad no se conoce la existencia de productos obtenidos a partir de microorganismos extraídos de ecosistemas en procesos de alitización que sirvan de base al mejoramiento de los mismos.

Los resultados del potencial de solubilización de fósforo sobre medio Pikovskaya, a tres niveles de pH, se muestran en la Tabla 1. Debe aclararse que los niveles de pH estudiados son superiores a los de los lugares de origen para impedir la solubilización de la fuente de fosfato insoluble presente en el medio de cultivo, a valores menores que 5.0 este reactivo aumenta drásticamente su solubilidad por lo que pierde su función.

Como se observa en la Tabla 1, todas las cepas logran solubilizar el fósforo desde la hora 48 de medición, y elevan sus niveles de solubilización así como la nitidez del halo, con mayores valores a pH 5.5. Estos microorganismos fueron aislados de ecosistemas con pH ácidos y por ello, no necesitan adaptar sus mecanismos biológicos y fisiológicos, para producir cantidades suficientes de ácidos orgánicos volátiles y no volátiles que son responsables de la ruptura de los enlaces químicos complejos presentes en estas sustancias, mecanismo semejante al que ocurre en el suelo (Bach y Díaz, 2008). A pH 5.5 las cepas Pb 6.102, Pb 6.101 y Pb 7.7, mostraron mejor comportamiento, ya que difieren significativamente del resto y logran un halo de solubilización superior a los 7 mm. A pH 6.3 todas logran solubilizar desde la hora 48, algunas mantienen iguales niveles hasta la hora 72, sobresaliendo los aislados Pb 6.101, Pb 6.102, Pb 6.103 y Pb 7.7.

A pH 7.0 la cepa Pb 2.3 no solubilizó en ningún momento. Todas las demás alcanzan niveles muy bajos o casi imperceptibles en la formación del halo de solubilización, con mayores valores en el caso de Pb 6.101 y Pb 6.102. Esta respuesta puede atribuirse a que algunas no consiguen adaptar sus mecanismos fisiológicos a condiciones de pH neutro o a que se produzcan cantidades insuficientes de ácidos.

Tabla 1. Evaluación del halo de solubilización de fósforo de las cepas en medio Pikovskaya a tres niveles de pH

Cepas	Halo de solubilización (mm)					
	pH 5.5		pH 6.3		pH 7.0	
	Hora 48	Hora 72	Hora 48	Hora 72	Hora 48	Hora 72
Pb 1.2	3.00 cd	4.00 cd	1.50 de	1.50 g	0 f	0.50 ef
Pb 1.6	2.50 d	3.50 de	1.50 de	1.50 g	0 f	0.50 ef
Pb 1.8	3.00 cd	4.00 cd	1.50 de	1.50 g	0 f	0.50 ef
Pb 1.9	2.50 d	3.03 de	1.50 de	1.50 g	0 f	0.50 ef
Pb 1.12	3.50 bc	5.00 c	2.50 c	3.50 d	2.00 c	2.50 b
Pb 1.101	4.50 a	5.00 c	2.50 c	2.50 ef	1.03 d	1.50 cd
Pb 1.102	3.00 cd	4.00 cd	1.50 de	1.50 g	0 f	0.50 ef
Pb 1.103	3.17 cd	5.00 c	4.00 ab	6.33 c	0 f	0.50 ef
Pb 2.1	3.07 cd	3.40 de	1.83 cd	1.90 fg	0.93 de	1.03 de
Pb 2.3	1.47 e	2.67 e	2.03 cd	3.33 d	0 f	0 f
Pb 2.9	2.80 cd	3.17 de	1.83 cd	1.93 fg	0.90 de	1.03 de
Pb 5.2	2.57 d	2.60 e	1.07 e	2.97 de	0.60 e	1.07 de
Pb 5.4	2.63 cd	2.70 e	1.07 e	2.97 de	0.60 e	1.07 de
Pb 6.101	4.17 ab	8.60 ab	4.60 a	8.57 a	1.70 c	1.77 c
Pb 6.102	4.77 a	9.30 a	4.10 ab	8.57 a	4.23 a	4.93 a
Pb 6.103	4.20 ab	5.50 c	4.03 ab	6.07 c	3.60 b	4.33 a
Pb 7.7	3.13 cd	7.60 b	3.53 b	7.53 b	0.70 de	0.73 e
Pb 7.8	3.07 cd	3.40 de	1.80 d	1.90 fg	0.90 de	1.00 de
Pb 7.10	3.00 cd	4.00 cd	1.50 de	1.50 g	0 f	0.50 ef
Pb 7.12	2.50 d	3.50 de	1.50 de	1.50 g	0 f	0.50 ef
Pb 10.8	2.50 d	4.00 cd	1.50 de	1.50 g	0 f	0.50 ef
Pb 11.1	2.50 d	3.03 de	1.50 de	1.50 g	0 f	0.50 ef
Desviación Estándar	0.870715	1.90982	1.13558	2.43407	1.16401	1.26417
EsX	0.305009	0.393251	0.241941	0.229294	0.137437	0.221906
CV (%)	28.36	43.51	51.62	74.82	45.78	106.97

Letras iguales no difieren significativamente entre sí

Este aspecto reviste una gran importancia, porque denota que la mayoría de las cepas alcanzan mayores tenores de solubilización de fosfatos inorgánicos bajo condiciones ambientales similares a las que mantenían en los suelos de donde fueron aisladas. Sin embargo, el hecho de que puedan lograr cierto nivel de solubilización a pH neutro o cercano a la neutralidad demuestra su gran poder de adaptación, ya que implica la modificación de algunas rutas bioquímicas, utilizadas por los microorganismos para desencadenar la producción de ácidos orgánicos, mecanismo considerado en la actualidad el más eficiente para este proceso. Cuando los tenores del catión aluminio en el suelo son altos, el fosfato tiende a inmovilizarse fácilmente y la cantidad de fósforo asimilable se hace muy baja, por lo que se plantea que los microorganismos adaptados a estas

condiciones desencadenarán respuestas defensivas más ágiles que hará posible la transformación del complejo insoluble (Mehrvaz *et al.*, 2008).

Además, resulta difícil adaptar a condiciones de acidez, cepas de microorganismos que han sido aislados y conservados en ambientes neutros. Muchas veces, ellas solo expresan su potencial *in vitro*, pues cuando se aplican al suelo, se produce una lisis celular severa que impide incrementar sus poblaciones y a la vez competir con la microbiota natural, lo que conduce a que no se repliquen y mueran antes de producir una acción beneficiosa para las plantas, minimizando los efectos favorables de su aplicación.

Mantilla (2007) realizó un estudio de aislamiento de cepas de diferentes géneros de hongos y bacterias con acción solubilizadora de fósforo, para lo que empleó distintos tipos

de suelos y pH. Entre sus resultados describió que las cepas procedentes de suelos con pH alcalino (alrededor de 8-9) no muestran capacidad solubilizadora en medios de cultivo con un pH neutro y menos ácido, solo lo hacen a niveles de pH iguales o cercanos a los valores ambientales a las que se encontraban adaptadas. Cuando fueron aplicadas a un cultivo de crisantemos crecidos en un ambiente neutro no mostraron resultados positivos, de lo que se deduce el cese de su actividad fisiológica.

Como resultado del estudio se seleccionaron como mejores fosfo-solubilizadoras las cepas Pb 6.101, Pb 6.102, Pb 6.103 y Pb 7.7.

Los resultados de los bioensayos realizados sobre plántulas de tomate para la determinación de la capacidad estimuladora del crecimiento de las cepas fosfo-solubilizadoras se muestran en las Tablas 2 y 3.

En la Tabla 2 se aprecia que la mayor parte de las cepas logran estimular los indicadores fisiológicos asociados al crecimiento de las plántulas de tomate, comportamiento que resulta lógico, pues estos microorganismos fueron aislados de ecosistemas con pH muy similar al que presentaba el suelo utilizado para el ensayo. Esto indica que poseen una alta adaptación al medio que le permite mantener sus mecanismos fisiológicos y con ello la actividad de las sustancias activas que contienen los productos fermentados.

Para las condiciones de suelo ácido las cepas que sobresalen debido al incremento de los indicadores fisiológicos que se consideran vitales en la etapa de plántulas, ya que garantizan la supervivencia de las posturas una vez trasplantadas al campo fueron: Pb 1.6; Pb 1.8 y Pb 2.1, sin diferencias significativas entre si bajo esta condición. Las tres cepas poseen diferencias significativas contra el testigo absoluto y con la cepa de BMg en muchos de los parámetros evaluados.

Tabla 2. Selección de cepas solubilizadoras de fósforo en posturas de tomate sobre suelo ácido

Cepas	Largo Raíz (cm)	Altura Planta (cm)	Nº Hojas	Diámetro Tallo (mm)	Área Foliar	Peso Fresco Plantas
Pb 1.2	4.28 cd	16.4 efgh	2.9 cdef	0.22 b	40.41 cd	1.18 d
Pb 1.6	5.32 a	27.9 a	3.8 a	0.33 a	47.06 a	1.58 a
Pb 1.8	5.20 a	23.5 b	3.6 ab	0.34 a	42.67 bc	1.55 a
Pb 1.9	3.53 efg	15.3 ghi	2.7 efgh	0.219 bc	18.37 n	0.68 f
Pb 2.1	4.79 b	12.8 k	3.3 bc	0.36 a	46.03 ab	1.46 abc
Pb 2.3	3.39 fgh	12.4 k	2.6 efghi	0.176 def	34.18 fg	0.72 f
Pb 2.9	3.93 de	15.7 fghi	2.4 ghi	0.13 ghi	33.60 fgh	0.89 e
Pb 5.2	4.54 bc	13.2 jk	2.5 fghi	0.18 de	25.03 kl	0.50 g
Pb 5.4	3.54 efg	14.7 hij	2.2 i	0.15 efg	23.48 klm	0.52 g
Pb 1.12	3.12 hi	19.6 c	2.8 defg	0.18 de	26.73 jk	0.74 f
Pb 1.101	3.67 ef	14.0 ijk	2.9 cdef	0.146 fg	47.77 a	1.37 c
Pb 1.102	3.34 fghi	16.2 efgh	3.0 cde	0.188 d	29.32 ij	1.53 ab
Pb 1.103	3.16 ghi	12.8 k	2.3 hi	0.14 gh	21.10 mn	1.41 bc
Pb 6.101	3.85 ef	14.9 hij	2.6 efghi	0.124 ghij	38.29 de	1.11 d
Pb 6.102	4.46 bc	17.6 de	3.2 bcd	0.104 ij	30.46 hi	0.91 e
Pb 6.103	3.87 ef	17.3 def	2.3 hi	0.12 hij	31.92 ghi	1.18 d
BMg	4.46 bc	18.5 cd	3.3 bc	0.19 cd	36.72 ef	1.35 c
Testigo	3.85 e	17.02 defg	2.4 ghi	0.09 j	22.20 lm	0.62 fg
EsX	0.145308	0.61787	0.170692	0.010970	1.24387	0.049897
Ds	0.809957	5.79444	0.686303	0.084810	9.78949	0.396553
CV (%)	20.61	36.93	24.32	44.99	29.60	37.03

Nota: letras iguales no difieren significativamente entre sí

Tabla 3. Selección de cepas solubilizadoras de fósforo aisladas de suelos ácidos en posturas de tomate en suelo neutro

Cepas	Largo Raíz (cm)	Altura Planta (cm)	Nº Hojas	Diámetro Tallo (mm)	Área Foliar	Peso Fresco Plantas
Pb 1.2	4.28 a-d	20.83 bc	3.2 b-e	0.233 def	44.76 ab	1.23 c
Pb 1.6	5.18 a	21.44 ab	3.3 bcd	0.36 ab	45.54 ab	1.29 b
Pb 1.8	4.82 a-d	22.68 a	4.0 a	0.215 def	49.77 a	1.64 a
Pb 1.9	4.00 cde	18.65 def	3.6 ab	0.245 c-f	38.82 bc	1.05 e
Pb 2.1	4.30 a-d	19.50 cd	3.6 ab	0.26 c-f	33.15 cde	1.04 e
Pb 2.3	3.95 cde	18.90 de	3.5 abc	0.248 c-f	36.46 cd	1.09 d
Pb 2.9	4.95 a-d	18.28 d-g	3.3 bcd	0.28 b-e	34.26 cd	1.01 f
Pb 5.2	3.05 e	17.50 e-h	3.6 ab	0.211 def	35.25 cd	0.96 g
Pb 5.4	4.65 a-d	17.17 f-i	3.22 b-e	0.23 def	31.00 c-f	0.83 j
Pb 1.12	5.05 abc	17.93 d-g	3.22 b-e	0.192 ef	32.47 c-f	0.88 i
Pb 1.101	3.85 de	18.00 d-g	3.20 b-e	0.32 abc	35.22 cd	0.87 i
Pb 1.102	5.13 ab	15.72 hi	2.80 def	0.222 def	25.25 fg	0.70 k
Pb 1.103	4.77 a-d	16.85 ghi	2.60 f	0.18 f	25.48 efg	0.65 l
Pb 6.101	4.00 cde	15.71 hi	2.70 ef	0.20 ef	20.80 g	0.64 l
Pb 6.102	4.48 a-d	18.04 d-g	2.80 def	0.29 a-d	29.76 def	0.81 j
Pb 6.103	4.15 a-e	19.27 cd	2.70 ef	0.37 a	30.92 c-f	0.93 h
BMg	4.00 cde	19.15 cde	3.5 abc	0.228 def	30.94 c-f	0.88 i
Testigo	4.93 a-d	16.59 ghi	3.0 c-f	0.25 c-f	31.21 c-f	0.87 i
EsX	0.397139	0.6284	0.0791	0.031986	2.81953	0.008172
Ds	1.31594	2.57945	0.679512	0.106881	11.1153	0.239164
CV (%)	29.80	13.95	21.17	42.19	32.68	24.78

En otros países de América del Sur, en regiones de Venezuela donde abundan suelos ácidos, con pH inferiores a 3.5, se han realizado investigaciones con el fin de determinar el potencial estimulador del crecimiento de cepas autóctonas de *Bacillus megatherium*, en cultivos hortícolas y de granos. López *et al.* (2008) obtuvo un incremento en el crecimiento de posturas de pimiento superior al 30 % en sistemas de cultivo protegido y del rendimiento en maíz a campo abierto de 35 %.

En la Tabla 3 se manifiesta una tendencia similar de las cepas pues casi todas logran estimular los parámetros de crecimiento evaluados, cuando son comparadas con el testigo absoluto y también con el producto elaborado a partir de la cepa BMg que posee una probada actividad estimuladora del crecimiento. La cepa Pb 1.6 fue la que más sobresalió, con valores de incremento de todos los indicadores evaluados entre 5 y 40%, con diferencias significativas respecto al testigo absoluto y al producto comercial (BMg). Los demás aislados seleccionados fueron Pb 1.8, Pb 2.1, Pb 2.9 y Pb 6.103 que logran

incrementos entre 10 - 37% en la Altura de las plantas, entre 10-33 % en el Número de Hojas; entre 12 y 40 % el Diámetro del Tallo, entre 6 - 40 % el área foliar y entre 10-60 % el Peso Fresco de las Plantas. Esta respuesta se atribuye a que estos microorganismos producen ácidos orgánicos e inorgánicos que actúan a la vez, en la solubilización del fosfato y en la promoción del crecimiento, también pueden dar lugar a la formación de sustancias fisiológicamente activas como fitohormonas, que influyen sobre los procesos de diferenciación de las estructuras de las plantas y sus fenofases, acortando los ciclos de cultivo. Esta afirmación coincide con datos citados por Martínez *et al.* (2007).

Los resultados alcanzados demuestran que estos microorganismos estimulan el crecimiento de plántulas de tomate, independientemente del pH del suelo, lo que puede atribuirse a la gran versatilidad metabólica del género *Bacillus* sp. Esta afirmación coincide con lo planteado por otros autores, quienes han empleado cepas de *Bacillus* sp., para comprobar su potencialidad

para la estimulación del crecimiento en semillas de distintos cultivos (Janssen, 2006). Estas razones confirman la posibilidad de obtener biofertilizantes a partir de ellas dirigidos a los ecosistemas de los cuales fueron extraídas y de satisfacer otras demandas de la agricultura nacional.

Todas las cepas recién aisladas fueron identificadas siguiendo los patrones descritos por Holt *et al.* (1994) los cuales permitieron clasificarlas como pertenecientes al género *Bacillus*, ya que sus células son Gram positivas con esporas en distintas posiciones, catalasa positivas y oxidasa negativas, además se seleccionaron después de haber aplicado un shock térmico a la dilución inicial.

En investigaciones que se han realizado en otros países, han sido aisladas e identificadas cepas pertenecientes a especies del género *Bacillus* con potencialidad solubilizadora de fósforo. Rajankar *et al.* (2007) a partir de 107 muestras de suelo salino rizosférico purificó 10 cepas pertenecientes al género *Bacillus*, de ellas siete fueron identificadas como *Bacillus subtilis* y tres como *Bacillus megatherium*, cuando fue probada su efectividad como solubilizadoras de fósforo usando medio Pikovskaya suplementado con fosfato tricálcico una de cada especie resultó efectiva.

En el mundo se han propuesto métodos para obtener productos a base de cepas seleccionadas de especies del género *Bacillus*, útiles para solubilizar diferentes fuentes de fósforo orgánico e inorgánico y a su vez estimular el desarrollo de cultivos de importancia económica. Biu *et al.* (2009) elaboraron una mezcla de productos por fermentación de un conjunto de cepas entre las que se hallan *Bacillus subtilis* y *licheniformis*, que junto a *Streptomyces* y *Aspergillus* son capaces de degradar fósforo de rocas que contienen pentóxidos de fósforo en proporción de 8-12 %. En Cuba se ha desarrollado un producto conocido como fosforina con amplia aplicación en cultivos de importancia económica elaborado a base de una bacteria solubilizadora de fosfatos de forma orgánica e inorgánica (Batch y Díaz, 2008).

CONCLUSIONES

- Se aislaron 22 cepas con potencial fosfosolubilizador, destacándose los aislados Pb 6.101, Pb 6.102, Pb 6.103 y Pb7.7. como promisorias en este aspecto.
- Fueron seleccionadas las cepas Pb 1.6, Pb 1.8, Pb 2.1 como eficientes para la estimulación del crecimiento en plántulas de tomate en ambas condiciones de pH del suelo. Además pueden ser empleadas en suelos neutros Pb 1.9 y Pb 6.103.
- Fueron identificadas como *Bacillus* sp las 22 cepas fosfo-solubilizadoras aisladas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bach, A. T y Díaz, M. (2008). Las Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR) en la agricultura. En: *Agricultura Orgánica* (3): 35-38. ISSN: 1028-2130.
- Biu, H.; Hsiung, E. H.; Kwok, T. H and Ting, W. H. (2009). Microorganisms, microbial phosphate fertilizers and methods for preparing such microbial phosphate fertilizers. Patente N° WO2009070966(A1).
- Chen, Y. P.; Rekha, P. D.; Arun, A. B.; Shen, F. T.; Lai, W. A and Young, C. C. (2006). Phosphate solubilizing bacteria from sub-tropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. In: *Applied Soil Ecology* 34: 33-41.
- Chuang, Q. Z., y Wei, Y. H. (2006). Effects and mechanism of P-solubilizing *Bacillus* P-17 strain on phosphorous solubilization of different phosphate rocks. In: *Acta Pedológica Sínica* 41 (6): 931-937.
- Elkoca, E.; Kantar, F. y Sahin, F (2008). Influence of Nitrogen fixing and phosphorus solubilizing bacteria on the nodulation, Plant Growth, and yield of Chickpea. In: *Journal of Plant Nutrition* 31(1): 157-171.
- Hernández, J; D. Morales, G. Ascanio y P. Morell. (2007). Manual para la aplicación de la Nueva Versión de Clasificación Genética de los Suelos de Cuba. p. 1-3.
- Holt, J.; Krieg, N.; Sneath, P.; Staley, J.; Williams, S. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ten Edition.
- Holt, J.; N. Krieg, P. Sneath, J. Staley y S. Williams. (2004). «The genus *Bacillus*». In: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ten edition. 35 p.

- Janssen, P. H. (2006). Identifying the dominant soil bacteria taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes. In: *Appl Environ Microbiol* 72: 1719-1728.
- López, M.; Martínez, V. R.; Brossard, F. M.; Bolívar, A.; Alfonso, N.; Alba, A y Pereira, H (2008). Efecto de biofertilizantes bacterianos sobre el crecimiento de un cultivar de maíz en dos suelos contrastantes Venezolanos. En: *Agronomía Tropical* 58 (4): 391-401.
- Mantilla, C. M. E. (2007). Evaluación de la acción de un bioinoculante sobre un cultivo de Crisantemos en período de enraizamiento. Tesis en opción al título de Máster en Ciencias. Facultad de Ciencias de la Pontificia Universidad Javeriana. Colombia.
- Martínez, V. R; López, M; Dibut, A. B; Parra, Z. C y Rodríguez, S. J. (2007). La fijación biológica del nitrógeno atmosférico en condiciones tropicales. Ed. MAT Caracas-Venezuela, 172 p.
- Mehrvarz, S.; Chaichi, M. R and Alikhani, H. A. (2008). Effects of phosphate solubilizing microorganisms and phosphorous chemical fertilizer on yield and yield components of Barley (*Hordeum vulgare* L.). In: *American-Eurasian Journal agriculture and Environment Sciences*. 3 (6): 822-828.
- Pikovskaya, R. I. (1948). Mobilization of phosphorus in soil connection with the vital activity of some microbial species. In: *Microbiologiya* 17.
- Rajankar, P. N.; Tambekar, D. H y Wate, S. R. (2007). Study of phosphate solubilization efficiencies of fungi and bacteria isolated from saline belt of Purna river basin. In: *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 3 (6): 701-703.
- Tejeda, G. G (2010). Comunicación personal.

Recibido: 12 de octubre de 2011

Aceptado: 5 de febrero de 2012