

## ANÁLISIS DEL EFECTO DE BACTERIAS SOLUBILIZADORAS NATIVAS SOBRE LA MOVILIZACIÓN DE FÓSFORO EN SUELOS ROJOS ARGENTINOS Y SU ABSORCIÓN EN NARANJO

MARÍA DE LAS MERCEDES YFRAN ELVIRA<sup>1</sup>; CAROLINA FERNÁNDEZ LÓPEZ<sup>1</sup>; GLORIA CRISTINA MARTÍNEZ<sup>1</sup> & MÓNICA MARIANA COLLAVINO<sup>2</sup>

Recibido: 03-12-14

Recibido con revisiones: 19-03-15

Aceptado: 21-03-15

### RESUMEN

Una de las principales limitantes de la producción en los suelos lateríticos es la baja disponibilidad de fósforo (P). Las bacterias del suelo conocidas como bacterias solubilizadoras de fosfato (PSB) tienen la capacidad de solubilizar formas insolubles de P inorgánico principalmente mediante la producción de ácidos orgánicos y la quelación de óxidos de calcio, hierro o aluminio. La inoculación con PSB seleccionadas para aumentar la población nativa puede movilizar P a partir de fuentes poco disponibles y por lo tanto mejorar la nutrición de las plantas. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la inoculación sobre las distintas formas de P en suelo, así como sobre la absorción de P por las plantas de naranjo (*Citrus sinensis*) variedad *Newhall*. La inoculación evidenció un efecto positivo sobre la nutrición vegetal al incrementar el contenido foliar de P. Este incremento fue más notable en los ensayos inoculados y fertilizados. La inoculación con las cepas *Enterobacter aerogenes* R4M-A y *Burkholderia caledonica* R4M-O benefició el incremento de las distintas formas de P disponibles del suelo, y también la absorción de P por las plantas de naranjo (*C. sinensis*) variedad *Newhall*.

**Palabras clave.** PGPR, bacterias PSB, fósforo edáfico, nutrición vegetal.

### PHOSPHATE SOLUBILIZING BACTERIA: EFFECT ON RED ARGENTINE SOIL P FORMS AND UPTAKE BY ORANGE TREE

#### ABSTRACT

The low availability of phosphorus (P) is one of the main limitations of production in lateritic soils. Soil bacteria, known as Phosphate Solubilizing Bacteria (PSB), have the ability to solubilize P forms mainly by organic acid production and chelation of calcium, iron or aluminum oxides. Inoculation with selected PSB to increase indigenous population can mobilize P from poorly available sources and increase plant absorption. The aim of this study was to evaluate the effect of the inoculation of two PSB, *Enterobacter aerogenes* R4M-A and *Burkholderia caledonica* R4M-O, on soil P forms as well as on P uptake by orange plants (*Citrus sinensis* var. *Newhall*). Bacterial inoculation increased P absorption, improving the nutritional status of the plant substantially. This increase was more remarkable in plants inoculated and fertilized in which there was also a significant increase in total biomass. The PSB inoculation impacted the soil P forms as well as the nutritional status and growth of orange plants (*C. sinensis* var. *Newhall*).

**Key words.** PGPR, PSB bacteria, soil phosphorous, plant nutrition and growth.

<sup>1</sup> FCA Universidad Nacional del Nordeste.

<sup>2</sup> Instituto de Botánica del Nordeste (CONICET)

\*Autor de contacto: mariyfran077@agr.unne.edu.ar

## INTRODUCCIÓN

En la República Argentina la citricultura es una actividad importante de la fruticultura, se registra una superficie de cultivo de 129.986 hectáreas, generando un volumen de producción anual de 2293 miles de toneladas de frutas frescas en la campaña 2012/13 (Federcitrus, 2012). Alrededor del 70% de esta producción, está dirigida al mercado de frutas frescas (Federcitrus, 2012). Dentro del grupo denominado Naranjas de ombligo (*Citrus sinensis* L. Osbeck), de buena aceptación en los mercados europeos por su calidad, dulzura y tamaño de fruta, se destaca la variedad *Newhall* (derivada de *Washington navel*, originaria de California), de maduración temprana (Agusti, 2010).

Una de las principales limitantes de la producción en suelos lateríticos de la provincia de Misiones es la baja disponibilidad de fósforo (P) a pesar del alto contenido de P total (Vázquez *et al.*, 1998; Fernández López *et al.*, 2006; Vázquez *et al.*, 2011). En estos suelos ácidos una proporción importante de los fosfatos solubles agregados es fijado por óxidos e hidróxidos de hierro (Fe) y aluminio (Al) o adsorbidos por coloides, lo que pone de relieve las limitaciones del uso de fertilizantes de origen químico (He *et al.*, 1995). Asimismo, en los suelos deficientes en P solamente una pequeña fracción de las formas de fósforo orgánico (Po) se mineraliza (alrededor de 1% año<sup>-1</sup>) para suplir el P absorbido por la planta (Harrison, 1982).

Un número considerable de bacterias denominadas comúnmente PSB (Phosphorous Solubilizing Bacteria) poseen la capacidad de solubilizar las formas de fósforo inorgánico no asimilables presentes en el suelo mediante la producción de ácidos orgánicos y/o la quelación de óxidos de calcio, hierro o aluminio. Se ha investigado el uso de estas bacterias como inoculante en numerosas especies vegetales, demostrando que esta práctica permite incrementar simultáneamente la absorción de fósforo y el rendimiento de los cultivos (Rodríguez & Fraga, 1999; Richardson *et al.*, 2001; Gyaneshwar *et al.*, 2002; Harvey *et al.*, 2009; Richardson *et al.*, 2009; Zaidi *et al.*, 2009; Khan *et al.*, 2007, 2010).

Asimismo, el uso de bacterias solubilizadoras nativas es una alternativa que suma el potencial de competencia y supervivencia, factores determinantes en el éxito de estos inoculantes en el suelo (Richardson *et al.*, 2001).

La inoculación con la PSB *Enterobacter aerogenes* R4M-A, aislada de suelo rojo laterítico (Ultisol), estimuló el crecimiento de plantas de poroto en invernáculo, presen-

tando un incremento significativo en la concentración de N y P foliar en presencia de P insoluble (fosfato tricálcico), aumentó la materia seca aérea y radical, y afectó positivamente la actividad fotosintética mediante el aumento del área foliar (Collavino *et al.*, 2010). La cepa *E. aerogenes* R4M-A produce y libera AIA (ácido indolacético) al medio, lo que podría estar relacionado con el mayor desarrollo y proliferación de raíces y el incremento en la captación de agua y nutrientes. Por ende, el efecto positivo sobre el crecimiento en suelos deficientes en P puede resultar de la combinación sinérgica de la capacidad de estas bacterias para la producción de AIA y solubilización de P (Collavino *et al.*, 2010). Estas cualidades indican que la cepa *Enterobacter aerogenes* R4M-A tiene una potencial utilidad como bioinoculante con beneficio económico y ecológico permitiendo un uso más eficiente de las reservas de P.

Con el objetivo de desarrollar estrategias alternativas de fertilización económica y de bajo costo ecológico en los suelos rojos, se desea analizar el efecto de la inoculación con las cepas PSB nativas de suelos rojos *Enterobacter aerogenes* R4M-A y *Burkholderia caledonica* R4M-O y el aporte de fosfato tricálcico (FTC) sobre las distintas formas de fósforo en suelos rojos misioneros y la captación de P en plantas de naranjo ombligo (*C. sinensis*) variedad *Newhall*.

Se trabajó con la hipótesis que la inoculación con las bacterias *Enterobacter aerogenes* R4M-A y *Burkholderia caledonica* R4M-O incrementan la captación de fósforo en plantas de naranjo ombligo (*Newhall*) a través de la movilización de las formas insolubles de fósforo presentes en el suelo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material vegetal

Se utilizaron plantines de Naranjo ombligo (*Citrus sinensis* L. Osbeck) variedad *Newhall* de dos años, provenientes de yemas certificadas por el INTA Bella Vista, injertadas sobre Limón Rugoso (*Citrus jambhiri* Lush). Los plantines al momento de la inoculación presentaron una altura promedio de 15,5 ( $\pm 0,1$ ) cm.

### Cepas bacterianas

Los ensayos se realizaron con las cepas *Enterobacter aerogenes* R4M-A y *Burkholderia caledonica* R4M-O aisladas de la rizósfera de plantas de yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) crecidas en un suelo laterítico de características simi-

lares al utilizado en el presente trabajo (Collavino *et al.*, 2010). Para la inoculación, las bacterias se cultivaron en medio triptona de soja líquido (TSB) hasta alcanzar la fase exponencial de crecimiento, los cultivos fueron luego centrifugados, lavados y re-suspendidos en buffer fosfato salino (10 mM  $K_2HPO_4$ – $KH_2PO_4$ , 0,14 M NaCl, pH 7,2).

### Suelo utilizado

El suelo corresponde a un Ultisol con pH ácido (5,26) con bajo contenido de P Bray II (6,40 mg kg<sup>-1</sup>) (Bray, 1945; Kuo, 1996). El suelo contiene 25,3 mg g<sup>-1</sup> de materia orgánica, 1,1 mg g<sup>-1</sup> de N, 4,05 cmol kg<sup>-1</sup> de Ca intercambiable, 1,24 cmol kg<sup>-1</sup> de Mg intercambiable y 0,44 cmol kg<sup>-1</sup> de K intercambiable.

### Inoculación

Las raíces desnudas de los plantines fueron lavadas con agua de canilla. Luego las raíces de cada plantín fueron sumergidas en 300 mL de suspensión bacteriana en concentración de 10<sup>8</sup> bacterias por mL<sup>-1</sup>. A posteriori se procedió al trasplante de una planta por maceta de 10 L de capacidad en suelo rojo misionero (Kandiudult). Luego del trasplante se inoculó el cuello de la raíz del plantín con el volumen restante de la suspensión. En los tratamientos sin inoculante bacteriano, se agregó el mismo volumen (300 mL) de buffer fosfato salino libre de bacterias.

Las plantas se mantuvieron en un invernáculo de la Facultad de Ciencias Agrarias (UNNE), con temperaturas medias de 25–30 °C y manteniendo mediante riegos la humedad del suelo al 80% de la capacidad de campo.

Se probaron los siguientes tratamientos de inoculación: 1) Planta sin inocular, sin aporte de fosfato tricálcico; 2) Planta sin

inocular, con aporte de fosfato tricálcico; 3) Planta inoculada con *B. caledonica* R4M-O, sin aporte de fosfato tricálcico; 4) Planta inoculada con *B. caledonica* R4M-O, con aporte de fosfato tricálcico; 5) Planta inoculada con *E. aerogenes* R4M-A, sin aporte de fosfato tricálcico; 6) Planta inoculada con *E. aerogenes* R4M-A con aporte de fosfato tricálcico; 7) Planta inoculada con *B. caledonica* R4M-O y *E. aerogenes* R4M-A, sin aporte de fosfato tricálcico; 8- Planta inoculada con *B. caledonica* R4M-O y *E. aerogenes* R4M-A, con aporte de fosfato tricálcico. Por tratamiento se realizaron 5 repeticiones. En los tratamientos con fertilización fosfatada, se realizó una única aplicación al inicio del ensayo con fosfato tricálcico sólido, mezclándolo con los primeros 5 cm de suelo con dosis de 9,85 mg P kg<sup>-1</sup> de suelo.

### Parámetros evaluados

Luego de la inoculación, se evaluó la distribución de las distintas formas de P en el suelo y contenido de P en plantas de naranjo *Newhall*.

**1. Determinación de fósforo edáfico:** a fin de determinar los cambios en las distintas formas de fósforo presentes en el suelo en cada uno de los tratamientos, se tomaron muestras (4 por cada repetición de los respectivos tratamientos), a los 7, 15, y 30 días posteriores a la inoculación (dpi) y en los meses de septiembre y diciembre en el primer año de ensayo y, en los meses de marzo, septiembre y diciembre en el segundo año. Las mismas están compuestas por dos submuestras de 0 a 20 cm. Las muestras secadas y tamizadas se sometieron al análisis de las fracciones de P (en la Tabla 1 se muestran las designaciones de las fracciones) por método de Hedley *et al.* (1982) modificado por Sattell & Morris (1992). El P en todos los extractos se determinó por el método colorimétrico de Murphy & Riley (1962) (en Kalra, 1998).

Tabla 1. Fraccionamiento de fósforo según el método propuesto por Hedley *et al.*, (1982) con modificación propuesta por Sattell y Morris (1992).

Table 1. Phosphorus fractionation technique according to Hedley *et al.* (1982) modified by Sattell and Morris (1992).

Extractantes	Referencia	Fracción determinada
NaHCO <sub>3</sub> 1M	Pibic	P lábil inorgánico
	Pobic	P lábil orgánico
NaOH 0,1 M	Pina	Pi moderadamente lábil (ligado al Fe, Al)
	Pona	Po moderadamente lábil (ligado a los ácidos húmicos)
NaOH 0,1 M + ultrasonido	Pinau	Pi en microagregados
	Ponau	Po en microagregados
HCl 1M	Pi-HCl	P ligados al Ca
HCl concentrado	Pi-res	Pi- residual
HCl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Po-res	Po- residual

**Contenido de fósforo foliar:** el contenido de fósforo foliar en plantas se evaluó mediante el análisis de este nutriente en hoja. Para ello, se tomaron muestras foliares de cada una de las plantas en cuatro períodos, en marzo (se muestrearon hojas de 7 meses provenientes de la primavera anterior), agosto (se tomaron las hojas maduras de 1 año de edad), septiembre (brotación de primavera, se seleccionaron hojas jóvenes), y diciembre (hojas de 4 meses de edad aproximadamente) en cada año. Las muestras se secaron en estufa a 60-65 °C, hasta peso constante, se molieron en molinillo tipo Willey de malla 20. Se pesaron 0,2 g de muestra seca y molida para luego realizar la digestión nitroperclórica ( $\text{HNO}_3$ , 65% +  $\text{HClO}_4$ , 70%). La determinación de fósforo se realizó por el método de Murphy & Riley (1962) (en Kalra, 1998).

Los resultados del análisis foliar de tejidos indican la medida precisa de la absorción del nutriente por la planta, ya que las hojas son muy sensibles a los cambios de la disponibilidad de nutrientes del suelo. La correcta utilización de esta práctica requiere efectuar adecuadamente la toma de muestras de hojas, de modo que sea representativa del estado nutricional de la plantación, e interpretar correctamente los análisis. La interpretación del análisis foliar se realizó comparando los resultados obtenidos con los valores foliares estándar previamente establecidos (Legaz *et al.*, 1995).

### Análisis estadístico

Se trabajó con un diseño experimental de bloques completos al azar con cinco repeticiones. Los datos obtenidos fueron

sometidos a las pruebas de normalidad mediante prueba de bondad de ajuste con el estadístico Shapiro-Wilks modificado ( $\alpha=0,05$ ) y se analizaron estadísticamente mediante ANOVA y prueba de Tukey ( $\alpha=0,05$ ) utilizando el software Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2014). Para analizar la interdependencia de variables se realizó un análisis de componentes principales (ACP) y se estandarizaron los datos para realizar el análisis sobre la matriz de correlación de las variables (Steel & Torrie, 1992).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 1. Determinación de fósforo edáfico

En la Figura 1 se muestra la representación gráfica del ACP de las distintas fracciones de P en los tratamientos sin fertilización. La inoculación con *Enterobacter* presentó la mayor asociación a las fracciones de P orgánico más lábil (Pobic) y más resistentes (Po-res) y a las de las formas de P inorgánico: Pinau, Pi-HCl y el Pi-res; la coinoculación se asoció con el contenido de Ponau. El tratamiento testigo, sin inoculación y sin fertilización no se encontró asociado a ninguna fracción, indicándonos que en el suelo sin inocular ni fertilizar en general se presentaron valores menores de las distintas formas de P edáfico comparado con los tratamientos inoculados. La inoculación con *Burkholderia* se asoció con el contenido de P inorgánico lábil, como ya fuera sugerida en otro estudio (Richardson *et al.*, 2001).

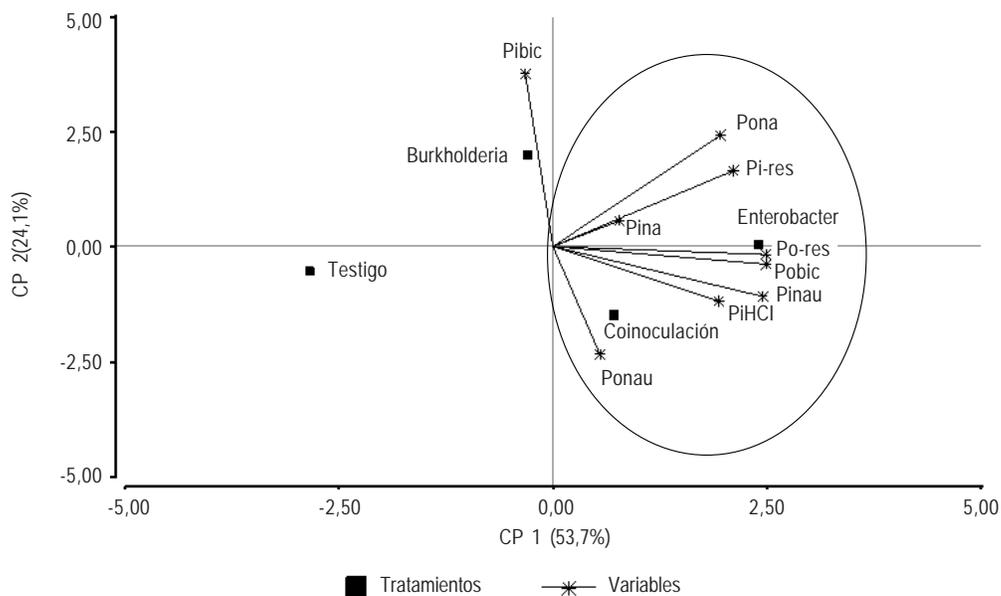


Figura 1. Biplot resultante del ACP de las distintas formas de P en el suelo en los tratamientos sin fosfato tricálcico (FTC).

Figure 1. Principal component analysis (PCA) biplot for different soil P forms in treatments without tricalcium phosphate (TCP).

La asociación del tratamiento inoculado con *Burkholderia* y la fracción Pibic se confirmó al corroborar que en estos tratamientos se observó un incremento de esta fracción en un 50% de los muestreos evaluados. La inoculación con *Enterobacter* la coinoculación principalmente se asociaron al resto de las fracciones con elevada correlación positiva (Rodríguez & Fraga, 1999). En los tratamientos inoculados con *Enterobacter* encontramos que las fracciones de P orgánico (Pobic, Pona, Po-res), y el P inorgánico (Pinau, PiHCl, Pi-res) incrementaron en un 60 a 87% de los muestreos evaluados y la coinoculación con ambas cepas incrementó además el Ponau (Fig. 1).

En la Figura 2 se grafican los resultados del ACP en los ensayos fertilizados con fosfato tricálcico. Se observa que las dos primeras componentes explican la mayor parte (89%) de la variabilidad total en las observaciones. Los tratamientos con *Enterobacter* y la coinoculación se asociaron con las fracciones de P orgánico, lábil y moderadamente lábil, mientras que *Burkholderia* y el testigo se asociaron con las fracciones inorgánicas de P. Los resultados del fraccionamiento muestran que la inoculación con *Burkholderia* se asoció más puntualmente con el incremento de las formas de P inorgánico más recalcitrantes (Pi-HCl, Pi-res) y con el contenido de P inorgánico en los microagregados (Pinau), presentando los mayores valores en 50% de los muestreos evaluados. El testigo fertilizado y sin

inoculación se asoció más con el Pibic y Pina. Es de destacar, que si bien el testigo mantuvo en general los niveles más altos de estas fracciones, en el período crítico de brotación e intenso crecimiento vegetativo (verano-otoño) la inoculación con *Burkholderia* mostró los mayores valores de estas fracciones, como así también la de Pinau; He *et al.* (1995) habían manifestado las limitaciones del uso de fertilizantes de origen químico en suelos ácidos con capacidad de adsorción aniónica.

**2. Contenido de fósforo foliar**

Los contenidos de fósforo foliar en los tratamientos sin FTC los dos años analizados fueron muy variables, presentando valores, según la clasificación de Legaz *et al.* (1995), desde muy altos a bajos. En general encontramos que, tanto sin y con fertilización fosfatada, el contenido de P es similar entre tratamientos en las fechas previas a la primer brotación. En la etapa de brotación del primer año de ensayo (septiembre) se observan los máximos valores de P foliar. Esta elevada demanda de P en primavera se puede relacionar con la importante disminución del pool de Plábil (Pibic) observado en el suelo (Fig. 3-B). Cabe destacar que en este muestreo los tratamientos inoculados presentaron mayor contenido de Pibic respecto del tratamiento sin inocular. A partir de esta fecha, los contenidos de P foliar disminuyen hasta mínimos contenidos en marzo-agosto del se-

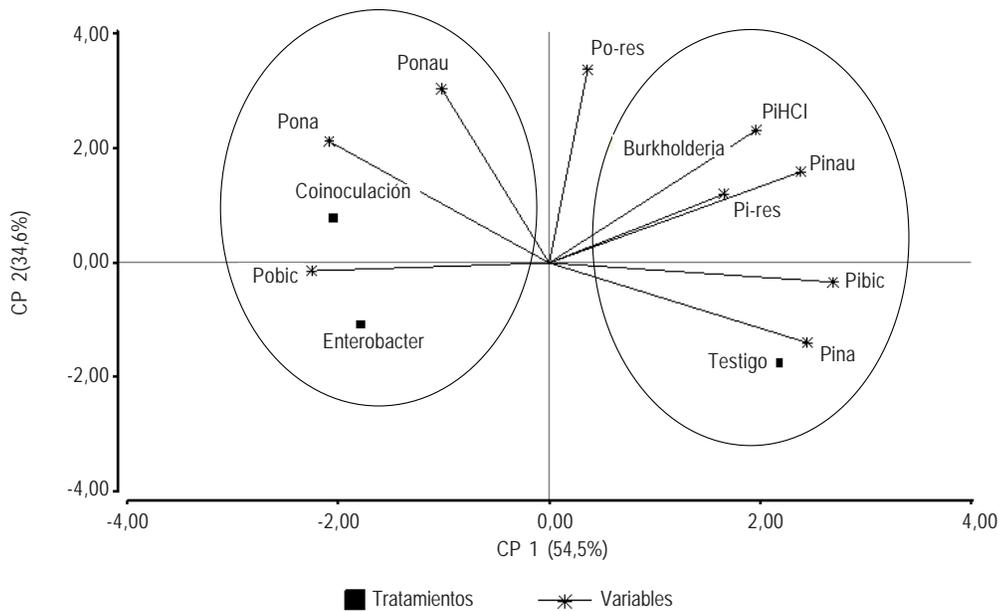


Figura 2. Biplot resultante del ACP de las distintas formas de P en el suelo en los tratamientos con FTC.  
 Figure 2. PCA biplot for the different soil P forms in treatments with TriCalcium P.

segundo año de ensayo. Dicha disminución podría estar relacionada con una translocación de P de las hojas viejas a las nuevas.

La inoculación con *Burkholderia* y la coinoculación en los tratamientos sin aporte de fosfato tricálcico, promovieron un incremento significativo en la absorción de este nutriente por la planta en los períodos críticos de brotación (septiembre y diciembre) del primer año de estudio.

Los contenidos de P foliar durante el segundo año de estudio presentaron una disminución con respecto al primer año, con valores de fósforo considerados normales (0,10 y 0,15% P) y solo el muestreo de septiembre del

segundo año de estudio presentó contenidos significativamente mayores en los tratamientos inoculados con *Enterobacter* y la coinoculación (Fig. 3-A).

En el muestreo de marzo, el tratamiento sin inocular y las inoculaciones con *Enterobacter* y *Burkholderia* presentaron los mayores valores de Pibic en el suelo no así en el P foliar.

Es de destacar que, en los muestreos de mayor demanda de P por la planta, septiembre de los dos años evaluados, la inoculación con PSB aumentó significativamente el contenido de P en la planta así como el contenido de Pibic en el suelo. Estos resultados podrían estar relacionados con

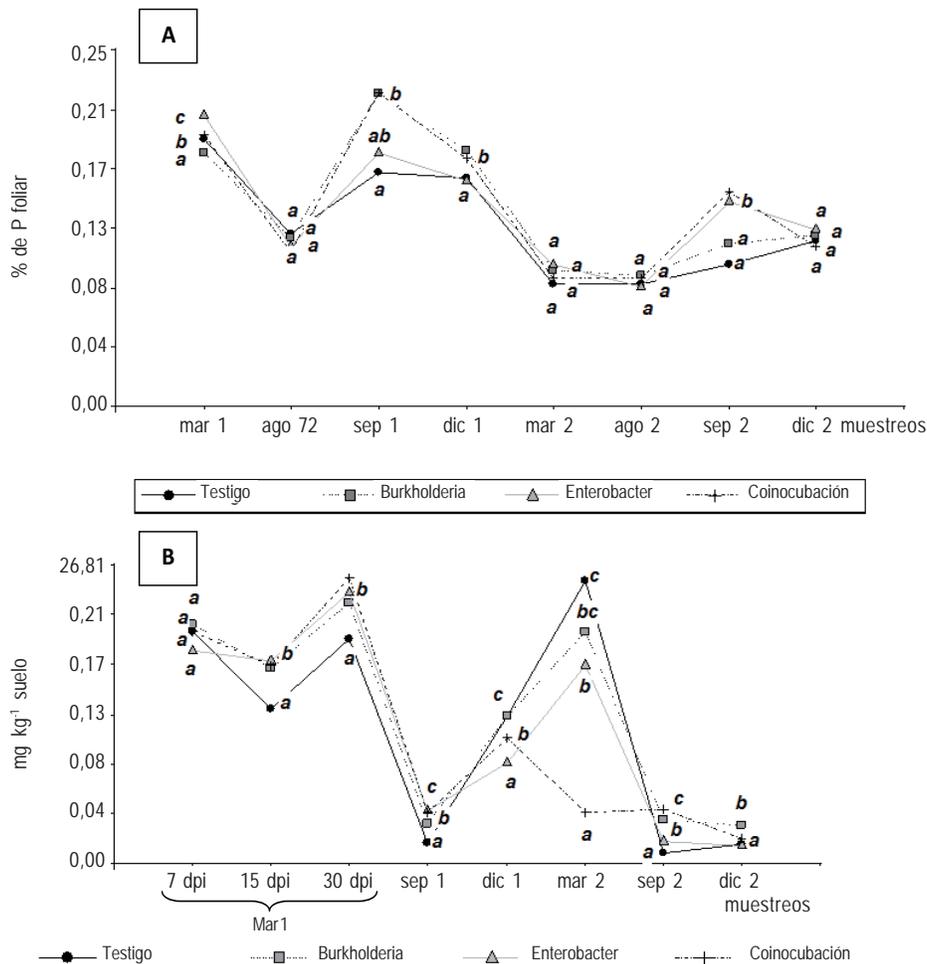


Figura 3. A- Concentraciones foliares de P en plantas de *Citrus sinensis* crecidas sin aporte de fosfato tricálcico. Letras distintas indican diferencias significativas (Test de Tukey,  $p \leq 0,05$ ,  $a < b$ ;  $n = 5$ ). B- Contenido de P inorgánico lábil (Pibic) en los suelos sin FTC.

Figure 3. A- Leaf P concentrations of *Citrus sinensis* plants grown without tricalcium phosphate. Different letters indicate significant differences (Tukey's test,  $p \leq 0.05$ ,  $a < b$ ,  $n = 5$ ). B- Labile inorganic P content (Pibic) in soils without TCP.

la actividad solubilizadora de P de estas cepas, indicado por la disminución del pool de P más estable que en esta situación reabastecería las formas de P edáfico más disponibles para el vegetal.

Esta mejora en la disponibilidad de P en el suelo se tradujo en una mayor absorción de fósforo por la planta.

En los tratamientos con FTC el contenido de P en general supera a los que no recibieron FTC y estuvieron dentro de rangos considerados normales a altos según Legaz *et al.* (1995) (Fig. 4-A). Los valores de P en hojas maduras se mantienen entre 0,11-0,12%, muestreos de marzo a agosto del primer año de ensayo, luego aumenta en

el mes de septiembre que corresponde al muestreo de primavera y a partir de cuyo momento empieza a decrecer.

En septiembre del primer año la coinoculación y la inoculación con *Burkholderia* presentaron los mayores valores de P foliar. En el muestreo siguiente, las inoculaciones simples con *Enterobacter Burkholderia* aumentaron tanto la concentración de P foliar, a valores de 0,17-0,16% respectivamente, como así también el Pibic del suelo (Fig. 4-B).

En el segundo año el contenido de P foliar manifestó un aumento en el tiempo desde valores de 0,12% de P en el mes de marzo hasta 0,22% de P en el último muestreo.

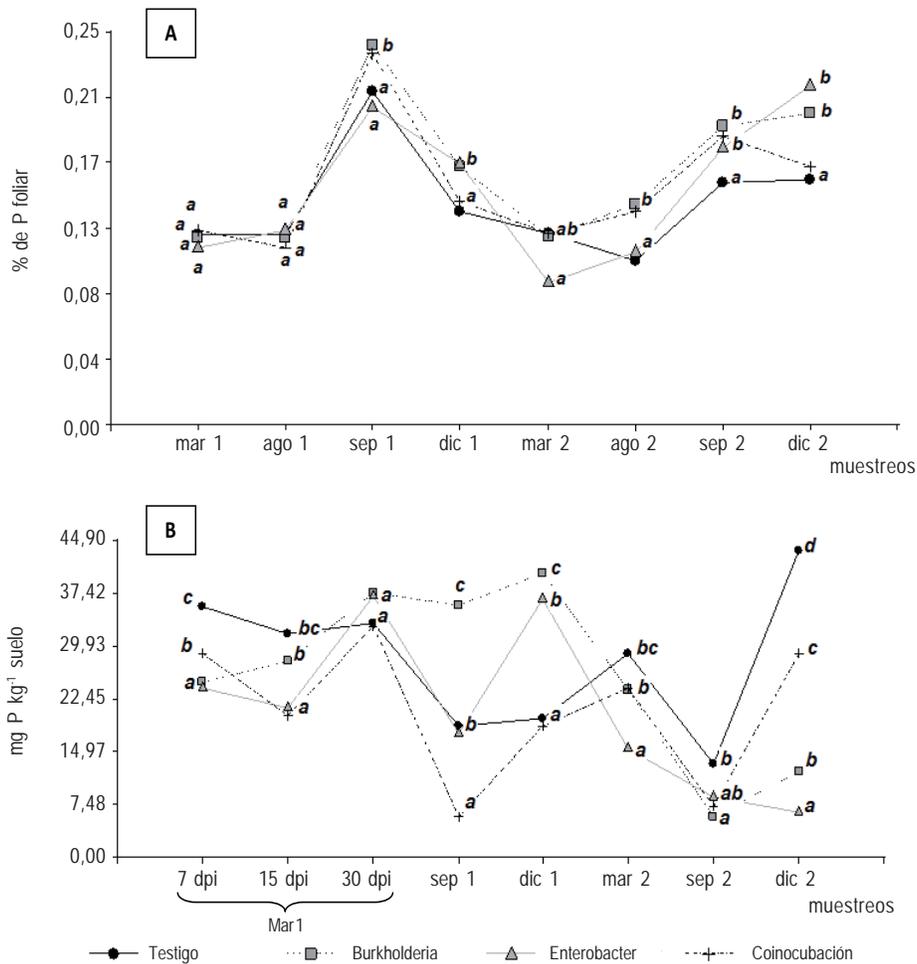


Figura 4- A- Concentraciones foliares de P en plantas de *Citrus sinensis* crecidas con aporte de fosfato tricálcico. Letras distintas indican diferencias significativas (Test de Tukey,  $p \leq 0,05$ ,  $a < b$ ;  $n = 5$ ). B- Contenido de P inorgánico lábil (Pibic) en los suelos con FTC.

Figure 4- A- Leaf P concentrations of *Citrus sinensis* plants grown with tricalcium phosphate. Different letters indicate significant differences (Tukey's test,  $p \leq 0.05$ ,  $a < b$ ,  $n = 5$ ). B- Labile inorganic P content (Pibic) in soils amended with TCP.

En este período los tratamientos inoculados aumentaron significativamente el contenido de P foliar respecto del testigo sin inoculación a valores considerados normales a altos (Legaz *et al.*, 1995). Collavino *et al.*, (2010) encontró similares resultados, inoculando con *Enterobacter* con aporte de FTC plantas de poroto en invernáculo, incrementando significativamente los contenidos de N y P foliar.

Estos resultados indican que los tratamientos inoculados y con adición de fosfato tricálcico incidió positivamente sobre el contenido de P foliar en un 60% de los muestreos evaluados. Resultados similares fueron obtenidos en plantas de *Mimosa caesalpinifolia* crecidas en suelos ácidos de Pernambuco (Brasil) donde, al aplicar fosfato natural con *Acidithiobacillus* se obtuvieron valores superiores de P foliar comparado con los tratamientos con fosfato natural sin inocular y con fertilizante soluble (Stamford *et al.*, 2005). Similares hallazgos obtuvieron en frutales como ser albaricoque (Esitken *et al.*, 2002, 2003), frambuesa (Orhan *et al.*, 2006) y manzanos (Aslantay *et al.*, 2007; Karlidag *et al.*, 2007).

La curva de Pibic en el suelo en los primeros 30 días mantiene valores entre 20 y 37 mg P kg<sup>-1</sup> suelo y luego muestra una disminución en septiembre y aumenta levemente en diciembre. Este mismo comportamiento se observa en el segundo año, con marcada disminución en septiembre a valores de entre 5 a 13 mg de P kg suelo. Según Vázquez *et al.* (2011) el P proveniente del fertilizante se ubica en las fracciones más lábiles (Pibic) y con el correr del tiempo pasa a formas más resistentes. Según nuestros resultados las inoculaciones simples con *Enterobacter* y *Burkholderia* presentaron los menores valores de Pibic al finalizar la experiencia, en tanto que la coinoculación presentó valores intermedios y el testigo los mayores valores de Pibic. Sin embargo, las inoculaciones con *Enterobacter* y *Burkholderia* a pesar de presentar menores contenidos de Pibic en suelo mostraron mayor contenido de P en la planta en este período.

## CONCLUSIONES

La inoculación con las bacterias *Enterobacter aerogenes* R4M-A y *Burkholderia caledonica* R4M-O promueve la movilización de las diferentes fracciones de P presentes en suelo rojo misionero en condiciones de invernáculo.

La inoculación sin fosfato tricálcico se asocia con el fósforo inorgánico y orgánico desde sus formas más solubles hasta insolubles y se evidencia una mayor absorción

de este nutriente por la planta en los períodos de mayor demanda.

En los tratamientos con fosfato tricálcico, la inoculación con *Enterobacter* y la coinoculación se asocian a las formas de fósforo orgánico mientras que *Burkholderia* con el fósforo inorgánico insoluble y el testigo con las fracciones de fósforo inorgánico soluble y moderadamente soluble.

Todos los tratamientos inoculados con PSB muestran mayores contenidos de fósforo foliar respecto del testigo sin inoculación. Sin embargo *Burkholderia* mantiene los máximos valores de fósforo foliar en la mayoría de los muestreos evaluados,

Estos resultados demuestran la potencial utilidad de las cepas *Enterobacter aerogenes* R4M-A y *Burkholderia caledonica* R4M-O como biofertilizantes que promueven la movilización y disponibilidad del fósforo en los suelos rojos, con el beneficio económico y ecológico que resulta del uso más eficiente de las reservas de fósforo en estos suelos.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado con fondos de proyectos otorgados por la Secretaría General de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional del Nordeste (SGCyT-UNNE).

## BIBLIOGRAFÍA

- Agustí, M. (2010) Fruticultura. Segunda Edición. Madrid España. Ediciones Mundi Prensas 507 pp.
- Aslantay, R; R Cakmakci & F Sahin. 2007. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on young apple tree growth and fruit yield under orchard conditions. *Sci. Hort.* 111: 371-377.
- Bray, RH & LT Kurtz. 1945. Determination of total, organic and available forms of phosphorus in soil. *Soil Sci.* 59: 39-45.
- Collavino, M; P Sansberro; L Mroginski & OM Aguilar. 2010. Comparison of in vitro solubilization activity of diverse phosphate-solubilizing bacteria native to acid soil and their ability to promote *Phaseolus vulgaris* growth. *Biol Fertil Soils* 46: 727-738.
- Di Rienzo, J; F Casanoves; M Balzarini; L Gonzalez; M Tablada & C Robledo. 2014. InfoStat versión 2014. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional del Nordeste, Argentina. Acceso: diciembre 2014. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Esitken, A; H Karlidag; S Ercisli; M Turan & F Sahin. 2003. The effect of spraying a growth promoting bacterium on the yield, growth and nutrient element composition of leaves of apricot (*Prunus armeniaca* L. cv Hacihaliloglu) *Aust. J. Agric. Res.* 54: 377-380.
- Esitken, A; H Karlidag; S Ercisli & F Sahin. 2002. Effects of foliar application of *Bacillus subtilis* Osu-142 on the yield, growth and control of shot-hole disease (*Coryneum blight*) of apricot. 67: 139-142.
- Feder Citrus. 2012. La actividad Citrícola Argentina. Acceso: diciembre 2013. [www.feder Citrus.org.ar](http://www.feder Citrus.org.ar).

- Fernández López, C; R Mendoza & S Vázquez. 2006. Fracciones de fósforo en suelos de Corrientes con producción citrícola, arrocería y pastoril. *Cs Suelo Argentina* 24: 161-168.
- Gyaneshwar, P; GN Kumar; LJ Parekh & PS Poole. 2002. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant Soil* 245: 83-93.
- Harrison, AF. 1982. P-method to compare rates of mineralization of labile organic phosphorus in woodland soils. *Soil Biol. Biochem.* 14: 337-341.
- Harvey, PR; RA Warren & S Wakelin. 2009. Potential to improve root access to phosphorus: the role of non-symbiotic microbial inoculants in the rhizosphere. *Crop Pasture Sci* 60: 144-151.
- He, ZL; MJ Wilson; CO Campbell; AC Edwards & SJ Chapman. 1995. Distribution of phosphorus in soil aggregate fractions and its significance with regard to phosphorus transporting. *Agricultural Runoff. Water Air Soil Pollut.* 83: 69-84.
- Hedley, MJ; JWB Stewart & BS Chauhan. 1982. Changes in inorganic and organic phosphorus fractions induced by cultivation practices and by laboratory incubations. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 46: 970-976.
- Kalra, PY. 1998. Handbook of Reference Methods for Plant Analysis. Edited by Yash Kalra, CRC Press. USA. pp 300.
- Karlidag, H; A Esitken; M Turan & F Sahin. 2007. Effects of root inoculation of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient element contents of leaves of apple. *Sci. Hort.* 114: 16-20.
- Khan, MS; A Zaidi & PA Wani. 2007. Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture a review. *Agron Sustain Develop* 27: 29-43.
- Khan, MS; A Zaidi; M Ahemad; M Oves & PA Wani. 2010. Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi current perspective. *Arch Agron Soil Sci* 56: 73-98.
- Kuo, S. 1996. Phosphorus. In: DL Sparks *et al.* (eds). Methods of soil analysis. Part 3. Chemical Methods. 1390 pp.
- Legaz, F; MD Serna; P Ferrer; V Cebolla & E Primo Millo. 1995. Análisis de hojas, suelos y aguas para el diagnóstico nutricional de plantaciones de cítricos. Procedimiento de toma de muestras. Generalitat Valenciana Conselleria d'Agricultura, Pesca i Alimentació. Gráficas Fortuny SL, Valencia. 26 p.
- Murphy, J & JP Riley . 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal Chim Acta* 27:31-36.
- Orhan, E; A Esitken; S Ercisli; M Turan & F Sahin. 2006. Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient contents in organically growing raspberry. *Sci. Hort.* 111: 38-43.
- Richardson, AE; JM Barea; AM McNeill & C Prigent-Combaret. 2009. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant Soil* 321: 305-339.
- Richardson, AE; PA Hadobas; JE Hayes; CPO'Hara & RJ Simpson. 2001. Utilization of phosphorus by pasture plants supplied with myo-inositol hexaphosphate is enhanced by the presence of soil microorganisms. *Plant Soil* 229: 47-56.
- Rodriguez, H & R Fraga. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances* 17: 319-339.
- Sattell, R & R Morris. 1992. Phosphorus fractions and availability in Sri Lankan Alfisols. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56: 1510-1515.
- Stamford, NP; CERS Santos; PR Santos; KS Santos & A Montenegro. 2005. Effects of rock phosphate, sulphur with and without *Acidithiobacillus* and organic by products on mimosa (*Mimosa caesalpiniiifolia*) grown in a Brazilian tableland soil. *Tropical Grasslands* 39: 54-61.
- Steel, R & J Torrie. 1992. Bioestadística: Principios y Procedimientos Ed. Mc Graw Hill. Segunda Edición. México. p. 132.
- Vázquez, S; H Dalurzo; AP Lifschitz & LA Morales. 1998. Fósforo total, orgánico e inorgánico en Ultisoles, Alfisoles y Oxisoles del Sur de Misiones (Argentina). *Cs Suelo Argentina* 16: 47-49.
- Vázquez, S; LA Morales; C Fernández López & HC Dalurzo. 2011. Fertilización fosfatada y fracciones de fósforo en Alfisoles, Ultisoles y Oxisoles. *Cs Suelo Argentina* 29: 161-171.
- Zaidi, A; MS Khan; M Ahemad & M Oves. 2009. Plant growth promotion by phosphate solubilizing bacteria. *Acta Microbiol Immunol Hung* 56: 263-284.

