



Artículo

Aislamiento de diversos solubilizantes de fosfato y zinc Microorganismos de diferentes ambientes.

Samira Islas-Valdez 1,2,†, Antisar Afkairin 1,†, Benjamín Rovner¹ y Jorge M. Vivanco 1,*

¹ Departamento de Horticultura y Arquitectura del Paisaje, Universidad Estatal de Colorado, Fort Collins, CO 80523, EE. UU.; lij15@txstate.edu (SI-V.); antisar.afkairin@colostate.edu (AA); ben.rovner@colostate.edu (BR)

² Departamento de Ciencias Agrícolas, Universidad Estatal de Texas, San Marcos, TX 78666, EE. UU.

* Correspondencia: j.vivanco@colostate.edu; Teléfono: +1-970-491-7170; Fax: 970-491-4895

† Estos autores contribuyeron igualmente a este trabajo.

Resumen: Este estudio aborda el desafío de encontrar formas novedosas de solubilizar fósforo y zinc con fines agrícolas. El objetivo era aislar PSM (microbios solubilizadores de fósforo) y ZnSM (microbios solubilizadores de zinc) de diferentes entornos (p. ej., enmiendas del suelo, usos de la tierra y sistemas de rotación de cultivos) y evaluar su capacidad para solubilizar diferentes fuentes de P insoluble (p. ej., β -fosfato tricálcico (β -TCP), fitato de calcio (CaP) y fosfato de roca (RP)) y fuentes de Zn (p. ej., carbonato de zinc (ZnC), óxido de zinc (ZnO) y fosfato de zinc (ZnP)). Aquí, se aislaron y clasificaron por especies 25 aislados capaces de solubilizar fuentes de P o Zn mediante secuenciación de ARNr 16S y región ITS. En particular, *Aspergillus awamori*, *Fusarium circinatum*, *Fusarium longifundum* y *Mucor circinelloides*, aislados de suelos cultivados y enmiendas del suelo, surgieron como los PSM y ZnSM más eficientes. *Mucor circinelloides* exhibió la mayor capacidad de solubilización para los caldos que contienen β -TCP, CaP, RP, ZnO y ZnP, con cambios log₂ veces de 3,7, 1,8, 8,9, 7,8 y 2,4, respectivamente, en comparación con el control. Para ZnC y ZnO, *Aspergillus awamori* mostró la mayor solubilización de Zn, con un cambio de 2,1 y 3,0 log₂ veces. El estudio destaca el potencial de estas cepas como biofertilizantes y subraya el papel de los géneros *Mucor* y *Fusarium* en la solubilización del zinc.



Cita: Islas-Valdez, S.; Afkairin, A.; Rovner, B.; Vivanco, JM Aislamiento de diversos

microorganismos solubilizadores de fosfato y zinc de diferentes ambientes. *Aplica. Microbiol.* 2024, 4, 1042–1056.

<https://doi.org/10.3390/applmicrobiol4030071>

Editora Académica: Elena Tamburini

Recibido: 7 de junio de 2024

Revisado: 2 de julio de 2024

Aceptado: 4 de julio de 2024

Publicado: 7 de julio de 2024



Copyright: © 2024 por los autores. Licenciatario MDPI, Basilea, Suiza.

Este artículo es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos y condiciones de los Creative Commons

Licencia de atribución (CC BY)

(<https://creativecommons.org/licenses/by/> incluye diversas bacterias (p. ej., *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter* y *Burkholderia*) y hongos (p. ej., *Penicillium*, *Fusarium* y *Aspergillus*) [5,19]. Un problema principal en PSM

Palabras clave: Microorganismos solubilizantes de P; Microorganismos solubilizadores de Zn; enmiendas del suelo; suelos cultivados; bacterias; hongos

1. Introducción

El fósforo (P) y el zinc (Zn) son nutrientes esenciales necesarios para el desarrollo de las plantas, el rendimiento de los cultivos y la calidad del grano [1]. Sin embargo, más del 30% de los suelos cultivados en todo el mundo son alcalinos con un alto contenido de carbonato de calcio, lo que dificulta la absorción de nutrientes [2–4]. Aunque los fertilizantes de P y Zn abordan estas deficiencias, >80% de las aplicaciones dan como resultado nutrientes escasamente solubles debido a la formación de formas insolubles de P y Zn [5,6]. Estos incluyen fosfato tricálcico (TCP) y fitato de calcio (CaP) para P [5,7] y compuestos de Zn como smithsonita (ZnC, carbonato de zinc), zincita (ZnO, óxido de zinc) y Hopeita (ZnP, zinc) . fosfato [3]. Estos compuestos insolubles se conocen como legado de P y Zn en el suelo [8–14].

Las reservas limitadas y desigualmente distribuidas de fosfato de roca (PR) provocan un aumento adicional en los precios de los fertilizantes fosfatados [15,16]. Además, más del 50% de los suelos cultivados con cereales a nivel mundial tienen deficiencia de Zn disponible para las plantas [2,4,5], lo que afecta al 30% de la población mundial [17,18].

Los esfuerzos para abordar la deficiencia de Zn mediante la biofortificación agronómica de cereales (por ejemplo, trigo y maíz) enfrentan desafíos debido a los altos costos de los fertilizantes con Zn [2,4].

La utilización de microorganismos solubilizadores de P y Zn (PSM y ZnSM) es una estrategia ecológica y rentable para reciclar los nutrientes heredados de P y Zn en el suelo. Este grupo diverso (p. ej., *Penicillium*, *Fusarium* y *Aspergillus*) [5,19]. Un problema principal en PSM

El aislamiento es el uso convencional de fosfato beta-tricálcico (β -TCP) como única fuente de P para identificar PSM [20,21]. Este método es objeto de debate porque el fosfato beta-tricálcico no representa con precisión las diversas y complejas formas de fósforo no disponible que se encuentran en los suelos naturales, lo que puede provocar discrepancias y sobreestimaciones de la eficiencia del PSM en condiciones de laboratorio en comparación con las condiciones de campo. Por lo tanto, se recomienda utilizar una combinación de fuentes de fósforo insoluble, como fitina, fosfato de roca (RP) y fosfato de zinc (ZnP), para el aislamiento de microorganismos solubilizadores de fosfato (PSM) [22,23]. Esto se debe a que depender de una sola fuente, como el fosfato tricálcico (TCP), ha mostrado limitaciones, ya que muchas cepas seleccionadas de esta manera son ineficaces con otros compuestos de P insolubles y en condiciones de granja. El uso de múltiples fuentes de P no disponibles aumenta la probabilidad de aislar una gama diversa y efectiva de PSM, que se adaptan mejor a las diferentes condiciones del suelo [24-26]. Además, aunque se han estudiado ampliamente los enfoques de inóculo único que integran PSM y ZnSM, estos enfoques generalmente prueban solo un tipo de fuente insoluble de P y Zn [27-30]. Se dispone de información limitada sobre los consorcios PSM y ZnSM, que también han sido probados, aunque con una única fuente insoluble de P y Zn [31]. Por lo tanto, el uso de consorcios de PSM y ZnSM o cepas individuales con la capacidad de solubilizar múltiples fuentes insolubles de P y Zn puede resultar una estrategia más efectiva para abordar la deficiencia de P y Zn en condiciones agrícolas [31].

Comprender la densidad de población de microorganismos solubilizantes de P y Zn (PSM y ZnSM) en diferentes entornos es crucial para la detección eficaz de estos microbios. Por ejemplo, se ha demostrado que las prácticas de manejo del suelo, incluida la aplicación de enmiendas del suelo, los cultivos intercalados o la rotación de cultivos, aumentan la diversidad y abundancia de PSM y ZnSM [32,33]. Li y col. [34] informaron que los PSM y ZnSM están más densamente poblados en la rizosfera, suelos a granel, compost y raíces de plantas que en sedimentos o cuerpos de agua. El uso de la tierra también influye, ya que los suelos no cultivados (por ejemplo, suelos forestales) albergan una diversidad más rica de microbios en comparación con los suelos agrícolas, de pastizales y minados [20,34].

Por el contrario, Fernández et al. [35] informaron que la estructura comunitaria de PSM era un 81% mayor en suelos cultivados que en suelos naturales (por ejemplo, pastizales), y observaron diferencias entre los distintos suelos cultivados. Esta diferencia fue particularmente pronunciada en suelos cultivados bajo sistemas de rotación de cultivos (leguminosas-trigo) en comparación con sistemas de monocultivo [3]. A diferencia de los fertilizantes químicos que pueden afectar negativamente a la salud del suelo, los fertilizantes a base de residuos, como el vermicompost y el compost, están ganando popularidad [36]. Estos fertilizantes a base de residuos son conocidos por su rica diversidad microbiana, incluidos géneros capaces de solubilizar P y Zn [37-39]. Por lo tanto, la presente investigación planteó la hipótesis de que la detección de microbios de diferentes entornos ayudará a seleccionar PSM y ZnSM de élite.

El presente estudio presenta un enfoque novedoso para el aislamiento de PSM y ZnSM.

Para lograr esto, nuestros objetivos fueron (1) aislar los PSM y ZnSM de diferentes ambientes, incluidos aquellos con diferentes usos de la tierra, sistemas de rotación de cultivos y enmiendas del suelo, y (2) seleccionar cuantitativa y cualitativamente los PSM y ZnSM capaces de solubilizar diferentes fuentes de P escasamente solubles (es decir, TCP, CaP y RP) y fuentes de Zn (es decir, ZnC, ZnO y ZnP). Estos microbios beneficiosos tienen un uso potencial en la biofertilización agrícola.

2. Materiales y métodos

2.1. Recolección de muestras de suelo y enmiendas de suelos

En mayo de 2023, se recolectaron muestras de capa superficial del suelo (de 5 a 15 cm de profundidad) del Centro de Educación, Desarrollo e Investigación Agrícola (ARDEC) de la Universidad Estatal de Colorado en Fort Collins, CO (40°36'36.9" N y 104°59'38.2" O). Según la Base de Referencia Mundial para los Recursos del Suelo (WRB), el suelo forestal (FS) se clasifica como luvisol, suelo agrícola, incluido el suelo de trigo y cebada (WBS), el suelo de maíz y sorgo (CSS) y el suelo de frijol pinto y caupí (PCS), se clasifican como chernozems. Estas muestras se obtuvieron de suelos agrícolas bajo diferentes sistemas de rotación de cultivos, incluidos trigo-cebada (WBS), maíz-sorgo (CSS) y frijol pinto-caupí (PCS). Además, se recolectaron muestras de tierra vegetal (de 5 a 15 cm de profundidad) de un suelo forestal (FS) no cultivado en Poudre Canyon, ubicado en Greyrock Mountain en Fort Collins, CO. Se tomó una sola muestra compuesta de cada sitio (es decir, suelo a

y suelos no cultivados) se obtuvo de seis muestras que fueron recolectadas al azar y luego homogeneizado. El estudio también abarcó una investigación de dos enmiendas del suelo: fertilizante orgánico puro de humus de lombriz (WSA, UNCO Industries, Inc., Union Grove, WI, EE. UU.) y abono pro ovejas y turba (CSA, Permagreen Organics, Co., Arvada, CO, EE.UU.), ambos adquiridos a proveedores comerciales. Todas las muestras recolectadas se almacenaron en 4 °C hasta nuevos análisis biológicos para evaluar su impacto en el aislamiento de posibles PSM y ZnSM, considerando diversas prácticas de manejo del suelo. el fisicoquímico La caracterización tanto de las muestras de suelo como de las enmiendas del suelo (Tabla 1) se realizó utilizando los siguientes métodos: una proporción de suelo a agua de 1:1 para medir el pH, el DTPA extraíble Método Zn para análisis de zinc, método de pérdida por ignición para determinación de materia orgánica, y el método Menlich 3 para probar el fósforo. Estos análisis fueron realizados por Ward Laboratories, Inc. (Kearney, NE, EE. UU.). La conversión del fósforo a una forma accesible. a las plantas está significativamente influenciado por las propiedades del suelo, en particular el pH y el contenido de hierro. Estos Los factores afectan la disponibilidad de fósforo formando complejos solubles o insolubles. Para Para el aislamiento de microorganismos solubilizadores de fósforo (PSM) eficaces, es fundamental Elija sustratos que imiten fielmente estas condiciones naturales del suelo. Este enfoque asegura que los microorganismos aislados no sólo son eficaces en condiciones de laboratorio sino También son capaces de mejorar la disponibilidad de fósforo en una variedad de entornos agrícolas. Por lo tanto, nuestra selección de sustrato se guió por estas consideraciones para optimizar la práctica. aplicabilidad de los PSM aislados.

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de los ambientes elegidos para aislar PSM y ZnSM.

Parámetros	FS	CSS	PCS	WBS	CSA	WSA
pH del suelo	7.1	8.3	8.6	8.4	8,9	7.2
P disponible (mg kg ⁻¹)	15	91	73	—	1746	786
Zn disponible (mg kg ⁻¹)	1,62	1.46	1,83	1.36	133,5	119,9
Materia orgánica (%)	4.3	2.7	2.6	3.0	19.2	43,5

FS: suelo forestal; CCS: suelo maíz-maíz; PCS: frijol pinto-caupí; WBS: suelo trigo-cebada; CSA: enmienda del suelo con abono ; WSA: enmienda de lombriz para suelos.

2.2. Detección previa y aislamiento de PSM y ZnSM

Para el aislamiento de PSM y ZnSM en mayo de 2023, 1 g de cada suelo o enmienda La muestra se homogeneizó en 9 ml de solución salina estéril al 0,85%, seguida de 10 veces en serie. dilución (10–1 a 10–10) utilizando un método modificado [40]. Las suspensiones resultantes fueron sembrado por triplicado en Plate Count Agar (PCA, EM Industries, Inc., Darmstadt, Alemania) y se incubó a 30 °C durante la noche para identificar la dilución a partir de la cual fue posible contar las unidades formadoras de colonias (UFC) para estudios adicionales.

Para PSM, una alícuota de 100 ml de la dilución en serie con el recuento de colonias viables de cada La suspensión se extendió sobre el fosfato del Instituto Nacional de Investigación Botánica (NBRIP). agar medio [41] suplementado con β-fosfato tricálcico (β-TCP) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.), fitato de calcio (CaP) (TCI America, Portland, OR, EE. UU.) o roca fosfato (RP). El medio NBRIP para RP se modificó añadiendo azul de bromofenol. colorante a la concentración indicada por Li et al. [42] para mejorar la visualización. despues de las siete días de incubación a 30 °C, PSM con halos claros (es decir, para β-TCP y CaP) o halos amarillos (es decir, para RP) se purificaron volviendo a rayar cinco veces en placas de medio NBRIP para obtener puro presiones. Las cepas purificadas se conservaron a –80 °C en caldo de papa dextrosa (PDB, Difco Laboratories, Sparks, MD, EE. UU.) suplementados con 50% (v/v) de glicerol (Sigma-Aldrich, MO) para su posterior análisis.

De manera similar, se tomó una alícuota de 100 ml de la dilución seriada con el recuento de colonias viables. evaluado para ZnSM en medio Pikovskaya modificado [41] suplementado con 0,1% ZnO (Spectrum Chemical MFG, New Brunswick, Nueva Jersey, EE. UU.), ZnP (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.) o ZnC (MP Biomedicals, LLC, Solon, OH, EE. UU.). Pikóvskaya modificada El medio se considera el medio más eficiente para detectar ZnSM [29]. Lo mismo El método de almacenamiento similar al de los PSM se aplicó a los ZnSM.

2.3. Caracterización taxonómica de cepas aisladas En

junio de 2023 se obtuvieron un total de 25 aislamientos que exhibían capacidad de solubilización de P o Zn de diferentes entornos durante la selección previa. Entre estos aislados, 7 cepas bacterianas se identificaron mediante análisis de ADN r 16S, mientras que 18 cepas de hongos se sometieron a análisis de secuencia del gen ITS rDNA. Para la identificación de bacterias y hongos, se sembraron colonias individuales de cada cepa en placas PDA y se incubaron a 30 °C durante la noche para obtener cultivos frescos. Posteriormente, las placas de PDA se enviaron para la extracción y el análisis de ADN utilizando los servicios de secuenciación de ADN de Sanger proporcionados por Azenta Life Sciences-Genewiz, Inc. (South Plainfield, Nueva Jersey, EE. UU.).

2.4. Selección final de PSM y ZnSM EI

procedimiento experimental siguió de cerca el de la selección previa, con la excepción de que solo se seleccionaron para análisis posteriores las cepas que funcionaban bien de manera consistente en diferentes medios de P y Zn. De las 25 cepas iniciales aisladas en la selección previa, se retuvieron un total de seis cepas para análisis posteriores. Estas seis cepas se sometieron a pruebas adicionales en NBRIP sólido y líquido y en medios Pikovskaya modificados para identificar aquellas con la capacidad de solubilizar dos o más fuentes insolubles de P y Zn.

La estimación cualitativa de la solubilización de P y Zn por parte de los aislados bacterianos implicó la inoculación de 10 µL de cultivo bacteriano en fase logarítmica (inóculo ajustado a una densidad óptica (OD)₆₀₀ = 0,4~2,9 × 10⁸ UFC mL⁻¹) en el centro de NBRIP y medios Pikovskaya modificados, siguiendo las mismas condiciones que en el experimento de preselección. Para la estimación cualitativa de la solubilización de P y Zn por aislamientos de hongos, se inoculó un disco de 7 mm en el centro de NBRIP y medio Pikovskaya modificado. Los medios NBRIP no inoculados y Pikovskaya modificado sirvieron como controles. La eficiencia de solubilización de P y la eficiencia de solubilización de Zn se calcularon mediante una fórmula estándar como lo describen Nguyen et al. [43].

La estimación cuantitativa de la solubilización de P y Zn por aislados bacterianos implicó la inoculación de 10 ml de NBRIP y caldo Pikovskaya modificado (es decir, reemplazando el β-TCP con fuentes de Zn) con 100 µL de cultivo bacteriano en fase logarítmica [41]. Estos cultivos se mantuvieron en una incubadora-agitadora a 200 rpm durante siete días a 30 °C. Para la estimación cuantitativa de la solubilización de P y Zn por aislados de hongos, se utilizó la metodología descrita por Mittal et al. [44] se llevó a cabo. Brevemente, se inoculó un disco de 7 mm en 10 ml de NBRIP y caldo Pikovskaya modificado. Después de la incubación, el sobrenadante se obtuvo por centrifugación a 10.000 rpm durante 5 min y se filtró utilizando papel de filtro Whatman 1 [44]. Luego, se determinó la cantidad de solubilización de P utilizando un método de ácido ascórbico modificado a 882 nm [40,45] y el pH se midió utilizando un medidor de pH (multímetro HQ40d, Hach, Loveland, CO, EE. UU.). La solubilización de Zn fue analizada por Ward Laboratories, Inc. (Kearney, NE, EE. UU.).

2.5. Análisis estadístico Se

construyó un árbol filogenético utilizando el software Mega versión 11 mediante el método de unión de vecinos con 100 réplicas de arranque. El árbol filogenético se visualizó utilizando el paquete ggtree [46]. Los datos se analizaron utilizando RStudio Team 2023 versión 4.2.3 (PBC, Boston, MA, EE. UU.). Se realizó un análisis de varianza unidireccional (ANOVA), seguido de una prueba HSD de Tukey post-hoc. Las diferencias se consideraron significativas cuando $p < 0,05$. Los supuestos del modelo, incluida la homogeneidad de la varianza y la normalidad de los residuos, se evaluaron mediante la prueba de Shapiro-Wilk y la homocedasticidad mediante la prueba de Levene. Los datos que no cumplían con los supuestos (es decir, $p < 0,05$) se transformaron utilizando transformaciones sqrt o log. Además, las correlaciones entre los cambios de pH y la solubilización de P o Zn en los caldos se probaron con el coeficiente de correlación de Pearson ($p < 0,05$) para conjuntos de datos distribuidos normalmente. Para los datos no distribuidos normalmente, se calcularon los coeficientes de correlación de Spearman.

3. Resultados

3.1. Detección inicial de RSM y ZnSM de diferentes entornos

Se recuperaron un total de 25 microbios que exhibían capacidad de solubilización de P y Zn. Seis de estas cepas aisladas fueron identificadas como bacterias y clasificadas dentro de la familia *Pseudomonas* (Figura 1). Las 18 cepas restantes fueron identificadas como hongos del género *Aspergillus* (2), *Circinella* (1), *Fusarium* (6), *Galactomyces* (1), *Mucor* (2), *Neocosmospora* (1), *Penicillium* (4) y *Purpureocillium* (1).

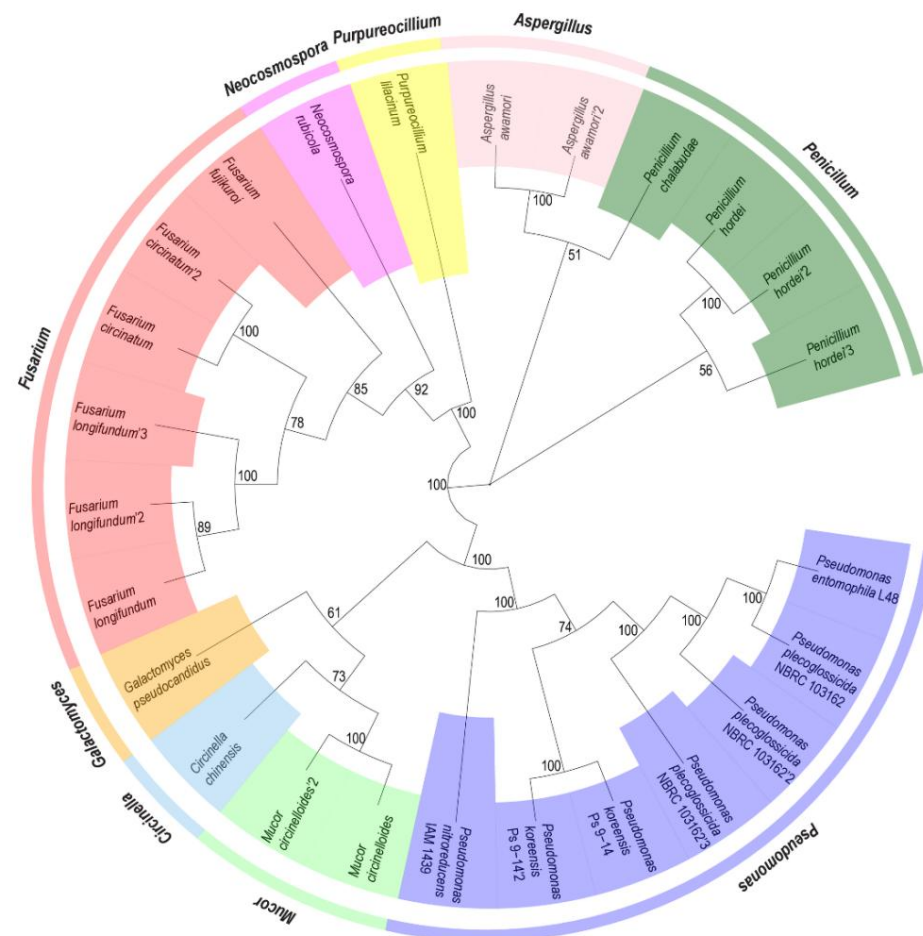


Figura 1. Árbol filogenético de 25 cepas aisladas con capacidad de solubilizar P y Zn. Los números en los nodos representan los niveles de soporte de los datos basados en 100 réplicas.

El árbol filogenético de 25 cepas aisladas con capacidad de solubilizar P y Zn (Figura 1). Este árbol filogenético muestra la relación evolutiva entre las cepas aisladas y sus respectivos entornos (Figura 2). Específicamente, se identificaron tres cepas de *Pseudomonas* (*P. entomophila* L48, *P. plecoglossicida* NBRC 103162 y *P. plecoglossicida* NBRC 103163) que mostraron una alta capacidad de solubilización de P y Zn en suelos de cultivo y enmiendas de suelo. Por el contrario, *Pseudomonas entomophila* L48 y *Pseudomonas* IAI 1439 eran específicas del ambiente, siendo el primero en suelos de cultivo y el segundo en enmiendas de suelo.

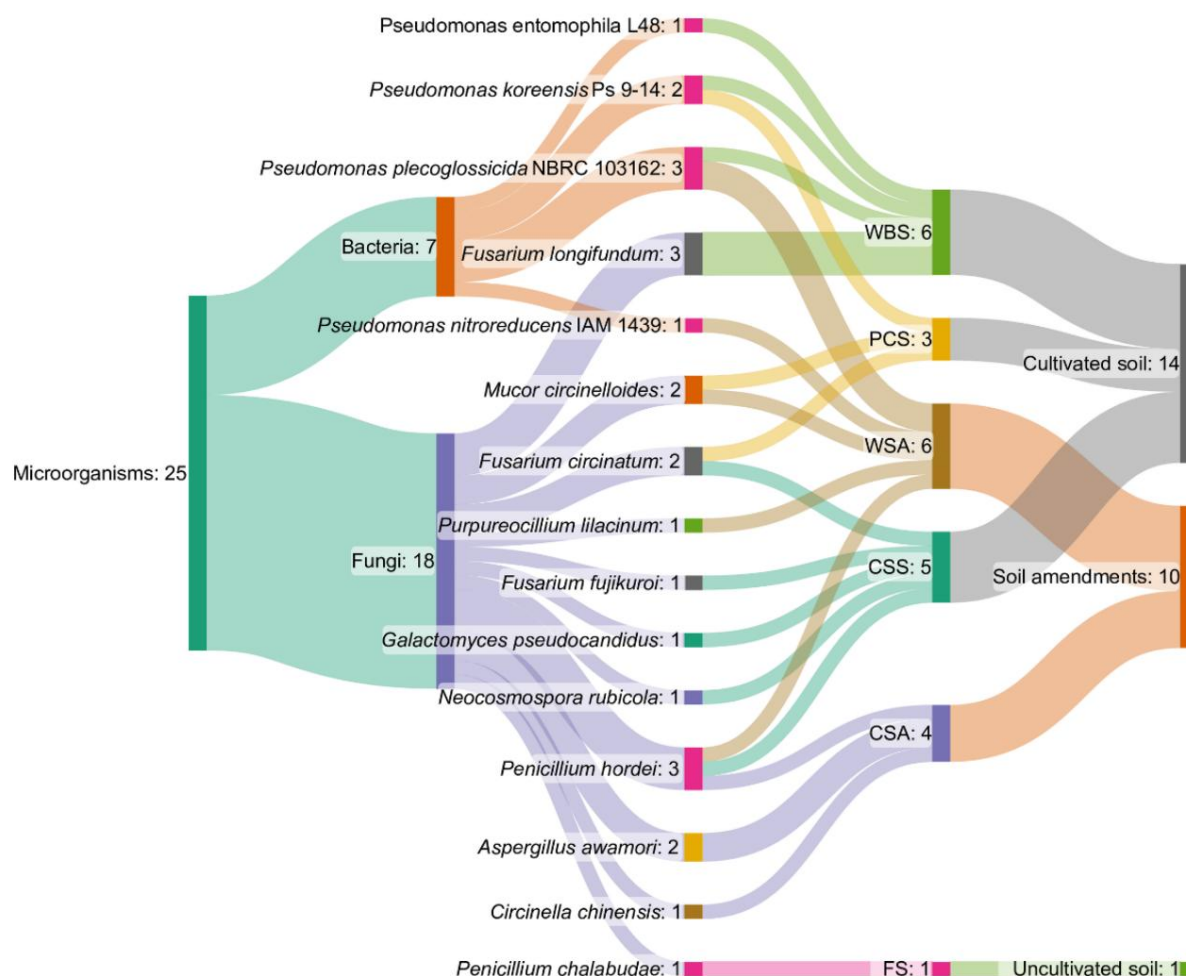


Figura 2. Diagrama de Sankey que ilustra los aislados de hongos y bacterias según sus entornos. El diámetro de las líneas es proporcional al número de cepas únicas o compartidas aisladas de cada uno de los seis ambientes diferentes: WBS: suelo de trigo y caupi, PCS: suelo de frijol pinto y caupi, WSA: gusano enmienda de suelo de colada, CSS: suelo de maíz-sorgo, CSA: enmienda de suelo de compost y FS: suelo de bosque.

El análisis filogenético también agrupó dos cepas de *Aspergillus awamori* y dos cepas de *Mucor circinelloides* con soporte 100% bootstrap (Figura 1). Se obtuvieron valores de arranque similares observado para dos cepas de *Fusarium circinatum* y para tres cepas de *Fusarium longifundum*. Además, tres cepas de *Penicillium hordei* también formaron un clado con un 56% de similitud, con dos de ellos forman un subclado terminal con soporte 100% bootstrap. En general, el Se clasificaron 18 cepas de hongos en 11 especies diferentes, lo que refleja sus asociaciones. hordei también formaron un clado con un 56% de similitud y dos de ellas formaron un subclado terminal con un 100% de soporte bootstrap. Entre las 18 cepas de hongos se aislaron exclusivamente de dos ambientes diferentes, suelo. Similarmente, refleja sus asociaciones con sus respectivos entornos (Figura 2). En particular, *Aspergillus awamori*, *Purpureocillium lilacinum* y *Circinella chinensis* se aislaron exclusivamente de enmiendas de suelo. Asimismo, *Fusarium longifundum*, *Fusarium fujikuroi*, *Galactomyces pseudocandidus* y *Neocosmospora rubicola* se identificaron únicamente en suelos cultivados, mientras que *Penicillium chabudae* solo se identificó en suelos no cultivados. Por el contrario, *Mucor circinelloides*, *Fusarium circinatum* y *Penicillium hordei* se aisló tanto de enmiendas de suelo como de suelos cultivados.

Este estudio arroja luz sobre la prevalencia de PSM y ZnSM en diferentes entornos. y *Neocosmospora rubicola* se identificaron únicamente en suelos cultivados, mientras que *Penicillium chabudae* solo fue identificado en suelos cultivados (56%) y enmiendas de suelo (40%). Se aislaron *Fusarium circinatum* y *Fusarium longifundum* de cereales, como el WBS (43%) y CSS (36%), en contraste con las rotaciones de cultivos de leguminosas, como la PCS (21%).

Entre las 15 especies de bacterias y hongos, 6 demostraron la capacidad de solubilizar múltiples fuentes insolubles de P y/o Zn. En particular, *Pseudomonas plecoglossicida* NBRC 103162 solubilizó las tres fuentes de P insolubles, mientras que *Fusarium circinatum* y *Fusarium longifundum* solubilizaron las tres fuentes de Zn insolubles. Entre los suelos cultivados, la mayor incidencia de PSM y ZnSM se observó en suelos con rotaciones de cultivos de cereales, como WBS (43%) y CSS (36%), en contraste con las rotaciones de cultivos de leguminosas, como la PCS (21%).

Entre las 15 especies de bacterias y hongos, 6 demostraron la capacidad de solubilizar mltl nslbl P ndr Zn srcls. Ntbl Psdmns lclsscd NBRC 103162

Machine Translated by Google

Las seis cepas que mostraron solubilización de múltiples fuentes insolubles de P y/o Zn en la selección inicial (Figura 3) se sometieron a una evaluación adicional para determinar su capacidad para solubilizar todas las fuentes insolubles de P y Zn probadas en NBRIP y en medios Pikovskaya modificados.

Aplica. Microbiol. 2024, 4 Los ensayos en placa revelaron que *Pseudomonas plecoglossicida* NBRC 103162, *Aspergillus awamori* y *Penicillium hordei* solubilizaron las tres fuentes de P insolubles analizadas con eficiencia variable (Figura 4). *Penicillium hordei* mostró una alta eficiencia en la solubilización de RP, mientras que *Pseudomonas plecoglossicida* NBRC destacó en la mineralización de CaP. Ambas cepas, junto con *Aspergillus awamori*, mostraron una solubilización de β -TCP similar. En particular, *Fusarium longifundum* podría ser un aislado prometedor para la solubilización de RP, aunque no pudo solubilizar las otras dos fuentes de P insolubles probadas. P y Zn utilizando todo el P y el Zn insolubles.

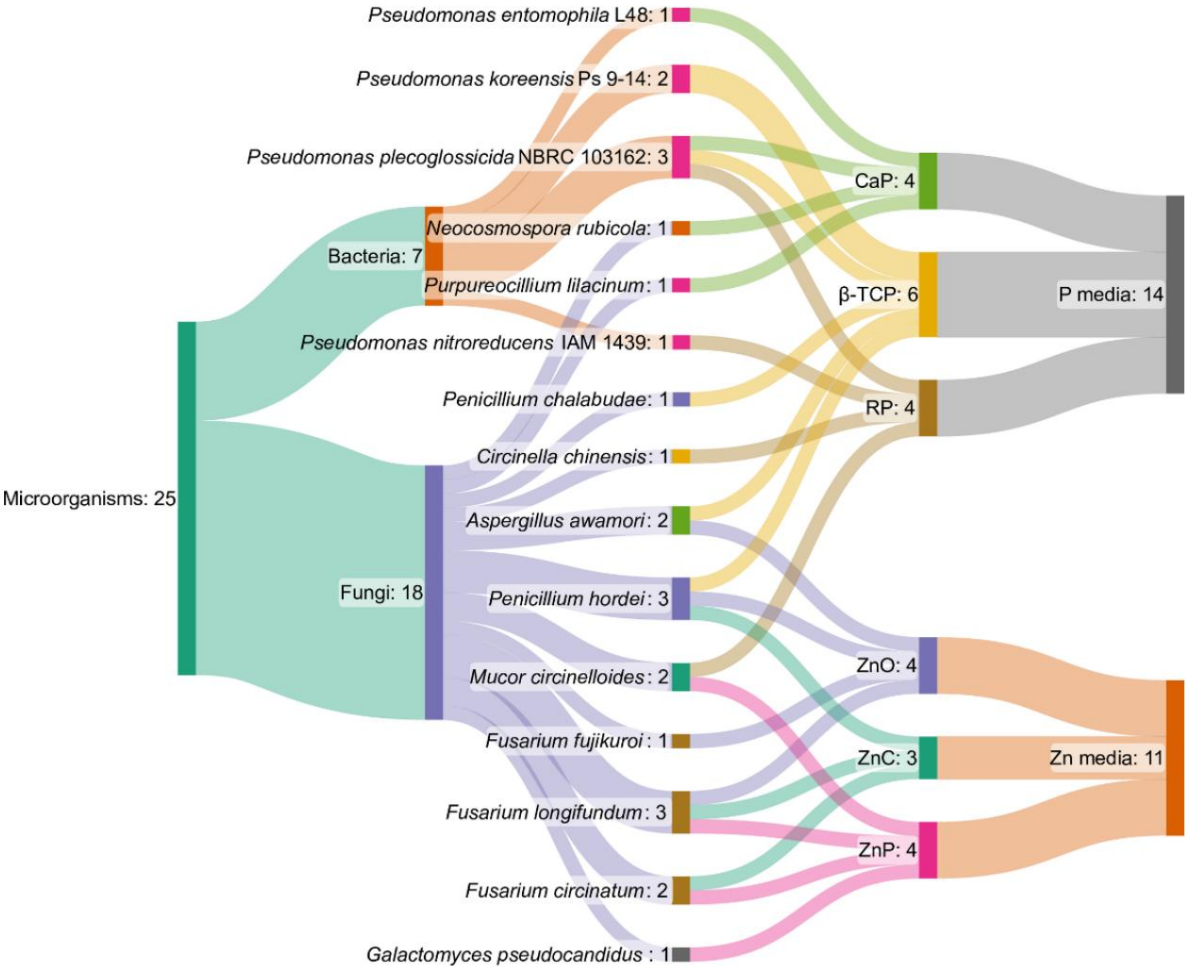
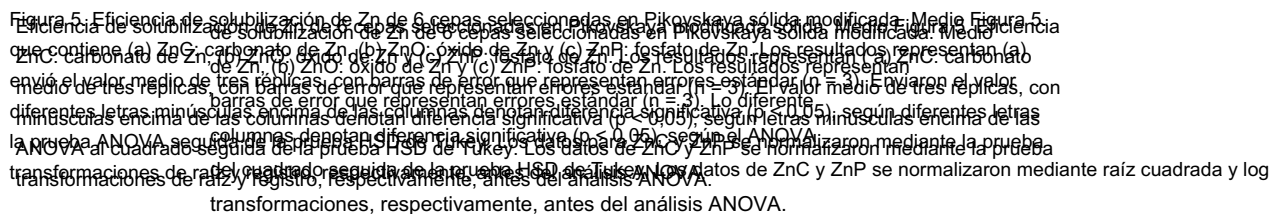
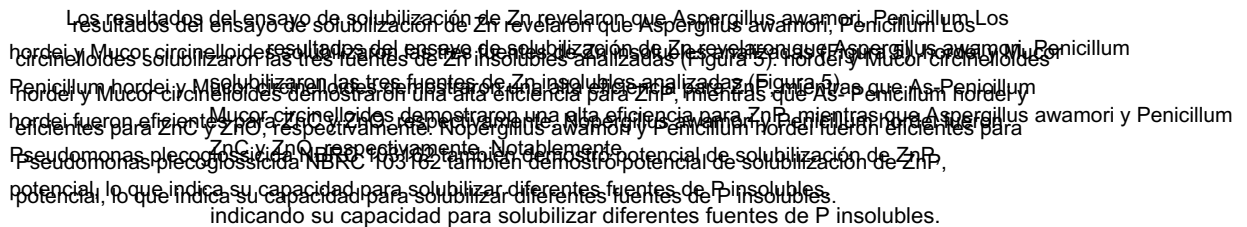


Figura 3. Diagrama de Sankey que ilustra el número de aislamientos de hongos y bacterias en cada nodo en función de su capacidad de solubilización de P y Zn. El diagrama muestra la distribución de las líneas es proporcional al número de cepas aisladas que participan en cada una de las seis fuentes insolubles de P y Zn. Las líneas de color representan las diferentes fuentes de P y Zn: CaP: fitato de calcio, β -TCP: β -tricalcio fosfato, RP: ácido fosfórico, ZnO: óxido de zinc, ZnC: carbonato de zinc, y ZnP: fosfato de zinc.

3.2. Detección de PSM y ZnSM con múltiples fuentes de P y Zn no disponibles

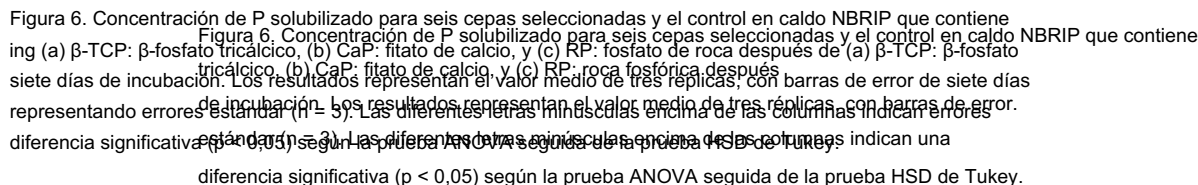
Las seis cepas que exhiben solubilización de múltiples fuentes insolubles de P y/o Zn en la selección inicial (Figura 3) se sometieron a una evaluación adicional para evaluar su capacidad para solubilizar todas las fuentes insolubles de P y Zn probadas en NBRIP y Pikovskaya modificada medios de comunicación. Los ensayos en placa revelaron que *Pseudomonas plecoglossicida* NBRC 103162, *Aspergillus awamori* y *Penicillium hordei* solubilizaron las tres fuentes de P insolubles probadas con diferentes eficiencia (Figura 4). *Penicillium hordei* mostró alta eficiencia en la solubilización de RP, mientras que *Pseudomonas plecoglossicida* NBRC se destacó en la mineralización de CaP. Ambas cepas, junto con *Aspergillus awamori* mostró una solubilización de β -TCP similar. En particular, *Fusarium longifundum* podría ser un aislado prometedor para la solubilización de RP, aunque no pudo solubilizar los otros dos probaron fuentes de P insolubles.



3.3. Detección de PSM y ZnSM en caldo líquido y cambios de pH

Los seis aislados seleccionados se sometieron a una prueba cuantitativa de todas las fuentes de P insoluble; re Los seis aislados seleccionados se sometieron a una prueba cuantitativa de todas las fuentes de P insoluble; re Los seis aislados seleccionados se sometieron a una prueba cuantitativa de ambas fuentes de P insoluble; re Las eficiencias variables de solubilización de P dependiendo de la cepa inoculada. *Aspergillus awamori*, *Fusarium circinatum*, *Fusarium longifundum* y

y Mucor circinelloides demostraron capacidades significativas de solubilización y mineralización en caldos NBRIP que contienen β -TCP, CaP de BSA en comparación con el control (Figura 6). En particular, Mucor circinelloides mostró la mayor concentración de Ca^{2+} y P^{3-} en caldos NBRIP que contienen β -TCP. Los caldos NBRIP que contienen β -TCP y CaP de Rapa presentaron los mejores resultados para los parámetros Ca^{2+} y P^{3-} con cambios de 3,7, 1,8 y 8,9, respectivamente. Por el contrario, los cambios en Ca^{2+} y P^{3-} en caldos NBRIP que contienen β -TCP, CaP pleocoglossida NBRIP de 2,6, 1,2 y 8,9, respectivamente. Por lo tanto, se puede concluir que Mucor circinelloides puede solubilizar y mineralizar β -TCP y CaP de Rapa y CaP pleocoglossida NBRIP de 2,6, 1,2 y 8,9, respectivamente. En conclusión, se puede concluir que Mucor circinelloides es capaz de solubilizar y mineralizar β -TCP, CaP y β -TCP, respectivamente. En conclusión, se puede concluir que Mucor circinelloides es capaz de solubilizar y mineralizar β -TCP, CaP y β -TCP, respectivamente).



La solubilización de P observada coincidió con un cambio de pH hacia el rango ácido después La solubilización de P observada coincidió con un cambio de pH hacia el rango ácido después

siete días de incubación (Tabla 2). Mucor circinelloides indujo el pH más significativo a los siete días de incubación (Tabla 2). Mucor circinelloides indujo el pH más significativo

reducción de β -TCP, CaP y RP en comparación con el control (-0,5, -0,3 y -1,0 log2 reducción de β -TCP, CaP y RP en comparación con el control (-0,5, -0,3 y -1,0 log2 veces cambios, respectivamente). Esta cepa exhibió el valor de pH más bajo junto con cambios de concentración altos, respectivamente). Esta cepa exhibió el valor de pH más bajo junto con altas contracciones de P soluble, lo que podría sugerir producción de ácido orgánico y posteriores centrados de P soluble en el medio, lo que podría sugerir producción de

acidificación. El análisis de correlación apoyó aun más esta relación entre el pH y la acidificación del medio. El análisis de correlación apoyó aun más esta relación entre el

aumento de los caldos y el aumento de la solubilización de P. Las correlaciones negativas fueron la disminución del pH en los caldos y el aumento en la solubilización de P. Las correlaciones negativas fueron

servido para caldos NBRIP que contienen β -TCP ($r = -0,71$; $p < 0,001$) y RP ($r = -0,94$; $p < 0,0001$) según la prueba de correlación no paramétrica de Spearman. Sin embargo, se obtuvo un nonsig- $p < 0,0001$) según la prueba de correlación no paramétrica de Spearman. Sin embargo, se observó una correlación no significativa ($r = -0,38$; $p > 0,05$) para CaP según la correlación de Pearson. Se observó una correlación significativa ($r = -0,38$; $p > 0,05$) para CaP según Pearson.

prueba de lación. prueba de correlación.

Tabla 2. pH medio del caldo NBRIP después de siete días de incubación con cada una de las seis cepas seleccionadas. Los datos representan la media $\pm$ error estándar ($n = 3$). Las diferentes letras en las mismas columnas denotan signos. Los datos representan la media $\pm$ error estándar ($n = 3$). Las diferentes letras en las mismas columnas indican diferencia significativa ($p < 0,05$) según la prueba ANOVA seguida de la prueba HSD de Tukey.

Presiones		β-TCP		Gorra		PR	
Presiones		pH	β-TCP	pH	Gorra	pH	PR
Aspergillus awamori	5,30 ± 0,07 d	pH	6,01 ± 0,03 c	pH	5,11 ± 0,05 c	pH	
Fusarium longifundum	5,25 ± 0,02 c	Fusarium circinatum	5,50 ± 0,02 c	5,84 ± 0,03 días	6,01 ± 0,03 c	4,65 ± 0,12 días	5,11 ± 0,05 c
	5,30 ± 0,07 d	Mucor mucedo	5,42 ± 0,03 d	5,78 ± 0,04 días	5,84 ± 0,03 c	4,52 ± 0,16 días	4,65 ± 0,12 d
	5,88 ± 0,08	Penicillium hordei	6,37 ± 0,01 b	5,51 ± 0,08 e	5,78 ± 0,04 d	4,52 ± 0,16 días	4,52 ± 0,16 d
		Pseudomonas plecoglossicida	NBRC		5,51 ± 0,08 e	3,69 ± 0,13 mi	3,69 ± 0,13 b
					6,37 ± 0,01	6,27 ± 0,09 b	6,27 ± 0,09
	103162		5,14 ± 0,02		5,83 ± 0,02		5,09 ± 0,01 c
	Mando		6,77 ± 0,14 a		6,75 ± 0,07 a		7,53 ± 0,16 a

Pseudomonas plecoglossicida NBRC 103162	5,14 ± 0,02 días	5,83 ± 0,02 d	5,09 ± 0,01 c
Aplica. Microbiol. 2024, 4			
Control	6,77 ± 0,14a	6,75 ± 0,07a	7,53 ± 0,16a

Entre las seis cepas evaluadas por su capacidad para solubilizar todo el Zn insoluble probado Entre las seis cepas evaluadas por su capacidad para solubilizar todo el Zn insoluble probado fuentes, Aspergillus awamori, Fusarium circinatum y Fusarium longifundum demostraron fuentes, Aspergillus awamori, Fusarium circinatum y Fusarium longifundum demostraron habilidad para solubilizar Zn en caldos que contienen ZnO y ZnP en comparación con el control, con cambios log2 veces de 2,1 y 3,0 log2 veces, respectivamente. Mientras tanto, Mucor circinelloides presentó el cambio y mayor capacidad para solubilizar Zn en caldos que contienen ZnO y ZnP en comparación con el control, con cambios log2 veces de 7,8 y 2,4, respectivamente. En particular, Penicillium hordei y Pseudomonas monas plecoglossicida NBRC 103162 no pudieron solubilizar más Zn que el control.

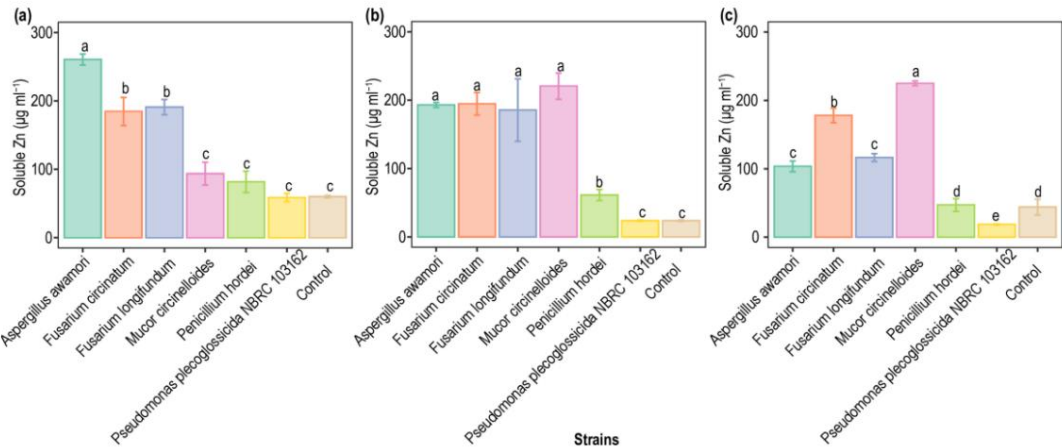


Figura 7. Concentración de Zn solubilizado para las seis cepas seleccionadas y el control en caldo Pikovskaya modificado que contiene (a) ZnC: carbonato de Zn, (b) ZnO: óxido de Zn y (c) ZnP: fosfato de Zn. Los resultados representan la media ± error estándar (n = 3). Las diferentes letras minúsculas encima de las columnas denotan una diferencia significativa (p < 0,05) según la prueba ANOVA seguida de la prueba HSD de Tukey. Los datos de ZnO se normalizaron mediante log transformaciones antes del análisis ANOVA.

La solubilización de Zn estuvo acompañada de un cambio notable en el pH hacia el rango ácido después de siete días de incubación (Tabla 3). Mucor circinelloides indujo la solubilización más significativa de Zn estuvo acompañada por un cambio notable en el pH hacia el ácido. disminución significativa del pH para ZnO y ZnP en comparación con el control (rango de -0,1 y -0,7 log2 veces después de siete días de incubación (Tabla 3). Mucor circinelloides indujo la mayor cambios, respectivamente). De manera similar, Aspergillus awamori mostró la mayor reducción en el pH, disminución significativa del pH para ZnO y ZnP en comparación con el control (-0,1 y -0,7 log2 veces) . en comparación con el tratamiento de control (cambio de -0,1 log2 veces). Estas cepas presentaron los cambios, respectivamente). De manera similar, Aspergillus awamori mostró la mayor reducción en el pH. concentración más alta de Zn soluble junto con el valor de pH más bajo, lo que podría sugerir en comparación con el tratamiento de control (cambio de -0,1 log2 veces). Estas cepas presentaron la Producción de ácidos orgánicos y posterior acidificación de los medios. El análisis de correlación muestra la concentración más alta de Zn soluble junto con el valor de pH más bajo, lo que podría sugerir apoyó la relación inversa entre la disminución del pH en los caldos y la cantidad de producción de ácido orgánico y la posterior acidificación de los medios. Análisis de correlación más profundo de Zn soluble, que muestra relaciones negativas para los caldos Pikovskaya modificados que contienen, apoyó la relación inversa entre la disminución del pH en los caldos y la cantidad ing ZnC (r = -0,65; p = 0,01), ZnO (r = -0,60; p < 0,01) y ZnP (r = -0,93; p < 0,0001) según Zn soluble, aplicando la prueba de correlación no paramétrica de Spearman. ZnC (r = -0,65; p = 0,01), ZnO (r = -0,60; p < 0,01) y ZnP (r = -0,93; p < 0,0001) según a la prueba de correlación no paramétrica de Spearman.

Tabla 3. pH medio del caldo Pikovskaya modificado después de siete días de incubación con cada uno de los seis cepas seleccionadas. Los datos representan la media ± error estándar (n = 3). Las diferentes letras en el mismo las columnas denotan diferencias significativas (p < 0,05) según la prueba ANOVA seguida de la de Tukey HSD de

	pH	pH pH	
	ZnC	ZnO	ZnP
Aspergillus awamori	6,77 ± 0,02 b	6,73 ± 0,07 c	5,11 ± 0,06 c
Presiones			
Aspergillus awamori	6,77 ± 0,02 b	CD 6,73 ± 0,07	5,11 ± 0,06 días c
Fusarium circinatum	7,16 ± 0,14 a	7,06 ± 0,03 b	4,71 ± 0,11 5,00
Fusarium longifundum	7,18 ± 0,04 a	± 0,09 d 6,68 ± 0,01	± 0,06 4,40 ± c
Mucor circinelloides	7,18 ± 0,05 a	aC 6,89 ± 0,09 0,06	0,01 b m
Penicillium hordei	7,26 ± 0,04 a		5,96 ± 0,09
Pseudomonas plecoglossicida NBRC 103162	7,22 ± 0,06 a	6,99 ± 0,08 7,26 b	6,74 ± 0,06 a
Control	7,29 ± 0,05 a	± 0,05 a	6,94 ± 0,09 a

4. Discusión

Dadas las diversas composiciones químicas de los suelos, el uso de β -TCP como fuente universal de P insoluble para aislar PSM no es confiable [24]. Por lo tanto, se utilizaron diferentes fuentes de P insoluble (β -TCP, CaP y RP) o fuentes de Zn (ZnC, ZnO y ZnP) para aislar 25 cepas bacterianas y fúngicas con capacidad de solubilización de P o Zn durante la selección inicial en medios de comunicación. Entre las 25 cepas microbianas aisladas, se encontró que 6 cepas de los géneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium* y *Pseudomonas* poseían la capacidad de solubilizar múltiples fuentes insolubles de P y/o Zn en los medios. Estos hallazgos son consistentes con estudios previos que encontraron microbios pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Pseudomonas* como PSM y ZnSM dominantes en suelos agrícolas [32–34,44,47–52].

Con el fin de establecer un proceso eficaz para seleccionar PSM y ZnSM, las seis especies del análisis inicial se probaron en todas las fuentes insolubles de P y Zn en diferentes condiciones. Se encontraron diferencias entre medios y caldos. Por ejemplo, aunque *Mucor circinelloides*, *Fusarium circinatum* y *Fusarium longifundum* no exhibieron halos para todas las fuentes de P insoluble en los medios, pudieron solubilizar todas las fuentes de P insoluble en caldos. *Pseudomonas plecoglossicida* mostró halos para todas las fuentes de P insolubles en los medios, pero solo para β -TCP solubilizado en caldos. Esto se alinea con informes anteriores de que el género *Pseudomonas* tiene una pobre solubilización y mineralización de P [53].

Se observaron tendencias similares para los medios Zn. *Pseudomonas plecoglossicida* NBRC 103162 exhibió un halo en los medios pero no solubilización de Zn en caldos. Por el contrario, *Aspergillus awamori* mostró el porcentaje más alto de eficiencia de solubilización de Zn en medios que contienen ZnC, similar a su capacidad para solubilizar la mayor cantidad de Zn en caldo con la misma fuente insoluble. Se encontraron resultados similares para *Mucor circinelloides* en medios y caldos que contienen ZnP. Sin embargo, esta tendencia no se observó en medios o caldos que contenían ZnO. De acuerdo con estos hallazgos, otros investigadores han informado una correlación deficiente entre los medios y los caldos para PSM debido a las variaciones en las tasas de difusión de diferentes ácidos orgánicos secretados en los medios [24,47].

Los caldos que contenían PSM y ZnSM revelaron una relación inversa entre P o Zn soluble y el pH. Esta tendencia fue particularmente evidente en *Aspergillus awamori* y *Mucor circinelloides*, enfatizando el papel potencial de la producción de ácidos orgánicos en la solubilización de P y Zn, como informaron previamente otros autores [24,47,49,54]. Aunque los hongos producen más ácidos orgánicos que las bacterias [49,53], el tipo y la cantidad de ácidos orgánicos producidos pueden variar dependiendo del tiempo y la temperatura de incubación, así como de la fuente insoluble [47,55]. Potencialmente, esto podría explicar por qué los hongos exhibieron una mayor capacidad para solubilizar P y Zn en comparación con las bacterias en este estudio, así como las diferencias en las capacidades de solubilización entre los aislados. Este resultado es consistente con otros estudios donde los hongos demostraron una mayor efectividad en la solubilización de fuentes insolubles de P, como β -TCP y RP [56] y fuentes de Zn, incluidos ZnO, ZnP y sulfato de Zn [29], en comparación con las bacterias. Para *Aspergillus awamori*, *Fusarium circinatum*, *Fusarium longifundum* y *Mucor circinelloides*, que también exhibieron la capacidad de mineralizar fuentes de P orgánico insoluble, esta capacidad podría atribuirse a enzimas como las fosfatasa y las fitasa. Si bien algunos estudios también han informado sobre la capacidad de los géneros *Mucor* y *Fusarium* para solubilizar P [47,55,57–60], no hay información sobre su capacidad para solubilizar Zn. Sin embargo, esta investigación ha demostrado por primera vez que cepas de los géneros *Mucor* y *Fusarium* pueden solubilizar Zn.

Este estudio reveló que los hongos mostraron una mayor eficiencia potencial como PSM y ZnSM que las bacterias en suelos agrícolas bajo sistemas de rotación de cultivos y enmiendas del suelo. Se aislaron *Fusarium circinatum* y *Fusarium longifundum* de suelos cultivados bajo sistemas de rotación de cultivos. *Mucor circinelloides* también se identificó tanto en suelos cultivados como en enmiendas de suelo, mientras que *Aspergillus awamori* se encontró en enmiendas de suelo. Sin embargo, las diversas condiciones del suelo en suelos no cultivados y las enmiendas del suelo plantearon desafíos para determinar cómo estas condiciones afectan la presencia y eficiencia de diversas especies microbianas. Se han demostrado resultados similares en estudios que muestran que los PSM y ZnSM eficientes son más abundantes en los sistemas de rotación de cultivos que en ambientes no cultivados debido a

para cultivar raíces de plantas que proporcionan nutrientes específicos que promueven el crecimiento microbiano diferencial, lo que a su vez afecta la composición y densidad de la comunidad microbiana del suelo [35]. Otro estudio comparó la densidad de población y la distribución biogeográfica de los PSM de 40 sitios diferentes en toda China e informó que los PSM son más abundantes en suelos agrícolas que en desiertos, bosques, pastizales y suelos minados [34]. De manera similar, un estudio previo también demostró que los usos de la tierra (por ejemplo, suelos no cultivados y suelos cultivados) pueden tener un efecto pronunciado sobre la capacidad de solubilización entre cepas, incluso aquellas del mismo género [20,61,62]. En ese estudio, los autores informaron que los suelos no cultivados mostraban PSM más eficientes en comparación con los suelos cultivados debido a la baja capacidad de los PSM en suelos cultivados como resultado de prácticas agrícolas intensivas. Para promover PSM eficientes, el estudio recomendó la adopción de prácticas agrícolas sostenibles y fertilizantes orgánicos. Por lo tanto, este estudio demuestra que las enmiendas orgánicas del suelo y las buenas prácticas agrícolas, como la rotación de cultivos, pueden promover PSM y ZnSM eficientes. Sin embargo, evaluar la relación entre su prevalencia y parámetros como los niveles disponibles de P y Zn, así como el porcentaje de materia orgánica, resultó desafiante debido a las variaciones en estos parámetros, ya que las enmiendas del suelo exhibieron valores más altos en comparación con los suelos cultivados.

El presente estudio también destacó que si bien es importante detectar PSM y ZnSM mediante el uso de diferentes fuentes de P y Zn insolubles en los medios, el control cualitativo debe complementarse con un control cuantitativo en caldos para identificar PSM y ZnSM eficientes. Este estudio también subraya el potencial del uso de consorcios microbianos para solubilizar/mineralizar diversas fuentes insolubles del suelo, lo que podría mejorar significativamente el rendimiento y la calidad de los cultivos. La inclusión de hongos específicos, como *Fusarium circinatum* y *Fusarium longifundum*, junto con *Mucor circinelloides* y *Aspergillus awamori*, enriquece este potencial. Estos hallazgos resaltan la importancia de diversas especies microbianas para mejorar la biofortificación del suelo y, en consecuencia, la productividad agrícola.

5. Conclusiones

En conclusión, adoptar un enfoque más eficiente para la identificación de PSM y ZnSM eficientes implica aislar cepas de diferentes suelos o prácticas de manejo del suelo, como sistemas de rotación de cultivos o enmiendas del suelo. Nuestros resultados revelaron que algunas cepas de hongos no produjeron zonas de halo en placas de agar pero mostraron solubilización en medios líquidos, mientras que las cepas bacterianas produjeron zonas de halo pero mostraron una menor solubilización en medios líquidos en comparación con las cepas de hongos. Esto resalta que la solubilización de P y Zn varía dependiendo de las fuentes insolubles y de las cepas inoculadas. Por lo tanto, si bien las pruebas en medios con varias fuentes insolubles de P y Zn en conjunto sirven como un valioso método de selección previa para reducir las cepas, se recomiendan pruebas adicionales en caldos para proporcionar una indicación aceptable de la capacidad de solubilización de P y Zn, así como para identificar soluciones eficientes. PSM y ZnSM. De los 25 aislados, se seleccionaron *Aspergillus awamori*, *Fusarium circinatum*, *Fusarium longifundum* y *Mucor circinelloides* como las cepas más eficientes para solubilizar P y Zn. Este estudio también demostró que las cepas de los géneros *Mucor* y *Fusarium* pueden solubilizar Zn. A pesar de su capacidad para liberar P de fuentes tanto orgánicas como inorgánicas, así como Zn de diferentes fuentes, dada la complejidad de las condiciones del suelo en comparación con los entornos *in vitro*, se deben realizar más estudios sobre sus interacciones antes de considerar las aplicaciones. Otros estudios también deberían explorar los efectos combinados de estos PSM y ZnSM de diferentes entornos, con el objetivo de desarrollar un biofertilizante compuesto con propiedades multifuncionales y de mayor calidad. Esto podría mejorar la biodisponibilidad de P y Zn y mejorar su efectividad en condiciones de campo, a pesar de factores desafiantes como las propiedades del suelo, las condiciones ambientales y la competencia con los microorganismos nativos del suelo.

Contribuciones de los autores: Conceptualización, SI-V., AA y JMV; metodología, SI-V. y AA; análisis formal, SI-V.; escritura—preparación del borrador original, SI-V.; redacción: revisión y edición, SI-V., AA, BR y JMV; visualización, SI-V.; supervisión, JMV; adquisición de financiación, JMV. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

Financiamiento: Esta investigación fue financiada por la subvención número 58-30602032 de la Iniciativa de Salud de Cultivos de Pulsos del USDA-ARS.

Declaración de disponibilidad de datos: Los datos que respaldan los hallazgos de este estudio están disponibles del autor correspondiente previa solicitud razonable.

Conflictos de intereses: Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Referencias

- Hawkesford, M.; Horst, W.; Kichey, T.; Lambers, H.; Schjoerring, J.; Möller, IS; White, P. Capítulo 6—Funciones de los macronutrientes. En *Nutrición mineral de plantas superiores de Marschner*, 3ª ed.; Marschner, P., Ed.; Prensa académica: San Diego, CA, EE. UU., 2012; págs. 135–189, ISBN 978-0-12-384905-2.
- Cakmak, I.; Kutman, UB Biofortificación agronómica de cereales con zinc: una revisión. *EUR. J. Ciencia del suelo*. 2018, 69, 172–180. [\[Referencia cruzada\]](#)
- Haroon, M.; Khan, S.; Malik, A. Bacterias solubilizadoras de zinc: una opción para aumentar la absorción de zinc por las plantas. En *biofertilizantes microbianos y Disponibilidad de Micronutrientes*; Springer: Cham, Suiza, 2022; págs. 207–238, ISBN 978-3-030-76608-5.
- Prasad, R.; Shivay, Y.; Kumar, D. Capítulo dos. Biofortificación agronómica de granos de cereales con hierro y zinc. En *Avances en Agronomía*; Elsevier: Ámsterdam, Países Bajos, 2014; Volumen 125, págs. 55–91, ISBN 978-0-12-800137-0.
- Zhu, J.; Li, M.; Whelan, M. Los activadores de fósforo contribuyen a la disponibilidad de fósforo heredado en suelos agrícolas: una revisión. *Ciencia. Medio ambiente total*. 2018, 612, 522–537. [\[Referencia cruzada\]](#)
- Dinesh, R.; Srinivasan, V.; Hamza, S.; Sarathambal, C.; Anke Gowda, SJ; Ganeshamurthy, AN; Gupta, SB; Aparna Nair, V.; Subila, KP; Lijina, A.; et al. Aislamiento y caracterización de posibles bacterias solubilizadoras de Zn del suelo y sus efectos sobre las tasas de liberación de Zn del suelo, el Zn disponible en el suelo y el contenido de Zn en las plantas. *Geoderma* 2018, 321, 173–186. [\[Referencia cruzada\]](#)
- Li, HP; Han, Q.-Q.; Liu, Q.-M.; Gan, YN; Rensing, C.; Rivera, WL; Zhao, Q.; Zhang, J.-L. Funciones de las bacterias solubilizadoras de fosfato en la mediación de la disponibilidad de fósforo heredado del suelo. *Microbiol. Res.* 2023, 272, 127375. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Gupta, DK; Chatterjee, S.; Datta, S.; Veer, V.; Walther, C. Papel de los fertilizantes fosfatados en la absorción de metales pesados y la desintoxicación de metales tóxicos. *Quimiosfera* 2014, 108, 134–144. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Mahanty, T.; Bhattacharjee, S.; Goswami, M.; Bhattacharyya, P.; Das, B.; Ghosh, A.; Tribedi, P. Biofertilizantes: un enfoque potencial para el desarrollo agrícola sostenible. *Reinar. Ciencia. Contaminación. Res.* 2017, 24, 3315–3335. [\[Referencia cruzada\]](#)
- Xu, J.; Fan, L.; Xie, Y.; Wu, G. Estrategia de equilibrio de reciclaje para el control de la contaminación por fosfatos en plantas de fertilizantes fosfatados. *J. Limpio. Pinchar.* 2019, 215, 175–197. [\[Referencia cruzada\]](#)
- Indraratne, SP; Spengler, M.; Hao, X. Cargas de estiércol de ganado y efectos heredados sobre la disponibilidad de cobre y zinc en condiciones de secano y condiciones de riego. *Poder. J. Suelo. Ciencia.* 2021, 101, 305–316. [\[Referencia cruzada\]](#)
- Aboyeji, C.; Dunsin, O.; Aruna Olasekan, A.; Suleimán, K.; Chinedum, C.; Fe, O.; José, A.; Ejue, W.; Adesola, O.; Olofintoye, J.; et al. Efectos sinérgicos y antagonistas de los fertilizantes de P y Zn aplicados al suelo sobre el rendimiento, la composición de minerales y metales pesados del maní. *Agricultura abierta*. 2020, 5, 1–9. [\[Referencia cruzada\]](#)
- Pavinato, PS; Querubín, MR; Soltangheisi, A.; Rocha, GC; Chadwick, República Dominicana; Jones, DL Revelando el fósforo heredado del suelo para promover la agricultura sostenible en Brasil. *Ciencia. Rep.* 2020, 10, 15615. [\[CrossRef\]](#)
- Sánchez-Rodríguez, AR; Rey, M.-D.; Nechaté-Drif, H.; Castillejo, M.Á.; Jorrín-Novo, JV; Torrente, J.; del Campillo, MC; Sacristán, D. Combinación de fertilización con P y Zn para mejorar el rendimiento y la calidad del grano en maíz cultivado en suelos mediterráneos. *Ciencia. Rep.* 2021, 11, 7427. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Zou, T.; Zhang, X.; Davidson, EA Tendencias globales del uso de fósforo en tierras de cultivo y desafíos de sostenibilidad. *Naturaleza* 2022, 611, 81–87. [\[Referencia cruzada\]](#)
- Afkairin, A.; Dixon, MM; Buchanan, C.; Hipólito, JA; Manter, DK; Davis, JG; Vivanco, JM Aprovechamiento de bacterias insensibles a los fertilizantes de fósforo (P) para mejorar la biodisponibilidad de P en la rizosfera en leguminosas. *Microorganismos* 2024, 12, 353. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- FAO. El futuro de la alimentación y la agricultura: tendencias y desafíos; Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura: Roma, Italia, 2017; ISBN 978-92-5-109551-5.
- Natasha, N.; Shahid, M.; Bibi, I.; Iqbal, J.; Khalid, S.; Murtaza, B.; Bakhat, HF; Farooq, AB; Amjad, M.; Hammad, HM; et al. Zinc en el sistema suelo-planta-humano: una revisión del análisis de datos. *Ciencia. Medio ambiente total*. 2022, 808, 152024. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Dixon, MM; Afkairin, A.; Davis, JG; Chitwood-Brown, J.; Buchanan, CM; Hipólito, JA; Manter, DK; Vivanco, JM La domesticación del tomate en lugar de los eventos de reproducción posteriores reduce las asociaciones microbianas relacionadas con la recuperación de fósforo. *Ciencia. Reps.* 2024, 14, 9934. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Kaur, R.; Kaur, S. Variación en las bacterias solubilizadoras de fosfato de suelos vírgenes y agrícolas de Punjab. *actual. Microbiol.* 2020, 77, 2118–2127. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Él, Y.; Pantigoso, HA; Wu, Z.; Vivanco, JM Coinoculación de bacillus sp. y pseudomonas putida en diferentes etapas de desarrollo actúa como bioestimulante para promover el crecimiento, rendimiento y absorción de nutrientes del tomate. *J. Aplica. Microbiol.* 2019, 127, 196–207. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Tariq, señor; Shaheen, F.; Mustafa, S.; Ali, S.; Fátima, A.; Shafiq, M.; Safdar, W.; Sheas, Minnesota; Hameed, A.; Nasir, MA Los microorganismos solubilizantes de fosfato aislados de plantas medicinales mejoran el crecimiento de la menta. *PeerJ* 2022, 10, e13782. [\[Referencia cruzada\]](#)

23. Wang, C.; Pan, G.; Lu, X.; Qi, W. Microorganismos solubilizadores de fósforo: posibles promotores de la agricultura y el medio ambiente. *ingeniería. Frente. Bioeng. Biotecnología*. 2023, 11, 1181078. [\[Referencia cruzada\]](#)
24. Armandeh, M.; Mahmoudi, N.; Nosratabad, A. Detección y evaluación de bacterias solubilizadoras de fosfato aisladas de estanques de acuicultura en una estrategia paso a paso como biofertilizante potencial. *J. Aplica. Microbiol.* 2022, 133, 15660. [\[Referencia cruzada\]](#)
25. Pantigoso, HA; Ey.; Manter, DK; Fuente, SJ; Vivanco, JM Las bacterias solubilizadoras de fósforo aisladas de la rizosfera de la papa silvestre *Solanum bulbocastanum* mejoran el crecimiento de las variedades modernas de papa. *Toro. Nacional. Res. Centavo*. 2022, 46, 224. [\[Referencia cruzada\]](#)
26. Tallapragada, P. Solubilización de diferentes fosfatos inorgánicos por *aspergillus niger* y *penicilium oxalicum*. *Adv. Bioinvestigación* 2015, 6, 113-119.
27. Iqbal, U.; Jamil, N.; Ali, yo; Hasnain, S. Efecto de los aislados bacterianos solubilizantes de fosfato de zinc sobre el crecimiento de *vigna radiata*. *Ana. Microbiol.* 2010, 60, 243–248. [\[Referencia cruzada\]](#)
28. Zaheer, A.; Malik, A.; Sher, A.; Mansoor Qaisrani, M.; Mehmood, A.; Ullah Khan, S.; Ashraf, M.; Mirza, Z.; Karim, S.; Rasool, M. Aislamiento, caracterización y efecto de cepas bacterianas solubilizantes de fosfato-zinc sobre el crecimiento del garbanzo (*Cicer arietinum* L.). *Arabia J. Biol. Ciencia*. 2019, 26, 1061–1067. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
29. Shaikh, S.; Saraf, M. Optimización de las condiciones de crecimiento para bacterias y hongos asociados al crecimiento de plantas solubilizantes de zinc. *J. Adv. Res. Biotecnología*. 2017, 2, 1–9. [\[Referencia cruzada\]](#)
30. Eshaghi, E.; Nosrati, R.; Búholia, P.; Malboobi, MA; Ghaseminejad, P.; Ganjali, MR Características de solubilización de zinc de bacterias del suelo productoras de sideróforos eficientes. *Irán. J. Microbiol.* 2019, 11, 419–430. [\[Referencia cruzada\]](#)
31. Ahmad, I.; Ahmad, M.; Hussain, A.; Jamil, M. Uso integrado de la cepa IA6 de *bacillus subtilis* solubilizante de fosfato y *Bacillus* sp. Cepa IA16: un enfoque prometedor para mejorar el crecimiento del algodón. *Folia Microbiol.* 2021, 66, 115-125. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
32. Boló, P.; Mucheru-Muna, MW; Mwirichia, RK; Kinyua, M.; Ayaga, G.; Kihara, J. Influencia de la aplicación de estiércol de corral en la abundancia potencial de especies microbianas solubilizadoras de zinc en un ferralsol del oeste de Kenia. *Agricultura* 2023, 13, 2217. [\[CrossRef\]](#)
33. Boló, P.; Kihara, J.; Mucheru-Muna, M.; Njeru, EM; Kinyua, M.; Sommer, R. La aplicación de residuos, fertilizantes inorgánicos y cal afecta a los microorganismos solubilizadores de fósforo y a la biomasa microbiana bajo diferentes sistemas de labranza y cultivo en un ferralsol. *Geoderma* 2021, 390, 114962. [\[CrossRef\]](#)
34. Li, J.; Lu, J.; Wang, H.; Colmillo, Z.; Wang, X.; Feng, S.; Wang, Z.; Yuan, T.; Zhang, S.; Ou, S.; et al. Una síntesis completa revela los misterios de los microbios solubilizadores de fosfato. *Biol. Rev. Camb. Filos. Soc.* 2021, 96, 2771–2793. [\[Referencia cruzada\]](#)
35. Fernández, LA; Agarás, B.; Pared, LG; Valverde, C. Abundancia y ribotipos de bacterias solubilizadoras de fosfato en Argentina. *suelos agrícolas bajo manejo sin labranza. Ana. Microbiol.* 2015, 65, 1667–1678. [\[Referencia cruzada\]](#)
36. Jayakumar, P.; Gurusamy, R.; Sakthivel, N. Microbioma del suelo rizosférico y vermicompost y sus aplicaciones en la fertilidad del suelo, manejo de plagas y patógenos para la agricultura sostenible. En *Gestión de la Fertilidad del Suelo para el Desarrollo Sostenible*; Springer: Singapur, 2019; págs. 189–210, ISBN 9789811359033.
37. Matteoli, FP; Passarelli-Araujo, H.; Reis, RJA; da Rocha, LO; de Souza, EM; Aravind, L.; Olivares, Florida; Venancio, TM Secuenciación del genoma y evaluación de las propiedades promotoras del crecimiento vegetal de una cepa de *serratia marcescens* aislada de vermicompost. *Genoma de BMC*. 2018, 19, 750. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
38. Hamida, B.; Harini, G.; Rupela, OP; Wani, SP; Reddy, G. Promoción del crecimiento del maíz mediante bacterias solubilizadoras de fosfato. aislado de composts y macrofauna. *Microbiol. Res.* 2008, 163, 234–242. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
39. Karnwal, A. *Pseudomonas* spp., una bacteria de vermicompost que zolubiliza el zinc con actividad promotora del crecimiento de las plantas modera el zinc. Biofortificación en tomate. En *t. J. verduras. Ciencia*. 2021, 27, 398–412. [\[Referencia cruzada\]](#)
40. Rodríguez, JB; Yo, JR; Soltanpour, PN Condiciones óptimas para el análisis de fósforo mediante el método del ácido ascórbico-azul de molibdeno. *Ciencia del suelo. Soc. Soy. J.* 1994, 58, 866–870. [\[Referencia cruzada\]](#)
41. Nautiyal, CS Un medio de crecimiento microbiológico eficaz para detectar microorganismos solubilizadores de fosfato. *Microbiol FEMS. Letón*. 1999, 170, 265–270. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
42. Li, KS; Zeghbroeck, JV; Liu, Q.; Zhang, S. Aislamiento y caracterización de bacterias solubilizadoras de fósforo de rizosferas de Plantas autóctonas cultivadas en suelos calcáreos. *Frente. Reinar. Ciencia*. 2021, 9, 802563. [\[Referencia cruzada\]](#)
43. Nguyen, C.; Yan, W.; Le Tacón, F.; Lapeyrie, F. Variabilidad genética de la actividad solubilizante de fosfato por micelios monocarióticos y dicarióticos del hongo ectomicorrízico *laccaria bicolor* (maire) pd orton. *Suelo vegetal* 1992, 143, 193-199. [\[Referencia cruzada\]](#)
44. Mittal, V.; Singh, O.; Nayyar, H.; Kaur, J.; Tewari, R. Efecto estimulante de cepas de hongos solubilizantes de fosfato (*aspergillus awamori* y *aenicillium citrinum*) sobre el rendimiento de garbanzos (*cicer arietinum* l. cv. gpf2). *Biol del suelo. Bioquímica*. 2008, 40, 718–727. [\[Referencia cruzada\]](#)
45. Afkairin, A.; Hipólito, JA; Stromberger, M.; Davis, JG Solubilización de fuentes orgánicas de fósforo por cianobacterias y un Consorcio bacteriano disponible comercialmente. *Aplica. Ecología del suelo*. 2021, 162, 103900. [\[Referencia cruzada\]](#)
46. Yu, G.; Smith, DK; Zhu, H.; Guan, Y.; Lam, TT-Y. Ggtree: un paquete r para visualización y anotación de árboles filogenéticos con sus covariables y otros datos asociados. *Métodos Ecología. Evolución*. 2017, 8, 28–36. [\[Referencia cruzada\]](#)
47. Brazhnikova, YV; Shaposhnikov, AI; Sazanova, AL; Belímov, AA; Mukasheva, TD; Ignatova, LV Movilización de fosfato por hongos cultivables y su capacidad para aumentar la disponibilidad de P en el suelo y promover el crecimiento de la cebada. *actual. Microbiol.* 2022, 79, 240. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
48. Kkan, A.; Jilani, G.; Akhtar, M.; Naqvi, SMS; Rashid, M.; Khan, A.; Akhtar, M.; Mahoma, S.; Naqvi, S.; Rashid, M. Bacterias solubilizadoras de fósforo: aparición, mecanismos y su papel en la producción de cultivos. *J. Agrícola. Biol. Ciencia*. 2009, 1, 48–58.

49. Sharma, SB; Sayyed, RZ; Trivedi, MH; Gobi, TA Microbios solubilizadores de fosfato: enfoque sostenible para la gestión Deficiencia de fósforo en suelos agrícolas. SpringerPlus 2013, 2, 587. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
50. Hassan, M.; Awad, M. Caracterización molecular de hongos solubilizantes de fosfato aspergillus niger y su correlación con Agricultura sostenible. J. Medio Ambiente. Biol. 2020, 41, 592–599. [\[Referencia cruzada\]](#)
51. Yadav, LS; Kushwaha, V.; Jain, A. Aislamiento y detección de hongos solubilizadores de fosfato del suelo de la rizosfera de okra y su efecto sobre el crecimiento de la planta de okra (*Abelmoschous esculentus* L.). tropo. Res. Planta. 2020, 7, 277–284. [\[Referencia cruzada\]](#)
52. Tian, J.; Ge, F.; Zhang, D.; Deng, S.; Liu, X. Funciones de los microorganismos solubilizadores de fosfato, desde el manejo de la deficiencia de fósforo del suelo hasta la mediación del ciclo p biogeoquímico. Biología 2021, 10, 158. [\[CrossRef\]](#)
53. Alori, ET; Glick, BR; Babalola, OO Solubilización microbiana de fósforo y su potencial para su uso en agricultura sostenible. Frente. Microbiol. 2017, 8, 971. [\[Referencia cruzada\]](#)
54. Rawat, P.; Das, S.; Shankhdhar, D.; Shankhdhar, S. Microorganismos solubilizantes de fosfato: mecanismo y su papel en solubilización y absorción de fosfato. J. Ciencia del suelo. Nutrición vegetal. 2020, 21, 49–68. [\[Referencia cruzada\]](#)
55. Selvi, K.; JJA, P.; Velu, V.; K, S. Análisis de la eficacia de los microorganismos solubilizadores de fosfato mediante técnicas de cultivo de enriquecimiento. Bioquímica. Mol. Biol. J. 2017, 3, 1–7. [\[Referencia cruzada\]](#)
56. Turán, M.; Ataoğlu, N.; Sahin, F. Evaluación de la capacidad de bacterias y hongos solubilizadores de fosfato en diferentes formas de fósforo en cultivo líquido. J. Sostener. Agrícola. 2006, 28, 99–108. [\[Referencia cruzada\]](#)
57. Suleman, D.; Sani, A.; Suaib, S.; Ambardini, S.; Yanti, NA; Bóer, D.; Yusuf, DN; Faad, H. Aislamiento e identificación de posibles bioinoculantes basados en mohos solubilizadores de fosfato de diferentes rizosferas de plantas. KnE Ciencias de la vida. 2022, 7, 99–109. [\[Referencia cruzada\]](#)
58. Xiao, C.-Q.; Chi, R.-A.; Huang, X.-H.; Zhang, W.-X.; Qiu, G.-Z.; Wang, D.-Z. Optimización de la solubilización de fosfato de roca mediante Hongos solubilizadores de fosfato aislados de minas de fosfato. Ecológico. Ing. 2008, 2, 187–193. [\[Referencia cruzada\]](#)
59. Zhang, X.; Rajendran, A.; Grimm, S.; Sol, X.; Lin, H.; Su.; Hu, B. Detección de fósforo dirigido al calcio y al hierro. Hongos solubilizantes para la producción agrícola. Rizosfera 2023, 26, 100689. [\[CrossRef\]](#)
60. Weyers, E.; Strawn, DG; Pico, D.; Moore, AD; panadero, LL; Cade-Menun, B. Especiación de fósforo en suelos calcáreos después enmiendas anuales de estiércol lechero. Ciencia del suelo. Soc. Soy. J. 2016, 80, 1531–1542. [\[Referencia cruzada\]](#)
61. Afkairin, A.; Stromberger, M.; Storteboom, H.; Wickham, A.; Sterle, DG; Davis, JG Respuestas de la comunidad microbiana del suelo a Cianobacterias versus fertilizantes orgánicos tradicionales. Agricultura 2023, 13, 1902. [\[CrossRef\]](#)
62. Dixon, M.; Simonne, E.; Obreza, T.; Liu, G. Respuesta de los cultivos a la baja biodisponibilidad de fósforo centrándose en el tomate. Agronomía 2020, 10, 617. [\[Referencia cruzada\]](#)

Descargo de responsabilidad/Nota del editor: Las declaraciones, opiniones y datos contenidos en todas las publicaciones son únicamente de los autores y contribuyentes individuales y no de MDPI ni de los editores. MDPI y/o los editores renuncian a toda responsabilidad por cualquier daño a personas o propiedad que resulte de cualquier idea, método, instrucción o producto mencionado en el contenido.