

## UTILIZACION DE UN RESIDUO MINERAL DE BAJA LEY EN FOSFORO COMO FERTILIZANTE

M.G. SARDIÑA; J.L. BOIARDI y R.J. ERTOLA

Recibido: 8-5-86

Aceptado: 13-5-87

### RESUMEN

Se estudió el aporte de Fósforo a la nutrición de soja (*Glycine max* L. Merr) y tomate (*Lycopersicum esculentum*) por parte del residuo de la obtención de pellets de hierro de Sierras Grandes. El mismo contiene 7,6 - 9,0 % p/p  $P_2O_5$ .

Se desarrollaron las plantas en jarras Leonard conteniendo arená adicionada con dicho residuo (1% p/p) como único sustrato fosforado, incluyéndose además los correspondientes testigos. Se incluyeron tratamientos inoculados con una cepa de *Pseudomonas* sp seleccionada por su capacidad para solubilizar el Fósforo insoluble contenido en distintos sustratos. En el caso de soja se incluyeron tratamientos inoculados con la cepa 5019 de *Rhizobium japonicum*.

Los resultados obtenidos muestran que el residuo mineral realiza un aporte significativo de Fósforo para la nutrición vegetal. Para las dos especies empleadas, los rendimientos en materia seca obtenidos en los tratamientos con el residuo fueron significativamente superiores a los testigos de mínima (sin agregado de Fósforo soluble).

La inoculación con la cepa solubilizadora de Fósforo no produjo ninguna mejora en los rendimientos en materia seca.

La presencia del residuo mineral no afectó el establecimiento y funcionamiento del vínculo simbiótico *Rhizobium japonicum*-soja proveyó el Fósforo necesario para el proceso de nodulación.

### LOW-GRADE MINERAL WASTE AS PHOSPHOROUS FERTILIZER

#### SUMMARY

The phosphorous supply by a mineral waste (with 7.6 - 9.0 % of  $P_2O_5$ ) to soybean (*Glycine max* L Merr) and tomatoe (*Lycopersicum esculentum*) plants was studied.

The plants were grown in Leonard jars containing sand with mineral waste at 1% w/w as the only phosphorous source. In some treatments a *Pseudomonas* sp strain, selected by its capacity to solubilize phosphorous from different phosphorous substrates was employed as inoculant. When using the soybean plants, some treatments included the inoculation with a *Rhizobium japonicum* strain.

The results showed that the mineral was able to satisfy a significant part of the phosphorous mineral requirements by the plants. In the experiments using the mineral waste the dry-mass production was higher than the tests without soluble phosphorous added. Nevertheless the inoculation with the phosphorous solubilizer strain did not improve the dry matter yield.

It was observed that in soybean plants neither the infection process nor they nodule development were affected with the addition of the mineral waste.

---

Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI).

Facultad de Ciencias Exactas UNLP, 47 y 115, La Plata (1900).

## INTRODUCCION

Según prospecciones llevadas a cabo en la Argentina, si bien se han detectado numerosas manifestaciones fosfáticas, aún no se ha logrado descubrir depósitos económicamente explotables (Mastandrea et al., 1982).

Debido a esta situación no es dable esperar la producción de fertilizantes fosfatados, por lo menos en el corto plazo. Por la dependencia de la importación de estos insumos y por la gran importancia de los mismos en la producción agrícola es que propusimos el desarrollo de métodos alternativos, a los químicos tradicionales, para la solubilización de fosfatos insolubles. Se iniciaron estudios utilizando microorganismos capaces de, a través de los ácidos orgánicos producidos por su metabolismo, solubilizar el Fósforo insoluble contenido en un mineral. Por otra parte este proceso ocurre naturalmente en los suelos siendo éste uno de los más importantes mecanismos de liberación de Fósforo asimilable (Sethi y Subba-Rao 1986, Sperber 1957).

El sustrato fosforado empleado corresponde al residuo de la obtención de pellets de hierro de Sierra Grande (HIPASAM). El mismo, si bien tiene baja ley en Fósforo (7,6 - 9,0 % como  $P_2O_5$ ), se producen en grandes cantidades ( $1,5 \cdot 10^5$  tn/año) y como consecuencia del proceso a que se somete el mineral se lo obtiene con un alto grado de molienda, lo que favorece al ataque microbiano.

Con este residuo mineral se realizaron previamente estudios de selección de diferentes microorganismos capaces de solubilizar Fósforo en medios líquidos (Sardiña et al., 1986). Es objeto del presente trabajo el estudio del aporte de fósforo del residuo mineral a plantas de soja y tomate cultivadas sobre arena adicionada con el mismo. Se incluyen además tratamientos inoculando el soporte (arena + residuo mineral) con una cepa de *Pseudomonas* sp. solubilizadora de Fósforo.

## MATERIALES Y METODOS

### 1. Especies vegetales

Se utilizaron tomate (*Lycopersicon esculentum* variedad platense) y soja (*Glycine max* L. Merr, cultivar Bragg).

Tomate: Las semillas fueron pregerminadas en vermiculita durante 20 días y las plantas obtenidas, transplantadas de a cuatro en jarras Leonard modificadas (Vincent, 1970) conteniendo como soporte arena oriental estéril, tal como se informó previamente (Boiardi et al., 1983).

Soja: Las semillas fueron esterilizadas en superficie de acuerdo a Vincent (1970) y pregerminadas a 30°C entre papeles de filtro húmedos en cajas de Petri. Al cabo de 4-5 días las plántulas obtenidas fueron colocadas de a dos en jarras Leonard modificadas.

### 2. Microorganismos e inóculos

Solubilizadores de Fósforo: Se utilizó con este fin una cepa de *Pseudomonas* sp. aislada de rizosfera de Colza (*Brassica campestris*) cedida gentilmente por el Ing. Agr. G. Frontera (Cátedra de Microbiología Agrícola, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires). Esta cepa fue seleccionada en un trabajo previo, por su habilidad para solubilizar Fósforo en medios líquidos a partir de Fosfato tricálcico y del mineral que se estudia en el presente trabajo (Sardiña et al., 1986). Los inóculos fueron preparados desarrollando la cepa en el medio de cultivo descrito por Rao (1980). Los desarrollos obtenidos fueron centrifugados y resuspendidos en solución fisiológica estéril de forma tal de tener un recuento microbiano de  $1 \cdot 10^9$  células/ml.. Dos mililitros de estas suspensiones fueron utilizadas para inocular cada jarra Leonard.

Fijadores de Nitrógeno: la inoculación de soja se realizó con la cepa 5019 de *Rhizobium japonicum* (MIRCEN, Porto Alegre, Brasil), desarrollada e inoculada de acuerdo a la metodología descripta previamente (Arrarás et al., 1983).

La inoculación con ambos microorganismos fue realizada simultáneamente con el trasplante de las plantas en las jarras.

### 3. Residuo fosforado

Se utilizó el residuo de la obtención de pellests de hierro en Sierra Grande, Río Negro (HIPASAM). El mismo tiene la siguiente composición química:

P total (expresado como  $P_2O_5$ ) 7,6 - 9% p/p; Si (expresado como  $SiO_2$ ) 11,72 - 15,65% p/p; Fe (expresado como  $Fe_2O_3$ ) 41,21 - 52,76% p/p y Ca (expresado como CaO) 9,4 - 9,7 % p/p.

Contiene además en tenores menores: S, Cl, Mg, Na y K.

En los tratamientos adicionados con este residuo la dosis fue aproximadamente del 1% p/p en el material soporte (arena). De esta manera se proveyeron 0,33 - 0,39 g de Fósforo total por jarra.

### 4. Ensayos biológicos con plantas testigo

En los mismos se incluyeron tratamientos donde el único componente fosforado para la nutrición vegetal fue el residuo de Sierra Grande, inoculado o no con bacterias solubilizadoras. Además se incluyeron los testigos necesarios de máxima y mínima tal como se describe en los cuadros de resultados respectivos. En el estudio realizado con soja se incluyó otra variable que fue la inoculación con bacterias del género *Rhizobium*.

La solución de riego utilizada fue la de Norris (1964) adicionada con Nitrógeno y Fósforo según el tratamiento en cuestión. El Nitrógeno fue agregado

como  $KNO_3$  a razón de 0,5 g/l y como fuente de Fósforo se utilizó  $K_2PO_4$  0,348 g/l. Se utilizó en todos los casos 1 litro de solución nutritiva por jarra distribuidos en 2 riegos a lo largo del experimento. Los restantes riegos se realizaron con agua destilada.

El peso seco de los vegetales fue realizado por secado en estufa a 65° C hasta peso constante.

Las jarras, una vez sembradas, fueron colocadas en cámara de clima controlado con las siguientes condiciones: fotoperíodo de 13,5 h,  $t^\circ$  diurna de 28° C, temperatura nocturna de 18° C y humedad relativa del ambiente mayor de 60%. La Luz fue suministrada con tubos gro-lux (NEC).

## RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos en el estudio con tomate se indican en el cuadro N° 1 y los correspondientes a soja en el cuadro N° 2.

El análisis de los cuadros N° 1 y N° 2 nos muestra que el residuo mineral adicionado a la arena aporta Fósforo para la nutrición vegetal. En ambos casos (tomate y soja) los tratamientos con el solo agregado del residuo como sustrato fosforado dieron pesos secos totales significativamente superiores a los testigos de mínima sin ningún aporte de Fósforo (tratamientos 4 vs. 5 Cuadro N° 1 y tratamiento 1 vs. 8 Cuadro N° 2).

La importancia del aporte depende del vegetal en cuestión. Para el caso de tomate, que tiene elevados requerimientos de Fósforo, el residuo por sí solo (tratamiento 4 Cuadro N° 1) no alcanza a suplir las necesidades del vegetal y por esto el testigo de máxima regado con Fósforo soluble (tratamiento 2 cuadro N°1) da un rendimiento en materia seca significativamente superior al mencionado tratamiento. Debido a estos resultados es evidente que la solubilización del Fósforo in-

Cuadro N° 1: Rendimiento en materia seca obtenido en el estudio con tomate:

Tratamientos	Peso seco total (g/jarra)
1. Arena + Residuo 1% p/p regado con solución nutritiva completa	5,377 a
2. Arena regada con solución nutritiva completa	4,509 a
3. Arena + residuo 1% p/p inoculado con <i>Pseudomonas sp.</i> regado con solución nutritiva sin Fósforo soluble	2,964 b
4. Arena + Residuo 1% p/p regado con solución nutritiva sin Fósforo soluble	2,755 b
5. Arena regado con solución nutritiva sin Fósforo soluble	0,686 c

Los valores indicados son peso seco por jarra (4 plantas) promedio de cuatro repeticiones.

Los valores medios seguidos de la misma letra no difieren entre sí en forma significativa. Test de Tuckey (P 0,05).

La evaluación se realizó 60 días luego del trasplante a las jarras.

soluble contenido en el residuo fue realizado por acción de las raíces de los vegetales ya que el soporte contenido en las jarras, así como las semillas, fueron esterilizados previo a su utilización. Este mecanismo de solubilización por acción de las raíces fue probado previamente por Gerretsen (1948).

En el caso de soja, vegetal con menores requerimientos por Fósforo que el anterior, utilizando el residuo como fuente de Fósforo (tratamiento 1, Cuadro N° 2) se suplieron las necesidades por este elemento e incluso se obtuvo un rendimiento en materia seca significativamente mayor que el testigo regado con Fósforo soluble (tratamiento 3). Esta diferencia podría ser debida a un suministro por parte del residuo diferente al Fósforo y que, dada la compleja composición química del mismo, es difícil de atribuir. Podría estar

relacionado con el aporte de algún micronutriente importante para la nutrición de la soja. Este mismo efecto podría sugerirse dadas las diferencias observadas en ambos experimentos entre los testigos de máxima con y sin el agregado de residuo mineral (tratamiento 1 vs. 2, Cuadro N° 1 y tratamiento 1 vs. 3 Cuadro N° 2). En ambos casos se observa un valor promedio de peso seco superior - aunque no significativamente en el caso de tomate - a favor de los tratamientos con el residuo mineral respecto a los testigos regados con Fósforo soluble.

Por otra parte pudo verse que la presencia del residuo mineral no afecta el establecimiento del vínculo simbiótico entre la soja y la cepa de *Rhizobium japonicum* (tratamientos 4 y 5 Cuadro N° 2). Debido a lo complejo y delicado que es el proceso de asociación simbiótica, la no interferencia del mineral sobre el mismo indica que

**Cuadro N° 2: Rendimientos en materia seca y nodulación obtenidos en el estudio con soja.**

Tratamientos	Peso seco total (g/jarra)	Peso seco de nódulos (g/jarra)	Número de nódulos (por jarra)
1. Arena + Residuo 1% p/p regado con solución nutritiva sin Fósforo	3,7574 a	-	-
2. Arena + Residuo 1% p/p regado con solución nutritiva completa	3,5168 a	-	-
3. Arena regada con solución nutritiva completa	2,8748 b	-	-
4. Arena inoculada con <i>Rhizobium</i> , regada con solución nutritiva completa	2,7444 b	0,2336 a	60,2 a
5. Arena + Residuo 1% p/p inoculado con <i>Rhizobium</i> regado con solución nutritiva sin Nitrógeno	2,5652 b	0,2386 a	57,4 a
6. Arena + Residuo 1% p/p inoculado con <i>Pseudomonas</i> regado con solución nutritiva sin Fósforo	2,5086 b	-	-
7. Arena + Residuo 1% p/p inoculado con <i>Rhizobium</i> y <i>Pseudomonas sp.</i> regada con solución nutritiva sin Nitrógeno y sin Fósforo	2,4604 db	0,1960 a	47,6 a
8. Arena regada con solución nutritiva sin Fósforo	2,3824 db	-	-
9. Arena + Residuo 1% p/p regado con solución nutritiva sin Nitrógeno	1,8796 dc	-	-
10. Arena regada con solución nutritiva sin Nitrógeno	1,5512 dc	-	-

Los valores indicados son promedio de cinco jarras (2 plantas/jarra)  
 Los valores medios de la misma letra no difieren entre sí en forma significativa.  
 Test de Tuckey (p 0,05).  
 La evaluación se realizó a los 45 días del desarrollo vegetal (prefloración)

no contiene elementos que pueden ser considerados tóxicos o inhibitorios de los procesos biológicos normales en el suelo. Es bien conocida la necesidad de un adecuado nivel de Fósforo disponible en los suelos para obtener una abundante nodulación (de Mooy y Pesek, 1966). En este estudio la nodulación obtenida indica que no hubo deficiencia de Fósforo, lo que muestra que el residuo mineral aportó el necesario para dicho proceso. Por otra parte, como puede observarse comparando los rendimientos en materia seca obtenidos en el tratamiento 5 y en el 9 (Cuadro N° 2), la presencia del residuo mineral tampoco afecta la fijación simbiótica del Nitrógeno en el aire.

En el caso de la inoculación conjunta de *Rhizobium japonicum* y la cepa solubilizadora de Fósforo (tratamiento 7, Cuadro N° 2) se observan valores de peso seco de nódulos y número de nódulos inferiores -aunque no significativamente- a los tratamientos 4 y 5 del Cuadro N° 2, donde se inoculó únicamente con *Rhizobium*. Esto podría deberse a un cierto grado de interferencia por parte de la cepa de *Pseudomonas sp.* en el proceso de infección. El mismo podría atribuirse a algún fenómeno de competición entre ambos microorganismos.

En ambos experimentos (soja y tomate) la inoculación con la cepa solubilizadora de Fósforo no dio mayores rendimientos en peso seco vegetal que los mismos tratamientos sin inocular (tratamientos 4 vs. 3, Cuadro N° 1, y tratamiento 6 vs. 1, Cuadro N° 2). En el caso de soja el tratamiento inoculado dio rendimientos significativamente menores al no inoculado. Este comportamiento podría deberse a que los microorganismos no solubilizan Fósforo en el suelo como lo hacen en los medios de cultivo o que son tóxicos para el vegetal. Un indicio de es-

te último fenómeno se observó en un experimento no mostrado en el presente trabajo, en el cual se inocularon plantas de tomate con la cepa de *Pseudomonas sp.* y otros microorganismos solubilizadores de Fósforo. Estas fueron regadas con soluciones muy diluidas de azúcares solubles, observándose que en esas condiciones se inhibía completamente el desarrollo vegetal produciendo una marcada clorosis en los mismos. Esta observación indicaría que estos microorganismos al disponer de una fuente de energía para metabolizar liberan al medio productos tóxicos que en este caso, debido a las observaciones realizadas en medios de cultivo, podrían ser ácidos orgánicos.

#### CONCLUSIONES

En virtud de los resultados obtenidos en el presente trabajo se concluye que se puede intentar utilizar el residuo de Sierra Grande, sin ningún tratamiento previo, como fertilizante fosforado dada su gran disponibilidad y bajo costo, su aporte real de Fósforo a los vegetales y la no interferencia con el normal desarrollo de las plantas, así como con delicados mecanismos bioquímicos del suelo. Por supuesto la prueba definitiva de esta proposición la darán adecuados estudios en condiciones reales de cultivo a campo con diferentes especies vegetales y bajo distintas condiciones agroclimáticas.

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la valiosa colaboración técnica del Sr. Obdulio Carlos Gallego.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) ARRARAS, E.A.; J.L. BOIARDI; A.P. BALATTI y L.A. MAZZA. 1983. Selección de cepas de *Rhizobium japonicum* para la inoculación de soja en el Noroeste Argentino. *Rev. Facultad de Agronomía*, 4(3):255-261.
- 2) BOIARDI, J.L.; E.A. ARRARAS; L.A. MAZZA y A.P. BALATTI. 1983. Falta de respuesta a la inoculación de poroto alubia con cepas de *Rhizobium phaseoli* en el Noroeste Argentino. *Rev. Facultad de Agronomía*, 4(3):263-270.
- 3) de MOOY, C. and J. PESEK. 1966. Nodulation responses of soybeans to added phosphorous, potassium and calcium salts. *Agronomy Journal*, 58:275-280.
- 4) GERRETSSEN, F.C. 1948. The influence of microorganisms on the phosphate intake by the plant. *Plant and Soil*, 4:51-81.
- 5) MASTANDREA, O.; H.A. LEANZA; C.A. HUGO y C.J. OBLITAS. 1982. Prospección de fosfatos sedimentarios en la República Argentina. *Actas del Quinto Congreso Latinoamericano de Geología*, 111:159-176.
- 6) NORRIS, D.O. 1964. Techniques used in works with *Rhizobium*. En: *Some concepts and methods in subtropical pasture research*. Comm. Curcau of Pastures and Field Crops, Hurley, Berkshire, England. *Bull N° 47*, p. 186-198.
- 7) SARDIÑA, M.G.; J.L. BOIARDI and R.J. ERTOLA. 1986. Solubilization of phosphorous from low-grade minerals by microbial action. *Biotech. Letters*, 8:247-252.
- 8) SETHI, R.P. y N.S. SUBBA-RAO. 1968. Solubilization of Tricalcium phosphate and Calcium Phytate by soil fungi. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 14: 329-331.
- 9) SPERBER, J. 1957. Solution of mineral phosphates by soil bacteria. *Nature*, 180:994-995.
- 10) SUBBA-RAO, N.S. 1982. Biofertilizers. En: *advances in Agricultural Microbiology*. Ed.: Subba-Rao N.S. Butterworth Scientific & Co. London. p. 219-242.
- 11) VINCENT, J.M. 1970. *A Manual for the practical study of root nodule bacteria*. IBP. London. Blackwell Scientific publications. Oxford and Edingburg. 164 pp.