

LA DISPONIBILIDAD DEL FÓSFORO ES PRODUCTO DE LA ACTIVIDAD BACTERIANA EN EL SUELO EN ECOSISTEMAS OLIGOTRÓFICOS: UNA REVISIÓN CRÍTICA

Phosphorus Availability is a Product of Soil Bacterial Activity in Oligotrophic Ecosystems: a Critical Review

Yunuen Tapia-Torres¹ y Felipe García-Oliva^{2‡}

RESUMEN

El fósforo (P) es un elemento esencial para la vida, por lo cual entender los mecanismos que permiten su disponibilidad en el suelo es prioritario. Debido a la complejidad de la dinámica de este nutriente, aún existen varios procesos que no están claramente entendidos, principalmente en los ecosistemas oligotróficos. En la presente revisión se analiza literatura relacionada con procesos involucrados en la disponibilidad del P, dándole énfasis al papel de las bacterias. La forma química disponible del P es el ortofosfato, pero por su alta reactividad y demanda de la biota, esta forma es rápidamente disminuida de la solución del suelo. Por lo que es necesario que la biota adquiera este elemento de otras formas químicas. Entre ellas, las formas orgánicas representan la principal fuente de este nutriente mediante la mineralización bioquímica producto principalmente de la comunidad bacteriana del suelo. Entre los compuestos organofosforados, los ésteres de fosfatos son los más fáciles de mineralizar, por la poca demanda energética en la producción de las enzimas involucradas en dicho proceso. Por otro lado, la mineralización de los fosfonatos puede representar una fuente alternativa de P disponible, a pesar de que se había considerado que esta forma química no era accesible por la complejidad de sus moléculas. En general, una estrategia exitosa para la adquisición de P en ecosistemas donde dicho elemento es limitado, depende de la presencia de una maquinaria genética capaz de sintetizar las diferentes enzimas que

mineralizan compuestos orgánicos con demandas energéticas diferentes (fosfohidrolasas, fosfonatasas y C-P liasas), además de la presencia de transportadores específicos de membrana y la disponibilidad de C como fuente de energía. Aún faltan estudios integrados que permitan elucidar el movimiento del P en los ecosistemas y cómo esto puede ser controlado y llevado a cabo por las bacterias que habitan en el suelo.

Palabras clave: fosfatasa, fosfonatasa, ésteres, fertilidad, fosfonatos.

SUMMARY

Phosphorus (P) is an essential element for life; thus, understanding the mechanisms associated with soil P availability is primordial. There are several processes of P dynamics that are not clearly understood, mainly in oligotrophic ecosystems. In the present review, current literature on the P availability process is analyzed, emphasizing the role of bacteria in the soil. Orthophosphate is the form in which available P is found, but due to its high reactivity and demand by the biota it rapidly diminishes in the soil solution. For this reason, it is necessary that the biota acquire P from other chemical forms. Among these, organic forms represent the main source for P through biochemical mineralization, which is mainly accomplished by the soil bacterial community. Among the organophosphorus compounds, phosphate esters are easier to mineralize due to the low energy demand for production of enzymes involved in this process. However, mineralization of organic phosphonate represents an alternative source of available P, although it has been considered that this chemical form was not available due to its molecular complexity. In general, a successful strategy for P acquisition in limited ecosystems depends on the presence of the genetic machinery capable of synthesizing different enzymes which mineralize organic compounds with different energy demands (phosphohydrolases, phosphonatasases and C-P

¹ Universidad Nacional Autónoma de México, Posgrado en Ciencias Biológicas. Av. Universidad no. 3000. 04510 Coyoacán, México, D. F.

² Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Investigaciones en Ecosistemas. Antigua Carretera a Pátzcuaro no. 8701 Col. ExHacienda de San José de la Huerta. 58190 Morelia, Michoacán, México.

[‡] Autor responsable (fgarcia@cieco.unam.mx)

Recibido: marzo de 2013. Aceptado: julio de 2013.

Publicado como revisión en

Terra Latinoamericana 31: 231-242.

lyases), as the presence of specific membrane transporters and the availability of C as an energy source. More integrated studies are needed to elucidate the movement of P in ecosystems and how it can be controlled and carried out by soil bacteria.

Index words: *phosphatase, phosphonate, ester, fertility, phosphonates.*

INTRODUCCIÓN

El fósforo (P) es un elemento esencial para la vida, siendo fundamental en el metabolismo de los organismos. Además de participar en innumerables rutas metabólicas, el P es un componente de las moléculas esenciales de la célula, tales como los fosfolípidos, ARN, ADN y del principal cofactor nucleotídico (ATP), requerido para la transferencia de energía y catálisis celular (White y Metcalf, 2007). En particular, las plantas y los microorganismos edáficos obtienen este elemento de la solución del suelo, principalmente de las formas inorgánicas más disponibles (ortofosfato PO_4^{3-}), pero debido a su alta reactividad química y su demanda, su disponibilidad se reduce rápidamente. Cuando el ortofosfato no está disponible, es necesario adquirir el P de otras formas químicas, entre las cuales, las formas orgánicas son la principal fuente alternativa. Los microorganismos pueden adquirirlo de formas orgánicas lábiles, como los ésteres de fosfato que son fácilmente hidrolizables, los cuales contienen P en su mayor estado de oxidación, +5 (Kononova y Nesmeyanova, 2002). Estos ésteres se caracterizan por tener uniones entre carbono-oxígeno-fósforo (C-O-P), los cuales son fáciles de romper. Así mismo, se sabe que algunas bacterias y hongos tienen la capacidad de utilizar como fuente de P algunos compuestos organofosforados con menor estado de valencia, +3 (White y Metcalf, 2007), principalmente los fosfonatos, los cuales se caracterizan por tener un enlace directo carbono-fósforo (C-P), pero se requiere de mayor energía para romper este enlace y por lo tanto, dejar disponible al P.

El presente trabajo es una revisión de la literatura sobre los procesos que determinan la dinámica del P en los ecosistemas terrestres, con principal énfasis en los sistemas oligotróficos y el papel de las bacterias en el control de la disponibilidad de este nutriente. Los temas abordados son la evolución del P en estos ecosistemas, los principales almacenes del P y las formas químicas en que se puede encontrar este nutriente. La última parte

de esta revisión está dedicada a analizar la importancia de las bacterias en la mineralización de los ésteres de fosfato y de los fosfonatos, ya que puede representar la principal fuente de P disponible en los ecosistemas oligotróficos.

Evolución del Fósforo en los Ecosistemas Terrestres

En el suelo, los principales componentes de la materia orgánica son el Carbono (C), Nitrógeno (N), P y Azufre (S). El P es el nutriente que debe ser suministrado casi en su totalidad por el intemperismo del material parental, debido a que presenta un bajo retorno atmosférico (Walker y Syers, 1976). A consecuencia de esto, la principal fuente inicial del P son los minerales primarios, principalmente la apatita. El intemperismo de estos minerales suministra iones fosfato (H_2PO_4^- y HPO_4^{2-}) a la solución del suelo (Cross y Schlesinger, 1995; Whalen y Sampedro, 2010) y posteriormente, las bacterias, hongos y plantas incorporan estos iones fosfato en su biomasa, iniciando con esto la ruta biológica del P (Cross y Schlesinger, 1995).

Walker y Syers (1976) propusieron un modelo que aún en la actualidad es ampliamente aceptado sobre la evolución del P en el suelo durante la pedogénesis. Este modelo sugiere que la disponibilidad y la oclusión de este nutriente depende de la edad del suelo. Por lo tanto, propone que en los diferentes estadios del suelo cambiará la proporción de las diferentes formas químicas del P. Por ejemplo, este modelo sugiere que para suelos jóvenes poco intemperizados, la proporción de P en minerales primarios (apatita) será alta en comparación con suelos viejos muy intemperizados, donde dominarán las fracciones de P orgánico (Po) y P inorgánico ocluido (Poc), reduciendo así su disponibilidad.

Generalmente, la concentración de iones fosfato en la solución del suelo es muy baja debido a su alta reactividad química. Estos iones pueden tener diferentes destinos y por lo tanto, formar parte de diferentes fracciones en el suelo: a) ser rápidamente asimilados por la biota, formando parte de la fracción de Po, una vez que retorna la materia orgánica al suelo, b) pueden reaccionar rápidamente quedando adsorbidos en la superficie de partículas órgano-minerales a través de fuerzas electrostáticas, la cual representa la fracción de P adsorbido (Pad) o c) precipitarse en minerales secundarios, con aluminio, hierro y calcio (Al, Fe, y Ca), lo que representaría al Poc.

En los ecosistemas donde el suministro de iones fosfato a partir de la fracción geoquímica no es suficiente para satisfacer los requerimientos de las plantas y microorganismos, el almacén orgánico puede representar la principal fuente de P disponible. Los residuos orgánicos de las plantas, animales y biomasa microbiana muerta contienen compuestos de fósforo orgánico que pueden ser hidrolizados y mineralizados por acción de enzimas (fosfomono-, fosfodi- y fosfotri-esterasas) de origen tanto microbiano, como vegetal. A este proceso se le conoce como mineralización bioquímica, debido a que se realiza extracelularmente. El producto de la mineralización bioquímica es la liberación de iones fosfato a la solución del suelo. Por lo que en los suelos intemperizados, la disponibilidad de P depende principalmente de la mineralización bioquímica (Walker y Syers, 1976; McGill y Cole, 1981; Cross y Schlesinger, 2001) y por lo tanto, está regulada por la actividad de los microorganismos que sintetizan las enzimas necesarias para llevar a cabo este proceso.

Formas Químicas del Fósforo

El P en el suelo puede encontrarse en diferentes formas químicas, cada una de las cuales juega un papel diferente y fundamental en el reciclado del P, influyendo además en la dinámica de otros nutrientes, tales como el C y el N (McGill y Cole, 1981; Lathja y Schlesinger, 1988; Cross y Schlesinger, 2001; Buckingham *et al.*, 2010; Selmants y Hart, 2010). Se puede encontrar al P en compuestos inorgánicos y orgánicos que pueden ser desde iones en la solución del suelo hasta compuestos altamente estables (Negassa y Leinweber, 2009). El grado de estabilización depende de la complejidad de la molécula o el elemento de unión. De esta manera, los compuestos de Pi casi siempre se encuentran unidos a diferentes formas de Al, Fe y Ca, dependiendo del pH del suelo (Buckingham *et al.*, 2010). Por su parte, los compuestos de Po están asociados a moléculas orgánicas que pueden variar en la complejidad del compuesto (Negassa y Leinweber, 2009; Buckingham *et al.*, 2010).

En la dinámica del P en el suelo, se pueden identificar dos almacenes principales en los cuales se agrupan los compuestos orgánicos y los inorgánicos: a) el almacén biológico, representado por plantas, microorganismos y Po edáfico y b) el almacén geoquímico, representado por minerales primarios, secundarios, Pad y Poc (Walker y Syers, 1976; Johnson *et al.*, 2003; Whalen y Sampedro, 2010). Sin embargo, ambos almacenes están fuertemente

relacionados debido a que la acción de los mecanismos biológicos puede modificar el balance químico del suelo y éste a su vez, puede afectar los procesos biológicos. Por ejemplo, algunos microorganismos pueden sintetizar ácidos orgánicos con lo que se acidifica el suelo (en su proximidad) y se pueden liberar iones fosfato de las superficies de intercambio, aumentando la concentración de estos iones en la solución del suelo y por lo tanto, su disponibilidad (Coyne, 1999).

Una alta concentración de iones fosfato en la solución del suelo, está relacionada con una alta disponibilidad de P para la biota. Sin embargo, esta forma química del P es rápidamente ocluida por las partículas del suelo, lo cual limita su disponibilidad. El grado de estabilización funcional entre el P y las partículas del suelo ha sido ampliamente estudiado en diferentes ecosistemas que van desde desérticos (Cross y Schlesinger, 2001; Buckingham *et al.*, 2010) hasta húmedos (Giardina *et al.*, 2000; Tiessen *et al.*, 1983).

En la mayoría de los estudios se pueden identificar tres niveles de estabilización del P, que va desde el P unido débilmente a las partículas del suelo (el cual es disponible), hasta el P que es prácticamente inaccesible para la biota debido a la complejidad de la unión. A estos grados, por simplicidad se les conoce como: a) lábil, b) moderadamente lábil y c) ocluido (Selmants y Hart, 2010). Para conocer cuáles son los procesos involucrados en la disponibilidad del P es necesario determinar en qué grado (lábil u ocluido) y en qué fracción (orgánica o inorgánica) se encuentra en el suelo.

El P en Ecosistemas Oligotróficos

Los ecosistemas oligotróficos son aquellos que presentan bajas concentraciones de algún nutriente y que a su vez no está disponible (Elser *et al.*, 2005). Las relaciones estequiométricas de C:N:P se han utilizado como un indicador para saber si alguno de estos elementos es limitante. Por ejemplo, los valores promedio reportados de estos cocientes para suelo en sistemas pastoriles y forestales son 166:12:1 y 212:15:1, respectivamente (Cleveland y Liptzin, 2007).

En los suelos de los ecosistemas áridos se han reportado las concentraciones más bajas de P total (PT) (Cross y Schlesinger, 2001; Buckingham *et al.*, 2010). Sin embargo, se ha observado un amplio rango de concentraciones en el mismo tipo de ecosistema (Figura 1). Por ejemplo, en una zona árida de Utah con vegetación de pastizales o matorrales y una precipitación

media anual de 215 mm, la concentración de PT en el suelo oscila entre 500-1000 $\mu\text{g g}^{-1}$; mientras que para una zona desértica de México con aproximadamente la misma precipitación (el valle de Cuatro Ciénegas), los pastizales presentan concentraciones más bajas que oscilan entre 70-90 $\mu\text{g g}^{-1}$ y los suelos con matorrales presentan concentraciones de alrededor de 200 $\mu\text{g g}^{-1}$.

A pesar de los estudios llevados a cabo en diferentes sistemas oligotróficos, ha sido difícil asignar un valor de concentración del PT a partir del cual considerar si un sistema es oligotrófico o no, debido a la complejidad de la dinámica de este nutriente. Por ejemplo, a pesar de las diferencias de PT entre algunos ecosistemas áridos, la mayoría de ellos se caracterizan por presentar una baja proporción de Po y una mayor dominancia de Pi (Figura 2). Los ecosistemas desérticos donde la fracción de Po es mayor o igual a la de Pi son raros, como es el caso de los pastizales de Churince en Cuatro Ciénegas, México (Pastizal CH, Figura 2), donde a pesar de su baja concentración de PT, presentan una alta proporción de Po (Figura 2).

Los patrones de fraccionamiento secuencial de P muestran una marcada diferencia entre sitios. Por

ejemplo, en los suelos que presentan una mayor concentración de PT (Buckingham *et al.*, 2010; Figura 3 f-i) dominan las fracciones de Pi ocluido (extraídas con HCl y H_2SO_4), las cuales son prácticamente inaccesibles para la biota. Sin embargo, en los pastizales y matorrales de Cuatro Ciénegas, donde la concentración de PT es baja, las fracciones de Pi y Po lábil y moderadamente lábil (extraídas con NaHCO_3 y NaOH) pueden llegar a representar en algunos casos hasta el 15 % del valor total (Figura 3 a, b, d). Además, en este mismo sitio, la fracción de Po extraída con HCl que es una de las más recalcitrantes, también puede representar una fuente de P para la biota. A pesar de que este P no está en la fracción más disponible, puede ser accesible para la biota mediante la mineralización bioquímica. Lo cual no sucede con el Poc (extraído con HCl), el cual está formado por compuestos muy estables.

En ecosistemas con características similares a las del valle de Cuatro Ciénegas ($\text{Po} \geq \text{Pi}$), la mineralización del P es fundamental por la disponibilidad para las plantas y los microorganismos. En estos casos, la disponibilidad de P depende casi exclusivamente de la mineralización de las formas orgánicas y la rápida adquisición de

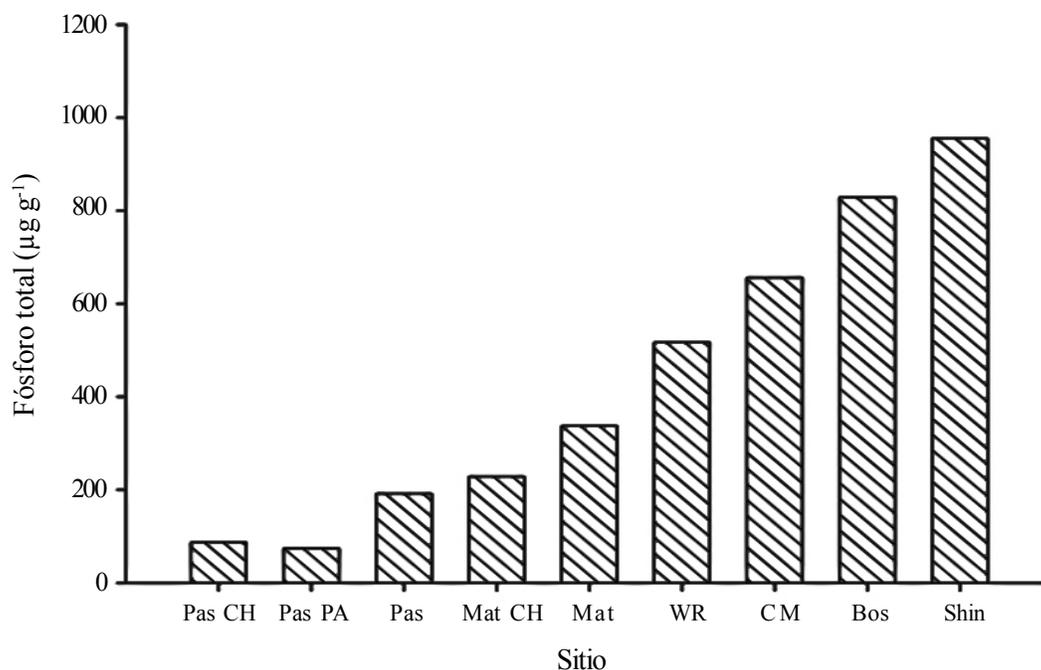


Figura 1. Concentración de fósforo total (PT, $\mu\text{g g}^{-1}$) para 9 ecosistemas desérticos con diferentes coberturas vegetales. Los cuales corresponden a Pastizal y Matorral en Churince, Coahuila (Pas CH y Mat CH, respectivamente), Pastizal en Pozas Azules, Coahuila (Pas PA), Pastizal y Matorral (Pas y Mat, respectivamente, Cross y Schlesinger, 2001) y 4 sitios con cobertura vegetal que puede ser pastizal, matorral o juníperos, White Rim, Cedar Mesa, Bosque y Shinarump (WR, CM, Bos, Shin, respectivamente, Buckingham *et al.*, 2010).

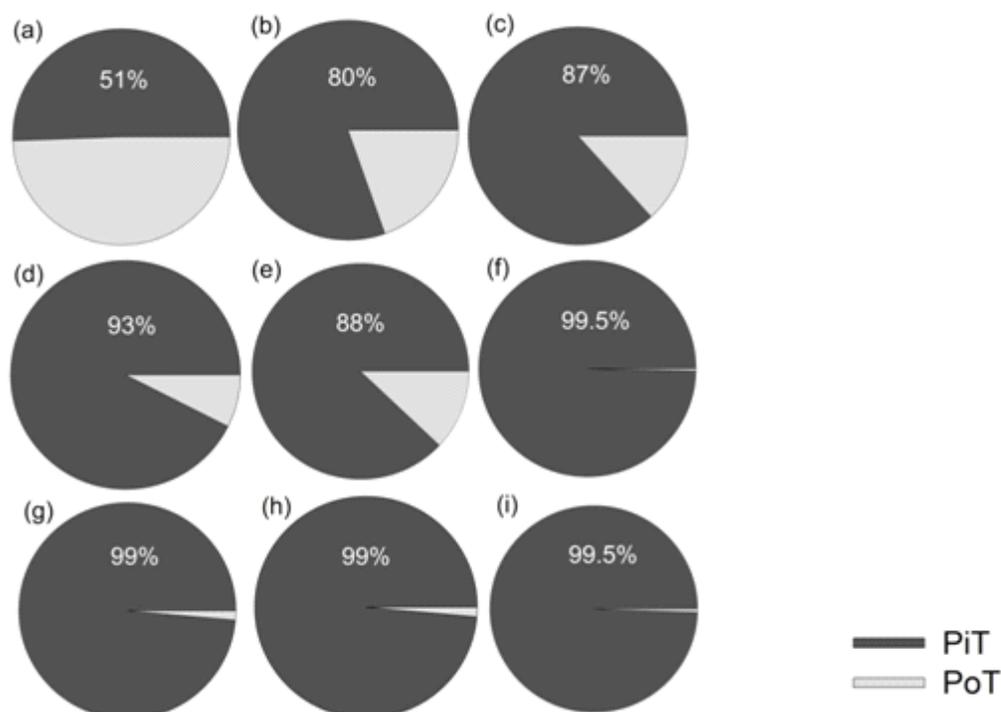


Figura 2. Proporción de fósforo inorgánico total (PiT) y fósforo orgánico total (PoT) en el suelo de 9 ecosistemas desérticos con diferente cobertura vegetal. (a) Pastizal en Churince, Coahuila, (b) Pastizal en Pozas Azules, Coahuila (Montiel-González, (c) Pastizal (Cross y Schlesinger, 2001), (d) Matorral en Churince, Coahuila, (e) Matorral (Cross y Schlesinger, 2001) y 4 sitios con cobertura vegetal que puede ser pastizal, matorral y/o juniperos, (f) Shinarump, (g) White Rim, (h) Cedar Mesa y (i) Bosque (Buckingham *et al.*, 2010).

las formas inorgánicas por la biota, como lo sugiere el modelo de Walker y Syers (1976).

Compuestos Organofosforados y su Mineralización

Entre los compuestos organofosforados que se conocen, los ésteres de fosfato son los más abundantes en la biósfera, por lo que han sido los más ampliamente estudiados. Sin embargo, la deficiencia de P en sistemas oligotróficos ha permitido estudiar otros compuestos organofosforados, tales como los fosfonatos que pueden representar una fuente alternativa de P (Clark *et al.*, 1998; Kolowith, 2001).

La liberación del P de estos compuestos orgánicos debe ser mediante exoenzimas (fosfatasa, fosfonatasa y C-P liasa). Los genes codificantes de estas enzimas se cree que están mediados casi exclusivamente por el regulón *pho* (Quinn *et al.*, 2007). Dentro de este regulón, se encuentran los genes específicos de

las fosfatasa mediados por el operón *pho* y los genes para las otras enzimas están mediados por el operón *phn* (Wackett *et al.*, 1987; Metcalf y Wanner, 1991).

Ésteres de fosfato. En la biósfera, el P se encuentra principalmente en su mayor estado de oxidación (+5), como el ortofosfato inorgánico (PO_4^-), y los ésteres de ácido fosfórico (Quinn *et al.*, 2007). Estas formas químicas de Po generalmente consisten en fosfomono ésteres de inositol, fosfolípidos y ácidos nucleicos que derivan de plantas y microorganismos (Figura 4) (Dao, 2011).

Debido a que las plantas y microorganismos adquieren el P como Pi y no como Po, la disponibilidad del P depende de la mineralización de los ésteres de fosfato. Estos compuestos son mineralizados por la acción de enzimas hidrolíticas extracelulares, principalmente fosfatasa (Dinkelaker y Marschner, 1992). En el suelo, la mayor actividad de mineralización de Po ocurre en la rizósfera, ya que tanto las raíces de las plantas (López-Gutiérrez *et al.*, 2004), como los microorganismos (Quan

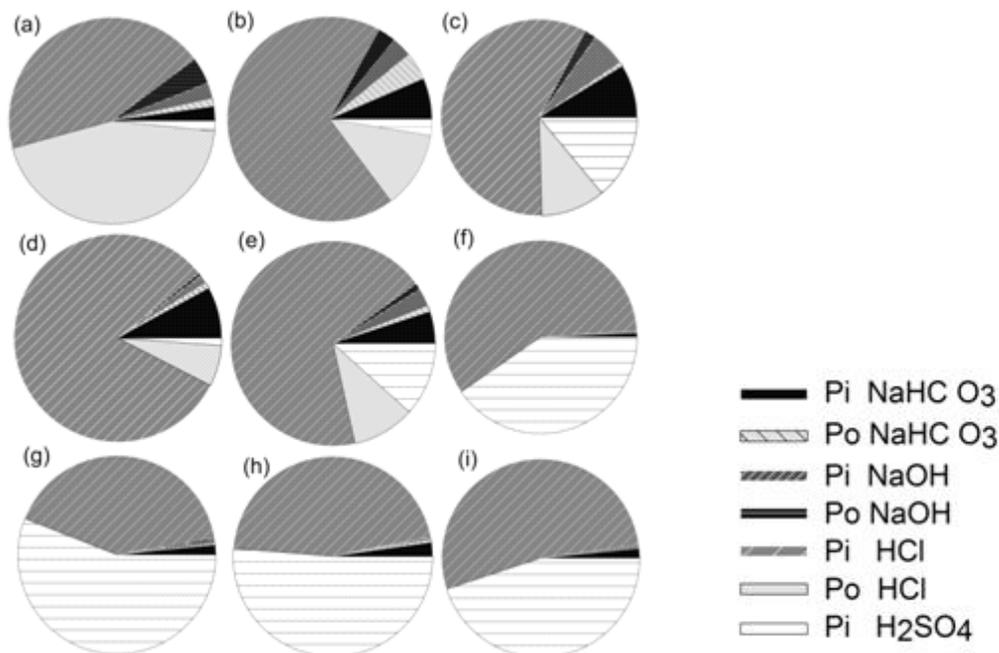


Figura 3. Fraccionamiento secuencial de P en el suelo realizado en 9 ecosistemas desérticos con cobertura vegetal distinta. (a) Pastizal en Churince, Coahuila, (b) Pastizal en Pozas Azules, Coahuila, (c) Pastizal (Cross y Schlesinger, 2001), (d) Matorral en Churince, Coahuila, (e) Matorral (Cross y Schlesinger, 2001) y 4 sitios con cobertura vegetal que puede ser pastizal, matorral o juníperos, (f) Shinarump, (g) White Rim, (h) Cedar Mesa y (i) Bosque (Buckingham *et al.*, 2010).

et al., 2003; Dao y Hoang, 2008) liberan fosfohidrolasas extracelulares (Ezawa *et al.*, 2005).

Las raíces de las plantas y los hongos producen fosfatasas ácidas, mientras que las bacterias pueden producir fosfatasas alcalinas (Tarafdar y Marschner, 1994). La alta diversidad de enzimas extracelulares, garantiza el éxito en la adquisición del recurso (Pi) en los ecosistemas. Una vez que se libera el Pi en la solución

del suelo por la acción de fosfohidrolasas extracelulares, es necesario introducirlo a la célula por mecanismos pasivos o activos a través de la membrana (Dao, 2011). Existen muchos transportadores de fosfato ampliamente estudiados presentes en células de raíces de plantas y en microorganismos (Kulaev y Kulakovskaya, 2000). Los transportadores son proteínas componentes de las membranas celulares, con la capacidad de absorber

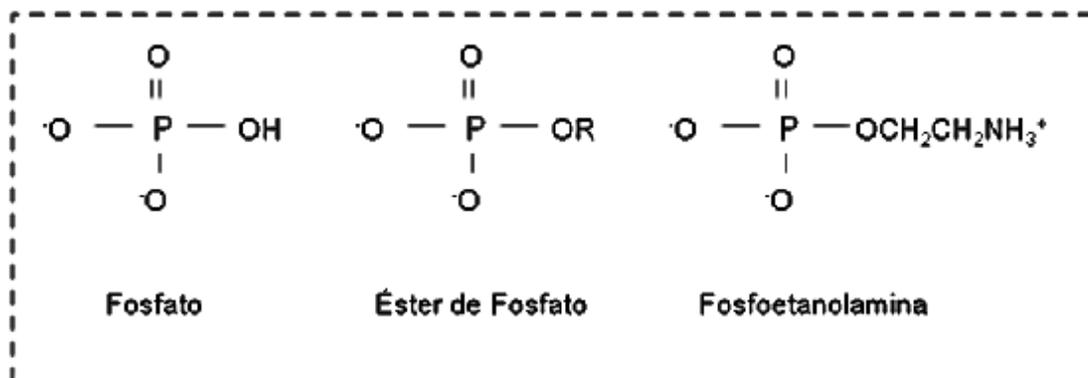


Figura 4. Compuestos orgánicos en donde el P (fósforo) presenta su mayor estado de valencia, +5 (Modificado de White y Metcalf, 2007).

al fosfato inorgánico y a moléculas estructuralmente simples (Dao, 2011).

Fosfonatos. En las últimas décadas ha crecido el interés por el estudio y entendimiento de la bioquímica del P cuando se encuentra en un menor estado de valencia, +3 (ej. Fosfonato, Aminoetilfosfonato, Fosfito; Figura 5), principalmente a partir del trabajo de Horiguchi y Kandatsu (1959), el cual describió la presencia de fosfonatos en organismos vivos.

Los fosfonatos son una clase de compuestos organofosforados que contienen un enlace directo carbono-fósforo (C-P), en lugar del enlace éster más común C-O-P (Martínez *et al.*, 2010; Sviridov *et al.*, 2012). Debido a la estabilidad del enlace, estos compuestos son altamente resistentes a la biodegradación por factores químicos, térmicos, fotolíticos y enzimáticos (Hayes *et al.*, 2000; Sviridov *et al.*, 2012). Entre los fosfonatos conocidos se incluyen compuestos biogénicos y xenobióticos (Ternan *et al.*, 2000), ambos de gran importancia en los ecosistemas. Los organofosfonatos sintéticos son ampliamente utilizados en la industria química como detergentes, anticongelantes y pesticidas, entre otros (Hayes *et al.*, 2000). Por otro lado, dentro de los organofosfonatos naturales se incluyen una gran variedad de antibióticos de origen microbiano (Hayes *et al.*, 2000; White y Metcalf, 2007).

Algunos ejemplos de bacterias con la habilidad de biosintetizar fosfonatos son *Actinobacteria* (Quinn *et al.*, 2007), *Pseudomonas* y *Bacillus*, por lo que se ha sugerido que muchos microorganismos hayan adquirido esta habilidad durante su evolución (Kugler *et al.*, 1990). Entre los fosfonatos de origen natural, el más común es el aminoetilfosfonato (AEPn), el cual se ha encontrado formando parte de fosfolípidos, polisacáridos y

glicoproteínas en numerosos procariontes y eucariontes (Horiguchi y Kandatsu, 1959; White y Metcalf, 2007). Una vez que los organofosfonatos entran al suelo, independientemente de la vía, se ha encontrado que la actividad microbiana es casi exclusivamente la única responsable de su degradación.

La habilidad que tienen algunas bacterias para utilizar a los fosfonatos como fuente de P presume la presencia de enzimas necesarias para romper el enlace C-P. Actualmente, se conocen dos estrategias para este fin: a) una que involucra hidrolasas con alta afinidad por el sustrato y b) otra basada en la acción menos específica de C-P liasa (Kononova y Nesmeyanova, 2002). Hasta hoy se conocen 3 diferentes hidrolasas que pueden ser las encargadas de romper el enlace C-P: fosfonoacetaldehído hidrolasa conocida como fosfonatasa (Morais *et al.*, 2004), fosfonoacetato hidrolasa y fosfonopiruvato hidrolasa (Ternan *et al.*, 2000).

El 2-aminoetilfosfonato (2AEP) es el organofosfonato biogénico más abundante en la naturaleza y se ha especulado que las bacterias pueden tomar y degradar esta molécula. Esta hipótesis surge de los trabajos realizados por Rosenberg y La Nauze (1967), quienes describieron el transporte de 2AEP en *Bacillus cereus*. Posteriormente, Lacoste *et al.* (1976) describieron el transporte de 2AEP en *Pseudomonas aeruginosa* A237. Estos trabajos fueron los primeros en arrojar evidencia de que la degradación de 2AEP se lleva a cabo en una ruta de dos pasos (Figura 6).

La primera reacción en la ruta involucra la transaminación del 2AEP a 2-fosfonoacetaldehído (PAA) (OHC-CH₂-PO₃H₂). La enzima responsable de catalizar esta reacción es conocida como la 2AEP-

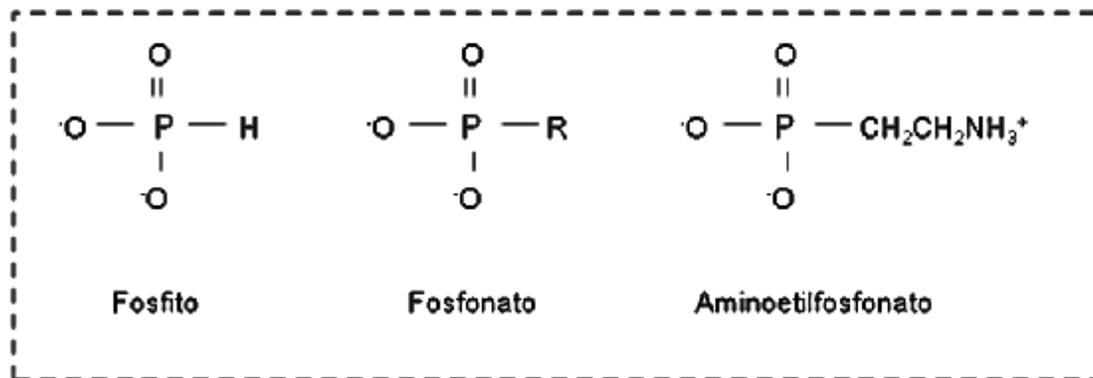


Figura 5. Compuestos orgánicos en donde el P presenta un estado de valencia de +3 (Modificado de White y Metcalf, 2007)

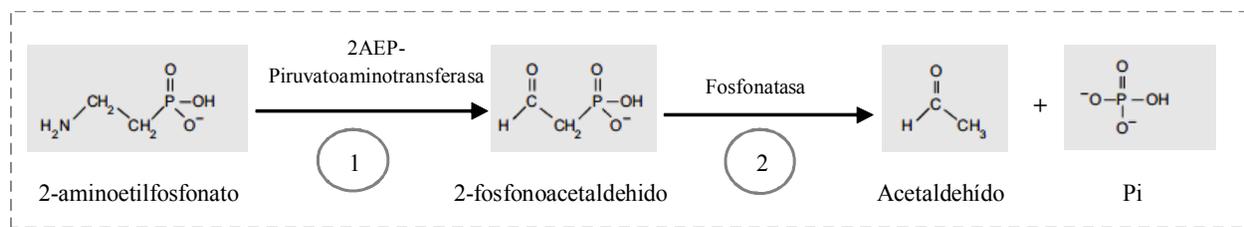


Figura 6. Ruta degradativa del 2-Aminoetilfosfonato (2AEP). Modificado de White y Metcalf (2007).

piruvato aminotransferasa, la cual tiene alta afinidad por los sustratos 2AEP y ácido pirúvico. En el segundo paso de la ruta degradativa, el PAA es dividido hidrolíticamente a fosfato inorgánico y acetaldehído. La enzima que cataliza esta reacción es la fosfonoacetaldehído hidrolasa comúnmente conocida como fosfonatasa, la cual fue aislada de *B. cereus* (La Nauze *et al.*, 1970) y *P. aeruginosa* (Dumora *et al.*, 1989). Fue gracias al entendimiento de esta ruta que se pudo aclarar el mecanismo por el cual se puede dividir o romper el enlace C-P (La Nauze *et al.*, 1977; Olsen *et al.*, 1988; Olsen *et al.*, 1992).

Hasta hoy, existen pocos trabajos que evalúen la importancia cuantitativa de los fosfonatos naturales como fuente de P en la biósfera terrestre, por lo que aún no está bien comprendida. Algunos de estos trabajos se han hecho en ecosistemas acuáticos y se sabe que el P contenido en los fosfonatos representa más del 25% del P orgánico disuelto de alto peso molecular en las columnas de agua del pacífico (Clark *et al.*, 1998) y otros océanos (Kolowith *et al.*, 2001). Además, en los organismos en donde se han encontrado es claro que los fosfonatos desempeñan un papel fundamental debido a su abundancia. Por ejemplo, algunas especies de anémonas marinas tienen más del 50% de su P total en forma de fosfonatos (Quin, 1965), en *Tetrahymena* el 30% de sus membranas lipídicas están en forma de fosfonolípidos (Hilderbrand, 1983). Aunque los fosfonolípidos también se han encontrado en vertebrados (Hilderbrand, 1983), son más abundantes en las formas de vida más sencillas.

De esta manera, los compuestos C-P pueden representar un recurso clave, tanto en los ecosistemas marinos, como en los terrestres, en donde la productividad puede estar limitada por la disponibilidad de P y de esta manera, podrían jugar un papel importante en el ciclo global del P (Benítez-Nelson y O'Neill, 2004; Dyhrman *et al.*, 2006). Es evidente que los organofosfonatos pueden representar una fuente alternativa de P, sobre todo en

ecosistemas terrestres deficientes de este nutriente. Sin embargo, para conocer el papel real que pueden desempeñar los fosfonatos en el suelo, es necesario realizar estudios enfocados a identificar y cuantificar la actividad de las enzimas (fosfonatasas), así como los mecanismos que pudieran limitar o favorecer esta actividad. Así mismo, es importante conocer a los grupos bacterianos en los que está presente el regulón *pho*, los cuales pueden proveer claves sobre los factores que han permitido su evolución y su expresión.

Estrategias Bacterianas para la Adquisición y el Uso de P en Ambientes Oligotróficos

Para poder vivir en ambientes oligotróficos, las bacterias han desarrollado diferentes estrategias para la adquisición, inmovilización, reemplazo y uso eficiente del P (Adams y Wall, 2000; Tetu *et al.*, 2009). El Pi es transportado al interior de la célula bacteriana mediante proteínas de membrana, conocidas como transportadores específicos de fosfatos, las cuales están codificadas en el operón *pst* (Figura 7). Este operón comprende diferentes subunidades codificadas por distintos genes (Hirota, *et al.* 2010).

Debido a que en la membrana bacteriana únicamente existen transportadores de Pi y de fosfonatos de bajo peso molecular (Pn BPM) codificados por los genes *phn CDE* (Figura 7), los organofosfatos y los fosfonatos de alto peso molecular deben ser mineralizados por reacciones catalizadas por enzimas de origen bacteriano (Wackett *et al.*, 1987). Las enzimas para degradar a los ésteres de fosfato, están codificadas en el conjunto de genes conocido como *pho*, mientras que las enzimas para degradar fosfonatos están codificadas en el conjunto genético conocido como *phn*, actualmente formado por 17 genes (Figura 7; Wackett *et al.*, 1987; Metcalf y Wanner, 1991).

No todos los grupos bacterianos de ecosistemas oligotróficos presentan la habilidad para mineralizar

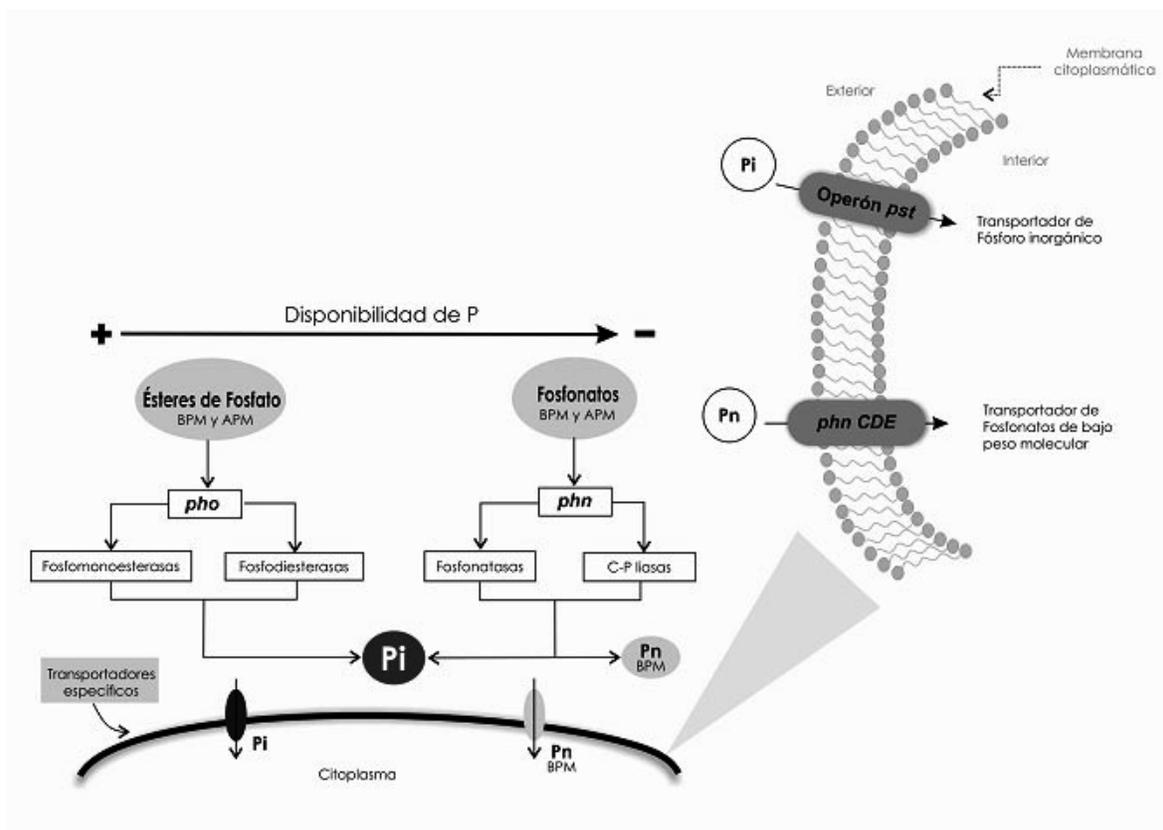


Figura 7. Estrategias bacterianas para la utilización de P (Adaptado de Hirota *et al.* 2010). *pho*: operón que codifica a los genes de fosfatasas. *phn*: operón que codifica a los genes de fosfonatasas y C-P liasas. Pi: fósforo inorgánico. Pn: fosfonato. APM: Alto peso molecular. *phn CDE*: genes codificantes para transportadores de membrana de fosfonatos de bajo peso molecular (BPM). Operón *pst*: conjunto de genes que codifican a los transportadores de membrana de Pi.

diferentes formas orgánicas de P. Por lo que a continuación se describen las estrategias que utilizan las bacterias tanto edáficas como acuáticas para satisfacer las demandas biológicas del P.

Inmovilización. La inmovilización es la adquisición de nutrientes por la comunidad de microorganismos. Existen bacterias como los Gemmatimonadetes con la capacidad metabólica para remover el Pi de la solución del suelo y acumularlo dentro de la célula en forma de polifosfatos (García-Martín *et al.*, 2006; Fukushima *et al.*, 2010). El polifosfato es un polímero lineal que puede contener hasta cientos de fragmentos de fosfatos unidos por enlaces de alta energía conocidos como fosfoanhidridos (Kulaev y Kulakovskaya, 2000). Los polifosfatos le confieren al organismo un aumento en la resistencia a las fluctuaciones ambientales, ayudan en la regulación de la actividad enzimática y son fuente de fosfato, con lo cual se satisfacen las demandas energéticas internas (Dao, 2011). Si el P disponible en el suelo es muy limitado,

los microorganismos pueden inmovilizar en su biomasa entre el 20-50% del Po contenido en la superficie del suelo (Walbridge, 1991).

Adquisición. Algunas bacterias representantes de grupos como Firmicutes y Gamma proteobacterias tienen la capacidad de sintetizar ácidos orgánicos que se utilizan para desplazar a los iones fosfato de los sitios de intercambio y ponerlos disponibles (Mehment *et al.*, 2010).

Reemplazo. Tanto en bacterias terrestres (Dörmann y Benning, 2002; Alcaraz *et al.*, 2008) como en acuáticas (Van Mooy *et al.*, 2006, 2009) se ha observado que reemplazan al P por otros nutrientes en moléculas orgánicas esenciales, tales como fosfolípidos por sulfo-, galacto-, o fosfonolípidos con el objetivo de mantener la funcionalidad de la membrana.

Uso eficiente. Una de las estrategias bacterianas más sorprendentes es la capacidad de la reducción del genoma. Por ejemplo, la síntesis de ADN genómico

puede representar más de la mitad de la demanda de P en picocianobacterias (Bertilsson *et al.*, 2003). *Prochlorococcus*, una picocianobacteria que domina en ambientes oligotróficos en P, posee el genoma más pequeño de todos los organismos fotosintéticos reportados (Bertilsson *et al.*, 2003). Otro ejemplo es el género *Bacillus*, donde *Bacillus coahuilensis* (aislado de Cuatro Ciénegas) tiene el genoma más pequeño de todas las especies de *Bacillus* hasta ahora secuenciados (3640 Mpb) (Alcaraz *et al.*, 2008; Cerritos *et al.*, 2008).

CONCLUSIONES

- En la mayoría de los ecosistemas, se había considerado que el fósforo (P) contenido en moléculas orgánicas complejas (fosfonatos) era inaccesible para la biota, con lo cual se limitaba la productividad en los ecosistemas con poca disponibilidad de P (oligotróficos). Sin embargo, actualmente se ha reconocido la importancia de las bacterias en liberar el P contenido en estas moléculas.

- Para que la comunidad bacteriana sea capaz de sintetizar las diferentes enzimas que mineralizan estos compuestos orgánicos, es necesaria la presencia de una maquinaria genética capaz de sintetizar dichas enzimas. En ecosistemas oligotróficos, las comunidades bacterianas pueden estar formadas por linajes filogenéticamente distantes, con una alta diversidad de metabolismos para utilizar diferentes sustratos de P, asociados a genomas funcional y estructuralmente distintos. Sin embargo, no todos los grupos bacterianos tienen esta maquinaria genética, por lo cual han desarrollado una diversidad de estrategias para optimizar la adquisición y el uso del P. Este conjunto de estrategias ha permitido la permanencia y evolución de las bacterias, a pesar de la poca disponibilidad del P.

- Para poder entender los procesos que explican la disponibilidad del P en el suelo en estos ecosistemas es necesario realizar estudios integrales que consideren herramientas bioquímicas, biogeoquímicas y moleculares. Aún faltan estudios con análisis integrados que permitan elucidar el movimiento del P en los ecosistemas y como éste puede ser controlado por los microorganismos del suelo. Con estos estudios integrados será posible entender como se mantiene la vida en sistemas fuertemente limitados por el P, como es el caso de varios desiertos en el planeta.

AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM. Al financiamiento otorgado por el Papitt-DGAPA, UNAM. Al CONACYT por la beca otorgada (210603) para realizar estudios de doctorado de los cuales forma parte este trabajo. Al Dr. Antonio González-Rodríguez y a dos revisores anónimos por los comentarios al presente trabajo. A Y. Perroni y C. Montiel por permitirnos presentar sus datos de fraccionamiento de fósforo(P).

LITERATURA CITADA

- Adams, G. A. and D. H. Wall. 2000. Biodiversity above and below the surface of soils and sediments: Linkages and implications for global change. *BioScience* 50: 1043-1048.
- Alcaraz, L. D., G. Olmedo, G. Bonilla, R. Cerritos, G. Hernández, A. Cruz, E. Ramírez, C. Putonti, B. Jiménez, E. Martínez, V. López, J.L. Arvizu, F. Ayala, F. Razo, J. Caballero, J. Siefert, L. Eguiarte, J. P. Vielle, O. Martínez, V. Souza, A. Herrera-Estrella, and L. Herrera-Estrella. 2008. The genome of *Bacillus coahuilensis* reveals adaptations essential for survival in the relic of an ancient marine environment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105: 5803-5808.
- Benitez-Nelson, C. R., L. O'Neill, L. C. Kolowith, P. Pellechia, and R. Thunell. 2004. Phosphonates and particulate organic phosphorus cycling in an anoxic marine basin. *Limnol. Oceanogr.* 49: 1593-1604.
- Bertilsson, S., O. Berglund, D. M. Karl, and S. W. Chisholm. 2003. Elemental composition of marine *Prochlorococcus* and *Synechococcus*: Implications for the ecological stoichiometry of the sea. *Limnol. Oceanogr.* 48: 1721-1731.
- Buckingham, S. E., J. Neff, B. Titiz-Maybach, and R. L. Reynolds. 2010. Chemical and textural controls on phosphorus mobility in drylands of southeastern Utah. *Biogeochemistry* 100: 105-120.
- Cerritos, R., P. Vinuesa, L. E. Eguiarte, L. Herrera-Estrella, L. D. Alcaraz-Peraza, J. L. Arvizu-Gómez, G. Olmedo, E. Ramirez, J. L. Siefert, and V. Souza. 2008. *Bacillus coahuilensis* sp. nov., a moderately halophilic species from a desiccation lagoon in the Cuatro Ciénegas Valley in Coahuila, Mexico. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 58: 919-923. DOI 10.1099/ijs.0.64959-0.
- Clark, L. L., E. D. Ingall, and R. Benner. 1998. Marine phosphorus is selectively remineralized. *Nature* 393: 426.
- Cleveland, C. C. and D. Liptzin. 2007. C:N:P stoichiometry in soil: is there a "Redfield ratio" for the microbial biomass?. *Biogeochemistry* 85: 235-252.
- Coyne, M. S. 1999. *Soil microbiology: an exploratory approach*. Delmar Publishers. Independence, KY, USA.
- Cross, A. F. and W. H. Schlesinger. 1995. A literature review and evaluation of the Hedley fractionation: Applications to the biogeochemical cycle of soil phosphorus in natural ecosystems. *Geoderma* 64: 197-214.

- Cross, A. F. and W. H. Schlesinger. 2001. Biological and geochemical controls on phosphorus fractions in semiarid soils. *Biogeochemistry* 52: 155-172.
- Dao, T. H. 2011. Extracellular enzymes in sensing environmental nutrients and ecosystem changes: Ligand mediation in organic phosphorus cycling. *Soil Biol.* 22: 75-102.
- Dao, T. H. and K. Q. Hoang. 2008. Dephosphorylation and quantification of organic phosphorus in poultry litter by purified phytic-acid high affinity *Aspergillus* phosphohydrolases. *Chemosphere* 72: 1782-1787.
- Dinkelaker, B. and H. Marschner. 1992. In vivo demonstration of acid phosphatase activity in the rhizosphere of soil-grown plants. *Plant Soil* 144: 199-205.
- Dörmann, P. and C. Benning. 2002. Galactolipids rule in seed plants. *Trends Plant Sci.* 7:112-118.
- Dumora, C., A. M. Lacoste, and A. Cassaigne. 1989. Phosphonoacetaldehyde hydrolase from *Pseudomonas aeruginosa*: purification properties and comparison with *Bacillus cereus* enzyme. *Biochim. Biophys. Acta* 997: 193-198.
- Dyhrman, S. T., P. D. Chappell, S. T. Haley, J. W. Moffett, E. D. Orchard, J. B. Waterbury, and E. A. Webb. 2006. Phosphonate utilization by the globally important marine diazotroph *Trichodesmium*. *Nature* 439: 68-71.
- Elser, J. J., J. H. Schampel, F. García-Pichel, B. D. Wade, V. Souza, L. Eguiarte, A. Escalante, and J. D. Farmer. 2005. Effects of phosphorus enrichment and grazing snails on modern stromatolitic microbial communities. *Freshwater Biol.* 50: 1808-1825.
- Ezawa, T., M. Hayatsu, and M. Saito. 2005. A new hypothesis on the strategy for acquisition of phosphorus in arbuscular mycorrhiza: Up-regulation of secreted acid phosphatase gene in the host plant. *Mol Plant-Microbe Interact.* 18: 1046-1053.
- Fukushima, T., M. Onuki, H. Satoh, and T. Mino. 2010. Effect of pH reduction on polyphosphate- and glycogen-accumulating organisms in enhanced biological phosphorus removal process. *Water Sci. Technol.* 62: 1432-1439.
- García-Martín, H., N. Ivanova, V. Kunin, F. Warnecke, K. W. Barry, A. C. McHardy, C. Yeates, S. He, A. A. Salamov, E. Szeto, E. Dalin, N. H. Putnam, H. J. Shapiro, J. L. Pangilinan, I. Rigoutsos, N. C. Kyrpides, L. L. Blackall, K. D. McMahon, and P. Hugenholtz. 2006. Metagenomic analysis of two enhanced biological phosphorus removal (EBPR) sludge communities. *Nat. Biotechnol.* 24:1263-1269.
- Giardina, C. P., R. L. Sanford, Jr., and I. C. Döckersmith. 2000. Changes in soil phosphorus and nitrogen during slash-and-burn clearing of a dry tropical forest. *Soil Sci. Am. J.* 64: 399-405.
- Hayes, V. E., N. G. Ternan, and G. McMullan. 2000. Organophosphonate metabolism by a moderately halophilic bacterial isolate. *FEMS Microbiol. Lett.* 186: 171-175.
- Hilderbrand, R. L. 1983. The role of phosphonates in living systems. CRC Press. Boca Raton, FL, USA.
- Hirota, R., A. Kuroda, J. Kato, and H. Ohtake. 2010. Bacterial phosphate metabolism and its application to phosphorus recovery and industrial bioprocesses. *J. Biosci. Bioeng.* 109: 423-432.
- Horiguchi, M. and M. Kandatsu. 1959. Isolation of 2-aminoethane phosphonic acid from rumen protozoa. *Nature* 184: 901-902.
- Johnson, A. H., J. Frizano, and D. R. Vann. 2003. Biogeochemical implications of labile phosphorus in forest soils determined by the Hedley fractionation procedure. *Oecologia* 135: 487-499.
- Kolowitz, L. C., E. D. Ingall, and R. Benner. 2001. Composition and cycling of marine organic phosphorus. *Limnol. Oceanogr.* 46: 309-320.
- Kononova, S. V. and M. A. Nesmeyanova. 2002. Phosphonates and their degradation by microorganisms. *Biochemistry* 67: 184-195.
- Kugler, M., W. Loeffler, C. Rapp, A. Kern, and G. Jung. 1990. Rhizoctin A, an antifungal phosphono-oligopeptide of *Bacillus subtilis* ATCC 6633: Biological properties. *Arch. Microbiol.* 153: 276-281.
- Kulaev, I. and T. Kulakovskaya. 2000. Polyphosphate and phosphate pump. *Annu. Rev. Microbiol.* 54: 709-734.
- La Nauze, J. M., H. Rosenberg, and D. C. Shaw. 1970. The enzymatic cleavage of the carbon-phosphorus bond: purification and properties of phosphonate. *Biochim. Biophys. Acta* 212: 332-350.
- La Nauze, J. M., J. R. Coggins, and H. B. Dixon. 1977. Aldolase-like imine formation in the mechanism of action of phosphonoacetaldehyde hydrolase. *Biochem. J.* 165: 409-411.
- Lacoste, A. M., A. Cassaigne, M. Tamari, and E. Neuzil. 1976. Transport de l'acide amino-2-éthylphosphonique chez *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochimie* 58: 703-712.
- Lathja, K. and W. H. Schlesinger. 1988. The biogeochemistry of phosphorus cycling and phosphorus availability along a desert soil chronosequence. *Ecology* 69: 24-39.
- López-Gutiérrez, J. C., M. Toro, and D. López-Hernández. 2004. Seasonality of organic phosphorus mineralization in the rhizosphere of the native savanna grass, *Trachypogon plumosus*. *Soil Biol. Biochem.* 36: 1675-1684.
- Martínez, A., G. W. Tyson, and E. F. Delong. 2010. Widespread known and novel phosphonate utilization pathways in marine bacteria revealed by functional screening and metagenomic analyses. *Environ. Microbiol.* 12: 222-238.
- McGill, W. B. and C. V. Cole. 1981. Comparative aspects of cycling of organic C, N S and P through soil organic matter. *Geoderma* 26: 267-286.
- Mehmet, O., E. Fatih, and K. Nejd. 2010. Phosphate solubilization potentials of *Acinetobacter* strains. *Biol. Fertil. Soils* 46: 707-715.
- Morais, M. C., G. Zhang, W. Zhang, D. B. Olsen, D. Dunaway-Mariano, and K. N. Allen. 2004. X-ray Crystallographic and site-directed mutagenesis analysis of the mechanism of Schiff-base formation in phosphonoacetaldehyde hydrolase catalysis. *J. Biol. Chem.* 279: 9353-9361.
- Negassa, W. and P. Leinweber. 2009. How does the Hedley sequential phosphorus fractionation reflect impacts of land use and management on soil phosphorus: A review. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 172: 305-325.
- Olsen, D. B., T. W. Hepburn, M. Moss, P. S. Mariano, and D. Dunaway-Mariano. 1988. Investigation of the *Bacillus cereus* phosphonoacetaldehyde hydrolase. Evidence for a Schiff-base mechanism and sequence analysis of an active-site peptide containing the catalytic lysine residue. *Biochemistry* 27: 2229-2234.

- Olsen, D. B., T. W. Hepburn, S. L. Lee, B. M. Martin, P. S. Mariano, and D. Dunaway-Mariano. 1992. Investigation of the substrate binding and catalytic groups of the P-C bond cleaving enzyme, phosphonoacetaldehyde hydrolase. *Arch. Biochem. Biophys.* 296: 144-151.
- Quan, C., S. Fan, and Y. Ohta. 2003. Pathway of dephosphorylation of myo-inositol hexakisphosphate by a novel phytase from *Candida krusei* WZ-001. *J. Biosci. Bioeng.* 95: 530-533.
- Quin, L. D. 1965. The presences of compounds with a carbon-phosphorus bond in some marine invertebrates. *Biochemistry* 4: 324-330.
- Quinn, J. P., A. N. Kulakova, N. A. Cooley, and J. W. McGrath. 2007. New ways to break an old bond: The bacterial carbon-phosphorus hydrolases and their role in biogeochemical phosphorus cycling. *Environ. Microbiol.* 9: 2392-2400.
- Rosenberg, H. and J. M. La Nauze. 1967. The metabolism of phosphonates by microorganisms. The transport of 2AEP in *Bacillus cereus*. *Biochim. Biophys. Acta* 141: 79-90.
- Selmants, P. C. and S. C. Hart. 2010. Phosphorus and soil development: Does the Walker and Syers model apply to semiarid ecosystems? *Ecology* 91: 474-484.
- Sviridov, A. V., T. V. Shushkova, N. F. Zelenkova, N. G. Vinokurova, I. G. Morgunov, I. T. Ermakova, and A. A. Leontievsky. 2012. Distribution of glyphosate and methylphosphonate catabolism systems in soil bacteria *Ochrobactrum anthropi* and *Achromobacter* sp. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 93:787-796.
- Tarafdar, J. C. and H. Marschner. 1994. Phosphatase activity in the rhizosphere and hyphosphere of *va* mycorrhizal wheat supplied with inorganic and organic phosphorus. *Soil Biol. Biochem.* 26: 387-395.
- Ternan, N. G., J. W. Mc Grath, G. Mc Mullan, and J. P. Quinn. 2000. Review: Organophosphonates: Occurrence, synthesis and biodegradation by microorganisms. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 14: 635-647.
- Tetu, S. G., B. Brahamsha, D. A. Johnson, V. Tai, K. Phillippy, B. Palenik, and I. T. Paulsen. 2009. Microarray analysis of phosphate regulation in the marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. WH8102. *ISME J.* 3: 835-849.
- Tiessen, H., J. W. B. Stewart, and J. O. Moir. 1983. Changes in organic and inorganic phosphorus composition of two grassland soils and their particle size fractions during 60-90 years of cultivation. *J. Soil Sci.* 34: 815-823.
- Van Mooy, B. A. S., G. Rocard, H. F. Fredricks, C. T. Evans, and A. H. Devol. 2006. Sulfolipids dramatically decrease phosphorus demand by picocyanobacteria in oligotrophic marine environments. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103: 8607-8612.
- Van Mooy, B. A. S., H. F. Fredricks, B. E. Pedler, S. T. Dyhrman, D. M. Karl, M. Koblizek, M. W. Lomas, T. J. Mincer, L. R. Moore, T. Moutin, M. S. Rappé, and E. A. Webb. 2009. Phytoplankton in the ocean use non-phosphorus lipids in response to phosphorus scarcity. *Nature* 458: 69-72.
- Wackett, L. P., S. L. Shames, C. P. Venditti, and C. T. Walsh. 1987. Bacterial carbon-phosphorus lyase: products, rates, and regulation of phosphonic and phosphinic acid metabolism. *J. Bacteriol.* 169: 710-717.
- Walbridge, M. R. 1991. Phosphorus availability in acid organic soils of the lower North Carolina coastal plain. *Ecology* 72: 2083-2100.
- Walker, T. W. and J. K. Syers. 1976. The fate of phosphorus during pedogenesis. *Geoderma* 15: 1-19.
- Whalen, J. K. and L. Sampedro. 2010. *Soil ecology and management*. Cambridge University Press. UK.
- White, A. K. and W. W. Metcalf. 2007. Microbial metabolism of reduced phosphorus compounds. *Annu Rev Microbiol.* 61: 379-400.