

CONSORCIOS BACTERIANOS SINERGÍSTICOS PARA MOVILIZAR FÓSFORO DEL SUELO

CAMPO DE LA INVENCION

La presente descripción se relaciona a combinaciones
5 de cultivos bacterianos aislados y composiciones que comprenden
los cultivos, las combinaciones que tienen mayor actividad que
sería observada para los cultivos de bacterias individuales.
Una composición de la presente descripción se puede utilizar
ventajosamente para aumentar la disponibilidad del fósforo del
10 suelo y otros macronutrientes y/o micronutrientes a las
plantas, y de esta manera aumentar su crecimiento y
rendimiento.

ANTECEDENTES

En los Estados Unidos y la mayoría de regiones
15 alrededor del mundo, muchas granjas sufren de baja eficiencia
de uso de fósforo (P), lo que significa que las entradas de P
(fertilizante o abono) son más grandes que el P cosechado en
los cultivos. Aún cuando el fertilizante de P aparentemente
adecuado se aplica a los suelos, 70-90% puede llegar a ser
20 rápidamente no disponible para la captación de plantas. Esto es
grandemente debido a que el P fácilmente se sorbe a las
superficies minerales resistentes a la intemperie dentro del
perfil del suelo. A través del tiempo, esto crea grandes
acumulaciones de P del suelo residual que no está disponible
25 para la captación de las plantas. En respuesta, los granjeros

frecuentemente aplican fertilizante P en exceso de los requerimientos de las plantas, lo cual contribuye al escurrimiento de P en el agua subterránea y eutroficación de ecosistemas acuáticos.

5 La conciencia ambiental, restricciones de recursos y opinión pública general están incrementado la demanda por tecnologías y productos verdes eficientes como opciones al fertilizante P tradicional. Tales tecnologías y productos verdes son aquellos que promueven la sostenibilidad y tienen
10 impacto mínimo en el ambiente. Un área que está siendo explotada para desarrollar tecnología y productos verdes es el uso de microorganismos y sus propiedades especializadas. Mientras que la mayoría de P del suelo no está disponible a las plantas, algunos microorganismos tienen la habilidad de
15 solubilizar P inorgánico y otros micronutrientes y mineralizar P orgánico en ortofosfato soluble que está disponible para la captación de las plantas. Colectivamente, estos dos procesos movilizan el fósforo del suelo, incrementando su disponibilidad a las plantas.

20 Otros aislados de bacterias y hongos también se han reportado que movilizan el fósforo. Mientras que hay gran potencial para mejorar la movilización de P microbiana, el progreso en la comercialización de composiciones microbianas se ha limitado grandemente. En algunos casos, los inoculantes
25 bacterianos comerciales no pueden aumentar de manera

significativa la disponibilidad de P o el crecimiento de la planta aún en altas concentraciones de uso, debido a la inestabilidad bajo ciertas condiciones tales como alta temperatura y alto pH, y por la identificación de cepas
5 individuales a través de técnicas de cultivo tradicionales para el uso en los inoculantes. El uso de combinaciones de por lo menos dos aislados de bacterias puede mejorar la actividad, ampliar las aplicaciones potenciales, reducir las concentraciones de uso y los costos, y reducir la necesidad por
10 entradas de fertilizante químico. Las combinaciones de diferentes aislados de bacterias además pueden proporcionar desempeño aumentado en una gama más amplia de suelos y climas debido a la redundancia funcional. Hay muchos otros inoculantes microbianos en el mercado que se reclaman para estimular lo
15 saludable de la planta. Estos productos contienen una mezcla indefinida de microbios que se cultivan en productos de desechos orgánicos, y son esencialmente un té de composta sin funcionalidad mecanística definida. Mientras que ellos hacen amplias reclamaciones, estos productos no son muy efectivos y
20 únicamente han penetrado a un pequeño mercado de entusiastas.

Por consiguiente, hay una necesidad por desarrollar tecnologías a base de microorganismos y productos para la movilización de P que sean estables bajo varias condiciones, tengan una vida en anaquel apreciable, combinen dos o más
25 cepas, e incrementen el crecimiento y capacidad saludable de la

planta mientras que reduzcan las entradas de productos químicos y el impacto ambiental.

BREVE DESCRIPCIÓN

Los aislados microbianos y consorcios (mezclas de dos
5 o más cepas bacterianas distintas) se pueden utilizar para
mejorar la movilización de P microbiano, para de esta manera
incrementar la disponibilidad del fósforo del suelo a las
plantas, incrementando su captación de fósforo y su
crecimiento. Las aplicaciones incluyen pero no están limitadas
10 a cultivos agrícolas y césped.

La presente descripción se dirige a composiciones que
contienen y métodos para utilizar aislados y comunidades
bacterianas. En particular, la presente descripción se dirige a
una composición que contiene uno o más microorganismos de los
15 consorcios bacterianos como es descrito en la presente,
particularmente en la Tabla 1 o mezclas de los mismos. En una
modalidad preferida, la composición incluirá dos o más cepas de
aquellas listadas en la Tabla 1.

Los microorganismos se pueden caracterizar por una
20 secuencia génica ribosomal 16S de identificación
correspondiente a, y en y por lo menos 97% idéntica a SEQ ID
NOs 1-4 y/o por comparación a las bacterias con Nos. de Acceso
de NRRL: NRRL B-67136, NRRL B-67137, NRRL B-67138 y NRRL B-
67139.

25 En ciertas modalidades, las composiciones incluirán

componentes adicionales tales como aditivos, auxiliares y excipientes además de los consorcios bacterianos. Tales componentes adicionales pueden apoyar el crecimiento de bacterias, inducir la producción de metabolitos específicos por bacterias, aumentar la estabilidad de la composición, adicionar color, adicionar valor nutritivo y/o proporcionar otros atributos a las composiciones de la presente descripción. Los aditivos adecuados incluye una fuente de carbono, una fuente de nitrógeno, quitina, quitosano, glucosamina, aminoácidos, minerales, vitaminas, sales, conservadores y otros aditivos conocidos en la técnica que apoyan el crecimiento, inducen la producción de metabolitos específicos o estabilizan la composición.

Las composiciones descritas en la presente pueden estar en forma acuosa o seca. Las composiciones se pueden aplicar como un líquido (que puede incluir cultivos vivos y/o inactivos, o extractos) mezclas deshidratadas, recubrimientos de semilla u otras formas de aplicación. La composición se puede proporcionar en una forma diluida o concentrada. En una modalidad, la composición se concentra. En otra modalidad, la composición se diluye.

Los métodos de la presente descripción incluyen la utilización de la composición descrita para enriquecer el suelo y/o plantas. Las composiciones se pueden aplicar al suelo, semilla y plántula o plantas maduras. La composición se puede

aplicar al suelo en forma líquida o seca. La composición se puede aplicar a la superficie del suelo o mezclar en el suelo utilizando métodos conocidos en la técnica, tales como inyección, labranza y/o arado. En otro aspecto, la composición se puede utilizar para enriquecer plantas. La composición se puede aplicar al suelo o una fuente de agua o fertilizante, incluyendo sistemas hidropónicos y aeropónicos, que luego se suministra al suelo y/o planta en forma líquida o seca. En otro aspecto, la composición se puede utilizar para enriquecer semillas antes de la plantación. En varias modalidades, la planta o semilla se puede cultivar en varios ambientes, incluyendo campos y contenedores. En muchas modalidades, la planta o semilla se puede cultivar en el suelo natural, suelo sintético o una combinación de los mismos. En algunas modalidades el suelo puede comprender fibras de coco, lana de roca y/o otros medios adecuados bien conocidos en la técnica. En algunas modalidades, las semillas se pueden empapar en una solución acuosa que contiene la composición descrita y/o las semillas se pueden recubrir con la composición. El tratamiento del suelo, semilla y plántulas también puede incluir aplicaciones repetidas de las composiciones anteriores.

Los métodos de la presente descripción incluyen la utilización de una composición de microorganismos como un reemplazo o suplemento químico para evitar o reducir la aplicación de fertilizantes que contienen fósforo.

La aplicación de las composiciones descritas permite la eliminación o reducción significativa en la cantidad de fertilizante, fungicida y/o insecticida utilizada en aplicaciones agrícolas. En algunas modalidades, el uso de las formulaciones bacterianas da por resultado una disminución en la cantidad de emisiones de gases de invernadero.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Figura 1. La gráfica de dispersión muestra el crecimiento bacteriano estable, medido como unidades formadoras de colonia (cfu/ml) en el medio de alfalfa líquido como una función del tiempo.

Figura 2. La gráfica de dispersión muestra los niveles de pH estables en el medio de alfalfa líquido con o sin amortiguador PO_4 adicionado.

Figura 3. Histograma de frecuencia que muestra la amplia variabilidad en la solubilización de P inorgánico microbiano y entre las comunidades bacterianas aisladas de suelos de pastizales naturales

Figura 4. Capacidades de solubilización de P microbiano observado con eventualmente la meseta mediante la generación # 27 después de la mejora progresivamente rápida de la generación #1; que representa los consorcios cada vez más superiores seleccionados para la mejora en las tasas de solubilización de fósforo a través de generaciones subsecuentes.

La Figura 5 son gráficas que muestran la habilidad de todos los aislados microbianos y combinaciones de aislados para hacer ortofosfato (PO_4) más disponible. Estos descubrimientos demuestran cómo la movilización de ortofosfato (PO_4) mejorada puede presentarse con las sinergias de múltiples especies bacterianas. Más específicamente, un consorcio con dos especies, que incluyen *Enterobacter cloacae* (Ec) y *Citrobacter fruendii* (Cf) demuestran la mejora sinérgica más fuerte en la movilización de PO_4 ; pero una mejora sinérgica a un grado ligeramente menor también se observó cuando se incluye *Pseudomonas putida* (Pp). Los aislados bacterianos no demuestran el mismo beneficio aditivo para mejorar la movilización de PO_4 cuando se compara con el efecto de los consorcios.

Las Figuras 6A y 6B son gráficas que muestran la biomasa de trigo mejorada con el uso de un aspecto de la presente descripción para dos diferentes variedades de trigo Fig. 6A Byrd y Fig. 6B Hatcher. La biomasa del trigo se recolectó al final de la estación de crecimiento en un experimento de invernadero. Los resultados muestran que el bioestimulante microbiano que moviliza P de los Solicitantes (P Elevado; una modalidad de la composición descrita) con fertilizantes inorgánicos tradicionales demostró emergencia más rápida y más crecimiento comparado con dos productos bioestimulantes microbianos competidores con fertilizantes inorgánicos tradicionales (BioApt Inoc y Accomplish).

Las Figuras 7A, 7B y 7C son gráficas que muestran la altura del césped en 8 días y 10 días de la plantación con el bioestimulante microbiano que moviliza P de los Solicitantes (P Elevado) y los fertilizantes inorgánicos tradicionales. Los resultados muestran que el bioestimulante microbiano que moviliza P de los Solicitantes (P Elevado) demostraron emergencia más rápida y más crecimiento comparado con los fertilizantes inorgánicos tradicionales (Fertilizante Inorgánico), en el Centeno Perene Fig. 7A, Festuca Alta Fig. 7B y el Césped Azul de Kentucky Fig. 7C.

Las Figuras 8A, 8B y 8C son gráficas que muestran el color verde oscuro para el césped Azul de Kentucky Fig. 8A, Festuca Alta Fig. 8B y Centeno Perene Fig. 8C utilizando el bioestimulante microbiano que moviliza P de los solicitantes (P Elevado) y los fertilizantes inorgánicos tradicionales. Los resultados muestran que una modalidad del bioestimulante microbiano que moviliza P de la presente descripción (P Elevado) demostró color más verde con relación a los fertilizantes inorgánicos tradicionales (Fertilizante Inorgánico).

Las Figuras 9A, 9B, 9C y 9D son gráficas que muestran el crecimiento de plantas reportado como g/cm² normalizado seco para el Césped Azul Fig. 9B, Césped Azul de Kentucky Fig. 9C, Festuca Alta Fig. 9A y el Centeno Perene Fig. 9D utilizando el bioestimulante microbiano que moviliza P de los solicitantes (P

Elevado) y los fertilizantes inorgánicos tradicionales. Los resultados indican que el bioestimulante microbiano que moviliza P de la descripción (P Elevado) condujo a crecimiento de la planta más grande que los fertilizantes inorgánicos tradicionales (Fertilizante Inorgánico).

La Figura 10 es una gráfica que muestra el crecimiento de la planta reportado como g/cm² normalizado seco para el Césped Azul de Kentucky utilizando el bioestimulante microbiano que moviliza P de los solicitantes (P Elevado) y los fertilizantes inorgánicos tradicionales. Los resultados indican que el bioestimulante microbiano que moviliza P de la descripción (P Elevado) condujo un crecimiento de la planta más grande que los fertilizantes inorgánicos tradicionales (MG = Miracle Gro).

Las Figuras 11A, 11B, 11C, 11D y 11E son gráficas que muestran la captación de nutrientes del tejido de la planta para el Césped Azul de Kentucky utilizando el bioestimulante microbiano que moviliza P de los solicitantes (P Elevado) y los fertilizantes inorgánicos tradicionales. Los datos muestran que las semillas inoculadas con la composición bioestimulante microbiana que moviliza P de la descripción (P Elevado) demostraron captación de Calcio del suelo incrementado (Ca, Fig. 11A), Magnesio (Mg, Fig. 11B), Sodio (Na, Fig. 11C), Potasio (K, Fig. 11D y Hierro (Fe, Fig. 11E) comparado con los fertilizantes inorgánicos tradicionales (Fertilizante

Inorgánico).

Las Figuras 12A, 12B y 12C son gráficas que muestran los días de la Fig. 11A antes del primer florecimiento, # de plantas de la Fig. 11B que emergieron después de 3 semanas y
5 rendimiento de 11C para plantas de jalapeño con el bioestimulante microbiano que moviliza P de los Solicitantes (P Elevado) y los fertilizantes inorgánicos tradicionales. Los resultados muestran que el bioestimulante microbiano que moviliza P de los Solicitantes (P Elevado) demostraron
10 emergencia más rápida y florecimientos comparados con los fertilizantes inorgánicos tradicionales (MG = Miracle Gro).

Las Figuras 13A y 13B son gráficas que muestran # de tomates de la Fig. 13A después de 4 meses y # de plantas de la Fig. 13B que emergieron después de 3 semanas para plantas de
15 tomate cherry con el bioestimulante microbiano que moviliza P de los Solicitantes (P Elevado) y los fertilizantes inorgánicos tradicionales. Los resultados muestran que el bioestimulante microbiano que moviliza P de los Solicitantes (P Elevado) demostró emergencia más rápida comparado con los fertilizantes
20 inorgánicos tradicionales (MG = Miracle Gro).

Las Figuras 14A y 14B son gráficas que muestran # de plantas de la Fig. 14A que emergieron después de 3 semanas y el rendimiento de la Fig. 14B para plantas de tomate Brandywine con el bioestimulante microbiano que moviliza P de los
25 Solicitantes (P Elevado) y fertilizantes inorgánicos

tradicionales. Los resultados muestran que el bioestimulante microbiano que moviliza P de los Solicitantes (P Elevado) demostró emergencia más rápida y más rendimiento comparado con los fertilizantes inorgánicos tradicionales (MG = Miracle Gro).

5 La Figura 15 es una gráfica que muestra el número de plantas que emergieron después de 3 semanas para plantas de albahaca con el bioestimulante microbiano que moviliza P de los Solicitantes (P Elevado) y los fertilizantes inorgánicos tradicionales. Los resultados muestran que el bioestimulante
10 microbiano que moviliza P de los Solicitantes (P Elevado) demostraron emergencia más rápida comparada con los fertilizantes inorgánicos tradicionales (MG = Miracle Gro).

La Figura 16 es una gráfica que muestra # de plantas que emergieron después de 3 semanas para plantas de caléndula
15 con el bioestimulante microbiano que moviliza P de los Solicitantes (P Elevado) y los fertilizantes inorgánicos tradicionales. Los resultados muestran que el bioestimulante microbiano que moviliza P de los Solicitantes (P Elevado) demostraron emergencia más rápida comparado con los
20 fertilizantes inorgánicos tradicionales (MG = Miracle Gro).

La Figura 17 es una tabla, Tabla 4.1, que muestra el análisis elemental del césped. Los datos presentados demostraron captación de nutrientes de la planta más alto para varios macro y micronutrientes cuando se inocularon con
25 bioestimulantes (tasas más altas se indican en negrita). *T =

Tratamiento; M = Humedad*; Tratamiento 1 es consorcios microbianos que movilizan P de la presente descripción; Tratamiento 2 es el medio Estéril correspondiente al tratamiento 1 (utilizando 0.2 μ M) sin actividad microbiana; 5 Tratamiento 3 es el fertilizante de planta inorgánico rico en nutrientes Común utilizado para un control (solución de Hoagland).

La Figura 18 es una tabla, Tabla 4.2, que muestra el análisis elemental de nutrientes del suelo que demuestran 10 niveles más altos de macro y micronutrientes cuando se inoculan con bioestimulantes (las tasas más altas se indican en negrita). *T = Tratamiento*; Tratamiento 1 es consorcios microbianos que movilizan P de la presente descripción; Tratamiento 2 es medio Estéril correspondiente al tratamiento 1 15 (utilizando 0.2 μ M) sin actividad microbiana; Tratamiento 3 es el fertilizante de planta inorgánico rico en nutrientes Común utilizado para un control (solución de Hoagland).

La Figura 19 muestra gráficas de varios indicadores de crecimiento de plantas a través del tiempo; número de 20 roseta, diámetro de roseta y altura de la planta para las semillas cultivadas con o sin varias combinaciones de las bacterias descritas.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS TABLAS

Tabla 1. Nomenclatura Bacteriana que Moviliza Fósforo 25 (97% de similitud).

Tabla 2.1 Ejemplo del medio definido utilizando substratos Férrico (FePO_4) y de aluminio (AlPO_4).

Tabla 2.2 Ejemplo de límites de estequiometría de nutrientes en el medio Férrico (FePO_4) y de aluminio (AlPO_4).

5 Tabla 3.1 Diseño factorial completo para probar los efectos interactivos entre las cuatro especies objetivo para la movilización de ortofosfato (PO_4) mejorada. Los valores abajo representan proporciones relativas (μL) para lograr un volumen final de 50 μL para adicionar a 950 μL en cada cavidad de las
10 placas de 96 cavidades profundas. Cada cultivo fue en 10^9 CFU de conteos en el tiempo del mezclado.

Tabla 3.2 Estructura de comunidad bacteriana, unidades formadoras de colonia (CFU's) y abundancias relativas para los consorcios bacterianos que movilizan PO_4 del suelo de los
15 inventores.

Tabla 4.3 Leyenda de la gráfica de tratamiento.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

A menos que se indique de otra manera, todos los números que expresan cantidades de ingredientes, propiedades
20 tales como peso molecular, condiciones de reacción y así sucesivamente utilizadas en la presente especificación y reivindicaciones asociadas se van a entender como que son modificadas en todos los casos por el término "aproximadamente". Por consiguiente, a menos que se indique lo
25 contrario, los parámetros numéricos expuestos en la siguiente

especificación son aproximaciones que pueden variar dependiendo de las propiedades deseadas que se buscan obtener por las presentes modalidades. Muy al menos, y no como un intento para limitar la aplicación de la doctrina de equivalentes al alcance de la reivindicación, cada parámetro numérico debe ser por lo menos considerado en vista del número de dígitos significativos reportados y al aplicar las técnicas de redondeo ordinarias.

Una o más modalidades ilustrativas que incorporan las características descritas en la presente se presentan enseguida. No todas las características de una implementación física son necesariamente descritas o mostradas en esta solicitud por cuestión de claridad. Se va entender que entender que en el desarrollo de una modalidad física que incorpora las modalidades de la presente descripción, numerosas decisiones específicas de implementación se pueden hacer para lograr los objetivos del desarrollador, tal como el cumplimiento con las restricciones relacionadas con el sistema, relacionadas con el negocio, reaccionadas con el gobierno y otras restricciones, que varían por la aplicación y de tiempo a tiempo. Mientras que los esfuerzos de un desarrollador podrían ser consumidores de tiempo, tales esfuerzos serían, no obstante, una tarea de rutina para aquellos de habilidad ordinaria en la técnica y que tienen beneficio de esta descripción.

Por toda esta descripción, varios aspectos de las composiciones y métodos actualmente divulgados se pueden

presentar en un formato de intervalo. Se va entender que la descripción en formato de intervalo es meramente por conveniencia y brevedad y no se debe considerar como una limitación inflexible en el alcance de la presente descripción.

5 Por consiguiente, la descripción de un intervalo se debe considerar que ha divulgado específicamente todos los sub-intervalos posibles así como valores numéricos individuales dentro de ese intervalo. Por ejemplo, la descripción de un intervalo tal como de 1 a 6 debe ser considerado que ha
10 divulgado específicamente los sub-intervalos tal como de 1 a 3, de 1 a 4, de 1 a 5, de 2 a 4, de 2 a 6, de 3 al 6, etc., así como números individuales dentro de ese intervalo, por ejemplo, 1, 2, 2.7, 3, 4, 5, 5.3 y 6. Esto aplica sin considerar la amplitud del intervalo.

15 Mientras que las composiciones y métodos se describen en la presente en términos de "que comprenden" varios componentes o etapas, las composiciones y métodos también pueden "consistir esencialmente de" o "consistir de" los diversos componentes y etapas.

20 **I. Consorcios que Movilizan Fósforo**

Los inoculantes bacterianos comerciales generalmente disponibles no aumentan significativamente la disponibilidad de P o el crecimiento de la planta. Esta ineficacia es debido, en parte, a la inestabilidad de los inoculantes bajo varias
25 condiciones tales como alta temperatura y alto pH. En

contraste, se describen en la presente combinaciones de diferentes aislados bacterianos que proporcionan desempeño aumentado en una amplia gama de suelos (por ejemplo naturales y sintéticos, así como sistemas hidropónicos y aeropónicos),
5 condiciones y climas. El desempeño aumentado de las combinaciones descritas es debido, en parte, a la redundancia funcional de los aislados bacterianos seleccionados y al proceso de selección que identifica y modifica las bacterias que dan por resultado la actividad que moviliza fósforo
10 aumentado del consorcio, que a su vez da por resultado el crecimiento de planta aumentado. En muchos casos, las combinaciones descritas proporcionan actividad que moviliza fósforo sorprendentemente aumentada.

De acuerdo con un aspecto de la descripción, un
15 consorcio (o mezcla de dos o más cepas distintas de bacterias) de bacterias para movilizar fósforo es creado. Los consorcios movilizan fósforo incluyen hasta 4 de las cepas listadas en la Tabla 1. De acuerdo con un aspecto de la descripción, una combinación de cualquiera de dos o más de las cepas de la Tabla
20 1 se pueden utilizar en un consorcio, en otras modalidades, todas las 4 cepas se incluyen en un consorcio. En muchas modalidades, las diversas cepas de bacterias modificadas en un consorcio se identifican por sus secuencias génicas ribosomales 16S.

25 La presente descripción contempla consorcios para el

uso solo, o como parte de una composición de inóculo, que incluye aditivos, portadores y otros componentes. La presente descripción, también puede proporcionar nitrógeno, potasio y compuestos de fosfato que se pueden absorber directamente por las plantas. Los presentes consorcios modifican los nutrientes del suelo y los constituyentes orgánicos de modo que las plantas pueden utilizar más efectivamente los compuestos y los aditivos que ya pueden estar presentes en el suelo circundante (es decir, movilizar los compuestos tal como fósforo). Los microorganismos beneficiosos vivos (así como compuestos, moléculas y enzimas producidos por los microorganismos) dentro de las composiciones actualmente descritas pueden descomponer la materia orgánica que está presente en el suelo, que luego se convierte a formas que son absorbibles por las plantas.

Las composiciones de la presente descripción se pueden utilizar en conjunción con compuestos de nitrógeno, potasio y fósforo para tratar las plantas. En algunas modalidades, los compuestos de nitrógeno, potasio y fósforo se adicionan antes de, durante o después de la aplicación de las composiciones descritas. En algunas modalidades, las composiciones actualmente descritas pueden ayudar a permitir a las plantas a absorber más efectivamente los compuestos de nitrógeno, potasio y fósforo aplicados. Como resultado, se requieren menos fertilizantes químicos y menor frecuencia de aplicación. En otra modalidad, cantidades pequeñas de

compuestos de nitrógeno, potasio y fósforo se pueden adicionar a las composiciones de la descripción, que pueden auxiliar en la efectividad del consorcio - es decir los compuestos de nitrógeno, potasio y fósforo se adicionan durante la aplicación de las composiciones descritas.

Las composiciones descritas se pueden utilizar para ayudar en el crecimiento de una planta o semilla. En muchas modalidades el crecimiento de una planta se puede monitorear con una variedad de métodos. En algunas modalidades, el crecimiento de una planta se puede monitorear al medir la altura, peso de la planta, rendimiento (número o peso) de flores o frutos así como atributos químicos tales como contenido de azúcar, contenido de nutrientes y proteína obtenidos de la planta.

El uso de las composiciones descritas puede ayudar a incrementar el crecimiento de una planta con relación a las plantas cultivadas sin el uso de las composiciones descritas. En muchos casos, el uso de las composiciones descritas puede aumentar el crecimiento promedio mayor que aproximadamente 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15%, 20% o 30%, y menor que aproximadamente 40%, 30%, 20%, 15%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3% o 2%. El aumento de crecimiento descrito se puede medir en varias etapas por todo el crecimiento de la planta, por ejemplo desde la germinación a la cosecha de la planta, su semilla, flor o fruto.

II. Composiciones

Las composiciones útiles en esta descripción incluyen uno o más microorganismos bacterianos como se lista en la Tabla 1. En otro aspecto, las composiciones descritas incluyen por lo menos dos o más microorganismos bacterianos identificables por homología de por lo menos 95 o mayor porcentaje de identidad a las secuencias ribosomales 16S de SEQ ID NOS: 1-4. En muchas modalidades, la cantidad de la secuencia 16S es menor que aproximadamente 1.2 kb, 1,1 kb, 1.0 kb, 0.9 kb, 8 kb, 0.7 kb, 0.6 kb, 0.5 kb, 0.4 kb, 0.3 kb, 0.2 kb o 0.1 kb y más aproximadamente 50 nt, 0.1 kb, 2 kb, 0.3 kb, 0.4 kb, 0.5 kb, 0.6 kb, 0.7 kb, 0.8 kb, 0.9 kb, 1.0 kb o 1.1 kb. En muchas modalidades, la cantidad de homología de secuencia ribosomal 16S está entre aproximadamente 150 nt y 500 nt, por ejemplo aproximadamente 250 nt.

Para determinar el por ciento de identidad de dos ácidos nucleicos, las secuencias se alinean para propósitos de comparación óptima (por ejemplo, se pueden introducir espacios en la secuencia de una primera secuencia de ácido nucleico para la alineación óptima con una segunda secuencia de ácido nucleico). Los nucleótidos en las posiciones de nucleótido correspondiente luego se compara. Cuando una posición en la primera secuencia se ocupa por el mismo nucleótido como la posición correspondiente en la segunda secuencia, entonces las moléculas son idénticas en esa posición. El por ciento de

identidad entre las dos secuencias es una función del número de posiciones idénticas compartidas por las secuencias (es decir, % de identidad=# de posiciones idénticas/# total de posicionesX100).

5 Tabla 1. Nomenclatura Bacteriana que Moviliza Fósforo
(97% de similitud)

Especie	Secuencia 16S (OTU Representativa en 97% de similitud)
1) Comamonas testosteroni; SEQ ID NO:1	CATCGGAACGTGCCTAGTAGTGGGGGATAACTACTCNNNNNAGTA GCTAATACCGCATGAGATCTACGGATGAAAGCAGGGGACCTTCGG GCCTTGTGCTACTAGAGCGGCTGATGGCAGATTAGGTAGTTGGTG GGGTAAAGGCTTACCAAGCCTGCGATCTGTAGCTGGTCTGAGAGG ACGACCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACG GGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTGGACAATGGGCGAAAGCCTGAT CCAGCAATGCCGCGTGCAGGATGAAGGCCCTCGGGTTGTAAACTG CTTTTGTACGGAACGAAAAGCCTGGGGCTAATATCCCCGGGTCAT GACGGTACCGTAAGAATAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGC CGCGGTAAACGTAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCG TAAAGCGTGCGCAGGCGGTTTTGTNAAGACAGTGGTGAAATCCCC GGGCTCAACCTGGGGAACTGCCATTGTGACTGCAAGGCTAGAGTG CGGCAGAGGGGGATGGAATTCCGCGTGTAGCAGTGAAATGCGTA GATATGCGGAGGAACACCGATGGCGAAGGCAATCCCCTGGGCCT GCACTGACGCTCATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAG ATACCCTGGGTAGTCCACGNCCCTAAACGATGTCAACTGGTTGTTG GGTCTTAACCTGACTCAGTAACGAAGCTAACGCGTGAAGTTGACCG CCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGG GGACCCGCACAAGCGGTGGATGATGTGGTTTAATTCGATGCAACG CGAAAAACCTTACCCACCTTTGACATGGCAGGAACCTTACCAGAGAT GGTTTGGTGCTCGAAAGAGAACCTGCACACAGGTGCTGCATGGCT GTCGTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGA GCGCAACCCTTGCCATTAGTTGCTACATTGAGTTCAGTTCAGCACTCTAAT GGGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAA GTCCTCATGGCCCTTATAGGTGGGGCTACACACGTCATACAATGG CTGGTACAAAGGGTTGCCAACCCGCGAGGGGGAGCTAATCCCAT AAGCCAGTCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGA AGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGAATGNCACGGTGAATA CGTTCCCGGGTCTTGTACACACC

5	2) <i>Pseudomonas putida</i> ; SEQ ID NO:2	TGCCTAGGAATCTGCCTGGTAGTGGGGGACAACGTNNNNNAAGGA ACGCTAATACCGCATACGTCCTACGGGAGAAAGCAGGGGACCTTC GGGCCTTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTTGG TGGGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAAGTGGTCTGAGA GGATGATCAGTCACACTGGAAGTGGAGACACGGTCCAGACTCCTAC GGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGA TCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAGC ACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAGTTAATACCTTGCTGTTTT GACGTTACCGACAGAATAAGCACCCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGC CGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCG TAAAGCGCGCGTAGGTGGTTCGTTAAGTTGGATGTGAAAGCCCCG GGCTCAACCTGGGAACTGCATCCAAAAGTGGCGAGCTAGAGTACG GTAGAGGGTGGTGGAATTTCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAT ATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACCACTGGACTGATAC TGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAC CCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGAATC CTTGAGATTTTAGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTTGACCGCCTG GGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGC CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAA GAAACCTTACCAGGCCTTGACATGCAGAGAACTTTCCAGAGATGG ATTGGTGCCTTCGGGAACTCTGACACAGGTGCTGCATGGCTGTGCG TCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAACGAGCGC AACCCTTGTCTTAGTTACCAGCACGTTATGGTGGGCACTCTAAGG AGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAG TCATCATGGCCCTTACGGCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGT CGGTACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGTGGAGCTAATCTCACAA AACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAA GTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAANGNNGCGGTGAATAC GTTCCCGGGCCTTGACACACCGCC
15	3) <i>Citrobacter freundii</i> ; SEQ ID NO:3	AGTAATGTCTGGGAAACTGCCCGATGGAGGGGGATNNNTNCTGGA AACGGTAGCTAATACCGCATACGTCGCAAGACCAAAGAGGGGGA CCTTCGGGCCTCTTGCCATCGGATGTGCCAGATGGGATTAGCTA GTAGGTGGGGTAACGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTC TGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAAGTGGAGACACGGTCCAGACT CCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAG CCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCTTACCGGTTGT AAAGTACTTTTCAGCGAGGAGGAAGGNNTTGTGGTTAATAACCGCA GTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCC AGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTAC TGGGCGTAAAGCGCACGCGAGGCGGTCTGTCAAGTCGGATGTGAA ATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATCCGAAACTGGCAGGCTA GAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATG CGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTG GACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAG GATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCGACTTGG AGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGT CGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAAT TGACGGGGGCCCCGACAAGCGGTGGGAGCATGTGGTTTAATTCG ATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAANTTN GCAGAGATGCTNNNNNTGCCTTCGGGAACTNCTGAGACAGGTGCT GCATGGCTGTGCTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTAAAGTCC CGCAACGAGCGCAACCCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTTCCGGCCG GGAACCTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGG GATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACG TGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAG
20		
25		

	CGGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTC GACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGAANNNC NCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACC
5	4) Enterobacter cloacae; SEQ ID NO:4
10	CTNATACCNcntaangTCNCAAGACCNAANAGGGGGNNNNNTNNGG CCTCTTGNCNTCnnatGTGNCCNNATGGGATTANCTNGTANGTGG GGTAACNNNTCNCNNNNCGACNATNCCTNNNTGGNNTNAGAGGA TGACCNNNCNCNCTNNNNCTGAGACACGGNCCANACNCCNNCnn GANGNNNNNTGGGGAATATTGCNNCAATGGGNGCNAGCCTGAT GCANNCATGCCNCGTGTATGAANAANGNCTTCNGGTTGTNAAGTA CTTTCNNCNGGGAGGAANGNGTTGAGGNTNNTNNNCTCANCAATT GACGNTNCCNCNANAANAANCACGGCTAACTCCGTGCCAGCAGC CGCGGTAAATACNGAGGGTGCAAGCGTTNATCGGAATTACTGGGCG TAAAGCGCACGCAGGCGGTCTGTCAAGTCNGATGTGAAATCCCCG GGCTCAACCTGGGAACTGCATTNAACTGGCAGGCTAGAGTCTT GTNNAGGGGGGNAGAATTCCNGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGA GATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAG ACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGAT ACCTTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTGCGACTTGGAGGTTGTG CCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCC TGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGG GCCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGATGCAACGCG AAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAACTTNNCAGAGATNN NTNGGTGCCTTCGGGAACCTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTG TCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGC AACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTTNGGCCGGGAACCTCAAAGG AGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGT CATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCG CATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAA GTGCGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAG TCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGT TCCCGGGCCTTGTACACACCGCCNGNCACNCCATGGGAGTGGGT TGCAAAAGAAGTAGGTAGCTTANCCTTCGGGAGGGNNCT
15	

La determinación del por ciento de homología entre dos secuencias se puede realizar utilizando un algoritmo matemático. Una ejemplo no limitante, preferido de un algoritmo matemático utilizado para la comparación de dos secuencias es el algoritmo de Karlin y Altschul (1990) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 87:2264-2268, modificado como en Karlin y Altschul (1993) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 90:5873-5877. Tal algoritmo se incorpora en los programas NBLAST y XBLAST de Altschul y

colaboradores (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410. Las búsquedas de nucleótidos BLAST se pueden realizar con el programa NBLAST, registro=100, longitud de palabra=12 para obtener secuencias de nucleótidos similares u homólogas a las moléculas de ácido nucleico de la presente descripción. Para obtener alineaciones espaciadas para propósitos de comparación, se puede utilizar Gapped BLAST como es descrito en Altschul y colaboradores (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402. Cuando se utilizan los programas BLAST y Gapped BLAST, los parámetros de error de los programas respectivos (por ejemplo, XBLAST y NBLAST) se pueden utilizar. Estos algoritmos se pueden utilizar para alinear el ADN con RNA, y en algunos casos se pueden utilizar para alinear proteínas con secuencias de nucleótidos traducidas.

De preferencia, por lo menos dos o más microorganismos se incluyen en las composiciones de la presente descripción. Se contempla que donde dos o más microorganismos forman la composición, los microorganismos se pueden co-cultivar para producir la composición descrita. En otras modalidades, la composición descrita se puede formar al combinar cultivos individuales de las dos o más cepas. Los microorganismos se pueden propagar por métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, los microorganismos se pueden propagar en un medio líquido bajo condiciones anaeróbicas o aeróbicas. Los medios líquidos adecuados utilizados para cultivar microorganismos incluyen aquellos conocidos en la técnica tal

como el Caldo de Nutrientes y el agar de soja Triptico (TSA), etc. En una modalidad mucho más preferida, la composición incluye el listado completo de las 4 cepas listadas en la Tabla 1.

5 En un aspecto, la composición incluye un número total de microorganismos de aproximadamente uno a aproximadamente 10 billones de unidades formadoras de colonia (CFU) por mililitro. De preferencia, la composición incluye un número total de microorganismos de aproximadamente 100,000 a aproximadamente
10 800,000 CFU por mililitro. Más de preferencia, la composición incluye un número total de microorganismos de aproximadamente 250,000 a aproximadamente 600,000 CFU por mililitro. Mucho más de preferencia, la composición incluye un número total de microorganismos de aproximadamente 300,000 CFU por mililitro.

15 En un aspecto, la composición incluye microorganismos vivientes y no vivientes. En otro aspecto, la composición incluye microorganismos vivientes o no vivientes. Las composiciones que contienen microorganismos no vivientes pueden contener extractos de microorganismos, por ejemplo extractos de
20 los microorganismos de la Tabla 1, u otras bacterias. Los extractos de microorganismos incluyen, a manera de ejemplo, enzimas, metabolitos, proteínas y otras sustancias que se producen por microorganismos y son capaces de inducir un efecto en un ambiente. En algunas modalidades, los extractos pueden
25 ser productos de fermentación líquidos de uno o más

microorganismos, tales como aquellos de la Tabla 1. En algunas modalidades, los extractos se pueden purificar utilizando protocolos de purificación bioquímica estandarizados.

En un aspecto, la composición se fermenta para
5 producir un producto de fermentación. La composición se puede fermentar por aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, o más días. De preferencia, la composición se fermenta por al menos aproximadamente uno a aproximadamente 5 días. Más de
10 preferencia, la composición se fermenta por al menos 3 días.

Las composiciones también pueden incluir aditivos. Los aditivos adecuados incluyen sustancias conocidas en la técnica que pueden apoyar el crecimiento, producción de metabolitos específicos por el microorganismo, alterar el pH,
15 enriquecer metabolitos objetivo, aumentar los efectos insecticidas y combinaciones de los mismos. Los aditivos ejemplares incluyen fuentes de carbono, fuentes de nitrógeno, fuentes de fósforo, sal inorgánica, ácido orgánico, medio de crecimiento, vitaminas, minerales, ácido acético, aminoácidos y
20 los similares.

Ejemplos de fuentes de carbono adecuadas incluyen, sin limitación, almidón, peptona, extracto de levadura, aminoácidos, azúcares tales como sacarosa, glucosa, arabinosa, manosa, glucosamina, maltosa, caña de azúcar, extractos de
25 alfalfa, melazas, ron y los similares; sales de ácidos

orgánicos tales como ácido acético, ácido fumárico, ácido adípico, ácido propiónico, ácido cítrico, ácido glucónico, ácido málico, ácido pirúvico, ácido malónico y los similares; alcoholes tales como etanol, glicerol y los similares; aceite o
5 grasa tal como aceite de soja, aceite de salvado de arroz, aceite de olivo, aceite de maíz y aceite de ajonjolí. La cantidad de la fuente de carbono adicionada varía de acuerdo con la clase de fuente de carbono y está típicamente entre 1 a 100 gramos por litro del medio. La fracción en peso de la
10 fuente de carbono en la composición puede ser aproximadamente 98% o menos, aproximadamente 95% o menos, aproximadamente 90% o menos, aproximadamente 85% o menos, aproximadamente 80% o menos, aproximadamente 75% o menos, aproximadamente 70% o menos, aproximadamente 65% o menos, aproximadamente 60% o
15 menos, aproximadamente 55% o menos, aproximadamente 50% o menos, aproximadamente 45% o menos, aproximadamente 40% o menos, aproximadamente 35% o menos, aproximadamente 30% o menos, aproximadamente 25% o menos, aproximadamente 20% o menos, aproximadamente 15% o menos, aproximadamente 10% o
20 menos, aproximadamente 5% o menos, aproximadamente 2% o aproximadamente 1% o menos del peso total de la composición. De preferencia, la alfalfa está contenida en el medio como una fuente de carbono mayor, en una concentración de aproximadamente 1 a 20% (p/v). Más de preferencia, la alfalfa
25 está en una concentración de aproximadamente 5 a 12% (p/v).

Ejemplos de fuentes de nitrógeno adecuadas incluyen, sin limitación, aminoácidos, extracto de levadura, extracto de alfalfa, triptona, extracto de betabel, peptona, nitrato de potasio, nitrato de amonio, cloruro de amonio, sulfato de amonio, fosfato de amonio, amoníaco o combinaciones de los mismos. La cantidad de fuente de nitrógeno varía de acuerdo con la fuente de nitrógeno, típicamente entre 0.1 a 30 gramos por litro del medio. La fracción en peso de la fuente de nitrógeno en la composición puede ser aproximadamente 98% o menos, aproximadamente 95% o menos, aproximadamente 90% o menos, aproximadamente 85% o menos, aproximadamente 80% o menos, aproximadamente 75% o menos, aproximadamente 70% o menos, aproximadamente 65% o menos, aproximadamente 60% o menos, aproximadamente 55% o menos, aproximadamente 50% o menos, aproximadamente 45% o menos, aproximadamente 40% o menos, aproximadamente 35% o menos, aproximadamente 30% o menos, aproximadamente 25% o menos, aproximadamente 20% o menos, aproximadamente 15% o menos, aproximadamente 10% o menos, aproximadamente 5% o menos, aproximadamente 2% o aproximadamente 1% o menos del peso total de la composición.

Ejemplos de sales inorgánicas adecuadas incluyen, sin limitación, dihidrógeno fosfato de potasio, hidrógeno fosfato de dipotasio, hidrógeno fosfato de disodio, sulfato de magnesio, cloruro de magnesio, sulfato férrico, sulfato ferroso, cloruro férrico, cloruro ferroso, sulfato manganoso,

cloruro manganoso, sulfato de zinc, cloruro de zinc, sulfato cúprico, cloruro de calcio, cloruro de sodio, carbonato de calcio, carbonato de sodio y combinaciones de los mismos. La fracción en peso de la sal inorgánica en la composición puede
5 ser aproximadamente 98% o menos, aproximadamente 95% o menos, aproximadamente 90% o menos, aproximadamente 85% o menos, aproximadamente 80% o menos, aproximadamente 75% o menos, aproximadamente 70% o menos, aproximadamente 65% o menos, aproximadamente 60% o menos, aproximadamente 55% o menos,
10 aproximadamente 50% o menos, aproximadamente 45% o menos, aproximadamente 40% o menos, aproximadamente 35% o menos, aproximadamente 30% o menos, aproximadamente 25% o menos, aproximadamente 20% o menos, aproximadamente 15% o menos, aproximadamente 10% o menos, aproximadamente 5% o menos,
15 aproximadamente 2% o aproximadamente 1% o menos del peso total de la composición.

En otra modalidad, las composiciones de la presente descripción además pueden comprender ácido acético o ácido carboxílico. Los ácidos acéticos adecuados incluyen cualquiera
20 de los conocidos en la técnica que incluyen, sin limitación, ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido butanoico, ácido isobutírico, ácido 3-metil butanoico, acetato de metilo acetato de etilo, acetato de propilo, acetato de butilo, acetato de isobutilo y acetato de 2-metil butilo. En
25 una modalidad, el ácido acético se incluye al utilizar vinagre.

La fracción en peso del ácido acético en la composición puede ser aproximadamente 98% o menos, aproximadamente 95% o menos, aproximadamente 90% o menos, aproximadamente 85% o menos, aproximadamente 80% o menos, aproximadamente 75% o menos, aproximadamente 70% o menos, aproximadamente 65% o menos, aproximadamente 60% o menos, aproximadamente 55% o menos, aproximadamente 50% o menos, aproximadamente 45% o menos, aproximadamente 40% o menos, aproximadamente 35% o menos, aproximadamente 30% o menos, aproximadamente 25% o menos, aproximadamente 20% o menos, aproximadamente 15% o menos, aproximadamente 10% o menos, aproximadamente 5% o menos, aproximadamente 2% o aproximadamente 1% o menos del peso total de la composición.

Las composiciones de la presente descripción pueden estar en forma líquida o seca. La composición puede comprender una suspensión acuosa de componentes. Esta suspensión acuosa se puede proporcionar como una solución de extracto concentrado que se diluye antes de la aplicación o como una solución diluida lista para el uso. También, la composición puede ser un polvo, gránulos, polvo fino, pelletilla o concentrado coloidal. Tales formas secas se pueden formular para disolverse inmediatamente en la humectación o disolverse en una de liberación controlada, de liberación sostenida o de otra manera dependiente del tiempo. También, la composición puede estar en una forma seca que no depende de la humectación o disolución

para ser efectiva. Las composiciones adicionalmente se pueden proporcionar en una formulación capaz del rocío. El rocío puede ser un líquido o un aerosol.

En algunas modalidades, la composición de la presente
5 descripción puede comprender por lo menos un excipiente
opcional. Ejemplos no limitantes de excipientes adecuados
incluyen antioxidantes, aditivos, diluyentes, aglutinantes,
rellenadores, agentes amortiguadores, sales minerales, agentes
modificadores del pH, disgregantes, agentes dispersantes,
10 agentes saborizantes, agentes nutritivos, agentes oncóticos y
osmóticos, estabilizadores, conservadores, aumentadores de
sabor agradable y agentes colorantes. La cantidad y tipos de
excipientes utilizados para formar la combinación se puede
seleccionar de acuerdo con los principios conocidos de la
15 ciencia.

En una modalidad, el excipiente puede incluir por lo
menos un diluyente. Ejemplos no limitantes de diluyentes
adecuados incluyen celulosa microcristalina (MCC), derivados de
celulosa, polvo de celulosa, ésteres de celulosa (es decir,
20 ésteres mezclados de acetato y butirato), etil celulosa, metil
celulosa, hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metilcelulosa,
carboximetilcelulosa de sodio, almidón de maíz, almidón de maíz
fosfatado, almidón de maíz pregelatinizado, almidón de arroz,
almidón de papa, almidón de tapioca, almidón-lactosa, almidón-
25 carbonato de calcio, almidón glicolato de sodio, glucosa,

fructosa, lactosa, monohidrato de lactosa, sacarosa, xilosa, lacitol, manitol, malitol, sorbitol, xilitol, maltodextrina y trehalosa.

En otra modalidad, el excipiente puede comprender un
5 aglutinante. Los aglutinantes adecuados incluyen, pero no están limitados a, almidones, almidones pregelatinizados, gelatina, polivinilpirrolidona, celulosa, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, etilcelulosa, poliacrilamidas, poliviniloxoazolidona, polivinil alcoholes, alcohol de ácido
10 graso de C12-C18, polietilenglicol, polioles, sacáridos, oligosacáridos, polipéptidos, oligopéptidos y combinaciones de los mismos.

En otra modalidad, el excipiente puede incluir un rellenedor. Los rellenedores adecuados incluyen, pero no están
15 limitados a, carbohidratos, compuestos inorgánicos y polivinilpirrolidona. A manera de ejemplo no limitante, el rellenedor puede ser sulfato de calcio, tanto di- y tri-básico, almidón, carbonato de calcio, carbonato de magnesio, celulosa microcristalina, fosfato de calcio dibásico, carbonato de
20 magnesio, óxido de magnesio, silicato de calcio, talco, almidones modificados, lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol.

En todavía otra modalidad, el excipiente puede comprender un agente amortiguador. Ejemplos representativos de agentes amortiguadores adecuados incluyen, pero no están
25 limitados a, MOPS, HEPES, TAPS, Bicina, Tricina, TES, PIPES,

MES, amortiguadores Tris o sales salinas amortiguadas (por ejemplo, solución salina amortiguada Tris o solución salina amortiguada con fosfato).

En una modalidad adicional, el excipiente puede
5 incluir un desintegrante. Los desintegrantes adecuados incluyen, pero no están limitados a, almidones tales como almidón de maíz, almidón de papa, almidones pregelatinizados y modificados de los mismos, edulcorantes, arcillas, tal como bentonita, celulosa microcristalina, alginatos, almidón
10 glicolato de sodio, gomas tales como agar, guar, algarroba, karaya, pectina y tragacanto.

En todavía otra modalidad, el excipiente puede incluir un aumentador de dispersión. Los dispersantes adecuados pueden incluir, pero no están limitados a, almidón, ácido
15 algínico, polivinilpirrolidonas, goma guar, caolín, bentonita, celulosa de madera purificada, almidón glicolato de sodio, silicato isoamorfo y celulosa microcristalina.

En una modalidad adicional, el excipiente puede incluir un lubricante. Ejemplos no limitantes de lubricantes
20 adecuados incluyen minerales tales como talco o sílice; y grasas tales como estearina vegetal, estearato de magnesio o ácido esteárico.

La fracción en peso del excipiente(s) en la combinación puede ser aproximadamente 98% o menos,
25 aproximadamente 95% o menos, aproximadamente 90% o menos,

aproximadamente 85% o menos, aproximadamente 80% o menos,
 aproximadamente 75% o menos, aproximadamente 70% o menos,
 aproximadamente 65% o menos, aproximadamente 60% o menos,
 aproximadamente 55% o menos, aproximadamente 50% o menos,
 5 aproximadamente 45% o menos, aproximadamente 40% o menos,
 aproximadamente 35% o menos, aproximadamente 30% o menos,
 aproximadamente 25% o menos, aproximadamente 20% o menos,
 aproximadamente 15% o menos, aproximadamente 10% o menos,
 aproximadamente 5% o menos, aproximadamente 2% o
 10 aproximadamente 1% o menos del peso total de la combinación.

Las composiciones de la presente descripción son estables bajo varias condiciones con respecto a las concentraciones de unidades formadoras de colonia bacteriana (cfu/ml) (Figura 1) y niveles de pH a través del tiempo (Figura
 15 2) como una forma líquida o seca. De preferencia, las composiciones de la presente descripción son estables a temperatura ambiente.

En otro aspecto de la presente descripción, los consorcios se pueden mantener a una temperatura reducida para
 20 el almacenamiento y transporte sin comprometer significativamente la viabilidad de los microorganismos vivos. Los consorcios o composiciones que comprenden los mismos pueden ser refrigerados, congelados o liofilizados. Las composiciones se pueden refrigerar entre 0°C (32°F) a 6.66°C (44°F).

25 En otro aspecto de la presente descripción, el

consorcio o composiciones que comprenden el mismo se pueden almacenar y transportar en un estado congelado. Los microorganismos beneficiosos vivos se pueden reenvigorizar rápidamente una vez que las composiciones se descongelan y se
5 llevan a temperatura ambiente, de preferencia con aireación y/o agitación.

En todavía otro aspecto de la presente descripción, los consorcios pueden ser liofilizados. El consorcio primero se congela. El agua luego se remueve bajo condiciones de vacío.
10 Este proceso además reduce el peso de la composición para el almacenamiento y transporte. Los consorcios o composiciones que comprenden los mismos se pueden reconstituir y reenvigorizar antes de la aplicación.

En otro aspecto de la presente descripción, los
15 consorcios concentrados, o composiciones que comprenden los mismos se pueden diluir con agua antes de la aplicación a la semilla, plantas, suelo o los similares. Las composiciones diluidas se pueden almacenar por un período prolongado de tiempo, por ejemplo, tan largo como 30 días, sin perder la
20 viabilidad. Para mantener el microorganismo beneficioso vivo en estado sustancialmente aeróbico, oxígeno disuelto en las composiciones diluidas de la presente descripción se mantienen de preferencia en un nivel óptimo. Es preferible suministrar cantidades óptimas de oxígeno a la composición diluida a través
25 del aireación lenta.

III. Métodos

Las composiciones descritas en la presente son útiles en la agricultura, y como reemplazos de químicos/fertilizantes para incrementar el fósforo disponible para plantas. Las composiciones descritas en la presente son útiles en métodos de agricultura. Los métodos de la presente descripción incluyen el enriquecimiento del suelo y el enriquecimiento de la planta.

Los métodos de tratamiento del suelo incluyen la aplicación de la composición al suelo que es enriquecido. La composición puede estar en forma líquida o seca y aplicar al suelo por métodos conocidos en la técnica. Los métodos ejemplares incluyen el rociado, goteo, dispersión y aplicación con polvo fino en el suelo objetivo. También, la composición se puede aplicar a una fuente de agua que alimenta el suelo objetivo.

En otro aspecto, la composición se puede utilizar para el enriquecimiento de la planta. Los métodos de enriquecimiento de la planta incluyen la aplicación de las composiciones de la presente descripción al suelo o la fuente de agua de la planta como es descrito en la presente. En otro aspecto, las semillas se pueden empapar en una composición de la presente descripción antes de la plantación. Será reconocido que puede ser beneficioso combinar cualquiera de los métodos descritos en la presente para el enriquecimiento del suelo y de la planta.

La composición de microorganismos se puede proporcionar ya sea en forma seca o en forma líquida. La composición de microorganismos se puede proporcionar en una variedad de cantidades con respecto al peso del suelo o planta.

5 En algunos aspectos, la composición de microorganismos se proporciona en una cantidad que varía de aproximadamente 0.5 a 50% en peso del peso total del suelo o planta. En otro aspecto, la composición de microorganismos se proporciona en una cantidad que varía de aproximadamente 1 a aproximadamente 3% en

10 peso del peso total del suelo o planta.

El microorganismo se puede proporcionar ya sea en forma seca, forma líquida o a través del rocío. Los métodos para tratar productos de desecho incluyen sin limitación, espolvoreamiento, salpicado, inoculación con líquido,

15 aplicación de neblina, fumigación, aplicación en aerosol y otros métodos conocidos en la técnica.

Para facilitar un mejor entendimiento de las modalidades de la presente descripción, se proporcionan los siguientes ejemplos. De ninguna manera los siguientes ejemplos

20 se deben leer para limitar, o para definir, el alcance de la presente descripción.

EJEMPLOS

Ejemplo 1

Los Solicitantes extrajeron las comunidades

25 microbianas del suelo natural a partir de suelos a través de

los Estados Unidos de los sitios de agricultura y pastizales naturales y arbolados representativos de una amplia gama de climas, características del suelo y tipos de vegetación incluyendo cultivos de mayor producción (soja, trigo y maíz).

5 Los microbios se propagaron en un medio definido que se asemeja a diferentes condiciones limitantes de P. El medio proporciona un ambiente único, que permite a los Solicitantes controlar la estequiometría de nutrientes para adaptar el crecimiento de los microbios del suelo a muchas condiciones ambientales
10 diferentes. Por ejemplo, para cultivar microbios en suelos acídicos típicos, la estequiometría de nutrientes debe ser controlada al utilizar un P insoluble encontrado en substratos férrico (FePO_4) y de aluminio (AlPO_4) Tabla 2.1; 2.2.

Tabla 2.1 Ejemplo de medios definidos utilizando
15 substratos Férrico (FePO_4) y de aluminio (AlPO_4)

Nombre Químico	Nutriente	Concentración Deseada (M/L del Medio)	Fórmula Química
amortiguador MES	amortiguador	0	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_4\text{S}$
Amortiguador MOPS	amortiguador	0.05	$\text{C}_7\text{H}_{15}\text{NO}_4\text{S}$
TAPS	amortiguador	0	$\text{C}_7\text{H}_{17}\text{NO}_6\text{S}$
D-glucosa	carbono y nitrógeno	0.006660746	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$

Glicina	carbono y nitrógeno	0.000532836	C2H5NO2
L-Histidina	carbono y nitrógeno	0.000257815	C6H9N3O2
L-Metionina	carbono y nitrógeno	0.000134039	C5H11NO2S
L-Triptofano	carbono y nitrógeno	9.79312E-05	C11H12N2O2
Cloruro de amonio	nitrógeno	0.14955787	NH4Cl
Fosfato de monosodio	fósforo	0	NaH2PO4
Dihidrato de fosfato de Hierro(III) férrico	fósforo	0.001605566	FePO4*2H2O
Fosfato de aluminio	fósforo	0.002049972	AlPO4
Fosfato de aluminio monobásico	fósforo	0	Al (H2PO4) 3
Fosfato de dicalcio	fósforo	0	CaHPO4
Hidroxolapatita	fósforo	0	Ca5 (PO4) 3 (OH)
Fosfato de	fósforo	0	CaH4P2O8

monocalcio			
Fosfato de tricalcio	fósforo	0	Ca3O8P2
Solución de ácido fítico	fósforo	0	C6H18O24P6
Hidrato de sal de sodio de ácido fítico	fósforo	0	C6H18O24P6
hexahidrato de sulfato de hierro(II) de amonio	macronutriente	0	(NH4) 2Fe (SO4) 2 · 6H2O
Cloruro de calcio	macronutriente	0.004081244	CaCl*2H2O
Sulfato de magnesio	macronutriente	0.006492	MgSO4*7H2
Sulfato de Potasio	macronutriente	0.006886	K2SO4
Cloruro de sodio	macronutriente	0.020534	NaCl
Ácido bórico	micronutriente	9.70403E-07	H3BO3
Sulfo de cobalto(II)	micronutriente	1.35183E-06	CoSO4*7H2O
Sulfato de cobre(II)	micronutriente	8.00961E-08	CuSO4*5H2O
Sulfato de	micronutriente	4.73317E-06	MnSO4*2H2O

manganeso (II)			
Cloruro de níquel (II)	micronutriente	2.10358E-07	NiCl ₂ *6H ₂ O
Ácido nitrilotriacético	micronutriente	5.23177E-06	C ₆ H ₉ NO ₆
Alumbre de potasio	micronutriente	8.43188E-08	KA1 (SO ₄) ₂ *12H ₂ O
Molibdato de sodio	micronutriente	2.06654E-07	Na ₂ MoO ₄ *2H ₂ O
Selenito de sodio	micronutriente	3.46941E-06	Na ₂ SeO ₃ *5H ₂ O
Sulfato de Zinc	micronutriente	6.9558E-08	ZnSO ₄ *7H ₂ O
Ácido 4-aminobenzoico	vitaminas	1.45836E-06	C ₇ H ₇ NO ₂
Biotina	vitaminas	2.4559E-07	C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₃ S
d- Ca-pantotenato	vitaminas	9.12284E-07	C ₉ H ₁₇ NO ₅
Ácido fólico	vitaminas	4.53104E-07	C ₁₉ H ₁₉ N ₇ O ₆
Ácido L-ascorbico	vitaminas	1.13559E-06	C ₆ H ₈ O ₆
Ácido lipoico	vitaminas	9.69321E-07	C ₈ H ₁₄ O ₂ S ₂
Ácido nicotínico	vitaminas	1.62457E-06	C ₆ NH ₅ O ₂
HCl piridoxina	vitaminas	1.18217E-06	C ₈ H ₁₁ NO ₃
Riboflavina	vitaminas	5.31406E-07	C ₁₇ H ₂₀ N ₄ O ₆
Clorhidrato de tiamina	vitaminas	6.64872E-07	C ₁₂ H ₁₇ C ₁ N ₄ OS
Vitamina B12 (es	vitaminas	1.4756E-08	C ₆₃ H ₈₈ CoN ₁₄ O ₁

decir Cianocobalamina)			4P
---------------------------	--	--	----

Tabla 2.2 Ejemplo de límites de estequiometría de nutrientes en los medios Férrico (FePO_4) y de aluminio (AlPO_4)

C: Contenido de nutrientes en los Medios	
C/N	1.960295009
C/P	107.9008086
C/s	6.209541778
C/K	28.640332
C/Mg	60.75740407
C/Ca	96.64628501
C/Fe	245.6685534

La tasa de crecimiento microbiana en la cual las comunidades microbianas de estos suelos produjeron ortofosfatos solubles se cuantificó y los resultados se muestran en la Figura 3. Estas comunidades microbianas difirieron ampliamente en su tasa de mineralización de ortofosfato y la acumulación de P en la biomasa microbiana, que los inventores ensayaron utilizando un protocolo de sistema de detección de fosfato (Taylor y colaboradores 2013). Utilizando este procedimiento, los Solicitantes fueron capaces de seleccionar subsecuentemente consorcios microbianos raros que exhibieron cinco - diez veces más que las tasas de solubilización de P promedio o los

atributos de mineralización de PO_4 orgánico, incluyendo aquellos con las tasas más rápidas y/o magnitudes más altas de solubilización y mineralización de P (Figura 3).

Enseguida, para mejorar en la solubilización y
5 mineralización de P superior demostrado por estos consorcios microbianos, la plataforma de caracterización de alto rendimiento (para evaluar atributos microbianos) se combinó con el uso de la selección artificial dirigida en donde las bacterias se modificaron a través de un proceso de reproducción
10 que dio por resultado una actividad de movilización de fósforo aumentada. La selección de solubilización y mineralización de ortofosfato de la comunidad microbiana dirigida se realizó al primero inocular consorcios superiores que mostraron movilización aumentada (identificada durante la caracterización
15 y clasificación de eficacias de P de los consorcios microbianos) en placas de 96 cavidades profundas que contienen el medio de selección de los inventores. Debido a que la comunidad de "semilla" relativamente pequeño se adicionaron a cada uno de los 96 replicados, ligeros desplazamientos en la
20 composición de la comunidad se logró con cada replicado simplemente a través de la variabilidad natural y los factores ecológicos aleatorios en juego durante el ensamblaje de la comunidad (McGrady-Steed y colaboradores, 1997; Van Der Gast y colaboradores, 2008; Nemergut y colaboradores, 2013). En cada
25 generación subsecuente los consorcios deseables se

identificaron en base a su habilidad para solubilizar o mineralizar ortofosfato (Figura 4). Además, durante la mutación microbiana de selección dirigida y la transferencia génica horizontal se aceleró por la vía de la exposición a UV o agentes mutagénicos. El consorcio con la tasa más alta de solubilización de P se seleccionó como la comunidad de semilla para ser utilizada para inocular la generación subsecuente. Los consorcios resultantes consisten de una combinación novedosa de cepas bacterianas que difieren sustancialmente de las comunidades encontradas en suelos naturales, y demuestran movilización de P sorprendentemente aumentada.

Las bacterias para el uso con los consorcios actualmente descritos se describen en la Tabla 1 (consorcios que movilizan Fósforo). Las cepas son identificables por su secuencia representativa ribosomal 16S para sus unidades taxonómicas de operación reportadas en las tablas. De acuerdo con la presente descripción, dos o más de estas cepas identificadas se pueden utilizar para incrementar el fósforo disponible para la planta en el suelo. En una modalidad preferida, las cepas son aquellas que incluyen OTU representativo en 97% de similitud en por lo menos aproximadamente 0.2 kb de las secuencias 16S (Tabla 1). Una vez optimizados, los inventores utilizaron medios que simulan las condiciones de P insoluble típicamente encontradas en suelos ácidos utilizando los substratos férrico (FePO_4) y de

aluminio (AlPO_4) Tabla 2.1.

Los inventores han sido capaces de estabilizar exitosamente el crecimiento bacteriano después del período de fermentación inicial con varias formulaciones de medios diferentes tal como el medio de alfalfa. Para estos experimentos, el medio de alfalfa se creó al utilizar un protocolo de calor y de extracción con agua. En breve, aproximadamente 80 g de substrato de alfalfa (contenido en bolsas de ebullición de nailon de malla fina) se combinó con aproximadamente 1 galón de agua, y se hirvió ($\sim 100^\circ\text{C}$) en una marmita de acero inoxidable durante aproximadamente 60 minutos. El calor y el agua ayuda a extraer los compuestos de carbono y nutrientes de la alfalfa que pueden ayudar en el crecimiento de los consorcios bacterianos descritos. El método de calor y extracción con agua también sirve para por lo menos parcialmente esterilizar el extracto de alfalfa. Después de la ebullición durante 60 minutos, la mezcla de agua - alfalfa permanece cubierta en la marmita, removida del elemento de calentamiento, y dejar enfriar lentamente (a $\sim 60^\circ\text{C}$) durante las siguientes 12 horas. Después del período de enfriamiento, el extracto de alfalfa-líquido se transfiere asépticamente en botellas de vidrio estériles y se almacena a 4°C hasta el uso.

Otros métodos han sido capaces de estabilizar el crecimiento bacteriano después del período de fermentación inicial. En muchos de estos métodos, varias formulaciones

estabilizantes se mezclaron, se sometieron a autoclave, se enfriaron y luego se incorporaron en el inóculo bacteriano en diferentes concentraciones y volúmenes que varían entre 0.001% - 50% del volumen total. Los aditivos de formulación pueden
5 incluir: Sorbitol, Glucosa, Lactosa, Trehalosa, Glicerol, PEG, Glicina y/o Prolina.

Ejemplo 2 - Evaluación de las mejoras de los consorcios bacterianos para movilizar fósforo

Los inventores condujeron un ensayo in vitro para
10 cuantificar las mejoras en la habilidad de los consorcios bacterianos de ellos para movilizar ortofosfato (PO_4) comparados con otros aislados bacterianos (es decir en cultivo puro). De manera sorprendente, los consorcios descritos mostraron movilización aumentada más allá de las cantidades
15 esperadas. En realidad, se observó un efecto sinérgico cuando dos o más cepas bacterianas individuales se incluyeron en el consorcio. Esto fue diferente ya que diferentes cepas bacterianas normalmente serían esperadas que se inhiban entre sí.

20 Para comparar los aislados bacterianos (listados en la Tabla 1) se prepararon varias combinaciones de aislados que trabajan conjuntamente como un consorcio. Las bacterias se cultivaron de muestras de extracto congeladas de varios aislados de especies bacterianas (previamente cultivadas en el
25 medio férrico y de aluminio de los inventores (listado en lo

anterior) y luego se almacenaron congeladas como submuestras en tubos de microcentrífuga estériles de 2 mL a -80°C). Las muestras de aislado bacteriano se cultivaron para este experimento al inocular un volumen total de 1 mL de bacterias concentradas en 19 mL del medio de alfalfa estéril (preparado como es descrito en lo anterior). 20 mL de cada aislado bacteriano (Tabla 1) se cultivó al inocular 1 mL del cultivo de extracto bacteriano congelado (para cada especie independientemente) en 19 mL del medio de alfalfa. Cada cultivo de especies bacterianas aisladas se cultivó en el medio de alfalfa durante 3 días (a 25°C) en una incubadora hasta que cada uno de los cultivos aislados estuvo en una concentración de aproximadamente 10^9 CFU/mL.

Los inventores luego condujeron un diseño factorial completo utilizando cuatro replicados para cada grupo de factor (Tabla 3.1) para probar las habilidades interactivas de las especies bacterianas para movilizar PO_4 utilizando un formato de placa de 96 cavidades profundas. Para los aislados bacterianos, los inventores inocularon 50 μL del cultivo maduro total en 950 μL del medio de alfalfa. Sin embargo, para combinar los aislados en diferentes ensamblajes de consorcios bacterianos, los inventores utilizaron la misma relación de inóculo total (50 μL de cultivo maduro total en 950 μL de medio de alfalfa), pero los aislados bacterianos múltiples recombinados en un consorcio en base a las proporciones

relativas bacterianas como se observó en el análisis de comunidad molecular de alto rendimiento (Tabla 3.1, Tabla 3.2). Los cultivos bacterianos cultivados en las placas de 96 cavidades profundas durante 3 días (en una incubadora a 25°C) hasta que cada uno de los cultivos aislados alcanzó una concentración de 10^9 CFU/mL. Después del período de crecimiento de tres días todas las muestras (aislados bacterianos y combinaciones de bacterias que representan diferentes ensamblajes de consorcio) se estimaron simultáneamente para la disponibilidad de PO_4 incrementada.

Los descubrimientos en este estudio de incubación demostraron como la movilización de ortofosfato (PO_4) mejorada se puede lograr y el efecto sinérgico de incluir múltiples especies bacterianas en un consorcio. Estos datos demuestran que la habilidad para movilizar fósforo es grandemente mejorada mediante la adición de dos o más especies bacterianas descritas, tal que la tasa de movilización de fósforo es más grande para los consorcios que las tasas aditivas de los miembros del consorcio en aislamiento. Más específicamente, las mejoras sinérgicas más fuertes en la movilización de PO_4 se observaron en un consorcio de dos especies (que incluyen *Enterobacter cloacae* (E) y *Citrobacter freundii* (C)) y consorcio de tres especies (que incluye *Enterobacter cloacae* (E) y *Citrobacter freundii* (C) y *Pseudomonas putida* (P)) (Figura 5). Este resultado fue inesperado. Más bien en la

mayoría de los casos una especie bacteriana inhibirá el crecimiento y metabolismo de una segunda especie bacteriana en el mismo cultivo.

Tabla 3.1 Diseño factorial completo para probar los efectos interactivos entre las cuatro especies objetivo para la movilización de ortofosfato (PO_4) mejorada. Los valores enseguida representan proporciones relativas (μL) para lograr un volumen final de 50 μL para adicionar a 950 μL en cada cavidad de las placas de 96 cavidades profundas. Cada cultivo estuvo en 10^9 CFU de conteos en el tiempo de mezclado.

Grupo de factor	C. fruendii (μL)	E. cloacae (μL)	P. putida (μL)	C. testosteroni (μL)
All	10	15	20	5
Cf+Ec+Pp	11.1	16.7	22.2	0
Cf+Pp+Ct	14.3	0	28.6	7.1
Ec+Pp+Ct	0	18.75	25	6.25
Cf+Ec+Ct	16.7	25	0	8.3
Cf+Pp	16.7	0	33.4	0
Cf+Ec+Ct	20	0	20	10
Ec+Pp	0	21.4	28.6	0
Ct+Ec+Pp	0	25	16.7	8.3
Ct+Pp	0	0	40	10

Ec+Pp	0	25	16.7	8.3
Cf+Ec	20	30	0	0
Cf+Ct	33.3	0	0	16.7
Cf+Pp	25	0	25	0
Ec+Pp	0	30	20	0
Ec+Ct	0	37.5	0	12.5
Ct+Pp	0	0	33.3	16.7
C. fruendii	50	0	0	0
E. cloacae	0	50	0	0
P. putida	0	0	50	0
C.	0	0	0	50
testosteroni				

Tabla 3.2 Estructura de la comunidad bacteriana, unidades formadoras de colonias (CFU's) y abundancias relativas para los consorcios bacterianos que movilizan PO_4 del suelo de los inventores

<u>Especies</u>	<u>CFU/mL</u>	<u>Abundancias</u>
<u>Bacterianas</u>		<u>relativas</u>
<i>Enterobacter cloacae</i>	80,000,000	0.4
<i>Citrobacter fruendii</i>	60,000,000	0.3
<i>Comamonas testosteroni</i>	40,000,000	0.2
<i>Psuedomonas putida</i>	20,000,000	0.1
Total	200,000,000	1.00

abundancia relativa de una cepa individual en un consorcio puede estar entre 0.05 y 0.95. En muchas modalidades, la abundancia relativa de una cepa puede ser mayor que aproximadamente 0.01, 0.05, 0.1, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30, 0.35, 0.40, 0.45, 0.50, 0.65, 0.70, 0.75, 0.80, 0.85, 0.90, 0.95, 96, 0.97, 0.98 o 0.99 y menor que aproximadamente 0.99, 0.98, 0.97, 0.96, 0.95, 0.90, 0.85, 0.80, 0.75, 0.70, 0.65, 0.60, 0.55, 0.50, 0.45, 0.40, 0.35, 0.30, 0.25, 0.20, 0.15, 0.10, 0.05, 0.04, 0.03, 0.02 o 0.01. De esta manera, por ejemplo, la relación de especies bacterianas en un consorcio puede ser, sin limitación, 0.5:0.5, 0.1:0.9, etc. (para consorcios con dos cepas/especies), 0.33:0.33:0.33, 0.1:0.4:0.5, 0.2:0.6:0.2, etc. (para consorcios con tres cepa/especies), 0.1:0.4:0.4:0.1, 0.4:0.3:0.2:0.1, etc. (para consorcios con cuatro cepas/especies).

Ejemplo 3 - Evaluación del desempeño bioestimulante en estudios de invernadero

Los Solicitantes han probado la efectividad y eficacia de los bioestimulantes que movilizan P microbianos para mejorar la emergencia temprana, verdocidad y capacidad saludable general del trigo (Figura 64), césped (Figuras 7-11), jalapeño (Figura 12), tomates (Figuras 13-15), albahaca (Figura 15) y caléndulas (Figura 16) en experimentos de invernadero. Estos experimentos se condujeron en el invernadero de las Instalaciones de Crecimiento de Plantas en el campo de la

Universidad del Estado de Colorado (Fort Collins, Colorado), que proporciona un fotoperíodo de 16 horas controlado para estimular la luz solar para el crecimiento de plantas. La temperatura del tiempo de vía del invernadero se ajusta a 23°C y 17°C en la noche.

Por ejemplo, en un estudio piloto inicial para estimar la efectividad de los bioestimulantes microbianos en las características saludables del césped, los inventores cultivaron cuatro especies de césped diferentes en bandejas de semilla de tamaño completo (las dimensiones son 53.34 cm L x 27.94 cm W x 5.84 cm H) hechas de polipropileno reciclado, con agujeros de drenaje en el fondo. Las bandejas de semilla se llenaron 3/4 completamente con suelo recolectado. Después de adicionar el suelo a las bandejas de semilla, los suelos se pre-regaron con 150 mL de agua utilizando un vaso de laboratorio. Las densidades de semilla recomendadas luego se dispersaron a través de la parte superior del suelo (1.6 g para el Césped Azul de Kentucky y 2.66 g para el Centeno Perene, Festuca Alta y Agróstida). Los suelos utilizados en este experimento se caracterizan como arenisca Stoneham con un terreno aluvial mezclado y/o material de origen de depósito eólico (arenisca fina, mezclada, Haplustalfs méxico) (NRCS, 2012). Los Haplustalfs Arídicos se clasifican bajo la orden de suelo Alfisol, típicamente sometidos a condiciones secas prolongadas y se utilizan ampliamente en agroecosistemas y

ocupan aproximadamente un décimo de la superficie terrestre de la Tierra. Estos suelos tienen subsuelo enriquecido en arcilla y son característicos de ser deficientes en fósforo disponible en muchas partes del mundo. En general, los Alfisols tienen
5 alto contenido de aluminio (Al) e hierro (Fe), sugiriendo que estos suelos tienen una afinidad de sorción de P relativamente alta. Una vez recolectados, los suelos se tamizaron utilizando un tamiz de 4 mm para remover los objetos grandes (rocas, raíces, etc.) y luego con un tamiz de 2 mm para mejor
10 homogenizar el tamaño del agregado. El suelo de campo homogenizado se mezcló con la mezcla de arena estéril en una relación de 1:1 para maximizar la porosidad del suelo mientras que se mantiene una cantidad razonable de suelo de campo para sus nutrientes y propiedades microbianas. Antes de crear el
15 suelo - mezcla de arena, la arena (Quikrete; Atlanta, GA) primero se esterilizó en un autoclave durante 30 minutos a 121°C y 17 PSI, y luego se saturó con agua DI estéril (por ~ intervalos de 30 min) hasta que se logra un pH de ~ 8.0 para igualar las condiciones del pH del suelo en campo in situ (pH
20 del suelo en campo media $\pm$ SE = 8.3 ± 0.05).

En referencia a las Tablas 4.1 y 4.2 (presentadas en las Figuras 17 y 18), diferentes tratamientos se aplicaron en este experimento incluyendo: Tratamiento 1) consorcios microbianos de los consorcios microbianos que movilizan P de
25 los inventores; Tratamiento 2) medio estéril correspondiente al

tratamiento 1 (utilizando 0.2 μM) sin actividad microbiana; y Tratamiento 3) un fertilizante de planta inorgánico rico en nutrientes común utilizado para un control (solución de Hoagland) que representa un recurso de nutrientes no limitantes para el crecimiento de césped. Cada tratamiento de césped (100 mL) se aplicó directamente a la semilla de césped utilizando una botella de rocío. Una vez que se aplicaron los tratamientos, una capa de 1 cm del suelo superior se adicionó para cubrir las semillas, seguido por 400 mL de agua que se aplicó a cada caja de semilla utilizando un vaso de laboratorio de 500 mL.

La emergencia más rápida, el crecimiento de césped más alto y el césped más verde se observó en tres de las cuatro especies de césped (incluyendo Centeno Perene, Festuca Alta y Césped Azul de Kentucky) inoculados con el Tratamiento 1 después de 8 días de la aplicación de semilla comparado con todos los otros tratamientos (Figura 6). La mayoría de los céspedes fueron más verdes (estimados utilizando el índice DGCI) (Figura 7) y los céspedes incorporaron más biomasa cuando se inocularon con el bioestimulante que moviliza P de los inventores comparados con otros tratamientos que incluyen adiciones de fertilizante inorgánico, como es demostrado por el Césped Azul de Kentucky (Figura 8-9). Además, la disponibilidad de nutrientes del suelo incrementada y la captación de la planta subsecuente para varios macro y micronutrientes

correspondió a las aplicaciones de bioestimulante microbiano (Figura 11). Por ejemplo, las semillas inoculadas con la composición bioestimulante microbiana que moviliza P de la presente descripción (P Elevado) demostró captación del suelo
5 incrementado de Calcio (Ca), Magnesio (Mg), Sodio (Na), Potasio (K) e Hierro (Fe) comparado con los fertilizantes inorgánicos tradicionales (Fertilizante Inorgánico) (Figura 11). Los inoculantes bacterianos de los Solicitantes también incrementaron la disponibilidad y captación de otros diversos
10 nutrientes, mostrados en las Tablas 4.1 y 4.2, Figuras 17 y 18, respectivamente.

Por lo tanto, la presente descripción está bien adaptada para alcanzar los fines y ventajas mencionados así como aquellos que son inherentes en la misma. Las modalidades
15 particulares descritas en lo anterior son ilustrativas únicamente, ya que la presente descripción se puede modificar y llevar a la práctica en maneras diferentes pero equivalentes evidentes para aquellos expertos en la técnica que tienen el beneficio de las enseñanzas en la presente. Además, no se
20 proponen limitaciones a los detalles de construcción o diseño mostrados en la presente, diferente de cómo es descrito en las reivindicaciones enseguida. Por lo tanto es evidente que las modalidades ilustrativas particulares descritas en lo anterior se pueden alterar, combinar o modificar y todas de tales
25 variaciones se consideran dentro del alcance y espíritu de la

presente descripción. La presente descripción descrita
ilustrativamente en la presente de manera adecuada se puede
llevar a la práctica en la ausencia de cualquier elemento que
no se describe específicamente en la presente y/o cualquier
5 elemento opcional descrito en la presente.

Ejemplo 4 - Efecto de los consorcios en el crecimiento de la planta

El efecto que las bacterias actualmente reclamadas
tuvieron en el crecimiento de *Arabidopsis thaliana* se estudió,
10 debido a que su crecimiento se sabe que es afectado por
inoculaciones del suelo (Swenson y colaboradores, 2000). Dos
semillas de tipo silvestre de *Arabidopsis thaliana* (de Evotek
Inc., Washington DC, EUA) se plantaron por maceta en macetas de
cuatro pulgadas llenas con aproximadamente una pinta de suelo
15 de autoclave (50% de suelo superior agrícola y 50% de suelo de
macetas). Las macetas con semilla se mantuvieron a 21.1°C
(70°F) con 16 h por día de luz solar suplemental bajo un banco
de neblina durante aproximadamente dos semanas para asegurar la
germinación. Inmediatamente después de la plantación de las
20 semillas, 5 mL del medio (té de alfalfa, descrito previamente)
se adicionó a cada maceta.

Algunos de los medios comprendieron una o más
especies de bacterias. Si el medio incluyó bacterias, la
concentración total de bacterias en el medio fue $6.5 \pm 2.1 \times$
25 10^8 cfu/ml. Un conjunto de plantas recibió el medio solo

("medio" o "0 ssp"). Un conjunto de plantas recibió el medio que contiene las cuatro especies de bacterias ("4 ssp"): *Comamonas estosterone* (Ce), *Citrobacter freundii* (Cf), *Enterobacter cloacae* (Ec) y *Pseudomonas putida* (Pp). Cuatro
5 conjuntos de plantas recibieron medios que contiene una especie ("1 ssp"), cada uno de Ce, Cf, Ec o Pp. Seis conjuntos de plantas recibieron medios que contienen cantidades equivalentes de dos especies bacterianas ("2 ssp"), cada uno seleccionado de Ce, Cf, Ec y Pp; Ce+Cf, Ce+Ec, Ce+Pp, Cf+Ec, Cf+Pp y Ec+Pp.
10 Cuatro conjuntos de plantas recibieron medios que contienen cantidades equivalentes de tres especies bacterianas ("3 ssp"), cada uno, seleccionado de Ce, Cf, Ec y Pp; Ce+Cf+Ec, Ce+Ec+Pp, Ce+Cf+Pp y Cf+Ec+Pp.

Si ambas semillas germinaron, la más pequeña de los
15 dos se removi6 de la maceta. Después de la germinaci6n las macetas se inocularon una segunda vez, nuevamente con 5 mL del medio que contiene la mezcla bacteriana apropiada, o sin bacteria (0 ssp). Las macetas se mantuvieron húmedas al regar diariamente en un banco de neblina por dos semanas para
20 asegurar la germinaci6n. Dos semanas después del sembrado, las plantas se removieron del banco de neblina, pero se mantuvo el riego diario.

Tres variables se midieron para estimar el crecimiento de cada planta: el número de hojas de roseta, el
25 diámetro de roseta máximo y la altura de la planta. Las

mediciones se tomaron y se registraron dos veces a la semana. Las plantas que fueron incapaces de erguirse (crecimiento hacia arriba) después de 32 días se excluyeron del análisis. La incapacidad para erguirse se distribuyó igualmente entre todos los tratamientos.

La Figura 19 muestra los resultados de estos experimentos, específicamente indicadores de crecimiento de *Arabidopsis* para semillas inoculadas con el medio que comprende diferentes números de especies. Las Tablas 5-9 presentan datos utilizados para crear las gráficas en la Figura 19. Los puntos graficados en la Figura 19 representan la media y las barras de error indican el error estándar de la media de 6-8 replicados. Los símbolos indican datos de tratamientos de 4 especies, 4 ssp, que son significativamente más grandes que 0 especies en $p < 0.05$ ($\Phi \Phi$) o $p < 0.1$ (Φ) y 4 especies que son más grandes que todos los otros tratamientos en $p < 0.05$ (**) o $p < 0.1$ (*). De manera sorprendente, y para cada crecimiento de planta, medido variable se mostró aumento más grande donde el medio incluyó todas las cuatro especies, 4 ssp. Este resultado fue consistente por todo el desarrollo de la planta; fase temprana (número de hojas de roseta), fase temprana-intermedia (diámetro de roseta máximo) y fase intermedia-tardía (altura de la planta).

Específicamente, la tasa de crecimiento de los primeros cinco días después de que la primera planta comenzó a

erguirse (crecimiento de un tallo) el tratamiento de cuatro especies completo dio por resultado una tasa de crecimiento de altura arriba de **cinco** veces más grande que la adición simplemente del medio sin microbios. De manera interesante, la
 5 adición entre 1 y 3 especies no da por resultado algún efecto significativo sobre solo la adición del medio. Finalmente, la presencia de cuatro especies bacterianas en el medio ayudó a reducir la variabilidad de los datos por **2 veces** (con relación a ssp 1, ssp 2 y ssp 3) y **3 veces** (con relación a 0 ssp,
 10 control del medio).

La Tabla 5 muestra la productividad de *Arabidopsis* por número de especie de tratamiento. Las letras detrás de los valores en la tabla indican la relación entre los valores en una columna dada, específicamente diferencias significativas (p
 15 < 0.1 ; por ejemplo "a" es similar a "a" y "ab" pero no "b"). Todos los tratamientos recibieron aplicaciones de fertilizante indicadas. El tratamiento ssp 4 (Mammoth P) incrementó la productividad por 25%, 71% y 58% para las tres métricas de productividad estimadas. El número de hojas de roseta se
 20 estimaron después de 14 días; el diámetro de roseta máximo después de 25 días; la altura de la planta se estimó 39 días después de la plantación.

Tabla 5

Tratamiento	Número	de	Diámetro	de	Altura de la
-------------	--------	----	----------	----	--------------

	hojas de roseta $\pm$ SE	Roseta Max (mm) $\pm$ SE	Planta (mm) $\pm$ SE
0 ssp - Control	4.8 $\pm$ 0.4 b	17 $\pm$ 3 b	119 $\pm$ 23 b
1 ssp	5.1 $\pm$ 0.2 ab	21 $\pm$ 2 b	155 $\pm$ 9 a
2 ssp	5.1 $\pm$ 0.1 b	20 $\pm$ 1 b	160 $\pm$ 7 a
3 ssp	5.1 $\pm$ 0.2 ab	21 $\pm$ 1 b	154 $\pm$ 9 a
4 ssp - Mammoth P	6.0 $\pm$ 0.3 a	29 $\pm$ 2 a	188 $\pm$ 8 a

La Tabla 6 muestra la productividad de *Arabidopsis* mediante tratamientos específicos para la métrica específica de puntos de tiempo pico. El número de hojas de roseta se estimaron después de 14 días; el diámetro de roseta máximo después de 25 días; la altura de la planta se estimó 39 días después de la plantación.

Tabla 6

Tratamiento	Número de hojas de roseta $\pm$ SE	Diámetro de Roseta Max (mm) $\pm$ SE	Altura de la Planta (mm) $\pm$ SE
ssp 4 (Mammoth P; Cf, Ec, Pp&Ce	6.0 $\pm$ 0.3	29 $\pm$ 2	188 $\pm$ 8
Cf, Ec&Pp	5.3 $\pm$ 0.3	23 $\pm$ 1	172 $\pm$ 15
Cf&Pp	4.8 $\pm$ 0.5	21 $\pm$ 4	165 $\pm$ 18
E&Pp	5.0 $\pm$ 0.3	21 $\pm$ 3	150 $\pm$ 19

Pp&Ce	4.8 ± 0.3	20 ± 2	156 ± 13
Cf&Ec	5.5 ± 0.3	21 ± 3	166 ± 20
C&Ce	5.0 ± 0.3	19 ± 2	145 ± 16
E&Ce	5.4 ± 0.2	21 ± 2	184 ± 14
Pp	5.0 ± 0.4	19 ± 3	142 ± 25
Cf	5.0 ± 0.4	18 ± 2	167 ± 25
Ec	5.4 ± 0.2	20 ± 1	168 ± 11
Ce	5.1 ± 0.4	24 ± 4	146 ± 12
0 ssp - Control	4.8 ± 0.4	17 ± 3	119 ± 23

La Tabla 7 muestra el crecimiento de *Arabidopsis* por altura (mm) para todos los tratamientos y tiempos de muestreo. Los números indican la media ± SE. Mammoth P tiene todas las cuatro especies; Cf = *E. Citrobacter*; Ec = *E. Enterobacter*; Pp = *P. Pseudomonas*; Ce = *C. Comamonas*

Tabla 7

Tratamiento	Día 28	Día 32	Día 33	Día 35	Día 39	Día 42	Día 46
Ce,Cf,Ec&Pp	16 ± 6	85 ± 17	109 ± 18	145 ± 13	188 ± 8	211 ± 12	237 ± 17
Cf,Ec&Pp	5 ± 2	50 ± 17	71 ± 19	117 ± 20	172 ± 15	205 ± 12	252 ± 12
Cf&Pp	3 ± 2	41 ± 16	59 ± 20	164 ± 25	165 ± 18	208 ± 11	248 ± 20
Ec&Pp	8 ± 6	44 ± 17	61 ± 19	96 ± 20	150 ± 18	189 ± 11	237 ± 20

		21	23	26	19	12	7
Pp&Ce	4 ± 2	37 ± 15	54 ± 17	92 ± 18	156 ± 13	204 ± 11	246 ± 13
Cf&Ec	9 ± 3	67 ± 18	88 ± 21	123 ± 23	166 ± 20	193 ± 19	224 ± 15
Cf&Ce	8 ± 4	44 ± 14	60 ± 16	95 ± 18	145 ± 16	176 ± 13	220 ± 9
Ec&Ce	11 ± 4	66 ± 18	84 ± 19	126 ± 20	184 ± 14	222 ± 12	252 ± 9
Pp	4 ± 2	44 ± 14	57 ± 17	94 ± 24	142 ± 25	179 ± 23	219 ± 20
Cf	10 ± 7	66 ± 17	60 ± 29	96 ± 33	167 ± 25	211 ± 17	259 ± 11
Ec	4 ± 1	40 ± 13	67 ± 11	114 ± 13	168 ± 11	208 ± 11	251 ± 8
Ce	3 ± 2	51 ± 27	50 ± 14	88 ± 17	146 ± 12	187 ± 12	240 ± 16
Control	10 + 6	46 ± 10	51 ± 24	74 ± 27	119 ± 23	158 ± 16	209 ± 11

La Tabla 8 muestra el crecimiento de *Arabidopsis* por el diámetro máximo (mm) para todos los tratamientos y tiempos de muestreo. Los números indican la media ± SE. Mammoth P tiene todas las cuatro especies; Cf = *E. Citrobacter*; Ec = *E. Enterobacter*; Pp = *P. Pseudomonas*; Ce = *C. Comamonas*.

Tabla 8

Tratamiento	Día 19	Día 21	Día 25	Día 28	Día 32	Día 35	Día 39	Día 46
Ce,Cf,Ec&P P (ssp 4; MammothP)	16 ± 2	21 ± 2	29 ± 2	37 ± 2	44 ± 3	46 ± 3	48 ± 3	46 ± 5
Cf,Ec&Pp	14 ± 1	16 ± 1	23 ± 1	28 ± 3	38 ± 4	40 ± 4	42 ± 4	45 ± 5
Cf&Pp	13 ± 3	15 ± 3	21 ± 4	27 ± 4	35 ± 4	41 ± 4	46 ± 5	49 ± 5
Ec&Pp	12 ± 2	15 ± 3	21 ± 3	27 ± 3	37 ± 2	42 ± 2	45 ± 2	46 ± 3
P&Ce	12 ± 1	15 ± 2	20 ± 2	26 ± 2	36 ± 4	42 ± 3	47 ± 3	50 ± 4
Cf&Ec	14 ± 2	16 ± 2	21 ± 3	28 ± 4	37 ± 5	37 ± 5	41 ± 5	40 ± 5
Cf&Ce	12 ± 1	14 ± 1	19 ± 2	25 ± 2	33 ± 2	35 ± 2	39 ± 2	40 ± 1
Ec&Ce	13 ± 1	15 ± 1	21 ± 2	28 ± 2	38 ± 4	41 ± 3	44 ± 3	45 ± 3
Pp	12 ± 2	15 ± 3	19 ± 3	24 ± 4	31 ± 5	34 ± 5	37 ± 5	37 ± 5
Cf	11 ± 2	13 ± 2	18 ± 2	25 ± 2	36 ± 5	43 ± 5	46 ± 5	49 ± 6

Ec	13 ± 1	14 ± 1	20 ± 1	26 ± 2	35 ± 2	39 ± 2	42 ± 2	44 ± 3
Ce	15 ± 2	18 ± 3	24 ± 4	31 ± 5	43 ± 6	47 ± 6	48 ± 6	52 ± 8
Control	11 ± 1	13 ± 2	17 ± 3	23 ± 3	31 ± 4	34 ± 4	39 ± 3	43 ± 4

La tabla 9 muestra el crecimiento de *Arabidopsis* por el número de hojas de roseta para todos los tratamientos y tiempos de muestreo. Los números indican la media $\pm$ SE. Mammoth P tiene todas las cuatro especies; Cf = *E. Citrobacter*; Ec = *E. Enterobacter*, Pp = *P. Pseudomonas*; Ce = *C. Comamonas*.

Tabla 9

Tratamiento	Día 14	Día 18	Día 19	Día 21	Día 25
Ce,Cf,Ec&Pp - Mammoth P	6.0 ± 0.3	7.9 ± 0.3	8.4 ± 0.3	9.7 ± 0.3	11.6 ± 0.4
Cf,Ec&Pp	5.3 ± 0.3	7.8 ± 0.7	8.3 ± 0.6	9.0 ± 0.4	11.3 ± 0.2
Cf&Pp	4.8 ± 0.5	7.5 ± 0.5	8.0 ± 0.5	9.2 ± 0.7	11.2 ± 0.7
Ec&Pp	5.0 ± 0.3	6.7 ± 0.3	7.6 ± 0.4	8.9 ± 0.4	10.4 ± 0.5
Pp&Ce	4.8 ± 0.3	6.6 ± 0.3	7.6 ± 0.3	8.8 ± 0.4	10.9 ± 0.4
Cf&Ec	5.5 ±	7.5 ±	8.5 ±	9.3 ±	11.5 ±

	0.3	0.3	0.3	0.5	0.6
Cf&Ce	5.0 ± 0.3	7.0 ± 0.3	7.8 ± 0.3	8.8 ± 0.3	10.3 ± 0.3
E&Ce	5.4 ± 0.2	7.7 ± 0.2	8.3 ± 0.2	9.6 ± 0.2	11.4 ± 0.2
Pp	5.0 ± 0.4	6.4 ± 0.6	7.3 ± 0.6	8.4 ± 0.5	11.6 ± 1.2
Cf	5.0 ± 0.4	6.4 ± 0.4	7.6 ± 0.4	8.8 ± 0.5	10.4 ± 0.5
Ec	5.4 ± 0.2	7.1 ± 0.1	7.7 ± 0.2	9.0 ± 0.0	11.6 ± 0.2
Ce	5.1 ± 0.4	7.1 ± 0.4	7.8 ± 0.4	9.0 ± 0.5	11.4 ± 0.7
Control	4.8 ± 0.4	7.0 ± 0.4	7.4 ± 0.5	8.8 ± 0.4	10.3 ± 0.5

Tratamiento	Día 28	Día 32	Día 35	Día 39	Día 46
Ce,Cf,Ec&Pp - Mammoth P	14.3 ± 0.9	15.4 ± 0.8	14.3 ± 0.8	13.3 ± 1.1	12.6 ± 1.3
Cf,Ec&Pp	13.0 ± 0.3	14.2 ± 0.8	14.0 ± 1.3	13.0 ± 1.2	13.1 ± 1.4
Cf&Pp	12.8 ± 0.6	13.3 ± 0.7	12.8 ± 0.5	12.2 ± 0.9	12.3 ± 1.1
Ec&Pp	12.7 ±	13.3 ±	12.4 ±	11.3 ±	12.7 ±

	0.6	0.5	0.2	0.3	1.0
Pp&Ce	12.4 ± 0.3	13.0 ± 0.6	13.3 ± 0.7	12.8 ± 0.7	13.5 ± 0.9
Cf&Ec	12.7 ± 0.9	14.0 ± 1.1	12.8 ± 1.2	12.2 ± 1.5	11.8 ± 1.4
Cf&Ce	11.8 ± 0.3	12.4 ± 0.5	12.4 ± 0.7	11.9 ± 0.7	12.1 ± 0.8
Ec&Ce	12.4 ± 0.5	13.0 ± 0.5	13.4 ± 0.8	14.0 ± 0.9	13.3 ± 0.8
Pp	14.3 ± 2.5	15.9 ± 3.1	15.3 ± 2.8	14.1 ± 2.4	12.4 ± 2.0
Cf	12.8 ± 0.6	13.4 ± 0.7	12.6 ± 0.6	12.0 ± 0.9	13.0 ± 1.1
Ec	12.7 ± 0.2	13.4 ± 0.7	13.0 ± 0.7	11.7 ± 1.0	13.4 ± 1.1
Ce	13.4 + 0.9	14.0 ± 1.0	14.1 ± 1.1	12.6 ± 1.1	12.0 ± 1.0
0 ssp - Control	12.6 ± 0.7	13.1 ± 0.7	13.0 ± 0.7	11.8 ± 0.9	12.0 ± 0.7

Depósitos

Un depósito de Consorcios que Movilizan Fósforo de los Solicitantes y Consorcios Mineralizantes de los Solicitantes, es y se ha mantenido por la Universidad del

5 Estado de Colorado desde antes de la fecha de presentación de

esta solicitud. El acceso a este depósito será disponible durante la calidad de pendiente de la solicitud al Comisionado de Patentes y Marcas y las personas determinadas por el Comisionado que es autorizado al mismo en la petición. En la
5 tolerancia de cualquiera de las reivindicaciones en la solicitud, el Solicitante(s) hará disponible al público sin restricción un depósito de los consorcios bacterianos con la Colección de Cultivos ARS del Centro Nacional del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos para Investigación de
10 Utilización Agrícola (NRRL; el "Depositorio"), Peoria, Illinois, 61604. Las bacterias depositadas serán tomadas del mismo depósito mantenido en la Universidad del Estado de Colorado como es descrito en lo anterior. Adicionalmente, el Solicitante cumplirá con todos los requerimientos de 37 C.F.R.
15 § 1.801 - 1.809, incluyendo la provisión de una indicación de la viabilidad de la muestra cuando se hace el depósito. Los números de acceso para una modalidad de las bacterias del consorcio son: *Comamonas estosterone*, NRRL B-67136; *Citrobacter freundii*, NRRL B-67137; *Enterobacter cloacae*, NRRL B-67138;
20 *Pseudomonas putida*, NRRL B-67139.

Este depósito de las bacterias mencionadas en lo anterior será mantenido en el Depositorio, que es un depositario público, por un período de 30 años, o 5 años después de la petición más reciente, o para la vida otorgable
25 de la patente, cualquiera que sea más largo, y será reemplazado

si llega a ser siempre no viable durante ese período. El Solicitante no impondrá restricciones en la disponibilidad del material depositado; sin embargo, el Solicitante no tiene autoridad para renunciar a cualquiera de las restricciones
5 impuestas por la ley en la transferencia de material biológico o su transporte en el comercio.