

Capacidad solubilizadora de fosfato de aluminio por hongos rizosféricos aislados de un Andisol colombiano*

Gina Vanessa Callejas Cañarte

Química, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Santiago de Cali, Cali - Colombia
givane36@gmail.com  <https://orcid.org/0000-0002-5753-1916>

Carlos Adolfo Cisneros Rojas

Profesor asociado, Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ingeniería y Administración, Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira - Colombia.
cacisnerosr@unal.edu.co  <https://orcid.org/0000-0003-4754-4884>

Luz Dary Caicedo Bejarano

Docente de los Programas de Química y Microbiología, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Santiago de Cali, Cali - Colombia
ludcaice@usc.edu.co  <https://orcid.org/0000-0003-4637-6268>

RESUMEN

A partir de un *Typic Melanudands* cultivado con café (*Coffea arabica* variedad Caturra), proveniente del Departamento del Cauca (Colombia), se aislaron hongos con capacidad solubilizadora de fosfato de aluminio (Al-P), de los cuales se seleccionaron dos microorganismos que presentaron la mayor actividad, identificados como cepa UNH1 (*Mycelia sterilia*), y UNH2 (*Penicillium* sp). Los hongos seleccionados fueron evaluados por quince días en medio líquido Pikovskaya (PVK) con Al-P, bajo dos condiciones, con agitación (método A) y en reposo con aireación (método B). Al comparar los resultados se encontraron diferencias estadísticas significativas en el porcentaje de fósforo soluble, el método A presentó mejores resultados con un porcentaje de 73,8% frente a 62% con la cepa UNH1 y en menor proporción con la cepa UNH2 49% y 44%. El incremento de biomasa fue mayor con el método B y el pH de los medios de cultivo no mostraron diferencias significativas, con un pH promedio de 2,7.

PALABRAS CLAVE

Hongos solubilizadores de fosfatos, suelo, ácidos orgánicos, agitación, aireación, pH.

Solubilizing capacity of aluminum phosphate by rhizospheric fungi isolated from an Andisol Colombian

ABSTRACT

Based on *Typic Melanudands* grow with coffee (*Coffea Arabica* Caturra variety) resulting from the Cauca department, fungi with solubilization capacity of aluminum phosphate were isolated (Al-P), from which two microorganisms with greater solubilization activity were selected, identified as strain UNH1: *Mycelia sterilia* y UNH2: *Penicillium* sp. Selected fungi were evaluated through the Pikovskaya liquid (PVK) with (Al-P), under two conditions, with stirring (A method) and repose with aeration (B method), for fifteen days.

Recibido: 28/02/2018 Aceptado: 15/05/2018

* <http://dx.doi.org/10.18041/1900-3803/entramado.24745> Este es un artículo Open Access bajo la licencia BY-NC-SA (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>)

Cómo citar este artículo: CALLEJAS CAÑARTE, Gina Vanessa, CISNEROS ROJAS, Carlos Adolfo, CAICEDO BEJARANO, Luz Dary. Capacidad solubilizadora de fosfato de aluminio por hongos rizosféricos aislados de un Andisol colombiano. *En*: Entramado. Julio - Diciembre, 2018. vol. 14, no. 2, p. 218-227 <http://dx.doi.org/10.18041/1900-3803/entramado.24745>



When comparing the results, significant statistical differences were found in the percentage of soluble phosphorus, method A presented better results with a percentage of 73.8% compared to 62% with the strain UNH1 and in smaller proportion with the strain UNH2 49% and 44 %. The increase in biomass was greater with method B and the pH of the culture media did not show significant differences, with an average pH of 2.7.

KEYWORDS

Phosphate solubilizing fungi, soil, organic acids, agitation, aeration, pH.

Capacidade de solubilização de fosfato de alumínio por fungos rizosféricos isolados de um Andisol colombiano

RESUMO

De PVAc Melanudands cultivadas com café (*Coffea arabica* variedade caturra), a partir do Departamento (Colômbia), fungos foram isoladas com fosfato de alumínio capacidade de solubilização (Al-P), de que introduziu foram seleccionados dois microrganismos a atividade mais alta, identificada como cepa UNH1 (*Mycelia sterilia*) e UNH2 (*Penicillium* sp). fungos seleccionados foram avaliadas durante duas semanas em meio líquido Pikovskaya (PVK) com Al-P sob duas condições, com agitação (método A) e que descansa com arejamento (método B). Ao comparar os resultados estatisticamente diferenças significativas na percentagem de fósforo solúvel encontrada, método A proporcionou melhores resultados com uma percentagem de 73,8% versus 62% com a estirpe UNH1 e em menor grau com a estirpe UNH2 49% e 44 %. O aumento da biomassa foi maior com o método B e o pH do meio de cultura não mostrou diferenças significativas, com um pH médio de 2,7.

PALAVRAS-CHAVE

Fungos solubilizantes de fosfato, solo, ácidos orgânicos, agitação, arejamento, pH.

Introducción

El fósforo (P) es un elemento significativo para los seres vivos, principalmente para las plantas que lo necesitan para su crecimiento y desarrollo (Moreno, González, Cecena y Grimaldo, 2015; Munera y Meza, 2012; Redel, Rubio, Rouanet y Borie, 2007). Sin embargo, en los suelos, especialmente los Andisoles, el P se encuentra poco disponible para las plantas (Bobadilla y Rincón, 2008), debido a su fijación, dada a través de reacciones químicas que involucran procesos de adsorción sobre la superficie de arcillas, precipitación con cationes de la solución del suelo y acomplejamiento con la materia orgánica (Sánchez y Rubiano, 2015).

De acuerdo con lo anterior, el P es un nutriente restrictivo en estos suelos y dados los altos requerimientos de las plantas para su crecimiento y desarrollo, se usan fertilizantes de síntesis química industrial para obtener mejores rendimientos. Después de su aplicación, hace tránsito a formas menos disponibles para las plantas al formar fosfatos con aluminio (Al) o hierro (Fe) en suelos ácidos y con calcio (Ca) en suelos alcalinos o calcáreos. Los

elevados costos y el impacto ambiental negativo causados por su aplicación, exigen investigar opciones para satisfacer los requerimientos de P de las plantas, a través del uso de materias primas menos costosas y ambientalmente amigables (Mardad, *et al.* 2013).

En los últimos años se ha investigado y propuesto el uso de microorganismos solubilizadores de fosfato (MSF), ya que biosintetizan ácidos orgánicos capaces de inducir la liberación de P dejándolo en su estado disponible. Una ventaja que presentan frente a fertilizantes químicos, es la contribución a la preservación del medio ambiente, ya que no implican sustancias tóxicas que afecten el sistema, generando de esta manera una agricultura sostenible (Abbasi, Musa, y Manzoor, 2015; Luna, Márquez y Alejo-Isturvide, 2017).

En Colombia, especialmente en la región andina, se han realizado varios estudios sobre MSF, especialmente bacterias y hongos (Pérez, De la Ossa y Montes, 2012; Cisneros y Sánchez de P, 2015), siendo estos últimos los que poseen mayor capacidad de solubilizar fosfatos, debido a sus características morfológicas y metabólicas que los

hacen organismos promisorios en suelos ácidos o de origen volcánico (Mujica y Molina, 2017; Vera, Pérez y Valencia, 2002).

Los hongos con capacidad solubilizadora de fosfatos pertenecientes a los géneros *Rhizoctonia*, *Talaromyces*, *Eupenicillium*, *Trichoderma*, *Mycelia sterilia* y *Penicillium* han sido aislados de diferentes suelos (Jacobs, *et al.* 2002; Barroso, *et al.* 2006; Scervino, *et al.* 2010; Paiva Coutinho, *et al.* 2011). La comprensión del papel que juegan estos microorganismos en el ciclo del fósforo permite plantear como alternativa viable, la introducción de MSF como biofertilizantes (Sharma, Sayyed, Trivedi y Gobiet, 2011; Sheraz, *et al.* 2011; Cisneros R., Sánchez de P. y Menjívar F., 2016). Estos microorganismos se concentran en alta proporción en la rizósfera de las plantas, y son metabólicamente más activos que los que provienen de otras fuentes (Singh, *et al.* 2017).

Con el fin de contribuir a la generación de nuevo conocimiento sobre los hongos solubilizadores de fosfatos, el presente estudio evaluó la capacidad solubilizadora de fosfato de aluminio de dos hongos rizosféricos (*Mycelia sterilia* y *Penicillium* sp), aislados de un *Typic Melanudands* (Andisol) del Departamento del Cauca (Colombia), utilizando dos metodologías en medio líquido (Pikovskaya), en reposo con agitación (método A) o con aireación (método B). El análisis de varianza (ANOVA) y prueba de comparación de medias de Tukey, permitió constatar que la eficiencia solubilizadora de fósforo (ESF) fue mayor con el método A con *Mycelia sterilia* y el incremento en la cantidad de biomasa con el método B, con *Penicillium* sp. El pH no mostró diferencias significativas en los métodos utilizados. Los resultados obtenidos son promisorios, debido a que ambos hongos solubilizaron un alto porcentaje de fósforo.

I. Marco teórico

I.1 Andisoles

Los Andisoles son suelos de origen volcánico, considerados los más productivos a nivel mundial. Se localizan en un extenso rango de climas, latitudes y altitudes. Ocupan aproximadamente 120 millones de hectáreas o 0.84% de la superficie terrestre, mientras que en Colombia, abarcan aproximadamente el 4.5% del territorio (Jaramillo, 2009; Sánchez y Rubiano, 2015), incluyendo tierras con uso agrícola situadas en la región andina, especialmente en la cordillera central y en menor proporción en las cordilleras occidental y oriental, en los departamentos de Antioquia, Caldas, Risaralda, Quindío, Tolima, Cauca, Valle del Cauca y Nariño (Lizcano, Herrera y Santamaría, 2006), siendo los más representativos los Hapludands y Melanudands. Estos suelos constituyen la base de la producción de sistemas tan

diversos como los cultivos de papa, café y la mayoría de las hortalizas (Auxtero, Madeira y Sousa, 2004).

Estos suelos se caracterizan por poseer materia orgánica altamente estabilizada, elevada retención de humedad, baja densidad aparente, carga variable coloidal, alta friabilidad y alta fijación de fósforo, P (Satti, Mazzarino, Roselli y Crego, 2007); Bayuelo y Ochoa, 2014). La retención de P en estos suelos, puede alcanzar el 85%, y se atribuye a la existencia de minerales de tipo aluminosilicatos no cristalinos en la fracción arcilla, principalmente alófano, imogolita, ferrihidrita y complejos humus-aluminio (Satti, *et al.* 2007; Sánchez y Rubiano, 2015), que se forman en el curso del desarrollo del suelo.

I.2. El fósforo como nutriente esencial para las plantas

El fósforo (P) es el segundo macronutriente esencial para el crecimiento y desarrollo de los organismos vivos. Es componente de muchos minerales inorgánicos (apatitas) y biomoléculas como Adenosin Difosfato (ADP), Adenosin Trifosfato (ATP), Ácido Desoxirribonucleico (ADN), Ácido Ribonucleico (ARN), Fosfolípidos, entre otros. Ayuda a la construcción de biomasa, obtención de micronutrientes, participa en varios procesos fisiológicos de las plantas (Gleason, 2007).

La insuficiencia de este elemento, provoca tardanzas en el crecimiento vegetal y una coloración púrpura en las hojas. Además, las plantas presentan muy baja eficiencia fotosintética lo que conlleva a un retraso en los procesos de maduración (Gleason, 2007; Sharma, *et al.* 2013; Kruse, *et al.* 2015).

Frente a los elementos principales de nutrición, las plantas requieren al P en promedio entre 0,2 y 0,4% de su peso seco. A pesar de que el P es abundante, sólo el 0,1% del fósforo total está disponible. Las plantas lo adquieren de la solución del suelo como aniones de fosfato, procedentes de la mineralización de materiales orgánicos y solubilización de fuentes minerales (Mullen, 2005). En la solución del suelo se encuentra disponible en muy baja concentración (Sharma, *et al.* 2013; Kruse, *et al.* 2015).

Por lo tanto, la fracción de P disponible para la planta y su concentración en la solución del suelo puede ser insuficiente para satisfacer las necesidades de las plantas (Rengel y Marschner, 2005; Jorquera, Hernández, Rengel, Marschner y Mora, 2008), por lo cual debe suministrarse por medio de fertilizantes minerales elaborados a partir de roca fosfórica y/o fuentes altamente solubles (Patiño y Sánchez de P., 2014). Sin embargo, éstos tienden a acumularse en forma de

compuestos insolubles cuando entran en contacto con los coloides del suelo (Richardson y Simpson, 2011; Agrawal y Pathak, 2012).

1.3. Papel de los microorganismos solubilizadores de fosfatos en la disponibilidad del fósforo

Así como las plantas, los microorganismos también poseen un importante rol en el ecosistema del suelo, ya que son fuente considerable de P y participan en las transformaciones de ese elemento.

Los microorganismos solubilizadores de fosfatos (MSF) se concentran en alta proporción en la rizósfera de las plantas (Singh, *et al.* 2017), por lo cual se han estudiado varias especies de bacterias y hongos (Sharma, *et al.* 2013). Durante los últimos años el conocimiento sobre los MSF se desarrolló significativamente (Sharma, *et al.* 2013). Entre estos se encuentran las Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal o PGPR, Plant Growth Promotion Rhizobacteria, y hongos solubilizadores de fosfato, HSF (Paredes y Espinosa, 2010; Sharma, *et al.* 2013). Por lo general, ellos son aislados del suelo rizosférico, no rizosférico, rizoplano, filosfera y de depósitos de roca fosfórica usando el método de dilución serial o una técnica de cultivo enriquecido (Zaidi, *et al.* 2009).

Son varios los mecanismos en los cuales los MSF se encargan de liberar el P, dejándolo disponible para las plantas (Paredes y Espinosa, 2010; Sharma, *et al.* 2013). Entre ellos se encuentra la acidificación del medio causada por la biosíntesis de ácidos orgánicos (glucónico, 2-cetoglucónico, oxálico, cítrico, láctico, tartárico, aspártico, succínico, isobutírico, isovalerico, entre otros), el cual constituye el mecanismo más importante de liberación de P a través de la solubilización de fosfatos inorgánicos por parte de los MSF. Dicha solubilización se manifiesta así: (i) disminución de pH, (ii) quelación de cationes unidos al P, (iii) competencia del P por los sitios de adsorción en el suelo, o (IV) formación de complejos solubles con iones metálicos asociados al P insoluble (Ca, Al, Fe), con lo anterior, el P es liberado (Paredes y Espinosa, 2010; Sharma, *et al.* 2013). De otro lado, la temperatura, la concentración de las fuentes de P, C y de N influyen en la actividad solubilizadora de estos microorganismos (Ahuja, Ghosh y D'souza, 2007).

1.4. Métodos y medios de cultivo para el estudio de microorganismos solubilizadores de fosfatos

Desde 1948, cuando Pikovskaya sugirió que los microorganismos podrían disolver formas no disponibles de fósforo en el suelo para proporcionarlo a las plantas, numerosos métodos y medios de cultivo, como Pikovskaya

(Pikovskaya, 1948), azul de bromofenol (Gupta, Singal, Shanker, Kuhad y Saxena, 1994) y NBRIP, National Botanical Research Institute's Phosphate growth medium (Nautiyal, 1999) han sido propuestos. Comúnmente, se utiliza como fuente de P insoluble el fosfato tricálcico (Ca-P), para aislar y evaluar la solubilización de este elemento por parte de los microorganismos aislados del suelo. También han sido probados los fosfatos de hierro, de aluminio y varios de calcio considerados menos solubles que el Ca-P en agua (Bashan, *et al.* 2013a, b; Sharma, *et al.* 2013). La selección de la fuente de P depende del tipo de suelo.

La actividad solubilizadora de P de MSF se detecta por la formación de un halo claro alrededor de sus colonias en medio sólido. Lo anterior no cuantifica la concentración de fósforo liberado al medio de cultivo procedente de fosfatos insolubles. Para ello se evalúa la solubilización del elemento en medio líquido por espectrofotometría o colorimetría al igual que la producción de ácidos orgánicos por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), después, se identifican los microorganismos con mejor capacidad solubilizadora de P y por último las colonias son probadas en una planta indicadora usándolos como biofertilizantes con el fin de evaluar su efecto en el crecimiento y desarrollo de éstas (Bashan, *et al.* 2013a; Cisneros, *et al.* 2016; Cisneros R., Sánchez de P. y Menjívar F., 2017).

2. Materiales y Métodos

Los MSF, especialmente hongos solubilizadores de fosfatos (HSF), fueron seleccionados a partir del trabajo realizado por Cisneros y Sánchez de P, (2015).

Los análisis realizados a los aislamientos fúngicos, tuvieron lugar en los laboratorios de Microbiología de la Universidad Nacional de Colombia (Palmira, Colombia) y Universidad Santiago de Cali (Cali, Colombia).

Identificación de hongos solubilizadores de fosfatos. Este trabajo se inició con los dos aislamientos fúngicos más eficientes (UNH1 y UNH2) en la solubilización de fósforo a partir de fosfatos tricálcico, de aluminio y de hierro, en agar Pikovskaya, PVK (Cisneros y Sánchez de P, 2015). Dichos hongos fueron identificados morfológicamente como *Mycelia sterilia* y *Penicillium* sp, con claves dicotómicas, de acuerdo con sus características macroscópica y microscópicas (De Hoog, Guarro, Gené, Figueras, 2000).

Evaluación *in vitro* de la eficiencia solubilizadora de fosfato de aluminio de los hongos seleccionados en medio líquido (PVK sin agar). Los microorganismos seleccionados fueron evaluados en PVK utilizando como fuente de fósforo, fosfato de aluminio, sustancia presente en suelos ácidos o de origen

volcánico. (Bashan, Kamnev y D-Basham, 2013a; Bashan, *et al.* 2013b; Sharma, 2011).

La capacidad solubilizadora de fosfato de aluminio de los microorganismos se llevó a cabo bajo dos condiciones, con agitación (Método A) y en reposo con aireación (Método B), manteniendo todas las medidas de esterilidad.

Se tomó con un sacabocado 10 mm² de cada hongo previamente crecido en PDA y se transfirió a un erlenmeyer con 100 ml del medio de cultivo glucosa-peptona (2:1) y se dejó con agitación constante, durante una semana. De cada suspensión, se tomó 2 ml de medio, el cual se depositó en un erlenmeyer que contenía 200 ml de PVK líquido con púrpura de bromocresol al 1%. Se utilizaron tres repeticiones por cada microorganismo. Los testigos fueron los mismos medios de cultivo a los cuales se adicionó 2 ml de agua destilada estéril. Los cultivos se mantuvieron en agitación a 100 rpm (Método A, Figura 1a), y aireación (Método B, Figura 1b), a temperatura ambiente (28-30°C) por 15 días.



Figura 1. Ensayo en medio líquido a) Método con agitación constante; b) Método en reposo con aireación.

Fuente: Elaboración propia.

Las evaluaciones de porcentaje de fósforo (% P soluble) se llevaron a cabo los días 0, 3, 6, 9, 12 y 15. Para estas mediciones, se tomó 10 ml de cada erlenmeyer el cual se filtró a través de membranas Millipore de 0,45 µm. Al filtrado se le midió el pH por Potenciometría y el P soluble empleando el Método Amarillo de Molibdovanadato (APHA-AWWA-WPCF, 1992). Para la determinación de Biomasa fúngica, se realizó por diferencia de peso utilizando la membrana Millipore de 0,45 µm previamente pesado, luego se sometió a una temperatura de 100 °C durante 40 minutos hasta que el peso fuera constante.

Análisis estadístico. Para la evaluación de la eficiencia solubilizadora de fosfato con los métodos A y B, se formuló un diseño completamente al azar, con variables de respuesta, % P soluble, biomasa y pH, con tres repeticiones por ensayo. Se utilizó análisis de varianza (ANOVA) y prueba de

comparación de medias de Tukey, con una significancia del 95%. Los análisis se corrieron utilizando el programa PSPP v.0.8.1.

3. Resultados

Análisis preliminar. Los microorganismos son procedentes de un *Typic Melanudands* del Departamento del Cauca, del cual se conocen sus propiedades químicas (Cisneros y Sánchez de P, 2015; Montagut, 2014), siendo consistentes con las características químicas de este tipo de suelos: pH ácido (5,01), baja disponibilidad de P (entre 0,84 y 2,20 ppm), y alto contenido de materia orgánica (superiores a 10%).

Cuantificación de P, pH y producción de biomasa. En las Figura 2, 3 y 4 se presentan el porcentaje de fósforo solubilizado por *Penicillium* sp y *Mycelia sterilia*. Al comparar los dos métodos se encontraron diferencias estadísticas significativas al igual que en el porcentaje de solubilización y producción de biomasa. Con relación al pH no se encontraron diferencias significativas.

La eficiencia solubilizadora de fósforo (ESF) con el Método A presentó un porcentaje mayor con un 73,8% para UNH1 y 49%, para UNH2, mientras que con el Método B se obtuvo 62% y 44% respectivamente.

En la producción de biomasa en el medio con agitación (Método A) se obtuvieron valores de 11,20 mg/l para UNH1 y 49,54 mg/L para UNH2 mientras que con el Método B se registraron valores de 38,53 mg/l y 67,30 mg/l respectivamente. Para el método con agitación (A) se observaron formaciones de colonias pequeñas muy agrupadas, a diferencia del método con aireación (B) donde el hongo esporuló uniéndose a las paredes del contenedor y en toda el área superficial de la solución.

4. Discusión

Al existir poca información sobre el género de los hongos filamentosos rizosféricos solubilizadores de fósforo, estos resultados de porcentajes de solubilización *in vitro* (Figura 2) demuestran que se deben realizar más estudios y no centralizar el tema solo en hongos micorrizas arbusculares y bacterias (Corrales, Arévalo y Moreno, 2014; Pérez, *et al.* 2012).

Los resultados obtenidos son muy promisorios, debido a que ambos hongos solubilizaron un alto porcentaje de fósforo, *Mycelia sterilia* presentó mayor solubilización del fosfato de aluminio con un promedio de 74% comparado con *Penicillium* sp con un promedio de 49 % de Eficiencia Relativa; debido posiblemente a la biosíntesis de ácidos

orgánicos (AO), que influyen en la acidificación del medio, quelación, precipitación y reacciones de óxido-reducción, para formar complejos con los metales, en este caso el Aluminio (Cerón y Aristizabal, 2012; Malviya, Sing, y Joshi, 2011; Paredes y Espinosa, 2010). La acidificación del PVK con púrpura de bromocresol se evidenció físicamente por el viraje del color del indicador de púrpura a amarillo (Sosa, 2010), lo que confirma la presencia de ácidos en el medio. Los microorganismos asimilan iones amonio (NH_4^+), excretando protones lo cual forma complejos entre cationes que precipitan el fósforo de manera inorgánica y aniones orgánicos como oxalatos y fumaratos: desorción de iones de fósforo inorgánico y absorción por aniones orgánicos (Lara, Esquivel y Negrete, 2011; Osorio, 2008).

La eficiencia solubilizadora de fósforo (ESF) con el Método A, presentó un porcentaje mayor. La agitación constante garantizó la homogeneidad del medio, permitiendo a las colonias permanecer más tiempo sumergidas y activas en el medio líquido (FAO, 2015). Con relación al método B, la aireación jugó un papel muy importante, debido a que estos hongos son aerobios (Lugo, Plaza, Cisneros, y Caicedo, 2015) lo que influyó de manera significativa en el desarrollo de biomasa. El parámetro de aireación en un bio-reactor es fundamental, debido que se puede realizar una rápida transferencia de oxígeno y esto genera un incremento en la biomasa del microorganismo, esta técnica es muy usada en la industria biotecnológica para la producción de proteína unicelular (Cruz, 2007).

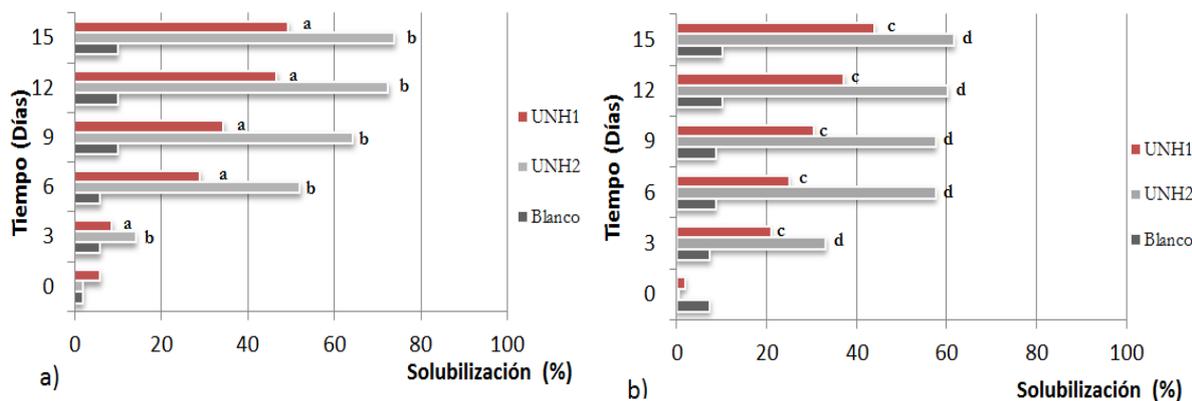


Figura 2. Porcentaje de P solubilizado: a. Método A; b. Método B. Medias con la misma letra no difieren estadísticamente, $p < 0,05$.

Fuente: Elaboración propia

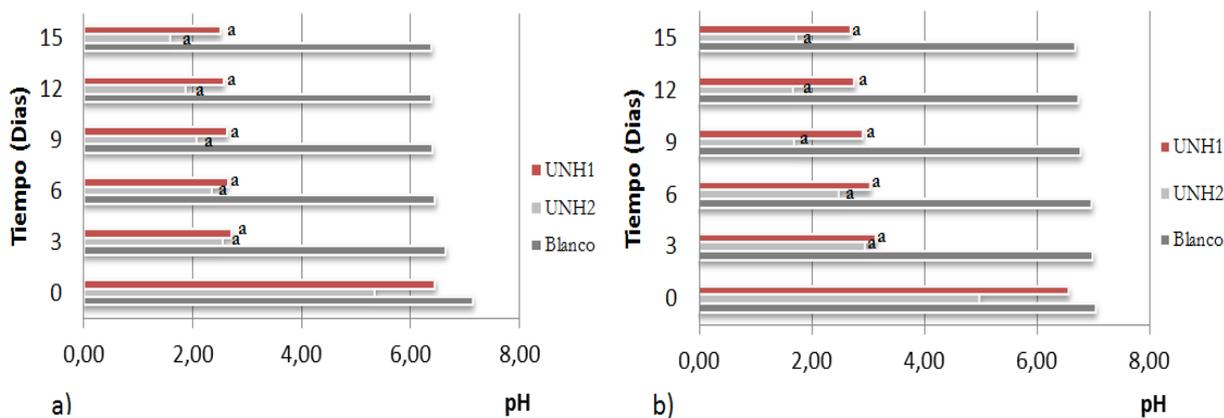


Figura 3. Valores de pH: a. Método A; b. Método B. Medias con la misma letra no difieren estadísticamente, $p < 0,05$.

Fuente: Elaboración propia

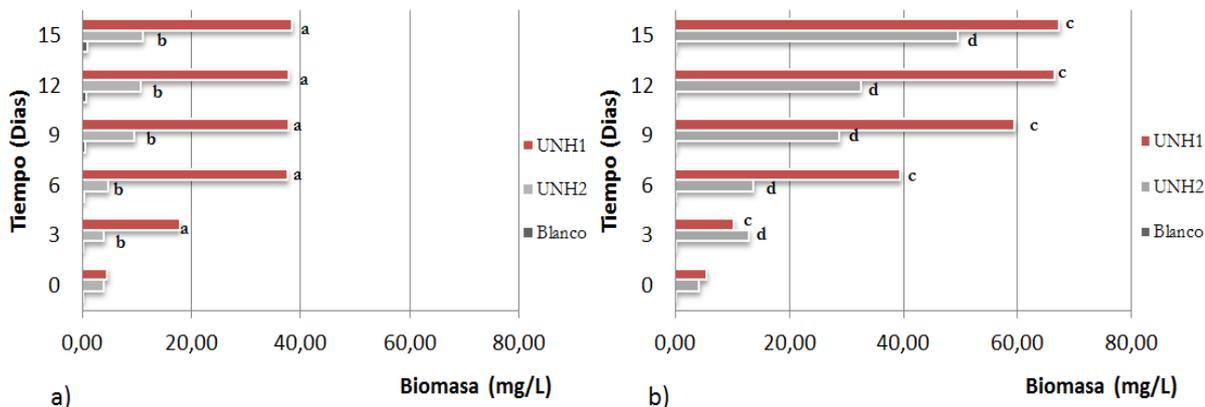


Figura 4. Valores de Biomasa Fúngica: a. Método A; b. Método B. Medias con la misma letra no difieren estadísticamente, p<0,05. Fuente: Elaboración propia

Con ambos métodos se presentó la acidificación de los medios de cultivo pasando de un valor neutro a valores por debajo de 1,75 (Yaayo, 2015), este comportamiento se esperaba, debido a que estos microorganismos habitan en suelos ácidos (Cisneros y Sánchez de P, 2015) y al producir más ácidos orgánicos de bajo peso molecular, la tendencia de acidificación es creciente. En otros estudios se ha demostrado un comportamiento similar (Behera, Singdevsachan, Mishra, Dutta y Thatoi, 2014).

La biomasa microbiana se ve directamente afectada por la aireación de los medios de cultivo, debido a que estos hongos son aerobios y tienden a permanecer en la superficie del líquido o en las paredes del recipiente. El hongo *Penicillium* sp, al ser facultativo presentó mayor producción de biomasa, el porcentaje de P soluble fue bajo; lo que indica que el fósforo solubilizado en gran medida paso a formar parte de la estructura del hongo (Giraldo y Villa, 2016). Además las condiciones de crecimiento se vieron favorecidas por la acidificación del medio, siendo ideal para su desarrollo (Beltrán, 2014; Paiva, Pereira y Yano, 2012).

5. Conclusiones

El estudio resultó muy promisorio debido a que las dos cepas de hongos UNH1 y UNH2 presentaron alto porcentaje de solubilización de P, pero al comparar el comportamiento de ambos, se encuentra que el hongo que presentó mayor ESF fue UNH1 con un 73,8% comparado con el hongo UNH2 que solubilizó el fósforo en un 49,6%.

Se determinó que los dos métodos permiten la solubilización del fosfato de aluminio, sin embargo el método A (agitación) es más efectivo que el método B (aireación). Esta última metodología es más fácil de implementar en el campo.

Las condiciones de pH fueron propicias para el crecimiento de los hongos y la producción de biomasa. Los diferentes métodos de cultivo permitieron demostrar que una simple variable puede modificar el rendimiento de la cuantificación del P libre.

La eficiencia de los microorganismos solubilizadores de fosfato se ha estudiado mucho en los últimos años y a partir de un Andisol se pueden obtener microorganismos nativos capaces de transformar los nutrientes presentes en los suelos logrando transformar macronutrientes a su estado de biodisponibilidad evitando el uso de químicos, para así implementar una agricultura sostenible.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad Nacional de Colombia (Sede Palmira) y a la Universidad Santiago de Cali por el apoyo económico para realizar la parte experimental.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Referencias bibliográficas

1. ABBASI, M K. MUSA, N. and MANZOOR, M. Phosphorus release capacity of soluble P fertilizer and insoluble rock phosphate in response to phosphate solubilizing bacteria and poultry manure and their effect on plant growth promotion and P utilization efficiency of chilli (*Capsicum annum* L.) In: Biogeosciences. January, 2015. vol. 12, p.1839-1873. Doi: 10.5194/bgd-12-1839-2015.
2. AGRAWAL, K. S. and PATHAK, R. K. Short Communication. Phosphate Solubilization by *Alcaligenes faecalis* over *Pseudomonas fluo-*

- rescens. In: *Agricultural Science Research Journals*. 2012. vol. 2, no 2, p. 92-94. Available In <http://www.resjournals.com/journals/agricultural-science-research-journal/Agrawa%20and%20Pathak.pdf>
3. AHUJA, A.; GHOSH, S. B.; D'SOUZA, S. F. Isolation of a starch utilizing, phosphate solubilizing fungus on buffered medium and its characterization. In: *Bioresour Technol*. 2007. vol. 98, p. 3408-3411. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.10.041>
 4. APHA-AWWA-WPCF. Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. 17. ed. Madrid, España: Días de Santos. 1992. 1816 p. Available in <https://es.scribd.com/doc/34123421/Metodos-Normalizados-Analisis-Agua>
 5. AUXTERO, E., MADEIRA, M. & SOUSA, E. Variable charge characteristics of selected Andisols from the Azores, Portugal. In: *Catena*. 2004. vol. 56, p. 111-125. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2003.10.006>
 6. BARROSO, C. B. and NAHAS, E. The status of soil phosphate fractions and the ability of fungi to dissolve hardly soluble phosphates. In: *Applied Soil Ecology*. 2005. vol. 29, p. 73-83. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2004.09.005>
 7. BASHAN, Yoav; KAMNEV, Alexander and D-BASHAM, Luz E. A proposal for isolating and testing phosphate-solubilizing bacteria that enhance plant growth. In: *Bio Fertil Soils*. January, 2013a vol. 49, p. 1-2. Available in <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs00374-012-0756-4.pdf>
 8. BASHAN, Yoav; KAMNEV, Alexander and D-BASHAM, Luz E. Tricalcium phosphate is inappropriate as a universal selection factor for isolating and testing phosphate-solubilizing bacteria that enhance plant growth: proposal for an alternative procedure. In: *Bio Fertil Soils*. May, 2013b. vol. 49, p. 465-479. Doi: 10.1007/s00374-012-0737-7. Available in <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs00374-012-0737-7.pdf>
 9. BAYUELO J., J. S. y OCHOA C., I. Phosphorus acquisition and internal utilization efficiency among maize landraces from the central Mexican highlands. *Field Crops*. In: *Research*. 2014. Vol. 156, p. 123-134. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.11.005>
 10. BEHERA, Bikash; SINGDEVSACHAN, Saamer Kumar; MISHRA, R. R., DUTTA, Saurat; & THATOI Hrudrayanath, N. Diversity, mechanism and biotechnology of phosphate solubilizing microorganism in mangrove - A review. In: *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2014. vol. 3, no 2, p. 97-110. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2013.09.008>
 11. BOBADILLA H., Catalina y RINCÓN V., Sandra Carolina. Aislamiento y producción de bacterias fosfato solubilizadoras a partir de compost obtenido de residuos de plaza. Trabajo de Grado Microbiología industrial. Bogotá D.C.: Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Departamento de Microbiología Industrial, 2008. 97p. Disponible en <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8433/tesis130.pdf?sequence=1>
 12. BELTRÁN, Mayra Eleonora. La solubilización de fosfato como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal. En: *Corpoica Ciencias tecnología agropecuaria*. 2014. vol. 15, no 1, p. 101-113. Disponible en <http://www.redalyc.org/pdf/4499/449944863010.pdf>
 13. CERÓN RINCON, Laura Emilia y ARISTIZABAL GUTIERREZ, Fabio A. Dinámica del ciclo del nitrógeno y fósforo en suelos. En: *Revista Colombiana de Biotecnología*. Julio, 2012. vol. 14, no 1, p. 285-295. ISSN 0123-3475. <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.biote>
 14. CISNEROS ROJAS, Carlos. A. y SÁNCHEZ DE P., Marina. Solubilización de fosfatos por hongos asociados a un Andisol de tres agroecosistemas cafeteros de la región andina colombiana. En: *Ingenium*. Septiembre 2015. Vol. 9, no 25, p. 37-46. Disponible en <http://revistas.usc.edu.co/index.php/Ingenium/article/download/586/478>
 15. CISNEROS ROJAS, Carlos A.; SÁNCHEZ DE P., Marina y MENJÍVAR F., Juan Carlos. Influencia de microorganismos solubilizadores de fósforo del suelo y su absorción por plántulas de café. En: *Bioagro*. 2016. vol. 28, no 2, p. 95-106. Disponible en <http://www.scielo.org/ve/pdf/ba/v28n2/art04.pdf>
 16. CISNEROS ROJAS, Carlos A.; SÁNCHEZ DE P., Marina y MENJÍVAR F., Juan Carlos. Efecto de bacterias solubilizadoras de fosfatos sobre el desarrollo de plántulas de café. En: *Agronomía Mesoamericana*. 2017. vol. 28, no 1, p. 149-158. Disponible en <http://www.scielo.sa.cr/pdf/am/v28n1/43748637011.pdf>
 17. CORRALES RAMÍREZ, Lucía Constanza; ARÉVALO GALVEZ, Zuly Yurieth y MORENO BURBANO, Vanessa Estefanía. Solubilización de fosfatos: una función microbiana importante en el desarrollo vegetal. En: *Nova*. Junio, 2014. vol. 12, p. 67-79. Disponible en <http://www.scieo.org.co/pdf/nova/v12n2/v12n21a06.pdf>
 18. CRUZ MARTÍNEZ Lina Carolina. Estandarización del proceso de producción masiva de hongo *Trichoderma koningii* Th003 mediante fermentación bifásica a escala piloto. Trabajo de Grado Microbiología industrial. Bogotá D.C.: Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Departamento de Microbiología Industrial, 2007. 148p. Disponible en <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8237/tesis23.pdf?sequence=1>
 19. DE HOOG Sybren, GUARRO Josep, GENÉ Josepa, FIGUERAS María José: Atlas of Clinical Fungi. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelfcultures, 2 De Hoog, G. Atlas of Clinical Fungi. In: *Amer Society for Microbiology*. USA. 2000. vol. 2. 1126 p.
 20. GIRALDO, Sara Jein; VILLA, Andres Felipe. Caracterización morfológica y metabólica de los hongos filamentosos asociados a la rizosfera de plantas arvenses en la zona cafetera. Trabajo de Grado de Bacteriología. Manizales. Universidad Católica de Manizales. 2016. 66p. Disponible en <http://repositorio.ucm.edu.co:8080/jspui/bitstream/handle/10839/1320/Sara%20Jein%20Giraldo%20Naranjo.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 21. GLEASON, W. An Introduction to Phosphorus: History, Production, and Application. In: *JOM* 2007. vol. 59, no. 6, p. 17-19.
 22. GUPTA, R. R.; SINGAL, R.; SHANKER, A.; KUHAD, R. C.; SAXENA, R. K. A modified plate assay for screening phosphate solubilizing microorganisms. In: *J. Gen. Appl. Microbiol*. 1994. vol. 40, p. 255-260. Available in https://www.jstage.jst.go.jp/article/jgam/1955/40/3/40_3_255/_pdf
 23. JARAMILLO JARAMILLO, Daniel Francisco. Spatial variability of the andic properties in a hydromorphic Andisol from the Antioquia

- east (Colombia). *En: Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín* 2009, vol. 62, no 1, p. 4907-4921. ISSN 0304-2847. Available in <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v62n1/a17v62n1.pdf>
24. JACOBS, H.; BOSWELL, G. P.; HARPER, F.A.; RITZ, K.; DAVIDSON, F. A. and GADD, G. M. 2002. Solubilization of metal phosphates by *Rhizoctonia solani*. *In: Mycol. Res.* vol. 106, no 12, p. 1468-1479. <https://doi.org/10.1017/S0953756202006901>
 25. JORQUERA, M.A.; HERNÁNDEZ, M.T.; RENGEL, Z.; MARSCHNER, P. and MORA, M. D. Isolation of culturable phosphor bacteria with both phytate-mineralization and phosphate-solubilization activity from the rhizosphere of plants grown in a volcanic. *in: Biol Fertil Soils* 2008. vol. 44, p. 1025-1034. Available in <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs00374-008-0288-0.pdf>
 26. KRUSE, J.; ABRAHAM, M.; AMELUNG, W.; BAUM, C.; BOL, R.; KÜHN, O.; LEWANDOWSKI, H.; NIEDERBERGER, J.; OELMANN, Y.; RÜGER, C.; SANTNER, J.; SIEBERS, M.; SIEBERS, N.; SPOHN, M.; VESTERGREN, J.; VOGTS, A. and LEINWEBER, P. Innovative methods in soil phosphorus research: A review. *In: Journal of Plant Nutrition and Soil Science.* 2015. vol. 178, no 1, p. 43-88. <https://doi.org/10.1002/jpln.201400327>
 27. LARA, Cecilia; ESQUIVEL AVILA, Lina M. y NEGRETE PEÑATA, Jorge L. Bacterias nativas solubilizadores de fosfato para incrementar los cultivos en el departamento de Córdoba-Colombia. *En: Biotecnología, en el sector agropecuario y agroindustrial.* Julio-diciembre, 2011. vol.9, no 2, p. 114-120. Disponible en http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612011000200013
 28. LIZCANO, A., HERRERA, M. & SANTAMARIA, J. Suelos derivados de cenizas volcánicas en Colombia. *En: Rev. Int. Desastr. Nat. Accid. e Infraestruct. Civ.* 2006. vol. 6, p. 167-199. Disponible en https://egel.kaust.edu.sa/Documents/Papers/Lizcano_2006a.pdf
 29. LUGO, Angélica María; PLAZA, Laura Catalina; CISNEROS R., Carlos Adolfo, & CAICEDO, Luz Dary. Evaluación de propiedades físicas, química y biológica de un suelo después de ser usado como sustrato en humedales artificiales. *En: Ingenium.* 2015. vol. 9, no 26, p. 41-60. Disponible en <http://revistas.usc.edu.co/index.php/Ingenium/article/download/592/483>
 30. LUNA CALZADA, Ramón; MÁRQUEZ LUCIO, María Azucena y ALEJO ITURVIDE, Francisco. Aislamiento de microorganismos solubilizadores de fósforo aislado del ANP cerro del cubilete, Guanajuato. *En: Jóvenes en la ciencia.* Enero, 2017. vol. 3, no 1, p.281-285. Disponible en <http://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/917>
 31. MALVIYA, Jitendra; SING, Kiran and JOSHI, Vaibhavi. Effect of Phosphate solubilizing fungi on Growth and nutrient uptake of ground nut (*Arachis Hypogaea*) plants. *In: Advances in Bioresearch.* December, 2011. vol. 2, no 2, p.110-113. Available in <http://soeagra.com/abr/december%202011/21.pdf>
 32. MARDAD, Ilham; SERRANO, Aurelio and SOUKRI, Abdelaziz. Solubilization of inorganic phosphate and production of organic acids by bacteria isolated from a Moroccan mineral phosphate deposit. *In: African Journal of Microbiology Research.* February, 2013. vol. 7, no 8, p. 626-635. Doi: 10.5897/AJMR12.1431. Disponible en <http://hdl.handle.net/10261/97130>
 33. MONTAGUT, Jorge Augusto. Evaluación del contenido de fósforo en tres agroecosistemas de un Andisol del Cajibío (Cauca). Trabajo de grado Química. Cali: Universidad Santiago de Cali. Facultad de Ciencias Básicas. Química. 2014. 97p.
 34. MORENO RAMÍREZ, L.; GONZÁLEZ MENDOZA, D.; CECENA DURAN, C. and GRIMALDO JUAREZ, O. Molecular identification of phosphate-solubilizing native bacteria isolated from the rhizosphere of *Prosopis glandulosa* in Mexicali Valley. *In: Genetic and Molecular Research.* March, 2015. vol. 14, no 1, p. 2793-2798. Doi: 10.4238/2015.March.31.9. Available in <http://www.funpecrp.com.br/gmr/year2015/vol14-1/pdf/gmr4551.pdf>
 35. MUJICA PÉREZ, Yonaisy y MOLINA DELGADO, Larry. Influencia de hongos micorrízicos arbusculares (*Rhizoglyphus intraradices*) y un estimulador del crecimiento vegetal en *Pennisetum purpureum* Sch. Cv. Cuba CT-115. *En: Cultivos tropicales.* enero-marzo, 2017. vol.38, no 1, p.131-137. Disponible en <http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v38n1/ctr17117.pdf>
 36. MULLEN, Michael D. Phosphorus in Soils. *Biological Interactions.* In: Daniel Hillel: Soil in the Environment. Elsevier Companion Materials. 2005. vol. 3, p. 210-215. DOI: 10.1016/B0-12-348530-4/00161-2
 37. MUNERA, G. y MEZA, D. Manual general análisis de suelo y tejido vegetal. Universidad Tecnológica de Pereira. 2012. 40 p. Disponible en <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/5247/analisis%20de%20suelos.pdf;sequence=1>
 38. NAUTIYAL, C. S. An efficient microbiological growth medium for screening of phosphate solubilizing microorganisms. *In: FEMS Microbiol. Lett.* 1999. vol. 170, p. 265-270. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x>
 39. OSORIO, Nelson Walter. Effectiveness of microbial solubilization of phosphate in enhancing plant phosphate uptake in tropical soils and assessme of the mechanism of solubilization. Tesis de Doctorado. Hawaii. University of Hawaii. 2008. 144p. Doi: Hdl.handle.net/10125/20389. Available in <http://hdl.handle.net/10125/20389>
 40. PAIVA C., Flavia; DE QUEIROZ C., María Auxiliadora and YANO-MELO, Adriana M. Phosphate-solubilizing fungi isolated from a semiarid area cultivated with melon (*Cucumis melo* L. cv. gold mine). *In: Acta Botanica Brasílica.* 2011. vol. 25, no 4, p. 929-931. Available in <http://www.scielo.br/pdf/abb/v25n4/20.pdf>
 41. PAIVA, Fernando; PEREIRA, Walter & YANO, A. M. Solubilization of phosphates in vitro by *Aspergillus* spp. And *Penicillium* spp. *In: Ecological engineering.* 2012. vol. 42, p. 85-89. Doi: 10.1016/j.ecoleng.2012.02.002. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2012.02.002>
 42. PAREDES MENDOZA, Marianela y ESPINOSA VICTORIA, David. Ácidos orgánicos producidos por rizobacterias que solubilizan fosfato: Una revisión crítica. *En: Terra Latinoamérica.* Julio, 2010. vol. 1, p.61-70. Disponible en <http://www.scielo.org.mx/pdf/tl/v28n1/v28n1a7.pdf>

43. PATIÑO T., Carlos; SÁNCHEZ DE P., Marina. Efecto de la aplicación de roca fosfórica y la inoculación con bacterias solubilizadoras de fosfatos. *En: Acta Agronómica*. 2014. vol. 63, no 2, p. 1-13. <https://doi.org/10.15446/acag.v63n2.36956>
44. PÉREZ, Alexander; DE LA OSSA, Jaime y MONTES, Donicer. Hongos solubilizadores de fosfato en fincas ganaderas del departamento de Sucre. *En: Revista Colombiana de Ciencia*. 2012. vol.4, no 1, p.35-45. Disponible en <https://revistas.unisucre.edu.co/index.php/recia/article/view/263/304>
45. PIKOVSKAYA, R.I. Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activity of some microbial species. *In: Microbiology*. 1948. vol. 17, p. 362–370.
46. REDEL, Yonathan D; RUBIO, Rosa; ROUANET, Juan L. and BORIE, Fernando. Phosphorus bioavailability affected by tillage and crop rotation on a Chilean volcanic derived Ultisol. *In: Geoderma*. May, 2007. vol. 139, no 3-4, p.388-396. Doi: 10.1016/j.geoderma.2007.02.018.
47. RENGEL, Zed and MARSCHNER, Petra. Nutrient availability and management in the rhizosphere: exploiting genotypic differences. *In: New Phytologist*. 2005. vol. 168, p. 305-312. Available in <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16219070>
48. RICHARDSON, Alan E. and SIMPSON, Richard J. Soil Microorganisms Mediating Phosphorus Availability. *In: Plant Physiology*. 2011. vol. 156, p. 989–996. Available in <http://www.plantphysiol.org/content/156/3/989>
49. SÁNCHEZ E., Jorge A. y RUBIANO S., Yolanda. Procesos específicos de formación en Andisoles, Alfisoles y Ultisoles en Colombia. *En: Revista EIA*. Junio, 2015. vol. 12, no 2, p. E85-E97. Disponible en http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-12372015000300008
50. SATTI, Patricia; MAZZARINO, María Julia; ROSELLI, Lucía and CREGO, Paula. Factors affecting soil P dynamics in temperate volcanic soils of southern Argentina. *In: Geoderma*. 2007. vol. 139, p. 229–240. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2007.02.005>
51. SCERVINO, Jose Martin; PRIETO MESA, Milton; DELLA MÓNICA, Ivana; RECCHI, Marina; SARMIENTO MORENO, Nubia y GODEAS, Alicia. Soil fungal isolates produce different organic acid patterns involved in phosphate salts solubilization. *In: Biol Fertil Soils*. 2010. vol. 46, p. 755–763. Available in <https://link.springer.com/article/10.1007/s00374-010-0482-8>
52. SHARMA, Kavita. Inorganic Phosphate solubilization by fungi isolated from agricultural soil. *In: Journal of phytology*. April, 2011. vol. 3, no 4, p.11-12. Available in <http://updatepublishing.com/journal/index.php/jp/article/view/2264>
53. SHARMA, Seema. B.; SAYYED, Riyaz Z.; TRIVEDI, Mrugesh H. and GOBI, Thivakaran A. Review. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *In: Springer Plus*. 2013. vol. 2, p. 587. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-587>
54. SINGH KOTHYARI, Hukam; KUMAR YADAV, Lokesh; JAT, Rakesh and CHAND GURJAR, Prakash. Influence of Biofertilizers on Plant Growth and Seed Yield of Pea (*Pisum sativum* L.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 2017. vol.6, no 11, p. 1810-1817. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.611.216>
55. SOSA, Gustavo. Indicadores pH [documento inédito]. Recuperado de: www.depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/12.Indicadores-depH_9152.pdf. 2010.
56. VERA, Diana Fernanda; PÉREZ, Hernando y Valencia, Hernando. Aislamiento de hongos solubilizadores de fosfato de la rizosfera de arazá (*Eugenia stipitata* Myrtaceae). *En: Acta Biológica Colombiana*. Enero, 2002. vol.7, no 1, p. 33-40. Disponible en <https://revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/view/26037>
57. ZAIDI, Almas; KHAN; Mohammad; AHMED; Munees; OVES, Mohd and WANI; P. Recent advances in plant growth promotion by phosphate-solubilizing microbes. *In: Microbial strategies for crop improvement*. Springer-Verlag, Berlin. 2009. p. 23-50. Available in https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-01979-1_2