Solubilización de fósforo inorgánico por hongos aislados de la rizosfera de banano (*Mussa AAA*)

Solubilization of inorganic phosphorus by fungi isolated from the banana rhizosphere

Marisela Toledo-García[1], María de Lourdes Adriano-Anaya[1], Víctor Albores-Flores[1], Sonia Ruíz-González[1] y Miguel Salvador-Figueroa[1]*

[1]Centro de Biociencias. Universidad Autónoma de Chiapas.
Carretera a Puerto Madero Km 2.0. Tapachula, Chiapas. México. Tel y Fax (962) 6427972
*Autor para correspondencia: Correo-e: msalvad@hotmail.com

Recibido el 12 de Marzo de 2013 / aceptado el 7 de Julio de 2013

RESUMEN

En los suelos del trópico humedo, el fósforo es un elemnto limitante del desarrollo de las plantas. A partir de muestras de suelo rizosférico de banano, fueron aisladas cepas de hongos con capacidad para solubilizar fósforo inorgánico (HSP). Cinco cepas, identificadas dentro del género *Penicilium* y codificadas como AE11H16, FH6PH22, AT22H10, CE41C2 y AT21H14, eficientemente solubilizaron el fósforo inorgánico. La actividad de solubilización de fósforo inorgánico se determinó en medio de cultivo líquido. La cantidad de fósforo inorgánico solubilizado por las cepas de hongos fue de 136.21, 158.61, 198.19, 171.38 y 171.98 mg L^{-1}, respectivamente. La cinética de solubilización de fósforo inorgánico fue paralela a la disminución del pH del medio de cultivo. Los resultados hacen a las cepas de HSP seleccionadas, candidatos para utilizarce como biofertilizantes.

Palabras clave: banano, hongos, rizosfera, solubilización de fósforo

ABSTRACT

In the humid tropical soils, phosphorus limits the development of plants. From samples of banana rhizosphere soil, fungal strains capable of solubilizing inorganic phosphorus (SPF) were isolated. Five strains, identified within the genus *Penicillium* and coded as AE11H16, FH6PH22, AT22H10, AT21H14 and CE41C2, efficiently solubilized inorganic phosphorus. The inorganic phosphorus solubilizing activity was determined in liquid culture medium. The amount of inorganic phosphorus solubilized by the fungal strains was 136.21, 158.61, 198.19, 171.38 and 171.98 mg L^{-1}, respectively. Solubilization kinetics of inorganic phosphorus was parallel to the decrease in pH of the culture medium. The results show that the SPF strains selected are candidates to be used as biofertilizers.

Keywords: banana, fungi, phosphorus solubilization, rhizosphere.

INTRODUCCIÓN

Por participar en la estructura del material genético, entre otras biomoléculas, el fósforo (P) es un elemento fundamental para los seres vivos. Las plantas adquieren dicho elemento en forma soluble H_2PO_4- ó HPO_4^{2-}, aunque en el suelo pueden existir las formas H_3PO_4 y PO_4^{3-}, dependiendo del pH (Arai y Sparks, 2007). En promedio, el suelo contiene 600 mg de P• kg_{suelo}^{-1} (rango de 200 a 5,000 mg); sin embargo, menos del 5% está en forma aprovechable para las plantas (P_{sol}), el resto se encuentra como fósforo orgánico (PO) y sustancialmente como fósforo inorgánico insoluble (Pi) asociado a las partículas minerales (Picone y Zamuner, 2002). Los procesos de mineralización e inmovilización y el equilibrio entre la adsorción-desorción y precipitación-disolución, junto con el pH, son los factores que determinan la concentración de P_{sol} en el suelo (Sims y Vadas, 2005). Los fosfatos de calcio predominan en suelos con condiciones neutras o alcalinas y los de hierro y aluminio en suelos ácidos (Arai y Sparks, 2007); esta última condición presente en los suelos del trópico húmedo.

La baja disponibilidad de P_{sol} en los suelos del trópico húmedo es una limitante primaria para la productividad agrícola (Lynch y Brown, 2002). Bajo dicha condición la raíz libera enzimas como fosfatasas (Yun y Kaeppler, 2001), fitasas (Li et al., 1997) y carboxilasas (Veneklaas, Stevens, Cawtrhay, Turner, Grig y Lambers, 2003) con el propósito de solubilizar y movilizar el P. Aunque el empleo de árboles fijadores de nitrógeno y la adición de nitrógeno amoniacal es una alternativa para mejorar la disponibilidad de P_{so} (Ferrari y Wall, 2004), los microorganismos del suelo (MOS) representan la mejor alternativa.

Los MOS constituyen una importante reserva de P y participan en varios procesos clave de su ciclo biogeoquímico. La absorción microbiana del P y su subsecuente liberación y redistribución afectan de manera significativa la disponibilidad del P para las plantas, especialmente cuando los últimos reciben fertilizantes orgánicos (Oberson y Joner, 2005;

Horst, Kamh, Jibrin y Chude, 2001). Muchos MOS pueden solubilizar al P y son especialmente abundantes en las superficies radiculares. Los géneros activos son *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Penicillium*, *Fusarium* y *Aspergillus* (Chen, Rekha, Arun, Shen, Lai y Young, 2006; Rodríguez, Fraga, González y Bashan, 2006. Crecen en medios con $Ca_3(PO_4)_2$, o apatita como única fuente de fosfatos (Nautiyal, 1999). Estos microorganismos, además de asimilar el elemento, lo hacen soluble en grandes proporciones liberándolo en cantidades superiores a sus propias demandas nutricionales (Meenu, Kumar, Singh y Vipin, 2010). Varios autores atribuyen la solubilización del Pi a la producción y liberación de ácidos orgánicos (principalmente citrato, oxalato y succinato), pero puede no ser la única vía. Otra posibilidad sería la liberación de H^+ del citoplasma al exterior de la célula, mediante el intercambio de cationes (especialmente NH_4^+) o por translocación de H^+ por una ATPasa localizada en la envoltura celular, haciendo uso de la energía de hidrólisis del ATP. Así, los fosfatos serían solubilizados directamente en la superficie celular, el $H_2PO_4^-$ ó $HPO_4^=$ (dependiendo del pH) podrían ser rápidamente absorbidos o la alteración de los productos de solubilidad mediante la producción de quelatos con el Ca^{2+} (Chen et al., 2006; Rodríguez et al., 2006). Independientemente del tipo y especie de MOS y del mecanismo de solubilización del P, el potencial empleo de dichos MOS en la agricultura depende de la facilidad que éstos tengan para crecer en medios de cultivo de laboratorio, de la capacidad de solubilizar P y de su estabilidad. En este último sentido Gyaneshwar, Kumar, Parekh y Poole (2002) reconocieron que aunque la solubilización de compuestos de P por MOS es común en condiciones de laboratorio, los resultados en campo han sido variables. Lo anterior depende de las condiciones del suelo (pH, salinidad, temperatura, entre otros) y la capacidad del MOS para colonizar la raíz (Sharan, Shikha, Darwal y Gaur, 2008; Trivedi y Sa, 2008). Se han reportado bacterias con capacidad de solubilizar Pi en el rango de 11 a 395 mg L^{-1} en medios de cultivo que contienen $Ca_3(PO_4)_2$; mientras que con apatita o roca fosfórica los rangos reportados son de 7 a 350 mg L^{-1} y de 5 a 22 mg L^{-1}, respectivamente (Turan, Ataoglu y Sahun, 2006). Para hongos se ha reportado el rango de 112 a 433 mg L^{-1} (Pradhand y Sukla, 2010).

Dada la diversidad de microorganismos solubilizadores de P, el rango de solubilización y la baja disponibilidad de este elemento en los suelos del trópico húmedo, el objetivo de este trabajo fue estudiar en condiciones de laboratorio la capacidad de solubilizar fósforo inorgánico de hongos aislados de la rizosfera de banano clon "Gran Enano" (*Mussa AAA*).

MATERIALES Y MÉTODOS

Capacidad de los HSP para solubilizar Pi

La capacidad para solubilizar Pi de las diferentes cepas de HSP se realizó mediante la determinación del tamaño del halo de hidrólisis producido. Para esto se prepararon cajas de Petri con medio MSP y se incubaron a 28 °C por 48 h. Al término del tiempo de incubación se determinó el diámetro del halo de hidrólisis. Las cepas que presentaron el mayor tamaño de halo de hidrólisis fueron seleccionadas y con ellas se prosiguió el trabajo.

Identificación de los HSP

Las cepas con mayor capacidad para solubilizar Pi se identificaron empleando las claves reportadas por Barnett y Hunter (1998).

Crecimiento en cultivo sumergido de los HSP

El crecimiento de las cepas de HSP seleccionadas se realizó en 25 mL de medio MSP, sin agar, pH 7.0 y previamente esterilizados en autoclave a 1 kg/cm^{-2} durante 15 min, contenido en matraces de 125 mL, con agitación rotatoria de 150 rpm a temperaturra de 28 °C. El crecimiento, la solubilización de Pi, la glucosa residual y el pH en el medio de cultivo, para cada una de las cepas, se determinó mediante la preparación de 24 matraces inoculados con 103-104 esporas mL^{-1}. La cuantificación de las variables mencionadas se realizó cada 12 h por espacio de 6 d.

Determinación de biomasa producida
La biomasa producida durante el proceso de crecimiento en cultivo sumergido fue cuantificada mediante peso seco; para ello, el contenido de cada matraz fue centrifugado a 10,000 rpm durante 5 min. El sobrenadante (S1) fue cuidadosamente retirado y almacenado en refrigeración para posteriormente determinar el pH, la concentración de glucosa residual y el fósforo soluble. El precipitado fue resuspendido en 5 mL de agua estéril, se ajustó el pH a 1.0, con HCl concentrado, con el fin de solubilizar el fosfato insoluble y se re-centrifugó a 10,000 rpm. El sobrenadante se retiró cuidadosamente y la biomasa se secó a 40 °C por 48 h.

Determinación del P_{sol}
La cantidad de fósforo solubilizado por cada una de las cepas fue cuantificada del S1 empleando el método de azul de molibdeno de Dickman (Chapman y Pratt, 1973).

Determinación de glucosa residual
La glucosa residual fue determinada mediante el procedimiento de glucosa oxidasa empleando el protocolo de SigmaR (Sigma-Aldrich, método G2133).

Determinación del pH
El pH del medio de cultivo se determinó potenciométricamente.

Análisis estadístico
Las constantes cinéticas fueron analizadas por comparación de medias (Tukey $\alpha = 0.05$) empleando el programa InfoStat Profesional versión 2011.

RESULTADOS

Cepas de HSP y capacidad de solubilización de P_i
Se aislaron 20 cepas morfológicamente diferentes de HSP. En la Figura 1 se muestra el típico halo de solubilización de Pi producido por los HSP. La codificación inicial y el tamaño de halo de solubilización de Pi, de cada una de las cepas, se muestran en el Cuadro 1. El diámetro del halo de solubilización fue de 2.4 a 63.0 mm.

Figura 1. Halo de solubilización de Pi por una cepa de HSP aislada de la rizosfera de banano clon "Gran Enano".

Descripción morfológica, macroscópica y microscópica de los HSP y el género al que pertenecen de las cepas con mayor capacidad para solubilizar P_i
La cepa AE11H16 formó colonias color verde-amarillento con halo intermedio cremoso y halo terminal blanco, secas y con micelio aéreo (Figura 2a); con conidióforos terminales cuadriverticilados y no cuadriverticilados. Los primeros con 2-3 fiálides por célula intermedia, los segundos tienen fiálides directas al talo y transversales. Produce conidias ovoides, hialinos y micelio septado (Figura 2b). Pertenece al género *Penicillium*.

La cepa FH6PH22 formó colonias con centro verdoso, halo intermedio amarillo y final blanco, secas y pulvurulentas, con micelio aé-

Cuadro 1. Cepas de HSP y diámetro del halo de solubilización de Pi aisladas de la rizosfera de banano clon "Gran Enano" (*Mussa AAA*)

Cepa de HSP	Halo de hidrólisis (mm)	Cepa de HSP	Halo de hidrólisis (mm)
CT22H1	6.5 ±0.10	AE123H3	4.3 ±0.25
AT21H18	5.8 ±0.11	CT31H5	5.4 ±0.30
AE111H16	63.0 ±0.20	AE12H5	3.9 ±0.23
AE102H7	6.8 ±0.15	PH20	7.0 ±0.21
PH16	5.4 ±0.25	AT21H10	6.8 ±0.36
CT42H1	6.7 ±0.13	DH7	5.8 ±0.23
CE22H3	5.2 ±0.11	DH6	4.9 ±0.40
AT22H10	15.0 ±0.24	FH4PH21	2.4 ±0.12
AT21H14	8.0 ±0.30	FH6PH22	45.0 ±0.32
AE41H3	3.2 ±0.30	CE41C2	32.0 ±0.40

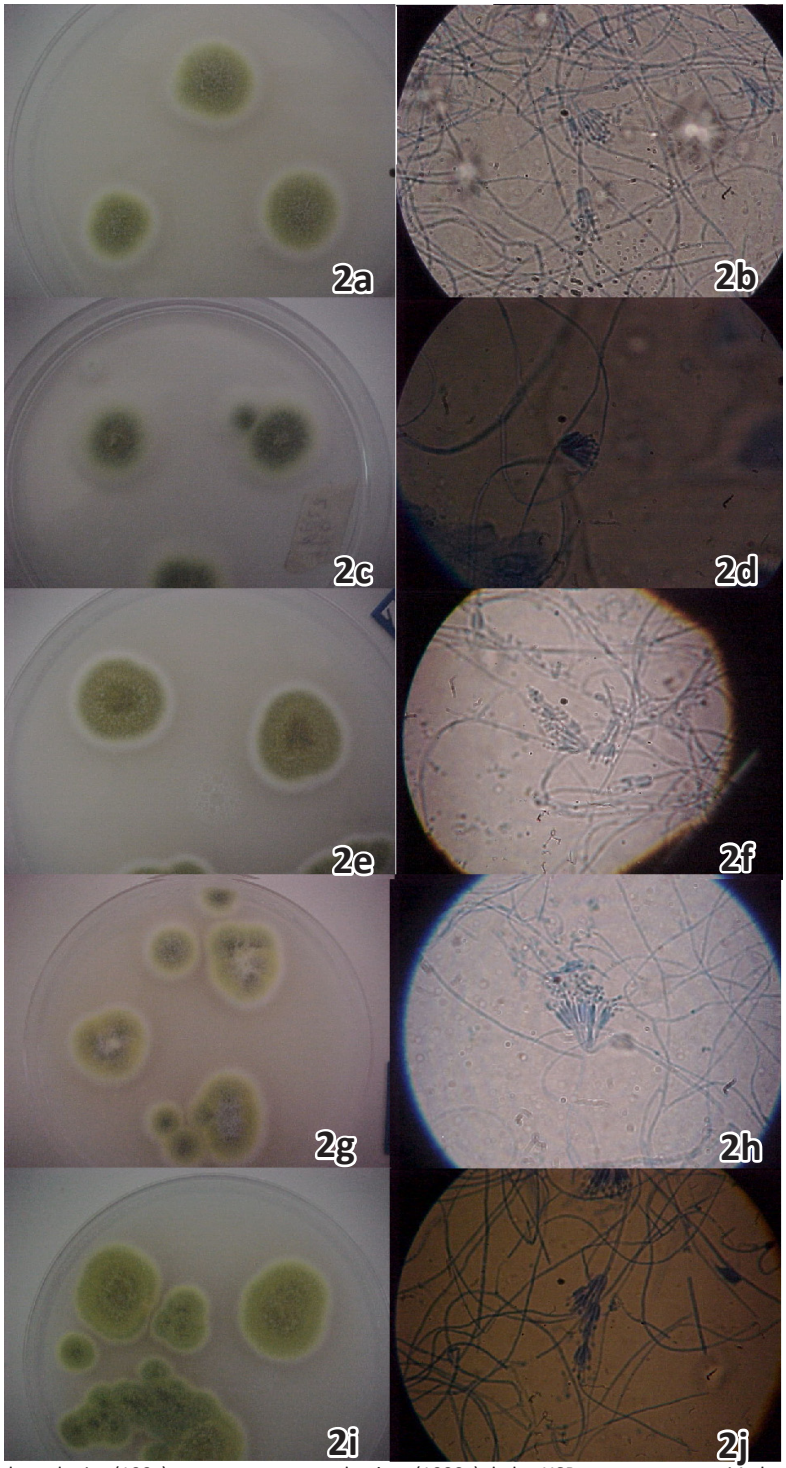

Figura 2. Microfotografías de las colonias (100x) y estructuras reproductivas (1000x) de los HSP con mayor capacidad para solubilizar P_i. 2a y 2b Cepa AE11H16; 2c y 2d Cepa FH6PH22; 2e y 2f Cepa AT22H10; 2g y 2h Cepa CE41C2; 2i y 2j Cepa AT21H14.

reo (Figura 2c). Tiene conidióforos terminales ramificados, cuadriverticilados, con dos fiálides que soportan las células intermedias. Produce conidias catenuladas, ovoides y espinuladas, hialinos. Micelio septado. Conidióforo intermedio con células, pie basal con cinco fiálides (Figura 2d). Pertenece al género *Eupenicillium*.

La cepa AT22H10 desarrolla colonias verde-amarillentas, secas, con micelio aéreo, pulvurulento y con halo blanco (Figura 2e); co-

nidióforos terminales, ramificados e intermedios. Conidias catenuladas en pares, ovoides y de color ámbar. Los conidióforos terminales tienen células intermedias que sostienen de 2 a 4 fiálides, cuadriverticilados los terminales y ramificados (Figura 2f). Micelio septado. Pertenece al género *Penicillium*.

La cepa CE41C2 produjo colonias de color verde-amarillento, con halo cremoso, seco y con micelio aéreo (Figura 2g). Tiene conidióforos terminales, ramificados e intermedios. Conidios catenulados en pares, ovoides y de color ámbar. Los conidióforos terminales tienen células intermedias que sostienen de 2 a 4 fiálides, cuadriverticilados los terminales y ramificados. Micelio septado (Figura 2h). Se clasificó dentro del género *Penicillium*.

Finalmente, la cepa AT21H14 produjo colonias zonadas con colores amarillo y verde intercalados; seca, con micelio aéreo y pulvurulenta (Figura 2i). Presentó conidióforos intermedios y terminales, triverticilados, con dos fiálides por célula intermedia. De uno a dos conidios por fiálide. Los conidióforos terminales tienen fiálides largas, y los intermedios achatadas y carecen de células intermedias que soporten a las fiálides. Conidios ovoides, hialino. Micelio septado (Figura 2j). Se clasificó dentro del género: *Penicillium*.

Cinéticas de crecimiento de los HSP

En la Figura 3 se muestra la cinética de crecimiento de cada una de las cepas de hongos que tuvieron la mayor capacidad de solubilizar Pi en medio gelificado. De acuerdo con las fases de desarrollo de la población de una curva típica, se observó que la mayor variación se tiene durante la fase de adaptación, ya que las cepas se pueden agrupar en adaptación rápida, cepas AT22H10 y AT21H14, de adaptación intermedia, cepas AE11H16 y CE 41C2, y de adaptación lenta la cepa AT21H14. Las primeras tienen una fase de adaptación de duración aproximada de 48 h, las intermedias de 60 h y la más lenta de 84 h. Con excepción de la cepa AE11H16, todas las cepas alcanzaron su máximo crecimiento (como peso seco) después de 130 h de crecimiento y su concentración se encontró en el rango de 3.72 a 4.80 $g \cdot L^{-1}$.

Cinética de pH

En la Figura 4 se muestra el comportamiento del pH del medio de cultivo durante el proceso de crecimiento de las cepas de HSP. Se observa que todas ellas disminuyeron el pH y que el valor final de este parámetro fue similar (rango de 2.87 para la cepa AT22H10 y 3.13 para la cepa AT21H14). La cinética de pH mostró una disminución inicial a un valor cercano a 6.0, con excepción de la cepa

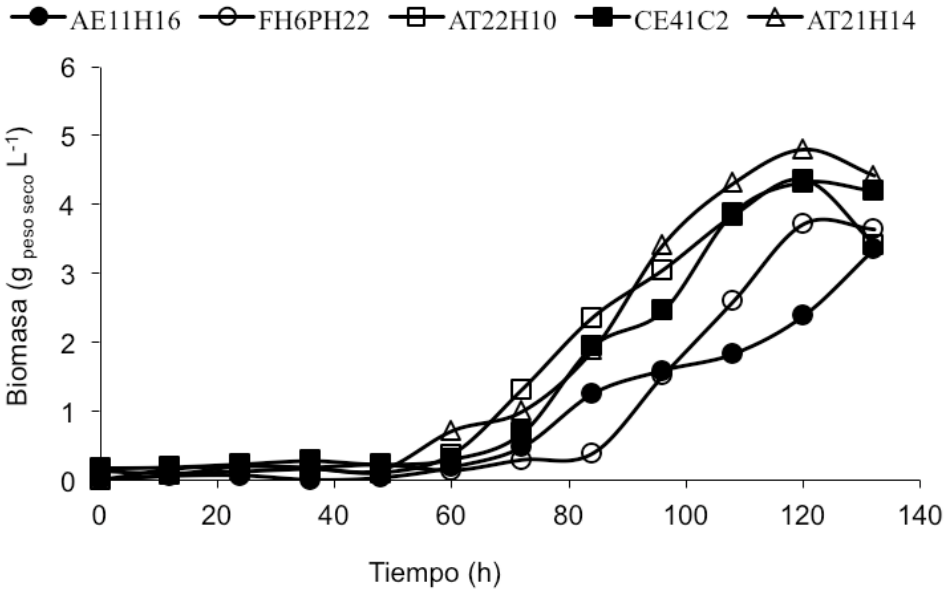

Figura 3. Cinética de crecimiento de los HSP aislados de la rizosfera de banano clon "Gran Enano" con mayor capacidad para solubilizar P_i.

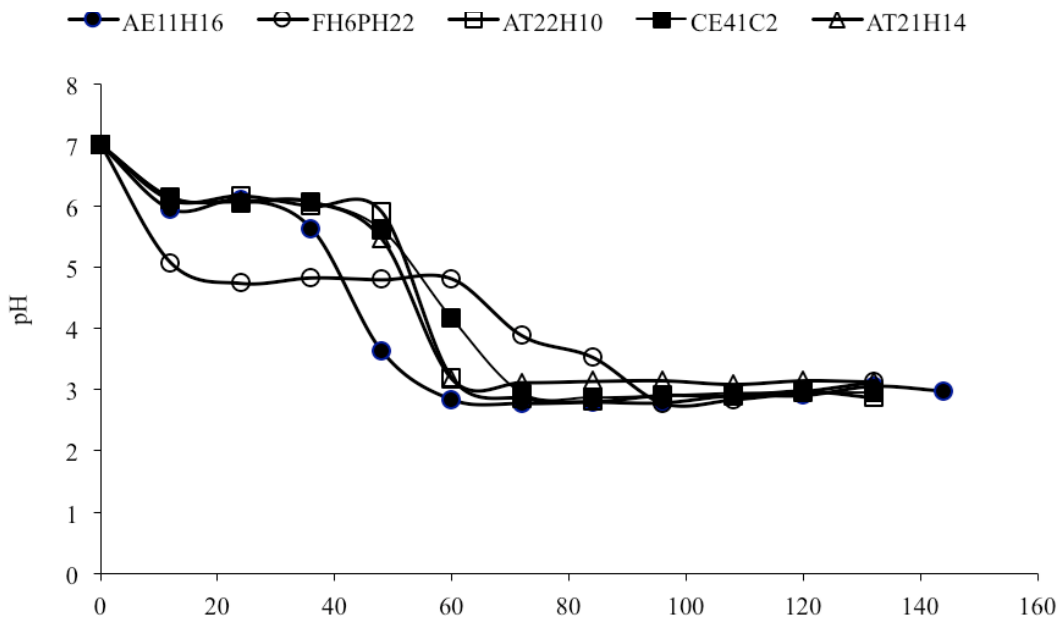

Figura 4. Comportamiento del pH del medio de cultivo durante el proceso de crecimiento de las distintas cepas de HSP.

FH6PH22 que lo disminuyó a un valor inferior a 5.0, en las primeras 12 h del proceso seguido de una etapa sin variación, cuya duración fue de aproximadamente 36 h. Posteriormente se observó una segunda fase de disminución del pH cuyo término, además de depender de la cepa, coincidió con el inicio de la etapa de crecimiento activo de los microorganismos. Finalmente, el pH del medio de cultivo se mantuvo constante.

Cinética del consumo de glucosa

El consumo de glucosa de los HSP mostró una cinética clásica (Figura 5). Durante las primeras 48 h de crecimiento de las cepas AE11H16, AT22H10, AT21H14 y CE41C2 y, en las primeras 60 h de la cepa FH6PH22, no se detectaron cambios significativos respecto a la concentración inicial de glucosa (22.28 ±1.02 mg mL^{-1}). Con excepción de la cepa CE41C2, cuyo período de consumo máximo duró 24 h, el mayor consumo de glucosa se realizó en un tiempo de 12 h. Estos tiempos coincidieron plenamente con el período de crecimiento máximo. En la última fase de los procesos de crecimiento la glucosa fue agotada.

Cinética de solubilización del fósforo (P_{sol})

En la Figura 6 se muestra la cinética de la concentración de P_{sol} del proceso de crecimiento de los HSP seleccionados. Se puede observar que al inicio de los procesos de crecimiento aproximadamente 15% del fósforo inicial se encontró en forma soluble, esto a pesar de que el compuesto empleado, $Ca_3(PO_4)_2$, tiene una escasa solubilidad (Kps = 2.0 x 10^{-29}). El tiempo para alcanzar el valor máximo de P_{sol}, así como la concentración máxima, dependió del microorganismo. De esta manera, a las 72 h del crecimiento las cepas AE11H16, AT22H10, AT21H14 y CE41C2 solubilizaron 136.21, 198.19, 171.98 y 171.38 mg L^{-1}, respectivamente; mientras que la cepa FH6PH22 solubilizó 158.61 mg L^{-1} a las 84 h. La cepa AT22H10 solubilizó el 100% del Pi mientras que la cepa AE11H16 únicamente logró solubilizar 60% del P_i inicial.

Constantes cinéticas de las diferentes cepas de HSP

En el Cuadro 2 se muestran los valores de las distintas constantes cinéticas de los hongos solubilizadores de fosfato, calculadas empleando los valores de las distintas variables analizadas. Se puede observar que el rendimiento de biomasa con base en la glucosa consumida (YX/S) fue mayor en la cepa AT21H14.

Desde el punto de vista de la capacidad de solubilizar fosfato la cepa AT22H10 tuvo las mejores características, ya que fue capaz de tener un

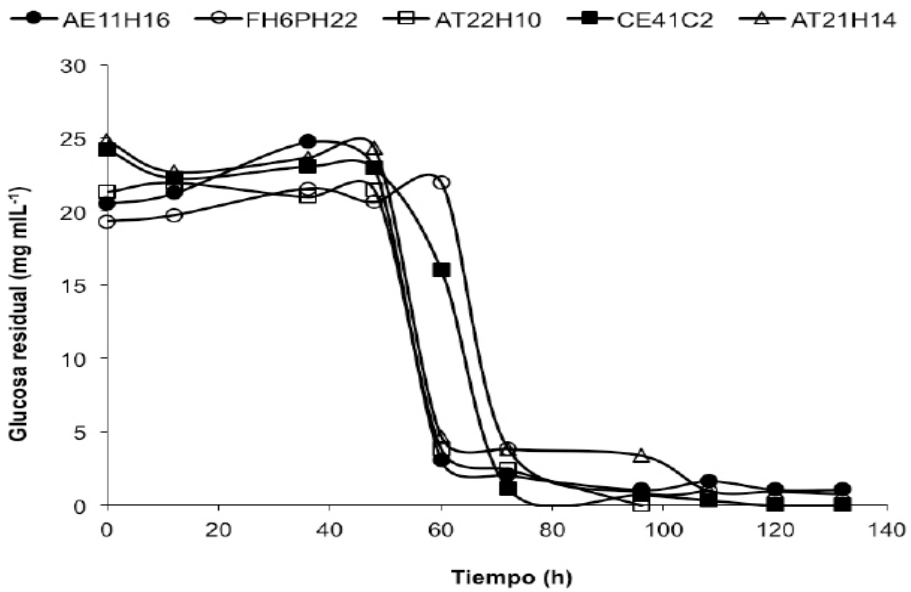

Figura 5. Glucosa residual en el medio de cultivo durante el crecimiento de los HSP seleccionados.

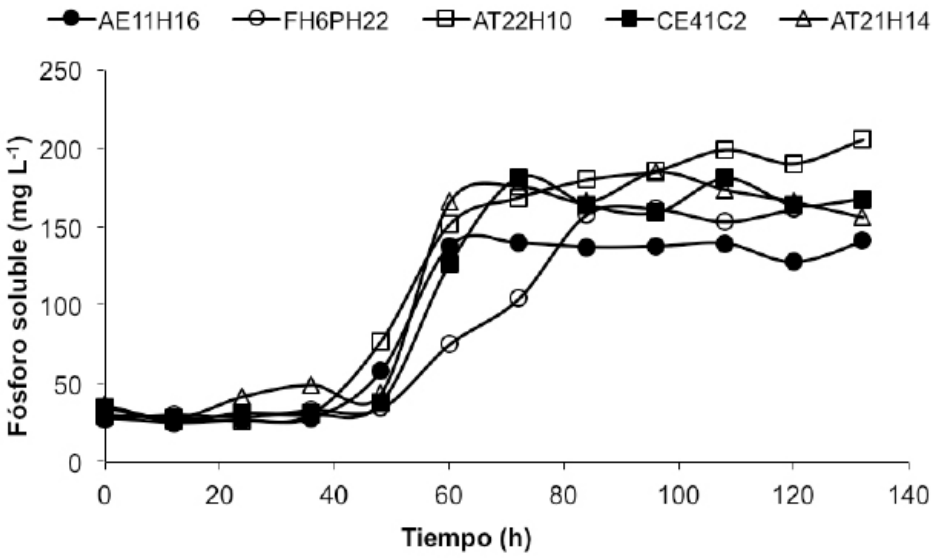

Figura 6. Cinética de solubilización de fósforo en medio de cultivo líquido, por cada una de las cepas seleccionadas.

rendimiento con base en la biomasa ($Y_{P/X}$) y en la glucosa ($Y_{P/S}$) consumida, casi dos veces mayor que la cepa con menor rendimiento basada en biomasa (AE11H16) y en glucosa (AT21H14). Respecto a la velocidad de crecimiento (μ_X) se encontró que la cepa FH6PH22 fue mayor en más de dos veces a la cepa AE11H16, y aproximadamente 1.5 veces mayor que la cepa que presentó las mejores características cinéticas de solubilización (AT22H10). Por otra parte, la velocidad de producción de fósforo soluble (μ_P) fue casi tres veces mayor en la cepa CE41C2 respecto a la cepa AT21H14 y 16% mayor respecto a la cepa AT22H10. Así mismo, parece haber una relación entre la velocidad de cambio de pH (μ_{pH}) con la μ_P, ya que aquella cepa que tuvo un mayor valor de μ_{pH} mostró una mayor velocidad para solubilizar fosfato.

DISCUSIÓN

A pesar de que en muchos trabajos se ha reportado el aislamiento de bacterias y actinomicetos

Cuadro 2. Valores promedio de la constantes cinéticas de cada una de las cepas de HSP empleados en este trabajo

Constante cinética	Cepa				
	AE11H16	FH6PH22	AT22H10	CE41C2	AT21H14
$Y_{X/S}$	0.1657 B	0.1721 B	0.1673 B	0.2071 B	0.2657 A
$Y_{P/X}$	5.3066 C	6.2692 C	10.2838 A	6.9934 B	7.1647 B
$Y_{P/S}$	33.78 BC	38.21 B	54.47 A	37.34 B	29.87 C
μ_X	0.0395 E	0.0896 A	0.0588 D	0.0675 C	0.0730 B
μ_P	4.9294 B	3.3894 C	5.0953 B	6.0735 A	2.3022 D
μ_S	0.9030 B	0.5828 D	0.7200 C	0.4645 D	1.8300 A
μ_{pH}	-0.0906 B	-0.0422 C	-0.2262 A	-0.0865 B	-0.1054 B

$Y_{X/S}$ = mg de biomasa producida mg de glucosa consumida^{-1}
$Y_{P/X}$ = mg de fósforo solubilizado g de biomasa^{-1}
$Y_{P/S}$ = mg de fósforo solubilizado g de glucosa consumida^{-1}
μ_X = velocidad de crecimiento (h^{-1})
μ_P = velocidad de producción de fósforo soluble (mg L^{-1} h^{-1})
μ_S = velocidad de consumo de glucosa (mg L^{-1} h^{-1})
μ_{pH} = velocidad de cambio de pH (U h^{-1})
Letras distintas presentan diferencia estadística significativa (α = 0.05)

(Gaind y Gaur, 1991; Mba, 1994; Pal, 1998; Vázquez, Holguín, Puente, López y Bashan, 2000) capaces de solubilizar Pi y de mantener establemente esta propiedad, los hongos empleados en este trabajo mostraron capacidad y estabilidad para realizar dicha función. Todos los hongos que resultaron ser estables como solubilizadores de Pi pertenecen al género *Penicillum*, lo que concuerda con lo reportado por diferentes autores (Illemr y Schinner, 1992; Illmer, Barbato y Schinner, 1995), por lo que parece que es una propiedad intrínseca de este género.

Independientemente de que no se trabajó en la línea de buscar las mejores condiciones para solubilizar fosfato, y de que en el medio de cultivo empleado se decidió utilizar 1 g L^{-1} de $Ca_3(PO_4)_2$, los hongos empleados en este trabajo mostraron alta capacidad para solubilizarlo. Dicha solubilización parece estar fuertemente asociada a la disminución del pH en el medio de cultivo, fenómeno que se ha observado en los trabajos de Illmer y Schinner (1995) y Vázquez et al. (2000), por lo que se ha establecido que la solubilización se debe a la excreción de ácidos orgánicos por el microorganismo solubilizador, aunque Illmer y Schinner (1992) y Malboobi, Owilia, Behbaihami, Sarokhani, Moradi, Yakhchail, Deljou y Heravi (2009) proponen que puede haber otro mecanismo, probablemente enzimático, ya que observaron un comportamiento mixto de esta variable en la primera fase de crecimiento en medio líquido, un descenso en esta variable y posteriormente un incremento hasta llegar a valores cercanos a 7.0, sin disminuir la cantidad de fósforo soluble. Por otro lado, Mba (1994) consideró que el pH no es una variable de importancia ya que, según el autor, "La acidificación del medio de cultivo no tuvo un papel importante en la solubilización de la roca fosfórica, debido a que la acidificación del medio fue uniforme entre los distintos aislados", a pesar de que éste disminuyó del valor inicial, 7.0, a valores en el rango de 3.7 a 4.7.

Aunque diversos materiales se han empleado como fosfato inorgánico insoluble, por ejemplo Hidroxiapatita ($Ca_5OH(PO_4)_3$), $AlPO_4$, roca fosfórica y $Ca_3(PO_4)_2$, el potencial solubilizador de una cepa microbiana siempre se ha referido como la concentración de fósforo soluble, o su equivalente P_2O_5, o el rendimiento con base en la fuente de carbono (generalmente glucosa), e independiente del tiempo en el cual se realiza el proceso.

Con el fin de comparar los resultados de las cepas empleadas en este estudio, se construyó el Cuadro 3 donde se puede ver claramente que la capacidad de solubilizar fosfato inorgánico de las cepas empleadas en este trabajo fue entre una y cinco veces superior a lo mayoría de lo reportado.

Ningún investigador que ha trabajado con microorganismos solubilizadores de fosfatos menciona el hecho de encontrar fósforo soluble al inicio del crecimiento microbiano, y que nosotros observamos y atribuimos al proceso de calentamiento durante la esterilización del medio de cultivo. A pesar de la observación anterior, no entendemos el porqué de la larga

Cuadro 3. Concentración de fósforo soluble reportado en distintos trabajos. P.

Concentración final de P_{sol} ($\mu g\ mL^{-1}$)	Tiempo del proceso (Días)	Autor
25-100	7	Pal (1998)
40-50	4	Illmer y Schinner (1992)
10-9-17.0	7	Gaind y Gaur (1991)
25	10	Illmer y Schinner (1995)
100-140 (bacterias)	1	Vázquez et al. (2000)
425 (hongo)	3	Vázquez et al. (2000)
100-150 (bacterias)	1	Malboobi et al. (2009)
136.21-198.19	3	Este trabajo

Fuente: Elaboración propia.

fase de adaptación del microorganismo, de 60 a 84 horas, ya que se pensaría que en un medio de cultivo con todos los nutrimentos solubles el organismo rápidamente crecería.

Además de lo anterior se observó, para todos los microorganismos, un primer descenso en el pH del medio de cultivo, por lo que surge un cuestionamiento respecto a ¿qué o por qué de dicho descenso? ¿Será acaso también un efecto del metabolismo de germinación de las esporas? Este fenómeno también se muestra en las cinéticas reportadas por Illmer y Schinner (1995), aunque no expresaron ningún comentario.

Contrario a lo que se pudiera pensar, y después del largo período de adaptación donde no se observan cambios sensibles en las variables determinadas, dio inicio la solubilización del fosfato, el consumo de glucosa y un nuevo descenso en el pH; en ninguno de los microorganismos ensayados se detectó el inicio de la fase de crecimiento dinámico (fase log), es decir el arranque de dicha fase fue posterior, lo que implica la necesidad, de parte de los microorganismos, de activarse metabólicamente previo a la formación de biomasa.

El crecimiento de los microorganismos prosigue aún después de que se ha detenido la solubilización del fosfato, el cambio de pH y la fuente de carbono prácticamente se ha agotado. Este comportamiento indica que los microorganismos son capaces de almacenar una gran cantidad de materia de reserva, lo cual les permitirá sobrevivir ante una condición estresante de nutrimentos en el medio natural.

CONCLUSIÓN

Todas las cepas de hongos estudiadas, aisladas de la rizosfera de banano clon "Gran Enano", tienen la capacidad de solubilizar fósforo inorgánico. De ellas la cepa AT22H10 tiene alto potencial para emplearse en la agricultura como solubilizadora de fósforo.

REFERENCIAS

Arai, Y. and Sparks, D.L. (2007). Phosphate reaction dynamics in soils and soil components: a multiscale approach. Advances in Agronomy. 94: 135-179.

Barnett, H.L. and Hunter, B.B. (1998). Illustrated genera of imperfect fungi (4th ed.). APS Press, St. Paul, Minn. 218 p.

Chapman, H.D. y Pratt, F.P. (1973). Métodos de análisis para suelos, plantas y aguas. Ed. Trillos. México. 195 p.

Chen, Y.P.; Rekha, P.D.; Arun, A.B.; Shen, F.T.; Lai, W.A. and Young, C.C. (2006). Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. Applied Soil Biology. 34: 33-40.

Ferrari, A.E. y Wall, L.G. (2004). Utilización de árboles fijadores de nitrógeno para la revegetación de suelos degradados. Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata. 105(2): 63-87.

Gaind, S. and Gaur, G.C. (1991). Thermotolerant phosphate solubilizing microorganisms and their interaction with mung vean. Plant and Soil 133(1): 141-149.

Gyaneshwar, P.; Kumar, G.N.; Parekh, L.J. and Poole, P.S. (2002). Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. Plant and Soil Sciences 95:133-143.

Horst, W.J.; Kamh, M.; Jibrin, J.M. and Chude, V.O. (2001). Agronomic measures for increasing P availability to crops. Plant and Soils. 237: 211-223.

Illemer, P. and Schinner, F. (1992). Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soils. Soil Biology and Biochemistry, 24: 389-395.

Illmer, P.; Barbato, A. and Schinner, F. (1995). Solubilization of hardly soluble AlPO4 with P-solubilizing microorganisms. Soil Biology and Biochemistry. 27: 265–270.

Li, M.; Osaki, M.; Rao, I.M. and Tadano, T. (1997). Secretion of phytase from the root of several species under phosphorous deficient conditions. Plant and Soil. 196: 161-169.

Lynch, J. and Brown, K. (2008). Root strategies for phosphorus acquisition. Plant Ecophysiology. 7: 83-116.

Malboobi, M.; Owilia, P.; Behbaihami, M.; Sarokhani, E.; Moradi, S.; Yakhchail, B.; Deljou, A. and Heravi, K.M. (2009). Solubilization of organic and inorganic phosphates by three highly efficient soil bacterial isolates. World Journal Microbiology Biotechnology. 25:1471-1477.

Mba, C. (1994). Field studies on two rock phosphate solubilizing actinomycetes isolated as biofertilizer source. Environmental Management. 18(2): 263-269.

Meenu, R.; Kumar, M.D.; Singh, D.B. and Vipin, K. (2010). Assessment of phosphate solubilizing bacterial strains and their mutants with enhanced phosphate solubilization in relation to green gram (*Vigna radiata*). Progressive Agriculture. 10 (2): 285-296.

Nautiyal, C.S. (1999). An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. FEMS Microbiology Letters 170: 265-270.

Oberson, A. and Joner, E. (2005). Microbial turnover of phosphorus in soil. In: B.L. Turner, E. Frossard and D. S. Baldwin (Eds). Organic phosphorus in the environment. CAB International. 133-160 pp.

Pal, S. (1998). Interaction of an acid tolerant strain of phosphate solubilizing bacteria qith a few acid tolerant crop. Plant and Soil. 198(2): 169-177.

Picone, L. y Zamuner, E. (2002). Fósforo orgánico y fertilidad fosfórica. Informaciones Agronómicas del Cono Sur. 16: 11-15.

Pradhan, N. and Sukla, L.B. (2010). Solubilization of inorganic phosphates by fungi isolated from agriculture soil. African Journal of Biotechnology. 5 (10): 850-854.

Rodríguez, H.; Fraga, R.; Gonzalez, T. and Bashan, Y. (2006). Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. Plant and Soill. 287:15-21.

Sharan, A.; Shikha, S.; Darmwal, N. and Gaur, R. (2008). Xanthomonas campestris, a novel stress tolerant, phosphate-solubilizing bacterial strain from saline-alkali soils. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 24(6): 753-759.

Sims, J.T. and Vadas, P.A. (2005). Phosphorus in soils. Overview. In: Hatfield, J.L.; Scow, K.M.; Powlson, D.S.; Singer, M.J.; Rosenzweig, C. and Sparks, D.L. (Editors). Encyclopedia of Soils in the Environment. 3, Academic Press, pp. 202-210.

Trivedi, P. and Sa, T. (2008). *Pseudomonas corrugata* (NRRL B-30409) mutants increased phosphate solubilization, organic acid production, and plant growth at lower temperatures. Current Opinion in Microbiology. 56:140-144.

Turan, M.; Ataoglu, N. and Sahun, F. (2006). Evaluation of the Capacity of Phosphate Solubilizing Bacteria and Fungi on Different Forms of Phosphorus in Liquid Culture. Journal of Sustainable Agriculture. 28(3): 99-108.

Vázquez, P.; Holguín, G.; Puente, M.E.; López, A. and Bashan, Y. (2000). Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of semiarid mangroves in a semiarid coastal lagoon. Biology and Fertility of Soils, 30(5-6): 460-468.

Veneklaas, E.J.; Stevens, J.; Cawtrhay, S.R.; Turner, S.; Grig, A.M. and Lambers, H. (2003). Chikpea and white lupin rhizosphere carboxilates vary with soil properties and enhance phosphorous uptake. Plant and Soil. 248: 187-197.

Yun, S.J. and Kaeppler, S.M. (2001). Induction of maize acid phosphatase activities under phosphorous starvation. Plant and Soil. 237: 109-115.