



A1-285 Evaluación del potencial de bio-acidulación de fósforo in vitro y biofertilizante de una cepa nativa de *Penicillium sp.*

Julián Esteban López Correa¹, Amny Liceth Peña Mosquera², Liliana Rocio Botero Botero³

1 Universidad de Medellín, jelopez@udem.edu.co; 2 Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia, amnypm@hotmail.com; 3 Universidad de Medellín, lbotero@udem.edu.co.

Resumen

Los suelos tropicales tienen una baja concentración de fósforo en forma disponible para ser usado por las plantas. Una de las alternativas promisorias para suplir las necesidades de fósforo en los suelos es el uso de microorganismos con la capacidad de solubilizar fuentes insolubles de fosfato, utilizando la bio-acidulación. Este trabajo evaluó el potencial biofertilizante de una cepa nativa de *Penicillium sp* en el cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris*) como modelo vegetal. Los resultados evidenciaron la capacidad de bio-acidulación de fósforo por parte del hongo, así como el efecto promotor del crecimiento vegetal. Este estudio se convierte en un aporte valioso para el desarrollo de biofertilizantes en los sistemas agrícolas colombianos.

Palabras claves: suelo; *Phaseolus vulgaris*; biofertilización; microorganismos solubilizadores de fosforo; acondicionadores de suelo.

Abstract

Tropical soils have a low concentration of phosphorus in the form available for use by plants. One of the promising alternatives to meet the needs of phosphorus in soils is the use of microorganisms with the capacity to solubilize insoluble phosphate sources, using bio-acidification. This study evaluated a native strain of *Penicillium sp* as biofertilizers in the model plant *Phaseolus vulgaris*. The results showed the ability to bio-acidification of phosphorus by the fungus, and the plant growth promoting effect in the bioassay conducted. This study becomes a valuable tool for the development of bio-fertilizers in colombian agricultural systems.

Keywords: soil, *Phaseolus vulgaris*; biofertilization; phosphate solubilizing microorganism; soil conditioners.

Introducción

El fósforo (Pi) es un macronutriente esencial para el desarrollo y crecimiento de las plantas que se encuentra en una baja disponibilidad en la mayoría de los suelos colombianos (Jaramillo, 2011). Tradicionalmente, en los sistemas agrícolas convencionales, para aumentar la disponibilidad de este nutriente se hace necesario la aplicación de altas dosis de fertilizantes fosfóricos solubles (Reddy et al., 2002), de los cuales solo una pequeña fracción del fósforo es utilizada por las plantas (5-10%) y el resto se fija en el suelo en formas insolubles (Osorio y Habte, 2009). Este proceso se considera costoso, ineficiente y generalmente de alto riesgo ambiental, ya que se incrementa el riesgo de contaminar aguas corrientes.

Entre las alternativas ambientalmente promisorias, está la bio-acidulación de fuentes insolubles de fósforo, por parte de microorganismos solubilizadores de fosfatos capaces de producir ácidos orgánicos (Singh y Readdy, 2011), entre los cuales se reporta ampliamente las bacterias de los géneros *Pseudomonas*, *Enterobacter* y *Bacillus* y los hongos *Penicillium*, *Aspergillus* y *Mortierella*, sin embargo, los hongos han demostrado tener mayor capacidad



de solubilización de Pi (Arora y Gaur, 1979).

El objetivo de este trabajo es evaluar la capacidad de bio-acidulación de fósforo una cepa nativa del género *Penicillium*, aislada de un suelo Andisol del departamento de Antioquia – Colombia, generando un aporte en el campo del uso de microorganismos con capacidad de solubilizar fuentes de fósforo, el cual se enfoca en el desarrollo de una agricultura sostenible, que sea más amigable con el ambiente y que permita mantener un balance ecológico en el suelo.

Metodología

Penicillium sp: el hongo fue aislado en el corregimiento de Santa Elena – Antioquia de un suelo Andisol colectado por el grupo de investigación en biodiversidad, biotecnología y bioingeniería GRINBIO, adscrito a la Universidad de Medellín. Para su mantenimiento y cultivo se usó el medio PDA. El potencial Para su evaluación preliminar como microorganismo solubilizador, se cultivó en medio NBRIP que contenía como fuente insoluble de fósforo 5 g L⁻¹ de Ca₃(PO₄)₂ (fosfato tricálcico) para una concentración final de 1 g L⁻¹ de fósforo.

Evaluación de la estabilidad fenotípica de la capacidad solubilizadora de *Penicillium sp* y estimación de su eficiencia *in vitro*: fueron sembradas 3 réplicas del aislado, depositando con un asa de siembra el inóculo en centro de cajas de Petri que contenían medio NBRIP. Para evaluar la eficiencia de solubilización por parte de la cepa, se evaluó la relación de eficiencia solubilizadora de fosfatos (ESF= área del halo de solubilización/ área de crecimiento de la colonia) 7 días posteriores a la siembra, la lectura de las áreas se realizó mediante medición de fotografías en el software AutoCad ®. El carácter heredable de la capacidad de solubilización, se evaluó resembrando el aislado por cinco generaciones consecutivas, evaluando en cada generación la relación ESF.

Evaluación de la capacidad de bio-acidulación de fósforo *in vitro* por parte de la cepa *Penicillium sp*: fueron sembradas 3 réplicas del aislado, depositando un inóculo líquido con una concentración de 1 x 10⁶ esporas mL⁻¹, en matraces Erlenmeyer de 500 mL de capacidad, que contenían 50 mL del medio NBRIP. Las condiciones de cultivo fueron de oscuridad total, temperatura 25°C +/- 2°C y agitación constante a 100 rpm, el pH inicial se ajustó a un valor de 7, utilizando soluciones de HCL y NaOH 1 N. Se tomaron muestras del medio de cultivo los días 5, 7, 9 y 11, a las cuales se realizó medición de pH para verificar la acidificación del medio por parte del hongo y para la medición de solubilización de fósforo mediante espectrofotometría por el método de azul molibdeno (Murphy y Riley, 1962).

Evaluación de la potencialidad biofertilizante de la cepa de *Penicillium sp*: se prepararon 100 mL de inóculo del hongo con una concentración de 1 x 10⁶ esporas mL⁻¹, determinada por conteo de esporas en cámara de Neubauer. La actividad biofertilizante del hongo se evaluó con semillas de Frijol (*Phaseolus vulgaris*) estas se impregnaron con el inóculo durante 15 minutos, para luego ser sembradas de manera individual en vasos desechables que contenían un sustrato orgánico comercial, el total de semillas sembradas para cada modelo vegetal fue de 30, de las cuales 15 correspondían al control (semillas sin inocular). Los datos fueron tomados a los 15 días de establecido el ensayo, y se evaluaron los siguientes parámetros biométricos: área foliar (cm²) medida según la longitud desde la terminación del peciolo hasta el ápice de la hoja y su ancho, longitud de tallo (cm) y longitud de raíz (cm), también las medidas de biomasa seca (mg) de hojas, tallo y raíces. Los resultados se evaluaron utilizando análisis de varianza (ANOVA) y comparación LDS (P<0,05) empleando el paquete estadístico Startgraphics ® centurión 5.1.

Resultados y discusiones

La resiembra sucesiva del aislado durante cinco semanas llevó a un aumento del valor de ESF, sugiriendo una selección positiva sobre el gen o los genes que confieren la capacidad de solubilización de fósforo, se encontraron diferencias estadísticas significativas para la ESF correspondiente a la semana 5 (Tabla 1).

TABLA 1. Eficiencia solubilizadora de fosfatos (ESF) del aislamiento *Penicillium sp* en cinco ciclos de resiembra consecutivos.

Semana	ESF
1	5,5 ± 0,1
2	5,8 ± 0,2
3	5,6 ± 0,3
4	6,1 ± 0,1
5	8,2 ± 0,2

Los resultados obtenidos para el cultivo en medio líquido NBRIP evidenciaron una disminución del pH, para un valor final de 3,5 para el día 11 de cultivo, el cual se atribuye a la producción de ácidos orgánicos por parte del hongo como mecanismo de solubilización de fósforo, en cuanto a la concentración de fósforo soluble en el medio de cultivo, esta incremento a lo largo del tiempo, para un valor final de 35 mg L⁻¹ para el día 11 de cultivo (Figura 1), estos resultados evidencias claramente la capacidad bio-acidificación de fósforo por parte de la cepa de *Penicillium sp*.

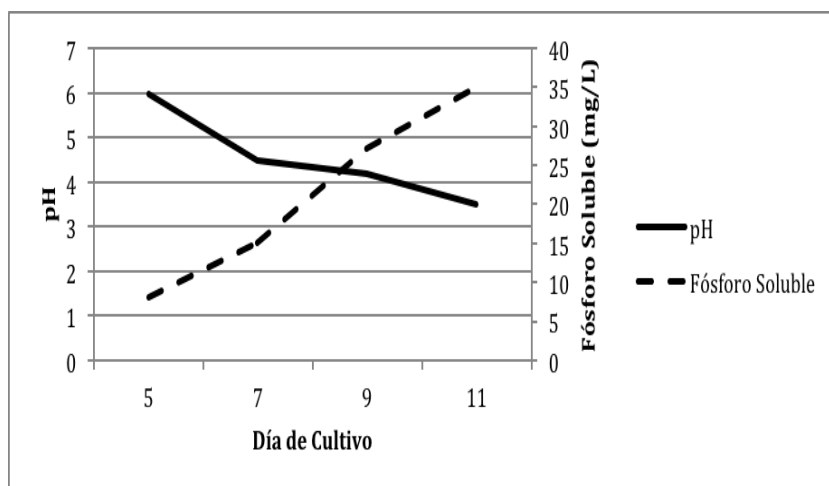


FIGURA 1. Bio-acidulación de fósforo *in vitro* por parte de la cepa *Penicillium sp*.

El aislamiento de *Penicillium sp* tuvo una eficiencia de solubilización de 3,5% (35 mg L⁻¹) para el día 11 de cultivo, al comparar este resultado con los reportados por Moratto et al. (2005) los cuales reportan eficiencias de solubilización para cepas nativas de *Penicillium sp* entre 9 – 15%, la capacidad de la cepa de *Penicillium sp* evaluada se encuentra por debajo de este rango, estos resultados pueden estar relacionados con la naturaleza misma de la

cepa y la fuente de fósforo evaluada, ya que algunos microorganismos presentan mejor solubilidad bajo sustratos diferentes para la obtención de fósforo (Hernández et al., 2011). Los resultados para la prueba de biofertilización, mostraron diferencias estadísticas significativas entre las plantas provenientes de semillas inoculadas y no inoculadas. Los parámetros de biomasa seca y biométricos fueron positivamente afectados por la inoculación con *Penicillium sp* (Tabla 2), estos resultados evidencian el potencial uso de la cepa nativa de *Penicillium sp.*, como biofertilizante para el manejo de fósforo en cultivos agrícolas. La estimulación de la actividad radicular puede estar influenciada por la secreción de índoles por parte de la cepa de *Penicillium sp*, y la mayor disponibilidad de fósforo se asocia con el incremento del área foliar y parámetros de biomasa en hojas y tallo, así como por el mayor desarrollo radicular y movilidad de nutrientes. Estos resultados son similares a los obtenidos por Maity et al. (2014) para la especie *Punica granatum* L., la cual fue bioinoculada con una cepa de *Penicillium pinophilum*, promoviendo la movilización de nutrientes y desarrollo vegetal, así como lo reportado por Khan et al. (2011) donde se reporta la asociación benéfica entre el hongo *Penicillium funiculosum* y la especie vegetal *Glycine max* L., gracias a la producción de promotores del crecimiento vegetal (giberelina y ácido indolacético) y solubilización de fósforo por parte del hongo.



FIGURA 2. Plantas de *Phaseolus vulgaris* inoculadas con *Penicillium sp.* (+) Inoculadas, (-) Control sin inoculo. La barra negra (1cm).

TABLA 2. Parametros de Crecimiento de *Phaseolus vulgaris* para los tratamientos de inoculado y no inoculado. Letras diferentes indican significancia estadística ($P < 0,05$) LSD. \pm indica desviación estándar.

Tratamiento	Área foliar (cm ²)	Longitud tallo (cm)	Longitud Raiz (cm)	Biomasa hojas (mg)	Biomasa tallo (mg)	Biomasa raiz (mg)
Control	11,55 \pm 1,48 ^b	8,75 \pm 1,02 ^b	7,00 \pm 2,12 ^b	52,40 \pm 2,83 ^b	51,75 \pm 5,04 ^b	42,30 \pm 3,25 ^b
Inoculado	32,5 \pm 7,86 ^a	18,00 \pm 2,08 ^a	13,00 \pm 2,06 ^a	111,50 \pm 20,86 ^a	152,35 \pm 28,07 ^a	82,03 \pm 10,16 ^a

Conclusiones

La cepa *Penicillium sp* evaluada en este estudio presento capacidad de bio-acidulación de fósforo y estabilidad fenotípica de ésta en el tiempo, en cuanto a su evaluación preliminar como biofertilizante, se evidencio un efecto promotor del crecimiento y desarrollo vegetal



para el modelo *Phaseolus vulgaris*, concluyendo que el aislado puede ser utilizado potencialmente para el desarrollo de un formulado comercial, de manera individual o en mezclas sinérgicas con otros microorganismos que puedan optimizar su eficiencia.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad de Medellín por el apoyo económico para el desarrollo del estudio y al personal del grupo de investigación GRINBIO.

Referencias bibliográficas

- Arora D & AC Gaur (1979) Microbial solubilization of different inorganic phosphates, *Indian Journal of Experimental Biology* 17: 1258-1261
- Hernández Leal TL, G Carrión, & G Heredia (2011) Solubilización in vitro de fosfatos por una cepa de *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson. *Agrociencia*, 45(8), 881–892.
- Jaramillo D (2011) El suelo: origen, propiedades, espacialidad. Universidad Nacional de Colombia sede Medellín.
- Khan, AL, M Hamayun, YH Kim, SM Kang, & IJ Lee (2011) Ameliorative symbiosis of endophyte (*Penicillium funiculosum* LHL06) under salt stress elevated plant growth of *Glycine max* L. *Plant Physiology and Biochemistry* 49(8): 852–861. <http://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.03.005>
- Osorio NW & M Habte (2009) Strategies for utilizing arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing microorganisms for enhanced phosphate uptake and grow of plants in the soils of the tropics, *Microbial Strategies for Crop Improvement*. 325- 351.
- Maity AR, K Pal, R Chandra & NV Singh (2014) *Penicillium pinophilum*—A novel microorganism for nutrient management in pomegranate (*Punica granatum* L.). *Scientia Horticulturae*, 169, 111–117. <http://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.02.001>
- Moratto C, L Martínez, H Valencia, & J Sánchez. (2005). Efecto del uso del suelo sobre hongos solubilizadores de fosfato y bacterias diazotróficas en el páramo de Guerrero (Cundimarca). *Agronomía Colombiana* 23(2), 299–309.
- Murphy J & JP Riley (1962) A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters, *Analytica chimica acta* 27: 31-36.
- Reddy S, S Kumar & K Babita (2002) Biosolubilization of poorly soluble rock phosphates by *Aspergillus tubigenis* and *Aspergillus niger*, *Bioresource Technology* 84: 187-189.
- Sigh H & M Reddy (2011) Effect of inoculation with phosphate solubilizing fungus on growth and nutrient uptake of wheat and maize plants fertilized with rock phosphate in alkaline soils, *European Journal of Soil Biology* 47: 30-34.