



AISLAMIENTO Y EVALUACIÓN DE HONGOS SOLUBILIZADORES DE FOSFATOS  
ASOCIADOS AL SISTEMA PRODUCTIVO DE BANANO (*Musa paradisiaca*) EN  
ZONAS DE LOS DEPARTAMENTOS DE MAGDALENA, ANTIOQUIA Y  
CUNDINAMARCA, COLOMBIA

Autores

PULIDO AGUDELO DIANA PAOLA

NIÑO MORENO JOHANN SEBASTIAN

CORPORACIÓN UNIVERSITARIA MINUTO DE DIOS  
FACULTAD INGENIERÍA  
PROGRAMA DE AGROECOLOGÍA  
BOGOTÁ D.C.  
2015



AISLAMIENTO Y EVALUACIÓN DE HONGOS SOLUBILIZADORES DE FOSFATOS  
ASOCIADOS AL SISTEMA PRODUCTIVO DE BANANO (*Musa paradisiaca*) EN  
ZONAS DE LOS DEPARTAMENTOS DE MAGDALENA, ANTIOQUIA Y  
CUNDINAMARCA, COLOMBIA

Autores

PULIDO AGUDELO DIANA PAOLA

NIÑO MORENO JOHANN SEBASTIAN

Trabajo de grado (Tesis) para optar el Título de Ingenieros en Agroecología

Directora

Higuera Mora Nubia Carolina  
M. Sc. Agricultura ecológica

Co-director

Posada Almanza Raúl Hernando  
*Ph.D.* Ciencias

CORPORACIÓN UNIVERSITARIA MINUTO DE DIOS  
FACULTAD INGENIERÍA  
PROGRAMA DE AGROECOLOGÍA  
BOGOTÁ D.C.  
2015

Nota de aceptación

Aprobado

Omar Guerrero G.

M. Cs. en Fitopatología

Jurado

Mayra Eleonora Beltrán Pineda

M.Cs. Microbiología

Jurado



## **DEDICATORIA**

A Dios

A nuestras familias

Y a nuestros seres amados

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a todas las personas que de forma directa o indirecta hicieron parte del desarrollo de este trabajo de grado y que aportaron para poder culminarlo.

A los agricultores que nos permitieron realizar el muestreo edáfico en sus predios.

A nuestra directora de Tesis M. Sc. Agricultura ecológica, Nubia Carolina Higuera Mora, por el constante apoyo, paciencia y formación tanto profesional como investigativa de forma pertinente al desarrollo de un trabajo de grado.

A nuestro co-director de Tesis *Ph.D.* Ciencias, Raúl Hernando Posada Almanza, por su continuo seguimiento, apoyo, paciencia y direccionamiento para llevar a cabo el trabajo de grado.

A *Ph.D.* Ciencias, Cinthya Ivonne Becerra por su ayuda para la identificación de las cepas encontradas en el estudio.

A las laboratoristas Ana Milena Moreno y Erika Moreno, por su colaboración y apoyo en la fase de trabajo en campo.

Al grupo de trabajo CENIREC, por su colaboración y acompañamiento durante la fase de trabajo de campo.

A nuestras familias, amigos y parejas por su apoyo incondicional durante el proceso.

Al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, por la financiación del proyecto a través de CENIREC por el Contrato N° CE-13158-104-10.

Al semillero de investigación de “Bioprocesos en agroecosistemas naturales e intervenidos del grupo Agroeco y Gestión Ambiental”, por acogernos y apoyarnos durante el desarrollo del trabajo.

Y a la Corporación Universitaria Minuto de Dios, tanto por la formación académica previa, como por la prestación de las instalaciones para el desarrollo de la fase de trabajo de campo.

## RESUMEN

El banano en Colombia es en importancia, después del café y las flores, el tercer producto agrícola de exportación. Las plantaciones de banano se caracterizan por extraer grandes cantidades de nutrientes del suelo, normalmente absorben más fósforo (P) del requerido en el ciclo de cultivo. Los hongos solubilizadores de fósforo (HSP) son organismos que tienen la capacidad de solubilizar formas no disponibles de fósforo. En este trabajo se evalúa la presencia y capacidad solubilizadora de los HSP, en tres departamentos de Colombia: Cundinamarca (zona 1), Antioquia (Urabá antioqueño, zona 2) y Magdalena (zona 3), estos dos últimos destacados por la mayor producción de banano en el país. Para ello se realizaron aislamientos de hongos, caracterizando e identificando los que presentaron una eficiencia relativa de solubilización (ERS) > 200% en medio sólido Sundara & Sinha (S&S). También se establecieron pruebas de correlaciones entre factores edáficos (características fisicoquímicas) y la presencia de HSP por fincas, con el fin de analizar cómo afectan cada una de las características edáficas a la variabilidad en las poblaciones de HSP. Se aislaron 66 cepas de las cuales 35 presentaron una ERS >200%, que posteriormente fueron identificadas. La zona 3 aportó la mayor cantidad de cepas con un total de 17, mientras que la zona 1 y la zona 2 tuvieron un aporte de 11 y 7 cepas respectivamente. De los HSP se encontraron: 3 especies (*Paecilomyces fumosoroseus*, *Penicillium glaucum* y *Paecilomyces lilacinus*), 7 géneros (*Penicillium* spp., *Alysidium* spp., *Humicola* spp., *Fusarium* spp., *Aureobasidium* spp., *Coniothyrium* spp., *Aspergillus* spp.), 9 morfoespecies y Mycelia sterilia. La morfoespecie 6 presentó la mayor ERS, con un porcentaje de 412,8 %, y fue encontrada en la zona 3, sin embargo no es estadísticamente diferente a cepas con ERS entre 293,1% y 407,0%, como la morfoespecie 3, morfoespecie 7, morfoespecie 8, morfoespecie 9, *Penicillium* sp.2, *Penicillium glaucum*, *Fusarium* sp.1 y *Paecilomyces lilacinus*. Con respecto a la influencia de las características edáficas en la variabilidad de la población de los

HSP, las únicas correlaciones significativas se dan con la arena ( $r = 0,7741$ ,  $P = 0,003$ ) y con la arcilla ( $r = -0,7505$ ,  $P = 0,005$ ), este comportamiento se podría atribuir a que aunque la arcilla permite el crecimiento de microorganismos como bacterias y hongos entre los espacios aéreos, éstos son menores a  $10\mu$  lo cual dificulta el desarrollo de hifas de los hongos, mientras que en las arenas finas hay mayor presencia de hongos ya que los espacios porosos son de mayor tamaño. Finalmente no existió una homogeneidad estadística en la distribución de los hongos hallados, esto puede deberse a la adaptación de estos organismos, a hábitats con diferentes características edafoclimáticas.



## Tabla de contenido

Dedicatoria.....	iv
Agradecimientos .....	v
Resumen.....	vii
1. Introducción .....	1
2. Problemática .....	3
2.1. Pregunta problema.....	7
3. Justificación .....	8
4. Objetivos.....	12
4.1. Objetivo general .....	12
4.2. Objetivos específicos.....	12
5. Marco teórico .....	13
5.1. Marco conceptual .....	13
5.2. Marco geográfico .....	25
5.3. Marco de antecedentes .....	28
6. Métodos.....	32
6.1. Descripción del área de estudio.....	32
6.2. Muestras edáficas.....	37
6.3. Aislamiento y purificación de los hongos solubilizadores de fósforo (HSP) .....	38
6.4. Evaluación de la actividad solubilizadora de fosfatos de los hongos seleccionados ....	39
6.5. Caracterización e identificación de los hongos solubilizadores de fosfato.....	41

6.6. Evaluación de la homogeneidad.....	42
6.7. Análisis de datos.....	42
7. Resultados y discusión.....	44
7.1. Caracterización macro y microscópica de cepas seleccionadas .....	44
7.2. Evaluación in vitro de la actividad solubilizadora de hongos aislados .....	51
7.3. Repetitividad de los grupos de especies de los hongos solubilizadores de fosfatos en las zonas y fincas muestreadas. ....	59
8. Conclusiones .....	64
9. Recomendaciones .....	66
Referencias bibliográficas.....	67
Anexos .....	83

## **Tablas**

Tabla 1. Producción de ácidos orgánicos por los principales HSP.....	16
Tabla 2. Formas de fósforo inorgánico, presentes en los suelos.....	17
Tabla 3. Características geográficas de las fincas de zona 1- Cundinamarca.....	33
Tabla 4. Características geográficas de las fincas de zona 2- Urabá .....	34
Tabla 5. Características geográficas de las fincas de zona 3- Magdalena .....	36
Tabla 6. Identificación de hongos fosfatosolubilizadores aislados.....	45
Tabla 7. Contingencia de los HPS aislados por fincas y zonas. ....	60

## **Figuras**

Figura 1. Ubicación geográfica de las fincas de zona 1- Cundinamarca.....	33
Figura 2. Ubicación geográfica de las fincas de zona 2- Urabá.....	35
Figura 3. Ubicación geográfica de las fincas de zona 3- Magdalena.....	36
Figura 4. Medición del diámetro del halo de solubilización y de la colonia.....	40
Figura 5. Número total de cepas aisladas y porcentaje de cepas seleccionadas por zonas de estudio.....	52
Figura 6. Eficiencia Relativa de Solubilización (ERS) de las cepas de cada zona.....	53
Figura 7. Proyección de los casos en el factor - plano (1x2). Los casos con suma del cuadrado del coseno.....	56

## **Anexos**

Anexo 1. Composición del medio de cultivo Sundara & Sinha (S&S) .....	83
Anexo 2 Caracterización macroscópica en medio PDA de los hongos aislados con mayor capacidad de solubilización .....	84
Anexo 3 Caracterización microscópica de los hongos aislados con mayor capacidad de solubilización .....	96
Anexo 4 Prueba de Kruskal Wallis (ERS).....	108
Anexo 5 Cargas factoriales de componentes principales.....	110
Anexo 6 Matriz de correlaciones parciales .....	111
Anexo 7 Resultados de los análisis edáficos de las zonas muestreadas .....	112
Anexo 8 Correlaciones entre variables edáficas de las fincas que presentaron cepas con una ERS>200% y los resultados de ERS de cada cepa .....	114

## 1 INTRODUCCIÓN

El modelo de agricultura convencional o revolución verde, es una de las principales causas de pérdida de biodiversidad a nivel mundial, entre otros porque requiere una continua expansión de área productiva, para poder suplir una creciente población y sus necesidades, al punto de sobrepasar capacidades de carga en suelos agrícolas (Altieri & Nicholls, 2000). Esto hace que los sistemas productivos requieran una continua, y cada vez mayor cantidad de insumos externos como biocidas y fertilizantes (Moreno, Blanco, & Mendoza, 2009).

Debido a que el sistema productivo de banano se realiza de manera intensiva, al ser éste un producto de gran demanda para la exportación, los requerimientos extractivos minerales para su nutrición como el fósforo, hacen de este elemento uno de los factores limitantes para el crecimiento y desarrollo del cultivo, más aun teniendo en cuenta que del 75% al 90% de los fertilizantes fosfatados solubles en agua, se precipitan en formas insolubles de fosfato tricálcico  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  en suelos alcalinos, y fosfato de hierro ( $\text{FePO}_4$ ) o fosfato de aluminio ( $\text{AlPO}_4$ ) en suelos ácidos (Khan, Zaidi, Ahemad, Oves, & Wani, 2010).

Con el ánimo de incursionar en la sostenibilidad productiva de los agroecosistemas, se hace necesario investigar posibles mecanismos que permitan reducir la alta dependencia de insumos, para el adecuado ensamble de las interacciones entre componentes bióticos y abióticos; en ese sentido se hace relevante, profundizar sobre los organismos que habitan en los sistemas productivos y sus funciones biológicas. Ahora bien, los microorganismos son fundamentales para regular el ciclo del fósforo (P) en los sistemas suelo-planta, debido a que éstos son capaces de liberar el P no disponible para las plantas, mediante la solubilización y mineralización de P inorgánico y orgánico (Walpolá & Yoon, 2012), y de su identificación,

evaluación de solubilización y aptitud bajo parámetros de la biotecnología, depende que estos sean usados como biofertilizantes en la agricultura (Sanjuán & Moreno, 2010).

Aunque las bacterias son los microorganismos más numerosos del suelo, en términos de biomasa, los hongos representan los mayores aportes en la transformación del fósforo (Patiño, 2010). Los hongos solubilizadores de fosfato (HSP) constituyen del 0,1-al 0,5% de las poblaciones de hongos totales en el suelo, y por lo general éstos producen mayor cantidad ácidos orgánicos y enzimas (Khan, Zaidi, Ahemad, Oves, & Wani, 2010). Además, son capaces de atravesar largas distancias, y por ende pueden cumplir la función de hacer aprovechable los altos contenidos de fósforo en el suelo no disponibles para las plantas (Khan, Zaidi, Ahemad, Oves, & Wani, 2010).

Por lo tanto, este estudio tuvo por objetivo realizar el aislamiento, identificación y evaluación, de hongos solubilizadores de fosfato tricálcico *in-vitro*, a partir de la rizósfera de banano en tres zonas productoras de banano en el país, Magdalena y Antioquia, conocidas por su producción intensiva en monocultivo, y Cundinamarca como una zona de contraste por su producción de mediana y pequeña escala en asociación con otras especies agrícolas y disímil topografía; además, este estudio relaciona características edáficas, con la presencia y cantidad de cepas seleccionadas bajo el criterio de eficiencia relativa de solubilización (ERS) > 200%

## 2. PROBLEMÁTICA

La agricultura es una de las principales causas de la pérdida de biodiversidad, aunque probablemente mucho más significativos que los cambios visibles como la deforestación son los cambios invisibles, como la contaminación o la eutrofización de hábitats y biotopos (Von Meyer, 1996).

El suelo fértil es la base del crecimiento vegetal y la producción de alimentos (Nebel & Wrigth, 1999), sin embargo, el suelo está siendo explotado hasta el límite de sus posibilidades con el fin de proporcionar alimentos a una población cuyo ritmo de crecimiento ha desbordado las previsiones más aventuradas (Elegido, 1975). El fenómeno de la erosión se ha considerado siempre como un problema central de la gestión del suelo, siendo una fuente importante de nutrientes y emisión de contaminantes (Von Meyer, 1996). En este sentido, los pastos se convierten en desiertos, las tierras de regadío se vuelven demasiado salinas para los cultivos, se agotan los suministros de agua de riego y cientos de miles de hectáreas de tierras cultivables se sacrifican en aras del progreso (Nebel & Wrigth, 1999).

Tanto en los ecosistemas naturales, como los bosques tropicales, las relaciones equilibradas entre componentes producen un ambiente eficiente, estable y con una alta capacidad de resistencia al cambio, en contraste, el monocultivo y uso intensivo de insumos como en fincas bananeras ha provocando cambios sustanciales en el ambiente tropical donde se establecen los sistemas de producción, incluidos la disminución de la biodiversidad, la pérdida del recurso suelo por erosión, y desequilibrios entre los componentes químicos, físicos y biológicos de los suelos (Rosales, Pocasangre, Trejos, Serrano, & Peña, 2008).

La aplicación de dosis de fertilizantes por encima de la capacidad de extracción del cultivo y otras prácticas agrícolas contaminantes, constituyen elementos de manejo crítico que han

deteriorado los suelos donde actualmente se desarrolla la industria bananera (Rosales, Pocasangre, Trejos, Serrano, & Peña, 2008). Para poder entregar una fruta de óptima calidad al mercado tanto nacional como internacional, la explotación tradicional del banano consume principalmente fertilizantes, fungicidas, herbicidas, nematicidas, plásticos, cajas y estibas de madera; cada una de estas prácticas deterioran en mayor o menor grado la rentabilidad del cultivo y los componentes del ambiente: aire, suelo, agua, flora y fauna (Mejía & Gómez, 1999).

Aún más preocupante es, cuando la aplicación y fabricación de estos fertilizantes acelera la contaminación y eutricación de ecosistemas acuáticos, erosiona y nitrifica los suelos, libera gases de efecto invernadero a la atmósfera terrestre, y en general conduce a problemas de salud pública (Stoorvogel & Vargas, 1998; PNUMA, 2010). La creciente aportación de nutrientes agrarios y contaminantes representa una amenaza, no sólo para las plantas y animales, sino también para los seres humanos (Von Meyer, 1996).

Se ha demostrado que la producción industrial de fertilizantes no puede satisfacer las necesidades de una población mundial en creciente aumento, cuyo consumo per-cápita demanda alimentos, fibras y energía ha obligado a expandir e intensificar las áreas destinadas a la agricultura y por lo tanto al uso de fertilizantes inorgánicos (Tilman, et al., 2001). Esto se convierte en un problema ecológico de grandes dimensiones al alterar: i) los ciclos biogeoquímicos, ii) los usos de la tierra, iii) la biodiversidad global en todos sus niveles, y iv) la dispersión de la biota más allá de los límites geográficos naturales (De la Fuente & Suárez, 2008). En consecuencia, se han presentado procesos de extinción de especies por la simplificación de hábitats y una pérdida sin precedentes de servicios y bienes ecosistémicos.

Actualmente, para cumplir con los requerimientos nutricionales del cultivo de banano, muchos productores utilizan una cantidad considerable de fertilizantes de síntesis industrial,

lo cual económicamente hablando no es favorable como lo menciona el Departamento de Estudios Económicos de la Sociedad de Agricultores de Colombia SAC (2006), debido a que el rubro en fertilizantes químicos constituye entre el 10 y el 11 % de los costos totales de la producción de banano por hectárea y que en últimos años, la volatilidad de los precios del petróleo y el consecuente encarecimiento de los productos derivados de éste ha sembrado mucha incertidumbre en el sector agrícola (Dibut, 2009).

En el caso del cultivo de banano, cuya producción convencional es altamente dependiente de fertilizantes, esta situación se torna más difícil, si se tiene en cuenta que los productores por lo general aumentan la dosificación, haciendo uso irracional de estos productos, por tanto los costos totales son mayores. Así mismo, los fertilizantes fosfatados solubles en agua se precipitan del 75 al 90% (Khan, Zaidi, Ahemad, Oves, & Wani, 2010), aumentando los costos de producción y el consumo de energía en el sistema.

Además de los altos costos de producción, el productor debe enfrentarse a suelos altamente meteorizados de los trópicos y subtrópicos húmedos, característicos de las zonas de explotación bananera. Estos suelos, a menudo presentan bajos contenidos de P disponible, debido a la alta absorción del Fe y Al activos, no cristalinos. Para alcanzar los niveles críticos de P en la solución del suelo se hace imprescindible la incorporación de fertilizantes (Vazquez, Morales, & Dalurzo, 2004; Pradhan & Sukla, 2005). Sin embargo, la sobrefertilización puede superar los límites de retención del Fe y del Al quedando como resultado exceso de nutrientes y por tanto contaminación del suelo por los mismos.

Muchas fincas han sido abandonadas o han tenido que salir del negocio de producción de bananos por su baja productividad y competitividad (Rosales, Pocasangre, Trejos, Serrano, & Peña, 2008). El colapso de sistemas tan importantes en Colombia como el cultivo del banano generaría desastres tanto económicos como sociales, ya que según la Asociación de

bananeros en Colombia (Augura), esta industria genera aproximadamente 32.000 empleos directos y 96.000 empleos indirectos en Antioquia y Magdalena, sin contar con el gran desastre ambiental por el deterioro de los recursos naturales generado por malas prácticas agrícolas (AUGURA, 2013).

La solución de este problema y el mejoramiento de la calidad de vida de las sociedades actuales, no puede provenir de un freno al crecimiento, sino de la construcción de nuevas alternativas de desarrollo, igualitarias y sostenibles a largo plazo, fundadas en la búsqueda de nuevas formas de producción, vinculadas directamente con la dinámica de los procesos naturales, que tomen en cuenta la incidencia de las prácticas productivas sobre la dotación y las condiciones de regeneración de los recursos, así como la contribución de la productividad ecológica y cultural en el desarrollo de las fuerzas sociales de producción (Montes & Leff, 2000). Por estas razones, la producción de banano requiere adoptar un cambio tecnológico que racionalice, cambie y minimice al máximo los agroinsumos, sin perder su competitividad y favoreciendo su sostenibilidad y equidad (Mejía & Gómez, 1999).

Lograr que las prácticas agrícolas mejoren sus productividades para cumplir con la meta de alimentar a miles de millones de personas en el mundo, sin deteriorar los suelos, es posible gracias a la biotecnología y el uso de microorganismos (Sanjuán & Moreno, 2010). El uso de inoculantes que contienen microorganismos solubilizadores de fosfatos representa una alternativa para aumentar la eficiencia de la fertilización con fosfatos solubles y disminución de costos de producción (Narloch, Lopes, Ternes, & Nunes, 2002). Siendo el fósforo uno de los principales macroelementos para cualquier producción, es necesario el desarrollo de este tipo de inoculantes que brinden beneficios para cultivos de importancia como lo es el banano, sin deteriorar los recursos naturales.

Teniendo en cuenta la problemática ambiental que se viene dando con el uso de fertilizantes de síntesis y el detrimento de los suelos en zonas de producción bananera, se hace necesario el desarrollo de nuevas alternativas de fertilización, resaltando el gran potencial que tienen los microorganismos, más específicamente los fosfatosolubilizadores. Para esto, el presente trabajo pretende realizar la identificación de los potenciales hongos fosfatosolubilizadores para el posterior desarrollo del inoculante, el cual se pretende potencializar con asociación de otros microorganismos como micorrizas.

### **2.1. Pregunta problema**

¿Qué morfoespecies fúngicas eficientes en la solubilización de fosfato tricálcico (HSP) están asociados a la rizósfera del cultivo de banano?

### 3. JUSTIFICACIÓN

El banano se sitúa en el tercer lugar de los principales cultivos de exportación en Colombia (Arias, Dankers, Liu, & Pilkauskas, 2004), ocupando aproximadamente 47.800 hectáreas superficie cosechada de banano de exportación en el año 2011 (Sociedad de Agricultores de Colombia, SAC, 2012).

En Colombia los departamentos con mayor producción de banano son Magdalena y Antioquia en la zona de Urabá, de esta producción depende económicamente una gran parte de la población de dichos departamentos generando así, 32.000 empleos directos y 96.000 empleos indirectos (AUGURA, 2013). Teniendo en cuenta lo anterior, es necesario el desarrollo de prácticas agrícolas, que permitan la conservación de los recursos naturales, y así mismo garantizar su permanencia en el tiempo, brindando el sostenimiento del sistema productivo.

Las plantas de banano normalmente absorben más P del requerido en el ciclo de cultivo, entre los tres y nueve meses después de la plantación; durante la fase reproductiva e inicio del desarrollo de fruto (4 semanas después de emergencia de inflorescencia), la absorción decrece cerca del 80% (Robinson, 1996). Una tonelada de fruto fresco de banano “Dominico” puede extraer un total de 403 g de N; 189,6 g de P; 1,7 kg de K; 219 g de Ca y 154 g de Mg (Castillo, et al., 2011), donde los valores de P son considerablemente altos.

Además, según Olalde & Aguilera, (1998), el fósforo estimula el desarrollo del sistema radicular, lo cual es importante debido a que una raíz sana es la base fundamental de la nutrición del cultivo de banano y a que en muchos casos los programas de fertilización de las plantaciones no funcionan debido a la falta de un sistema radicular en buen estado.

La reducción y especialmente la eliminación de los agroquímicos requieren de cambios mayores en el manejo de los agroecosistemas para asegurar la provisión adecuada de nutrientes (Altieri & Nicholls, 2000). Para una agricultura más sostenible, se debe reducir la aplicación de agroquímicos, manteniendo e incluso aumentando las productividades, y para ello será necesaria una decidida aplicación de inoculantes o insumos biológicos de creciente eficacia (Sanjuán & Moreno, 2010).

El uso de biofertilizantes no solo constituye una alternativa para minimizar el impacto ambiental, sino también económica, tanto para grandes industrias dedicadas a la explotación de banano, como también para pequeños productores. Para el año 2001, el costo de la fertilización química por hectárea constituye un total de \$480.544 pesos (Moneda colombiana), mientras que la fertilización orgánica representa solo el 33% de esa suma, con un total de \$160.000 pesos. Este ahorro es representativo, si se tiene en cuenta que no hay diferencia estadística respecto al peso del racimo entre estos dos métodos de fertilización (Echeverri, 2001).

Por lo tanto, el uso y aplicación de inoculantes biológicos o biofertilizantes en los sistemas productivos, permite una producción a bajo costo, y conserva el suelo desde el punto de vista de fertilidad y biodiversidad (Otero, 2011). El empleo de cepas de microorganismos con un alto potencial de acción sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas y el estudio de la diversidad biológica de sus patógenos son factores clave en su control y, por tanto en el manejo integral de los cultivos (Olalde & Aguilera, 1998).

Como uno de los grupos de microorganismos de importancia biotecnológica, se tienen a los microorganismos solubilizadores de fosfatos (MSP), y más teniendo en cuenta que según Raghothama (1999), el P es uno de los elementos más limitantes en la producción de banano

debido a que este elemento afecta significativamente el crecimiento y el metabolismo de la planta.

Asimismo, los microorganismos solubilizadores de fosfatos también tienen interacciones con otros organismos los cuales son de gran beneficio para el sistema productivo. Según Osorio & Habte (2001), podría existir una interacción sinérgica entre los microorganismos solubilizadores de fosfatos y las micorrizas, la cual estimula el crecimiento de las plantas.

Según los registros del ICA en febrero del 2015, existen aproximadamente 228 bioinsumos, de los cuales 55 corresponden a inoculantes biológicos, a su vez, 21 de ellos pueden ser aplicados al cultivo de banano y solo 5 con especificidad para plantas del género *Musa L* (banano y plátano) de los cuales 4 tienen la característica en común de ser agentes microbianos, 3 tienen como principio activo *Bacillus subtilis* para el control biológico de la Sigatoka negra, 1 tiene como principio activo *Bacillus thuringiensis* para el control biológico del gusano peludo o defoliador y el bioinsumo restante se trata de un extracto vegetal que tiene como principio activo romero, hierbabuena y tomillo.

Sin embargo, ninguno de los inoculantes biológicos registrados es específico para ejercer actividad solubilizadora, ni tienen asociados microorganismos solubilizadores de fosfatos ni micorrizas para el cultivo de banano. Esto puede representar una oportunidad para la búsqueda de alternativas de fertilización que proporcionen a los productores de banano una oportunidad de mejorar sus prácticas agronómicas para hacerlas más sostenibles.

Numerosas investigaciones anteceden el estudio de microorganismos solubilizadores de fosfato, sin embargo, pese a estos conocimientos, muchos autores coinciden en que aún falta profundizar más en este campo y en especial cuando se trata de la producción de bioinsumos, puesto que aunque la solubilización de compuestos por los microorganismos, es muy común en condiciones de laboratorio, los resultados en campo han sido muy variables,

lo que ha dificultado el uso de estos a gran escala en la agricultura (Gyaneshwar, Neresh, Parekh, & Poole, 2002).

El presente estudio hace parte del proceso para el desarrollo de un inóculo biológico específico para banano, el cual tiene como principio activo microorganismos simbióticos (micorrizas y hongos fosfatosolubilizadores de fosfato tricálcico). Para poder desarrollar dicho biofertilizante, es necesario realizar el aislamiento, identificación y evaluación de microorganismos solubilizadores de fosfato tricálcico potencialmente eficientes, asociados al sistema productivo de banano el cual es el objeto de la presente propuesta. Ésta investigación, constituye la primera etapa del desarrollo del inoculante, debido a las asociaciones simbióticas, que brindan beneficios al sistema productivo y que actualmente ningún producto registrado en Colombia proporciona estas características.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1. Objetivo general

- ✓ Evaluar presencia y actividad de hongos solubilizadores de fosfatos asociados al sistema productivo de Banano (*Musa paradisiaca*) en Magdalena, Antioquia y Cundinamarca, Colombia.

### 4.2. Objetivos específicos

- ✓ Aislar e identificar hongos solubilizadores de fosfato asociados al sistema productivo de banano.
- ✓ Evaluar *in-vitro* la actividad solubilizadora de los hongos aislados.
- ✓ Evaluar la repetitividad de los grupos de hongos solubilizadores de fosfatos en las zonas y fincas muestreadas.

## 5. MARCO TEÓRICO

### 5.1. Marco conceptual

#### 5.1.1. Microorganismos fosfatosolubilizadores y procesos de solubilización

Por definición un microorganismo solubilizador de fósforo (MSP) es un organismo que tiene la capacidad de solubilizar formas no disponibles de fósforo inorgánico (Walpola & Yoon, 2012; Sharma, Kumar, & Tripathi, 2011), son importantes en los agroecosistemas debido al porcentaje elevado de los suelos cultivables en el mundo, que poseen un especial problema con relación a la cantidad de fósforo fijado, no soluble, incapaz de ser utilizado por las plantas (Holford, 1997). La concentración de P soluble en suelos tropicales, suele ser muy baja, disponible sólo en cantidades micromolar o menor (Khan, Zaidi, Ahemad, Oves, & Wani, 2010), su disponibilidad es afectada por procesos fisicoquímicos tales como dilución de minerales, precipitación con cationes del suelo, adsorción, retención por óxidos e hidróxidos de hierro (Fe) y aluminio (Al) en el caso de suelos ácidos y de calcio (Ca) y magnesio (Mg) en suelos alcalinos; retención por arcillas y cambios en el pH (Berrocal, Durango, Barrera, & Diaz, 2009; Nopparat, Jatupornpipat, & Rittiboon, 2009; Khan, Zaidi, Ahemad, Oves, & Wani, 2010).

Los microorganismos fosfato solubilizadores, son omnipresentes en el suelo (Gyaneshwar, Neresh, Parekh, & Poole, 2002; Khan, Zaidi, Ahemad, Oves, & Wani, 2010), incluso encontrados en los suelos libres de raíz, por lo tanto, éstos podrían desempeñar un papel importante en el suministro de P para las plantas, inclusive en situaciones de estrés (Santos, et al., 2013) Además de constituir una importante reserva de P en el suelo a través de su biomasa (Cerón & Aristizábal, 2012), también pueden contribuir al suministro de fósforo, por la solubilización de distintas fuentes de fósforo tales como roca fosfórica, fosfato de aluminio y fosfato tricálcico (Nopparat, Jatupornpipat, & Rittiboon, 2009), bacterias de los géneros

*Bacillus* sp, *Pseudomonas* sp., *Rhizobium* sp. y *Enterobacter* sp., son abundantemente conocidas como fosfatosolubilizadores en la literatura; por su parte dentro de los hongos se encuentran principalmente los géneros *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp, pero se reportan muchos más (Pradhan & Sukla, 2005; Khan, Zaidi, Ahemad, Oves, & Wani, 2010; Yadav & Verma, 2012; Walpola & Yoon, 2012).

Aunque las bacterias son los microorganismos más numerosos del suelo, en términos de biomasa, los hongos representan los mayores aportes (Patiño, 2010), ya que los hongos P-solubilizantes constituyen aproximadamente el 0,1-0,5% de las poblaciones de hongos totales, en general estos producen más ácidos orgánicos y son capaces de atravesar largas distancias, a diferencia de las bacterias, por lo tanto consiguen ser más importantes en la solubilización del fósforo en el suelo (Khan, Zaidi, Ahemad, Oves, & Wani, 2010; Yadav & Verma, 2012).

Si bien la actividad de éstos microorganismos se especializa en la producción y liberación de metabolitos (ácidos orgánicos y enzimas), que permiten solubilizar el fósforo de tal manera que sea disponible para la asimilación de las plantas (Nautiyal, 1999; Khan, Zaidi, Ahemad, Oves, & Wani, 2010), existen diferentes teorías de los mecanismos por los cuales los microorganismos transforman el fósforo:

- ✓ Producción de sideróforos, estos son moléculas en su mayoría péptidos no ribosomales que poseen alta afinidad con el hierro y actúan como agentes quelantes para secuestrar hierro en presencia de otros metales y reducirlo a  $Fe^{2+}$ , estos además tienen características como control biológico y promotor de crecimiento de las raíces (Aguado, Moreno, Jiménez, García, & Preciado, 2012).

- ✓ Óxido-reducción, por la cual los microorganismos utilizan el fosfito y lo transforman en fosfato dentro de la célula, lo cual permite la movilización de este elemento dentro del sistema suelo (Bobadilla & Rincón, 2008).
- ✓ Inmovilización, que consiste en la asimilación microbiana del fósforo, el cual queda represado en su biomasa (Otero, 2011).
- ✓ La producción de enzimas (fosfatasas o fosfohidrolasas) que catalizan la hidrólisis de ésteres y anhídricos del ácido fosfórico ( $H_3PO_4$ ), responsables de la mineralización del fósforo orgánico en el suelo, éstas se clasifican en fosfatasa ácidas, y alcalinas y se diferencian por el pH óptimo donde actúan, la fosfatasa ácida puede estar presente en suelos con valores de pH entre 4 a 6,5 mientras que las alcalinas en un rango 9 a 10; sin embargo, es común que estén simultáneamente en el suelo, éstas enzimas son significativamente afectadas por el pH, la disponibilidad de P y el contenido de materia orgánica (Narváez, Sánchez, & Menjívar, 2010).
- ✓ La producción de ácidos orgánicos, que es la teoría más aceptada y estudiada en el mundo. Este mecanismo consiste en la reducción en el pH del medio y liberación de ácidos orgánicos por parte de diferentes microorganismos. Se asocia a la quelación mediada por el P inorgánico que se solubiliza por la acción de los ácidos orgánicos e inorgánicos secretados por los microorganismos solubilizadores de fosfatos, en que los grupos hidroxilo y carboxilo de los cationes ácidos de quelatos (Al, Fe, Ca) disminuyen el pH en suelos básicos (Sharma, Kumar, & Tripathi, 2011). Dentro de los ácidos más conocidos se encuentran succínico, cítrico, glucónico,  $\alpha$ -cetoglucónico y oxálico (Nopparat, Jatupornpipat, & Rittiboon, 2009). En la Tabla 1, se puede evidenciar los principales géneros de hongos productores de ácidos, capaces de hacer procesos de fosfatosolubilización.

Tabla 1. Producción de ácidos orgánicos por los principales HSP. Tomado y adaptado de:  
(Khan, Zaidi, Ahemad, Oves, & Wani, 2010)

Organismo	Acido predominante
<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. candidus</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. terreus</i> , <i>A. wentii</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Penicillium</i> <i>sp.</i> , <i>Trichoderma isridae</i> , <i>Trichoderma sp.</i>	Láctico, maleico, málico, Acético, tartárico, cítrico, Fumárico, glucónico
<i>A. flavus</i> , <i>A. candidus</i>	Glutarico
<i>Penicillium oxalicum</i>	Málico, glucónico, oxálico
<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. Niger</i> , <i>P. canescens</i>	Oxálico, cítrico, glucónico, Succínico
<i>Penicillium rugulosum</i>	Cítrico, glucónico
<i>A. niger</i>	Succínico
<i>Penicillium variable</i>	Glucónico
<i>Penicillium rugulosum</i>	Glucónico
<i>Penicillium radicum</i>	Glucónico
<i>A. niger</i>	Cítrico, oxálico, glucónico
<i>A. awamori</i> , <i>A. aoetidus</i> , <i>A. terricola</i> , <i>A. amstelodemi</i> , <i>A. tamari</i>	Oxálico, cítrico
<i>A. japonicus</i> , <i>A. foetidus</i>	Oxálico, cítrico, glucónico Succínico, tartárico
<i>Penicillium bilaji</i> <i>A. niger</i> , <i>P. simplicissimum</i>	Cítrico, oxálico Cítrico
<i>A. awamori</i> , <i>P. digitatum</i>	Succínico, cítrico, tartárico
<i>Penicillium sp.</i>	Oxálico, etacónico
<i>A. niger</i>	Succínico
<i>Aspergillus sp.</i> , <i>Penicillium sp.</i> , <i>Chaetomium nigricolor</i>	Oxálico, succínico, cítrico
<i>A. fumigatus</i> , <i>A. candidus</i>	Oxálico, tartárico

### 5.1.2. El fósforo (P)

El fósforo constituye aproximadamente el 0.12% de la corteza terrestre, éste elemento proviene de las apatitas y depósitos de fosfato natural de donde es liberado a través de procesos de meteorización, lixiviación, erosión y extracción industrial como fertilizante (Cerón & Aristizábal, 2012), el ciclo de fósforo tiene como particularidad no poseer ninguna etapa atmosférica, es sedimentario (Monge, Gómez, & Rivas, 2002). El fósforo está presente

en los suelos y rocas como fosfato de calcio  $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]$  y como hidroxiapatita  $[\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})]$ , puesto que la roca fosfórica es sólo ligeramente soluble, por lixiviación se disuelven cantidades muy pequeñas, lo cual origina bajas concentraciones como 0.001 ppm (Glynn & Gary, 1999). El fósforo en el suelo depende de la textura, en general, el contenido de fósforo disminuye con la profundidad del suelo y también de factores como la temperatura, la precipitación, la acidez del suelo, la actividad biológica y el grado de desarrollo de los suelos que determinan la participación de las fracciones orgánicas e inorgánicas en el P total (Fassbender & Bornemisza, 1994). Los compuestos de fósforo inorgánico pueden encontrarse en forma de sales en solución, sales cristalinas o sales absorbidas por los coloides del suelo (Tabla 2).

Tabla 2. Formas de fósforo inorgánico presentes en los suelos. Adaptado por Bobadilla & Rincón, 2008

Tipo de fosfato	Denominación	Composición	Características
<b>Fosfatos de calcio</b>	Hidroxiapatita	$3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ $\text{Ca}(\text{OH})_2$	Muy abundante
	Oxiapatita	$3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{CaO}$	Menos abundante
	Fluoroapatita	$3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{CaFe}_2$	Muy abundante
	Carbonatoapatita	$3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{CaCO}_3$	Menos abundante
	Fosfato tricálcico	$3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	Menor solubilidad
	Fosfato dicálcico	$\text{CaHPO}_4$	Mayor solubilidad
	Fosfato monocálcico	$\text{Ca}(\text{HPO}_4)_2$	Mayor solubilidad
<b>Fosfatos de hierro</b>	Livianita	$\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$	Poco solubles
	Estrengita	$\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Poco solubles
<b>Fosfato de aluminio</b>	Variscita	$\text{AlPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Poco solubles

El fósforo en suelos agrícolas se puede encontrar como fósforo inorgánico (Pi) y fósforo orgánico (Po); el primero a su vez procede de la descomposición y transformación del fósforo

orgánico, este proceso es realizado por varios organismos, el Pi puede ser soluble (iones ortofosfato bivalente, monovalente) e insoluble (iones ortofosfato trivalente) (Berrocal, Durango, Barrera, & Diaz, 2009), se presenta fuertemente fijado a formas de fosfato de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{Al}^{3+}$ , especialmente en arcillas del grupo de las caolinitas y ocluido en los óxidos de hierro y aluminio (Cerón & Aristizábal, 2012).

El fósforo orgánico representa entre un 15 y un 80% del contenido de fósforo en el suelo dependiendo del contenido del material parental (Cerón & Aristizábal, 2012), haciendo parte de residuos de plantas, animales y microorganismos, que liberan compuestos como fosfolípidos, ácidos nucleicos, fosfatos metabólicos, fosfoproteínas y fosfatos del ácido hexahidroxíciclohexano (inositol) (Fassbender & Bornemisza, 1994), que al mineralizarse forma nuevamente Pi ( $\text{HPO}_4^{2-}$  y de  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ) y pueden ser nuevamente absorbidos y utilizados por las plantas, bacterias y otros organismos (Monge, Gómez, & Rivas, 2002) permitiendo así el reciclaje del elemento (Cerón & Aristizábal, 2012; Glynn & Gary, 1999).

Es un elemento nutricional para los seres vivos (Walpola & Yoon, 2012), siendo un componente muy importante para todas las células, crucial para las moléculas biológicas, incluyendo las de transferencia de energía como ATP y NADP, ácidos nucleicos y fosfolípidos de las membranas celulares (Monge, Gómez, & Rivas, 2002).

El P influencia procesos de los ciclos bioquímicos, permitiendo procesos de respiración, fotosíntesis en las plantas y ayudando a la activación de intermediarios energéticos (Vargas, 2012). Además, éste elemento está asociado con varias funciones para la nutrición de las plantas, logra intervenir en el desarrollo de las raíces, fortalecimiento de los tallos, formación de flores y semillas, madurez de cultivos y la calidad de la producción, la fijación de nitrógeno en las leguminosas, fortalecimiento de la planta contra enfermedades y la división celular (Walpola & Yoon, 2012).

### **5.1.3. Cultivo de banano**

El banano es una planta monocotiledónea y pertenece al orden *Escitaminales*, a la familia *Musaceae*, subfamilia *Musoideae* y al género *Musa*, el cual contiene entre 30 y 40 especies diploides (Palencia, Gómez, & Martín, 2006). Como todos los sistemas productivos, el banano, requiere de ciertas condiciones ambientales y nutricionales para su óptimo desarrollo. La altitud adecuada para la siembra de banano está desde el nivel del mar hasta los 2.000 m.s.n.m. y la temperatura óptima se encuentra en un promedio de 26°C (Palencia, Gómez, & Martín, 2006). Los suelos aptos para el desarrollo del cultivo son aquellos que presentan una textura: franco-arenosa, franco-arcillosa, franco-arcillo-limoso y franco-limoso; por otro lado deben poseer buenas propiedades de retención de agua, los suelos arcillosos con un 40% no son recomendables para el cultivo y el pH del suelo es de 6,5; pudiendo tolerar pH de 5,5 hasta 7,5 (Moreno, Blanco, & Mendoza, 2009).

Las plantaciones de banano se caracterizan por extraer grandes cantidades de nutrientes del suelo, tanto de elementos mayores como menores, cuyas funciones son importantes para la fisiología de la planta, lo que demanda dosis óptimas de estos elementos y adecuadas a las necesidades del cultivo (Moreno, Blanco, & Mendoza, 2009). Según el estudio de Castillo, et al., (2011), la extracción total de nutrientes (en kg/ha) considerando 16.875 Kilogramos por hectárea fue de 71,2; 29; 386,6; 102,7 y 41 para N, P, K, Ca y Mg, respectivamente.

### **5.1.4. Cultivo de banano en Colombia**

El banano en Colombia es en importancia, después del café y las flores, el tercer producto agrícola de exportación. Los cultivos de banano en Colombia ocupan aproximadamente el 7% de la superficie total plantada de cultivos frutícolas. La producción se concentra en Antioquia y Magdalena, que son zonas en conflicto. Antioquia abarca casi el 70% de la superficie plantada de banano y la mayoría es para exportación (Arias, Dankers, Liu, &

Pilkauskas, 2004). Colombia fue el principal exportador de bananos a la UE y a Suiza en 2013, con participaciones de mercado equivalentes al 25,5% y al 27,1%, respectivamente (Muñoz, 2014).

Colombia exportó 1.720.708,53 Toneladas de banano en 2012. Estas exportaciones le generaron al país USD 763.8 millones en divisas (Asbama, 2013). En el Magdalena, la agroindustria bananera representa el 51% del PIB agrícola y el 13,1% del área cosechada del departamento. Así mismo, participa con el 22,7% del PIB agrícola y el 13,2% del área cosechada del departamento de la Guajira, de este modo, el banano reafirma su posición en la región como el principal producto de exportación del Magdalena y principal producto agrícola exportable de la Guajira (Asbama, 2013).

El departamento del Magdalena hace parte de las regiones naturales de la Sierra Nevada de Santa Marta y Valle del Bajo Magdalena, la actividad bananera de este departamento comenzó a finales del siglo XIX y genera 8.000 empleos directos y 24.000 indirectos, exporta anualmente alrededor de 22.000.000 de cajas de banano, generando ingresos por valor de aproximadamente 170.000.000 de dólares a la economía nacional (AUGURA, 2013).

En cuanto al Urabá Antioqueño, la actividad bananera se desarrolla desde 1960 en el llamado eje o corredor bananero que conforman los municipios de Chigorodó, Carepa, Apartadó y Turbo. A la fecha, hay 35.000 hectáreas en producción, genera 24.000 empleos directos y 72.000 indirectos, exporta anualmente alrededor de 72.000.000 de cajas de banano, es decir, unas 1.440 toneladas, generando a la economía nacional ingresos anuales por valor de 576 millones de dólares y participando con el 35% en el total de las exportaciones antioqueñas y con el 4% en el total de las exportaciones a nivel nacional (Castillo, et al., 2011).

### 5.1.5. Fertilización del cultivo de banano

El principio fundamental de la fertilización en el cultivo del banano es proveer a la planta, a través de todo el ciclo de vida, los nutrimentos necesarios para el crecimiento y producción, teniendo en cuenta que para la aplicación de abonos se debe conocer la fertilidad del suelo y los requerimientos del cultivo de plátano (López & Espinosa, 1995). Para que la aplicación de nutrientes sea eficiente y económica, la recomendación se debe basar en el análisis de suelos (Palencia, Gómez, & Martín, 2006). En una producción sostenible establecida en suelos ácidos, se recomienda aplicar un mes antes de la fertilización, 200 gramos de cal dolomita, más 2 kilogramos de materia orgánica por planta/año, elementos que se deben fraccionar por partes iguales en el primero y segundo semestre, aplicados antes del periodo de lluvias (Palencia, Gómez, & Martín, 2006).

Una de las mejores estrategias en el cultivo del banano es el uso de fórmulas completas, ya sean físicas o químicas, que llenen todas las necesidades nutricionales de la planta en el momento de la aplicación (López & Espinosa, 1995). No hay restricciones en cuanto a los tipos de fertilizantes apropiados, primando para su elección, criterios de costos por unidad de nutriente, y el balance apropiado en un programa que incluya a todos ellos, en particular los principales, N, K, P, S y Mg (Figueroa & Lupi, 2004). Estudios realizados en 19 países productores de banano permitieron conocer que las dosis de fertilizantes recomendadas alcanzarían a 211 kg N/ha/año, 35 kg P/ha/año y 323 kg K/ha/año (Figueroa & Lupi, 2004).

Algunos ejemplos de fertilizantes en fórmulas físicas dados por López & Espinosa (1995) en el manual de nutrición y fertilización del banano desarrollado en Ecuador, son 14-2-25-7 (26%  $\text{SO}_4^{2-}$ ) y 17-4-29 (11%  $\text{SO}_4^{2-}$ ) (los números corresponden al porcentaje de N,  $\text{P}_2\text{O}_5$ ,  $\text{K}_2\text{O}$  y MgO en la fórmula). López & Espinosa (1995) nombran otras fórmulas comunes como: 15-3-25-6 y 15-3-31; Figueroa & Lupi (2004), también reportan fórmulas como: 14-2-25-26-7 o

14-4-29-11-6 (corresponden a N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O, S y Mg respectivamente). Los porcentajes de nutrientes de la fórmula pueden ajustarse de acuerdo a la recomendación de análisis de suelo / planta que permite algún grado de manejo de nutrientes por sitio específico (Figueroa & Lupi, 2004).

Otra alternativa para disminuir las pérdidas de fertilizantes en zonas lluviosas es el uso de fertilizantes de liberación lenta o controlada. El uso de abonos orgánicos como complemento de la fertilización química, es una práctica corriente en algunas zonas bananeras del mundo; la materia orgánica mejora la estructura del suelo, aumenta la capacidad de retención de nutrimentos y funciona como estimulante del sistema radicular (López & Espinosa, 1995).

#### **5.1.6. Fertilizantes fosfatados**

La historia de los fertilizantes fosfatados inicia hacia 1840, cuando Liebig publicó resultados sobre el uso de huesos molidos como nutriente vegetal; que al agregarles ácido sulfúrico se obtenían mejores resultados. En 1861 se produjeron 150.000 toneladas de superfosfato en Inglaterra y por 1961 surge el diamoniaco como nuevo fertilizante, tan solo 5 años más tarde, la escasez de azufre impone nuevos problemas que derivan en procesos productivos y distintos productos (Morel, 1971). Entre 1950 y 1995 se aplicaron alrededor de  $600 \times 10^6$  t de fertilizantes fosforados en el mundo, principalmente en áreas agrícolas (Carpenter, et al., 1998). Como consecuencia de las aplicaciones continuas de fertilizantes fosfatados a dosis altas, la mayoría de los suelos agrícolas generalmente contienen grandes reservas de fósforo acumulado (Walpola & Yoon, 2012).

Cuando se aplican fertilizantes fosfatados al suelo, a menudo se hacen insolubles y se convierten en complejos, tales como fosfato de calcio, fosfato de aluminio y fosfato de hierro (Walpola & Yoon, 2012), aproximadamente el 95-99% del fósforo presente en el suelo está de forma insoluble (Pradhan & Sukla, 2005), y alrededor del 75 al 90% fertilizantes

fosfatados solubles en agua se precipitan mediante la formación de un complejo con ciertos elementos del sistema de suelo (Khan, Zaidi, Ahemad, Oves, & Wani, 2010) aspectos que se traducen en consumo de energía y detrimento económico del productor.

En Colombia la llamada roca fosfórica es la fuente de fósforo más utilizada en los fertilizantes agrícolas. Esta contiene aproximadamente un 30% de  $P_2O_5$  y generalmente viene acompañada con otros elementos tales como nitrógeno y potasio (NPK). Los fertilizantes fosfatados se obtienen como resultado del procesamiento químico y térmico de la fosforita y la apatita, obteniéndose superfosfatos, superfosfatos dobles, termofosfatos, etc; los fosfatos tricálcicos se utilizan para la fabricación en especial de los superfosfatos (GI. Georecursos, 2005).

#### **5.1.7. Biofertilizantes**

La interpretación del término biofertilizante es muy amplia, significando desde microorganismos, abonos verdes y estiércoles, hasta extractos de plantas. Para el presente estudio, se referirá a la actividad microbiana y sus aplicaciones en los sistemas de producción. En Colombia, según la Resolución 0698 del 4 de febrero de 2011 del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), un insumo biológico se define como “Sustancia o mezcla de sustancias que contienen microorganismos viables benéficos que no debe contener microorganismos patógenos a humanos, plantas y animales”.

Muchos hongos, bacterias, actinomicetos y otros microorganismos, pueden realizar funciones como: la fijación del nitrógeno atmosférico, la solubilización de elementos minerales o la mineralización de compuestos orgánicos, mejorando la estructura del suelo por su contribución a la formación de agregados estables en el suelo de manera natural (Grageda, Díaz, Peña, & Vera, 2012), y cumpliendo con funciones de antibiosis, estimulación del crecimiento y desarrollo vegetal, entre otras (Dibut, 2009).

Estos procesos naturales, han atraído la atención de muchos investigadores, interesados en una agricultura más sostenible, quienes han estudiado los mecanismos de acción de los microorganismos y su aplicación, garantizando así la obtención de productos ecológicos, que cumplan toda la normativa de calidad e inocuidad, y que a su vez permitan alcanzar los rendimientos que ofreció en su momento la revolución verde, la cual es un conjunto de prácticas con una fuerte oposición debido a la continua demanda de fertilizantes inorgánicos a los que se enfrentan esquemas convencionales de producción, los cuales deberían ser sustituidos parcial o totalmente (Goldstein & Krishnaraj, 2007; Khan, Zaidi, Ahemad, Oves, & Wani, 2010).

Si bien, el uso de microorganismos es tan antiguo como la agricultura misma, por parte de las distintas y distribuidas culturas indígenas y campesinas de todo el mundo, es en los años 50 donde se adelantaron los primeros trabajos sobre microorganismos solubilizadores de fósforo a nivel industrial. La desaparecida Unión Soviética fue el primer país interesado en aprovechar la potencialidad de algunos microorganismos capaces de solubilizar nutrientes en formas disponibles para plantas; en consecuencia, apareció la fosfobacteria, el primer biofertilizante producido en el bosque soviético y en algunos países de Europa Oriental (Sperber, 1956 citado por Rodríguez & Rubiano, 2002).

Aunque por casi 100 años se han producido comercialmente inoculantes a base de *Rhizobium* spp., con las crisis energéticas en la década de 1970, el estudio de los biofertilizantes avanzó rápidamente en algunos países europeos y asiáticos; sin embargo, el avance fue menor en países latinoamericanos (Grageda, Díaz, Peña, & Vera, 2012).

## **5.2. Marco Geográfico**

La presente investigación fue desarrollada en tres zonas de Colombia: la zona 1 corresponde al departamento de Cundinamarca, esta zona ofrece un contraste en la producción de banano, debido a su producción a pequeña escala y usualmente cultivado como policultivos acompañados de especies agrícolas y forestales como café, cítricos, yuca, guatila, cacao, cedro entre otros; la zona 2 corresponde al departamento de Antioquia y la zona 3 al departamento del Magdalena.

### **5.2.1. Zona 1 (Cundinamarca):**

La variada topografía del departamento, hace posible que se presente la diversidad de climas propios de la zona tropical. El departamento goza de una posición favorable dentro de la región Andina porque cuenta con todos los pisos térmicos, desde el cálido con el del valle del río Magdalena y el piedemonte de los Llanos Orientales, hasta el páramo como el del Sumapaz lo que ofrece grandes posibilidades en términos de diversificación de producción agrícola y en general, de utilización del suelo (Gobernación de Cundinamarca, 2013). En este departamento se realizaron los muestreos en dos municipios los cuales fueron:

- ✓ El municipio de Albán, presenta los siguientes límites geodésicos: por el norte con los Municipios de Villeta y Sasaima, por el occidente con el Municipio de Guayabal de Siquima, por el Sur con el Municipio de Anolaima y por el Oriente con los Municipios de Sasaima y Facatativá; sus coordenadas geográficas son de 4° 53' latitud norte y 74° 26' latitud oeste; sus altitudes que oscilan entre los 1500 m.s.n.m. en su parte baja y los 3100 m.s.n.m. en sus cerros más altos, encontrándose su cabecera municipal a los 2246 m.s.n.m.; tiene una temperatura promedio de 16°C (Alcaldía de Albán - Cundinamarca, 2015).
- ✓ El municipio de La Vega, se encuentra ubicado en la provincia del Gualivá, cuenta con una extensión de 15.352 Ha (153.52 Km<sup>2</sup>), de las cuales 94 Ha corresponden al

área urbana, su cabecera municipal se halla a 1.230 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.) y cuenta con una temperatura promedio de 22°C; en cuando al sector agrícola los cultivos predominantes son el café con 1.150 hectáreas, la caña de azúcar 220 hectáreas, el plátano 400 hectáreas en asocio con otros cultivos y 17 hectáreas en monocultivo en las veredas de tierras viejas, tabacal, Chupal y la Alianza, entre otros (Alcaldía de La Vega- Cundinamarca, 2015).

### **5.2.2. Zona 2 (Antioquia):**

El relieve variado del departamento está representado, por una parte, por áreas planas que comprenden las dos terceras partes del total del suelo, y que están localizadas en el valle del Magdalena, en Bajo Cauca, en las zonas próximas al departamento del Chocó, y en las zonas próximas a la costera región de Urabá; y por otra parte, el relieve está conformado por una extensa área muy montañosa que hace parte de las cordilleras Central y Occidental de los Andes, que componen una tercera parte del suelo antioqueño, y en la cual sobresalen 202 altos importantes, con elevaciones que oscilan entre los 1.000 y los 4.080 m.s.n.m.

(Gobernación de Antioquia, 2012). En este departamento se realizaron los muestreos en dos municipios los cuales fueron:

- ✓ El municipio de Apartadó, se encuentra ubicado en la zona noroeste del departamento de Antioquia en las coordenadas 7°52' 40" de latitud norte y 76° 37' 44" de longitud oeste, los límites municipales de Apartadó son: por el norte con el Municipio de Turbo, por el oriente con el Departamento de Córdoba, por el sur y occidente con el Municipio de Carepa (Universidad del Valle, 2008). La altitud de la cabecera es de 25 m.s.n.m., el área total del municipio es de 600 Km<sup>2</sup> de los cuales 5,65 km<sup>2</sup> pertenecen al área urbana, la temperatura promedio es de 28°C (Universidad del Valle, 2008). La economía del

municipio se basa en los cultivos de banano, plátano, maíz, yuca y cacao (Alcaldía de Apartadó - Antioquia, 2015).

- ✓ El municipio de Chigorodó, tiene una temperatura promedio de 28°C, limita por el norte con el municipio de Carepa, por el este con el departamento de Córdoba, por el Sur con los municipios de Mutatá y Turbo y por el oeste con el municipio de Turbo, la altitud de la cabecera municipal es de 34 m.s.n.m., la economía del municipio se basa en agricultura (Banano, Arroz, Plátano, Maíz, Yuca), ganadería, minería y artesanías (Alcaldía de Chigorodó- Antioquia, 2015).

### **5.2.3. Zona 3 (Magdalena):**

El departamento del Magdalena se localiza al norte del país sobre la margen oriental del Río del mismo nombre que cubre la parte baja y plana hasta encontrar las costas del Mar Caribe, las cuales se extienden desde la desembocadura del Río Magdalena, hasta la Boca de Palomino, sitio limítrofe con el Departamento de la Guajira, su temperatura promedio es de 30°C, con una altitud aproximada de 2 m.s.n.m. La economía del departamento del Magdalena está centrada en las actividades agropecuarias, ganaderas, turísticas y portuarias. Los productos que se cultivan son el algodón, arroz, banano, palma africana, tabaco y algunos frutales (Gobernación del Magdalena, 2012). En este departamento se realizaron los muestreos en el municipio de Zona Bananera (Prado, Sevilla).

El Municipio de Zona Bananera está localizado al norte del Departamento del Magdalena, se encuentra localizado entre los paralelos 10° 39' y 10° 55' Latitud Norte y entre los meridianos 74° 06' y 74° 17' oeste de Greenwich y a una altura de 30 m.s.n.m, limitando por Norte con el municipio de Ciénaga (Quebrada de Aguja); al Sur con el municipio de Aracataca (agua divisoria del río Tucurínca); al Oriente con el municipio de Ciénaga (pie de monte Sierra Nevada de Santa Marta) y al Occidente con el municipio de Pueblo Viejo

(terrenos de aluvión de la Ciénaga Grande de Santa Marta); cuenta con una temperatura promedio de 29°C, y la economía se basa principalmente en la agricultura (banano, palma, pan coger), seguido por la ganadería y el comercio (Alcaldía de Zona Bananera - Magdalena, 2015).

### **5.3. Marco de antecedentes**

#### **5.3.1. Antecedes en investigaciones relacionadas con Hongos Solubilizadores de Fosforo (HSP)**

En Colombia se reportan varias investigaciones relacionadas con el aislamiento y evaluación de hongos solubilizadores de fosfatos, tales como las realizadas por Vera, Perez, & Valencia, 2002a en la rizósfera de Arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh), las cuales reportan aislamientos de *Paecilomyces* spp; *Aspergillus flavoclavatus*; *Penicillium janthinellum*; *Gliocladium catenulatum*; *Trichoderma* spp; *Trichoderma aureoviride*, *Fusarium* spp, entre otros. En laboratorio, cepas de *Trichoderma* spp, *Trichoderma aureoviride* y *Aspergillus aculeatus* demostraron una mayor capacidad solubilizadora de los fosfatos de calcio, mientras que para el fosfato de hierro fueron encontrados hongos como *Aspergillus oryzae*, *Paecilomyces* spp, *Gongronella butleri* y *Fusarium oxysporum* los cuales obtuvieron mejores resultados. Vera, Perez, & Valencia, 2002a mencionan que *Aspergillus* spp. podría ser utilizado en la elaboración de biofertilizantes, de no ser porque podría resultar patógeno bajo ciertas circunstancias y sobre algunas plantas de cultivo. Los mismos autores realizaron estudios de distribución de los microorganismos solubilizadores de fosfatos (MSP) en microhábitats (suelo control y rizosférico) en 2 parcelas con cultivos de Arazá (*Eugenia stipitata*), por unidad fisiográfica. El estudio demuestra que existe una mayor colonización y proporción de micelio activo de los HSP, en microhábitats de la rizósfera, respecto a suelo libre de raíces, esto se le atribuyó a que escasez de elementos nutritivos que pueden limitar la actividad

metabólica de los hongos, en el estudio no existió homogeneidad entre unidades muestreadas de un mismo paisaje respecto a la composición de especies.

Posada, Sánchez, Sieverding, Aguilar, & Heredia, (2012) realizaron un estudio, donde se buscaron relaciones entre los hongos filamentosos y solubilizadores de fosfatos con algunas variables edáficas y manejo de cafetales, en Colombia y México. Obtuvieron como resultado el aislamiento de 76 hongos filamentosos (36 para Colombia y 40 para México) solubilizadores de fósforo de hierro (PFe) y fósforo calcio (PCa). Los autores encontraron que los aislamientos de los géneros *Chaetomium*, *Aspergillus* y *Fusarium* fueron comunes a ambas zonas geográficas. Entre los aislamientos, *Fusarium* spp. y *Cylindrocarpon* spp. en Colombia y *Penicillium* spp. en México, fueron los géneros que más contribuyeron a la riqueza de especies en el número de hongos solubilizadores de PFe y HSP-(Fe+Ca). Los investigadores también encontraron que las diferentes intensidades de manejo se relacionaron negativamente con HSP-Fe en cafetales colombianos.

Galindo, Sánchez, & Polonía, (2006), realizaron muestreos en rizósferas de manglares *Avicennia germinans* y *Rhizophora mangle* del Caribe Colombiano, donde evidenciaron la eficiencia fosfatosolubilizadora *in vitro* del hongo filamentosos *Aspergillus niger* y dos bacterias no identificadas. En el estudio se señala, que los valores medidos de actividad solubilizadora indican un excedente de fosfatos para al menos ocho aislamientos según datos de crecimiento, lo que sugiere que los HSP, hacen parte de un mecanismo presente en el ecosistema, para suplir deficiencias edáficas de fosfatos.

Otros estudios como los adelantados por Hernández, Carrión, & Heredia (2011), abren nuevas posibilidades de investigación, como lo son las de control biológico. En su estudio con *Paecilomyces lilacinus* aislado de juveniles de *Globodera rostochiensis*, afirma que ésta especie tiene eficientes capacidades solubilizadoras *in-vitro* en especial con fosfato de calcio, y sugiere se hagan pruebas en campo, para que puedan ser evaluadas, en interacción con otros

microorganismos, además advierten que es probable que el principal mecanismo de solubilización sea la producción de ácidos orgánicos ya que en presencia de fosfato de hierro, *P. lilacinus* inmovilizó la mayor parte del fósforo solubilizado y dejó una proporción mínima disponible. Estos hallazgos podrían ser eje de investigación alternativa ante el uso de nematicidas que han esterilizado suelos bananeros por su contenido en cobre (PNUMA, 2010).

En el mundo, el estudio de los microorganismos solubilizadores de fosfatos posee un papel muy importante, ya que, estos están involucrados en procesos del ecosistema que implican la transformación del nitrógeno y el fósforo, y ejercen efectos estimulantes sobre las plantas, las cuales a su vez, seleccionan y estimulan a las comunidades microbianas a través de la secreción de exudados radiculares. Aunque éstas relaciones pueden estar condicionadas al tipo de suelo, es necesario realizar más investigaciones para establecer vínculos entre todos estos factores (Cerón & Aristizábal, 2012).

En Brasil el estudio de Oliveira, *et al.* (2009), reporta aislamientos de microorganismos solubilizadores de fosfato en la rizósfera de un cultivo de maíz como *Streptomyces platensis*, *Aspergillus terreus*, *Bacillus* sp, *Burkholderia* sp, *Talaromyces rotundus*; *Penicillium citrinum*. Los autores mencionan que éstos microorganismos son más eficientes en la solubilización de fuentes de P de aluminio, fitatos, y lecitina en relación con algunas bacterias halladas en el estudio; además presume que la eficiencia de los HSP está relacionada con una mayor diversidad microorganismos P-solubilizantes y de sus interacciones. El autor establece como discusión la posibilidad de que los microorganismos podrían contribuir a la solubilización dependiendo del genotipo de la planta, debido a la respuesta de los organismos a diferentes raíces y sus patrones de exudación, especialmente cuando las plantas están bajo estrés ambiental.

Otros estudios como el de Osorio & Habte (2001), reportan sinergias positivas entre HSP y hongos micorrizicos arbusculares en *Leucaena leucocephala* en suelos de Hawai. Los autores aislaron microorganismos capaces de solubilizar roca fosfórica, y seleccionaron a *Mortierella* sp, para realizar evaluaciones en invernadero y comprobar la absorción de fósforo y el crecimiento de *L. leucocephala* con o sin el hongo de micorriza *Funneliformis aggregatum*. El estudio reveló que las plantas colonizadas por ambos microorganismos tenían el mayor contenido de fósforo, seguido por plantas inoculadas con solo los hongos de micorriza arbuscular. Además también indican que *Mortierella* sp. aumentó el contenido de fósforo en las plantas con micorriza un 13% en suelo no fertilizado y en un 73% en el suelos fertilizado con roca fosfórica y que el grado de sinergia fue más pronunciado en términos de absorción de P que en términos de crecimiento.

Una de las investigaciones que más se acercan a la utilización de microorganismos solubilizadores de P y banano (*Musa* spp), es la realizada por Ezz, Aly, Saad, & Shaileb (2011) en suelos semiáridos, arenosos, en la que se hace una comparación entre la fertilización con fósforo y microorganismos eficaces (EM1 - biofertilizante) evaluando el crecimiento, rendimiento y calidad del banano (fruta). Como resultados, el tratamiento 40 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>+EM1 resultó ser el que arrojó los mejores resultados en todos los parámetros de productividad. El biofertilizante utilizado estaba compuesto principalmente de microorganismos fijadores de nitrógeno como *Rhizobium* sp., *Azotobacter* sp., *Azospirillum* sp., *Azolla* sp., algas verdes-azules, micorriza arbuscular y microorganismos como *Bacillus* sp.y *Pseudomonas* sp.. Cabe destacar que los componentes nutricionales de la fruta también presentaron mejores resultados.

## **6. MÉTODOS**

### **6.1. Descripción del área de estudio**

La presente investigación se desarrolló en tres departamentos los cuales fueron denominados como zonas, de la siguiente manera: Zona 1 corresponde al departamento de Cundinamarca, esta zona ofrece un contraste en la producción de banano, debido a su producción a pequeña escala y usualmente cultivado como policultivos. La zona 2 corresponde al departamento de Antioquia (Urabá) y la zona 3 al departamento del Magdalena (Zona Bananera), departamentos reconocidos por la mayor producción bananera a nivel nacional.

#### **6.1.1. Zona 1. Cundinamarca**

Este departamento se encuentra a una altura promedio de 1515 m.s.n.m. y presenta manejo tradicional y cultivos asociados con especies agrícolas y forestales como café, cítricos (limón, naranja, mandarina), banano, yuca, guatila, cacao, cedro, entre otros (Gobernación de Cundinamarca, 2013). El muestreo de suelo se realizó en época seca con precipitaciones promedio de 131,56 mm en el mes de julio del año 2013. En la Figura 1, se puede observar la ubicación geográfica y en la Tabla 3 las características de las 4 fincas de zona 1 correspondiente al departamento de Cundinamarca.

Tabla 3. Características geográficas de las fincas de zona 1- Cundinamarca

Municipio	Finca	Nombre	Coordenadas	Altitud (msnm) (aproximadamente)
La Vega	1	Campo Alegre	5°01'16.0"N 74°18'18.0"O	1.435
	2	El Recuerdo	4°58'09.3"N 74°22'07.1"O	1.383
Albán	3	El Bohío	4°55'07.8"N 74°26'03.0"O	1.579
	4	San Enrique	4°54'08.2"N 74°26'08.5"O	1.661

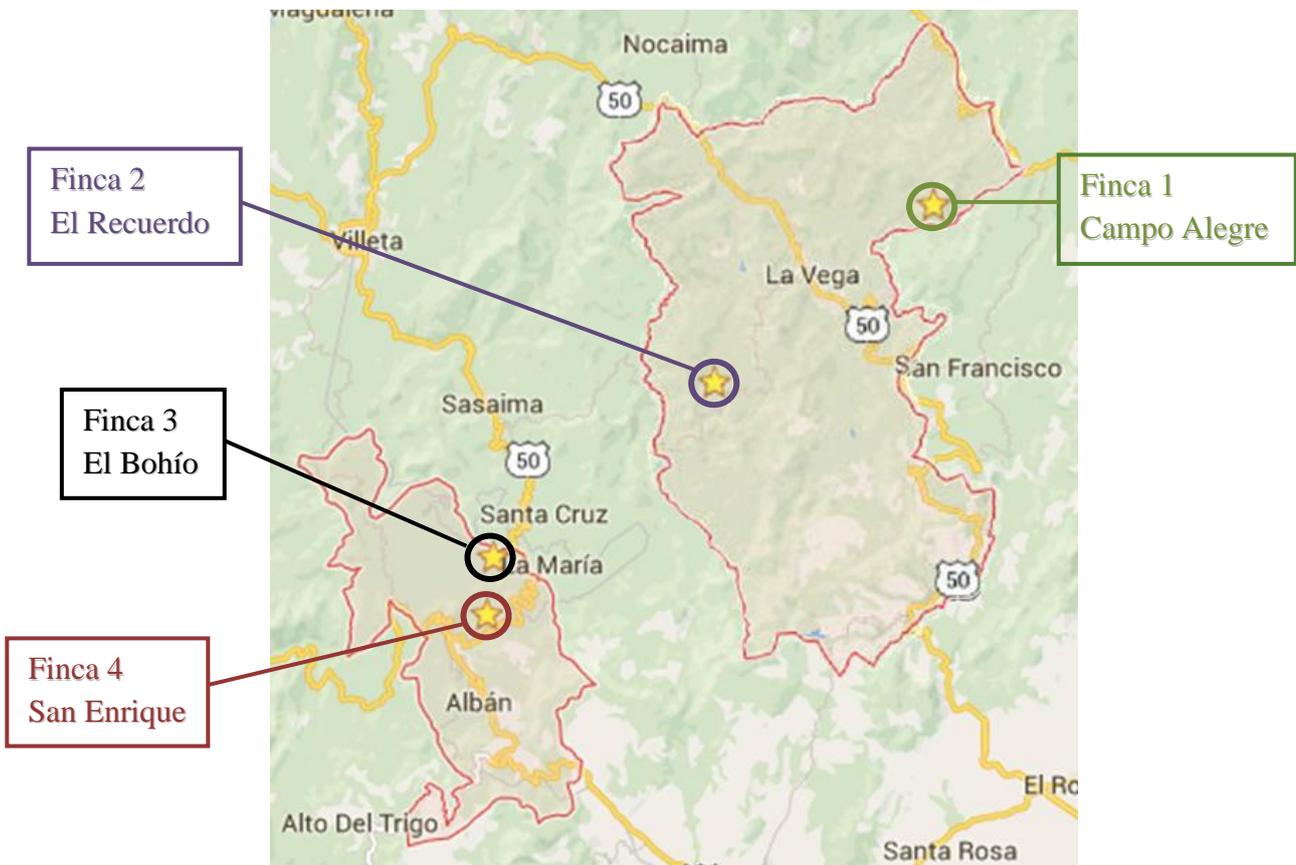


Figura 1. Ubicación geográfica de las fincas de zona 1- Cundinamarca

### 6.1.2. Zona 2. Urabá

Presenta suelos tipo Inceptisol y Entisol (IGAC, 2011), una altura promedio de 27 m.s.n.m. y manejo convencional tipo monocultivo. El muestreo de suelo se realizó en época seca con

precipitaciones promedio de 193,02 mm en el mes de julio. En la Figura 2, se puede observar la ubicación geográfica y en la Tabla 4 las características de las 4 fincas de zona 2 correspondiente al departamento de Antioquia.

Tabla 4. Características geográficas de las fincas de zona 2- Urabá

Municipio	Finca	Nombre	Coordenadas
Apartadó	1	Makaira	7°52'07.0"N 76°36'35.3"O
	2	Las Victorias	7°51'45.1"N 76°40'07.5"O
Chigorodó	3	Las Vegas	7°44'08.0"N 76°45'00.3"O
	4	Dallas	7°42'06.1"N 76°43'08.1"O

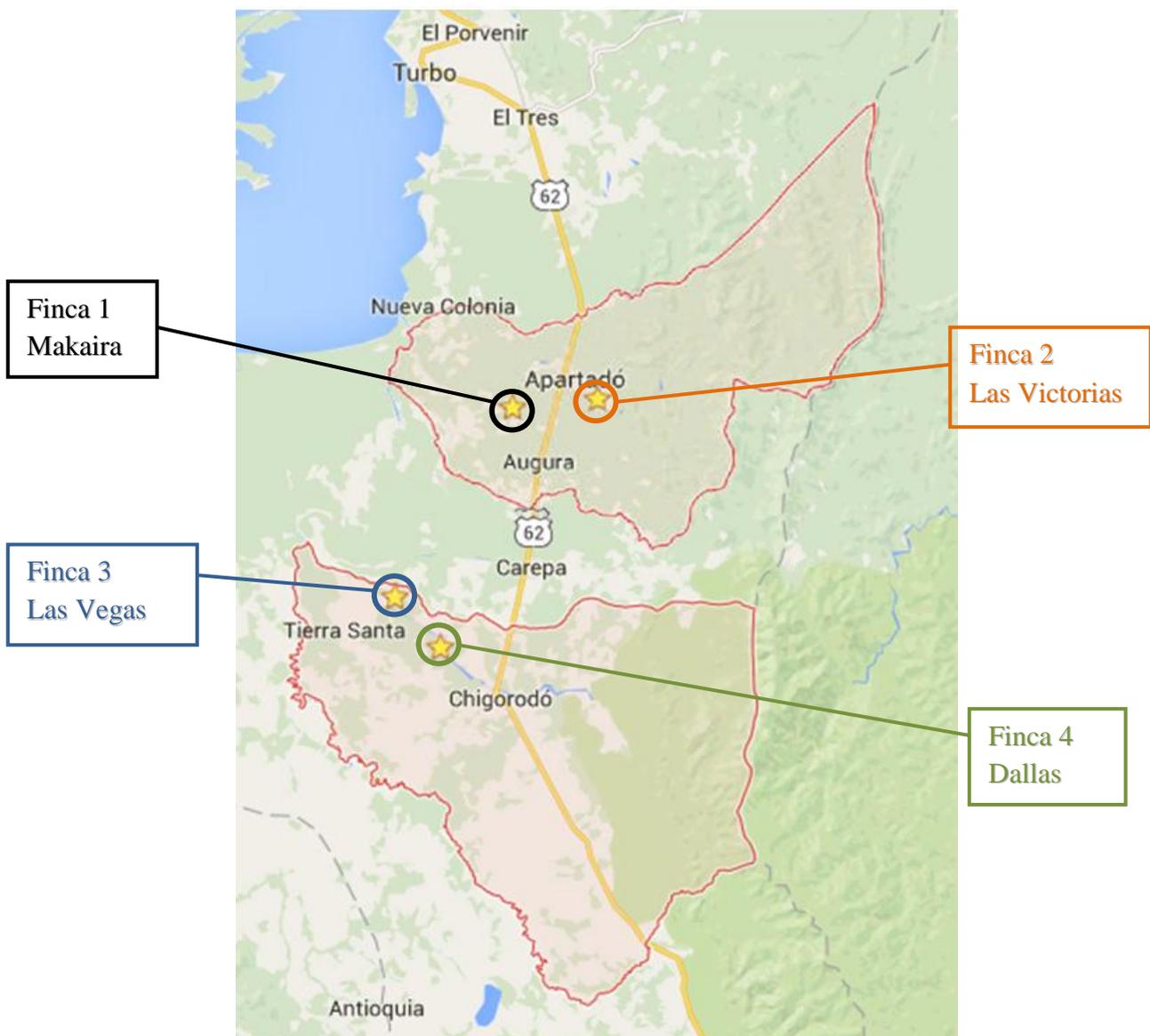


Figura 2. Ubicación geográfica de las fincas de zona 2- Urabá.

### 6.1.3. Zona 3. Magdalena

El municipio de zona bananera (Prado Sevilla), presenta suelos tipo Alfisol (Sanclemente, 2011), una altura promedio de 30 m.s.n.m. (SDIM, 2014) y manejo convencional tipo monocultivo. El muestreo de suelo se realizó en época seca con precipitaciones promedio de 84,86 mm en el mes de julio. En la Figura 3, se puede observar la ubicación geográfica y en

la Tabla 5 las características de las 4 fincas de zona 3 correspondiente al departamento de Magdalena.

Tabla 5. Características geográficas de las fincas de zona 3- Magdalena

Municipio	Finca	Nombre	Coordenadas
Zona Bananera (Prado Sevilla)	1	La Lorena	10°44'48.0"N 74°09'55.0"O
	2	La Marcela	10°47'00.9"N 74°08'32.7"O
	3	Puerto Carreño	10°54'21.0"N 74°12'09.1"O
	4	La Eloísa	10°53'08.0"N 74°09'17.0"O

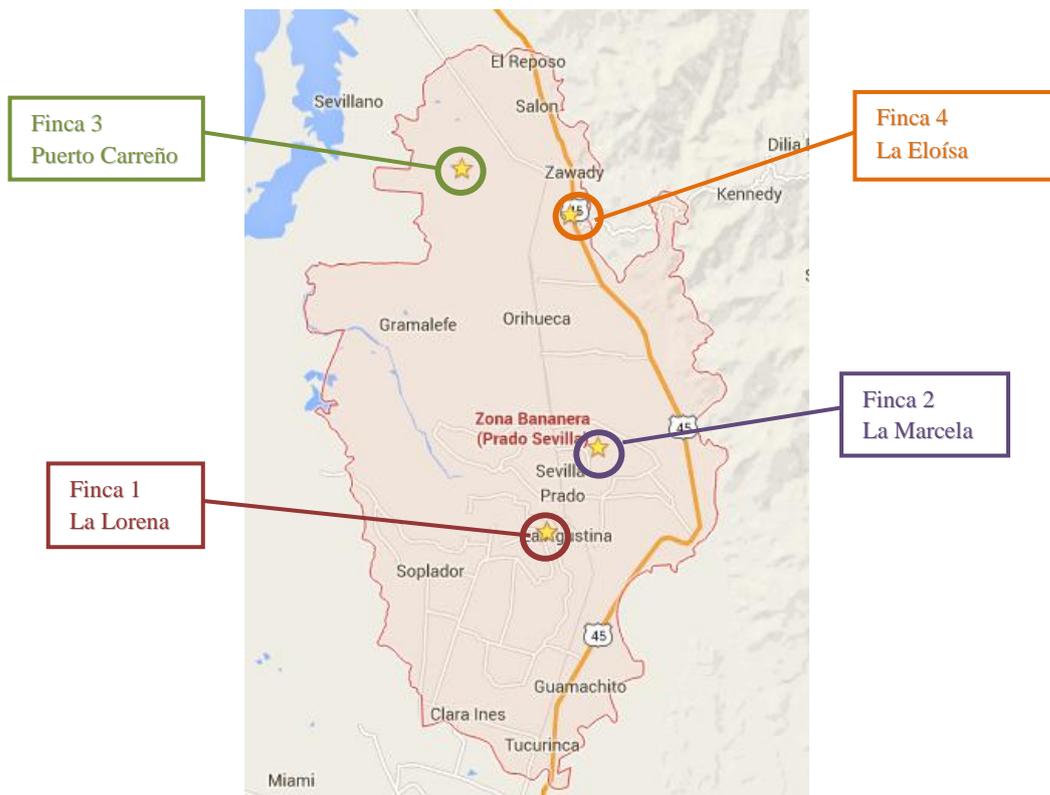


Figura 3. Ubicación geográfica de las fincas de zona 3- Magdalena

## 6.2. Muestreos edáficos

Los muestreos de suelos se realizaron entre el 21 de julio y el 10 de agosto de 2013, en época seca, donde fueron seleccionadas cuatro fincas de banano, separadas por al menos 20 km, y en cada finca se seleccionaron 6 plantas al azar (separadas al menos por 100 m) para realizar el muestreo.

En las tres zonas se empleó como criterio de selección el que las plantas tuvieran la misma distancia de siembra respecto a las plantas próximas, con similar: i) desarrollo fenológico (llenado de racimo), ii) manejo previo (fertilización, fumigación, preparación del suelo, presencia de rocas, irrigación) (IGAC, 2015).

Alrededor de cada una de las plantas se tomaron cuatro submuestras de suelo en cruz alrededor del fuste, a una distancia entre 5-20 cm de la planta seleccionada, las cuales se homogenizaron y se obtuvo una muestra compuesta por planta de un peso aproximado a 1 Kg; para un total de 24 muestras por departamento con sus respectivas contramuestras.

Todos los materiales de muestreo fueron lavados y desinfectados antes y después de tomar las muestras, éstas fueron dispuestas en bolsas de polietileno de cierre hermético con su respectiva etiqueta de codificación; luego transportadas en nevera, a una temperatura de aproximadamente 4°C, hasta la disposición de éstas en el laboratorio (Rosales, Pocasangre, Trejos, Serrano, & Peña, 2008).

A cada una de las muestras, se les realizó un análisis físico-químico. Las valoraciones de suelo fueron realizadas por parte del Instituto Geográfico Agustín Codazzi (IGAC), (Bogotá, Colombia), incluyendo capacidad de intercambio catiónico (CIC), magnesio (Mg), potasio (K), sodio (Na), carbono orgánico (CO), textura y pH, fósforo total y disponible. Para los cuales se utilizaron los siguientes métodos: Textura: Bouyoucos; Acidez intercambiable

(A.I.): con KCl; Conductividad eléctrica (CE): en extracto de saturación; Carbón orgánico (C.O.): Walkley - Black; Fósforo (P) disponible: Bray II; CIC (capacidad intercambio catiónico) y bases intercambiables (magnesio, potasio y sodio): Acetato de amonio 1 normal y neutro; pH: con potenciómetro: suelo, agua.

También se midió el contenido de humedad del suelo, para ello se tomaron muestras de 10 gramos de suelo en bolsas de papel; estas muestras fueron llevadas a un horno mufla a 70°C durante tres días, obteniendo la muestra seca la cual se pesó y con los datos obtenidos se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{Contenido de humedad de la muestra} = \frac{Mh - Ms}{Ms - Mr} * 100$$

Dónde:

Mh = peso recipiente más la muestra de suelo húmedo (g).

Ms = peso recipiente más la muestra de suelo seca (g).

Mr = peso recipiente (g).

### **6.3. Aislamiento y purificación de los hongos solubilizadores de fósforo (HSP)**

Una vez en el laboratorio, cada muestra fue previamente tamizada en seco en una malla de 2 mm, seguidamente se aplicó el método de filtrado de partículas mediante tamizado húmedo descrito por Mueller, Bills, & Foster (2004), para luego sembrar los gránulos de suelo en cajas de Petri con agar Sundara y Sinha (S&S), y finalmente se realizó la purificación de los HSP en Papa Dextrosa Agar (PDA).

Para el método de filtrado de partículas mediante tamizado húmedo, cada muestra fue lavada con 2 litros de agua destilada en tamices de 0,5mm (500µ), 0,25mm (250µ) y 0,125 mm (125µ), obteniendo gránulos de suelo con micelio vivo adherido, sin esporas o propágulos

libres (Gualdrón, Suárez, & Valencia, 1997; Posada, Sánchez, Sieverding, Aguilar, & Heredia, 2012). Los gránulos fueron dispuestos sobre papel filtro en cajas Petri, las cuales se dejaron durante 5 a 7 días en una desecadora de vidrio con sílica gel para su secado.

Una vez obtenidas las muestras secas, se realizó la siembra de gránulos para el aislamiento de HSP, tomando 5 gránulos de suelo y sembrándolos en una caja de Petri con agar S&S, enriquecido con 0.5g/L de fosfato tricálcico (Anexo 1), el cual es un medio indicativo por su facilidad para distinguir el halo de solubilización. El medio se esterilizó en autoclave durante 15 minutos a 22 psi y 121°C, posteriormente se incluyó una mezcla de antibióticos (Cloranfenicol-0.1g/L, Gentamicina-50mg/L, Rifampicina-50mg/L y Tetraciclina-50mg/L), para evitar bacterias y hongos de rápido crecimiento (Posada, Sánchez, Sieverding, Aguilar, & Heredia, 2012). Con el mismo procedimiento fueron realizadas 4 repeticiones, obteniendo en total 20 gránulos por muestra compuesta. Los gránulos de suelo en el medio de cultivo fueron incubados de 3 a 6 días a una temperatura promedio de 21°C (Gualdrón, Suárez, & Valencia, 1997).

Posteriormente, se seleccionaron las colonias con capacidad solubilizadora, evidenciadas por la presencia de un halo claro o transparente alrededor de la colonia fúngica, lo cual indica actividad solubilizadora (Vera, Perez, & Valencia, 2002a). Los hongos obtenidos fueron purificados en medio PDA para su posterior identificación. Para la conservación de las cepas fue utilizado glicerol al 10% como crioprotector (Nopparat, Jatupornpipat, & Rittiboon, 2009).

#### **6.4. Evaluación de la actividad solubilizadora de fosfatos de los hongos seleccionados**

Para la selección de cepas con los mayores valores de capacidad de solubilización, los hongos aislados y purificados, se sometieron a la evaluación de su actividad empleando como fuente

de fósforo, fosfato tricálcico  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  (Vera, Pérez, & Valencia, 2002a; Hernández, Carrión, & Heredia, 2011) en el medio de cultivo S&S e incubados a  $21^\circ\text{C}$  por 8 días.

La selección preliminar de cepas fue realizada mediante la cuantificación de la eficiencia relativa de solubilización (ERS) (Vera, Perez, & Valencia, 2002a; Mahamuni, Wani, & Patil, 2012) midiendo el diámetro con un calibre, los halos de solubilización y la colonia a los 3 y 7 días posteriores a la inoculación (Hernández, Carrión, & Heredia, 2011). La eficiencia relativa de solubilización se cuantificó utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{ERS} = \frac{\text{Diámetro promedio del halo de solubilización (mm)}}{\text{Diámetro promedio de la colonia (mm)}} \times 100$$

Posteriormente, se promediaron los datos de ERS (Figura 4), tanto del tercer como del séptimo día después de la siembra de cada repetición de las cepas aisladas, con el fin de tener un porcentaje de ERS por cepa. Como criterio de selección se tuvieron en cuenta los hongos que tuviesen una ERS superior al 200%.

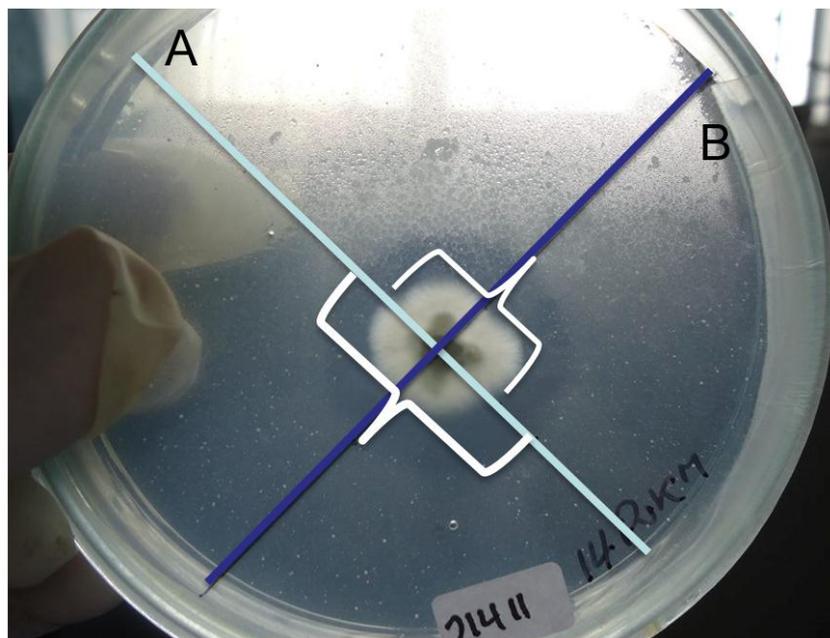


Figura 4. Medición del diámetro del halo de solubilización y de la colonia.

## **6.5. Caracterización e identificación de los hongos solubilizadores de fosfato**

Las cepas fúngicas solubilizadoras de fosfato aisladas y seleccionadas fueron transferidas a medio PDA donde se hizo una caracterización macroscópica y microscópica.

Posteriormente, se procedió a hacer la respectiva identificación a especie y género cuando las características lo permitían, y en caso de no poder hacerlo, los aislamientos fueron catalogados con código y determinadas denominados morfoespecié en forma secuencial (una morfoespecié es una especie no identificada, disímil en características morfológicas).

### **6.5.1. Caracterización macroscópica**

Una vez completados 20 días de aislamiento se procedió a realizar la caracterización macroscópica. Con el fin de clasificar los morfotipos por inspección al estereoscopio, se realizó la observación directa de las colonias aisladas, esta observación constituyó la primera caracterización. Las cepas aisladas fueron agrupadas en el Anexo 2 siguiendo criterios de similitud en caracteres, pigmentación de la colonia, pigmentación y/o plegamiento del medio de cultivo, tamaño, textura y reverso, con estos datos, se construyó una base de datos con los respectivos códigos y fotografías.

### **6.5.2. Caracterización microscópica**

Las estructuras para la descripción microscópica fueron teñidas con azul de lactofenol e identificadas a través del microscopio óptico OLIMPUS CX 31, Modelo CX31RTSF® y la obtención de imágenes se hizo a través de una cámara digital MOTIC 580, resolución 5.0 MP®, en aumentos de 40X y 100X, evidenciando caracteres morfológicos como, hifas, conidiogénesis (células conidiogenas, fiálides conidios y cicatrices) y características de las esporas cuando no correspondía a Deuteromicetes.

### **6.5.3. Identificación**

Para la identificación de los hongos fueron utilizadas las claves taxonómicas de Domsch, Gams, & Anderson, (2007), Barnett & Hunter, (1998), la base actualizada de MycoBank y se contó con la asesoría para la respectiva confirmación de las identificaciones realizadas, de parte de la Doctora Cinthya Ivonne Becerra, la cual obtuvo su maestría y doctorado en Ciencias en el Instituto de Ecología, A.C. Xalapa, Veracruz, además de tener formación en la “Taxonomía de hongos microscópicos asociados a restos vegetales” y en “Fundamentos teóricos y prácticos en la taxonomía de los hongos anamorfos asociados a restos vegetales”.

### **6.6. Evaluación de la homogeneidad**

A fin de conocer si los HPS obtenidos en el presente estudio, presentaban un patrón de aparición en las muestras de la rizósfera de banano, y comprender algunas interacciones y variables que explicaran su posible distribución, una vez aislados e identificados, se evaluó la distribución de las cepas encontradas teniendo en cuenta relaciones de los hongos, respecto las zonas y fincas de muestreo, por medio del uso de tablas de contingencia, las cuales muestran estadísticamente (Mediante prueba de  $X^2$  de Pearson) si existe relación o no, de las cepas con las fincas y/o las zonas de donde fueron obtenidas. Adicionalmente se buscaron otros patrones de distribución, que permitan conocer o hacer una aproximación de su especificidad. Esta evaluación se realizó, con el fin de identificar si existen comunidades concretas de HSP entre fincas y/o zonas o si por el contrario son propios de cada finca.

### **6.7. Análisis de datos**

- ✓ A todas las variables evaluadas se aplicó la prueba de normalidad de Shapiro–Wilk, para aquellas variables que cumplieran normalidad fueron realizadas pruebas de ANDEVA de una vía. Para las otras variables se emplearon pruebas no paramétricas

de Kruskal-Wallis. Aquellas variables que mostraron diferencias significativas fueron separadas entre zonas y aislamientos por medio de la prueba de Tukey. Todos los análisis se realizaron con los programas SigmaStat para Windows versión 3.11 e InfoStat versión 2014.

- ✓ Se realizaron correlaciones parciales en búsqueda de posibles razones tanto de la distribución como de la presencia de los HSP en las zonas de muestreo; para esta prueba se tuvieron en cuenta las características edáficas i) Físicas: Estructurales (arena, limo y arcilla), Humedad; ii) Químicas (K, Mg, Na, capacidad de intercambio catiónico, carbono orgánico, pH, fósforo disponible, fosforo total) vs la presencia de HSP. Adicionalmente se realizó un análisis de factores principales (AFP) de los parámetros edáficos y la presencia de HSP por fincas para determinar cómo afectan cada una de las características edáficas a la variabilidad en las poblaciones de HSP.
- ✓ El análisis de homogeneidad o especificidad (HoE), se realizó con el fin de buscar las tendencias de predominancia de morfoespecies de HSP entre fincas y de esta manera determinar si alguna de estas morfoespecies se asociaba a las plantaciones de banano. Para ello se realizaron tablas de contingencia, las cuales se evaluaron mediante prueba de  $\chi^2$ .
- ✓ Además se realizaron pruebas de correlaciones parciales con el fin de buscar las posibles razones de la diferencia en las ERS de las cepas solubilizadoras más eficientes en relación con los factores edáficos ya mencionados. Cabe destacar que estas pruebas se hicieron solamente para las fincas que presentaron HSP con ERS > 200%.

## **7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **7.1. Caracterización macro y microscópica de cepas seleccionadas**

Una vez seleccionadas las cepas fúngicas con mayor eficiencia, y luego de ser sembradas en cajas Petri con PDA, fueron descritas macroscópicamente (Anexo 2). Microscópicamente, la mayoría de las cepas presentaron aspecto típico de hongos filamentosos; en el Anexo 3 se presentan las caracterizaciones de los aislamientos, con su respectiva descripción, así como su evidencia fotográfica.

En la Tabla 6 se presentan los géneros, especies y/o morfotipos hallados, a partir de las caracterizaciones realizadas. De las 35 cepas identificadas con potencial de solubilización de  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , se identificaron 3 especies, 7 géneros, 9 morfoespecies y una cepa como *Mycelia sterilia*, para un total de 20 taxones macro y microscópicamente disímiles, algunos de ellos citados en la literatura como organismos fosfatosolubilizadores, de importancia en la industria y la agricultura.

Tabla 6. Identificación de hongos fosfatosolubilizadores aislados.

CÓDIGO DE CEPA	MORFOTIPO, GÉNERO Y/O ESPECIE	DESCRIPCIÓN (ver: Anexo 2)	
		Macroscópica	Microscópica
<b>CUNDINAMARCA (ZONA 1)</b>		<b>Pág.</b>	<b>Pág.</b>
H6111.	<i>Penicillium</i> sp. 1	83	95
H7121.	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	83	95
H1121.	<i>Penicillium</i> sp. 2	84	95
H6211.	<i>Penicillium</i> sp. 3	84	96
H5121.	<i>Penicillium</i> sp. 4	85	96
H2111.	Morfoespecie 1	85	97
H3211.	Morfoespecie 2	86	98
H5311.	Morfoespecie 3	86	98
H4131.	<i>Alysidium</i> sp. 1	87	98
H2131.	<i>Humicola</i> sp. 1	87	99
H3341.	<i>Humicola</i> sp. 1	87	99
<b>ANTIOQUIA (ZONA 2)</b>			
H2112.	<i>Penicillium glaucum</i>	88	99
H3112.	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	88	100
H7142.	Morfoespecie 4	88	100
H1112.	Morfoespecie 5	89	100
H5132.	Morfoespecie 5	89	101
H1142.	<i>Penicillium glaucum</i>	89	101
H6132.	<i>Fusarium</i> sp. 1	90	101
<b>MAGDALENA ( ZONA 3)</b>			
H1133.	Morfoespecie 6	90	102
H4243.	Morfoespecie 7	90	102
H3243.	<i>Fusarium</i> sp. 1	91	102
H2213.	Morfoespecie 9	91	103
H4133.	Morfoespecie 8	91	103
H1443.	<i>Aureobasidium</i> sp. 1	92	103
H1113.	<i>Coniothyrium</i> sp. 1	92	103
H5113.	<i>Penicillium</i> sp. 4	92	104
H2313.	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	93	104
H2133.	<i>Humicola</i> sp.2	93	105
H3213.	<i>Mycelia sterilia</i>	93	105
H1343.	Morfoespecie 7	94	105
H2123.	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	94	106
H2113.	<i>Penicillium glaucum</i>	94	106
H5123.	<i>Penicillium glaucum</i>	95	106

<b>H1213.</b>	<i>Aspergillus</i> sp. 1	95	107
<b>H5223.</b>	<i>Penicillium glaucum</i>	95	107

Estudios como los realizados por Cao, You, & Zhou, (2002), reportan símiles aislamientos a los hallados en este estudio en plantas de banano (*Musa acuminata*). Los autores obtuvieron aislamientos de hongos endófitos como *Aureobasidium* sp., *Penicillium* sp. y *Aspergillus* sp. hallados en las hojas de la planta, además de los géneros *Paecilomyces* sp., *Penicillium* sp. y *Fusarium* sp, que fueron aislados a partir de muestras en la rizósfera.

Especies del género *Aspergillus* sp. son bien conocidas por la producción de ácidos orgánicos, como ácidos cítrico, glucónico, glicólico, oxálico y succínico (Pradhan & Sukla, 2005; Khan, Zaidi, Ahemad, Oves, & Wani, 2010; Yadav & Verma, 2012; Walpola & Yoon, 2012), a su vez es reportado como uno de los géneros más eficaces solubilizando fosfatos, debido a su alta actividad de fosfatasas (Tarafdar y Rao, 1996). Sin embargo, su uso ha sido restringido debido a que este género puede ser patógeno bajo ciertas circunstancias y sobre algunas plantas de cultivo (Vera, Perez, & Valencia, 2002a). También se ha encontrado, por ejemplo, que algunas especies de *Aspergillus* son eficientes en la biolixiviación de varios metales pesados, estas especies son tolerantes sobre una amplia gama de factores como temperatura, pH, salinidad, y la desecación (Xiao, Zhang, Fang, & Chi, 2013), y además *Aspergillus* sp, podrían solubilizar el P presente en ocho fuentes de roca fosfórica, dependiendo de la especie fúngica (Khan y Bhatnagar, 1977).

García, Anaya, Flores, Ruíz-González, & Salvador-Figueroa, (2013), reportaron una alta eficiencia de solubilización para cepas de *Penicillium* sp. aislados de la rizósfera de banano clon “Gran Enano” en México; esto podría suponer un factor importante en el uso de este género debido a que Gómez & Zabala, en el 2001, afirman que *Penicillium* sp., poseen una mayor capacidad de solubilización de fuentes insolubles de fósforo cuando es inoculado en

medios acuosos, respecto a cepas de *Aspergillus sp.* como *A. terreus* y *A. niger*. Por su parte Gururaj & Mallikarjunaiah, (1995), sugieren sinergias positivas de *Penicillium glaucum* con la bacteria *Azotobacter chroococcum* y el hongo de micorriza arbuscular *Glomus fasciculatum*, en cuanto a la cantidad fósforo solubilizado y precosidad en la floración en la herbacea *Helianthus annuus L.*, conocida con el nombre común de girasol.

De *P. glaucum* se ha reportado la producción de ácido glucónico, el cual ha sido asociado a la solubilización de fosfatos como: fosfato dicálcico, fosfato tricálcico, y roca fosfórica (Corrales, Arévalo, & Moreno, 2014). Sin embargo, se presume que algunos hongos anteriormente identificados como *Penicillium sp.*, incluyendo *P. glaucum*, son cepas potencialmente correspondientes a *Talaromyces atroroseus*, por su cercano parentesco filogenético. Teniendo en cuenta que especies de *Talaromyces sp.*, tienen como característica la exudación de pigmentos rojos en varios medios de cultivo (Frisvad, *et al*, 2013).

Aunque otros estudios no han demostrado la estabilidad de estos exudados, en el presente estudio las cepas H2112 , H1142, H2113, H5123, H5223 identificadas como *P. glaucum*, aisladas y evaluadas *in vitro* en el laboratorio, no presentaron la difusión de pigmentos en el medio PDA; en contra parte, sí lo hizo la cepa H6211 *Penicillium sp.* 3, lo que hace suponer, que probablemente sea una cepa perteneciente al género *Talaromyces*, por lo cual es importante realizar posteriores identificaciones moleculares de estas cepas aisladas, para poder diferenciar a su vez, su uso como HPS en la industria, debido a que algunos hongos productores de pigmentos extracelulares también pueden producir micotoxinas (Frisvad, *et al*, 2013).

El género *Aureobasidium*, también ha sido reportado previamente con potencial solubilizador de fosfatos de Ca, Fe y Al. En el estudio de Wang, Zhan, & Sun en el 2014, encontraron que el principal mecanismo para la P-solubilización de *Aureobasidium pullulans*,

es la producción de ácidos orgánicos, dentro de los que se encuentran los ácidos cítrico, tartárico y oxálico, siendo este último el más dominante. Pese a que *Aureobasidium pullulans* es una especie biotecnológicamente importante, por su amplia distribución en diferentes ambientes y por la producción de enzimas extracelulares como amilasa, proteinasa, lipasa, celulasa, xilanas, mananasa, transferasas, pululano y sideróforos (Chi *et al*, 2009), Gawas-Sakhalkar, *et al* en 2012 sugieren una nula actividad de producción de fosfatasas como mecanismo de solubilización de  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  en medio Pikovskaya. Por otra parte, especies de *Aureobasidium* sp. han sido aislados de frutos de banano por Tan Gana, (2010) y Alvindia, Kobayashi, Yaguchi, & Natsuaki, (2002), quienes además lo describen como un organismo no patogénico, en frutos de banano sin aplicaciones químicas en pos-cosecha, pese a que fue aislado apartir de una lesión.

*Fusarium* sp. por su parte también ha sido reportado por ser un organismo P-solubilizador en suelos tropicales de Colombia en rizósferas arazá y chontaduro (Vera, Perez, & Valencia, 2002a; Riascos-Ortiz, Sarria-Villa, Agudelo, Gómez-Carabalí, & T., 2011), sin embargo, este hongo es a menudo relacionado con especies patogénicas. Para el caso del banano, la especie *Fusarium oxysporum* f.sp. cubense, es mundialmente conocida por ser causante de la enfermedad denominada “Mal de Panamá”, muy limitante en el cultivo (Rivas & Rosales, 2003), pese a ello, especies de este género no patogénicas han demostrado ser hongos endófitos capaces de parasitar larvas de *Radopholus similis* en cultivos de banano y plátano (Pocasangre, *et al*, 2004).

El hongo *Humicola* sp. también ha sido reconocido en varios estudios como un hongo con capacidad solubilizadora, sobresaliente en medios acuosos (Moratto, Martínez, Valencia, & Sánchez, 2005; Sharma *et al*, 2013). *Humicola grisea* var. *Thermoidea*, a sido estudiado por la producción de hemicelulasas en residuos de tallo, en plátano, además de presentar actividad de pectinasas y xilanasas, que debido a su bajo peso molecular es capaz de penetrar

y modificar de manera más eficiente las propiedades fibrosas del material vegetal (Medeiros *et al*, 2000; Braz, 2004). Un estudio realizado por Radhakrishnan, Khan, Kang, & Lee, (2015), analiza el beneficio para la soya (*Glycine max*), en términos de HPS y crecimiento de la planta bajo estrés salino, utilizando los hongos endófitos *Fusarium verticillioides* y *Humicola* sp. En el estudio encontraron que con respecto al control, la utilización de estas cepas P-solubilizadoras mejoraron la longitud de brotes (7,3% y 2,5%) y contenidos de proteínas (59,1% y 65,1%), destacando también la inhibición del nivel de peroxidación lipídica en las plantas, es decir disminuyendo su estrés oxidativo.

La actividad del género *Paecilomyces* ha sido numerosamente documentada por distintos autores (Vera, Perez, & Valencia, 2002a; Hernández, Carrión, & Heredia, 2011; Sharma *et al*, 2013). En el caso de *Paecilomyces lilacinus* sinonimia de *Purpureocillium lilacinum* (Mycobank, 2015), evidencia actividad de solubilización de fosfatos de calcio y hierro *in-vitro*, sin embargo el interés principal del estudio en éste hongo, se ha centrado alrededor de su uso como controlador biológico. Este hongo ejerce un hábito nematófago en especies como *Meloidogyne incognita*, *Radopholus similis*, y *Rotylenchulus reniformi*, (Hernández, Carrión, & Heredia, 2011); los cuales son considerados como agentes causales de daño de importancia económica en plantaciones de banano en suelos tropicales, ya que por ejemplo *R. similis* puede ocasionar, daños en las raíces de plantas jóvenes, he incluso en cornos, lo que conlleva a la pérdida de peso en racimos y elongación en el tiempo de cosecha (Rivas & Rosales, 2003). *P. lilacinus* produce enzimas tales como proteasas, polisacaridasas, quitinasas y tiene actividad extracelular productora de fosfatasas, igualmente tiene producción de ácidos orgánicos como cítrico, glucónico, málico, y succínico. Además este hongo también es conocido por poseer una actividad metabólica con potencial para remediación en la degradación de herbicidas (Kilama, *et al*, 2007; Romero, Urrutia, Reinoso, & Kiernan, 2009; Rinu, Pandey, & Palni, 2012).

Por su parte, Shukla & Vyas, (2014), plantean una relación entre la actividad P-solubilizadora de controladores biológicos, además del anteriormente mencionado, también de *Paecilomyces fumosoroseus*, que produce ácido oxálico (Borges, Díaz, Juan, Nelis, & Gómez, 2010). Al parecer, muchos de los ácidos orgánicos producidos en la solubilización de fosfatos, tienen relación también con mecanismos usados para ejercer su actividad como entomopatógeno; esto resalta otra funcionalidad de estos microorganismos y su potencial, en diferentes usos, ya que por ejemplo *P. fumosoroseus* es usado comercialmente (FUMOGAN®), como controlador biológico, de mosca blanca (*Trialeurodes* sp. y *Bemisia* sp) en banano, y de otros artrópodos plaga, pero no con el fin de ejecutar una actividad específica para la solubilización de fosfatos en el suelo.

No se encontraron en la literatura reportes de *Alysidium* sp. y *Coniothyrium* sp. como géneros, que posean actividad solubilizadora de fosfato de calcio.

*Alysidium* sp., se reporta como un género hallado principalmente adyacente a afluentes de agua dulce, y en la superficie de los suelos con vegetación leñosa y sustratos minerales como mármol (Burford, Kierans, & Gadd, 2003; Bucher, Pointing, Hyde, & Reddy, 2004), miembros de este género, son capaces de solubilizar compuestos lignínicos, mediante la producción de enzimas con potencial celulolítico (Bucher, Pointing, Hyde, & Reddy, 2004).

El género *Coniothyrium* sp., ha sido aislado en sustratos de rocas como granito, mármol y arena (Burford, Kierans, & Gadd, 2003 ). De este género se destacan especies como *Coniothyrium minitans*, por su potencial uso en la industria y el control biológico como micoparásito, y productor de enzimas que son potencialmente útiles para el control de patógenos y degradación de ácido oxálico (Ren *et al.*, 2007). Otro miembro de este género, *Coniothyrium sporulosum*, ha sido investigado por su capacidad de solubilizar y degradar el fluoreno (Garon, Krivobok, Wouessidjewe, & Seigle-Murandi, 2002); sin embargo, no se

hallaron investigaciones específicas para la solubilización de fosfatos. Mucho de esto se debe a que la identificación de este género, se da gracias a su morfología relativamente simple y que ésta a su vez proporciona pocos caracteres de diagnóstico, por lo tanto, la mayoría de especies se han descrito a partir de su presencia en plantas o desde el suelo, por lo que existen un gran número de morfoespecies no determinadas (Verkley, da Silva, Wicklow, & Crous, 2004). En la rizósfera banano se reportan coincidencias de aislamientos por Li & Zhang, (2005) aunque los autores precisaron que la presencia de éste hongo no fue dominante.

Lo anterior supone un hallazgo de importancia en cepas no descritas como fosfato solubilizadoras, al ser este aparentemente el primer informe que reporte a miembros de *Alysidium* sp. y *Coniothyrium* sp., por lo cual es imperante en estudios posteriores realizar identificaciones mediante métodos moleculares, y estudiar posteriormente sus mecanismos de acción como organismos con potencial en la P-solubilización.

Es relevante hacer notar la presencia de éstos microorganismos en distintos suelos y agroecosistemas abordados en este estudio, aún, en los que han sido utilizados con manejos convencionales de producción, lo cual reafirma que éstos hongos son omnipresentes en el suelo y de allí su importancia investigativa en el ciclaje y suministro de fósforo en formas disponibles para las plantas, así como sus interacciones y sus posibles efectos simbióticos (Khan, Zaidi, Ahemad, Oves, & Wani, 2010; Santos, et al., 2013).

## **7.2. Evaluación in vitro de la actividad solubilizadora de hongos aislados**

### **7.2.1. Eficiencia relativa de solubilización (ERS)**

Las cepas fueron evaluadas *in vitro* para seleccionar aquellas de mayor potencial de solubilización teniendo en cuenta como criterio una eficiencia relativa de solubilización (ERS) mínima del 200%. Se aislaron un total de 66 cepas de las cuales fueron seleccionadas

35 (53%) por su eficiencia al solubilizar fosfato tricálcico en condiciones de laboratorio (Anexo 4). Por zonas, se tiene un porcentaje de selección de 42,3%, 50% y 65,4% correspondientes a zona 1, zona 2 y zona 3, respectivamente (Figura 5).

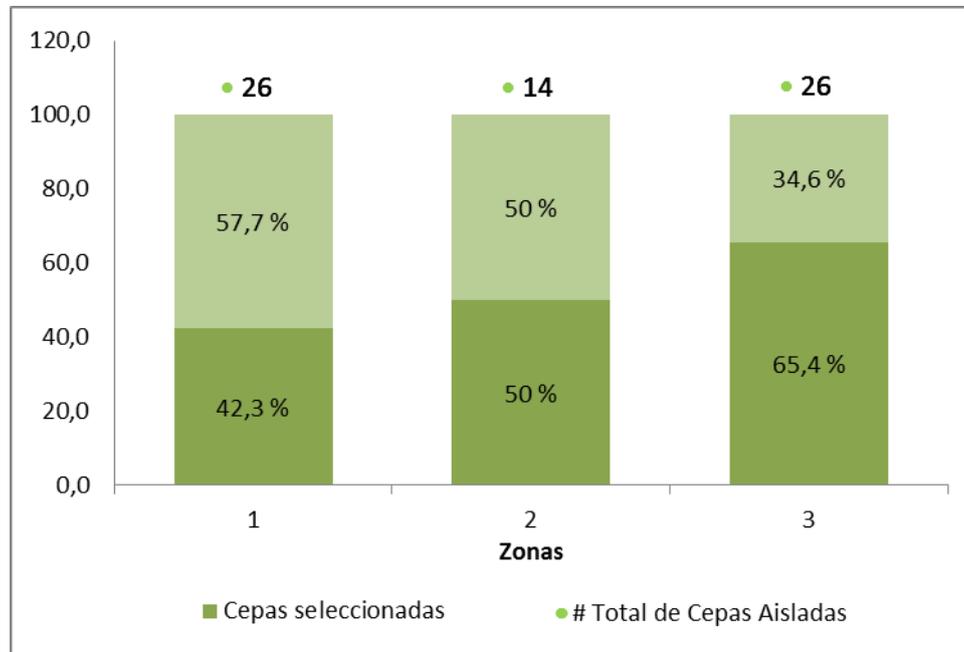


Figura 5. Número total de cepas aisladas y porcentaje de cepas seleccionadas por zonas de estudio

La cepa con mayor ERS, fue la Morfoespecie 6 con una ERS de 412,8 % la cual pertenece a la zona 3, sin embargo no fue estadísticamente diferente de las cepas con mayor ERS (Letra A, Fig. 5) que comprende entre los 293,1% y 407%, e incluye las Morfoespecie 3, 7, 8, 9, *Penicillium* sp.2, *Penicillium glaucum*, *Fusarium* sp.1 y *Paecilomyces lilacinus*.

De igual forma, la cepa con la menor ERS con un 202,5% fue *Fusarium* sp1, identificada con el código H3243 de la misma zona, la cual tampoco tuvo una diferencia significativa con las cepas representadas con la letra B (Figura 6), e incluye *Penicillium* sp.1, sp.2, sp. 3, *Penicillium glaucum*, *Paecilomyces lilacinus*, *Fusarium* sp.1, *Aspergillus* sp.1, *Aureobasidium* sp.1, *Humicola* sp.2 y a la Morfoespecie 7.

Como se puede observar, se obtuvieron distintas ERS para aislamientos de la misma especie, lo cual puede atribuirse a diferencias genéticas dentro de una misma especie (Kajamuhan,

Saslis-Lagoudakis, & Shaw, 2015), así como también la diferencia de origen (zonas), y por tanto sometidas a diferentes condiciones edafoclimáticas. Este hecho es corroborado con la afirmación del estudio de Xiao, Chi, Li, Xia, & Xia en el 2011, los cuales reportan que las cepas difieren en sus capacidades para sobrevivir y liberar P soluble de roca fosfórica bajo diferentes condiciones.

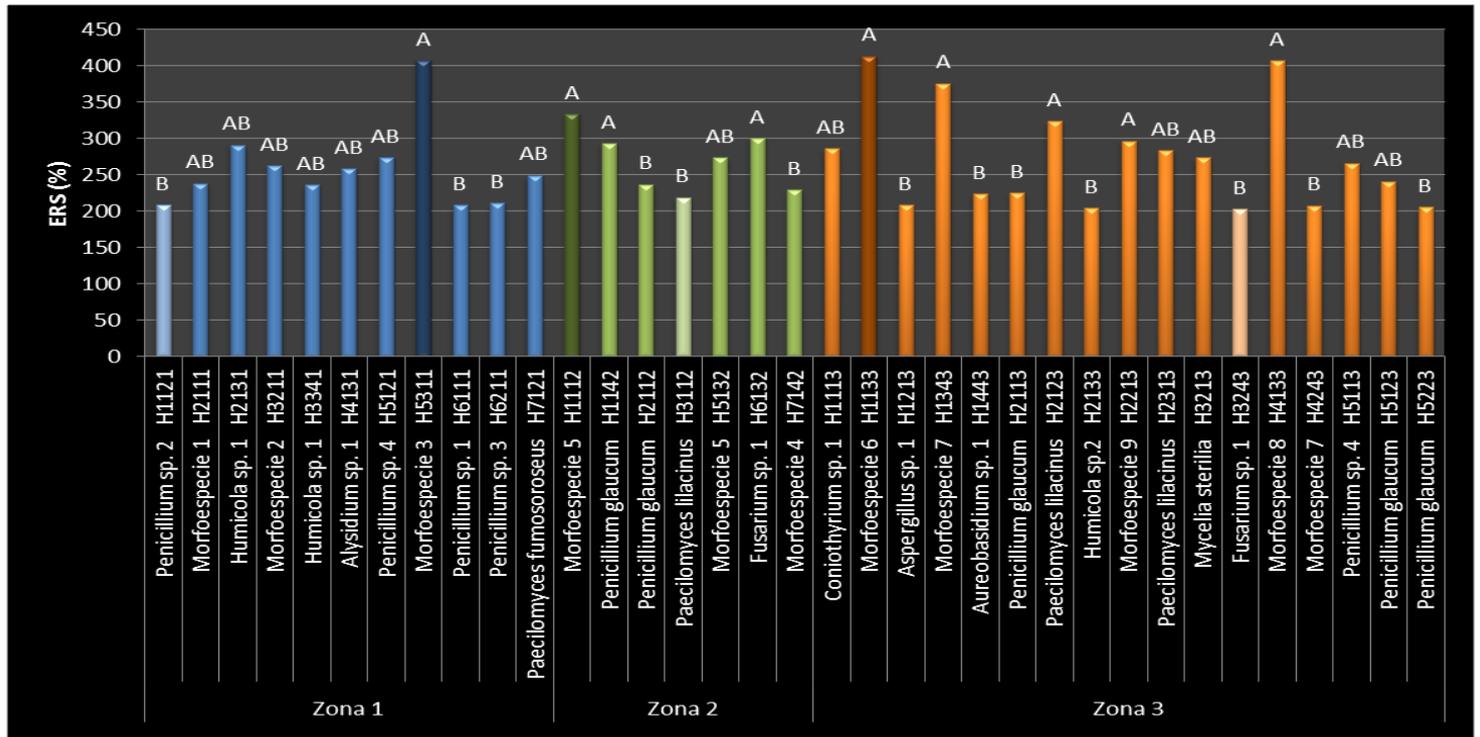


Figura 6. Eficiencia Relativa de Solubilización (ERS) de las cepas de cada zona  
 \*No existen diferencias significativas en la ERS entre de las cepas que comparten las mismas letras.

Al analizar por zonas, la cepa con mayor ERS (406,9%) en la zona de Cundinamarca, corresponde a la Morfoespecie 3 identificada con el código H5311 y la cepa con menor porcentaje de ERS de esa misma zona fue *Penicillium* sp2. con una ERS de 208,2% identificada con el código H1121. Los géneros de hongos solubilizadores más estudiados son *Penicillium* y *Aspergillus* (Chun-Chao et al., 2007; El-Azouni, 2008; Pandey et al., 2008). Según el estudio de Gómez & Zabala (2001), se reportan especies del género *Penicillium* con una capacidad solubilizadora (ERS) entre los 104,8 y 119,5%, el cual es un porcentaje

inferior al resultado obtenido, sin embargo, en el estudio de Useche, Valencia, & Hernando (2004), *Penicillium* spp. presentan una capacidad solubilizadora (ERS) superior con un 420-300%. Esto podría indicar que el *Penicillium* sp2 encontrado en el presente estudio presenta un gran potencial, a pesar de ser una de las cepas que arrojó un menor porcentaje de ERS. Además, se puede decir, que la capacidad solubilizadora de este género depende tanto de la especie como de las condiciones edafoclimáticas.

Mientras que la mejor cepa de la zona 2 (Urabá), con una ERS de 333,4 % fue la Morfoespecie 5 identificada con el código H1112 y la cepa con menor porcentaje de ERS de esa zona fue *Paecilomyces lilacinus* con un 218,2% identificada con el código H3112, ésta especie ha sido reportada como solubilizadora en el estudio de Hernández, Carrión, & Heredia en el 2011, teniendo como resultado la solubilización de fosfato de calcio con una ERS de 298% al décimo día después de la siembra, cifra que concuerda con los resultados de la presente investigación resaltando que *Paecilomyces lilacinus* es considerado una cepa con una gran capacidad solubilizadora.

Para la zona 3 (Magdalena) la Morfoespecie 6 fue la cepa con el mayor valor de ERS con un 412,8 % identificada con el código H1133, y la cepa con la menor ERS con un 202,5% fue *Fusarium* sp1 identificada con el código H3243 de la misma zona. El género *Fusarium* ha sido reportado como solubilizador en el trabajo de Posada, Heredia, Sieverding, & Sánchez en 2013 donde se reportaron diferentes especies del género *Fusarium* sp. como solubilizador de fosfato de calcio con valores de ERS entre 123 y 208%, siendo éste último, el mejor porcentaje de ERS de *Fusarium* sp, dicho resultado fué similar al reportado en el presente estudio.

Se resalta que aunque se trata de diferentes zonas geográficas y con diferentes practicas de manejo del cultivo de banano en todas las zonas de muestreo se obtuvieron aislamientos con

una alta eficiencia relativa de solubilización ya sea con cepas en común o con cepas que al parecer son endémicas de las zonas.

### **7.2.2. Correlaciones entre las características edáficas y presencia de HSP**

Las correlaciones parciales se realizaron con el fin de conocer las posibles razones tanto de la distribución como de la presencia de los HSP en las zonas de muestreo; para esta prueba se tuvieron en cuenta las características edáficas i) Físicas: Estructurales (arena, limo y arcilla), Humedad; ii) Químicas (K, Mg, Na, capacidad de intercambio catiónico, carbono orgánico, pH, fósforo disponible, fósforo total) vs la presencia de HSP.

En el análisis de factores principales (AFP, Figura 7), se puede observar la contribución de cada uno de los factores en la variabilidad de la abundancia de los HSP por finca. La influencia de los factores explicaron el 85% de la varianza total de los datos. El primer eje explicó el 43.8% de esta varianza y las variables que más contribuyeron fueron: Magnesio (Mg, 0.89), pH (0.88), Sodio (Na, 0.87), Limo (0.81), carbono orgánico (CO,-0.73) y capacidad de intercambio catiónico (CIC, -0.8), por tanto se tiene en cuenta la materia orgánica como elemento convergente que puede ser representativo para este factor. Por su parte el segundo eje explicó el 25,2% de la varianza y los factores que más contribuyeron fueron arena (-0.92) y arcilla (0.76), es decir, la estructura del suelo y los HSP (-0.83). El tercer eje explicó el 16% de la varianza y el factor que más contribuyó en fue el fósforo disponible (0,87) (Anexo 5).

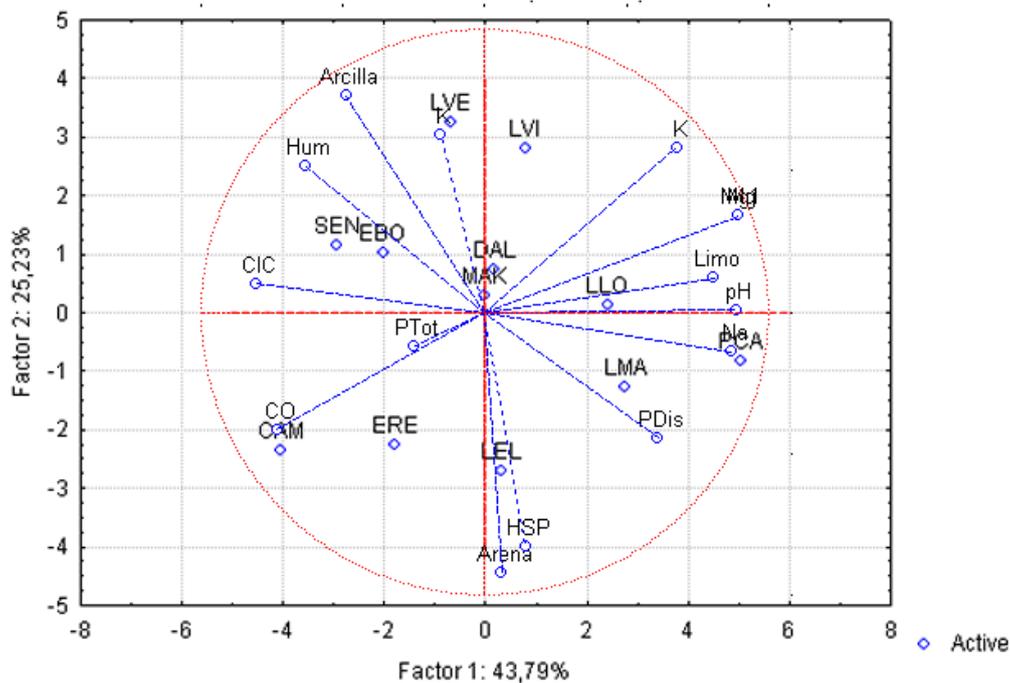


Figura 7. Proyección de los casos en el factor - plano (1x2). Los casos con suma del cuadrado del coseno\* Zona 1: Finca 1: Campo Alegre (CAM); Finca 2: El Recuerdo (ERE); Finca 3: El Bohío (EBO); Finca 4: San Enrique (SEN); Zona 2: Finca 1: Makaira (MAK); Finca 2: Las Victorias (LVI); Finca 3: Las Vegas (LVE); Finca 4: Dallas (DAL); Zona 3: Finca 1: La Lorena (LLO); Finca 2: La Marcela (LMA); Finca 3: Puerto Carreño (PCA); Finca 4: La Eloísa (ELE).

En la Figura 7 se observa que en la finca Campo alegre (1-Zona 1) la presencia de los HSP está positivamente relacionada con el carbono orgánico (CO), la capacidad de intercambio catiónico (CIC) y la arcilla, y negativamente con el magnesio (Mg), el potasio (K), el sodio (Na) y el pH, mientras que los HSP de la finca Las Vegas (3- Zona 2) se encuentran relacionados positivamente con el potasio (K) y la arcilla y negativamente con el sodio (Na), el magnesio (Mg), la capacidad de intercambio catiónico (CIC), el carbono orgánico (CO), el pH y la arena y por último de forma totalmente contraria a la finca Campo alegre, los HSP de la finca Puerto Carreño (3- Zona 3) están influenciados positivamente por el sodio (Na), el magnesio (Mg), el pH y por los limos e influenciada negativamente con la capacidad de intercambio catiónico (CIC) y el carbono orgánico (CO), indicando que los factores edáficos pueden influenciar a la presencia de los HSP positiva o negativamente, y por tanto no generar un patrón común entre las zonas.

La cantidad de hongos solubilizadores de fosfatos (HSP), probablemente esté más relacionada a la proporción de éstos en la flora microbiana total del suelo (Six, Bossuyt, Degryze, & Deneff, 2004) y a su vez por los contenidos de carbono orgánico, el cual es el factor convergente del primer factor (Figura 7).

La matriz de correlaciones parciales (Anexo 6) arroja que las únicas correlaciones significativas se dan entre la presencia de los HSP con la arena ( $r = 0,7741$ ,  $P = 0,003$ ) y con la arcilla ( $r = -0,7505$ ,  $P = 0,005$ ), es decir, según estos resultados en los suelos arenosos aumenta la presencia de estos microorganismos y presentan una relación negativa con la arcilla, lo cual se confirma en la Figura 7 y se explica de forma más amplia a continuación.

Aunque la correlación entre la presencia de los HSP con la arena ( $r = 0,7741$ ,  $P = 0,003$ ) sea significativa, se tiene en cuenta que, como lo nombra Pita & Pértega (2001) una correlación no implica causalidad, con los datos obtenidos no se puede determinar la causa por la cual se presentaron dichos resultados. Sin embargo, otros estudios como el de Moratto, Martínez, Valencia, & Sánchez (2005), mencionan que existen efectos significativos de la estructura del suelo sobre los recuentos de los microorganismos hallados.

La relación negativa con la arcilla se hace evidente en la zona 3 (Magdalena), ya que obtuvo los menores porcentajes de arcilla y su distribución es relativamente homogénea estando la mayoría de sus fincas en el cuadrante inferior derecho de la Figura 7, lo cual se podría atribuir a que las arcillas permiten el crecimiento de microorganismos como bacterias y hongos entre los espacios aéreos (Six, Bossuyt, Degryze, & Deneff, 2004).

Si se tiene en cuenta que el muestreo se realizó en época seca (21 de julio - 10 de Agosto de 2013), dicho resultado contradictorio al estudio de Vera, Pérez, & Valencia del 2002b, el cual nombra que la época de muestreo de su estudio coincidió con un período denominado comúnmente “veranillo”, en el cual existe mayor exposición de los suelos a la radiación solar,

incrementándose su temperatura y disminuyendo su contenido de humedad y como consecuencia, el número de nichos espaciales disponibles tiende a disminuir rápidamente, especialmente en suelos más arenosos, generando una posible reducción del estado micelial. Vera, Pérez, & Valencia (2002b) se apoyan con la teoría de Thomas, Shantaram & Saraswathy (1985), al aducir que la baja capacidad de retención de humedad en suelos arenosos da como resultado una escasa población de hongos solubilizadores de fosfatos. Cabe destacar que si bien la humedad es un factor limitante para la presencia de los HSP, no se trata del único factor que influencia la presencia de éstos, ya que existen diversos factores edafoclimáticos con relación directa.

Por otro, lado el resultado de relación negativa con la arcilla contrasta con el estudio de Posada, Sánchez, Sieverding, Aguilar, & Heredia del 2012, el cual reporta que la arcilla se relacionó positivamente con los grupos fúngicos evaluados, sin embargo fue menor su asociación con los HSP. Este comportamiento se podría atribuir al alto contenido de fósforo presentado en las zonas de muestreo de la presente investigación, comparado con dicho estudio, ya que a la cantidad de HSP y los contenidos de P, varían de forma inversamente proporcional a la cantidad de arcilla por efecto de retención.

Sin embargo, hay que considerar también la posibilidad que éstos hongos, aunque esten presentes en el suelo, se encuentren ejerciendo su función como saprobios, mas no como solubilizadores, ya que los suelos de las zonas muestreadas presentan altos contenidos de fósforo disponible, por lo tanto no necesitan ejercer esta función. Dichos contenidos de fósforo son posiblemente atribuidos a la sobrefertilización de los cultivos de banano, ya que, aunque exista retención por arcilla ésta probablemente fue superada dejando residuos de fósforo.

### **7.3. Repetitividad de los grupos de especies de los hongos solubilizadores de fosfatos en las zonas y fincas muestreadas.**

Contemplando futuras investigaciones para la creación de un biofertilizante, con organismos específicos que pudiesen adaptarse y cumplir su función solubilizadora, y bajo la hipótesis de que la distribución y abundancia de los HSP están dadas en el suelo rizosférico, por condiciones como la exudación de sustancias radicales, la disponibilidad de material vegetal y granulometría de sustratos metabolizables (Six, Bossuyt, Degryze, & Deneff, 2004) y otros factores que pudiesen sustentar una distribución detallada de los hongos hallados en la rizósfera de banano, se realizó el análisis estadístico de tendencias chi cuadrado, el cual arrojó como resultado que para las fincas ( $P= 0,2263$ ) y para la zonas ( $P= 0,2395$ ), no se encontró correlación entre el hábitat de las unidades muestrales y la composición de la cepas aisladas. En la Tabla 7 se muestran los aislamientos por finca y zona.

Tabla 7. Contingencia de los HPS aislados por fincas y zonas.

Especies	Zona 1* (Cundinamarca)				Zona 1* (Antioquia)				Zona 3* (Magdalena)			
	ERE	CAM	EBO	SEN	MAK	LVI	LVE	DAL	LLO	LMA	PCA	LEL
<i>Penicillium sp.1</i>	x											
<i>Penicillium sp.2</i>		x										
<i>Penicillium sp.3</i>	x											
<i>Penicillium sp.4</i>		x							x			
<i>P. glaucum</i>					x			x	x	xx		
<i>Humicola sp.1</i>				x								
<i>Humicola sp.2</i>										x		
<i>P. fumosoroseus</i>		x										
<i>P. lilacinus</i>					x				x	x		
<i>Aspergillus sp.1</i>									x			
<i>Fusarium sp.1</i>							x					x
<i>Aureobasidium sp.1</i>												x
<i>Coniothyrium sp.1</i>									x			
<i>Alysidium sp.1</i>			x									
<i>Mycelia sterilia</i>									x			
Morfoespecie 1			x									
Morfoespecie 2	x											
Morfoespecie 3	x											
Morfoespecie 4								x				
Morfoespecie 5					x	x						
Morfoespecie 6										x		
Morfoespecie 7												xx
Morfoespecie 8										x		
Morfoespecie 9									x			

x = presencia fúngica; Fincas: ERE= El Recuerdo; CAM= Campoalegre; EBO= El Bohío; SEN= San Enrique; MAK= Makaira; LVI= Las Victorias; LVE= Las Vegas; DAL= Dallas; LLO= La Lorena; LMA= La Marcela; PCA= Puertocarreño; LEL= La Eloísa.

Como se puede observar en la Tabla 7, se encontraron especies de *Penicillium*, en las 3 zonas analizadas, si bien este género es cosmopolita, 4 de las 5 especies de *Penicillium sp.*, encontradas en este estudio se reportan en las fincas El Recuerdo y Campoalegre (municipio de La Vega), pertenecientes a la zona 1 (Cundinamarca). Autores como Chalfoun, Angélico, Batista, & Pereira en 2005, reportaron una predominancia del género *Penicillium* en sistemas

productivos de café orgánico, en zonas montañosas de Brasil, y por su parte Escobar, Delgado, & Jola, (2012), encontraron abundantes poblaciones de *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp, asociadas a procesos de descomposición (compostaje), de socas de banano en Cundinamarca (Colombia). Teniendo en cuenta lo anterior, y que el municipio de La Vega se caracteriza por ser una zona cafetera, en la que el banano o bien es un cultivo secundario, o una sucesión y/o asociación con el café, se halló que estas fincas tienen una relación positiva con el carbono orgánico, en comparación con el resto de fincas muestreadas (Figura 7), esto podría suponer que algunas especies de *Penicillium* sp., además de cumplir una función solubilizadora, también están asociadas con la descomposición sustratos orgánicos, y que la densidad poblacional de los microorganismos en general, entre ellos los de capacidad solubilizadora, son resultado de la disponibilidad de la materia orgánica.

Especies de *Paecilomyces* sp., que han sido reportados como antagonistas de *R. similis*, fueron también halladas en un estudio preliminar, en la rizósfera de banano, enfatizando un mayor número de aislamientos de la especie *P. lilacinus*, pese a ello, los autores mencionan que no se han hallado relaciones entre la densidad poblacional del nematodo y la del hongo (Kilama et al, 2007), lo que sugiere que este organismo puede estar presente en varios sistemas como un saprófito facultativo, y no ser estrictamente un indicador de infestación, pero sí de la presencia de nematodos en las fincas de aparición, (este caso las fincas Makaira, La Lorena y La Marcela), lo cual podría sugerir otra variable de distribución no contemplada en este estudio, que puede influir en la homogeneidad de aparición de estas cepas, interpretándose como que la repetitividad y abundancia de las cepas en los sistemas muestreados, pueden estar condicionadas por hábitos específicos de vida de los organismos y el uso del suelo (Moratto, Martínez, Valencia, & Sánchez, 2005; Toro, Blones, & Hernández, 2001).

Pese a no haber encontrado un patrón de presencia de taxones, las cepas *P. lilacinus*, *P. glaucum* y *Fusarium* sp se repitieron en las zonas del Magdalena y Antioquia. lo que podría suponer un contraste, con la zona de Cundinamarca. Según Vera, Perez, & Valencia, 2002b, esto puede deberse a la existencia de microhábitats rizosféricos y condiciones edafoclimáticas, lo cual se relaciona con las diferencias marcadas entre las zonas mencionadas, puesto que Chigorodó y Apartadó en Antioquia y Zona bananera (Prado Sevilla) en Magdalena, se caracterizan por la producción extensiva e intensiva de banano, en ubicaciones húmedas tropicales de baja altitud, en cambio Albán y La Vega son municipios donde el cultivo de banano se produce a pequeña y mediana escala, en su mayoría en condición de policultivos ubicados en territorios montanos y premontanos, en las que aplican técnicas culturales de conservación como la captura y aplicación de microorganismos de montaña y otras técnicas de producción menos intensivas, abre la posibilidad de que la distribución de los HPS, también difieran debido a las estrategias de manejo, más específicamente las relacionadas con el uso de agrotóxicos y su posible efecto inhibitorio sobre ciertas cepas (Costa, Souza-Motta, & E., 2012).

Otra posible causa por la cual no es posible afirmar que éstos hongos sean representativos, endémicos, ni repetitivos en los paisajes departamentales estudiados, es debido a que si bien, pueden haber coincidencias de los aislamientos, el objeto de esta investigación se centro en la identificación y evaluación de las cepas bajo el criterio de ERS mínimo de (200%), desconociendo así otras cepas de menor actividad solubilizadora, lo cual imposibilitaría emitir juicios de distribución en la diversidad, ya que este estudio también demostró que pueden existir diferencias estadísticas de ERS entre especies, respecto a las fincas en las que fueron hallados, un ejemplo de ello es la especie *P. lilacinus* la cual tuvo diferencias estadísticamente significativas, de la mayor y menor eficiencia solubilizadora en las especies

H2123 (323,09%) y H3112 (218,28%) respectivamente (Figura 6), lo cual podrían sugerir una especialización solubilizadora dependiendo de su nicho ecológico.

Para corroborar estas hipótesis, se realizó un análisis de correlaciones entre los hongos con eficiencia relativa de solubilización  $> 200\%$ , y el promedio de las características edáficas de las fincas en las que estos hongos fueron hallados (Anexo 8), sin embargo no se hallaron correlaciones significativas, posiblemente a que puede haber un sesgo estadístico, por razones anteriormente expuestas, y que conjuntamente pueden haber diferencias entre los sitios muestreados (ver anexo 7), por el hecho de haber tomado un promedio de resultados edáficos para las fincas; del mismo modo puede deberse a que existen otros factores como el riego (Bolaños, Orellana, Bernal, & Morales, 2008), Fósforo-Microbiano (Toro, Blones, & Hernández, 2001), presencia de biocidas (Martínez *et al*, 2014), fuentes de fósforo, genética de los hongos (Khan, Zaidi, & Ahmad, 2014), y complejos de los mismos, no evaluados, que influyen en la aparición homogénea de estas cepas.

Finalmente debido a que el método utilizado permite aislar cepas con micelio y propágulos vivos adheridos a gránulos de suelo, pero no permite hacer cuantificaciones poblacionales por medio de conteo de unidades formadoras de colonia UFC (lo cual se ve reflejado en el bajo número de morfotipos obtenidos), indica que este procedimiento carece de una amplia representatividad en correspondencia con este objetivo en particular, por lo cual no permite hacer estimativos a profundidad de una repetitividad y homogeneidad, sin embargo en este estudio se hace un acercamiento importante, en cuanto a las variables que influyen la distribución de la biota fúngica solubilizadora, denotando especialmente, que la distribución de los HPS puede deberse a la especialización y adaptación a diferentes hábitats, y que independientemente de su biotopo en las tres zonas y fincas bananeras existen cepas distribuidas capaces de solubilizar fosfato tricálcico, y que además en cada zona sobresalen cepas con  $ERS > 300\%$ .

## 8. CONCLUSIONES

- La mayoría de las zonas y fincas bananeras muestreadas reportaron hongos con ERS >200% en medio S&S adicionado con  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ; de los cuales se lograron aislar e identificar miembros de *Fusarium* sp *Humicola* sp., *Aureobasidium* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp, y las especies *Paecilomyces fumosoroseus*, *Penicillium glaucum* y *Paecilomyces lilacinus*, los cuales previamente han sido descritos como HPS, además se hallaron 9 morfoespecies, una cepa en estado de micelio estéril, y dos contribuciones como nuevos reportes los géneros *Alysidium* sp y *Coniothyrium* sp., como organismos solubilizadores de fosfato.
- La zona de muestreo en bananeras no determina la presencia de organismos con mayor o menor potencial de solubilización de fosfatos, ya que una misma zona puede presentar diferentes valores de ERS, tanto superiores como inferiores. Como se observó en los resultados de la zona 3 (Magdalena), en dónde la Morfoespecie 6 y *Fusarium* sp1 presentaron tanto la mayor como la menor ERS con valores de 412,8% y 202,5% respectivamente.
- El alto contenido de P en zonas bananeras no inhibe la presencia de morfoespecies fúngicas con altas ERS de fosfato, incluso superiores a las encontradas en otros estudios como en el caso de *Penicillium* sp2, el cual obtuvo una ERS de 208,2% y otros estudios el género *Penicillium* ha reportado eficiencias entre los 104,8 y 119,5% (Gómez & Zabala, 2001).
- La ERS de fosfatos por aislamientos fúngicos parece estar más relacionada con características propias del aislamiento o de la zona que de las especies en sí. Como es el caso de *Penicillium* sp2., *Penicillium glaucum*, *Paecilomyces lilacinus*, Morfoespecie 7 y *Fusarium* sp1., donde obtuvieron distintas ERS, presentando

valores tanto estadísticamente menores como superiores, en dos zonas diferentes aun siendo de la misma especie.

- Las únicas correlaciones significativas entre la población de los HSP y los factores edáficos se presentaron positivamente con la arena e inversamente proporcional a los contenidos de arcilla, esto puede ser atribuido a la porosidad del suelo proporcionada por la estructura del mismo. Los hongos pueden tener un mejor desarrollo en suelos con mayor proporción de arenas ya que brinda espacios porosos superiores a  $10 \mu$ .
- No existe una homogeneidad estadística en la distribución de los HSP hallados o una especialización de algunas especies en las plantaciones de banano evaluadas, este mosaico puede atribuirse a la especialización y adaptación de éstos a los diferentes biotopos, y otros factores de influencia como la representatividad del método empleado y características edafoclimáticas.

## 9. RECOMENDACIONES

- Hacer identificación mediante métodos moleculares de los organismos aislados con potencial solubilizador de fosfatos. Para posteriormente hacer evaluaciones en invernadero y campo.
- Realizar pruebas de solubilización con otras fuentes de fosfato, como fosfato de hierro y aluminio, método de bromofenol colorante azul (cambio de pH) para la determinación de tipos de ácidos orgánicos producidos por las cepas, cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y/o métodos enzimáticos para poder determinar los tipos de ácidos orgánicos producidos por las cepas, con el fin de analizar si efectivamente son acordes para la producción del biofertilizante mixto específico para Banano (*Musa paradisiaca*), sin afectar la morfofisiología de la planta.
- Cuantificar la producción ácidos orgánicos, enzimas u otro mecanismo de solubilización, y evaluar estos mecanismos en medios con diferentes concentraciones de fosfatos, puesto que creemos que los resultados de la eficiencia “relativa” pueden estar mediados tanto por la concentración de fósforo, como por el volumen del medio.
- Evaluar cepas aisladas y su ERS, en distintos tiempos por separado, debido a que existen cepas cuyo crecimiento y expresión solubilizadora están determinadas por lapsos de tiempo, así también experimentar con diferentes variables de temperatura y oscuridad, en condiciones de laboratorio.
- Repetir esta investigación, aumentando el tamaño de la muestra experimental, para realizar análisis de diversidad, hallar y comparar posibles cepas endémicas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguado, G., Moreno, B., Jiménez, B., García, E., & Preciado, R. (2012). Impacto de los Sideróforos Microbianos y Fitosideróforos en la Asimilación de Hierro por las Plantas: Una Síntesis. *Revista Fitotecnia Mexicana*, Vol. 35, N° 1, 9-21.
- Alcaldía de Albán - Cundinamarca. (05 de 06 de 2015). *Información General*. Obtenido de Nuestro Municipio: [http://www.alban-cundinamarca.gov.co/informacion\\_general.shtml](http://www.alban-cundinamarca.gov.co/informacion_general.shtml)
- Alcaldía de Apartadó - Antioquia. (09 de 06 de 2015). *Nuestro municipio*. Obtenido de Información general: <http://www.apartado-antioquia.gov.co/index.shtml>
- Alcaldía de Chigorodó- Antioquia. (09 de 06 de 2015). *Nuestro Municipio*. Obtenido de Información general: <http://www.chigorodo-antioquia.gov.co/index.shtml>
- Alcaldía de La Vega- Cundinamarca. (09 de 06 de 2015). *Nuestro Municipio*. Obtenido de Información general: <http://www.lavega-cundinamarca.gov.co/index.shtml>
- Alcaldía de Zona Bananera - Magdalena. (25 de 05 de 2015). *Nuestro municipio*. Obtenido de Información general: <http://www.zonabananera-magdalena.gov.co/index.shtml#8>
- Altieri, M., & Nicholls, C. (2000). *Agroecología. Teoría y práctica para una agricultura sustentable*. México: Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente.
- Alvindia, D. G., Kobayashi, T., Yaguchi, y., & Natsuaki, K. T. (2002). Pathogenicity of Fungi Isolated from "Non-Chemical Bananas". *Japanese Journal of Tropical Agriculture*; Vol. 46 No. 4 pp 215-223.
- Arias, P., Dankers, C., Liu, P., & Pilkauskas, P. (2004). *La Economía Mundial del Banano 1985-2002*. Roma: FAO, Estudios FAO Productos Básicos.
- Asbama. (2013). *Asbama. Asociación de Bananeros del Magdalena y la Guajira*. Obtenido de Estadísticas: [http://asbama.com/?page\\_id=228](http://asbama.com/?page_id=228)

- AUGURA. (2013). *AUGURA. Asociación de Bananeros en Colombia*. Retrieved 06 19, 2013, from El Banano Colombiano: <http://www.augura.com.co>
- Barnett, H. L. (Horace Leslie) & Hunter, Barry B (1998). *Illustrated genera of imperfect fungi* (4th ed). APS Press, St. Paul, Minn.
- Berrocal, E., Durango, J., Barrera, V., & Diaz, B. (2009). Evaluación de formas de fósforo en suelos cultivados con plátano. *Acta Agronómica, Vol. 58, N° 3*, 152- 159.
- Bobadilla, C., & Rincón, S. (2008). Aislamiento y producción de bacterias fosfato solubilizadoras a partir de compost obtenido a partir de residuos de plaza. *Pontificia Universidad Javeriana*.
- Bolaños, C., Orellana, H., Bernal, G., & Morales, R. (2008). Influencia del riego en la dinámica poblacional de grupos funcionales de microorganismos asociados a la rizosfera de palma aceitera (*elaeis guineensis jacq.*).
- Borges, D., Díaz, A. O., Juan, S., Nelis, A., & Gómez, E. (2010). Metabolitos secundarios producidos por hongos entomopatógenos ICIDCA. *Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, 44*(3).
- Braz, J. (2004). Purification and characterization of a new Xylanase from *Humicola grisea* var. *Thermoidea*. *Brazilian Journal of Microbiology, Vol.35 No.1-2 São Paulo* .
- Bucher, V. V., Pointing, S. B., Hyde, K. D., & Reddy, C. A. (2004). Production of wood decay enzymes, loss of mass, and lignin solubilization in wood by diverse tropical freshwater fungi. *Microbial Ecology, 48*(3), 331-337.
- Burford, E. P., Kierans, M., & Gadd, G. M. ( 2003 ). Geomycology: fungi in mineral substrata. *Mycologist, 17*(03), 98-107.
- Cao, L., You, J., & Zhou, S. (2002). Endophytic fungi from *Musa acuminata* leaves and roots in South China. *World Journal of Microbiology and Biotechnology; Vol 18, Issue 2, pp 169-171*.

- Carpenter, S., Caraco, N., Correl, D., Howarth, R., Sharpley, A., & Smith, V. (1998). Nonpoint Pollution of Surface Waters with Phosphorus and Nitrogen. *Ecological Application*, Vol.8, N° 3, 559-568.
- Castillo, A., Hernández, J., Avitia, E., Pineda, J., Valdéz, L., & Corona, T. (2011). Extracción de Macronutrientes en Banano "Dominico" (Musa spp.). *Revista Internacional de Botanica Experimental*, Vol. 80, 65-72.
- Cerón, L., & Aristizábal, F. (2012). Dinámica del ciclo del nitrógeno y fósforo en suelos. *Revista Colombiana de Biotecnología*, Vol.XIV, N° 1, 285-295.
- Chalfoun, S. M., Angélico, C. L., Batista, L. R., & Pereira, M. C. (2005). Predominância do gênero *Penicillium* em solos de cultivo de café pelo sistema orgânico.
- Chi, Z., Wang, F., Chi, Z., Yue, L., Liu, G., & Zhang, T. (2009). Bioproducts from *Aureobasidium pullulans*, a biotechnologically important yeast. *Springer, Volume 82, Issue 5, pp 793-804*.
- Chun-Chao, C., K. Yu-Lin, C. Chen-Ching, and C. Wei-Liang. 2007. Solubilization of inorganic phosphates and plant growth promotion by *Aspergillus niger*. *Biol. Fertil. Soils* 43: 575-584.
- Costa, P. M., Souza-Motta, C. M., & E., M. (2012). Diversity of filamentous fungi in different systems of land use. *Agroforestry systems*, 85(1), 195-203.
- De la Fuente, E. B., & Suárez, S. (2008). Problemas ambientales asociados a la actividad humana: la agricultura. *Ecología austral*, V.18, N.3, 239-252.
- Dibut, B. (2009). *Biofertilizantes como insumos en agricultura sostenible*. Habana, Cuba: Editorial Universitaria.
- Domsch, K. H., Gams, W., & Anderson, T.-H. (2007). *Compendium of Soil Fungi. 2nd ed.* IHW-Verlag.

- Echeverri, E. (2001). Fertilización orgánica vs fertilización inorgánica de plátano Cachaco común en Colombia. *Informusa, Vol.10, N°2*, 7-10.
- El-Azouni, I. M. 2008. Effect of phosphate solubilizing fungi on growth and nutrient uptake of soybean (*Glycine max L.*) plants. *J. Appl. Sci. Res.* 4: 592-598.
- Elegido, M. (1975). El impacto de la agricultura sobre el medio ambiente . *Revista de estudios agrosociales, N° 90*, 31-58.
- Escobar, N. E., Delgado, J. M., & Jola, N. J. (2012). Identificación de poblaciones microbianas en compost de residuos orgánicos de fincas cafeteras de cundinamarca. *Scielo, 16 (1): 75 - 88*.
- Ezz, M., Aly, M., Saad, M., & Shaileb, F. (2011). Comparative study between bio-and phosphorus fertilization on growth, yield and fruit quality of banana (*Musa spp.*) grown on sandy soil. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*.
- Fassbender, H., & Bornemisza, E. (1994). *Química de suelos con énfasis en suelos de América Latina, Ed.2*. San José, Costa Rica: IICA.
- Figuroa, M. M., & Lupi, A. M. (2004). *Fertilizando.com*. Recuperado el 29 de Septiembre de 2013, de <http://www.fertilizando.com/articulos/Caracteristicas%20y%20Fertilizacion%20Cultivo%20Banano.asp>
- Frisvad, J. C., Yilmaz, N., Thrane, U., Rasmussen, K. B., Houbraken, J., & Samson, R. A. (2013). *Talaromyces atroseus*, a new species efficiently producing industrially relevant red pigments. *PloS one, 8(12)*, e84102.
- FUMOGAN. (2013). Recuperado el 2015, de <http://www.solagro.com.pe/data/nueva%20data%20solagro/hongos/FUMOGAN%20-SOLAGRO.pdf>

- Galindo, T., Sánchez, J., & Polonía, J. (2006). Capacidad solubilizadora de Fosfatos de microorganismos rizosféricos asociados a dos manglares del caribe colombiano. *Acta Biológica Colombiana, Vol.11 (1)*.
- García, M. T., Anaya, M. d., Flores, V. A., Ruíz-González, S., & Salvador-Figueroa, M. (2013). Solubilización de fósforo inorgánico por hongos aislados de la rizosfera de banano (Mussa AAA). *Centro de Biociencias. Universidad Autónoma de Chiapas*.
- Garon, D., Krivobok, S., Wouessidjewe, D., & Seigle-Murandi, F. (2002). Influence of surfactants on solubilization and fungal degradation of fluorene. *Chemosphere, 47(3)*, 303-309.
- Gawas-Sakhalkar, S. M. (2012). High-temperature optima phosphatases from the cold-tolerant Arctic fungus *Penicillium citrinum*. *Polar Research* .
- GI. Georecursos. (2005). *Análisis de la estructura productiva y mercados de la roca fosfórica*. Bogotá D.C., Colombia: GI. Georecursos.
- Glynn, H. J., & Gary, H. (1999). *Ingeniería Ambiental*. México: Prentice Hall Hispanoamericana, S.A.
- Gómez, Y., & Zabala, M. (2001). Determinación de la capacidad solubilizadora del p en hongos aislados de la rizósfera del mani (*Arachis hypogaea* L.). *yirma gómez-Guiñán Y Magalis Zabala*, Universidad de Oriente, Venezuela. Vol. 13. N° 1:8-13.
- Gobernación de Antioquia. (17 de Septiembre de 2012). *Antioquia*. Recuperado el 28 de Septiembre de 2013, de <http://antioquia.gov.co/>
- Gobernación de Cundinamarca. (2013). *Cundinamarca*. Recuperado el 28 de Septiembre de 2013, de <http://www1.cundinamarca.gov.co/gobernacion/Perfiles/Home.aspx>
- Gobernación del Magdalena. (02 de Octubre de 2012). *Magdalena*. Recuperado el 28 de Septiembre de 2013, de <http://www.magdalena.gov.co/index.shtml>

- Goldstein, A., & Krishnaraj, P. (2007). Phosphate solubilizing microorganisms vs. phosphate mobilizing microorganisms: What separates a phenotype from a trait? *Developments in Plant and Soil Sciences, Vol. 102*, 203-213.
- Grageda, O., Díaz, A., Peña, J., & Vera, J. (2012). Impacto de los biofertilizantes en la agricultura. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, Vol. 3, N° 6*, 1261-1274.
- Gualdrón, C., Suárez, A. L., & Valencia, H. (1997). Hongos del suelo aislados de zonas de vegetación natural del páramo de Chisacá, Colombia. *Caldasia, Vol 19, (1-2)*, 235-245.
- Gururaj, R. & Mallikarjunaiah, R.R. (1995). Interactions Among *Azotobacter chroococcum*, *Penicillium glauculr*, and *Glomus fasciculatum* and their effect on the growth and yield of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *HELU, 18, Nr. 23*, p.p.73-84 .
- Gyaneshwar, P., Neresh, L., Parekh, L., & Poole, P. (2002). Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant and Soil, Vol. 245*, 83-93.
- Hernández, T., Carrión, G., & Heredia, G. (2011). Solubilización *in vitro* de Fosfatos por una cepa de *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson. *Agrociencia, Vol.45, N° 8*, 881-892.
- Holford, I. (1997). Soil phosphorus: its measurement, and its uptake by plants. *Australian Journal of Soil Research, Vol. 35, N°2*, 227-240.
- ICA. (19 de Febrero de 2015). *Productos Registrados Bioinsumos*. Recuperado el 18 de Abril de 2015, de <http://www.ica.gov.co/Areas/Agricola/Servicios/Fertilizantes-y-Bioinsumos-Agricolas/Listado-de-Bioinsumos/2009/productos-bioinsumos-mayo-13-de-2008.aspx>.
- ICA. (04 de Febrero de 2011). *Instituto Colombiano Agropecuario*. Obtenido de Resolución 0698: <http://www.ica.gov.co/getattachment/555f9d55-b19a-40ba-9a1b-e468bde89a41/Resolucion-0698-del-4-de-Febrero-de-2011.aspx>

IGAC. (2015). *Laboratorio de Suelos*. Obtenido de

[http://www.igac.gov.co/wps/portal/igac/raiz/iniciohome/tramites!/ut/p/c4/04\\_SB8K8xLLM9MSSzPy8xBz9CP0os3hHT3d\\_JydDRwN3t0BXA0\\_vUKMwf28PI4NQI\\_2CbEdFAJ67NCc!/?WCM\\_PORTLET=PC\\_7\\_AIGOB1A08AGF0ISG6J8NS3000\\_WCM&WCM\\_GLOBAL\\_CONTEXT=%2Fwps%2Fwcm%2Fconnect%2FWeb++Tr](http://www.igac.gov.co/wps/portal/igac/raiz/iniciohome/tramites!/ut/p/c4/04_SB8K8xLLM9MSSzPy8xBz9CP0os3hHT3d_JydDRwN3t0BXA0_vUKMwf28PI4NQI_2CbEdFAJ67NCc!/?WCM_PORTLET=PC_7_AIGOB1A08AGF0ISG6J8NS3000_WCM&WCM_GLOBAL_CONTEXT=%2Fwps%2Fwcm%2Fconnect%2FWeb++Tr)

IGAC. (2011). *Estudio semidetallado de suelos de las áreas potencialmente agrícolas :*

*Urabá, Departamento de Antioquia*. Obtenido de

<http://documentacion.ideam.gov.co/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=6985>

Kajamuhan, A., Saslis-Lagoudakis, C., & Shaw, M. (2015). Genetic diversity and

specialisation of *Eudarlucacaricis* on some graminaceous *Puccinia* species. *Fungal Ecology*, N° 14, 116-124.

Khan, J.A. Y Bhatnagar, R.M. 1977. Studies on solubilization of insoluble phosphates by microorganisms: part 1- solubilization of Indian phosphate rock by *Aspergillus niger* and *Penicillium* sp. *Fert. Technol.* 14: 329-333.

Khan, M. S., Zaidi, A., Ahemad, M., Oves, M., & Wani, P. (2010). Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi - current perspective. *Archives of Agronomy and Soil Science*, Vol. 56(1), 73-96.

Khan, M. S., Zaidi, A., & Ahmad, E. (2014). Mechanism of phosphate solubilization and physiological functions of phosphate-solubilizing microorganisms. In *Phosphate Solubilizing Microorganisms* (pp. 31-62). Springer International Publishing.

Kilama, P., Dubois, T., Coyne, D., Niere, B., Gold, C. S., & Adipala, E. (2007). Antagonism of *Paecilomyces* spp. isolated from banana (*Musa* spp.) roots and rhizosphere against *Radopholus similis*. *Nematropica*, 37(2), 215-226.

- Li, M.-t., & Zhang, S.-s. (2005). Identification of endophytic fungi from sucker plants of banana and fungi in rhizosphere soil. Laboratory of Biopesticide and Chemical Biology, Fujian Agriculture and Forestry University.
- López, A., & Espinosa, J. (1995). *Manual de nutrición y fertilización del banano*. Quito, Ecuador : International Plan Nutrition Institute (IPNI).
- Mahamuni, S. V., Wani, P., & Patil, A. S. (2012). Isolation of Phosphate Solubilizing Fungi From Rhizosphere of Sugarcane & Sugar Beet Using Tsp & Rsp Solubilization . *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research*, Vol. 2, 237-244.
- Martínez-Nieto, P., Correa-Torres, C., Robles-Camargo, J., & Valderrama-Barco, M. (2014). Colombiano, Respuesta de poblaciones microbianas solubilizadoras de fosfato al glifosato en un ecosistema alto andino. Pilquen.
- Medeiros, R. S., Thomé, J., Cacais, A., Estelles, R., Salles, B., Ferreira, H., . . . Filho, E. (2000). The production of hemicellulases by aerobic fungi on medium containing residues of banana plant as substrate. *Biotechnol Prog*.
- Mejía, G. A., & Gómez, J. S. (Noviembre de 1999). *Los desechos generados por la industria bananera Colombiana*. Recuperado el 06 de Julio de 2013, de Biblioteca Virtual de desarrollo sostenible y salud ambiental:  
<http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/acodal/xxix.pdf>.
- Mikanova, O., & Novakova, J. (2002). Evaluation of the P-solubilizing activity of soil microorganisms and its sensitivity to soluble phosphate. *Rostlinna Vyroba - UZPI*, Vol 48, N° 9 , 397-400.
- Monge, J., Gómez, P., & Rivas, M. (2002). *Biología General*. San José, Costa Rica: Editorial Universidad Estatal a Distancia.
- Montes, J. M., & Leff, E. (2000). Perspectiva del Desarrollo del Conocimiento. In J. M. Montes, E. Leff, G. Gallopín, P. Gutman, H. M. Vessuri, R. Fernández, . . . R. García,

*Los Problemas del Conocimiento y La Perspectiva Ambiental del Conocimiento* (pp. 1-25). México: Siglo Veintiuno Editores.

Moratto, C., Martínez, L. J., Valencia, H., & Sánchez, J. (2005). Efecto del uso del suelo sobre hongos solubilizadores de fosfato y bacterias diazotróficas en el páramo de Guerrero (Cundinamarca). *Agronomía Colombiana* 23(2): 299-309.

Morel, P. (1971). *Tecnología de los Fertilizantes*. Santiago de Chile: Editorial Andres Bello.

Moreno, J., Blanco, C., & Mendoza, R. (2009). *Buenas Prácticas Agrícolas en el Cultivo del Banano en la Región del Magdalena*. Medellín, Colombia: Comunicaciones AUGURA.

Mueller, G. M., Bills, G. F., & Foster, M. S. (2004). *Biodiversity of Fungi: Inventory and Monitoring Methods*. San Diego, California: Elsevier.

Muñoz, E. (2014). Mercado Global del Banano. Apartadó: CAAD.

Mycobank. (2015). *mycobank.org*. Obtenido de Paecilomyces lilacinus: <http://www.mycobank.org/name/Paecilomyces%20lilacinus>

Narloch, C., Lopes, V., Ternes, J., & Nunes, G. (2002). Respostas da cultura do rabanete à inoculação de fungos solubilizadores de fosfatos. *Pesq. agropec. bras., Brasília, Vol.37, N° 6*, 841-845.

Narváez, M., Sánchez, M., & Menjívar, J. (2010). Cambios en las Propiedades Químicas y en la Actividad de las Fosfatasas en Suelos Cultivados con Maíz Dulce (*Zea mays* L.) Fertilizados con Vinaza. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín, Vol. 63, N° 2*, 5533-5541.

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

Nebel, B. J., & Wrigth, R. T. (1999). *Ciencias Ambientales: Ecología y desarrollo sostenible, 6ª Edición*. PHH.

- Nopparat, C., Jatupornpipat, M., & Rittiboon, A. (2009). Optimization of the Phosphate-Solubilizing Fungus, *Aspergillus japonicus* SA22P3406, in Solid-State Cultivation by Response Surface Methodology. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)*, Vol.43, N°(5), 172-181.
- Olalde, V., & Aguilera, L. (1998). Microorganismos y Biodiversidad. *Terra Latinoamericana*, Vol. 16, N° 3, 289-292.
- Oliveira, C., Alves, V., Marriel, I., Gomes, E., Scotti, M., Carneiro, N., . . . N.M.H., S. (2009). Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome. *Soil Biology and Biochemistry*, Vol. 41, 1782-1787.
- Osorio, N., & Habte, M. (2001). Synergistic Influence of an Arbuscular Mycorrhizal Fungus and a P Solubilizing Fungus on Growth a P Uptake of *Leucaena leucocephala* in an Oxisol. *Arid Land Research and Management*, Vol. 15, 263- 274.
- Otero, V. (2011). Aislamiento, Selección e Identificación de Actinomicetos, Bacterias Fotosintéticas No Sulfurosas y Bacterias Ácido Lácticas con Potencial Biofertilizante, a Partir de Suelos Asociados al Cultivo de Plátano en la Costa Atlántica Colombiana. *Universidad Nacional de Colombia*, 141.
- Palencia, G. E., Gómez, R., & Martín, J. E. (2006). *Manejo sostenible del cultivo del plátano*. Bucaramanga: Corpoica.
- Pandey, A., N. Das, B. Kumar, K. Rinu, and P. Trivedi. 2008. Phosphate solubilization by *Penicillium* spp. isolated from soil samples of Indian Himalayan region. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 24: 97-102.
- Patiño, C. (2010). *Solubilización de fosfatos por poblaciones bacterianas aisladas de un suelo del valle del cauca. Estudio de Biodiversidad y Eficiencia*. Palmira, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.

- PNUMA. (2010). *Perspectivas del medio ambiente: América latina y el Caribe*. México D.F.: PNUMA.
- Pita, S., & Pértega, S. (2001). Relación entre variables cuantitativas. Unidad de Epidemiología Clínica y Bioestadística, [https://www.fisterra.com/mbe/investiga/var\\_cuantitativas/var\\_cuantitativas2.pdf](https://www.fisterra.com/mbe/investiga/var_cuantitativas/var_cuantitativas2.pdf).
- Pocasangre, L., Felde, A., Meneses, A., Cañizares, C., Riveros, A. S., Rosales, F., & Sikora, R. (2004). Manejo alternativo de fitonematodos en banano y platano . *xvi reunión internacional acorbat*.
- Posada, R. H., Sánchez, M., Sieverding, E., Aguilar, K., & Heredia, G. P. (2012). Relaciones entre los hongos filamentosos y solubilizadores de fosfatos con algunas variables edáficas y el manejo de cafetales. *Revista de Biología Tropical, Vol. 60 (3)*, 1075-1096.
- Posada, R., Heredia, G., Sieverding, E., & Sánchez, M. (2013). Solubilization of iron and calcium phosphates by soil fungi isolated from coffee plantations. *Agronomy and Soil Science, 59:2*, 185-196.
- Pradhan, N., & Sukla, L. (2005). Solubilization of inorganic phosphates by fungi isolated from agriculture soil. *African Journal of Biotechnology, Vol.5*, 850-854.
- Radhakrishnan, R., Khan, A. L., Kang, S. M., & Lee, E.-J. (2015). A comparative study of phosphate solubilization and the host plant growth promotion ability of *Fusarium verticillioides* RK01 and *Humicola* sp. KNU01 under salt stress . *Annals of Microbiology, Vol 65, Issue 1*, pp 585-593.
- Raghothama, K.G. (1999). Phosphate acquisition. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 50*: 665-693.
- Ramírez, L. C. C., Galvez, Z. Y. A., & Burbano, V. E. M. (2014). Solubilización de fosfatos: una función microbiana importante en el desarrollo vegetal. *NOVA, 12(21)*.

- Ren, L., Li, G., Han, Y. C., Jiang, D. H., & Huang, H. C. (2007). Degradation of oxalic acid by *Coniothyrium minitans* and its effects on production and activity of  $\beta$ -1, 3-glucanase of this mycoparasite. *Biological Control*, 43(1), 1-11.
- Riascos-Ortiz, D., Sarria-Villa, G. A., Agudelo, F. V., Gómez-Carabalí, A., & T., M.-E. A. (2011). Reconocimiento de hongos con potencial benéfico asociados a la rizósfera de chontaduro (*Bactris gasipaes* H.B.K.) en la región Pacífico del Valle del Cauca, Colombia. *Acta Agronómica*.
- Rinu, K., Pandey, A., & Palni, L. M. (2012). Utilization of psychrotolerant phosphate solubilizing fungi under low temperature conditions of the mountain ecosystem. In *Microorganisms in sustainable agriculture and biotechnology* (pp. 77-90). Springer Netherlands.
- Rivas, G., & Rosales, F. (2003). anejo Convencional y Alternativo de la Sigatoka Negra, Nematodos y Otras plagas Asociadas al Cultivo de Musaceas en los Tropicós. En M. Araya-Vargas, *Situación actual del manejo de nematodos en banano (Musa AAA) y plátano (Musa AAB) en el trópico americano*. Bioersivity International.
- Robinson, J.C. (1996). *Bananas and Plantains*. CAB International. University Press, Cambridge. 238 p.
- Rodríguez, N. R., & Rubiano, M. E. (2002). *Aislamiento e identificación de hongos solubilizadores de fosfato en cultivo de arroz y evaluación del pH y presión osmótica sobre su actividad solubilizadora in vitro*. (T. d. grado, Ed.) Bogotá: Universidad Javeriana.
- Romero, M. C., Urrutia, M. I., Reinoso, E. H., & Kiernan, M. A. (2009). Hongos de suelo Nativos con potencial degradador del herbicida isoproturon. *Revista Mexicana de Micología*
- Rosales, F. E., Pocasangre, L. E., Trejos, J., Serrano, E., & Peña, W. (2008). *Guía de diagnóstico de la calidad y salud de los suelos bananeros*. Bioersivity International.

- Sancllemente, O. (2011). *CLASIFICACIÓN DE SUELOS*. Obtenido de [http://datateca.unad.edu.co/contenidos/358013/ContenidoEnLinea/leccin\\_5\\_clasificacin\\_de\\_suelos.html](http://datateca.unad.edu.co/contenidos/358013/ContenidoEnLinea/leccin_5_clasificacin_de_suelos.html)
- Sanjuán, J., & Moreno, N. (2010). Aplicación de Insumos Biológicos: Una Oportunidad para la Agricultura Sostenible y Amigable con el Medio Ambiente. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 4-7.
- Santos, E., Ferreira, L., Dutra, M., Cássia, M., Rodrigues, M., & Cabral, A. (2013). Occurrence of symbiotic fungi and rhizospheric phosphate solubilization in weeds. *Acta Scientiarum. Agronomy*, Vol. 35, N° 1, 49-55.
- SDIM. (2014). Sistema de Documentación e Información Municipal (SDIM). Obtenido de <http://cdim.esap.edu.co/Combosdependientes.asp?PnDepartamentos=47&Pnmuni=47980>
- Sharma, S., Kumar, V., & Tripathi, R. B. (2011). Isolation of Phosphate Solubilizing Microorganism (PSMs) From Soil. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, Vol. 1, N° 2, 90-95.
- Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H., & Gobi, T. A. (2013). Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus*, 2:587.
- Shukla, R. M., & Vyas, R. (2014). Phosphate solubilizing efficiency of Mycopesticides. *International Journal of Agriculture, Environment & Biotechnology*.
- Six, J., Bossuyt, H., Degryze, S., & Deneff, K. (2004). A history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. *Soil and Tillage Research*, 79(1), 7-31.
- Sociedad de Agricultores de Colombia, SAC. (2006). Incidencia de algunos rubros dentro de los costos de producción agrícola. *Revista Nacional de Agricultura*, N° 947, 30-49.

- Sociedad de Agricultores de Colombia, SAC. (2012). *Estudios económicos*. Obtenido de Estadísticas. Superficie cosechada: <http://www.sac.org.co/es/estudios-economicos/estadisticas.html>
- Stoorvogel, J., & Vargas, R. (1998). La Agricultura de Precisión del Banano. En F. Rosales, S. Tripon, & J. Cerna, *Producción de Banano Orgánico y/o ambientalmente amigable* (págs. 40-55). Guácimo, Costa Rica: Inibap.
- Tan Gana, N. (2010). Polyphasic identification of yeasts with amylolytic, lipolytic, proteolytic, and fruit-rot mold antagonizing activities isolated from ripe mango (*Mangifera indica* L.) and banana (*Musa X paradisiaca* L. varieties) . *Philippines Univ. Los Baños, College, Laguna (Philippines)*.
- Tarafdar, J. C., & Rao, A. V. (1996). Contribution of *Aspergillus* strains to acquisition of phosphorus by wheat (*Triticum aestivum* L.) and chick pea (*Cicer arietinum* Linn.) grown in a loamy sand soil. *Applied Soil Ecology*, 3(2), 109-114.
- Thomas G., Shantaram M. V. & Saraswathy N. 1985. Occurrence and activity of phosphate solubilizing fungi from coconut plantation soils. *Plant and Soil*, 87: 357-364.
- Tilman, D., Fargione, J., Wolff, B., D'Antonio, C., Dobson, A., Howarth, R., . . . Swackhamer, D. (2001). Forecasting Agriculturally Driven Global Environmental Change. *Science*, Vol. 292, 281-284.
- Toro, M., Blones, J., & Hernández, V. I. (2001). Dinámica del fósforo y actividad biológica en las micorrizas de dos ecosistemas adyacentes con vegetación y suelos contrastantes. *Acta Biol. Venez*, 21(2), 21-28.
- Universidad del Valle. (2008). *Universidad del Valle*. Recuperado el 08 de Julio de 2013, de Perfil Municipio de Apartadó: [http://prevencionviolencia.univalle.edu.co/observatorios/antioquia/apartado/archivos/perfil\\_apartado.pdf](http://prevencionviolencia.univalle.edu.co/observatorios/antioquia/apartado/archivos/perfil_apartado.pdf)

- Useche, Y., Valencia, H., & Hernando, P. (2004). Caracterización De bacterias y hongos solubilizadores de fosfato bajo tres usos de suelo en el sur del trapezio amazónico. *Acta Biológica Colombiana*. Vol. 9 No.2, 129-130.
- Vargas, S. J. (2012). *Microorganismos solubilizadores de fostatos en suelos*. (tesis especialización) Universidad Distrital de Santander, Bucaramanga, Colombia.
- Vazquez, S., Morales, L., & Dalurzo, H. (2004). Disponibilidad del fósforo en suelos ácidos de misiones, Argentina. *Agricultura Técnica*, Vol. 64, N° 1 , 50-57.
- Vera, D. F., Pérez, H., & Valencia, H. (2002a). *Aislamiento De Hongos Solubilizadores De Fosfatos De La Rizosfera De Arazá* (Vol. n° 7). (U. N. Facultad de Ciencias, Ed.) Bogotá, Colombia: Acta Biológica de Colombiana.
- Vera, D. F., Pérez, H., & Valencia, H. (2002b). Distribución de Hongos Solubilizadores De Fosfatos En Dos Microhábitats de Suelo De Dos Unidades Fisiográficas de Guaviare, Colombia. *Acta Biológica Colombiana*, 7(1), 23-30.
- Verkley, G. J., da Silva, M., Wicklow, D. T., & Crous, P. W. (2004). *Paraconiothyrium*, a new genus to accommodate the mycoparasite *Coniothyrium minitans*, anamorphs of *Paraphaeosphaeria*, and four new species . *STUDIES IN MYCOLOGY* 50: 323–335.
- Von Meyer, H. (1996). Agricultura, medio ambiente y PAC. Problemas y perspectivas. *Revista Española de Economía Agraria*, N° 176-177, 193-214.
- Walpola, B., & Yoon, M.-H. (2012). Prospectus of phosphate solubilizing microorganisms and phosphorus availability in agricultural soils. *African Journal of Microbiology Research*, Vol. 6 (37), 6600-6605.
- Wang, D., Zhan, J., & Sun, Q. (2014). Phosphate solubilization of *Aureobasidium pullulan* F4 and its mechanism. *The Journal of Applied Ecology*, 25(7):2079-2084.
- Yadav, B., & Verma, A. (2012). Phosphate Solubilization and Mobilization in Soil Through Microorganisms Under Arid Ecosystems. *The Functioning of Ecosystems*, 93-108.

Xiao, C., Chi, R., Li, X., Xia, M., & Xia, Z. (2011). Biosolubilization of rock phosphate by three stress-tolerant fungal strains. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. Vol, 165. N°2, 719-727.

Xiao, C., Zhang, H., Fang, Y., & Chi, R. (2013). Evaluation for Rock Phosphate Solubilization in Fermentation and Soil–Plant System Using A Stress-Tolerant Phosphate-Solubilizing *Aspergillus niger* WHAK1. *Appl Biochem Biotechnol* 169:123–133.

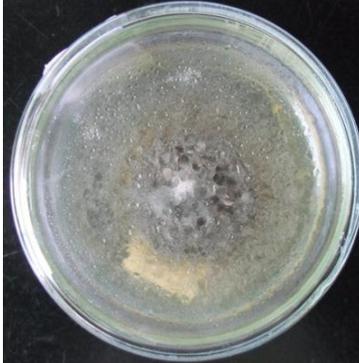
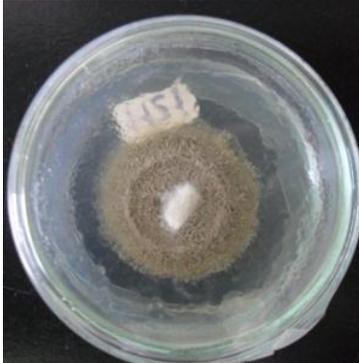
## ANEXOS

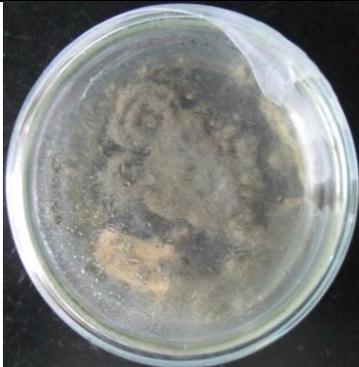
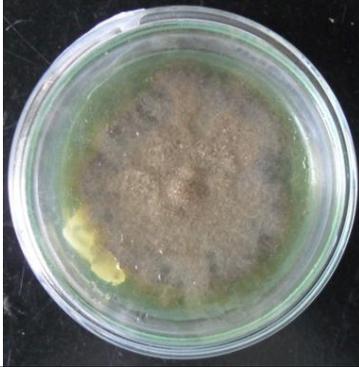
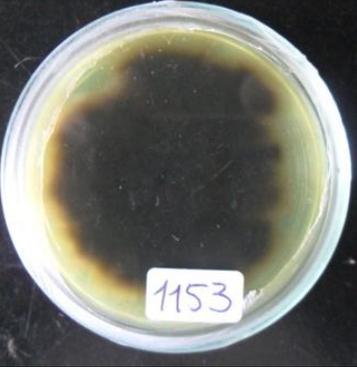
### Anexo 1. Composición del medio de cultivo Sundara & Sinha (S&S).

Compuesto	Cantidad/L
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.5g
KCl	0.2g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.3g
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.004g
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.002g
NaCl	0.2g
Glucosa	10g
Extracto de levadura	0.5g
Agar	18g
$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	0.5g
Agua	900 ml

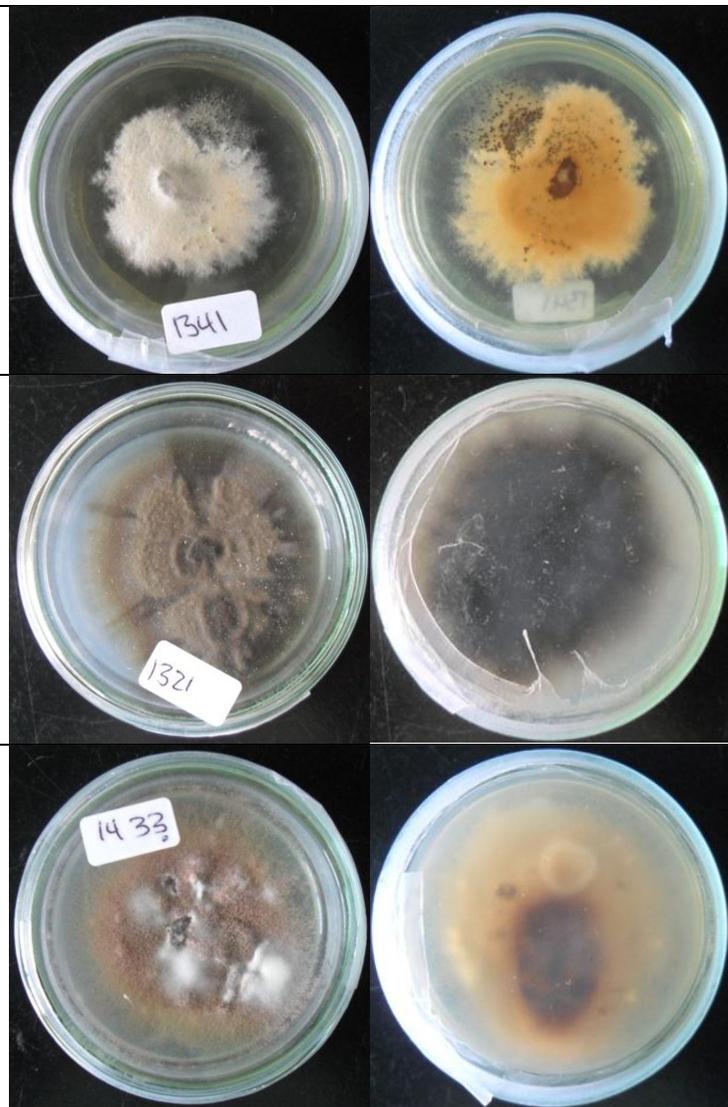
**Anexo 2.** Caracterización macroscópica en medio PDA de los hongos aislados con mayor capacidad de solubilización.

Zona	Cepas (Código**)	Textura	Color	Forma (colonia)	Pigmento	Reverso	Pliegues	Fotografía	
								Frente	Reverso
1	H6111	Finamente floccoso a granular.	Centro gris-marrón, banda 1 marrón; banda 2 color crema durazno.	Cilíndricos con extremos redondeados simétricamente.	Ligeramente rojo.	Color crema durazno.	Si.		
1	H7121	Flocoso elevada	Blanco, tenue rosado.	Ovoide.	No	Color blanco ligeramente crema.	No		

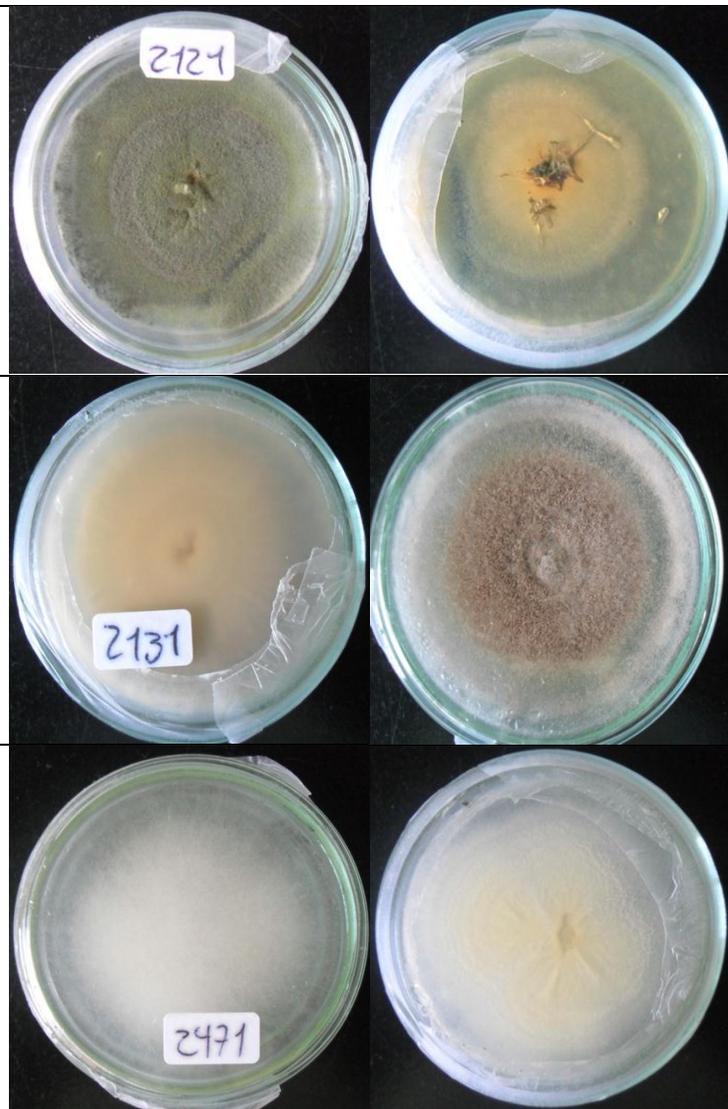
1	H1121	Medianamente granulado; moteado en el centro; alta elevación.	Centro gris claro (blanco); seguido de verde opaco.	Cilíndrico; con hifas en los bordes altamente ramificados.	No	Amarillo pastel; borde radial ligeramente más oscuro.	Si		
1	H2111	Medianamente granulado; moteado en el centro.	Centro con Micelio blanco; seguido de verde opaco.	Cilíndrico; con hifas en los bordes ramificadas.	No	Círculos concéntricos; centro café claro; b <sup>1</sup> amarilla pálido; b <sup>2</sup> café-pardo; b <sup>3</sup> anaranjado.	No		
1	H6211	Moteado abundante; ligeramente elevado.	Verde con variegado rosas.	Bordes ramificados; circular.	Tenuemente rojo	centro rosado oscuro con b <sup>1</sup> color rosa claro (en secuencias de círculos concéntricos)	Si		

1	H5121	Granular.	Verde-gris.	Circular no uniforme.	no	Centro Amarillo pálido; seguido de matices blancos y borde amarillo.	no		
1	H3211	Bandas diferenciadas y plegadas; levemente moteadas.	Centro marrón claro, seguido de multi-bandas b <sup>1</sup> color rosa, café claro, b <sup>2</sup> blanco, b <sup>3</sup> café; borde radial café claro.	Bordes redondeados no simétricos.	No	Centro rosa seguido por matices de marrón bien marcados; borde hifa amarillo claro.	no		
1	H5311	Flocoso elevado.	Centro café claro seguido por marrón claro.	Crecimiento circular no uniforme ramificado.	No	Color negro; borde radial amarillo.	Si		

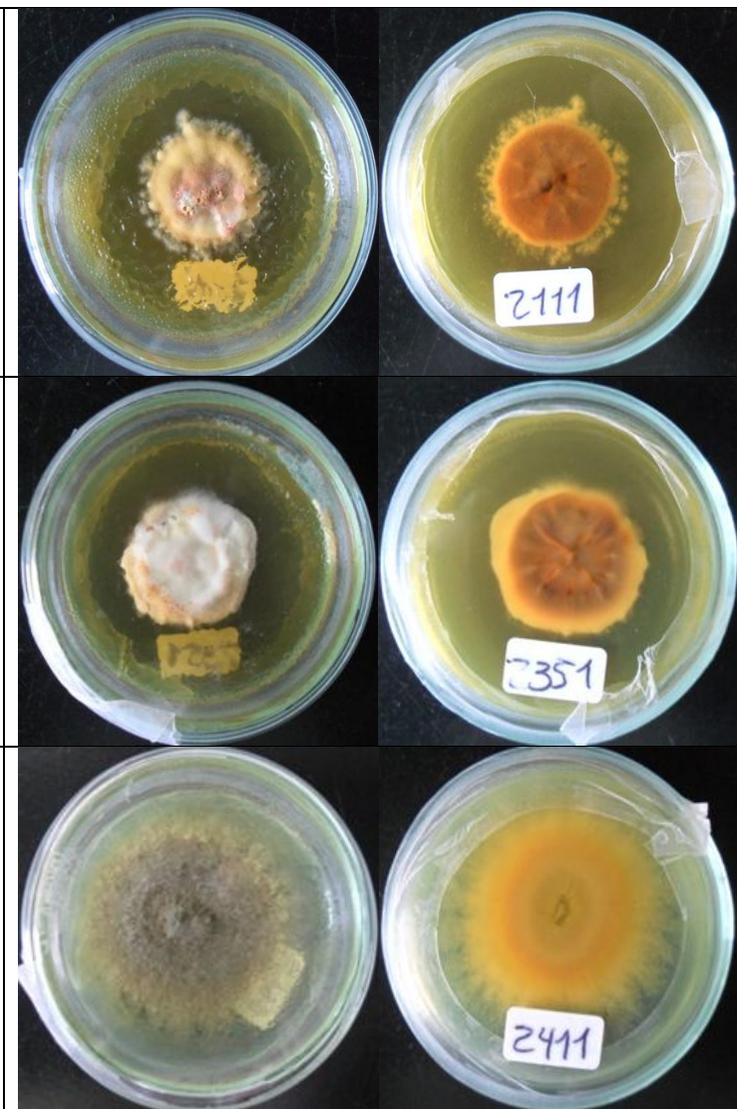
1	H4131	Filamentado con bordes flocosos.	Blanco; con estructuras de resistencia negras y brillantes.	No uniforme; con hifas que se expanden hacia los bordes.	No	Anaranjado (durazno).	No
1	H2131	Moteado granular.	Café claro en la elevación en la superficie de agar café oscuro.	No uniforme.	No	Café oscuro; bordes color blanco.	No
1	H3341	Elevación moteada medianamente pronunciada.	Hifas grises ligeramente blancas; base superficial del agar café.	Circular borde liso no uniforme.	No	Centro color café; b <sup>2</sup> café claro; b <sup>3</sup> blanco	



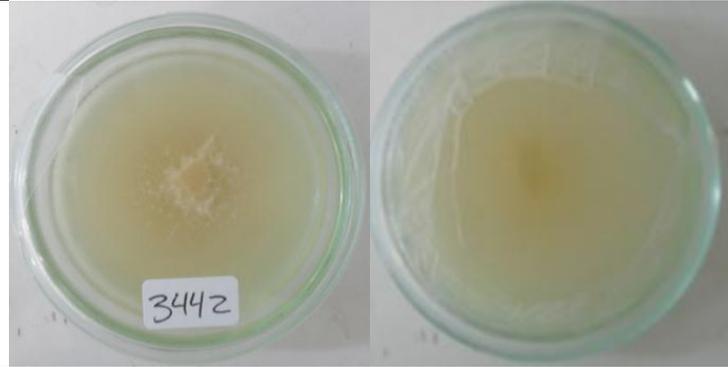
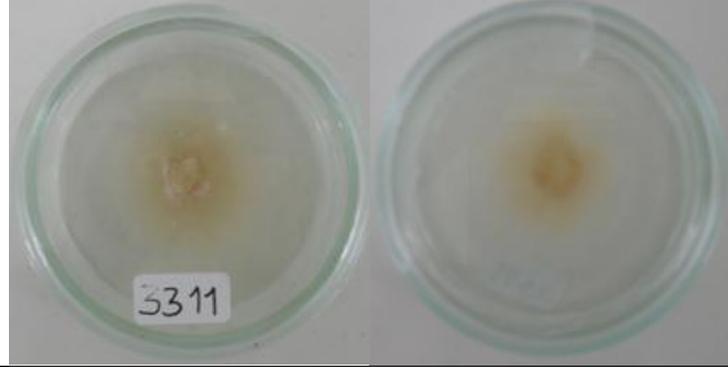
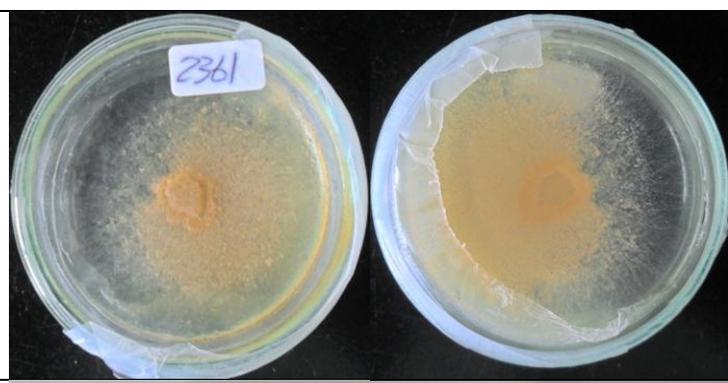
2	H2112	Granular.	Centro verde opaco; anillo intermedio ligeramente gris; zonificación radial.	Circular no simétrico.	No	Color amarillo ligeramente anaranjado.	No .
2	H3112	Micélio aéreo flocoso; levemente elevado.	Inicialmente, blanco luego rosa posteriormente e purpura.	Circular sin simetría.	No	Color blanco; ligeramente amarillo pálido.	No .
2	H7142	Micelio aéreo, proliferación abundante. (filamentación erecta vellosa)	Blanco.	Circular; bordes irregulares.	No	Blanco.	No .

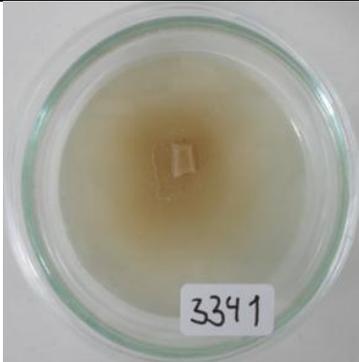


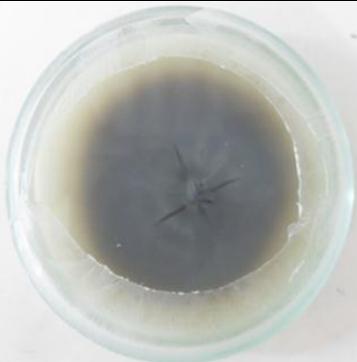
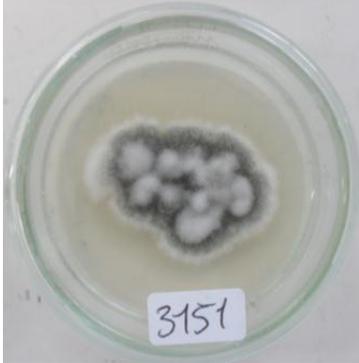
2	H1112	Algodonosa ; elevaciones globosas.	Centro rosa, b <sup>1</sup> amarilla; borde radial blanco.	Circular; bordes irregulares.	Amarillo → Marrón	Naranja; borde radial amarillo irregular.	Si.
2	H5132	Algodonosa ; elevaciones globosas.	Centro rosa; borde blanco.	Circular; bordes irregulares.	Marrón	Naranja; borde radial amarillo irregular.	Si. (4)
2	H1142	Granular; pelusa.	Centro verde opaco; anillo intermedio ligeramente gris; zonificación radial.	Circular no simétrico.	Si, ligeramente amarillo	Bandas color naranja, con matices y transiciones a amarillo; Bordes flocoso ramificado.	No .

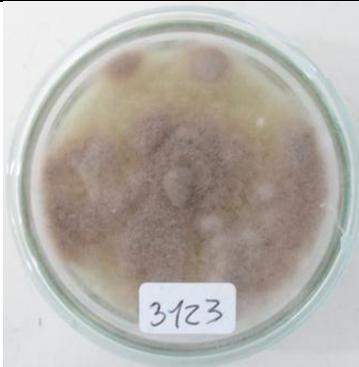
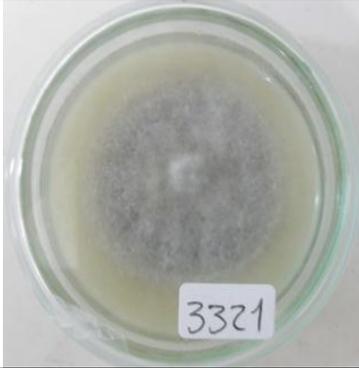
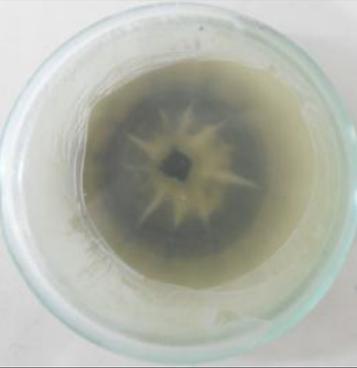
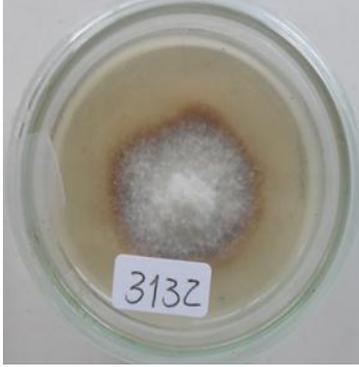


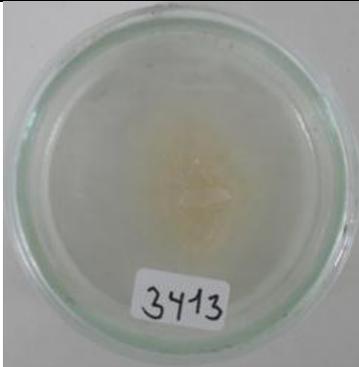
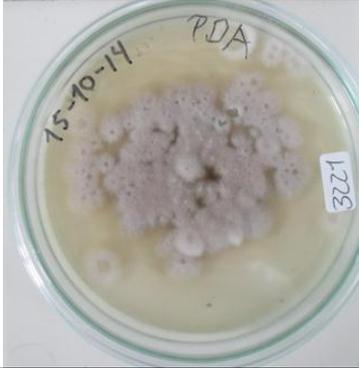
2	H6132	Micelio elevadas y ramificadas.	Micelio blanco posteriormente melocotón.	Crecimiento irregular ramificado sobre la superficie del agar.	No .	Color melocotón; con el tiempo naranja.	No .
3	H1133	Hifas elevadas, ramificadas.	Color ocre pálido.	Crecimiento irregular circular.	Marrón Claro	Melocotón pálido.	No
3	H4243	Crecimiento superficial.	Habano moderadamente blanco.	Pequeñas y pocas aglomeraciones algodonosas .	No	Habano medianamente blanco.	No

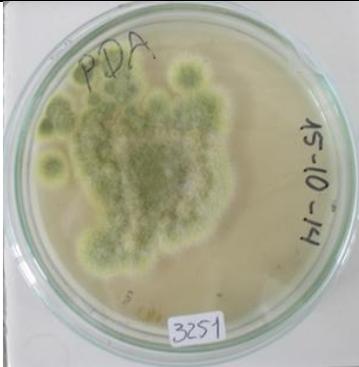
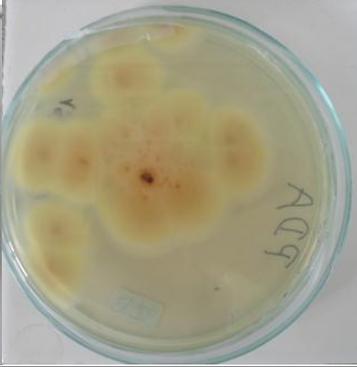


3	H3243	Hifas elevadas y ramificadas.	Micelio blanco posteriormente melocotón.	Crecimiento irregular ramificado sobre la superficie del agar.	No	Color melocotón; con el tiempo naranja.	No	 
3	H2213	Presenta leve elevación; bandas ligeramente moteadas.	Primera nada amarilla pálido; b <sup>2</sup> marrón con transiciones a amarillo pálido; b <sup>3</sup> amarilla pálido.	Círculo concéntrico irregular.	Amarillo	Color marrón; borde radial amarillo	No	 
3	H4133	Crecimiento superficial liso; bordes lisos.	Ocre moderadamente oscuro.	Crecimiento irregular.	No	Ligeramente ocre.	No	 

3	H1443	Hifas densas aterciopeladas.	Elevación Gris borde radial y superficie ligeramente negra.	Expansión de hifas de manera cilíndrica no simétrica.	No .	Gris mates negros.	Si (5)		
3	H1113	Inicialmente flocooso con el tiempo denso y granular	Círculos concéntricos centro café; bandas siguiente parda; café y borde radial amarillo	Círculos concéntricos irregulares	Amarillo	Centro café-pardo, borde amarillo.	No .		
3	H5113	Elevaciones y bordes algodonosos	Elevaciones blancas superficie negra	Crecimiento irregular	no	Color amarillo, negro, café de distribución no uniforme; borde radial blanco	Si		

3	H2313	Micélio aéreo flocoso; levemente elevado.	Inicialmente, blanco luego rosa posteriormente e purpura.	Circular sin simetría.	No	Color blanco; ligeramente amarillo pálido y posteriormente café pardo.	No		
3	H2133	Elevación moteada medianamente pronunciada.	Hifas grises ligeramente blanco; base superficial del agar oscuro ligeramente café.	Circular borde liso no uniforme	No	Centro forma estrellada color blanco; b <sup>2</sup> borde café claro; b <sup>3</sup> blanco	No		
3	H3213	Elevación moteada, abundante.	Elevación blanca; borde radial marrón.	Bandas bien marcadas no uniformes.	No	Centro color marrón oscuro; banda central café-pardo; b <sup>2</sup> marrón oscuro; b <sup>3</sup> blanco.	No		

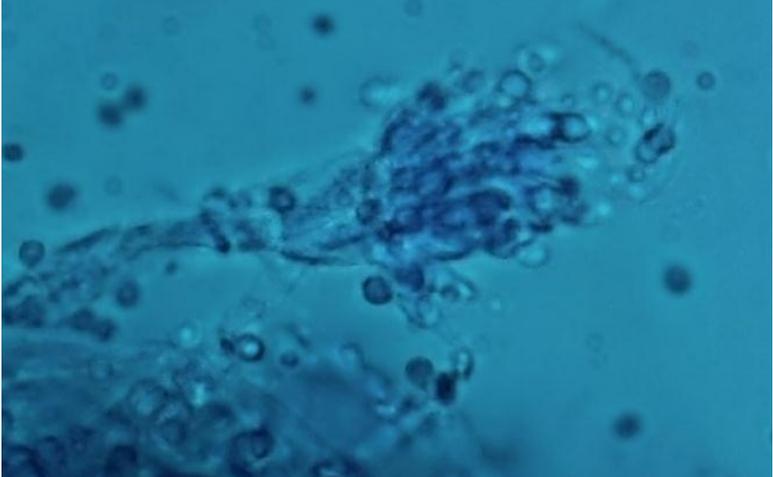
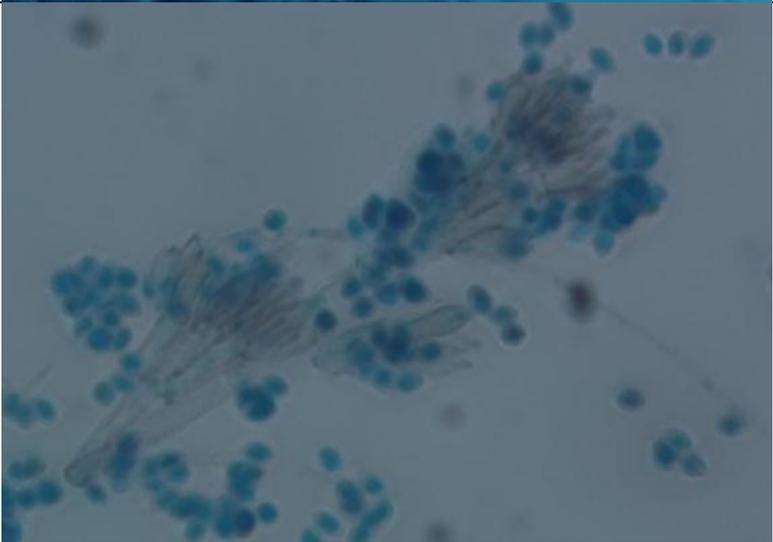
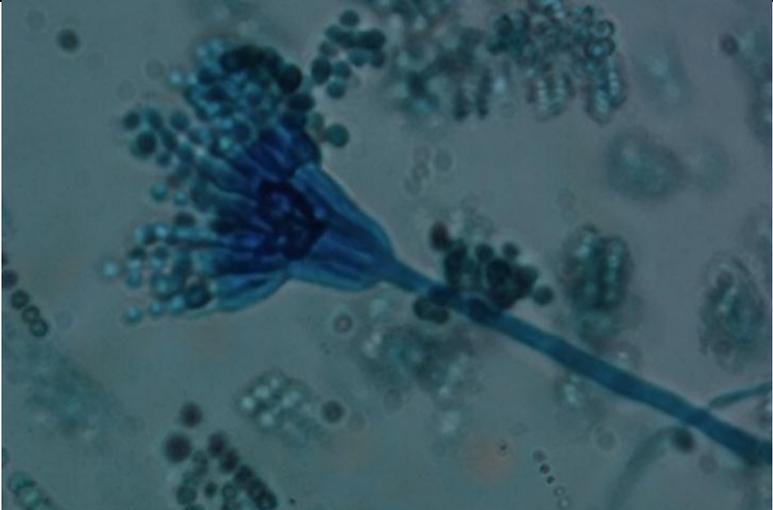
3	H1343	Superficie lisa; abundantemente arrugada.	Blanco ligeramente color crema.	Crecimiento de hifas de manera irregular.	No	Color Blanco ligeramente color crema.	No	 
3	H2123	Micélio aéreo flocoso; levemente elevado.	Inicialmente, blanco luego rosa posteriormente e purpura.	Circular sin simetría.	No	Centro café; bordes blancos.	No	 
3	H2113	Granular.	Centro verde opaco; seguido por matices verde hasta un verde amárela; zonificación radial blanca.	Circular no simétrico.	No	Color amarillo ligeramente anaranjado.	No	 

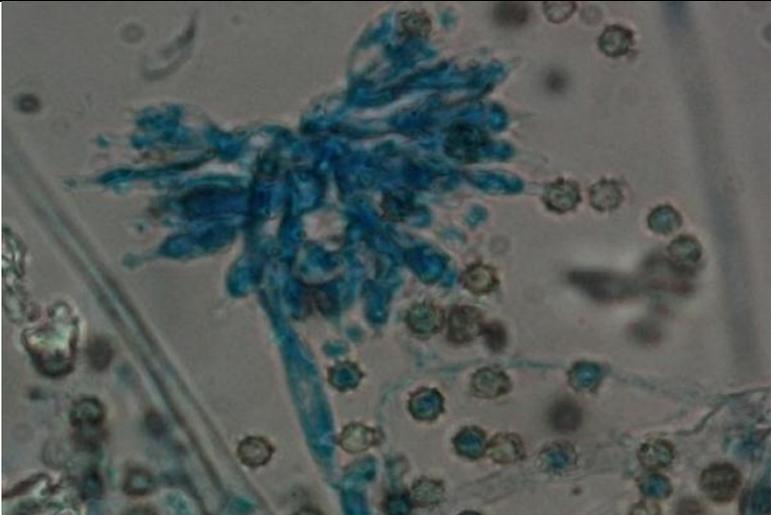
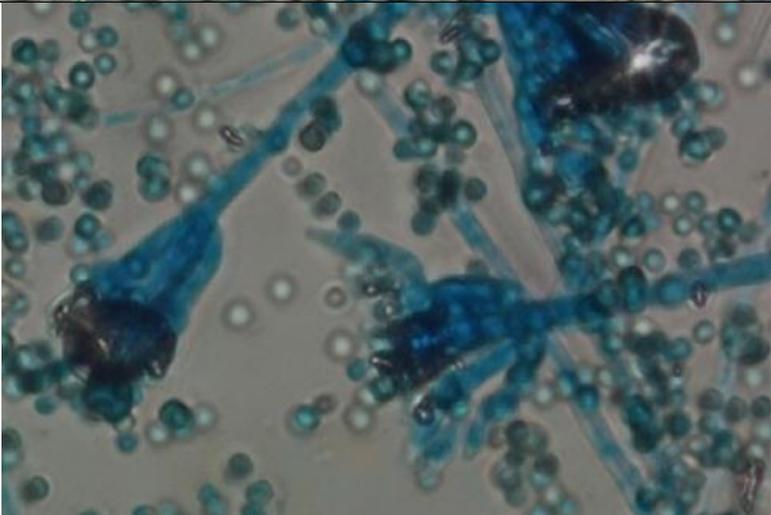
3	H5123	Granular.	Centro verde opaco; seguido por matices verde hasta un verde amárela; zonificación radial blanca.	Circular no simétrico.	No	Color amarillo ligeramente anaranjado.	No		
3	H1213	Moderadamente elevado.	Centro con hifas blancas pronunciadas; superficie verde oscuro; borde radial blanco.	Cilíndrico.	No	Café-pardo claro, zonificación radial blanca	No		
3	H5223	Granular.	Centro color rosa; seguido de verde opaco; y matices verde hasta tener un verde variegado; zonificación radial blanca.	Circular no simétrico.	No	Color amarillo ligeramente anaranjado.	No		

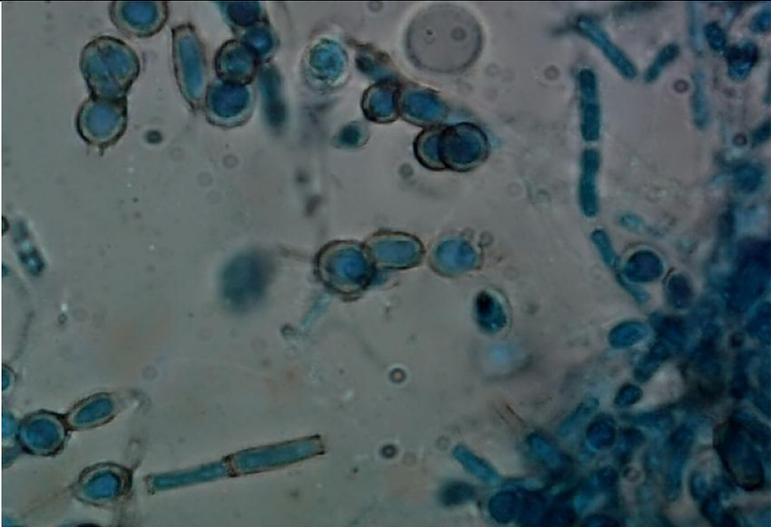
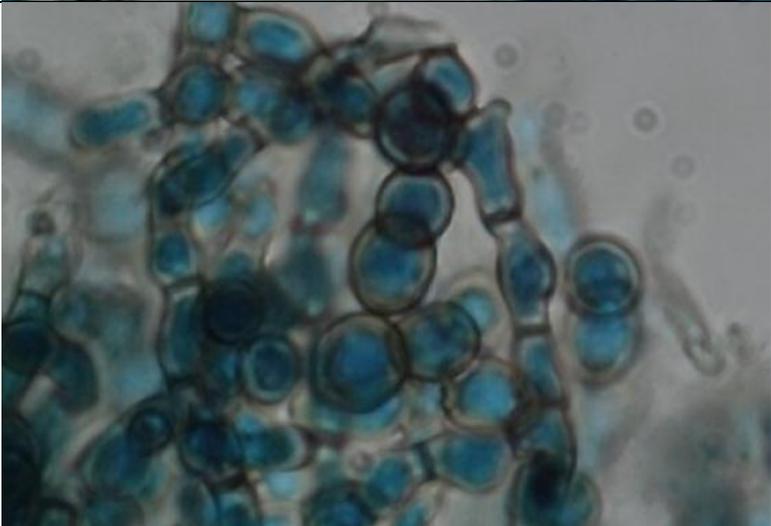
\*b1=color de banda 1, en el orden de del centro radial hacia extremos;b2;b3;bn.

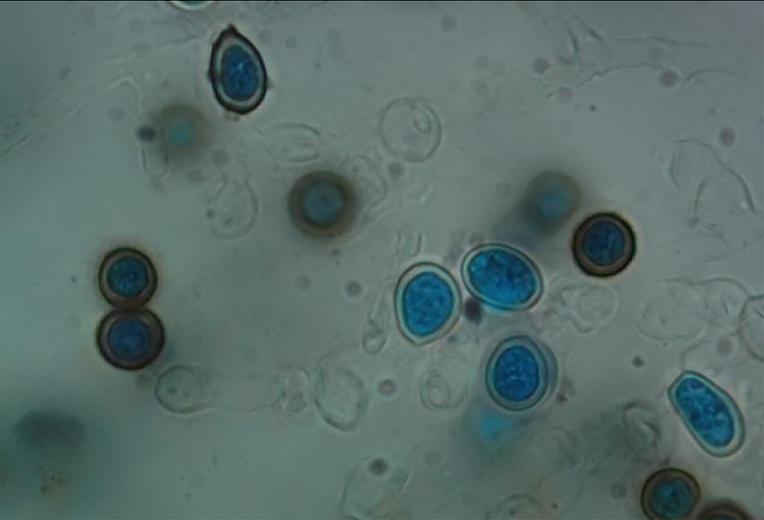
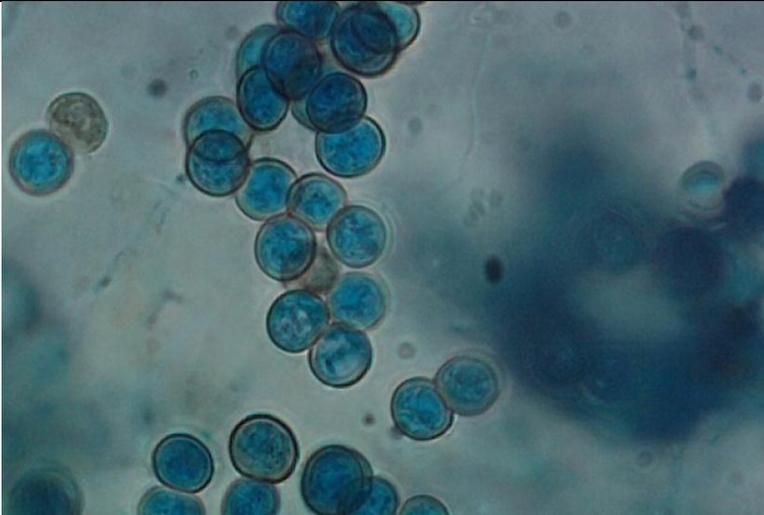
\*\*Los códigos de identificación que se observan en evidencia fotográfica fueron de forma temporal. Los códigos finales de cada cepa corresponden a los vistos en la segunda columna de la tabla.

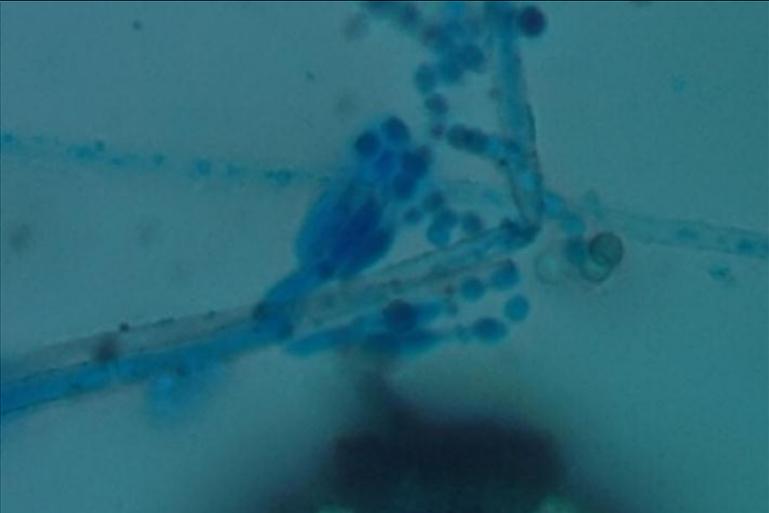
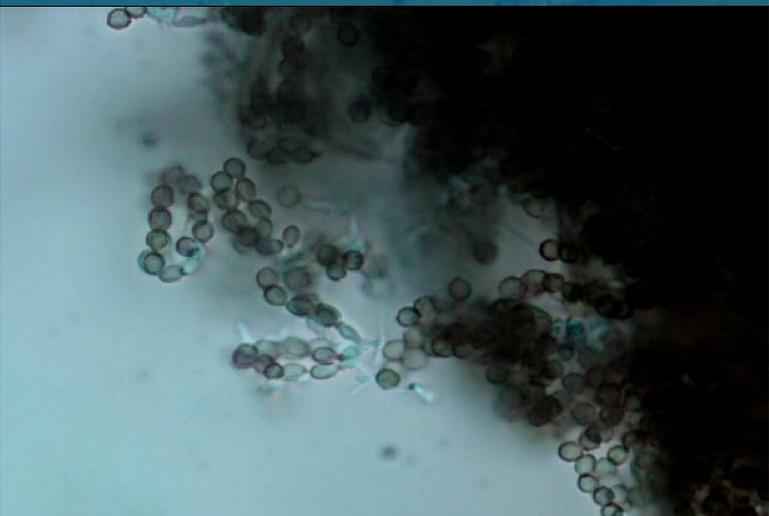
**Anexo 3.** Caracterización microscópica de los hongos aislados con mayor capacidad de solubilización

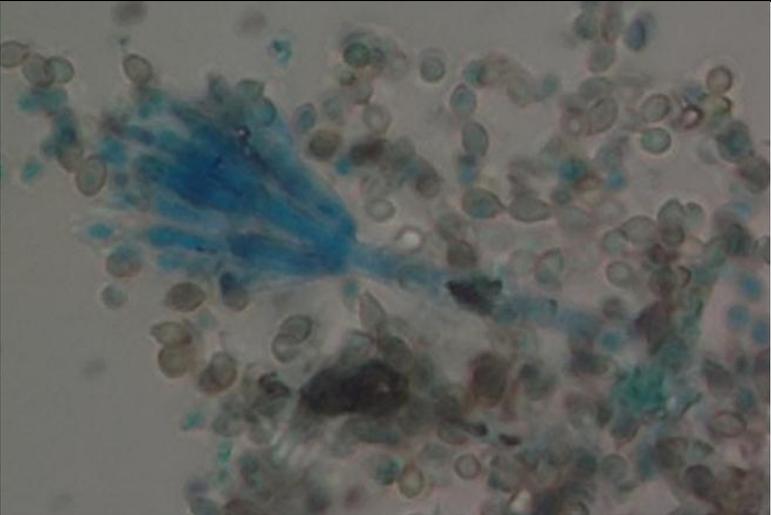
Zona	Cepas (Código)	Descripción de la cepa	Fotografía
1	H6111	Forma verticilos, con fiálides, seguidas de conidios elipsoidales a subcilíndricos de pared lisas en colarete.	
1	H7121	Hifas hialinas conidióforos erectos; ramas verticiladas con verticilos que llevan 3 o más fiálides citriforme en su parte basal que se estrecha; conidios elipsoidales-fusiformes de pared lisa.	
1	H1121	Hifas septadas hialinas con conidióforos simples o ramificadas, con métulas seguidas de fiálides y conidias elipsoidales cadenas, sin ramificar.	

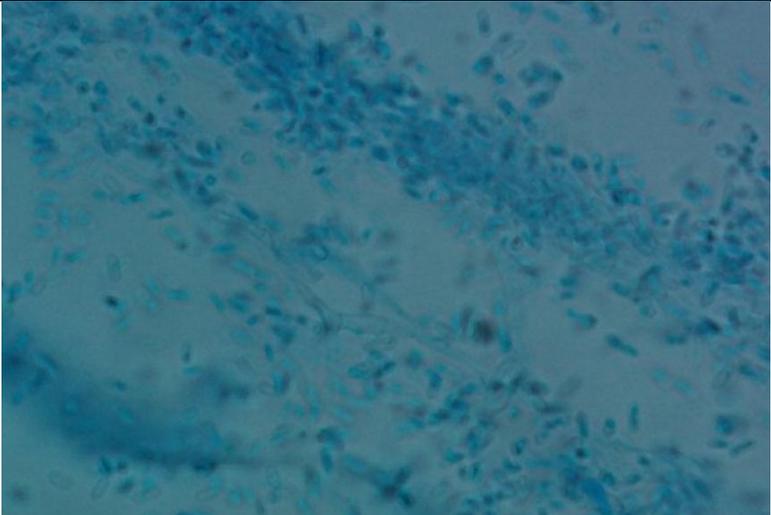
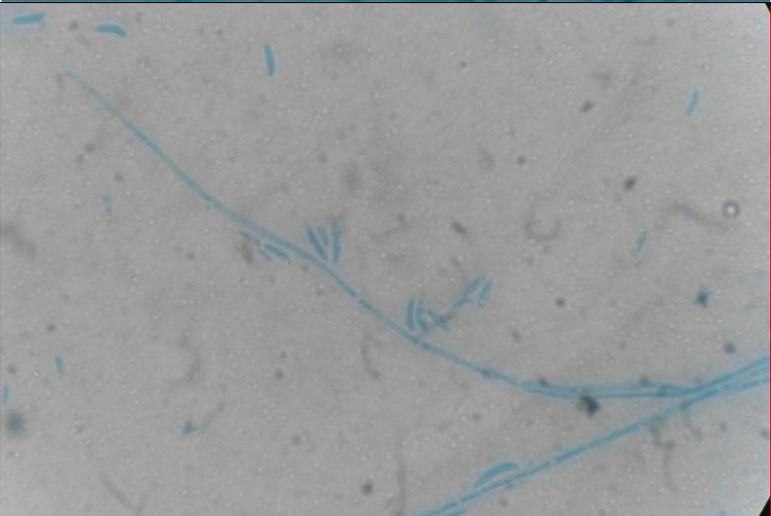
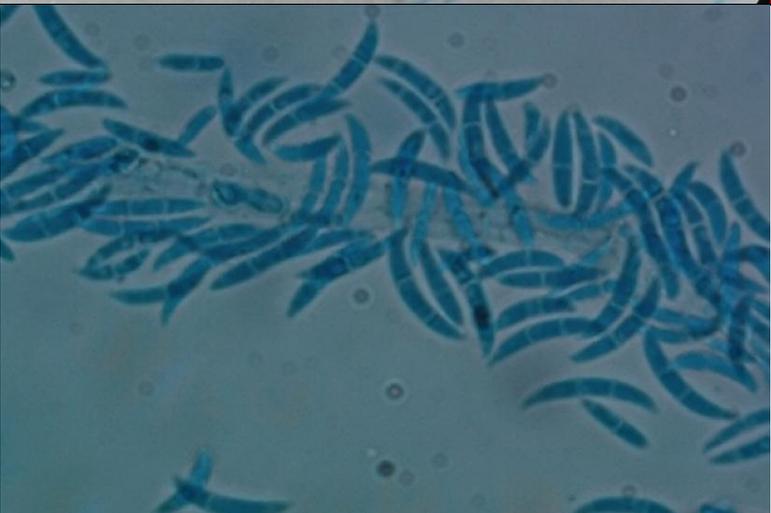
1	H2111	<p>Hifas hialinas septadas, conidióforos con ramificación irregular, con o sin métulas, fiálides solitarias, conidias hialinas, de forma elíptica, de pared lisa en cadena que se forman en la punta de las fiálides.</p>	
1	H6211	<p>Hifas septadas hialinas con conidióforos ramificadas, con métulas seguidas de fiálides en forma de botella y conidios elipsoidales con rugosidades cadenas, sin ramificar.</p>	
1	H5121	<p>Hifas septadas; conidióforos rectos, hialinos, con fiálides que nacen sobre métulas. conidias producidas en cadena, de forma esféricas hialinas.</p>	

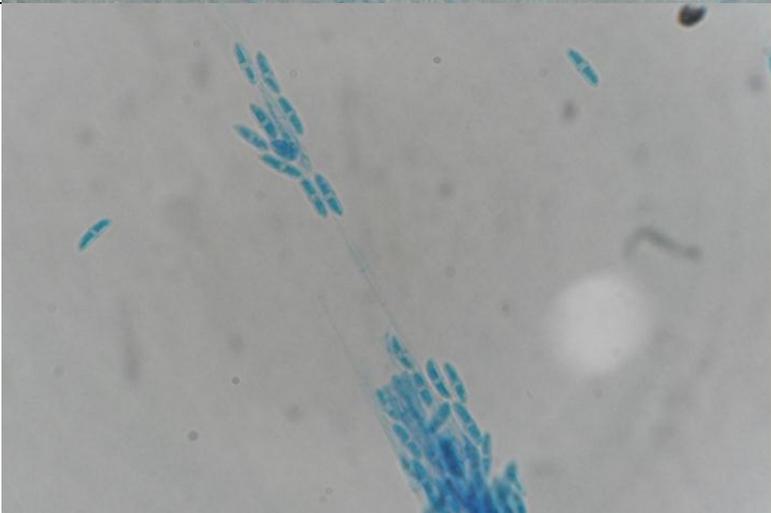
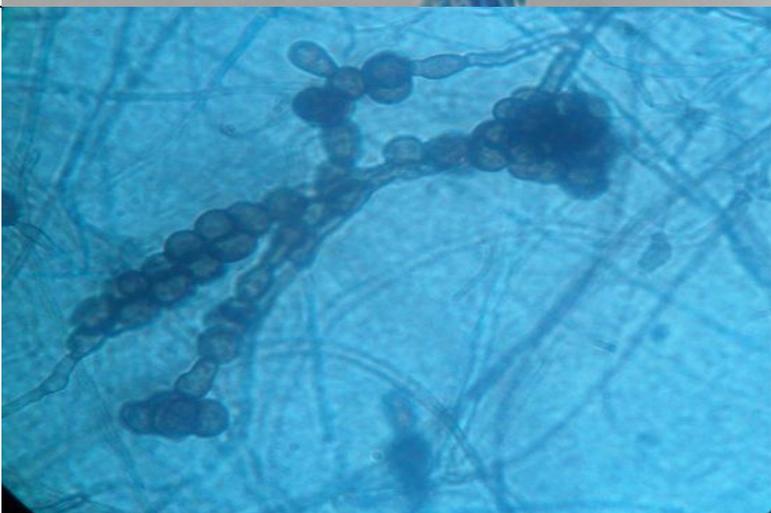
1	H3211	Micelio septado, endoconidias cilíndricas y alargadas, en cadenas obovadas de paredes gruesas.	
1	H5311	Hifas hialinas, septadas y ramificadas con una forma cilíndrica irregular en forma de collar.	
1	H4131	Micelio septado irregular, ramificado, conidióforos erectos o ascendentes con evidencia de cicatrices, células conidiógenas poliblasticas, conidios elipsoidales color amarillo de pared lisa oscura	

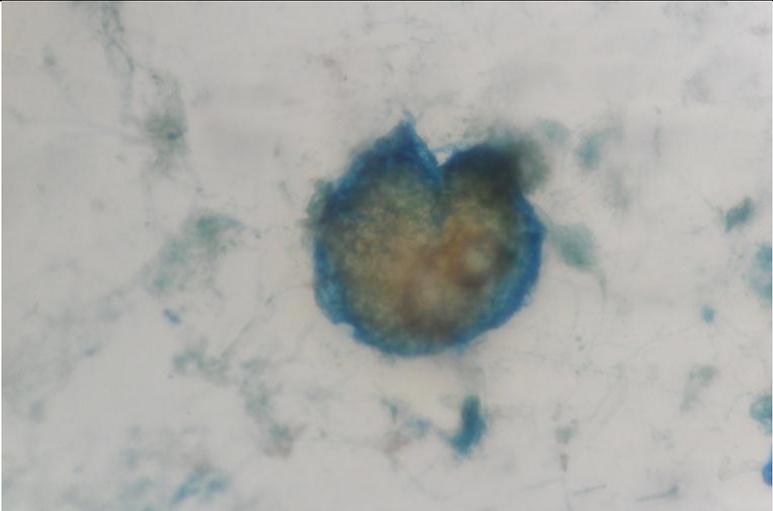
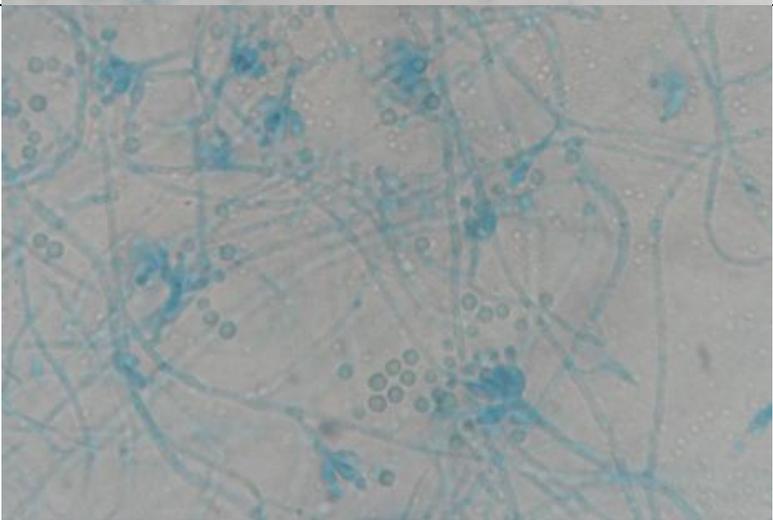
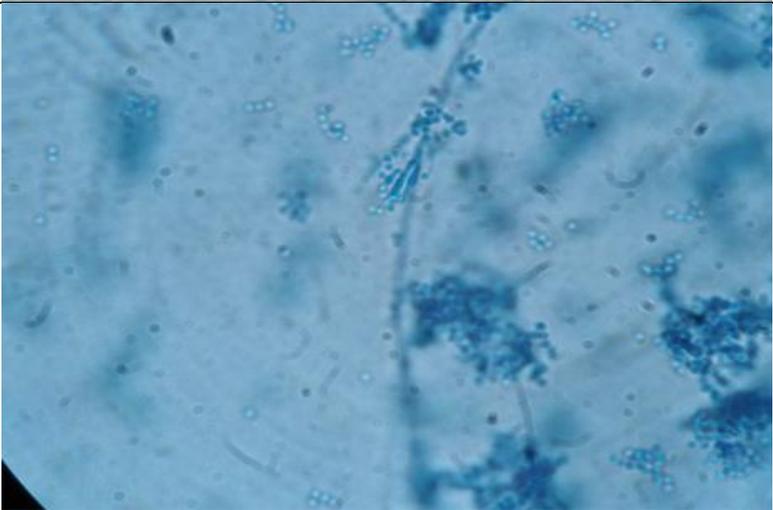
1	H2131	Conidióforos cortos; conidios solitarios, esféricos y sub-esféricos de color marrón oscuro, y paredes gruesas.	
1	H3341	Conidióforos cortos; conidios solitarios, esféricos de color marrón oscuro.	
2	H2112	Hifas septadas; conidióforos tabicados, ramificado al final, con métulas y fiálides en forma de botella, donde nacen conidios lisos elipsoidales en cadenas.	

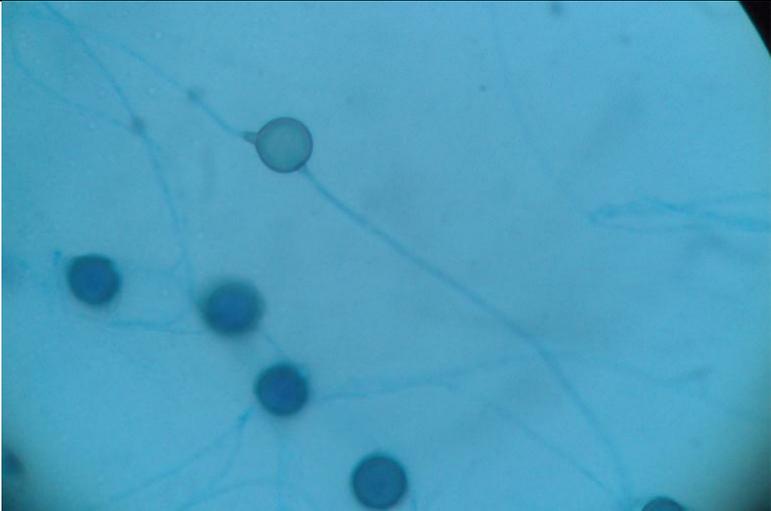
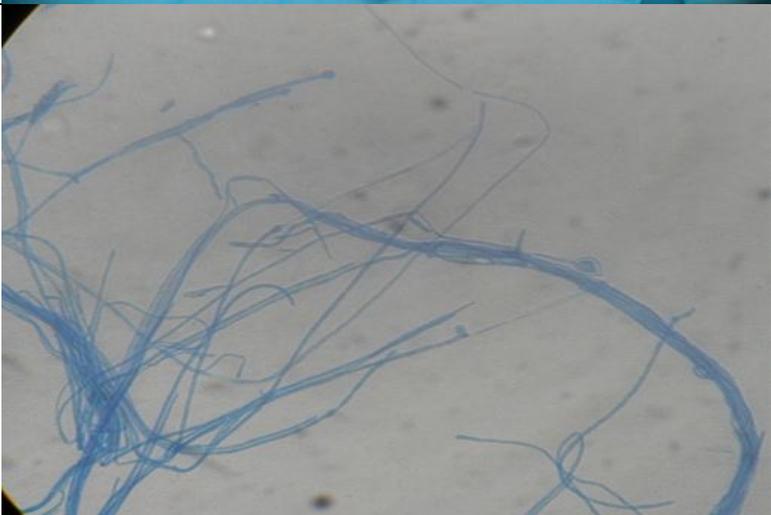
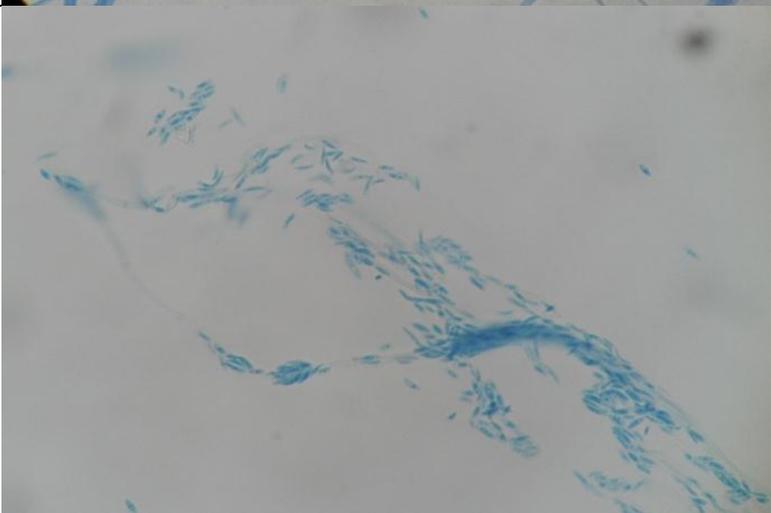
2	H3112	Hifas septadas; con métulas seguida de 3 o más fiálides que se estrechan en la parte distal, con conidios elipsoidales que forman cadena en la punta de las fiálides.	
2	H7142	Hifas septadas y flexuosas; célula conidiógena de pared lisa con vesícula en forma esférica globosa, conidios lacrimoides y esféricos	
2	H1112	Conidióforos de superficie lisa; conidios en cadenas acrópeta	

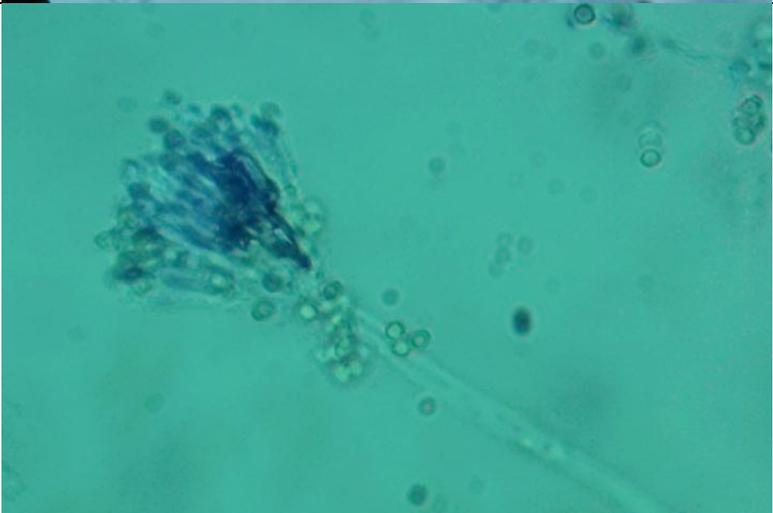
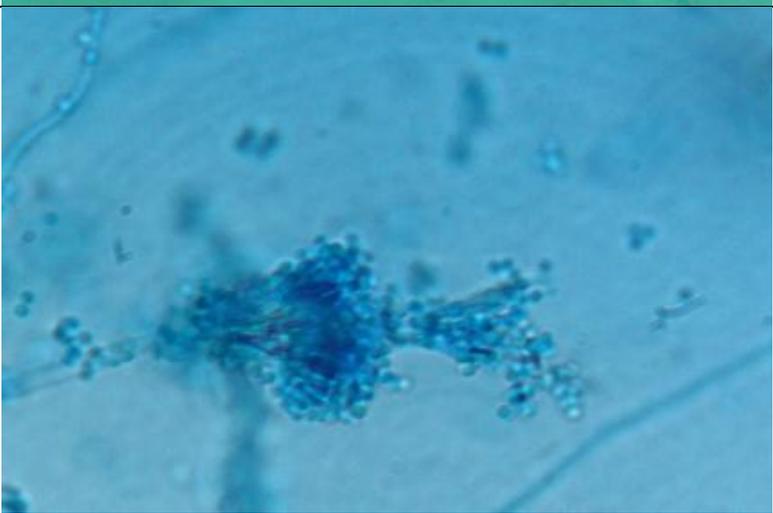
2	H5132	Conidióforos de superficie lisa; conidios en cadena acrópeta	
2	H1142	Hifas septadas; conidióforos tabicados, ramificado al final, con métulas y fiálides en forma de botella, donde nacen conidios ovoides en cadena.	
3	H6132	Hifas septadas hialinas; abundantes macroconidias encorvados con 2 y 3 septos y extremos truncados.	

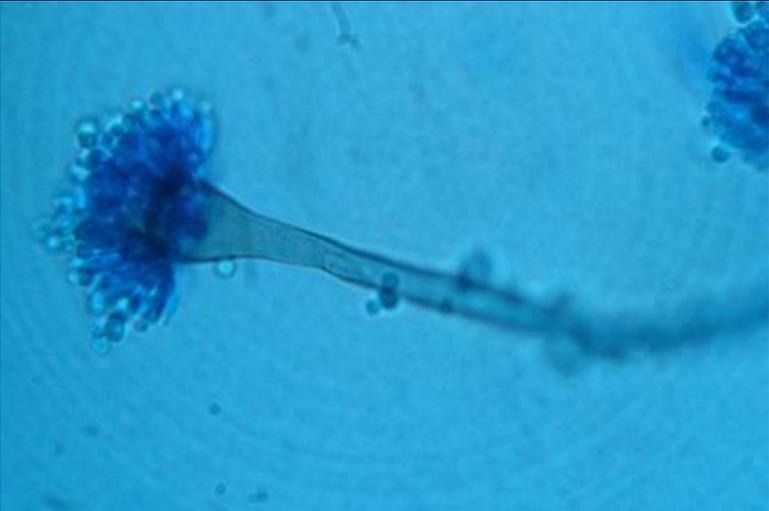
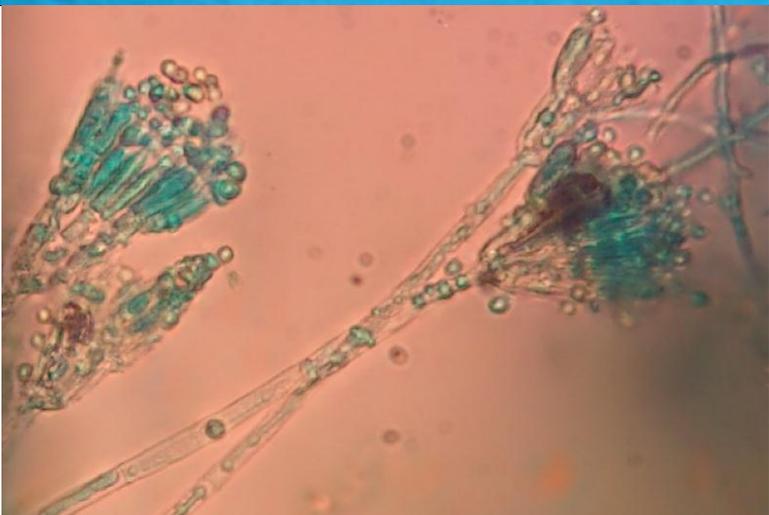
3	H1133	Hifas septadas, conidios cilíndricos	
3	H4243	Hifas vegetativas; conidios alargados, ligeramente fusiformes y erectos con extremos truncados	
3	H3243	Hifas septadas hialinas, abundantes macroconidias fusiformes encorvados con 2 y 3 septos y extremos truncados, escasas microconidias elipsoidales.	

3	H2213	Hifas septadas hialinas; conidióforos individuales y en racimos (fiálides en grupos)	
3	H4133	Hifa septadas solitarias y ramificadas con terminación cilíndrica, fusiformes con 2 celdas, septo intermedio hialino.	
3	H1443	Hifas septadas hialinos, ramificaciones irregulares; Conidios sincrónicos elipsoidal; aglomeraciones de células.	

3	H1113	Picnidio de color marrón, y de pared minuciosamente verrugosa.	
3	H5113	Hifas delgadas y entrecruzadas; conidióforos cortos monovercillado; en su mayoría con 3 fiálides pudiendo ser más, conidios elípticos.	
3	H2313	Hifas septadas; con métulas seguida de 3 o más fiálides que se estrechan en la parte distal, con conidios elipsoidales que forman cadena en la punta de las fiálides.	

3	H2133	Conidios solitarios esféricos y/o globosos, que nacen directamente de la hifa, hifas delgadas y poco abundantes.	
3	H3213	Hifas delgadas y entrecruzadas sin septos, ápices de las hifas tubiformes.	
3	H1343	Conidios alargados, moderadamente arriñonados y erectos con extremos truncados.	

3	H2123	Hifas septadas; con un par de métulas seguida de 3 o más fiálides que se estrechan en la parte distal, con conidios elipsoidales que forman cadena en la punta de las fiálides.	
3	H2113	Hifas septadas; conidióforos tabicados, ramificado al final, con métulas y fiálides en forma de botella, donde nacen conidios lisos elipsoidales en cadenas.	
3	H5123	Hifas septadas; conidióforos tabicados, ramificado al final, con métulas y fiálides en forma de botella, donde nacen conidios lisos elipsoidales en cadenas	

3	H1213	<p>El conidióforo con vesícula apical hinchada; Conidios redondos o seudoesféricos en cadena (aparentemente sin métulas), con fiálides</p>	
3	H5223	<p>Hifas septadas; conidióforos ramificado al final, con métulas y fiálides en forma de botella, donde nacen conidios lisos elipsoidales en cadenas.</p>	

#### Anexo 4. Prueba de Kruskal Wallis (ERS)

ERS TOTAL: K-S Dist. = 0,150      P < 0,001      Failed

A test that fails indicates that the data varies significantly from the pattern expected if the data was drawn from a population with a normal distribution.

A test that passes indicates that the data matches the pattern expected if the data was drawn from a population with a normal distribution.

#### Prueba de Kruskal Wallis

<u>Variable</u>	<u>IDENTIF</u>	<u>N</u>	<u>Medias</u>	<u>D.E.</u>	<u>Medianas</u>	<u>H</u>	<u>p</u>
ERS Total H1112	3	333,41	76,62	314,39	58,41	0,0057	
ERS Total H1113	3	285,57	134,00	319,38			
ERS Total H1121	3	208,26	21,52	220,42			
ERS Total H1133	3	412,84	102,93	418,58			
ERS Total H1142	3	293,07	20,32	292,56			
ERS Total H1213	3	207,63	24,16	219,94			
ERS Total H1343	3	375,38	58,14	379,35			
ERS Total H1443	3	223,63	16,93	223,55			
ERS Total H2111	3	237,83	20,17	248,90			
ERS Total H2112	3	236,66	18,51	236,19			
ERS Total H2113	3	224,54	33,56	236,01			
ERS Total H2123	3	323,09	67,09	286,04			
ERS Total H2131	3	290,67	85,03	281,25			
ERS Total H2133	3	203,59	28,96	208,19			
ERS Total H2213	3	296,15	50,46	280,19			
ERS Total H2313	3	282,82	55,64	282,76			
ERS Total H3112	3	218,28	21,72	225,27			
ERS Total H3211	3	262,26	43,64	273,00			
ERS Total H3213	3	273,14	79,73	240,60			
ERS Total H3243	3	202,52	33,03	185,79			
ERS Total H3341	3	235,30	13,87	240,91			
ERS Total H4131	3	257,81	74,65	217,05			
ERS Total H4133	3	406,34	97,83	434,07			
ERS Total H4243	3	207,35	50,23	191,85			
ERS Total H5113	3	265,84	75,05	284,14			
ERS Total H5121	3	273,79	110,08	217,50			
ERS Total H5123	3	240,60	13,09	243,41			

ERS Total H5132	3 272,92	39,71	285,95
ERS Total H5223	3 204,89	33,65	189,30
ERS Total H5311	3 406,98	153,03	442,45
ERS Total H6111	3 207,81	18,85	198,64
ERS Total H6132	3 300,08	15,87	298,97
ERS Total H6211	3 210,59	19,72	214,57
ERS Total H7121	3 249,12	25,63	236,55
<u>ERS Total H7142</u>	<u>3 228,78</u>	<u>33,03</u>	<u>232,84</u>

## Anexo 5. Cargas factoriales de componentes principales

Variable

Factor Loadings (Unrotated) (DATOS OBJ 2)

Extraction: Principal components

(Marked loadings are >,700000)

	Factor	Factor	Factor
	1	2	3
Arena	0,058734	-0,923065	-0,243779
Limo	0,809340	0,121694	-0,297212
Mg	0,894629	0,340430	0,117457
Na	0,871146	-0,139199	0,367174
K	-0,154471	0,626513	-0,602749
CIC	-0,807773	0,100340	0,412792
Arcilla	-0,488795	0,765684	0,380283
CO	-0,733584	-0,416696	0,456607
pH	0,887078	0,006028	0,393509
K	0,676225	0,582983	0,238878
Mg1	0,894629	0,340430	0,117457
PDis	0,610308	-0,444175	0,452675
PTot	-0,249729	-0,119040	0,869806
Hum	-0,630644	0,515113	0,096744
HSP	0,143599	-0,829298	-0,157633
Expl.Var	6,568883	3,784958	2,404576
Prp.Totl	0,437926	0,252331	0,160305

Value

Eigenvalues (DATOS OBJ 2)

Extraction: Principal components

	Eigenvalue	% Total	Cumulative	Cumulative
	variance	Eigenvalue	%	
1	6,568883	43,79256	6,56888	43,79256
2	3,784958	25,23305	10,35384	69,02561
3	2,404576	16,03051	12,75842	85,05612

## Anexo 6. Matriz de correlaciones parciales

Variable

Correlations (DATOS OBJ 2)

Marked correlations are significant at  $p < ,05000$

N=12 (Casewise deletion of missing data)

	HSP
Arena	,7741 p=,003
Limo	,0996 p=,758
Mg	-,2067 p=,519
Na	,1573 p=,625
K	-,4839 p=,111
CIC	-,3303 p=,294
Arcilla	-,7505 p=,005
CO	,1352 p=,675
pH	,0639 p=,843
K	-,2725 p=,392
Mg1	-,2067 p=,519
PDis	,3409 p=,278
PTot	-,0301 p=,926
Hum	-,3317 p=,292

### Anexo 7. Resultados de los análisis edáficos de las zonas muestreadas

Promedio de seis observaciones  $\pm$  error estándar para las variables fisicoquímicas edáficas en 12 plantaciones de banano en 3 zonas geográficas de Colombia

Plantaciones	Zona 1								Zona 2							
	CAM		ERE		EBO		SEN		DAL		LVE		LVI		MAK	
Arena (%)	50.7 $\pm$ 5.8	d	47.8 $\pm$ 4.1	cd	23.1 $\pm$ 4.1	ab	22.9 $\pm$ 4.1	ab	34.4 $\pm$ 4.1	abcd	17.8 $\pm$ 4.1	a	24.4 $\pm$ 4.1	ab	38.3 $\pm$ 4.5	abcd
Limo (%)	29.7 $\pm$ 3.8	a	35.1 $\pm$ 2.7	ab	35.1 $\pm$ 2.7	ab	30.9 $\pm$ 2.7	ab	48.9 $\pm$ 2.7	D	41.8 $\pm$ 2.7	bcd	38.7 $\pm$ 2.7	abc	42.7 $\pm$ 2.9	bcd
Arcilla (%)	19.6 $\pm$ 3.4	abcd	17.1 $\pm$ 2.4	ab	41.8 $\pm$ 2.4	de	46.1 $\pm$ 2.4	E	16.7 $\pm$ 2.4	Ab	40.3 $\pm$ 2.4	de	36.8 $\pm$ 2.4	cde	19.0 $\pm$ 2.6	abc
pH	4.3 $\pm$ 0.3	a	4.5 $\pm$ 0.3	a	5.1 $\pm$ 0.3	abc	5.1 $\pm$ 0.3	abc	4.9 $\pm$ 0.3	Ab	4.7 $\pm$ 0.3	a	5.6 $\pm$ 0.3	abc	5.0 $\pm$ 0.3	ab
CO (%)	7.7 $\pm$ 0.6	d	6.6 $\pm$ 0.6	d	4.9 $\pm$ 0.6	cd	5.2 $\pm$ 0.6	cd	1.0 $\pm$ 0.6	Ab	1.1 $\pm$ 0.6	ab	1.3 $\pm$ 0.6	ab	0.8 $\pm$ 0.6	a
CIC	35.4 $\pm$ 2.7	bc	44.0 $\pm$ 2.7	c	40.5 $\pm$ 2.7	c	37 $\pm$ 2.7	C	21.4 $\pm$ 2.7	Ab	28.1 $\pm$ 2.7	bc	28.7 $\pm$ 2.7	bc	17.9 $\pm$ 2.7	a
Ca	1.4 $\pm$ 0.9	a	2.1 $\pm$ 0.9	a	4.8 $\pm$ 0.9	bc	3.9 $\pm$ 0.9	ab	4.4 $\pm$ 0.9	Bc	4.4 $\pm$ 0.9	bc	7.8 $\pm$ 0.9	c	3.7 $\pm$ 0.9	ab
Mg	0.5 $\pm$ 0.2	a	0.9 $\pm$ 0.2	a	1.1 $\pm$ 0.2	ab	1.0 $\pm$ 0.2	A	1.2 $\pm$ 0.2	abc	1.6 $\pm$ 0.2	bcd	1.8 $\pm$ 0.2	cd	1.2 $\pm$ 0.2	abc
K	0.7 $\pm$ 0.2	ab	1.3 $\pm$ 0.2	bcd	1.1 $\pm$ 0.2	abc	0.8 $\pm$ 0.2	ab	2.2 $\pm$ 0.2	D	1.9 $\pm$ 0.2	d	1.9 $\pm$ 0.2	cd	1.8 $\pm$ 0.2	cd
Na	0.2 $\pm$ 0.1	a	0.4 $\pm$ 0.1	bcde	0.3 $\pm$ 0.1	abc	0.2 $\pm$ 0.1	ab	0.3 $\pm$ 0.1	abc	0.3 $\pm$ 0.1	abcd	0.4 $\pm$ 0.1	cdef	0.3 $\pm$ 0.1	abc
P Disponible	55.1 $\pm$ 60.1	a	220.4 $\pm$ 60.1	a	145 $\pm$ 60.1	a	88.5 $\pm$ 60.1	A	85.9 $\pm$ 60.1	A	53.6 $\pm$ 60.1	a	113 $\pm$ 60.1	a	104.4 $\pm$ 60.1	a
P Total	863 $\pm$ 175.4	abcd	1107 $\pm$ 175.4	bcde	1673 $\pm$ 175.4	de	1612 $\pm$ 175.4	E	690 $\pm$ 175.4	abc	603 $\pm$ 175.4	ab	688 $\pm$ 175.4	abc	582 $\pm$ 175.4	a
Humedad (%)	30.8 $\pm$ 1.2	f	20.0 $\pm$ 2.2	ab	27.9 $\pm$ 2.6	cdef	28.3 $\pm$ 1.8	def	24.2 $\pm$ 1.1	bcde	28.7 $\pm$ 1.3	ef	28.4 $\pm$ 2.1	def	22.6 $\pm$ 1.2	abcd

**Continuación anexo 7**

Plantaciones	Zona 3								ANOVA	
	LEL		LLO		LMA		PCA		F - H.	P.
Arena (%)	48.3 ± 4.1	D	27.1 ± 4.1	Abc	47.5 ± 4.1	cd	39.6 ± 4.1	bcd	8	<0.0001
Limo (%)	41.9 ± 2.7	bcd	50.6 ± 2.6	E	38.9 ± 2.7	abc	50.3 ± 2.7	cd	37.238	<0.0001
Arcilla (%)	9.8 ± 2.4	A	22.3 ± 2.4	Bcd	13.5 ± 2.4	ab	10.1 ± 2.4	a	55.592	<0.0001
pH	4.9 ± 0.3	Ab	6.1 ± 0.3	Bc	6.3 ± 0.3	cd	7.6 ± 0.3	d	12.197	<0.0001
CO (%)	1.9 ± 0.6	Bc	1.9 ± 0.6	Bc	1.6 ± 0.6	b	1.5 ± 0.6	b	59.139	<0.0001
CIC	15.7 ± 2.7	A	17.6 ± 2.7	A	15.8 ± 2.7	a	13.9 ± 2.7	a	58.536	<0.0001
Ca	3.3 ± 0.9	Ab	5.3 ± 0.9	Bc	4.4 ± 0.9	bc	6.9 ± 0.9	c	36.495	<0.0001
Mg	1.1 ± 0.2	Ab	1.6 ± 0.2	Bcd	2.0 ± 0.2	d	2.1 ± 0.2	d	40.01	<0.0001
K	0.9 ± 0.2	Ab	0.8 ± 0.2	Ab	0.6 ± 0.2	a	0.6 ± 0.2	a	42.804	<0.0001
Na	0.3 ± 0.1	abcd	0.7 ± 0.1	Ef	0.6 ± 0.1	def	1.0 ± 0.1	f	39.488	<0.0001
P Disponible	160.1 ± 60.1	A	195.7 ± 60.1	A	155.5 ± 60.1	a	243.1 ± 60.1	a	12.053	0.3596
P Total	969 ± 175.4	cde	917 ± 175.4	Abcde	848 ± 175.4	abcd	1175 ± 175.4	de	31.77	0.0008
Humedad (%)	20.9 ± 1.9	abc	22.8 ± 1.1	Abcd	15.1 ± 1.0	a	21.3 ± 1.0	ab	43.31	<0.0001

Promedios de fila con la misma letra no difieren estadísticamente entre plantaciones.

**Anexo 8.** Correlaciones entre variables edáficas de las fincas que presentaron cepas con una ERS>200% y los resultados de ERS de cada cepa.

Variable

Correlations (DATOS OBJ 3)

Marked correlations are significant at  $p < ,05000$

N=35 (Casewise deletion of missing data)

variable edáfica	Eficiencias relativas de solubilización
ARENA	-0,0284
	p=,871
LIMO	0,1711
	p=,326
ARCILLA	-0,0989
	p=,572
Ph	0,2831
	p=,099
Carbono Organico	-0,1131
	p=,518
CIC	-0,1559
	p=,371
Ca	0,2435
	p=,159
Mg	0,2314
	p=,181
K	-0,0782
	p=,655
Na	0,2826
	p=,100
P-	0,1139

Disponible	p=,515
P-Total	0,0032
	p=,985
Humedad del suelo	0,0109
	p=,951