

Solubilización de fosfatos *in vitro* por cepas de *Aspergillus* y *Penicillium* y promoción del crecimiento de plantas de cafeto

Mayra Acosta-Suárez*, Mileidy Cruz-Martín, Tatiana Pichardo, Eloísa Rodríguez, Raúl Barbón, Alina Capote, Anabel Pérez, Yelenys Alvarado-Capó

Instituto de Biotecnología de las Plantas, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5,5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830.

*Autora para correspondencia e-mail: mayra@ibp.co.cu

RESUMEN

La disponibilidad de fósforo en el suelo para el crecimiento de las plantas puede incrementarse por la acción de microorganismos solubilizadores de fosfatos. El objetivo del presente trabajo fue determinar el potencial de cepas de *Aspergillus* y *Penicillium*, solubilizadoras de fosfatos *in vitro*, para promover el crecimiento de plantas de cafeto obtenidas por embriogénesis somática. Se realizaron ensayos *in vitro* con cepas de *Aspergillus* y *Penicillium* crecidas en medio de cultivo Pikosvkaya (PVK) para determinar su capacidad de solubilización de fosfatos. Además, se inocularon en medio de cultivo líquido PVK y NBRIP donde se midió el pH. Se seleccionaron dos cepas y se cultivaron durante 72 h en medio de cultivo PVK. Posteriormente, suspensiones de conidios en los filtrados de cultivo se aplicaron al sustrato (suelo: compost) de plantas de *Coffea canephora* cv. 'Caturra rojo' obtenidas por embriogénesis somática. Después de 90 días de cultivo se midió la altura de las plantas (cm), se cuantificó el número de pares de hojas y se determinó la masa seca (g) de la biomasa. Todas las cepas ensayadas mostraron halos traslúcidos alrededor de las colonias en medio de cultivo PVK indicativo de solubilización de fosfatos y redujeron el pH en los medios de cultivo líquidos. La inoculación de *Aspergillus* sp. CCIBP-Asp 32 incrementó significativamente la altura de las plantas y la biomasa. Se demostró el potencial de estas cepas para la formulación de bioproductos que puedan ser aplicados en casa de cultivo o vivero para promover el crecimiento de plantas de cafeto obtenidas *in vitro*.

Palabras clave: *Coffea arabiga*, fósforo, medio de cultivo Pikosvkaya

In vitro phosphate solubilization by *Aspergillus* and *Penicillium* strains and coffee plants growth promotion

ABSTRACT

The availability of phosphorus in the soil for the growth of plants can be increased by the action of phosphate solubilizing microorganisms. The objective of this work was to determine the potential of *Aspergillus* and *Penicillium* strains, solubilizers of phosphates *in vitro*, to promote the growth of coffee plants obtained by somatic embryogenesis. *In vitro* tests were carried out with strains of *Aspergillus* and *Penicillium* grown in Pikosvkaya culture medium (PVK) to determine their solubilization capacity of phosphates. In addition, PVK and NBRIP liquid where the pH was measured were inoculated in culture medium. Two strains were selected and cultured for 72 h in PVK culture medium. Subsequently, suspensions of conidia in the culture filtrates were applied to the substrate (soil: compost) of *Coffea canephora* cv. 'Red Caturra' obtained by somatic embryogenesis. After 90 days of culture the height of the plants was measured (cm), the number of leaf pairs was quantified and the dry mass (g) of the biomass was determined. All strains tested showed translucent halos around the colonies in PVK culture medium indicative of phosphate solubilization and reduced pH in liquid culture media. The inoculation of *Aspergillus* sp. CCIBP-Asp 32 significantly increased the height of the plants and the biomass. The potential of these strains was demonstrated for the formulation of bioproducts that can be applied in green house or nursery to promote the growth of coffee plants *in vitro* obtained.

Keywords: *Coffea arabiga*, Pikosvkaya culture medium, phosphorus

INTRODUCCIÓN

El fósforo es un macronutriente muy importante para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Sin embargo, más del 80% del P aplicado como fertilizante no está disponible debido a procesos de sorción, precipitación o inmovilización en el suelo (Roberts y Johnston, 2015; Zhu *et al.*, 2018).

Diferentes microorganismos solubilizadores de fosfatos (MSF) se han aislado de fuentes naturales entre las que se encuentran el suelo y la rizosfera de las plantas (Hong-Yuan *et al.*, 2015; El-Ghandour *et al.*, 2018).

Específicamente, la solubilización de fosfatos por hongos filamentosos ha sido objeto de estudio en investigaciones que refieren a especies de los géneros: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Sclerotium* y *Talaromyces*, entre los se destacan *Aspergillus* y *Penicillium* (Chun-Chao *et al.*, 2007; Pandey *et al.*, 2008; Sharma *et al.*, 2013; Alfat *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018; Zhu *et al.*, 2018).

Los MSF pueden contribuir a incrementar la disponibilidad de P para las plantas principalmente mediante mecanismos tales como la disminución del pH por la producción de ácidos, formación de quelatos y la liberación de enzimas extracelulares (Illmer y Schinner, 1995; Shrivastava *et al.*, 2018). Se ha comprobado que incrementan el crecimiento de las plantas, su productividad y la fertilidad del suelo. Se pueden aplicar como biofertilizantes (Hong-Yuan *et al.*, 2015) y se consideran una alternativa ecológica y económicamente viable (Owen *et al.*, 2015; Altaf *et al.*, 2018).

En el cultivo de café (*Coffea* spp.) se han informado resultados positivos en la fase de vivero por la aplicación de bioproductos que promueven el crecimiento de las plantas, principalmente las procedentes de semilla botánica (Bustamante *et al.*, 2010; Barroso *et al.*, 2015). Sin embargo, con plantas obtenidas por cultivo *in vitro* las investigaciones son escasas. Atendiendo a lo anterior el objetivo del presente trabajo fue determinar el potencial de cepas de *Aspergillus* y *Penicillium*, solubilizadoras de fosfatos *in vitro*, para promover el crecimiento de plantas

de café obtenidas por embriogénesis somática.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se desarrollaron en el Laboratorio de Microbiología aplicada del Instituto de Biotecnología de las Plantas (IBP).

Solubilización de fosfatos *in vitro*

Se evaluó la solubilización de fosfatos *in vitro* por cepas de hongos filamentosos pertenecientes a la Colección de Cultivos Microbianos del IBP. Se seleccionaron cepas de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* atendiendo a resultados de experimentos preliminares.

Cepas de *Aspergillus* spp. (7): CCIBP-Asp 22, CCIBP-Asp 29, CCIBP-Asp 31, CCIBP-Asp 32, CCIBP-Asp 33, CCIBP-Asp 36, CCIBP-Asp 37.

Cepas de *Penicillium* spp. (6): CCIBP-Pen 21, CCIBP-Pen 22, CCIBP-Pen 24, CCIBP-Pen 28, CCIBP-Pen 43, CCIBP-Pen 50.

Se tomaron discos de micelio de 5.0 mm de diámetro de colonias de cada una de las cepas crecidas en medio de cultivo Agar Papa y Dextrosa (PDA) e incubadas durante siete días a 28 °C a la oscuridad.

Un disco de micelio se colocó en el centro de una placa de Petri de 90 mm de diámetro con medio de cultivo de Pikovskaya (PVK) (Pikovskaya, 1948) al cual se adicionaron trazas de Rosa bengala para facilitar las evaluaciones. El pH se ajustó a 5.4 ± 2 previo a la esterilización por autoclave. Las placas se incubaron a 28 °C y oscuridad y después de siete días de incubación se midió el diámetro (mm) del halo traslúcido alrededor de la colonia indicativo de solubilización de fosfatos. Además, se calculó el índice de solubilización (IS) mediante fórmula $IS = \frac{\text{Diámetro de la colonia} + \text{halo de solubilización}}{\text{diámetro de la colonia}}$ (Edi-Premono *et al.*, 1996). De cada cepa se hicieron tres réplicas y el ensayo se repitió dos veces.

Por otra parte, en tubos de ensayo (16.0 cm x 1.3 cm) con medio de cultivo NBRIIP (Mehta y Nautiyal, 2001) o medio de cultivo líquido de Pikovskaya (sin agar) se inoculó un disco de micelio de 5.0 mm de diámetro. El pH de

ambos medios de cultivo se ajustó a 5.4 ± 2 previo a la esterilización por autoclave. Las cepas se incubaron a 28 °C y oscuridad por 14 días. Transcurrido el tiempo se midió el pH del medio de cultivo. Tubos de ensayo con medio de cultivo sin inocular se utilizaron como control. Se emplearon tres tubos de ensayo por cepa y el ensayo se repitió dos veces. Se seleccionó una cepa de *Aspergillus* y otra de *Penicillium* atendiendo a los resultados.

Efecto sobre el crecimiento de plantas de café

Material vegetal

Se emplearon plantas de *Coffea arabica* cv. 'Caturra rojo' obtenidas por embriogénesis somática mediante el protocolo descrito por Barbón *et al.* (2003). Las plantas tenían como promedio 1 cm de altura, cuatro pares de hojas y sistema radical desarrollado.

Preparación del inóculo

De las cepas seleccionadas crecidas en medio de cultivo PDA e incubadas durante 7 días a 28 °C y oscuridad se tomaron discos de micelio de 12 mm de diámetro. Se inocularon Erlenmeyers que contenían 200 ml de medio de cultivo PVK líquido con cinco discos de micelio. Los Erlenmeyers se incubaron en condiciones estáticas a 28 °C y oscuridad durante 72 horas. Pasado este tiempo se eliminó el micelio por filtración y la suspensión de conidios ($\sim 2 \times 10^7$ conidios m^{-1}) en el filtrado de cultivo (FC) resultante se utilizó como inóculo.

Condiciones de cultivo

La plantación se efectuó en cajas con tubetes de polietileno de 52 mm de diámetro y 130 mm de largo que contenían 100 g de sustrato. Se utilizó un suelo Ferralítico Rojo lixiviado (Hernández *et al.*, 2015), que se mezcló con compost de cachaza en proporción 3:1 (v:v). Las plantas se colocaron en cámara de crecimiento con 80% de humedad relativa, 24 °C, iluminación con lámparas fluorescentes con un fotoperiodo de 16 h luz y 8 h oscuridad. El riego se realizó de forma manual, diariamente, para mantener la humedad del sustrato.

Se utilizó un diseño de bloques al azar con tres tratamientos. Estos consistieron en el empleo de las suspensiones de conidios en

los FC de las dos cepas seleccionadas y un control sin inocular. Previo a la plantación se aplicaron 10 ml de inóculo al sustrato de cada tubete y se utilizaron siete réplicas por tratamiento.

Las evaluaciones se realizaron a los 90 días posteriores a la plantación. Las variables evaluadas fueron:

- Altura de las plantas (cm) se midió con una regla graduada desde la base hasta la inserción del último par de hojas.
- Número de pares de hojas
- Masa seca de la biomasa (g) en cada tratamiento. Para ello, las plantas se lavaron para eliminar los restos de sustrato, se secaron con papel de filtro y se secaron a 60 °C hasta masa constante.

Análisis estadísticos

Los datos fueron analizados con el paquete estadístico PASW *Statistics*, versión 23, para Windows. Se verificaron los supuestos de normalidad mediante la prueba Shapiro Wilk y la homogeneidad de varianzas por la prueba de Levene. Los datos de índice de solubilización se analizaron a través de un ANOVA de clasificación simple y las medias se compararon por la prueba HDS Tukey para $p \leq 0.05$. Los datos de las variables evaluadas a las plantas se analizaron por las pruebas H de Kruskal Wallis y la prueba U de Mann Whitney ($p \leq 0.05$), previa comprobación de que los datos no cumplían los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Solubilización de fosfatos *in vitro*

Todas las cepas fúngicas crecieron en el medio de cultivo PVK. La presencia de un halo traslúcido alrededor de las colonias indicó cualitativamente la solubilización de los fosfatos. Este halo se observó desde las 24 horas de incubación y se incrementó con el tiempo (Figura 1) en todas las cepas.

Se constató que el índice de solubilización varió con la cepa de *Aspergillus* y alcanzó el máximo valor (2.41) ($p \leq 0.05$) en CCIBP-Asp32 (Tabla 1). Varias especies de *Aspergillus* se han informado con resultados positivos en ensayos *in vitro*, entre las que se destaca *Aspergillus niger* (Li *et al.*, 2015).

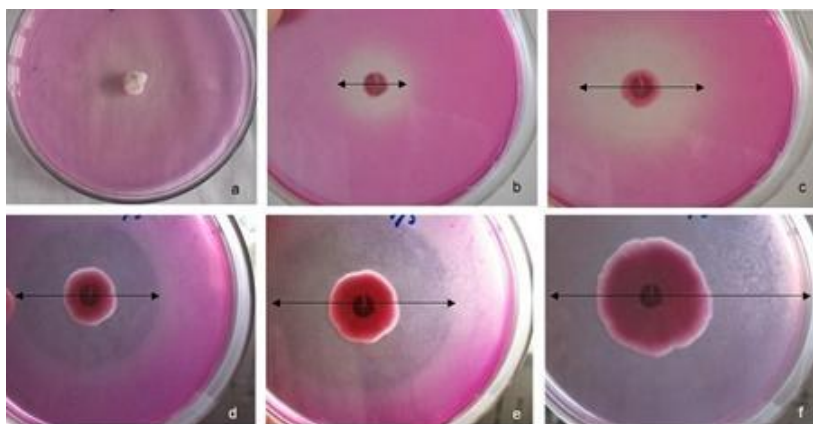


Figura 1. Colonias de *Penicillium* spp. CCIBP-Pen50 en medio de cultivo de Pikovskaya. (a) disco de micelio inoculado, (b) reverso de las colonias crecidas 24 horas, (c) 48 horas, (d) 72 horas, (e) 120 horas, (f) 7 días.

Tabla 1. Solubilización de fosfatos *in vitro* por cepas de *Aspergillus* spp. en dos medios de cultivo.

| Cepas | Índice solubilización | pH (NBRIP) | pH (PVK) |
|--------------|-----------------------|------------|----------|
| CCIBP-Asp 22 | 2.30 b | 4.13 e | 3.00 d |
| CCIBP-Asp 29 | 1.87 e | 4.10 e | 3.23 b |
| CCIBP-Asp 31 | 2.18 c | 4.78 a | 3.25 b |
| CCIBP-Asp 32 | 2.41 a | 4.44 d | 2.46 f |
| CCIBP-Asp 33 | 2.18 c | 4.52 c | 3.10 c |
| CCIBP-Asp 36 | 2.20 c | 3.70 f | 3.46 a |
| CCIBP-Asp 37 | 2.07 d | 4.63 b | 2.97 e |

NBRIP (Mehta y Nautiyal, 2001), PVK (medio de cultivo de Pikovskaya). Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre las medias según la prueba HDS para $p \leq 0.05$, $n=3$

En las cepas de *Penicillium* spp., al igual que en *Aspergillus*, el índice de solubilización fue variable y se encontró entre 1.97 y 4.40. El máximo valor con diferencias significativas con el resto de las cepas se obtuvo en CCIBP-Pen50 (Tabla 2). La solubilización de varias fuentes de fosfato en medio de cultivo Pikovskaya (Pikovskaya, 1948) es una prueba de laboratorio común y se emplea frecuentemente como el criterio inicial para el aislamiento de microorganismos con estas características.

En los dos medios de cultivo líquidos utilizados el pH descendió para todas las cepas con respecto al inicial (5.4 ± 2) después de 14 días de incubación (Tabla 1, Tabla 2). Además,

se observó cambio de coloración del medio de cultivo (Figura 2). En general se observaron diferencias significativas entre las cepas de los dos géneros en ambos medios de cultivo. Se conoce que uno de los mecanismos de solubilización de fosfatos empleado por los hongos es la producción de diferentes ácidos orgánicos, tales como cítrico, oxálico, málico y glucónico (Chun-Chao *et al.*, 2007; Shrivastava *et al.*, 2018). Además, los resultados guardaron relación con los obtenidos por Zhang *et al.* (2018) quienes comprobaron que el pH del medio de cultivo se correlacionó con la capacidad de solubilización de fosfatos lo que sugirió que los hongos estudiados promovían la disolución de las fuentes de P mediante la segregación de ácidos orgánicos.

Tabla 2. Solubilización de fosfatos *in vitro* por cepas de *Penicillium* spp. en dos medios de cultivo.

| Cepas | Índice de solubilización | pH (NBRIP) | pH (PVK) |
|--------------|--------------------------|------------|----------|
| CCIBP-Pen 21 | 3.56 c | 4.02 e | 2.99 b |
| CCIBP-Pen 22 | 3.83 b | 4.19 b | 2.65 e |
| CCIBP-Pen 24 | 2.48 e | 4.13 c | 3.35 a |
| CCIBP-Pen 28 | 1.97 f | 4.46 a | 2.85 c |
| CCIBP-Pen 43 | 2.75 d | 4.06 d | 2.82 d |
| CCIBP-Pen 50 | 4.40 a | 4.00 e | 2.83 d |

NBRIP (Mehta y Nautiyal, 2001), PVK (medio de cultivo de Pikovskaya). Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre las medias según la prueba HDS para $p \leq 0.05$, $n=3$

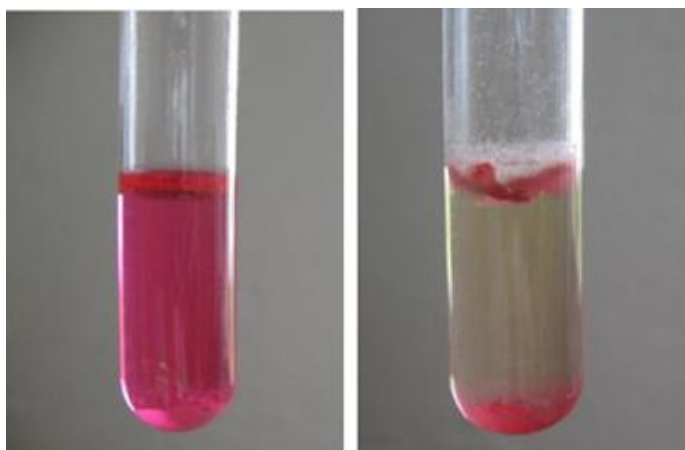


Figura 2. Solubilización de fosfatos en medio de cultivo Pikovskaya (líquido) por *Aspergillus* spp. CCIBP-Asp 32 (derecha) y control sin inocular (izquierda).

Los resultados de este estudio corroboraron hallazgos previos sobre la capacidad de cepas de *Penicillium* y *Aspergillus* de solubilizar fosfatos *in vitro* (Coutinho *et al.*, 2012; Alfat *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018). Atendiendo a los resultados se seleccionaron las cepas CCIBP-Asp 32 y CCIBP-Pen 50 para evaluar su efecto sobre plantas de café.

Efecto sobre el crecimiento de plantas de café

A los 90 días de cultivo se observó que la aplicación al sustrato de inóculos de cepas fúngicas capaces de solubilizar fosfatos *in vitro*, puede tener efecto en el crecimiento de plantas de café procedentes de embriogénesis somática (Tabla 3). Estos

resultados fueron consistentes con los referidos por otros autores sobre la promoción del crecimiento en plantas inoculadas con cepas de *Aspergillus* y *Penicillium* que se atribuyen, además de la solubilización de fosfatos, a la producción de diferentes metabolitos secundarios (Hong-Yuan *et al.*, 2015; Alfat *et al.*, 2018; Shrivastava *et al.*, 2018).

A pesar de alcanzar valores numéricos de índice de solubilización cercanos al doble de las cepas de *Aspergillus*, los resultados con *Penicillium* CCIBP-Pen 50 contrastaron con investigaciones previas donde se han informado resultados positivos en el crecimiento de plantas de otras especies (Patil *et al.*, 2012; Radhakrishnan *et al.*, 2014; Babu *et al.*, 2015).

Tabla 3. Efecto de la inoculación de dos cepas solubilizadoras de fosfatos *in vitro* crecidas en medio de cultivo Pikovskaya sobre el crecimiento de plantas de café cv. 'Caturra rojo' a los 90 días de cultivo.

| Tratamientos | Altura (cm) | Pares de hojas | Masa seca de la planta (g) |
|--------------------------|----------------|-------------------|-------------------------------|
| Sustrato + CCIBP-Asp 32 | 6.25 a | 10.00 a | 0.51 a |
| Sustrato + CCIBP- Pen 50 | 3.60 b | 8.00 b | 0.15 b |
| Sustrato (Control) | 3.46 b | 9.00 a | 0.17 b |

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre los rangos medios según las pruebas H de Kruskal Wallis y U de Mann Whitney para $p \leq 0.05$, $n = 7$

En contraposición, la cepa CCIBP-Asp32 incrementó significativamente la altura y la masa seca de las plantas. Una de las limitantes para la producción de semilla de café por embriogénesis somática está en las pérdidas elevadas en la transferencia de las plantas a casa de cultivo (Georget *et al.*, 2017). En este sentido, los resultados de este trabajo sientan las bases para profundizar en estudios que permitan seleccionar cepas fúngicas con actividad de promoción del crecimiento que impacten en mejorar los índices de eficiencia en esta fase.

Atendiendo a lo anterior CCIBP-Asp32 podría ser un candidato potencial para la formulación de un bioproducto que pueda utilizarse en casa de cultivo y en vivero. Se conoce que el crecimiento de plantas de café se puede reducir en condiciones de baja disponibilidad de P (Neto *et al.*, 2016). En este sentido, la aplicación del bioproducto en estas etapas sería una alternativa para hacer más eficiente el uso de las fuentes de fosfatos añadidas al sustrato. La actividad microbiana en el suelo tiene efecto sobre los patrones de enraizamiento de las plantas, los nutrientes que estas pueden utilizar y modifican los exudados radicales. Además, las formulaciones líquidas aplicadas directamente en el suelo tienen como ventaja una mayor concentración de estructuras fúngicas por unidad de área, entre otras (Alfat *et al.*, 2018).

CONCLUSIONES

Cepas de *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp. de la Colección de Cultivos Microbianos del IBP solubilizan fosfatos *in vitro* y tienen uso potencial como promotores del crecimiento

vegetal. La cepa CCIBP-Asp32 incrementa el crecimiento de plantas de café cv. 'Caturra rojo' en casa de cultivo.

Conflicto de interés

Los autores no declaran conflictos de intereses.

REFERENCIAS

Alfat MM, Imran M, Abulreesh HH, Khan MS, Ahmad I (2018) Diversity and Applications of *Penicillium* spp. in Plant-Growth Promotion. En: Gupta VG, Rodriguez-Couto S (eds). New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering, pp. 261-276. Elsevier BV, Amsterdam; doi: 10.1016/B978-0-444-63501-3.00015-6

Barroso L, Abad M, Rodríguez P, Jerez E (2015) Aplicación de FITOMAS-E y ECOMIC® para la reducción del consumo de fertilizante mineral en la producción de posturas de café. Cultivos Tropicales 36(4): 158-167

Babu AG, Kim SW, Yadav DR, Hyum U, Adhikari M, Lee YS (2015) *Penicillium menonorum*: a novel fungus to promote growth and nutrient management in cucumber plants. Mycobiology 43: 49-56

Bustamante CA, Rodríguez MI, Pérez A (2010) Respuesta de clones de *Coffea canephora* a la aplicación de *Azotobacter* en fase de vivero. Café Cacao 9(1): 8-13

Coutinho FP, Wagner F, Yano-Melo AM (2012) Solubilization of phosphates *in vitro* by *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp. Ecological Engineering 42(2012): 85-89

- Chun-Chao C, Yu-Lin K, Chen-Ching C, Wei-Liang C (2007) Solubilization of inorganic phosphates and plant growth promotion by *Aspergillus niger*. *Biol Fertil Soils* 43: 575-584
- Edi-Premono M, Moawad MA, Vleck PL (1996) Effect of phosphate solubilizing *Pseudomonas putida* on the growth of maize and its survival in the rhizosphere. *Indonesian Journal of Crop Science* 11: 13-23
- El-Ghandour IA, Abdel OA, Mousa AM, Hussein HG, Easa SM (2018) Isolation and Characterization of Phosphate Solubilizing Fungus *in vitro*. *Journal of Nuclear Technology in Applied Science* 6(2): 93-105
- Georget F, Courtel P, Garcia EM, Hidalgo M, Alpizar E, Breitler JC, Bertrand B, Etienne H (2017) Somatic embryogenesis-derived coffee plantlets can be efficiently propagated by Horticultural rooted mini-cuttings: a boost for somatic embryogenesis. *Scientia Horticulturae* 216: 177-185
- Hernández A, Pérez JM, Bosch D, Rivero N (2015) Clasificación de los suelos de Cuba. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, La Habana
- Hong-Yuan W, Shen L, Li-mei Z, Ji-zong Z, Tian-Zhi R, Ing-Quan F, Hong-Bin L (2015) Preparation and utilization of phosphate biofertilizers using agricultural waste. *Journal of Integrative Agriculture* 14(1): 158-167
- Illmer P, Schinner F (1995) Solubilization of inorganic calcium phosphates-solubilization mechanisms. *Soil Biol Biochem* 27: 257-263
- Li X, Luo L, Yang J, Li B, Yuan H (2015) Mechanisms for solubilization of various insoluble phosphates and activation of immobilized phosphates in different soils by an efficient and salinity-tolerant *Aspergillus niger* strain An2. *Appl. Biochem Biotechnol* 175: 2755-2768
- Mehta S, Nautiyal CS (2001) An efficient method for qualitative screening of phosphate-solubilizing bacteria. *Current microbiology* 43: 51-56
- Neto AP, Favarin JL, Hammond JP, Tezotto T and Couto HTZ (2016) Analysis of Phosphorus Use Efficiency Traits in *Coffea* Genotypes Reveals *Coffea arabica* and *Coffea canephora* Have Contrasting Phosphorus Uptake and Utilization Efficiencies. *Front Plant Sci* 7: 408; doi: 10.3389/fpls.2016.00408
- Owen D, Williams AP, Griffith GW, Withers PJA (2015) Use of commercial bio-inoculants to increase agricultural production through improved phosphorus acquisition. *Appl Soil Ecol* 86: 41-54
- Pandey A, Das N, Kumar B, Rinu K, Trivedi P (2008) Phosphate solubilization by *Penicillium* spp. isolated from soil samples of Indian Himalayan region. *World J Microbiol Biotechnol* 24: 97-102
- Patil PM, Kuligod VB, Hebsur NS, Patil CR, Kulkarni GN (2012) Effect of phosphate solubilizing fungi and phosphorus levels on growth, yield and nutrient content in maize (*Zea mays*). *Karnataka J Agric Sci* 25: 58-62
- Pikovskaya RI (1948) Mobilization of phosphates in soil in relation with vital activity of some microbial species. *Mikrobiologiya* 17: 362-370
- Radhakrishnan R, Kang SM, Baek IY, Lee IJ (2014) Characterization of plant growth-promoting traits of *Penicillium* species against the effects of high soil salinity and root disease. *J Plant Interact* 9: 754-762
- Roberts TL, Johnston AE (2015) Phosphorus use efficiency and management in agriculture. *Resour Conserv Recycl* 105: 275-281
- Sharma SB, Sayyed RZ, Trivedi MH, Gobi TA (2013) Phosphate Solubilizing Microbes: Sustainable Approach for Managing Phosphorus Deficiency in Agricultural Soils. SpringerPlus, Dordrech; doi: 10.1186/2193-1801-2-587
- Shrivastava M, Srivastava PC, D'Souza SF (2018) Phosphate-Solubilizing Microbes: Diversity and Phosphates Solubilization Mechanism. En: Meena VS (ed). *Role of Rhizospheric Microbes in Soil*, pp. 138-165. Springer Nature, Singapore; doi: 10.1007/978-981-13-0044-8_5
- Zhang Y, Chen FS, Wu XQ, Luan FG, Zhang LP, Fang XM (2018) Isolation and characterization of two phosphate-solubilizing fungi from rhizosphere soil of moso bamboo and their functional capacities when exposed to

different phosphorus sources and pH environments. PLoS ONE 13(7): e0199625; doi: 10.1371/journal.pone.0199625

Zhu J, Li M, Whelan M (2018) Phosphorus activators contribute to legacy phosphorus availability in agricultural soils: A review. *Science of the Total Environment* 612(2018): 522-537; doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.08.095

Recibido: 30-10-2018

Aceptado: 24-01-2019

Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC 4.0) <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/> Está permitido su uso, distribución o reproducción citando la fuente original y los autores.