

# INFLUENCIA DE MICROORGANISMOS SOLUBILIZADORES DE FÓSFORO DEL SUELO Y SU ABSORCIÓN POR PLÁNTULAS DE CAFÉ

Carlos A. Cisneros R.<sup>1</sup>, Marina Sánchez de P.<sup>1</sup> y Juan Carlos Menjivar F.<sup>1</sup>

## RESUMEN

Los cultivos pueden presentar problemas de absorción de fósforo dado que en los suelos gran parte de este elemento se encuentra en fracciones poco disponibles. El objetivo de esta investigación fue evaluar la influencia de diferentes cepas bacterianas y fungosas en las fracciones de fósforo del suelo y su absorción por plántulas de café en Palmira, Colombia. Se establecieron tres tipos de sustratos para las plantas: a) Suelo + pulpa de café descompuesta (1:1) en presencia o ausencia de las cepas; b) Suelo + pulpa de café descompuesta (1:1) + roca fosfórica con o sin las cepas; y c) Suelo sometido a fertilización con fosfato diamónico, DAP (testigo absoluto). Se usó un diseño experimental completamente al azar, con 23 tratamientos y 10 repeticiones. Los resultados mostraron que la aplicación de pulpa de café descompuesta y de los microorganismos favoreció la disponibilidad de fósforo y algunos nutrientes útiles para el desarrollo de plántulas de café, las cuales mostraron buena correlación entre el fósforo foliar y la fracción disponible de P. En todas las fracciones de fósforo, los contenidos de P inorgánico (Pi) fueron mayores a los de P orgánico (Po), con predominio general de los tratamientos inoculados con las diferentes interacciones microbianas.

**Palabras claves adicionales:** Bacterias solubilizadoras de fosfatos, hongos solubilizadores de fosfatos

## ABSTRACT

### **Influence of soil phosphorus solubilizing microorganisms and the absorption by coffee seedlings**

Crops may have problems absorbing phosphorus in soils since much of this element is found as non-available fractions. This research was aimed at evaluating the influence of the different bacterial and fungal strains on soil phosphorus fractions and their absorption by coffee seedlings in Palmira, Colombia. The treatments were established under three types of plant substrates: a) soil + decomposed coffee pulp (1:1) in the presence or absence of the strains; b) soil + decomposed coffee pulp (1:1) + phosphate rock with or without microorganisms; and c) soil subjected to fertilization with diammonium phosphate, DAP (absolute control). A completely randomized design was used with 23 treatments and 10 repetitions. It was found that the application of decomposed coffee pulp and microorganisms favored the availability of phosphorus and some nutrients useful for the growth of coffee seedlings which showed good correlation between leaf P and soil available P. In all phosphorus fractions, the content of inorganic phosphorus (Pi) was higher than those of organic phosphorus (Po), with overall prevalence of the inoculated treatments with the different microbial interactions.

**Additional key words:** Phosphate solubilizing bacteria, phosphate solubilizing fungi

## INTRODUCCIÓN

El fósforo es un elemento esencial para el crecimiento y desarrollo de las plantas (Sharma et al., 2013); este se puede agrupar en dos fracciones: fósforo inorgánico (Pi) y fósforo orgánico (Po), el primero se refiere al P de naturaleza mineral y el segundo al que se encuentra unido o acomplexado con la materia orgánica (Sharma et al., 2013).

El origen del Pi es la descomposición y desintegración de rocas y materiales parentales

que contienen apatitas (Mackey y Paytan, 2009), según Sharpley (2000) sus formas están asociadas con sesquióxidos amorfos y cristalinos, además de compuestos calcáreos, esta fracción representa entre el 35- 70 % del P total del suelo (Shen et al., 2011). Otro aporte de Pi es la transformación de la materia orgánica por diferentes microorganismos como bacterias y hongos a través de la mineralización del Po (Restrepo et al., 2015), y en ese orden de ideas, el Po se presenta en los suelos como ésteres de ácido ortofosfórico, fosfato de inositol, fosfolípidos, ácidos nucleicos

Recibido: Agosto 20, 2015

Aceptado: Abril 8, 2016

<sup>1</sup> Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira, Valle del Cauca, Colombia. e-mail: cacisnerosr@unal.edu.co

y azúcares fosfatados (Sharma et al., 2013).

Lozano et al. (2012) afirman que la comprensión de la dinámica del fósforo en el suelo permite realizar un manejo eficiente de fertilizantes fosfatados, de ahí la importancia de un buen análisis para saber que fracción predomina en determinado suelo; en ese sentido, se emplean métodos de fraccionamiento secuencial como el propuesto por Zhou et al. (2013) para estimar la disponibilidad del elemento a corto, mediano y largo plazo.

A nivel mundial muchos suelos presentan problemas de disponibilidad de fósforo (Charana y Yoon, 2012). Antes de ser absorbido por las plantas, una cantidad de fósforo aplicado como ortofosfato se transforma rápidamente en formas menos disponibles, y para atenuar esta situación se aplican fertilizantes fosfatados (Khan et al., 2010); sin embargo, su repetida aplicación puede conducir a pérdida de la fertilidad del suelo ya que ocasiona perturbación de la diversidad microbiana y sus actividades metabólicas asociadas (Gyaneshwar et al., 2002), lo que conlleva a una reducción en el rendimiento de los cultivos. Lo anterior genera pérdidas en la rentabilidad, y obliga a buscar alternativas que mejoren la biodisponibilidad del P en los suelos a través del uso de materias primas menos costosas y ambientalmente amigables (Kaur y Reddy, 2014).

Una de las alternativas que favorece la disponibilidad de las fracciones de fósforo es el uso de microorganismos solubilizadores de fosfatos (MSF) en el suelo (Khan et al., 2009), los cuales convierten las formas insolubles a formas solubles de este nutriente mediante procesos de acidificación, quelatación, reacciones de intercambio y producción de ácidos orgánicos (Moreno et al., 2015).

El uso de insumos microbianos (biofertilizantes) en el cultivo de café, por ejemplo, representa una opción que evita el uso continuo de fertilizantes fosfatados o fuentes químicas de fósforo (Arenas et al., 2014) dado que este elemento es importante en las primeras fases de su desarrollo (Arizaleta y Pire, 2008), ya que está relacionado con un aumento significativo en su sistema de raíces (Sadeghian, 2008).

Las investigaciones sobre los microorganismos asociados a la rizósfera de café (*Coffea arabica*) en Colombia son escasas, por tal razón el presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de

algunos microorganismos en la disponibilidad de las fracciones de fósforo en el suelo y su relación con su absorción en el tejido vegetal.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en los laboratorios e invernaderos de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira situada a 3° 30' N y 76° 18' W, con microorganismos aislados de muestras del suelo rizosférico de un *Typic Melanudand* (Montoya 2011), cultivado con café (*Coffea arabica* var. Caturra) de cuatro meses de edad. Se aislaron e identificaron a nivel molecular dos bacterias (*Kocuria* sp. y *Bacillus subtilis*) y dos hongos (*Sagenomella diversispora* y *Penicillium ochrochloron*) con mayor capacidad de solubilizar P a partir de fosfatos tricálcico, de aluminio y de hierro (Cisneros et al., 2014).

Posteriormente se estableció un ensayo en invernadero con plántulas obtenidas de semillas de café variedad Castillo, y sembradas en bolsas de polietileno negro de 17 x 23 cm con 1 kg de sustrato a base del mismo suelo más pulpa de café descompuesta en una proporción 1:1 (Sadeghian, 2008). A las plantas de los tratamientos que contenían microorganismos, se les sumergió su sistema radicular por 30 minutos en un vaso de precipitados con una suspensión fúngica de  $1 \times 10^6$  UFC·mL<sup>-1</sup> y bacteriana de  $1 \times 10^8$  UFC·mL<sup>-1</sup> a temperatura ambiente (Sang et al., 2008). Para evaluar el efecto de los microorganismos en la solubilización de las diferentes fracciones de fósforo se utilizó un diseño completamente al azar, con 23 tratamientos (Cuadro 1) y 10 repeticiones, empleando una plántula por bolsa como unidad experimental. La investigación duró aproximadamente 2 años, incluyendo el aislamiento e identificación molecular de los microorganismos y el ensayo de invernadero (6 meses).

Los análisis químicos de las muestras de suelo al inicio y al final de la investigación, así como la determinación de fósforo foliar (a partir del segundo o tercer par de hojas completamente desarrolladas), se llevaron a cabo en los laboratorios de Servicios Analíticos y de Química de Suelos del Centro Internacional de Agricultura Tropical, CIAT (Palmira, Departamento del Valle del Cauca, Colombia). En suelo se evaluó pH (potenciometría en agua 1:1), materia orgánica (Walkley-Black), fósforo (Bray II), aluminio

## Cisneros et al. Microorganismos solubilizadores de P en suelo con plántulas de café

(aluminio cambiante, KCl 1 M), hierro (hierro extractable, doble ácido), cobre (cobre extractable, doble ácido), zinc (zinc extractable, doble ácido), manganeso (manganeso extractable, doble ácido), boro (boro en agua caliente,

azometina) y azufre (azufre asimilable). El P foliar se determinó por espectrofotometría empleando el método de azul de molibdeno (CIAT, 2013).

**Cuadro 1.** Descripción de los tratamientos (en el mismo orden de la numeración del tratamiento)

Sustrato	Tratamiento	Descripción
Suelo + Pulpa de café descompuesta (1:1)	T1 a T11	Sin microorganismo (MSF), B1, B2, H1, H2, B1*B2, H1*H2, B1*H1, B1*H2, B2*H1, B2*H2
Suelo + Pulpa de Café descompuesta (1:1) + RF (26P, 40 ppm, Sánchez, 1999)	T12 a T22	Sin MSF, B1, B2, H1, H2, B1*B2, H1*H2, B1*H1, B1*H2, B2*H1, B2*H2
Suelo + DAP (2 g/suelo; Sadeghian, 2008)	T23	Sin MSF (testigo absoluto)

26P: Fosforita (fertilizante elaborado con roca fosfórica molida con 26 % P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> y 40 % CaO) B1: *Kocuria* sp., B2: *Bacillus subtilis*, H1: *Sagenomella diversispora*, H2: *Penicillium ochrochloron*

El fraccionamiento de P se realizó por el método secuencial reducido desarrollado por el CIAT (2013) a partir de la técnica modificada por Hedley et al. (1982), el cual se basa en el uso de soluciones extractoras que actúan sobre diferentes fracciones del fósforo. De esta forma se extrajeron las fracciones disponibles, o sea, el P orgánico en agua (H<sub>2</sub>O-Po), el P inorgánico en resinas de intercambio iónico (Resina- Pi) y el Pi, Po y P total en soluciones de bicarbonato de sodio 0.5 M (Bic Pi-Po-Pt). El P moderadamente disponible fue extraído con soluciones de hidróxido de sodio 0,1 M (NaOH Pi-Po-Pt) y el P no disponible u ocluido con soluciones de ácido perclórico 70 % (Resid Pt).

A los resultados se les realizó un análisis de varianza y pruebas de medias según la prueba de Tukey, así como un análisis de correlación de Pearson, utilizando el programa SAS 9.3 (Cary, NC).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Nivel de fertilidad de los sustratos utilizados en el almácigo de café.** En el Cuadro 2 se muestran los resultados de los análisis químicos de las muestras de suelo al inicio y al final del ensayo. Antes del experimento, el suelo mostró un pH fuertemente ácido sin riesgos de toxicidad por Al pero si por Mn, bajos contenidos de P, Fe y Cu. Los contenidos de materia orgánica (MO) y B fueron altos, el Zn presentó valores medios.

La baja concentración de los micronutrientes Fe y Cu podría atribuirse a los altos contenidos de

MO (>20 %) y a la formación de sustancias húmicas estables, que según su carácter polifuncional y capacidad quelatante puede acomplejarse con estos metales, de acuerdo con Jiang et al. (2009) e Ibrahim et al. (2011) la disponibilidad de micronutrientes en el suelo depende del contenido de materia orgánica.

Después del ensayo, con excepción de los tratamientos con Roca Fosfórica (RF): T13 (*Kocuria* sp.), T20 (*Kocuria* sp. + *Penicillium ochrochloron*), T21 (*Bacillus subtilis* + *Sagenomella diversispora*), T22 (*Bacillus subtilis* + *Penicillium ochrochloron*) y el T23 (testigo absoluto), se observó que la aplicación de la pulpa de café incrementó la MO, pH y fósforo.

Cuando se empleó DAP en T23, el pH disminuyó. La acidez residual de esta fuente se asocia con su contenido de iones amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), catión que en el proceso de nitrificación libera H<sup>+</sup> y disminuye el pH (Ávila et al., 2010).

En cuanto a los micronutrientes, se presentó una disminución en el Fe, menos en los tratamientos T10 (sin RF, *Bacillus subtilis* + *Sagenomella diversispora*), T13, T20 y T23. Igualmente se observó alta disminución en el Cu y elevada cantidad de Zn, excepto los tratamientos T9 (*Kocuria* sp. + *Penicillium ochrochloron*) y T23. Los contenidos de Mn se incrementaron (menos en el testigo); lo contrario ocurrió con el Al. Los niveles de boro superaron los valores iniciales del suelo.

Los resultados anteriores coinciden con los reportes de Sadeghian (2008) quien afirma que los

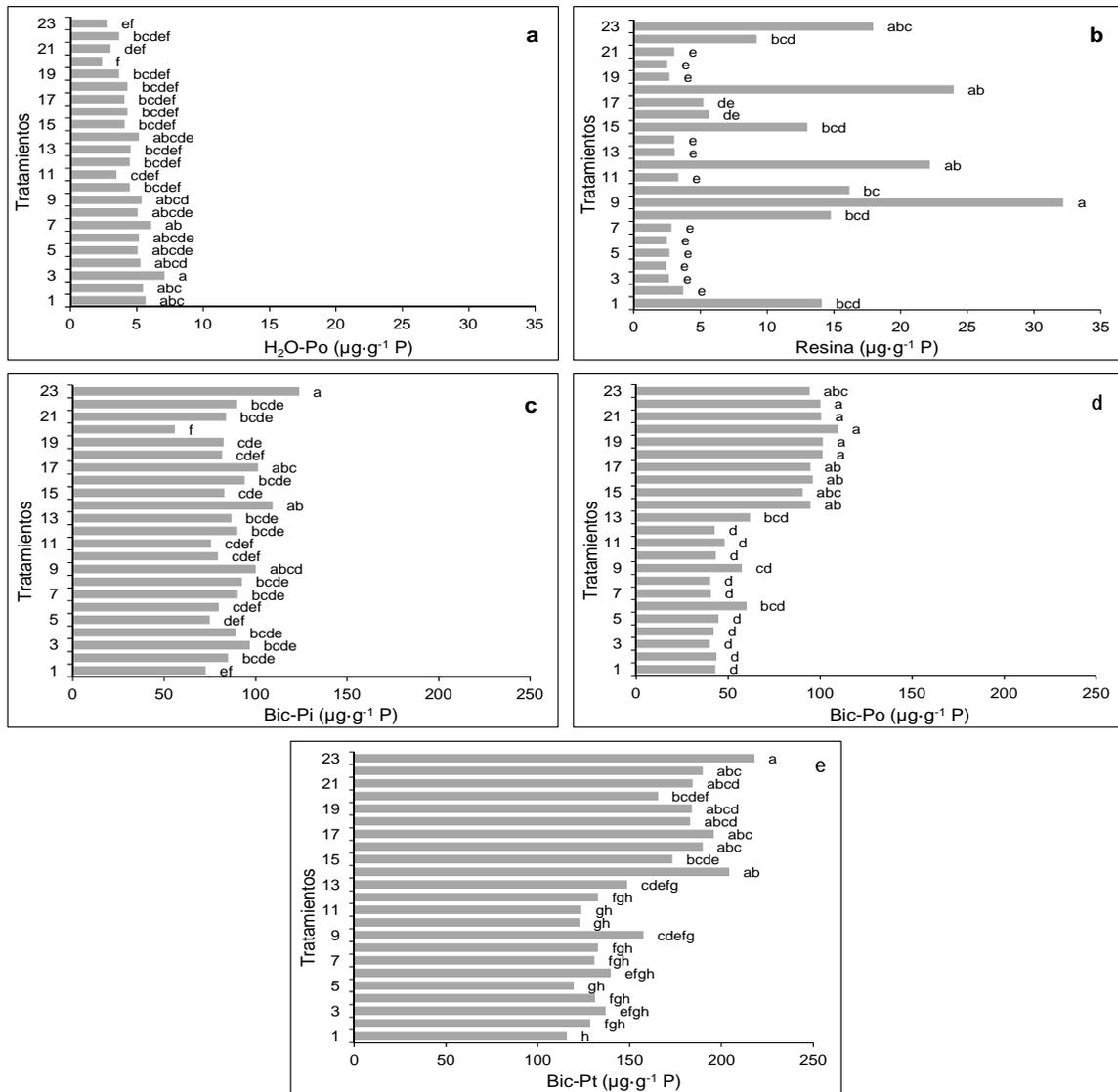
almácigos responden bien a la presencia de la pulpa de café como MO, la cual permite suplir las necesidades nutricionales en las plántulas y contribuir a su desarrollo.

#### Dinámica del fósforo en los almácigos de café.

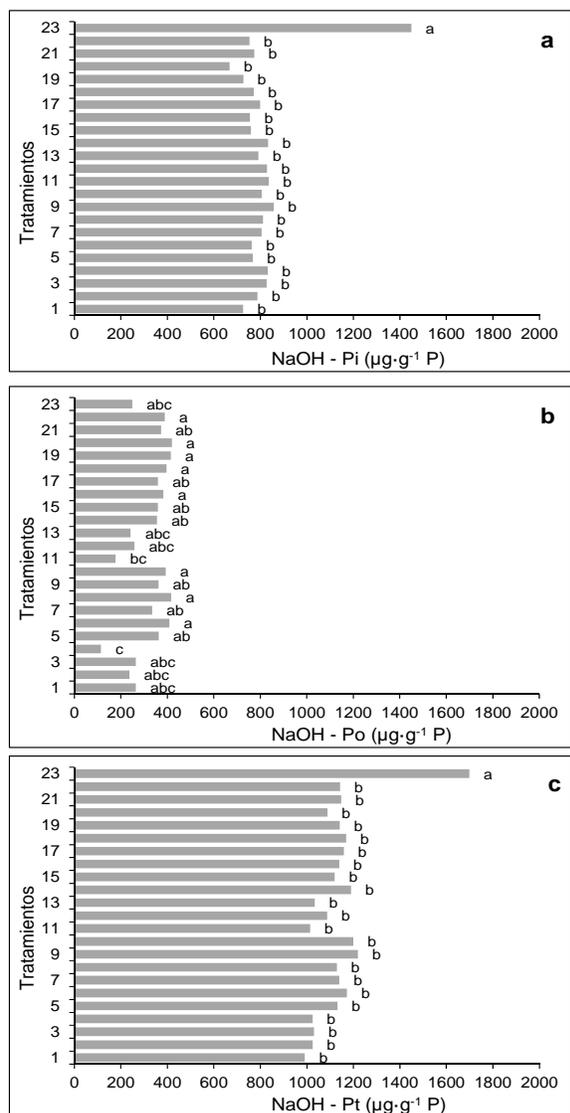
En relación a las fracciones de P disponible, Po extraído con agua ( $H_2O$ -Po), Pi con resina de intercambio iónico (Resina-Pi), Pi y Po con bicarbonato de sodio,  $NaHCO_3$  (Bic-Pi, Bic-Po), los resultados del análisis de varianza muestran diferencias significativas entre tratamientos (Figura 1). Contrariamente, se mostró en las fracciones de P moderadamente disponibles, Pi y Po extraídas

con NaOH, excepto en T23 que involucró el testigo absoluto para NaOH-Pi (Figura 2). Para el caso de P no disponible u ocluido, no se observaron diferencias estadísticas entre los tratamientos (Figura 3).

**Fracciones de P disponible.** Los tratamientos sin RF, T3 (*B. subtilis*) y T9 (*Kocuria* sp.+ *P. ochrochloron*), T23, y con RF, T20 (*Kocuria* sp.+ *P. ochrochloron*), presentaron los valores promedios más altos de concentración de fósforo disponible en las fracciones  $H_2O$ -Po, Resina-Pi, Bic-Pi, Bic-Po y Bic-Pt respectivamente (Figura 1).



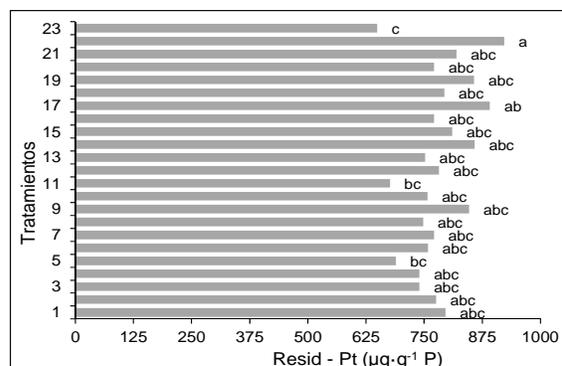
**Figura 1.** Fracciones de P disponible por tratamiento: a)  $H_2O$ -Po; b) Resina-Pi; c) Bic-Pi; d) Bic-Po; e) Bic-Pt. Medias con la misma letra no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Los tratamientos están identificados en el Cuadro 1



**Figura 2.** Fracciones de P moderadamente disponible por tratamiento: a) NaOH-Pi; b) NaOH-Po; c) NaOH-Pt. Medias con la misma letra no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Los tratamientos están identificados en el Cuadro 1

Con respecto a Resina-Pi, los tratamientos con y sin RF: T9, T18 (interacción fungosa) y T12 (sin MSF), presentaron los mayores contenidos de esta fracción. Cabe destacar que ésta presentó los valores más altos de P disponible comparados con H<sub>2</sub>O-Po. Para el caso de esta última fracción, los tratamientos sin RF (T1 a T11) obtuvieron las mayores concentraciones, siendo el tratamiento inoculado con *B. subtilis* (T3) el que registró el valor más alto. Sin embargo, las concentraciones de

P disponible en las fracciones Resina-Pi y H<sub>2</sub>O-Po disminuyeron, pero si presentan valores mayores con respecto al testigo absoluto (T23).



**Figura 3.** Fracciones de P no disponible por tratamiento. Medias con la misma letra no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Los tratamientos están identificados en el Cuadro 1

Con relación a sus respectivos testigos no inoculados, T1 (sin RF) y T12 (con RF), ambas fracciones disminuyeron, mostrando de esta forma el posible efecto antagónico de los MSF inoculados con la población nativa presente en la mezcla suelo-pulpa de café. Los valores medios más altos de P disponible se presentan en Resina-Pi en los tratamientos inoculados con las interacciones microbianas (sin RF) y con los hongos, especialmente *S. diversispora* (con RF), y en H<sub>2</sub>O-Po los que tuvieron las bacterias con y sin RF, especialmente *B. subtilis*.

Con relación a las fracciones Bic-Po y Bic-Pt los tratamientos con RF (T13 a T22) alcanzaron las mayores concentraciones de P disponible. Es importante mencionar que en el testigo absoluto dominaron las fracciones Bic-Pi y Bic-Pt, debido posiblemente a la presencia residual del fertilizante DAP. Con relación a sus respectivos testigos (T1 y T12), todas las fracciones extraídas con bicarbonato aumentaron. En forma general, en Bic-Pi los tratamientos sin y con RF inoculados con las bacterias, especialmente *B. subtilis*, registraron las concentraciones más altas, para Bic-Po y Bic-Pt los mayores valores se presentaron en las interacciones microbianas sin y con RF, mostrando de esta manera efectos sinérgicos entre los microorganismos inoculados y los nativos, los cuales se encargaron de potencializar el desarrollo de

las plantas.

La respuesta de las plantas a una inoculación microbiana en muchos casos ha sido para mejorar la adquisición de fósforo y estimular su desarrollo, y en ese sentido, Midekssa et al. (2015) observaron aumentos en el crecimiento y nodulación, lo mismo que en el contenido de N y P en plantas de lenteja (*Lens culinaris*) con respecto al control cuando fueron biofertilizadas con cepas bacterianas aisladas de la rizósfera de la misma planta.

Es importante resaltar que los tratamientos inoculados con las bacterias presentaron mayores concentraciones de Pi con respecto a Po, siendo *B. subtilis* (T14) la que marcó diferencias significativas en presencia de RF con respecto a los demás microorganismos y sus respectivas interacciones; los hongos mostraron similar comportamiento pero con Po.

En la Figura 1 se observa la distribución de fósforo disponible en cada tratamiento según su naturaleza (orgánica o inorgánica). Se aprecian variaciones en la proporción de Pi y Po con respecto al fósforo total del suelo con pulpa de café descompuesta. Se observa que más del 50 % del contenido de fósforo disponible es atribuido al P inorgánico.

Lo anterior es causado posiblemente por la disolución de fosfatos de aluminio (Al-P) y de hierro (Fe-P), característicos de suelos ácidos, y de la RF y DAP en los tratamientos donde se añadió. Dado el balance que debe existir entre las diferentes fracciones de fósforo con respecto al fósforo total, un aumento de la fracción disponible por la contribución de Al-P y Fe-P se debe corresponder con una reducción en el P extraíble con NaOH. Asimismo, la mayor disponibilidad del Pi se puede atribuir a los ácidos orgánicos producidos por los microorganismos solubilizadores de los fosfatos utilizados, lo mismo que a los nativos presentes (Moreno et al., 2015), los cuales, estimulados por el uso de la pulpa de café descompuesta como enmienda orgánica (Tejada et al., 2006), habrían incrementado la degradación microbiana y permitido la mineralización de Po y desorción de Pi.

La fracción de Pi extraíble con resina de intercambio iónico (Resina-Pi), que corresponde al P en la solución del suelo (Fernández y Turrión, 2011), aumentó su concentración con la presencia de RF (Figura 1) y de esta manera el elemento se encontró disponible para las plantas. De forma

similar, este aumento en el P disponible por disolución de la roca fosfórica debió estar asociado a una disminución del P residual. En caso particular, en los tratamientos con RF, la fracción Resina-Pi se incrementó aproximadamente en un 8,4 % y la Bic-Pi disminuyó en un 15,5 %.

Por otra parte, la fracción de Pi extraíble con bicarbonato de sodio (Bic Pi), que es apreciada por Hedley et al. (1982) y por Fernández y Turrión (2011) como la fracción rápidamente disponible para las plantas, hace referencia a Al-P, Fe-P y demás fuentes de P adsorbidos a la superficie coloidal, los cuales fueron solubilizados por bicarbonato de sodio que actuó como base o álcali sobre estas fuentes de fósforo; lo contrario ocurrió con la RF, la cual no se disuelve en esas condiciones sino en ambientes ácidos (Sequera y Ramírez, 2013).

Analizando en forma general los resultados, se observa que todos los tratamientos que contienen MSF con los testigos respectivos: T1 (sin RF), T12 (con RF) y T23 (absoluto), presentan diferencias significativas en la mayoría de las fracciones de P disponible. Los efectos más importantes se reflejan en los tratamientos con MSF sin RF en las fracciones H<sub>2</sub>O-Po y Resina-Pi, y con RF en las fracciones extraídas con bicarbonato. El análisis individual de las inoculaciones con cada microorganismo muestra que la bacteria *B. subtilis* fue la que mejor se comportó en los tratamientos. Con respecto a las mezclas microbianas inoculadas, la que expresó mejor efecto sinérgico fue *Kocuria* sp.+ *P. ochrochloron*.

**Fracciones de P moderadamente disponible.** El testigo absoluto presentó los valores promedio más altos de P moderadamente disponible en las fracciones extraídas con hidróxido de sodio, Pi y Pt respectivamente (Figura 2). Este efecto puede estar relacionado con la aplicación de DAP, una fuente inorgánica de fósforo, que es muy soluble y por lo tanto se disuelve rápidamente en el suelo para liberar P. Los tratamientos inoculados con las mezclas microbianas presentaron los valores más altos, siendo *Kocuria* sp. + *P. ochrochloron* (T20) el tratamiento que presentó el mejor efecto sinérgico.

En general, en la Figura 2 se observa mayor contenido de Pi que de Po. También se aprecia que en las fracciones NaOH-Pi predominaron en los tratamientos sin RF y, en NaOH-Po y NaOH-Pt los que emplearon RF. Se muestra que aproximadamente el 71 % del contenido total de

fósforo moderadamente disponible para las plantas es atribuido al  $P_i$ . Lo anterior posiblemente se deba a la presencia de minerales de tipo aluminosilicatos no cristalinos y altos contenidos de materia orgánica, causantes de la adsorción del elemento (Sánchez y Rubiano, 2015).

**Fraciones de fósforo no disponibles (P residual o P ocluido).** En la Figura 3 se presentan los contenidos de fósforo no disponible para los 23 tratamientos. Se observa que el tratamiento con RF que combinó la interacción *B. subtilis* y *P. ochrochloron* (T22) y el testigo absoluto presentaron el mayor y menor contenido de P ocluido. En forma general, en esta fracción se destacaron los tratamientos con RF e inoculados con las interacciones microbianas. Cabe resaltar que sus concentraciones de P no disponible aumentaron con respecto al testigo absoluto.

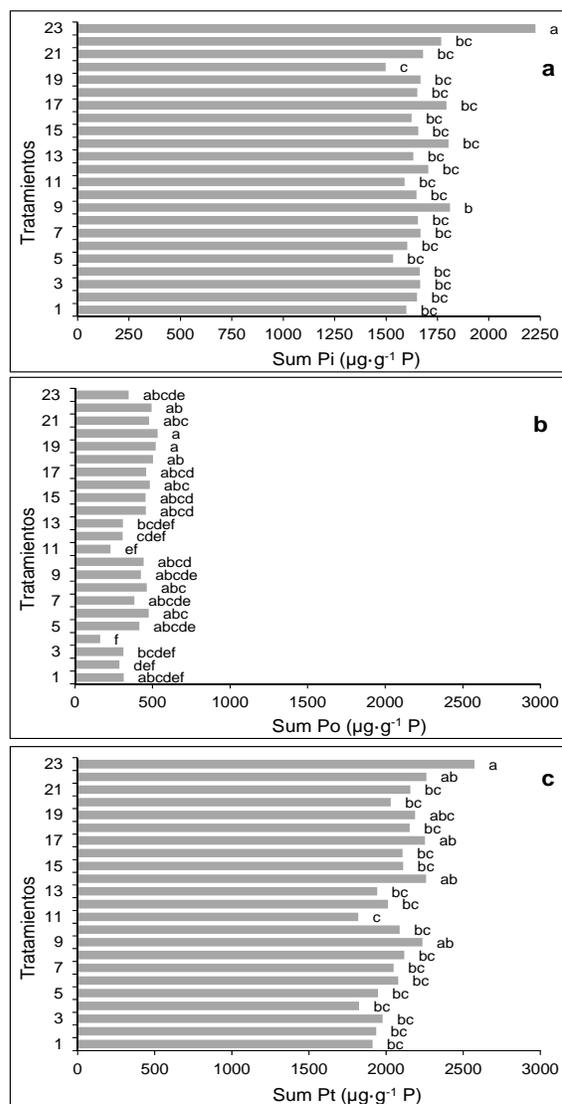
**Fósforo total y porcentajes de  $P_o$  y  $P_i$ .** Los suelos empleados en los tratamientos presentaron diferentes contenidos de fósforo total (Figura 4), lo cual depende de la presencia o no de pulpa de café descompuesta y de la RF. El valor más bajo de  $P_t$  se encontró en el tratamiento sin RF (T11) y el valor más alto, en el tratamiento testigo absoluto.

Las fracciones inorgánicas de fósforo mostraron mayores concentraciones que las orgánicas; lo anterior podría atribuirse al uso de DAP, RF y a la presencia de fosfatos de Al y de Fe, los cuales se disuelven a través de los ácidos presentes y por ende contribuye a la disponibilidad de fósforo en el suelo.

Es importante resaltar como contribuyentes de  $P_i$ , la mineralización de la pulpa de café descompuesta como materia orgánica y la desorción del nutriente del sistema coloidal. En general se observa que la mayor cantidad de  $P_i$  se presentó en los tratamientos fertilizados con RF comparados con los que no tenía el fertilizante mineral. Autores como Patiño y Sánchez (2014), Sohail et al. (2014) y Abbasi et al. (2015), entre otros, consideran que la fertilización directa con RF es opción apropiada para los ambientes tropicales, debido a su disponibilidad, bajos costos y su respuesta es mayor en suelos ácidos deficientes en nutrientes, especialmente en P, características del *Typic Melanudand* con y sin pulpa de café descompuesta utilizado en la presente investigación.

Con respecto a los porcentajes de fósforo obtenidos, el contenido de P inorgánico superó en

promedio al encontrado en P orgánico (Figura 5). Charana y Yoon, (2012), mencionan que los porcentajes de  $P_o$  pueden variar entre el 25 y 80 % del fósforo total. Igualmente, Subero et al. (2016) encontraron que el P orgánico total fue hasta 4,3 veces más bajo que el P inorgánico total, aunque más del 50 % del P orgánico correspondió a la fracción lábil (Bic- $P_o$ ).



**Figura 4.** Promedios de las fracciones de P total por tratamiento: a)  $P_i$ ; b)  $P_o$ ; c)  $P_t$ . Medias con la misma letra no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Los tratamientos están identificados en el Cuadro 1

De acuerdo con lo anterior, el contenido promedio más alto encontrado en los almácigos de café fue el tratamiento con RF (T20: *Kocuria* sp. +

*P. ochrochloron*), el cual se encuentra dentro del rango citado. En general, en éste se observan diferencias significativas con los tratamientos sin RF, siendo T4, inoculado con *S. diversispora*, el que presentó el menor porcentaje de Po. Esto se explica por las diferencias en tasas de mineralización de la pulpa de café en cada tratamiento, y que según Zheng et al. (2002) el P agregado procedente de un abono orgánico tiene su destino en las distintas fracciones orgánicas del suelo.

Es importante destacar que los altos porcentajes de Po se presentaron en los tratamientos con RF e

inoculados con las interacciones microbianas respectivas. Lo anterior posiblemente se deba a que RF disuelto con la acidez del suelo aporta Pi, disminuyendo de esta manera el proceso de mineralización de la materia orgánica.

También se debe señalar que la mayor parte del fósforo asociado con la materia orgánica se acompleja con Al y Fe (Bravo et al., 2007), elementos presentes en el *Typic Melanudand* usado en esta investigación como suelo natural, cuyas características químicas fueron comentadas (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Características químicas de las muestras de suelo: al inicio y al final del ensayo

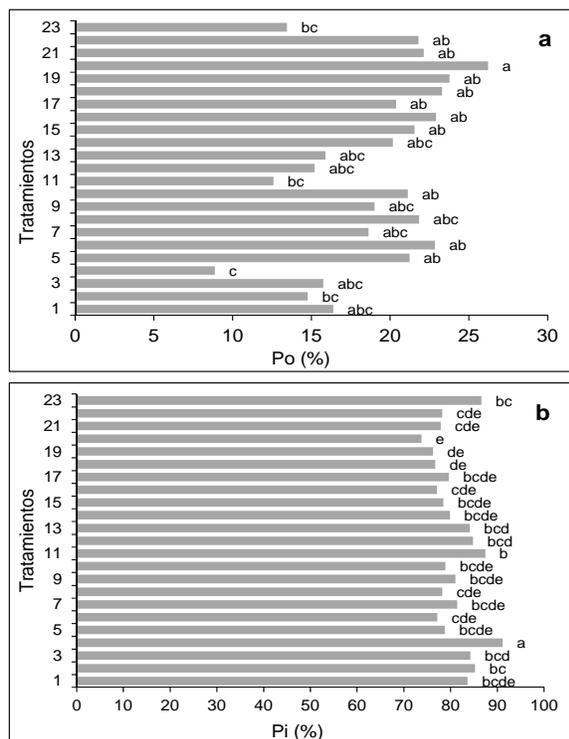
Tratamiento	pH	MO (%)	P-Bray II (mg·kg <sup>-1</sup> )	Fe (mg·kg <sup>-1</sup> )	Cu (mg·kg <sup>-1</sup> )	Zn (mg·kg <sup>-1</sup> )	Mn (mg·kg <sup>-1</sup> )	B (mg·kg <sup>-1</sup> )	S (mg·kg <sup>-1</sup> )	Al (cmol·kg <sup>-1</sup> )
Suelo inicial	5,08	20,71	1,92	9,29	0,15	2,52	13,18	0,90	63,28	0,64
1	5,24	24,84	15,40	3,25	0,07	7,74	16,43	2,00	154,32	0,53
2	5,38	26,87	14,49	1,86	0,07	4,93	16,96	2,33	161,28	0,44
3	5,40	26,71	14,17	2,19	0,08	8,85	16,32	2,52	195,07	0,42
4	5,30	24,81	12,93	3,19	0,04	8,10	17,37	2,20	123,51	0,35
5	5,25	25,68	6,31	4,10	0,06	3,61	22,57	1,72	147,36	0,30
6	5,27	26,24	10,26	2,78	0,09	2,97	19,28	2,16	147,36	0,25
7	5,35	24,25	6,36	2,44	0,07	3,58	16,61	2,81	167,24	0,20
8	5,31	25,36	9,83	2,54	0,07	4,66	19,92	2,38	197,06	0,20
9	5,57	28,38	8,91	2,12	0,10	2,35	15,99	1,75	187,12	0,20
10	5,26	25,28	12,19	10,10	0,12	3,33	19,97	2,55	196,94	0,41
11	5,22	27,92	7,37	4,62	0,09	3,24	18,91	1,84	145,38	0,30
12	5,36	27,82	9,65	5,93	0,10	3,25	19,71	2,15	185,13	0,30
13	5,03	23,94	7,70	9,68	0,12	3,94	21,18	2,39	157,14	0,31
14	5,17	25,60	8,24	5,26	0,08	3,40	20,94	3,14	191,79	0,36
15	5,18	25,37	4,92	5,25	0,09	3,29	21,02	2,69	181,49	0,31
16	5,10	24,26	11,13	4,02	0,06	3,56	20,65	4,39	156,20	0,51
17	5,11	23,70	9,18	4,52	0,11	3,98	19,12	3,19	171,19	0,20
18	5,22	26,16	6,11	4,25	0,09	3,32	13,33	3,21	183,36	0,20
19	5,10	27,51	8,37	5,04	0,08	3,36	14,70	3,78	164,63	0,31
20	4,98	26,87	5,76	9,71	0,10	3,47	19,92	3,50	127,17	0,26
21	4,99	25,13	7,13	3,97	0,10	3,96	15,76	4,22	158,07	0,23
22	5,07	26,24	5,13	3,80	0,04	3,49	17,73	4,05	164,63	0,20
23	4,45	21,48	11,34	15,01	0,03	2,17	10,86	1,37	117,80	0,99

Los tratamientos están identificados en el Cuadro 1

Con respecto a Pi, este mostró porcentajes muy altos con respecto al fósforo total. El tratamiento T4 presentó diferencias significativas con respecto a los demás tratamientos (Figura 5). Lo anterior se corresponde con lo mostrado por las diferentes fracciones de Pi y se relaciona con los

aportes de fosfatos y procesos químicos reversibles (adsorción-desorción y disolución-precipitación) llevados a cabo en el suelo dada la adición de RF (T12-T22) y DAP (T23) como parte de las prácticas agronómicas empleadas en algunos tratamientos.

**Contenido de fósforo en las hojas.** Los contenidos de fósforo en las hojas o P foliar (Figura 6) difirieron en los tratamientos. Se aprecia que los tratamientos con valores más altos fueron los inoculados con las combinaciones microbianas sin RF (T6, T7, T8, T9, T10 y T11), mientras que en el testigo absoluto se obtuvo el valor más bajo.

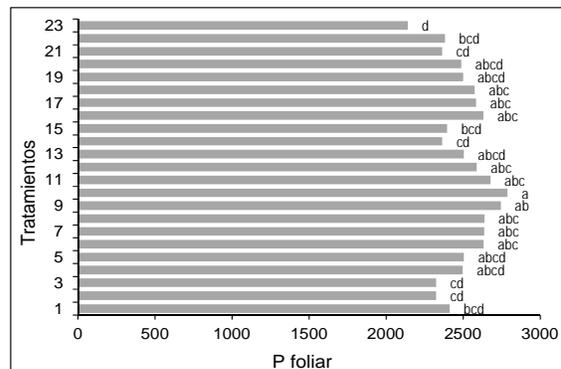


**Figura 5.** Niveles de fósforo por tratamiento: a) orgánico; b) inorgánico. Medias con la misma letra no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Los tratamientos están identificados en el Cuadro 1

Por otra parte, es importante señalar que, excepto el testigo absoluto, el contenido de P foliar es independiente de RF, con predominio de las interacciones microbianas respectivas. Tales resultados superaron los reportados por Silva y Lima (2014) y Días et al. (2015). Por lo anterior, el contenido de P en las hojas de los almácigos de café en cada tratamiento se consideran apropiados.

Los resultados anteriores hacen suponer que la pulpa de café descompuesta como MO permitió suplir las necesidades nutricionales de P en las plántulas (Mestre, 1973, Sadeghian, 2008). De igual manera, se puede apreciar que el uso de MSF como biofertilizante, mejoró la disponibilidad del elemento en el suelo, la cual

está muy relacionada con la capacidad de cada microorganismo de producir ácidos orgánicos y sustancias químicas del tipo de fitohormonas como ácido indol acético, citocininas, giberelinas y etileno (Javadi et al., 2015).



**Figura 6.** Niveles de P foliar ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) por tratamiento. Medias con la misma letra no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Los tratamientos están identificados en el Cuadro 1

**Correlaciones entre las fracciones de fósforo en el suelo y P foliar.** Los coeficientes de correlación de Pearson (Cuadro 3) indicaron una asociación significativa entre el P foliar y la fracción de fósforo disponible, Resina-Pi ( $r = 0,54$ ,  $P \leq 0,01$ ), esta última relacionada con el P en la solución del suelo, es decir, el que es tomado por la raíz de la planta (Lambers y Plaxton, 2015). Adicionalmente, se encontró una correlación significativa ( $r = 0,41$ ;  $P \leq 0,06$ ) entre el P foliar y el P-NaOH, lo cual parece indicar que esta fracción de fósforo puede contribuir en cierta forma al mantenimiento del P disponible para la planta con las demás fracciones el P foliar no mostró correlación.

El fósforo total mostró correlaciones directas y significativas con las fracciones orgánicas ( $r = 0,80$ ;  $P \leq 0,01$ ) e inorgánicas ( $r = 0,69$ ;  $P \leq 0,01$ ). También se observan algunas correlaciones altas entre las fracciones disponibles extraídas con bicarbonato, moderadamente disponibles y no disponibles del P (Cuadro 3).

Lo anterior indica la baja disponibilidad de P en la solución del suelo, reflejado en las fracciones Resina-Pi y  $\text{H}_2\text{O-Po}$ , las cuales son independientes de las demás fracciones y cuyos valores están acordes con los obtenidos mediante el método de P-Bray II (Cuadro 2).

**Cuadro 3.** Análisis de correlación de Pearson entre las fracciones de fósforo en el suelo. En negrillas las probabilidades significativas

	H <sub>2</sub> O-Po	Resin Pi	Bic-Pi	Bic-Po	Bic-Pt	NaOH-Pi	NaOH-Po	NaOH-Pt	Resid-Pt	Sum Pi	Sum Po	Pt	P Foliar (mg·kg <sup>-1</sup> )
H <sub>2</sub> O-Po	1,00												
Resin Pi	0,05 0,83	1,00											
Bic-Pi	0,39 0,07	0,08 0,72	1,00										
Bic-Po	0,07 0,75	-0,17 0,45	-0,03 0,90	1,00									
Bic-Pt	0,22 0,32	-0,13 0,57	0,36 0,09	0,92 <b>0,00</b>	1,00								
NaOH-Pi	0,17 0,45	0,20 0,37	0,69 <b>0,00</b>	-0,53 <b>0,01</b>	-0,23 0,31	1,00							
NaOH-Po	0,00 1,00	0,11 0,62	-0,12 0,58	0,66 <b>0,00</b>	0,56 <b>0,01</b>	-0,52 <b>0,01</b>	1,00						
NaOH-Pt	0,11 0,61	0,27 0,23	0,32 0,15	0,41 0,06	0,51 <b>0,02</b>	0,06 0,78	0,82 <b>0,00</b>	1,00					
Resid-Pt	0,34 0,13	0,21 0,36	0,42 <b>0,05</b>	0,63 <b>0,00</b>	0,75 <b>0,00</b>	-0,15 0,50	0,48 <b>0,02</b>	0,46 <b>0,03</b>	1,00				
Sum Pi	0,40 <b>0,06</b>	0,36 0,10	0,84 <b>0,00</b>	0,15 0,50	0,47 <b>0,03</b>	0,55 <b>0,01</b>	0,06 0,78	0,45 <b>0,04</b>	0,73 <b>0,00</b>	1,00			
Sum Po	0,07 0,75	0,05 0,84	-0,09 0,70	0,80 <b>0,00</b>	0,71 <b>0,00</b>	-0,55 <b>0,01</b>	0,98 <b>0,00</b>	0,77 <b>0,00</b>	0,57 <b>0,01</b>	0,11 0,62	1,00		
Pt	0,30 0,18	0,25 0,26	0,45 <b>0,04</b>	0,68 <b>0,00</b>	0,81 <b>0,00</b>	-0,07 0,76	0,75 <b>0,00</b>	0,83 <b>0,00</b>	0,86 <b>0,00</b>	0,69 <b>0,00</b>	0,80 <b>0,00</b>	1,00	
P Foliar	0,08 0,71	0,54 <b>0,01</b>	-0,02 0,94	-0,25 0,27	-0,24 0,29	0,28 0,20	0,19 0,40	0,41 <b>0,06</b>	-0,24 0,28	0,02 0,93	0,09 0,70	0,08 0,74	1,00

## CONCLUSIONES

La adición de pulpa de café y el uso de los microorganismos solubilizadores de fosfatos, *Kocuria* sp., *B. subtilis*, *S. diversispora* y *P. ochrochloron*, al *Typic Melanudand* mejoran la disponibilidad de fósforo y algunos nutrientes para plántulas de café.

En todas las fracciones de fósforo, los contenidos de P inorgánico mostraron ser los más altos comparados con los de P orgánico. En forma general, en ambos casos predominaron los tratamientos inoculados con las interacciones microbianas respectivas.

Las concentraciones de las fracciones inorgánicas de fósforo disponible y moderadamente disponible se beneficiaron por la aplicación del fertilizante DAP en el *Typic Melanudand*, mientras que los porcentajes altos de P orgánico se presentaron en los tratamientos con RF y pulpa de café descompuesta, e inoculados con las interacciones microbianas respectivas.

Los resultados mostraron alta correlación entre el fósforo foliar y la fracción disponible de P, Resina-Pi, el que es tomado por la raíz de la planta. Lo anterior fue corroborado por los altos

valores del elemento en las hojas de las plántulas, el cual permitió satisfacer sus necesidades nutricionales de P.

## AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de Colombia (Sede Palmira), a Hongos de Colombia S.A.S (Fungicol S.A.S) y al Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), por apoyar la fase experimental.

## LITERATURA CITADA

1. Abbasi, M.K., N. Musa y M. Manzoor. 2015. Phosphorus release capacity of soluble P fertilizers and insoluble rock phosphate in response to phosphate solubilizing bacteria and poultry manure and their effect on plant growth promotion and P utilization efficiency of chilli (*Capsicum annum* L.). Biogeosciences Discuss. 12: 1839-1873.
2. Arenas, M., S. Restrepo, C. Lozano y C. Ramírez. 2014. Efecto de aislados PGPR formadores de endospora sobre café en etapas de germinación y almácigo. XVII Congreso Colombiano de la Ciencia del Suelo. Popayán,

- Cauca, Colombia. Resúmenes p. 210.
3. Arizaleta, M. y R. Pire. 2008. Respuesta de plántulas de café al tamaño de la bolsa y fertilización con nitrógeno y fósforo en vivero. *Agrociencia* 42: 47-55.
  4. Ávila., W.E., S. Sadeghian, P.M. Sánchez y H.E. Castro. 2010. Respuesta del café al fósforo y abonos orgánicos en la etapa de almácigo. *Cenicafé* 61(4): 358-369.
  5. Bravo, I., L. Marquinez y S. Potosi, S. 2007. Fraccionamiento del fósforo y correlación con la materia orgánica en dos suelos del Departamento del Cauca. *Suelos Ecuatoriales* 37(2): 147-154.
  6. Charana, B. y M. Yoon, M. 2012. Prospectus of phosphate solubilizing microorganisms and phosphorus availability in agricultural soils: A review. *African Journal of Microbiology Research* 6(37): 6600-6605.
  7. CIAT, 2013. Manual de Métodos de Análisis. Métodos de Análisis de Suelos del Laboratorio de Servicios Analíticos (LSA). Capítulo 1.
  8. Cisneros, C., C. Patiño y M. Sánchez de P. 2014. Solubilización de fosfatos por microorganismos asociados a suelos de tres agroecosistemas cafeteros de la zona andina colombiana. XVII Congreso Colombiano de la Ciencia del Suelo. Popayán, Cauca, Colombia. Resúmenes p. 283.
  9. Dias, K., A.E. Furtini, P.T. Gontijo, T.H. Pereira y C.H. Caputo. 2015. Coffee yield and phosphate nutrition provided to plants by various phosphorus sources and levels. *Ciênc. Agrotec.* 39(2): 110-120.
  10. Fernández, S. y M.B. Turrión. 2011. Fraccionamiento secuencial de fósforo en el suelo. Comparación de dos métodos. *Venesuelos* 19(1): 5-14.
  11. Gyaneshwar, P., N. Kumar, L.J. Parekh y P.S. Poole. 2002. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant Soil* 245: 83-93.
  12. Hedley, M.J., J. Stewart y B. Chauhan. 1982. Changes in inorganic and organic phosphorus fractions induced by cultivation practices and by laboratory incubations. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 46: 970-976.
  13. Ibrahim, A.K., A. Usman, B. Abubakar y U.H. Aminu. 2011. Extractable micronutrients status in relation to other soil properties in Billiri local government area. *Journal of Soil Science and Environmental Management* 3(10): 282-285.
  14. Javadi, M.B., H.M. Saud y W.M. Yun. 2015. Phylogenetic relationship of phosphate solubilizing bacteria according to 16S rRNA genes. *BioMed Research International* pp. 1-5. doi:10.1155/2015/201379.
  15. Jiang, Y., G. Zhang, D. Zhou, Y. Qin y W.J. Liang. 2009. Profile distribution of micronutrients in an aquic brown soil as affected by land use. *Plant Soil. Environ.* 155(11): 468 - 476.
  16. Kaur, G. y M. Reddy. 2014. Role of phosphate-solubilizing bacteria in improving the soil fertility and crop productivity in organic farming. *Archives of Agronomy and Soil Science* 60(4): 549-564.
  17. Khan, A.A., G. Jilani, M.S. Akhtar, S.M. Naqvi y M. Rasheed. 2009. Phosphorus solubilizing bacteria: Occurrence, mechanisms and their role in crop production. *J. Agric. Biol. Sci.* 1(1): 48-58.
  18. Khan, M.S., A. Zaidi, M. Ahemad, M. Oves y P.A. Wani. 2010. Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi-current perspective. *Arch. Agron. Soil Sci.* 56: 73-98.
  19. Lambers, H. y W.C. Plaxton. 2015. Phosphorus: Back to the roots. *In: W. Plaxton y W. Lambers (eds.). Phosphorus Metabolism in Plants. Annual Plant Reviews* 48: 3-21.
  20. Lozano, Z., R.M. Hernández, C. Bravo, C. Rivero, M. Toro y M. Delgado. 2012. Disponibilidad de fósforo en un suelo de las sabanas bien drenadas venezolanas, bajo diferentes coberturas y tipos de fertilización. *Interciencia* 37(11): 820-827.
  21. Mackey, K.R. y A. Paytan. 2009. Phosphorus cycle. *In: M. Schaechter (ed.). Encyclopedia of Microbiology. Elsevier, Oxford.* pp. 322-334.
  22. Mestre., A. 1973. Utilización de la pulpa en almácigos de café. *Avances Técnicos Cenicafé* 28: 1-4.
  23. Midekssa, M.J., C.R. Löscher, R.A. Schmitz y F. Assefa, F. 2015. Characterization of phosphate solubilizing rhizobacteria isolated from lentil growing areas of Ethiopia. *African Journal of Microbiology Research* 9(25): 1637-1648.

24. Montoya, J.C. 2011. Fraccionamiento y caracterización de la materia orgánica y su relación con la retención de fósforo en dos Andisoles con sistemas diferentes de producción en la zona cafetera colombiana. Tesis. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia. Palmira. 200 p.
25. Moreno, L., D. González, C. Cecena y O. Grimaldo. 2015. Molecular identification of phosphate solubilizing native bacteria isolated from the rhizosphere of *Prosopis glandulosa* in Mexicali valley. *Genetics and Molecular Research* 14 (1): 2793-2798.
26. Patiño, C. y M. Sánchez de P. 2014. Efecto de la aplicación de roca fosfórica y la inoculación con bacterias solubilizadoras de fosfatos. *Acta Agronómica* 63(2): 1-13.
27. Restrepo, G.M., S. Marulanda, Y. De la Fe, A. Díaz, V. Lucia y A. Hernández. 2015. Bacterias solubilizadoras de fosfato y sus potencialidades de uso en la promoción del crecimiento de cultivos de importancia económica. *Revista Cenic Ciencias Biológicas* 46(1): 63-76.
28. Sadeghian K., S. 2008. Fertilidad del suelo y nutrición del café en Colombia. Guía práctica. Boletín Técnico No 32. Cenicafé 43 p.
29. Sánchez de P., M. 1999. Endomicorrizas en Agroecosistemas Colombianos. Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Colombia. Palmira. 227 p.
30. Sánchez., J.A. y Y. Rubiano. 2015. Procesos específicos de formación en Andisoles, Alfisoles y Ultisoles en Colombia. *Revista EIA* 12(2): E85-E97.
31. Sang, M.K., S.C. Chun y K.D. Kim. 2008. Biological control of *Phytophthora* blight of pepper by antagonistic rhizobacteria selected from a sequential screening procedure. *Biological Control* 46: 424-433.
32. Sequera, O. y R. Ramírez. 2013. Roca fosfórica acidulada con ácido sulfúrico y tiosulfato de amonio como fuente de fósforo para frijol en dos tipos de suelo. *Bioagro* 25(1): 39-46.
33. Sharma, S.B., R.Z. Sayyed, M.H. Trivedi y T.A. Gobi. 2013. Review. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *Springer Plus* 2: 587.
34. Sharpley, A. 2000. Phosphorus availability. *Handbook of Soil Science*. M. Sumner (ed.). CRC Press. D-18.
35. Shen, J., L. Yuan, J. Zhang, H. Li, Z. Bai, X. Chen, W. Zhang y F. Zhang. 2011. Update on phosphorus dynamics in the soil-plant continuum phosphorus dynamics: From soil to plant. *Plant Physiology* 156: 997-1005.
36. Silva, S. y J. Lima. 2014. Spatial estimation of foliar phosphorus in different species of the genus *Coffea* based on soil properties. *Rev. Bras. Ciênc.* 38(5): 1439-1447.
37. Sohail, A.Q., R. Ambrin, M. Mehrunisa y A.S. Muhammad. 2014. Nutrient composition of rock phosphate enriched compost from various organic wastes. *E3 Journal of Scientific Research*. 2(3): 47-51.
38. Subero, N., R. Ramírez, O. Sequera y J.C. Parra. 2016. Fraccionamiento de fósforo en suelos cultivados con arroz por largos periodos de tiempo. II. Relación fósforo orgánico-inorgánico. *Bioagro* 28(2): 81-86.
39. Tejada, M., C. García, J.L. González y M.T. Hernández. 2006. Organic amendment based on fresh and composted beet vinasse: influence on soil properties and wheat yield. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 70: 900-908.
40. Zheng, Z, R.R. Simard, J. Lafond y L.E. Parent. 2002. Pathways of soil phosphorus transformations after 8 years of cultivation under contrasting cropping practices. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 66: 999-1007.
41. Zhou, J., Y. Wu, J. Priezel, H. Bing, D. Yu, S. Sun, J. Luo y H. Sun. 2013. Changes of soil phosphorus stocks and speciation along a 120-yr soil chronosequence in the Hailuoguo Glacier retreat area (Gongga Mountain, SW China). *Geoderma* 195-196: 251-259.