

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD SOLUBILIZADORA DEL P EN HONGOS AISLADOS DE LA RIZÓSFERA DEL MANI (*Arachis hypogaea* L.)

YRMA GÓMEZ-GUIÑÁN Y MAGALIS ZABALA

Laboratorio de Investigaciones Biológicas. Departamento de Ciencias, Unidad de Estudios Básicos, Núcleo de Anzoátegui, Universidad de Oriente.

RESUMEN

El potencial solubilizador del fosfato ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) y la roca fosfórica por varios hongos aislados de la rizósfera de *Arachis hypogaea*, fue evaluado in vitro. De un total de 13 organismos, sólo 5 presentaron la capacidad para solubilizar estas fuentes insolubles de P. Los hongos con esta habilidad, pertenecieron en su totalidad a los géneros *Penicillium* y *Aspergillus*. La mayor capacidad solubilizadora de la fosforita correspondió a: *P. brevicompactum*, *P. chrysogenum*, *Penicillium* sp y *A. niger*. La mayor eficiencia solubilizadora del $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ se reportó para *P. citrinum*. Todos los hongos estudiados provocaron la acidificación del medio. Los análisis de correlación entre el pH y la solubilización del $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ llevada a cabo por *P. brevicompactum* y *P. chrysogenum*, resultaron altamente significativas ($r = 0.89^{***}$ y $r = 0.97^{***}$, respectivamente). *P. brevicompactum* y *Penicillium* sp, mostraron las mayores correlaciones ($r = 0.91^{***}$ y 0.93^{***} respectivamente) para la solubilización de la roca fosfórica. Los resultados sugieren la potencialidad de algunos hongos aislados de la rizósfera del maní como inoculantes para incrementar la solubilización del P en suelos ácidos enmendados con fosforita o $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.

PALABRAS CLAVES: *Arachis hypogaea*, *Aspergillus*, solubilización del P, roca fosfórica, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, *Penicillium* y pH.

ABSTRACT

In this study, we evaluated in vitro the ability of several fungi, isolated from the rhizosphere of *Arachis hypogaea*, to dissolve phosphate $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ and phosphate rock. Out of a total of 13 organisms, only 5 of them were able to dissolve these phosphate sources. All the fungi that presented this ability belonged to the two genera *Penicillium* and *Aspergillus*. The fungi that could most efficiently dissolve phosphate rock were *P. brevicompactum*, *P. chrysogenum*, *Penicillium* sp. and *A. niger*. The fungus that could most efficiently dissolve $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ was *P. Citrinum*. All the fungi under study provoked an acidification of the medium. The correlation analyses between the pH and the phosphate-dissolving ability of *P. Brevicompactum* and *P. Chrysogenum* proved to be highly significant ($r = 0.89^{***}$ and $r = 0.97^{***}$ respectively). *P. brevicompactum* and *Penicillium* sp., showed the highest correlations ($r = 0.91^{***}$ and $r = 0.97^{***}$, respectively) in their ability to dissolve phosphate rock. The results suggest that some fungi isolated from the rhizosphere of *Arachis hypogaea* L. have a potential as inoculators to increase the solubilization of phosphate in acid soils amended with phosphate rock or $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.

KEY WORDS: *Arachis hypogaea*, *Aspergillus*, P solubilization, phosphate rock, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, *Penicillium* and pH.

INTRODUCCIÓN

Es ampliamente conocido, que las leguminosas poseen un alto contenido de fósforo y que dependen marcadamente de su disponibilidad en el suelo (Chhonkar y Subba-Rao, 1967). No obstante, en suelos ácidos, existe una marcada fijación del P lo cual limita su productividad primaria (Holdford, 1991; Sánchez y Salinas 1983). En estos suelos es posible incrementar el nivel del fósforo existente en la solución del mismo, o la cantidad de P incorporado por las plantas, mediante mecanismos biológicos adicionales tales como: 1) la simbiosis de las raíces de las

plantas superiores con hongos micorrizales, 2) la variación del pH de la zona de la rizósfera como mecanismo para incrementar la disociación del P (López-Hernández y Flores-Aguilar, 1979) y 3) la existencia de poblaciones de microorganismos en la rizósfera que excreten sustancias que solubilicen el P inorgánico insoluble y que compitan con el fosfato por los sitios de adsorción.

En la rizósfera parece existir un efecto preferencial sobre los organismos solubilizadores del P (Paul y Sundara-Rao, 1971 y Sylvester-Bradly *et al.*, 1982). No obstante, la capacidad de solubilización depende de la microbiota y de las condiciones del suelo (Nahas, 1991). Los organismos

Recibido: Septiembre 2000. Aprobado: Febrero 2001.

rizosféricos, permiten la liberación del P soluble a partir del fosfato insoluble mediante una variedad de reacciones de solubilización (Kapoor *et al.*, 1989 y Kucey *et al.*, 1989).

El fosfato de calcio es comúnmente usado para aliviar las deficiencias de P en el suelo (Agnihotri, 1970), aunque en los últimos años, ha cobrado especial interés la aplicación del fosfato de roca como fuente de P (Kucey *et al.*, 1989). Este representa una opción económica para la fertilización de las plantas, en especial en países donde la disponibilidad de la materia prima para la producción de fosfato soluble es escasa (Haynes, 1984); no obstante, existen algunas propiedades de la misma, que determinan su solubilidad; tales como el pH (Van Raij y Van Diest, 1980), la habilidad de absorción del Ca^{+2} o del H_2PO_4^- (Cabala-Rosand y Wild, 1982), el grado de fineza de sus partículas y su origen (Nahas, 1996).

Aunque diversos microorganismos del suelo participan en la solubilización del fosfato insoluble (Swaby y Sherber, 1958), se ha determinado, que los hongos poseen una mayor habilidad para solubilizar la roca fosfórica que las bacterias (Arora y Gaur, 1979) y producir ácidos (Agnihotri, 1970; Nahas y Assis, 1992).

En este sentido, la presente investigación tuvo como objetivo, determinar la capacidad y eficiencia solubilizadora del Ca_3PO_4 y la roca fosfórica de los hongos aislados de la rizósfera del maní para establecer la posibilidad de su empleo como inóculo en suelos ácidos enmendados con fuentes insolubles de P.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de las muestras de rizósfera

La micoflora fue aislada a partir de la rizósfera del maní (*Arachis hypogaea* L.). Las muestras de rizósfera fueron obtenidas por remoción cuidadosa de las raíces de las plantas, a las cuales sólo se les dejó la fracción de suelo que permanece en íntimo contacto con las raíces. Esta fue recolectada con la ayuda de un pincel previamente esterilizado. Una vez obtenidas las muestras, 1 gr de las mismas fue suspendido en 100 ml de solución de Ringer estéril y agitado por 30 minutos a 200 rpm. 1 ml de la suspensión fue añadido al medio de cultivo (agar Czapek-dox) e incubado por 48 horas a temperatura ambiente. Concluido el período de incubación se procedió al aislamiento e identificación de cada una de las cepas desarrolladas en el medio. La identificación se llevó a cabo, mediante el empleo de claves especializadas (Barnett y Hunter, 1972; Domsch y Gams, 1980; Samson, 1995; y Hanlin y Tortolero, 1995).

Determinación de la actividad solubilizadora del fosfato inorgánico

Esta actividad se llevó a cabo bajo condiciones asépticas, tanto en medio sólido como en medio líquido, empleando la fosforita conocida como Riecito y el $\text{CO}_3(\text{PO}_4)_2$ como únicas fuentes de fósforo. Las estimaciones en medio sólido, se llevaron a cabo, mediante el medio descrito por Young (1990). Los cultivos se incubaron a 25 °C por 14 días. La presencia de zonas claras alrededor de las colonias indicó la capacidad solubilizadora del P de las mismas.

La estimación de esta actividad en medio líquido, se llevó a cabo mediante el uso de fiolas de 250 ml contentivas de 50 ml del medio (Agnihotri, 1970), distribuidos en un arreglo de 3 sets. Los primeros recibieron 50 mg de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, el segundo 50 mg de fosforita y el tercero como control. El pH del medio fue ajustado a 6.5 por adición de NaOH. El cultivo fue esterilizado a 15 lb por 30 minutos. El medio fue inoculado con discos de micelio joven de las colonias aisladas previamente. Estos se agitaron a 200 rpm a temperatura ambiente por 20 días; al cabo de los cuales, el cultivo fue filtrado a través de un papel whatman N° 1 y centrifugado a 3000 g por 5 minutos. El fósforo liberado fue determinado fotocolorimétricamente a 660 nm según el método de Bray-1. El P solubilizado se expresó en mg/ml.

La variación del pH del medio se determinó en cada caso.

Determinación de la eficiencia de solubilización

Se determinó según el método descrito por Young (1990). Para ello, tapones de 4 mm de diámetro de un cultivo joven de las colonias solubilizadoras del P se inocularon en un medio de cultivo suplementado con fosfato insoluble. La eficiencia solubilizadora (E) se determinó mediante la ecuación:

$$E = \frac{\text{diámetro de solubilización}}{\text{diámetro de crecimiento}} \times 100.$$

Análisis estadísticos

Los resultados fueron tratados estadísticamente mediante el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba a posteriori de Duncan, con el objeto de determinar la existencia de diferencias significativas entre las capacidades solubilizadoras del P de los hongos estudiados. El análisis de regresión múltiple, permitió establecer las posibles relaciones existentes entre el pH del medio y el contenido de P soluble presente en el $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ y la fosforita (Sokal y Rolph, 1981; Steel y Torrie, 1980).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de la rizósfera del maní, se aislaron un total de 13 especies micóticas de las cuales, sólo 6 de ellas mostraron capacidad solubilizadora del P en medios con $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ y fosforita (Tabla 1). Se ha reportado en general, que sólo un pequeño porcentaje de los aislados del rizoplano y de la rizósfera, poseen esta habilidad (Katznelson *et al.*, 1962).

Tabla 1. Capacidad y eficiencia de solubilización de los hongos aislados de la rizósfera de maní, determinada en medio de cultivo conteniendo $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ y fosforita.

Organismo	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	Fosforita ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	Eficiencia de solubilización (%)
Control	5.4 ^d	3.6 ^d	—
<i>P. brevicompactum</i>	88.85 ^b	94.54 ^a	111.5
<i>P. chrysogenum</i>	88.13 ^b	95.44 ^a	113.5
<i>Penicillium sp.</i>	88.40 ^b	94.098 ^a	104.8
<i>P. citrinum</i>	102.91 ^a	70.99 ^b	119.5
<i>A. terreus</i>	80.56 ^b	74.25 ^b	110.35
<i>A. niger</i>	55.46 ^c	97.40 ^a	105.56

Los valores medios seguidos de la misma letra no difieren según el rango múltiple de Duncan.

En su totalidad, los hongos solubilizadores de P, aislados de la rizósfera del maní, pertenecieron a los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* (Tabla 1). Kucey (1983) y Thomas *et al.* (1985) reportaron, que los hongos pertenecientes a estos géneros eran capaces de solubilizar en forma efectiva el fosfato y que *A. Níger* es un eficiente solubilizador del mismo (Khan y Bhatnagar, 1977). Resultados similares se han reportado para la rizósfera de cocos y leguminosas, lo cual indica, que esta habilidad no es una característica común de los hongos en general. Nahas (1996), reportó que *P. purpurogenum* y *P. implicatum* eran capaces de llevar a cabo una alta actividad solubilizadora del P cuando estos eran inoculados al suelo. Asea *et al.* (1988) y Kucey *et al.*, (1989) consideran, que la inoculación con organismos solubilizadores de fosfato, asociado al empleo de la roca fosfórica en suelo ácido, podrían contribuir a incrementar los niveles de P en la rizósfera de las plantas.

La Tabla 1 muestra, como *P. brevicompactum*, *P. chrysogenum* y *Penicillium sp.*, representaron los hongos con mayor capacidad solubilizadora del P aislados en esta investigación. Mientras que *P. brevicompactum*, *P. chrysogenum*, *Penicillium sp.*, *P. citrinum* y *A. terreus*, fueron más eficientes que *A. niger* en solubilizar el

$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. La mayor eficiencia solubilizadora de las especies de *Penicillium* reportadas en esta investigación, corroboran los hallazgos de Nahas (1996) quien afirma, que ocurre una mayor solubilización de fuentes insolubles de fósforo cuando el medio líquido es inoculado con algunas especies de *Penicillium*. Asea *et al.*, (1988), reportaron, que *P. bilaji* era capaz de liberar más P del fosfato de roca, que el liberado por adición del HCl 0.1N. No obstante, Khan y Bhatnagar, (1977), reportaron que *A. níger* podía solubilizar el P presente en ocho fuentes de roca fosfórica.

Se ha determinado, que la capacidad solubilizadora del P por parte de los microorganismos, está relacionada con la habilidad de producción de ácidos orgánicos (Swaby y Sherber, 1958 y Roche y De Barac, 1959) y por decrecimiento del pH (Speber, 1958); aunque no se descarta, que otros mecanismos pudieran estar involucrados (Asea *et al.*, 1988); tales como el tipo de microorganismo y la fuente de fosfato insoluble usada (Leyval y Berthelin, 1985).

El análisis de los filtrados de cultivos provenientes de aislados puros de microorganismos solubilizadores del fosfato, han revelado, la presencia de una diversidad de ácidos orgánicos incluyendo: ácido láctico, malónico, tartárico, láctico, glucólico, cítrico, - cetoglucónico, málico, y ácido succínico, la mayoría de los cuales poseen propiedades quelantes (Banik y Dey, 1981, 1982; Taha *et al.*, 1969). Característica de interés, ya que la producción de materiales quelantes en un microambiente tal como la vecindad inmediata de las raíces, es posible, que el fosfato de roca pudiera ser solubilizado en suficiente concentración para las plantas (Moghimi y Tate, 1978 y Tinker, 1980).

Eficiencia de solubilización

Dada la rápida tasa de crecimiento de los hongos solubilizadores del fosfato aislados de la rizósfera del maní, esta actividad sólo pudo ser estimada a los 7 días del crecimiento. En este período sólo fue posible visualizar el halo de solubilización en el medio con $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; no así en el medio con fosforita, ya que ésta representa una fuente de solubilidad más lenta.

El mayor grado de la eficiencia de solubilización del $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ se reportó para *P. citrinum*; mientras que no se observaron diferencias significativas para *P. brevicompactum*, *P. chrysogenum*, *A. terreus* y *A. niger*. La menor eficiencia de solubilización del $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ la presentaron *A. niger* y *Penicillium sp.*

pH

Todos los hongos aislados en esta investigación como solubilizadores de fosfato, provocaron una disminución del pH en el medio (Tabla 2), habilidad que está relacionada con la capacidad de solubilización del fosfato (Roche y De Barac, 1959; Katznelson *et al.*, 1962).

Tabla 2. Efecto de la actividad solubilizadora de los hongos aislados de la rizósfera de maní sobre el pH del medio conteniendo $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ y fosforita en medio líquido.

Organismo	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	Fosforita ($\mu\text{g} / \text{ml}$)
Control	6.7 ^a	6.5 ^a
<i>P. brevicompactum</i>	3.10 ^b	3.33 ^b
<i>P. chrysogenum</i>	3.14 ^b	3.35 ^b
<i>Penicillium sp.</i>	3.06 ^b	3.29 ^b
<i>P. citrinum</i>	3.09 ^b	3.49 ^b
<i>A. terreus</i>	3.44 ^d	3.72 ^c
<i>A. niger</i>	2.07 ^c	2.97 ^d

Los valores medios seguidos de la misma letra no difieren según el rango múltiple de Duncan.

Tabla 3. Coeficiente de correlación (r) entre el pH del medio y el fósforo soluble contenido en medio líquido con $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ y fosforita.

Organismo	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	Fosforita ($\mu\text{g} / \text{ml}$)
<i>P. brevicompactum</i>	0.89 ^{***}	0.91 ^{***}
<i>P. chrysogenum</i>	0.97 ^{***}	0.18 ^{NS}
<i>Penicillium sp.</i>	0.52 [*]	0.93 ^{***}
<i>P. citrinum</i>	0.66 [*]	0.26 ^{NS}
<i>A. terreus</i>	0.30 ^{NS}	0.69 [*]
<i>A. niger</i>	0.78 [*]	0.58 [*]

Los valores medios seguidos de la misma letra no difieren según el rango múltiple de Duncan.

La Tabla 3, muestra el grado de correlación existente entre el pH del filtrado del medio, el P solubilizado del $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ y de la fosforita por acción microbiana. Se observa, que los hongos que provocaron un menor grado de acidificación del medio ante la presencia de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (*A. terreus*) y de la fosforita (*P. citrinum*), no presentaron correlación significativa. No obstante, a pesar de que *A. Níger* provocó una mayor acidificación del medio con $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ y la fosforita (pH 2.07 y 2.97, respectivamente) (Tabla 2), mostró la menor correlación significativa reportada en esta in-

vestigación para la fosforita (Tabla 3). Es importante señalar, que son la cantidad y variedad de ácidos orgánicos excretados durante las actividades metabólicas de los microorganismos, las que determinan el grado de disolución del fosfato por los microorganismos (Speber, 1958 y Swaby y Sherber, 1958), por lo que se ha sugerido, que la naturaleza de los ácidos orgánicos posee un mayor efecto sobre la solubilización del fosfato, más que la cantidad de cualquier ácido liberado (Chhonkar y Subba-Rao, 1967; Kucey *et al.*, 1989).

CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio, indican las potencialidades de algunos de los hongos existentes en la rizósfera del maní como agentes solubilizadores del fosfato, Esto sugiere, la posibilidad de su empleo como inóculos para suelos ácidos en los cuales se realicen enmiendas con fosforita o $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ o fosforita como fuente de fósforo. No obstante, es importante considerar, que ya que existe una estrecha dependencia entre la solubilización y el tipo de ácido secretado, resulta prudente, tomar en cuenta que el inóculo no debe realizarse en forma aislada; ya que el efecto sinérgico de los microorganismos puede permitir una mayor respuesta, debido a la mayor diversidad de ácidos secretados (Nahas, 1996).

AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT) por el apoyo prestado a la realización del proyecto CI-1-0101-0716.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGNIHOTRI, V. P. 1970. Solubilization of insoluble phosphate by some soil fungi isolated from nurse seedbeds. *Can. J. Microbiol.* 16: 877 – 880.
- ARORA, D. and GAUR, A.C. 1979. Microbial solubilization of different inorganic phosphate. *Indian J. Experimental Biol.* 17:1258 – 1261.
- ASEA, P.E. A., KUCEY, R.M.N. and Stewart, J.W.B. 1988. Inorganic phosphate solubilization by two *Penicillium* species in solution culture and soil. *Soil Biol. Biochem.* 20: 459 – 464.
- BANIK, S. AND DEY, B.K. 1981. Phosphate-solubilizing microorganisms of a lateritic soil. III. Effect of Inoculation of some tricalcium phosphate- solubilizing microorganisms on available content of rhizosphere

- soils of rice (*Oriza sativa* L. cv. IR-20) plants and their uptake of phosphorus. Zentralbl Bakteriol II. Abt. 136: 493 – 501.
- BANIK, S. y DEY, B.K. 1982. Available phosphate content of an alluvial soil as influenced by inoculation of some isolated phosphate-solubilizing microorganisms. Plan Soil 69: 353-364.
- BARNETT, H.L. and HUNTER, B. 1972. Illustrated Genera of imperfect fungi. Burgess Publ. CO. minneapolis. USA. 236 p.
- CABALA-ROSAND, P. and WILD, A. 1982. Direct use of low grade phosphate rock from Brazil as fertilizer. I. Effect of reaction time in soil. Plant Soil. 65: 351 – 362.
- CHHONKAR, P.K. and SUBBA-RAO, N.S. 1967. Phosphate solubilization by fungi associated with legume root nodule. C. J. Microbiol. 13: 749-753.
- DOMSCH, K.W. and GAMS, W. 1980. Compendium of soil fungi. Academic press, London, UK. Vol.I. 859 p.
- HANLIN, R.T. y TORTOLERO, O. 1995. Géneros ilustrados de ascomicetes. Editorial Botánica. Barquisimeto. 236 p.
- HAYNES, R.J. 1984. Lime and phosphate in the soil-plant system. Advances in Agronomy. 37: 249 – 315.
- HOLDFORD, I.C.R. 1991. Comments on intensity-quantity aspects of soil phosphorus. Aust. J. Soil. Res. 29: 11- 14.
- KHAN, J.A. y BHATNAGAR, R.M. 1977. Studies on solubilization of insoluble phosphates by microorganisms: part1- solubilization of Indian phosphate rock by *Aspergillus niger* and *Penicillium* sp. Fert. Technol. 14: 329-333.
- KAPOOR, K. K.; MISHRA, M.M. and KUKREJA, K. 1989. Phosphate solubilization by soil microorganisms. A review. Indian J. Microbiol. 29: 119 – 127.
- KATZNELSON, H.; PETERSON E.A. and ROUALT, J.W. 1962. Phosphate-dissolving microorganisms on seed and in the root zone of plants. Can. J. Bot. 40: 1181-1186.
- KUCEY, R.M.N. 1983. Phosphate-solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and Virgin Alberta Soils. Can. J. Soil Sci., 63: 671 – 678.
- KUCEY, R.M.N.; JANZEN, H.H. and LEGGETT, M.E. 1989. Microbially mediated increases in plant-available phosphorus. Adv. Agrom. 42: 199-228.
- LEYVAL, C. and BERTHELIN, Y. 1985. Comparison between the utilization of phosphorus from insoluble mineral phosphate by ectomycorrhizal fungi and rhizobacteria. Dijon (France), First European Symposium on Mycorrhiza.
- LÓPEZ-HERNÁNDEZ, D., FLORES-AGUILAR, D. 1979. La desorción de fosfatos en suelos. Implicaciones fisiológicas en el proceso. Acta Cient. Venezolana. 30:23 – 35.
- MOGHMI, A. and TATE, M.E. 1978. Does 2-ketogluconate chelate-calcium in the pH range 2.4 to 6.4?. Soil Biol. Biochem. 10: 289 – 292.
- NAHAS, E. 1991. Ciclo do fósforo: transformação es microbianas. Jaboticabal, Funep, pp 67.
- NAHAS, E. 1996. Factors determining rock phosphate solubilization by microorganisms isolated from soil. World J. Microbiol. Biotech. 12: 567 – 572.
- NAHAS, E. and ASSIS, L.C. 1992. phosphate rock solubilization by *Aspergillus niger* in different types of vinasse. Pesquisa Agrop. Brasileira. 27: 325 – 331.
- PAUL, N.B. y SUNDARA RAO, W.V.B. 1971. Phosphate-dissolving bacteria in the rhizosphere of some cultivated legumes. Plant and Soil. 35: 127-132.
- ROCHE, A. and DE BARAC. 1959. Solubilization de phosphate naturels par les germes du sol. Ann. Inst. Pasteur. 96: 781 – 789.
- SAMSON, R.A. 1995. Introduction to food-Borne fungi. Fourth Edition. Centraalbureau voor Schimmelcultures. Baarm, the Netherlands. 315 pp.
- SÁNCHEZ, P.A. y SALINAS, J.G. 1983. Suelos ácidos estrategias para su manejo con bajos insumos en América Tropical. Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo. Bogotá. 93 p.
- SOKAL, R.R. and ROHLF, F.J. 1980. Biometry. W.H. Freeman and Co., San Francisco, California, pp.776.
- SPEBER, J.I. 1985. The incidence of apatite solubilizing organisms in the rhizosphere and soil. Aust. J. Agric. Res. 9: 778 – 781.

- STEEL, G. and TORRIE, J. 1980. Principles and procedures of Statistic. McGraw Hill Book Co., New York. 633 pp.
- SWABY, R. J. and SHERBER, J. 1958. Phosphate dissolving microorganisms in the rhizosphere of legume. In Nutrition of legumes E.G. Hallsworth (ed). Butterworth scientific Publications, London. 289 – 294 pp.
- SYLVESTER-BRADLEY, R.; ASAKAWA, N.; LA TORRACA, S.; MAGALHAES, F.M.M; OLIVEIRA, L.A. y PEREIRA, R.M. 1982. Levantamento quantitativo de microorganismos solubilizadores de fosfato na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na amazonia. Acta Amazon; Manaus. 12: 15-22.
- TAHA, S.M., MAHMOUD, S.A.Z., E-DAMATY, A.P. and EL-HAFEZ, A.M.A. 1969. Activity of phosphate-dissolving bacteria in Egyptian soils. Plant Soil. 31: 149-160.
- TINKER, P.B. 1980. root-soil interactions in crop plants In: Soil and agriculture. pp. 1 – 34. .Eds. P. B. Tinker, Blackwell Scientific publications, Oxford.
- THOMAS, G.U., SHANTARAM, M.V and WATHEY, S. N. 1985. occurrence and activity of phosphate-solubilizing fungi from coconut plantation soils. Plant Soil. 87: 357 – 364.
- VAN RAIJ, B. and VAN DIEST, A. 1980. Phosphate supplying power of rock phosphate in an oxisol. Plant Soil. 55: 97 – 104.
- YOUNG, C.C. 1990. Effects of phosphorus-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of tree species in subtropical-tropical soils. Soil Sci. Nutr. 36: 225 – 231.