

# SOLUBILIZACIÓN DE FOSFATOS POR *Trichoderma harzianum* ITEM 3636 Y SU EFECTO EN PLANTAS DE MANÍ

Erazo J., Pastor N., Giordano F., Reynoso M., Rovera M., Torres A.  
Instituto de Investigación en Micología y Micotoxigenología (IMICO). Universidad Nacional de Río Cuarto. CONICET  
jerazo@exa.unrc.edu.ar

## Introducción

En la región manisera de la provincia de Córdoba (Argentina), los suelos son deficitarios en fósforo (P), principalmente porque dicho elemento se encuentra fijado en la fase sólida de los mismos en forma de fosfatos calcáreos insolubles (Bonadeo y Moreno, 2006). Por otra parte, las leguminosas necesitan un correcto suministro de P para lograr una adecuada fijación biológica del N<sub>2</sub>, proceso clave para el desarrollo del maní, siendo 10 ppm el nivel crítico para el cultivo (Freire, 1984).

El género *Trichoderma* spp. comprende hongos filamentosos, avirulentos, altamente eficientes como promotores del crecimiento de las plantas. Algunas especies tienen la capacidad de aumentar la disponibilidad de nutrientes e incrementar el rendimiento de los cultivos. Uno de los mecanismos asociados a la promoción del crecimiento vegetal es su capacidad de solubilizar fosfatos.

Los objetivos de este trabajo fueron 1) determinar la capacidad de *T. harzianum* ITEM 3636 para solubilizar fosfato tricálcico, bajo condiciones *in vitro* y 2) analizar el efecto de *T. harzianum* ITEM 3636 sobre la absorción de P en plantas de maní, bajo condiciones de invernadero.

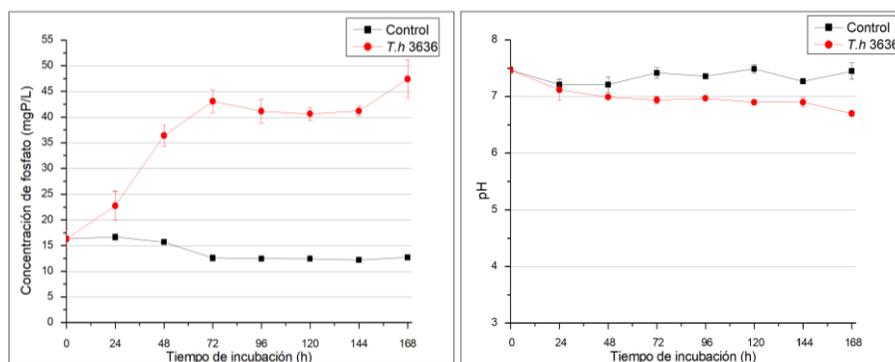
## Materiales y Métodos

**Ensayo *in vitro*.** Erlenmeyers conteniendo medio líquido NBRIP, adicionado con fosfato tricálcico, fueron inoculados con *T. harzianum* ITEM 3636 en activo crecimiento. La cuantificación de fosfato soluble se realizó mediante espectrofotometría (600 nm), con mediciones cada 24 h, durante 9 días. La concentración de fosfato se expresó en mg-P/L. Asimismo, se midió diariamente la variación del pH del medio.

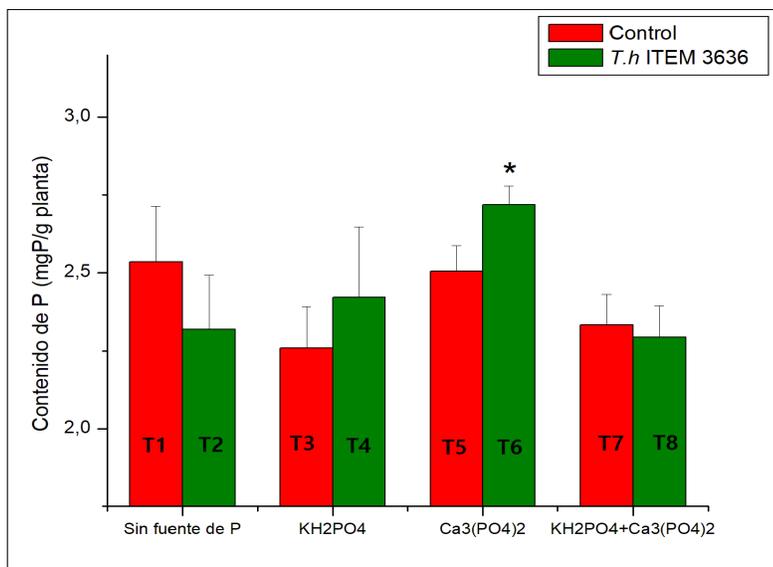
**Ensayo en invernadero.** Semillas de maní "curadas" (Dimensión 2cm<sup>3</sup>.Kg<sup>-1</sup> + Vitavax 2,5cm<sup>3</sup>.Kg<sup>-1</sup>) fueron recubiertas con el bioinoculante a base de *T. harzianum* ITEM 3636 (5 x 10<sup>6</sup> conidios ml<sup>-1</sup>) utilizando CMC 2% como adherente. Las semillas se transfirieron a macetas plásticas conteniendo 1 kg de una mezcla estéril de vermiculita y tierra (3:1), con bajo contenido de P (7 ppm). Se probaron ocho tratamientos: 1) Semillas sin inocular (control), 2) Semillas inoculadas con *T. harzianum* ITEM 3636, 3) Semillas sin inocular en sustrato adicionado con KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (fuente de fosfato soluble), 4) Semillas inoculadas en sustrato adicionado con KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 5) Semillas sin inocular en sustrato adicionado con Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (fuente de fosfato insoluble), 6) Semillas inoculadas en sustrato adicionado con Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, 7) Semillas sin inocular en sustrato adicionado con KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> y Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, 8) Semillas inoculadas en sustrato adicionado con KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> y Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>. Las plantas se mantuvieron bajo condiciones de invernadero, (30-35°C día /15-20°C noche, 50% HR). Las macetas fueron regadas regularmente con agua estéril y, una vez por semana, fueron regadas con solución nutritiva de Hoagland, libre de fósforo. Luego de 120 días post emergencia (estadío R4), se determinó el contenido de P en parte aérea mediante espectrofotometría. Se realizaron cinco réplicas para cada tratamiento.

## Resultados

**Ensayo *in vitro*.** Se observó un incremento significativo de fosfato solubilizado en medio inoculado con ITEM 3636, comparado con el control. El valor máximo (47,44 mg-P/L) se obtuvo a las 168 h. Los valores de pH del medio disminuyeron de 7.47 a 6.7 a las 168 h (Fig.1)



**Fig. 1.** Solubilización de Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> y variación de pH en medio líquido NBRIP. Los datos representan la media de n=3 ± desvío estándar.



**Fig. 2.** Contenido de P en parte aérea de plantas de maní crecidas en sustrato suplementado con diferentes fuentes de fósforo. Se muestran valores obtenidos 120 días post emergencia. Sin fuente de P (T1, T2), plantas crecidas en sustrato sin la adición de fuentes de fosfatos.  $KH_2PO_4$  (T3, T4), plantas crecidas en sustrato suplementado con  $KH_2PO_4$  (40 mg  $kg^{-1}$ ).  $Ca_3(PO_4)_2$  (T5, T6), plantas crecidas en sustrato suplementado con  $Ca_3(PO_4)_2$  (40 mg  $kg^{-1}$ ).  $KH_2PO_4+Ca_3(PO_4)_2$  (T7, T8), plantas crecidas en sustrato suplementado con  $KH_2PO_4$  (40 mg  $kg^{-1}$ ) y  $Ca_3(PO_4)_2$  (40 mg  $kg^{-1}$ ). Las barras de color rojo corresponden a plantas no inoculadas; barras de color verde corresponden a plantas inoculadas con *T. harzianum* ITEM 3636. Las barras corresponden al promedio de un ensayo con  $n=5$  y su desvío estándar. \* indica diferencias estadísticamente significativas de acuerdo al test Holm Sidak ( $P < 0,05$ ).

fosfatasa y no a la producción de ácidos orgánicos.

Como se ha mencionado anteriormente, en los suelos donde se realiza la siembra de maní, el fósforo se encuentra fuertemente fijado en formas insolubles de fosfatos calcáreos, no disponibles para la absorción de las plantas. A partir del ensayo en invernadero, se ha encontrado que las plantas inoculadas con *T. harzianum* ITEM 3636, sembradas en sustrato adicionado con fósforo tricálcico presentaban el mayor contenido de P. Estos resultados confirman que *T. harzianum* ITEM 3636 tiene la capacidad de solubilizar la fuente de fósforo ensayada y, además, que deja disponible el fósforo solubilizado para la absorción y utilización por las plantas de maní.

El género *Trichoderma* es conocido por promover el crecimiento de las raíces de las plantas. En otros ensayos, hemos encontrado que *T. harzianum* ITEM 3636 incrementa la longitud y peso seco de las raíces de maní. Este aumento en el área de la superficie de absorción, sumado a la capacidad de solubilizar fosfatos, podría permitir la mayor absorción de P en las plantas.

Muchos estudios han indicado que la aplicación de microorganismos solubilizadores de fosfatos en distintos cultivos lograron aumentos en el contenido de P de las plantas, como así también, aumentos en los parámetros de crecimiento de las mismas. La mayoría de los ensayos que evalúan el efecto de microorganismos solubilizadores de fosfatos en plantas de maní utilizan bacterias como microorganismos solubilizadores de fosfatos (PSB).

El presente estudio es el primer ensayo que demuestra la posible utilización de *T. harzianum* como potencial solubilizador de fosfatos en plantas de maní. Por lo tanto, posiblemente, la utilización de un biofertilizante a base de *T. harzianum*, sólo o en combinación con distintas PSB, sería de gran interés para el desarrollo de fertilizantes biológicos para el cultivo de maní en zonas agrícolas donde el P sea escaso.

#### Bibliografía

- Bonadeo, E. e I.S. Moreno (2006). El cultivo del maní en Córdoba. Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, p.113-120.; Freire JRJ (1984) BNF Ecology, Technology and Physiology. Plenum Press, New York, p 51–74.-Kapri, A.y Tewari, L. (2010). Brazilian J. Microbiol. 41(3), 1-9 Anzuay, M.S., Ludueña, L. M., Angelini, J. G., Fabra, A., y Taurian, T.(2015).Symbiosis, 66(2), 89–97.

**Ensayo en invernadero.** A los 120 días post emergencia (Fig. 2), se encontró que las plantas con mayor contenido de P fueron aquellas inoculadas con *T. harzianum* ITEM 3636 y sembradas en sustrato adicionado únicamente con fósforo tricálcico (condición " $Ca_3(PO_4)_2$ "). En esta condición, las plantas inoculadas (T6) presentaron un aumento significativo en el contenido de P (11,9%), en comparación con las plantas de maní no inoculadas (T5).

Por otro lado, en la condición " $KH_2PO_4$ " (T3 y T4), las plantas inoculadas con *T. harzianum* ITEM 3636 evidenciaron mayor contenido de P con respecto a las plantas no inoculadas (incremento del 7,17%). Sin embargo, la diferencia entre ambos tratamientos no fue significativa. En la condición " $KH_2PO_4 +Ca_3(PO_4)_2$ " (T 7 y T8), se observó que tanto las plantas inoculadas como no inoculadas, mostraron niveles similares en contenido de P.

#### Discusión y conclusión

A través de los ensayos de solubilización de fósforo *in vitro* se ha demostrado que *T. harzianum* ITEM 3636 es capaz de solubilizar  $Ca_3(PO_4)_2$ . La baja disminución del pH indicaría que la solubilización podría deberse la participación de enzimas