

## **EFFECTIVIDAD DE LA MEZCLA DEL FERTILIZANTE PAZ DEL RIO CON HONGOS BENÉFICOS DEL SUELO (PRODUCTO MYCORPAZ) PARA PROMOVER EL CRECIMIENTO DE PLANTAS DE LEUCAENA**

Walter Osorio  
Ingeniero Agrónomo, M.Sc., Ph.D.

### **INTRODUCCIÓN**

Uno de los problemas que afecta la productividad agrícola en el trópico es la baja disponibilidad de nutrientes en el suelo, particularmente fósforo. Buena parte del fósforo en los suelos ácidos tropicales se encuentra fijado en la fase sólida del suelo, formando compuestos insolubles (fosfato de hierro y aluminio) o adsorbido fuertemente a la fracción mineral arcillosa. Igualmente, buena parte de los fertilizantes fosfóricos solubles aplicados son poco eficientes (<10%) porque los iones fosfatos liberados son fijados en el suelo.

Una alternativa para mejorar la eficiencia de la fertilización fosfórica soluble es el uso de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA). Estos hongos del suelo que forman simbiosis con las raíces de la mayoría de las plantas. Sus hifas se constituyen en una extensión del sistema de raíces de la planta. De esta manera, se aumenta la capacidad de la planta para absorber agua y nutrientes de baja movilidad (particularmente fósforo). Adicionalmente, se encontró que hongos solubilizadores de fósforo (HSP) tiene la capacidad de disolver fosfato de calcio en el suelo y desorber el fosfato que es fuertemente adsorbido. La aplicación conjunta de ambos microorganismos ha resultado efectiva para mejorar la absorción de fosfato por las plantas en suelos tropicales

Una estrategia para usar esta biotecnología es la aplicación conjunta de ambos tipos hongos micorrizales y fertilizantes fosfóricos como los Fertilizantes Paz del Río (FPDR). Se ha demostrado que estos fertilizantes son efectivos para aportar fósforo al suelo, en parte porque además del fósforo se aporta simultáneamente silicio en forma de ácido silícico que reduce su fijación en las arcillas. Adicionalmente, el aporte de compuestos de calcio (hidróxido y óxido de calcio) reduce la actividad del aluminio del suelo, impidiendo que este lo precipite.

Se espera que la aplicación conjunta de FPDR, HMA y HSP pueda generar un efecto promotor de la nutrición fosfórica y el crecimiento vegetal en suelos tropicales. Aún más atractivo es la formulación conjunta de los dos hongos en el FPDR, que puede potenciar los efectos de éste fertilizante en las plantas. Esta formulación es muy interesante ya que el FPDR puede ser usado en la agricultura orgánica, al igual que los hongos mencionados; de esta manera se podría aplicar en aquellos cultivos que desean obtener sellos verdes para consolidar proyectos productivos de exportación a mercados internacionales que aprecian tal aproximación.

### **OBJETIVO**

Evaluar el efecto de la aplicación de FPDR, FPDR+HMA y FPDR+HMA+HSP (MYCORPAZ) sobre la absorción de P y el crecimiento de plantas de leucaena en condiciones de invernadero.

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

Sitio

Se estableció un experimento en el invernadero de Fertilidad de Suelos de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín (6°14'N, 75°35'N) y se realizaron análisis en el Laboratorio de Suelos de la Empresa BIOFERTILIZAR S.A.S.

Suelo

Se utilizó una muestra superficial (0-20 cm) de un Andisol de la Estación Experimental Piedras Blancas, al cual se realizaron análisis de fertilidad del suelo que arrojaron los siguientes resultados: pH suelo 4.8 (1:1, agua), M.O. 12 % (método de ignición), calcio, magnesio y potasio 0.8, 0.3, 0.1 cmol<sub>c</sub>/kg (acetato de amonio 1 M), aluminio 1.2 cmol<sub>c</sub>/kg (KCl 1 M), CIC-efectiva 2.4 cmol<sub>c</sub>/kg (suma de cationes), fósforo 2 mg/kg (Bray II), azufre 4 mg/kg (fosfato de calcio 0.008 M); hierro, manganeso, cobre y zinc 75, 6, 2, 1 mg/kg (Olsen-EDTA), respectivamente; boro 0.1 mg/kg (agua caliente). Luego el suelo se esterilizó con autoclave (120°C, 1h, 0.1 MPa) para evitar la interferencia de otros microorganismos. El suelo recibió urea (0.2 g/kg), cloruro de potasio (0.2 g/kg) y sulfato de magnesio (0.5 g/kg). Luego, el suelo se transfirió a materos plásticos (2 kg/matero) y se distribuyeron sobre mesones metálicos en el invernadero.

#### Microorganismos

Los hongos utilizados fueron obtenidos de la empresa BIOFERTILIZAR S.A.S. Uno de los inóculos contenía una mezcla de los HMA: *Glomus fasciculatum*, *Entrophospora colombiana* y *Acaulospora longula* (a razón de 300 esporas por gramo, micelio de los hongos y raíces micorrizadas de maíz suspendidos en una matriz suelo: arena). El otro inóculo contenía la combinación de la mezcla de HMA + el HSP *Mortierella* sp. a razón de 10<sup>7</sup> UFC/mL. Luego de elaboradas las mezclas se dejaron incubar a temperatura ambiente (22-25°C) por 30 días hasta su uso experimental.

#### Fertilizante

El FPDR fue obtenido de la empresa Abonos Paz del Rio, este fertilizante tiene un grado 0-9-40.

#### Tratamientos

Los tratamientos consistieron en la aplicación del equivalente a 1.5 g/matero de FPDR o de la mezcla FPDR+HMA y FPDR+HMA+HSP. Esto representa una dosis de 1500 kg/ha. En estos últimos el HMA o el HMA+HSP representan un 5% (gravimétrico) del producto final. En ambos casos el producto se aplicó sobre la superficie del suelo y se mezcló manualmente en los primeros 5 cm de profundidad. Como referencia se incluyó un tratamiento control que no recibió ninguno de los tratamientos, pero sin la fertilización básica. El diseño experimental fue completamente al azar y cada tratamiento tuvo 4 repeticiones.

#### Material vegetal

Se utilizaron semillas de leucaena (*Leucaena leucocephala*) previamente escarificadas en ácido sulfúrico concentrado por 20 min. Estas se dejaron germinar en papel toalla húmedo durante 2 días y luego se sembraron en el suelo del matero con el respectivo tratamiento (tres por matero). Las semillas se consideraron aptas para sembrar cuando su radícula tuvo una longitud de 0.5-1.0 cm de longitud. Dos semanas después se hizo un raleo para dejar una sola plántula por matero. Las plantas se dejaron crecer durante 75 días bajo luz natural y el suelo de los materos se regó con agua para mantenerlo entre 50-60% de la máxima capacidad de retención de agua (~capacidad de campo). A partir de la tercera semana el suelo se regó con 20 mL de solución Hoagland libre de fosfato.

#### Variables

Luego del periodo de crecimiento se midió la altura de las plantas y se determinó la masa seca de la parte aérea (secada en estufa a 60°C, 72 h). A partir del día 15 y hasta la cosecha (día 75) se midió quincenalmente el contenido de P foliar, usando para ello el protocolo descrito por Habte y Osorio (2001). Para esto se tomó el 4º pinulo (contando desde la base) de una hoja madura más joven completamente expandida, se secó en estufa (60°C, 24 h), se llevó a una mufla (500°C, 3 h) y las cenizas se suspendieron en 1 mL de HCl (1 M) por 1 h y luego se adicionaron 9 mL de agua destilada. En esta solución se midió la concentración de P a través del método del azul de molibdato. Adicionalmente, se midió la colonización micorrizal en 100 fragmentos de raíces finas con el método de intercepto de cuadrícula; previamente las raíces se aclararon con KOH (10%, 24 h), se acidificaron HCl (10%, 5 min) y se tiñeron con fucsina acida (0.15%) en lactoglicerol.

#### Análisis estadísticos

Los datos se sometieron a análisis de varianza (prueba F) y a la prueba de separación de medias de Duncan; en ambos casos se consideró un nivel de significancia ( $P$ -value)  $<0.05$ . Las pruebas se hicieron con el paquete estadístico Statgraphics Centurion XV.

## RESULTADOS

La altura de las plantas al momento de la cosecha (75 d) fue mejorada significativamente ( $P <0.05$ ) con la aplicación de los tratamientos con FPDR y los microorganismos benéficos (Figura 1). De esta manera, las plantas del control tuvieron una altura promedio de 8 cm, mientras que las que recibieron el FPDR sólo tuvieron un valor medio de 12 cm. Así mismo, la que recibieron conjuntamente el FPDR y el HMA presentaron una altura de 20 cm en promedio y las que recibieron el FPDR+HMA+HSP tuvieron una altura aún más alta (29 cm).

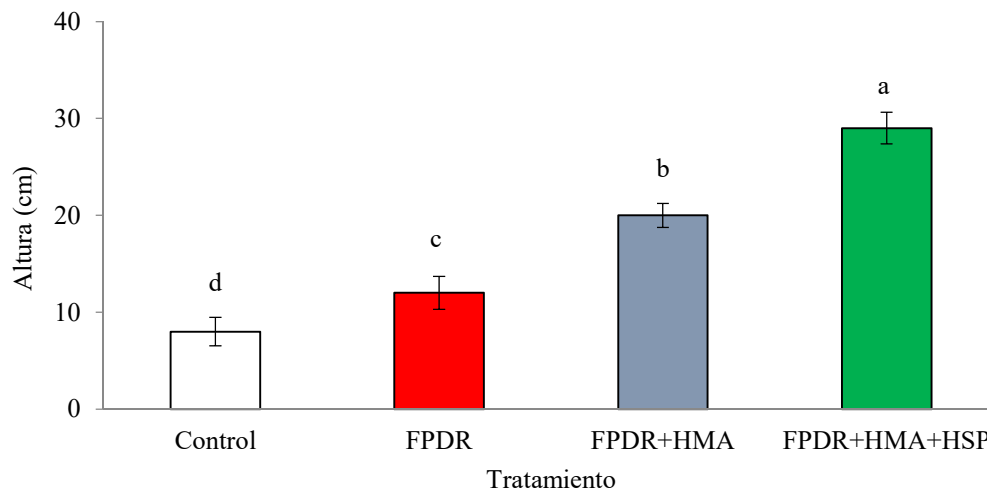


Figura 1. Altura de las plantas de leucaena en función de la aplicación de FPDR con adición de HMA y HMA+HSP y un tratamiento control. Letras diferentes indican diferencia significativa ( $P <0.05$ )

La masa seca aérea de las plantas de leucaena también fue afectada ( $P <0.05$ ) con la aplicación de los tratamientos (Figura 2). Las plantas del control exhibieron una masa seca aérea de 0.35 g/planta, su desarrollo fue muy limitado y mostraron síntomas visuales de deficiencia (clorosis y defoliación), al adicionar el FPDR esta fue aumentada a 0.98 g/planta, con el FPDR + HMA el valor fue aún mayor 1.5 g/planta. El valor significativamente más alto se detectó con las plantas que recibieron el FPDR+HMA+HSP con valores de 2.2 g/planta.

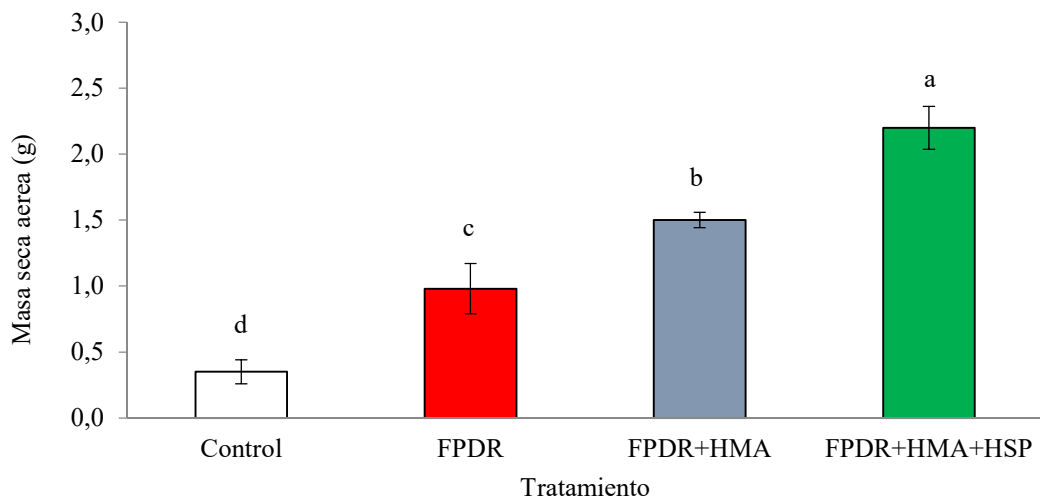


Figura 2. Masa seca aérea de las plantas de leucaena en función de la aplicación de FPDR con adición de HMA y HMA+HSP y un tratamiento control. Letras diferentes indican diferencia significativa ( $P<0.05$ ).

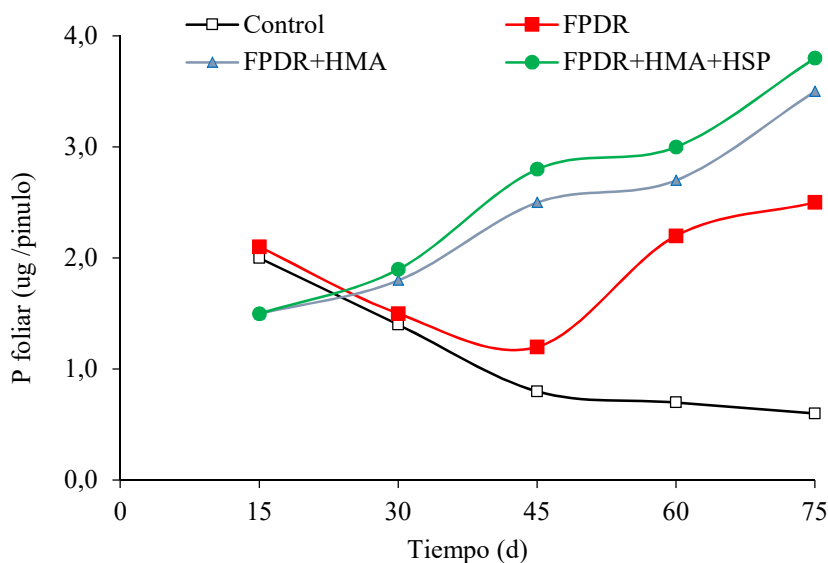


Figura 3. Contenido de P foliar en pinulos de leucaena a través del tiempo en función de la aplicación de FPDR con adición de HMA y HMA+HSP y un tratamiento control. Letras diferentes indican diferencia significativa ( $P<0.05$ ).

El monitoreo de P foliar a través del tiempo fue diferente según el tratamiento aplicado (Figura 3). Las plantas del tratamiento control (sin FPDR) mostraron una tendencia a disminuir el contenido de P foliar a través del tiempo, alcanzando al momento de la cosecha un valor de 0.60  $\mu\text{g/pinulo}$ . Al parecer las plantas no absorben fósforo y parecen estar diluyendo las reservas que había en la semilla. Las plantas tratadas con el FPDR tuvieron inicialmente similar al anterior, pero a partir del día 45 el contenido del elemento aumentó hasta alcanzar un valor final de 2.5  $\mu\text{g/pinulo}$  (esto representa un incremento de 4.2 veces con respecto al control). Con la adición del FPDR+HMA la tendencia fue a aumentar desde el inicio de las medidas, alcanzando en el día 75 un valor de 3.5  $\mu\text{g/pinulo}$  (5.8 veces más) y el tratamiento con el FPDR +HMA+HSP alcanzó un valor final de 3.8  $\mu\text{g/pinulo}$  (9.7 veces).

Al momento de la cosecha las plantas control y las tratadas con FPDR sólo no presentaron colonización micorrizal en las raíces. Las que recibieron el FPDR+HMA tuvieron un valor de 2% y las que recibieron FPDR+HMA+HSP 35%.

## DISCUSIÓN

Los resultados claramente demuestran que la adición de FPDR fue efectivo para mejorar el crecimiento de las plantas y su absorción de fosfato. El efecto fue mucho mayor cuando se incluyeron los HMA y aún mucho más alto cuando ambos hongos se incluyeron conjuntamente con el FPDR (FPDR+HMA+HSP). El efecto del FPDR sobre el desempeño vegetal es conocido ya que no sólo aporta fosfato y calcio, sino que también puede aumentar el pH del suelo y corregir el exceso de Aluminio intercambiable. Esto último lo hace a través de la neutralización de  $Al^{3+}$  con iones  $OH^-$  que se derivan del óxido y del hidróxido de calcio que se encuentran en el fertilizante. Adicionalmente, al aportar silicato de calcio que produce ácido silícico ( $H_4SiO_4$ ) hace que el fosfato aportado quede más disponible en la solución suelo. Esto se debe a que el ácido silícico compite por los sitios de adsorción que abundan en este tipo de suelo (Andisol).

Por otro lado, los beneficios de incluir los HMA son debido a la formación de la asociación micorrizal que generar un sistema de raíces más extendido puede captar más agua y más nutrientes, particularmente se detecta con el fosfato debido a su baja movilidad. El combinar conjuntamente en una sola formulación HMA con el FPDR es bastante novedoso, existen muy pocos ejemplos de mezclar fertilizantes con microorganismos. Si bien esto se ha propuesto, no había sido probado hasta ahora. De hecho, se consideraba que los HMA no podrían sobrevivir ya que el ambiente del FPDR es muy seco. Estos HMA forman estructuras de resistencia (esporas) que son capaces de persistir viables por períodos largos de tiempo, incluso años.

La inclusión adicional del HSP en la formulación es bastante promisoria ya que genera efectos aún mejores en el desempeño de las plantas. El hongo *Mortierella* sp. se ha reportado como un efectivo solubilizador de fosfato en el suelo. Esta función la hace a través de la producción y liberación de ácido oxálico hacia la rizosfera. La base conjugada de este ácido (oxalato) puede complejar  $Ca^{2+}$ , lo cual favorecería la disolución del fertilizante y con ella habría una mayor liberación de fosfato. El oxalato también puede ya sea competir por los sitios de adsorción de fosfato y/o desorber fosfato previamente adsorbido. En ambos casos esto dejaría más fosfato en la solución para que sea absorbido por las raíces de la planta y por las hifas de los HMA. El efecto sinérgico de ambos tipos de microorganismos ha sido recientemente reportado para mejorar crecimiento y nutrición vegetal.

En síntesis, se puede afirmar que la combinación del FPDR con estos microorganismos resulta en una estrategia más efectiva para aliviar la deficiencia de fosfato en los cultivos. Tanto el FPDR como los dos tipos de hongos pueden hacer parte de una estrategia ambientalmente más amigable y efectiva agrónomicamente hablando. Esto puede ser aprovechado en diferentes tipos de cultivos, particularmente en aquellos regidos por regulaciones nacionales e internacionales con sellos verdes o de agricultura orgánica/biológica. Los beneficios esta aproximación deben ser validados en pruebas de campo, en diferentes dosis, suelos y cultivos. Es claro que al ser efectiva en una Andisol podría ser aún igual o presumiblemente más efectiva en suelos con menor capacidad de fijación de P (Oxisoles, Ultisoles, Inceptisoles).

## REFERENCIAS

- Adham N.Z. Attempts at improving citric acid fermentation by *Aspergillus niger* beet-molasses medium. *Bioresource Technology* 2002, 84: 97–100.
- Alam S. Khalil S. Ayub N. and Rashid M. In vitro solubilization of inorganic phosphate by phosphate solubilizing microorganisms (PSM) from maize rhizosphere. *International Journal of Agriculture and Biology* 2002; 04 (4) 454–458.
- Alikhani H; Saleh-Rastin N, Antoun N. Phosphate solubilization activity of rhizobia native to Iranian soils. *Plant and Soil* 2006, 287:35–41.
- Batti T and Yamar W. Bacterial solubilization of phosphorus from phosphate rock containing sulfur-mud. *Hidrometallurgy* 2010; 103: 54-59.
- Cabello M, G Irrazabal, AM. Bucsinszky, M Saparrat, and S Schalamuk. Effect of an arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus mosseae*, and a rock-phosphate-solubilizing fungus, *Penicillium thomii*, on *Mentha piperita* growth in a soilless medium. *J. Basic Microbiol.* 2005; 45:182-289.
- Chen Y P, Rekha P D, Arun A B, Shen F T, Lai W. A, Young C. C. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Appl Soil Ecol* 2006; 34:33–41.

- Chung H, Parka M, Madhaiyana M, Seshadria S, Songb J, Chob H, Sa T. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of crop plants of Korea. *Soil Biology and Biochemistry* 2005; 37: 1970–1974.
- Collavino M, Sansberro P, Mroginski L, Aguilar M. Comparison of in vitro solubilization activity of diverse phosphate-solubilizing bacteria native to acid soil and their ability to promote *Phaseolus vulgaris* growth. *Biol Fertil Soils* 2010; 46:727–738.
- Cunningham J, and Kuiack C. Production of citric and oxalic acids and solubilization of calcium phosphate by *Penicillium bilaii*. *Appl. Environ. Microbiol.* 1992; 58: 1451-1458.
- Gunes A, Ataoglu N, Turan M, Esitken A, Ketterings Q M. Effects of phosphate-solubilizing microorganisms on strawberry yield and nutrient concentrations. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 2009; 172, 385–392.
- Gyaneshwar. P, Kumar. V, Parekh. L, Poole S. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant and Soil* 2002; 245: 83–93.
- Habte M, Osorio NW. Arbuscular Mycorrhizas: Producing and applying Arbuscular Mycorrhizal Inoculum. University of Hawaii, College of Tropical Agriculture and Human Resources, Honolulu, HI. 2001; 47.
- Habte M. The Roles of Arbuscular Mycorrhizas in Plant and Soil Health, In: Biological approaches to sustainable soil systems. CRC, Boca Raton, FL. 2006; 129-147.
- Hinsinger P. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant and Soil* 2001; 237: 173–195.
- Khan M S, Zaidi A, Wani P. A. Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture – A review. *Agron. Sustain. Dev.* 2007; 27: 29–43
- Londoño A. Efecto de la inoculación con un hongo micorrizal y un hongo solubilizador de fósforo en la adsorción de fosfato y el crecimiento de *Leucaena* en un oxisol de la estación experimental del CIAT en Santander de Quilichao. Tesis M.Sc., Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. 2010
- Mosse B Vesicular-arbuscular mycorrhiza research for tropical agriculture. University of Hawai'i, Honolulu (Research Bulletin 194).1981.
- Nahas. E. Phosphate solubilizing microorganisms: Effect of carbon, nitrogen, and phosphorus sources. E. Velazquez and C. Rodriguez-Barrueco (eds.), First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization, Springer. 2007; 111–115.
- Nisha A and Venkateswaran G. Effect of Culture Variables on Mycelial Arachidonic acid Production by *Mortierella alpina*. *Food Bioprocess Technol.* 2011; 4: 232-240.
- Oberson A, Friesen DK, Rao IM, Bühler S, Frossard E. Phosphorus transformations in an Oxisol under contrasting land-use systems: the role of the soil microbial biomass. *Plant Soil* 2001; 237:197–210.
- Osorio NW Effectiveness of microbial solubilization of phosphate in enhancing plant phosphate uptake in tropical soils and assessment of the mechanisms of solubilization. Ph.D. Dissertation, University of Hawai'i, Honolulu. 2008.
- Osorio NW, Habte M Synergistic influence of an arbuscular mycorrhizal fungus and P solubilizing fungus on growth and plant P uptake of *Leucaena leucocephala* in an Oxisol. *Arid Land Research and Management.* 2001; 15:263-274.
- Osorio NW. Manejo de nutrientes en suelos del trópico. Universidad Nacional de Colombia, Medellin. 2012.
- Osorio NW, and Habte M. Synergistic effect of a phosphate solubilizing fungus and an arbuscular mycorrhizal fungus on *Leucaena* seedlings in an oxisol fertilized with rock phosphate. *Botany* 2013; 91(4) 274-281
- Osorio NW. and Habte M. Strategies for utilizing arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate- solubilizing microorganisms for enhanced phosphate uptake and grow of plants in the soils of the tropics. En: *Microbial Strategies for Crop Improvement.* 2009; 325-351.
- Osorio NW. and Habte M. Phosphate desorption from the surface of soil mineral particles by a phosphate-solubilizing fungus. *Biol Fertil Soils* 2013; 49:481–486.
- Osorio NW. and Habte M. Strategies for utilizing arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate- solubilizing microorganisms for enhanced phosphate uptake and grow of plants in the soils of the tropics. En: *Microbial Strategies for Crop Improvement* 2009; 325-351.
- Osorno L, Osorio NW, Habte M. Phosphate desorption by a soil fungus in selected Hawaiian soils differing in their mineralogy. *Tropical Agriculture* 2018, 95(2): 154-166.
- Parfitt RL. Phosphate reactions with natural allophane, ferrihydrite and goethite. *Journal of Soil Science* 1989; 40:359-369.
- Peix A, A.A. Rivas-Boyer, PF. Mateos, C. Rodriguez-Barrueco, E. Martinez-Molina, and E. Velazquez. Growth promotion of chickpea and barley by a phosphate solubilizing strain of *Mesorhizobium mediterraneum* under growth chamber conditions. *Soil Biol. Biochem.* 2001; 33: 103-110.

- Randhawa P, Condrón LM, Di H.J, Sinaj S, and McLenaghan R.D. Phosphorus availability in soils amended with different phosphate fertilizers. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 2006, 37: 25–39. doi:10.1080/00103620500403572.
- Sanchez P, Logan T. Myths and Science about the chemistry and fertility of soils in the tropics. *In: Lal R, Sanchez P (eds) Myths and science of soils of the tropics.* Soil Science Society of America, Madison, WI, 1992; 35–46.
- Scervino J, Prieto M, Della I, Recchi M, Sarmiento N, Godeas A. Soil fungal isolates produce different organic acid patterns involved in phosphate salts solubilization. *Biol Fertil Soils.* 2010; 46:755–763.
- Selvakumar G, Joshi P, Suyal P, Kumar Mishra P, Krishna Joshi G, Venugopalan R, Kumar Bisht J, Chandra Bhatt J, Shankar Gupta H. Rock phosphate solubilization by psychrotolerant *Pseudomonas* spp. and their effect on lentil growth and nutrient uptake under polyhouse conditions *Annals of Microbiol* 2013. DOI 10.1007/s13213-012-0594-5.
- Shoji S, Nanzyo M, Dahlgren RA. Volcanic ash soils—genesis, properties, and utilization. Elsevier Publishing, Amsterdam. 1993.
- Singh H. and Reddy. M. Effect of inoculation with phosphate solubilizing fungus on growth and nutrient uptake of wheat and maize plants fertilized with rock phosphate in alkaline soils. *European Journal of Soil Biology.* 2011, 47: 30-34.
- Smith FW. The phosphate uptake mechanism. *Plant Soil*, 2002; 245: 105–114. doi:10.1023/A:1020660023284.
- Tao G C, Tian S J, Cai M. Y, and Xie G H. Phosphate-solubilizing and -mineralizing abilities of bacteria isolated from soils. *Pedosphere.* 2008; 18(4): 515–523.
- Trolove S.N, MJ Hedley, G.J.D. Kirk, N.S. Bolan, and P. Loganathan. Progress in selected areas of rhizosphere research on P acquisition. *Aust. J. Soil Res.* 2003; 41:471–499.
- Vassilev N, E. Someus, and M. Serrano. Novel approaches in phosphate-fertilizer production based on wastes derived from rock phosphate mining and the food processing industry. *In: Industrial Waste: Environmental Impact, Disposal and Treatment*, J. P. Samuelson, Ed., Nova Science Publishers, New York, NY, USA. 2009; 387–391.
- Vassilev N, Vassileva M, Fenice M, Federice F. Immobilized cell technology applied in solubilization of insoluble inorganic (Rocks) phosphates and P plant acquisitions. *Bioresour technology* 2001, 79 263–271.
- Vassilev. N. and Vassileva. M. Biotechnological solubilization of rock phosphate on media containing agro-industrial wastes. *Appl Microbiol Biotechnol* 2003; 61: 435–440.
- Vassileva M, Azcon R, Barea J, Vassilev N. Application of an encapsulated filamentous fungus in solubilization of inorganic phosphate. *Journal of Biotechnology* 1998; 63: 67–72.
- Vassileva M, Azcon R, Barea J, Vassilev N. Rock phosphate solubilization by free and encapsulated cells of *Yarrowia lipolytica*. *Process Biochemistry* 2000; 35: 693–697.
- Vessey JK. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil* 255: 571–586, 2003.
- Wakelin A, Warren R, Harvey P, Ryder P. Phosphate solubilization by *Penicillium* spp. closely associated with wheat roots. *Biol Fertil Soils* 2004; 40: 36–43.
- Whitelaw MA, Growth promotion of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi. *Advances in Agronomy* 2000; 69: 99–151.
- Yusdar H, Anuar A. R, Hanafi M. M, Azifah H. Analysis of phosphate rock dissolution determining factors using principal component analysis in some acid Indonesian soils. *Commun Soil Sci Plant Anal* 2007. 38:273–282.
- Zhang H, Wu X, Li G and Qin P. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing fungus (*Mortierella* sp.) and their effects on *Kosteletzkya virginica* growth and enzyme activities of rhizosphere and bulk soils at different salinities. *Biology and Fertility of Soils* 2011; 47, 543–554.