

INFLUENCIA DE MICROORGANISMOS EN LA DISPONIBILIDAD DE FÓSFORO EN PLÁNTULAS DE CAFÉ (*Coffea arabica*)

INFLUENCE OF MICROORGANISMS IN PHOSPHORUS AVAILABILITY OF COFFEE SEEDLINGS (*Coffea arabica*)

INFLUÊNCIA DE MICROORGANISMOS NA DISPONIBILIDADE DE FÓSFORO EM PLÁNTULAS DE CAFÉ (*Coffea arabica*)

CARLOS A. CISNEROS R.^{1,2}, JAIME MARTÍN FRANCO³, MARCELA REALPE FERNÁNDEZ⁴,
JUAN CARLOS FUENMAYOR ⁴

RESUMEN

*En Colombia la mayoría de los suelos muestran deficiencia de fósforo disponible, fundamental para el desarrollo de las plantas. Para superar esta dificultad de orden natural y mitigar la demanda de fósforo del suelo, últimamente se adicionan microorganismos solubilizadores de fosfatos (MSF). En esta investigación, se estudiaron los microorganismos *Kocuria sp.*, *B. subtilis*, *S. diversispora* y *P. ochrochloron* y el efecto que tienen sobre la disponibilidad de fósforo, en el desarrollo de plántulas de café, bajo condiciones de invernadero, con 23 tratamientos y 10 repeticiones, en diseño estadístico, completamente al azar. Los experimentos se desarrollaron en un suelo Typic Melanudand con pulpa de café descompuesta*

Recibido para evaluación: 4 de Mayo de 2016. **Aprobado para publicación:** 13 de Septiembre de 2016.

- 1 Universidad Santiago de Cali, Facultad de Ciencias Básicas, Programa de Química, Profesor Catedrático, Grupo de investigación en Micología. Químico M.Sc. y Doctor en Ciencias Agrarias. Cali, Colombia
- 2 Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ingeniería y Administración, Departamento de Ciencias Básicas, Profesor Asociado. Palmira, Colombia
- 3 Universidad Santiago de Cali, Facultad de Ciencias Básicas, Programa de Química, Grupo de investigación Química y Biotecnología – Quibio. Profesor Catedrático, Doctor en Ciencias Química. Cali, Colombia.
- 4 Universidad Santiago de Cali, Facultad de Ciencias Básicas, Programa de Química, Químico. Cali, Colombia

Correspondencia: cacisnerosr@unal.edu.co

y microorganismos (tratamientos 1-11), adición de roca fosfórica (tratamientos 12-22) y un testigo Typic Melanudand, fertilizado con fosfato diamónico (tratamiento 23). Los resultados mostraron que la aplicación de pulpa de café descompuesta con y sin roca fosfórica y microorganismos, favoreció la disponibilidad de fósforo, reflejándose en el crecimiento de las plántulas de café, en el análisis químico del suelo y en las variables de respuesta del fósforo y el área foliar. Se encontró además, una relación inversa entre la concentración de polifenoles y fósforo en suelo y planta.

ABSTRACT

Most soils in Colombia shown available phosphorus deficiency, which is a fundamental element for the plants development. In order of overcome this natural difficulty and mitigate the demand for phosphorus in the soils, phosphate solubilizing microorganisms (PSM) are added. In this research, were studied the microorganisms *Kocuria* sp., *B. subtilis*, *S.* and *P. diversispora ochrochloron* and the effect they have on the availability of phosphorus in the development of coffee seedlings under greenhouse conditions, with 23 treatments and 10 replications in statistical design, completely randomized. The experiments were carried out in Typic Melanudand soil with decomposed coffee pulp and presence or absence of microorganisms (treatments 1-11) and adding phosphate rock (12 to 22 treatments). Typic Melanudand was used as a witness in the treatment 23, fertilized with diammonium phosphate. The results showed that the application of decomposed coffee pulp with and without phosphate rock and microorganisms, favored the availability of phosphorus, reflected in the growth of coffee seedlings, in the chemical analysis of the soil and the response variables match and leaf area. There was an inverse relationship between polyphenols and phosphorus in soil and plant.

RESUMO

Na Colômbia a maioria dos solos apresentam deficiência de fósforo, um elemento fundamental para o desenvolvimento das plantas. Para superar esta dificuldade de ordem natural e diminuir a demanda de fósforo do solo, ultimamente são adicionados microrganismos solubilizadores de fosfatos (MSF). Nesta pesquisa foram estudados os microrganismos *Kocuria* sp., *B. subtilis*, *S. diversispora* y *P. ochrochloron* e o efeito que tem sob a disponibilidade do fósforo, no desenvolvimento de plântulas de café em estufa, com 23 tratamentos e 10 repetições utilizando-se desenho estatístico completamente ao acaso. Os experimentos foram desenvolvidos em solo Typic Melanudand com polpa de café decomposta e microrganismos (1-11 tratamentos), adição de rocha fosfórica (12-22 tratamentos) e Typic Melanudand como testemunha, fertilizado com fosfato diamônico (tratamento 23). Os resultados mostraram que a aplicação de polpa de café decomposta com e sem rocha fosfórica e microrganismos, favoreceu a disponibilidade do fósforo, refletindo-se no crescimento das plântulas de café, na análise química do solo e nas variáveis de resposta do fosforo e na área foliar. Além disso, encontrou-se uma relação inversa entre a concentração de polifenóis e fósforo no solo e na planta.

PALABRAS CLAVE:

Solubilizadores de fosfatos, Polifenoles, Suelo, Área foliar, Biofertilizadores, Fósforo disponible

KEYWORDS:

Phosphate solubilizers, Polyphenols, Soil, Foliar area, Biofertilizers, Available phosphorus.

PALABRAS CHAVE:

Solubilizadores de fosfatos, Polifenóis, Solo, Área foliar, Biofertilizadores. fósforo disponível

INTRODUCCIÓN

El café, género Coffea y familia rubiácea, variedad Castillo fue desarrollado en Colombia por el Centro Nacional de Investigaciones de Café, CENICAFÉ [1] y entregado a agricultores nacionales [2]. El cultivo de esta variedad, requiere suelos de estructura granular, porosos y permeables, ricos en fósforo (P) y materia orgánica [2,3]. En Colombia, los suelos destinados al cultivo del café, en su mayoría de origen volcánico, poseen baja disponibilidad del P, por la acidez, debido a la presencia de aluminosilicatos no cristalinos y elevadas concentraciones de Fe y Al. Estos suelos están ubicados en los departamentos de Caldas, Quindío, Risaralda, Antioquia, Valle del Cauca, Tolima y también en el Cauca [4]; en ellos, es común la aplicación de fertilizantes químicos y la adición de materia orgánica para mejorar la disponibilidad de los nutrientes y conseguir el balance alimenticio de la planta. Los MSF se emplean en menor escala; su uso es incipiente y merece más estudio y escalamiento [5,6]. La aplicación de preparados microbianos biofertilizantes en el cultivo de café, representa una opción amigable con el medio ambiente, para evitar el uso continuo de fertilizantes químicos. En la actualidad, en Colombia se sabe poco acerca de los microorganismos que podrían ser asociados al cultivo del café (Coffea arabica) y su acción en el desarrollo de la planta [6,7]. En consideración a mejorar el conocimiento de la biofertilización, se estudió el efecto en plántulas de café (Coffea arabica variedad Castillo), de cuatro microorganismos solubilizadores de fosfato, dos hongos (Sagenomella diversispora, Penicillium ochrochloron) y dos bacterias (Kocuria sp, Bacillus subtilis), utilizando 23 tratamientos, con el fin de evaluar finalmente, el contenido de fósforo en el suelo y en la planta; al igual que, los polifenoles presentes en el tejido vegetal.

MÉTODO

El estudio se realizó en los laboratorios de Química de la Universidad Santiago de Cali del Municipio de Cali (Departamento del Valle del Cauca, Colombia) y en una finca del corregimiento El Palmar, Municipio de Dagua (Departamento del Valle del Cauca, Colombia). Los microorganismos solubilizadores de fosfatos, se aislaron en estudios previos, de la rizósfera de plantas de café, variedad Caturra de cuatro meses de edad, sembradas en un suelo *Typic Melanudand* del Municipio de Cajibío (Departamento del Cauca, Colombia).

Posteriormente, se seleccionaron en la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira, los microorganismos *Kocuria sp.*, *Bacillus subtilis*, *Sagenomella diversispora* y *Penicillium ochrochloron*, todos de reconocida capacidad solubilizadora de fosfatos tricálcicos, de aluminio y de hierro [7,8].

Para llevar a cabo el experimento, CENICAFÉ suministró 1000 semillas, las cuales se sembraron en arena de cuarzo esterilizada, en un germinador de madera y se mantuvieron bajo condiciones ambientales por 80 días, con riego de agua destilada. Posteriormente, el sistema radicular de las plántulas más homogéneas se inoculó con los microorganismos. Aquellas que presentaban un par de hojas cotiledóneas y un par de hojas verdaderas, se sumergieron en suspensión fúngica de 1×10^6 UFC/mL y solución bacteriana de 1×10^8 UFC/mL por 30 minutos, a temperatura ambiente, en condiciones asépticas. Se sembraron en bolsas de polietileno negro (17 x 23 cm), con la mezcla de 1,0 kg del suelo de origen de los microorganismos (*Typic Melanudand*) y pulpa descompuesta de café en una proporción 1:1 (t: 2-3 h) [9]. Las bolsas se ubicaron a 4-5 cm de distancia, en invernadero con polisombra (60%). En el Cuadro 1, se muestran los tratamientos empleados.

Las plántulas se regaron 2 o 3 veces por semana, durante seis meses. Después, se midió la variación del pH potenciométrico en agua 1:1 [10], *Materia Orgánica*: método Walkley-Black [10], *Fósforo en suelo*: método Bray II [10], *Fósforo foliar*: espectrofotometría, método azul de molibdeno [10], *Contenido de fenoles*: método de Folin – Ciocalteu [11], *Área foliar (AF)*: analizador LI-3100C Área Meter; se empleó 71 hojas x 20 plantas de *Coffea arabica*, Var. Castillo, con muestreo al azar, de diferente tamaño y edad.

Se hizo regresión lineal con el largo (Lh), ancho máximo (Ah) y el producto de ellos (Lh x Ah). Se escogió el modelo $AF = 0,67574 (Lh \times Ah)$, por el mayor coeficiente de determinación, $R^2 = 0,9987$ [12]. El modelo seleccionado se aplicó en el cálculo del área foliar estimada [13]. El experimento se realizó bajo un diseño completamente al azar, con 10 repeticiones por tratamiento, tomando la planta como unidad experimental.

Para el estudio estadístico, se hizo análisis de varianza de las variables de respuesta y en la prueba de Tukey se utilizó como criterio, la comparación de promedios, con nivel de significancia del 5% (software SAS versión 9.3, 2010).

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos.

Sustrato	Tratamiento	Descripción
Suelo + Pulpa de Café descompuesta	1 a 11	Sin MSF, B1, B2, H1, H2, B1*B2, H1*H2, B1*H1, B1*H2, B2*H1, B2*H2
Suelo + Pulpa de Café descompuesta + RF (40 ppm) [10]	12 a 22	Sin MSF, B1, B2, H1, H2, B1*B2, H1*H2, B1*H1, B1*H2, B2*H1, B2*H2
Suelo + DAP (2 g/planta)	23	Sin MSF

B1: *Kocuria* sp., B2: *Bacillus subtilis*, H1: *Sagenomella diversispora*, H2: *Penicillium ochrochloron*. RF: Roca fosfórica, DAP: fosfato diamónico

RESULTADOS

El pH y el contenido de materia orgánica (MO), del suelo antes y después de los almácigos, con los diferentes tratamientos, son mostrados en el Cuadro 2. En conformidad con la literatura, el suelo Andisol (*Typic Melanudand*), usado inicialmente, exhibió un pH ácido, altas concentraciones de materia orgánica (MO) y contenido de fósforo, relativamente bajo [14].

Después de los almácigos de café, excepto en los tratamientos con RF: 13 (*Kocuria* sp.), 20 (*Kocuria* sp. + *Penicillium ochrochloron*), 21 (*Bacillus subtilis* + *Sagenomella diversispora*), 22 (*Bacillus subtilis* + *Penicillium ochrochloron*) y el 23 (testigo absoluto), se observó con la adición de la pulpa de café, un incremento en la MO y el pH, consistente con el reporte de Diallo *et al*, 2016 [15]. Cuando se usó DAP, en el testigo absoluto aumentó la acidez, por liberación de iones H⁺, en la nitrificación de iones amonio [16].

Fósforo en suelo

El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre los tratamientos. En el Cuadro 3, se muestra que la mayor concentración de P se consiguió en los tratamientos sin RF: 9. (*Kocuria* sp. + *P. ochrochloron*), 10. (*B. subtilis* + *S. diversispora*) y 11. (*B. subtilis* + *P. ochrochloron*).

Cuadro 2. Acidez y MO del suelo-almácigos de café.

Tratamiento	pH	MO (g/kg)
Suelo inicial*	5,08	207,09
1	5,24	248,43
2	5,38	268,69
3	5,40	267,10
4	5,30	248,05
5	5,25	256,79
6	5,27	262,35
7	5,35	242,51
8	5,31	253,62
9	5,57	283,78
10	5,26	252,84
11	5,22	279,23
12	5,36	278,23
13	5,03	239,37
14	5,17	256,03
15	5,18	253,65
16	5,10	242,55
17	5,11	237,00
18	5,22	261,59
19	5,10	275,07
20	4,98	268,73
21	4,99	251,29
22	5,07	262,39
23	4,45	214,84

*Condiciones antes del experimento

Por su parte, el menor contenido de P se dio en suelo con RF, con los tratamientos: 12 (no inoculado), 18 (*S. diversispora* + *P. ochrochloron*), 20 (*Kocuria* sp. + *P. ochrochloron*) y 22 (*B. subtilis* + *P. ochrochloron*).

Los resultados obtenidos, exhibidos en el Cuadro 3, son consistentes con los reportados por Cisneros, Sánchez de P. y Menjivar [16,17], en la respuesta positiva de los almácigos de café, cuando se adiciona pulpa de café, para suplir las necesidades nutricionales propias del desarrollo y crecimiento de la planta. En la Figura 1, se observa una clara diferencia entre el tratamiento 23 (testigo) y otros, en cuanto al tamaño de la planta, longitud y peso.

Cuadro 3. Variación de propiedades por tratamiento.

Trat.	P, suelo (mg/kg) (P inicial 1,92)		P, tejido vegetal (%)		Polifenoles (g-ácido tánico/g-muestra)	
1	6,22	defg	0,25	de	7,85	bc
2	5,07	hi	0,24	ef	5,98	bcdef
3	6,10	defg	0,27	ab	6,46	bcdef
4	8,98	b	0,23	fg	4,92	bcdef
5	7,32	d	0,22	gh	3,78	f
6	5,26	ghi	0,28	a	4,31	ef
7	6,68	def	0,26	cd	5,14	bcdef
8	6,62	defg	0,21	hi	4,82	cdef
9	11,57	a	0,26	bc	3,88	f
10	10,84	a	0,27	ab	7,69	bcd
11	10,95	a	0,24	ef	5,43	bcdef
12	3,63	j	0,24	ef	5,26	bcdef
13	5,94	efgh	0,20	i	3,96	f
14	5,72	fgh	0,22	gh	6,77	bcdef
15	5,87	efgh	0,20	i	8,04	b
16	7,08	de	0,21	hi	6,49	bcdef
17	5,72	fgh	0,24	ef	7,43	bcd
18	3,68	j	0,24	ef	4,62	def
19	5,78	efgh	0,24	ef	5,96	bcdef
20	3,91	ij	0,24	ef	4,13	ef
21	8,70	bc	0,23	fg	7,25	bcde
22	4,24	hij	0,22	gh	5,18	bcdef
23	7,38	cd	0,11	j	29,3	a

Nota: promedios con la misma letra no difieren estadísticamente

Figura 1. Efectos en el crecimiento y desarrollo.



El resultado confirma que el uso de microorganismos solubilizadores de fosfatos (MSF) mejora la disponibilidad de P en el suelo; en conformidad con el reporte

de Muleta *et al.*, 2013 [5] sobre el efecto positivo de la aplicación de bacterias como biofertilizantes, en el desarrollo de la planta.

Patiño y Sánchez (2014), Sohail *et al.*, (2014), Abbasi *et al.*, (2015) [18-20] concluyen que la fertilización con RF es útil en ambientes tropicales, con mejor respuesta en suelos ácidos deficientes en P, especialmente.

Es importante resaltar que los tratamientos sin RF inoculados con los cuatro microorganismos presentaron los valores más altos en pH y contenido de MO, y P, con respecto a los demás tratamientos. Este resultado, posiblemente se deba a un efecto sinérgico entre los microorganismos inoculados y los nativos presentes en la mezcla suelo-pulpa de café, los cuales se encargaron de incrementar la disponibilidad del P procedente de la mineralización de la pulpa de café como MO, solubilidad de fosfatos insolubles, y la desorción del elemento adsorbido en la superficie coloidal. Estos procesos están asociados con la producción de ácidos orgánicos y enzimas fosfatasas por parte de los microorganismos y raíces de las plántulas [18,21].

Fósforo en tejido vegetal

El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre los tratamientos. De acuerdo con los resultados obtenidos, el testigo absoluto (tratamiento 23) presentó la menor concentración de P foliar; mientras que, los tratamientos sin RF, 3 (*B. subtilis*), 6 (*Kocuria sp. + B. subtilis*), 9 (*Kocuria sp. + P. ochrochloron*) y 10 (*B. subtilis + S. diversispora*) presentaron mayor cantidad de fósforo foliar.

Similar al contenido de P en el suelo, se encontró una ligera tendencia en el aumento de P en los tratamientos sin roca fosfórica, consecuente con la incidencia que tuvo en los tratamientos en los que se aplicó.

En general, el contenido de P foliar aumentó con el desarrollo de las plántulas de café (Figura 1), lo cual indica que el suelo, habría sido capaz de suministrar a la planta sus requerimientos nutricionales. El contenido de P foliar de 0,20-0,28%, fue similar al reportado por otros investigadores [22,23].

Polifenoles en tejido vegetal

El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre los tratamientos. En esta consideración, se incluye

que el testigo absoluto reveló el mayor contenido de polifenoles; mientras que en los tratamientos 5 (sin RF, *P. ochrochloron*), 9 (sin RF, *Kocuria sp.* + *P. ochrochloron*) y 13 (con RF, *Kocuria sp.*), el contenido de estas sustancias, fue menor. Estos resultados corresponden a una relación inversa entre los contenidos de P (suelo y planta) y la presencia de polifenoles. Posiblemente, se relaciona con el papel de los polifenoles en la planta, especialmente, como protectores contra el estrés ambiental y reguladores de los procesos del suelo, relacionados con la disponibilidad de nutrientes [24]. En investigaciones anteriores [25], se determinó que el aporte de fertilización fosfórica provocó el crecimiento de la planta y la disminución del contenido de fenoles totales en las acidulas juveniles de una especie de pino (*Pina pinaster*).

Área foliar

En esta investigación, también se evaluó, como complemento a los resultados anteriores, el efecto que los microorganismos tuvieron en el crecimiento y desarrollo de la planta, representado en las hojas. El análisis de varianza de los datos del área foliar mostró diferencias significativas entre algunos tratamientos. Los resultados indican que el tratamiento 7 inoculado con la interacción fúngica (sin RF) presentó el valor más alto de área foliar, mientras que el testigo absoluto, fue el menos desarrollado, con valores significativamente menores, apreciados en el Cuadro 4 y en la Figura 1.

La promoción del crecimiento y desarrollo vegetal está relacionada con la capacidad de cada microorganismo, de producir sustancias químicas, tipo fitohormonas, como el ácido indol acético, citocianinas, giberelinas y etileno, entre otras [26]. El mayor incremento en el número de hojas de las plantas inoculadas se considera que se debe a un aumento en la capacidad de absorción de los nutrientes a través del sistema radical de la planta, inducido por los microorganismos [27].

Para el caso de testigo se observó que, a pesar de presentar un buen número de hojas por planta, éstas eran demasiado pequeñas en comparación con las de los demás tratamientos, lo cual se ve reflejado en los resultados de área foliar.

CONCLUSIONES

La adición de pulpa de café descompuesta al suelo *Typic Melanudand*, en presencia o ausencia de RF,

Cuadro 4. Valor promedio de área foliar / tratamiento.

Tratamiento	Área foliar (cm ²)	
1	54,01	abcd
2	58,15	abcd
3	57,01	abcd
4	58,14	abcd
5	59,37	abcd
6	61,95	abc
7	64,88	a
8	53,96	abcd
9	56,31	abcd
10	60,93	abcd
11	55,43	abcd
12	46,09	cd
13	47,56	bcd
14	56,59	abcd
15	54,54	abcd
16	47,22	bcd
17	63,74	ab
18	55,52	abcd
19	55,62	abcd
20	56,04	abcd
21	49,42	abcd
22	44,6	d
23	11,61	e

incrementó la cantidad de materia orgánica y el pH, mejorando la disponibilidad de fósforo.

Los aislamientos microbianos solubilizadores de fosfatos *Kocuria sp.*, *B. subtilis*, *S. diversispora* y *P. ochrochloron*, se adaptaron a la rizósfera de plántulas de café (*Coffea arábica*, variedad Castillo) e incrementaron la disponibilidad de fósforo en el suelo (*Typic Melanudand*), mezclado con pulpa de café y también, la absorción en tejido vegetal, debido a la posible mineralización de la pulpa en ausencia de roca fosfórica, presentándose diferencias significativas en la respuesta del área foliar como variable de desarrollo, respecto al testigo absoluto.

Se demostró una relación inversa entre el contenido de P en suelo y planta, y la concentración de polifenoles, siendo correlacionada con el desarrollo de las plántulas.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Santiago de Cali (Programa de Química) y Universidad Nacional de Colombia (Sede Palmira), por apoyar la fase experimental.

REFERENCIAS

- [1] ALVARADO, G. y OCHOA, H. Características fenotípicas de componentes de variedad castillo® en dos ambientes. *Cenicafé*, 57(2), 2006, p. 100-121.
- [2] RAMOS, H.F. El Sistema de producción del café en Colombia. Palmira (Colombia): Universidad Nacional de Colombia, Taller de Publicaciones, 2014, 94 p.
- [3] NÚÑEZ, P.A., PIMENTEL, A., ALMONTE, I. *et al.* Soil fertility evaluation of coffee (*Coffea spp.*) production systems and management recommendations for the Barahona Province, Dominican Republic. *Journal of soil science and plant nutrition*, 11(1), 2011, p. 127-140.
- [4] SÁNCHEZ, J.A., y RUBIANO, Y. Procesos específicos de formación en andisoles, alfisoles y ultisoles en Colombia. *Revista EIA*, 12(2), 2015, p. E85-E97.
- [5] MULETA, D., ASSEFA, F., BÖRJESSON, E. *et al.* Phosphate-solubilising rhizobacteria associated with *Coffea arabica* L. in natural coffee forests of southwestern Ethiopia. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 12, 2013, p.73-84.
- [6] ARENAS, M., RESTREPO, S., LOZANO, C.N. y RAMÍREZ, C.A. Efecto de aislados PGPR formadores de endospora sobre café en etapas de germinación y almácigo. *Memorias XVII Congreso Colombiano de la Ciencia del Suelo*. Popayán (Colombia): Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo, 2014, 210 p.
- [7] CISNEROS, C., PATIÑO, C. y SÁNCHEZ, M. Solubilización de fosfatos por microorganismos asociados a suelos de tres agroecosistemas cafeteros de la zona andina colombiana. *Memorias XVII Congreso Colombiano de la Ciencia del Suelo*. Popayán (Colombia): Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo, 2014, p. 283-287.
- [8] CISNEROS, C. y SÁNCHEZ, M. Solubilización de fosfatos por hongos asociados a un Andisol de tres agroecosistemas cafeteros de la región andina colombiana. *Ingenium*, 9(25), 2015, p. 37-46.
- [9] SADEGHIAN, S. Fertilidad del suelo y nutrición del café en Colombia: Guía práctica. Chinchiná (Colombia): Boletín Técnico No 32, Gerencia Técnica. Chinchiná (Caldas): Programa de Investigación Científica, Centro Nacional de Investigaciones del Café "Pedro Uribe Mejía" (CENICAFÉ), 2008, 227 p.
- [10] COLOMBIA. CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL (CIAT). Manual de métodos de análisis del LSA. MANLST01. Métodos de Análisis de Suelos del LSA. Palmira (Colombia): Capítulo 1, En revisión, 2013.
- [11] OJEDA, A., FRÍAS, A., GONZÁLEZ, R. *et al.* Contenido de taninos, fósforo fítico y actividad de fitasas en el grano de 12 híbridos de sorgo granífero (*Sorghum bicolor* (L) Moench). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 60(1), 2010, p. 93-98.
- [12] DA SILVA, W.Z., BATISTA, S.V., TOMAZ, M.A., *et al.* Métodos de estimativa de área foliar em cafeeiro. *Enciclopédia Biosfera*, Centro Científico Conhecer – Goiânia, 7(13), 2011, p. 746- 759.
- [13] CABEZAS, M., PEÑA, F., DUARTE, H.W. *et al.* Un modelo para la estimación del área foliar en tres especies forestales de forma no destructiva. *Revista Actualidad & Divulgación Científica*, 12(1), 2009, p. 121-130.
- [14] BRAVO, I., MONTOYA, J.C. y MENJIVAR, J.C. Retención y disponibilidad de fósforo asociado a la materia orgánica en un *Typic Melanudands* del Departamento del Cauca, Colombia. *Acta Agronómica*, 62(3), 2013, p. 261-267.
- [15] DIALLO, N.H., ASSIGBETSE, K., SALL, S. *et al.* Response of Soil Microbial Properties to Long-Term Application of Organic and Inorganic Amendments in a Tropical Soil (Saria, Burkina Faso). *Open Journal of Soil Science*, 6, 2016, p. 21-33.
- [16] CISNEROS, C.A., SÁNCHEZ, M. y MENJIVAR, J.C. Influencia de microorganismos solubilizadores de fósforo del suelo y el efecto sobre plántulas de café. *Bioagro* 28(2), 2016, aún en edición.
- [17] CISNEROS, C.A., SÁNCHEZ, M. y MENJIVAR, J.C. Efecto de bacterias solubilizadoras de fosfatos sobre el desarrollo de plántulas de café. *Agronomía Mesoamericana*, 2016, en edición.
- [18] PATIÑO, C.O. y SANCLEMENTE, O.E. Los microorganismos solubilizadores de fósforo (MSF): una alternativa biotecnológica para una agricultura sostenible. *Entramado*, 10(2), 2014, p. 288-297.

- [19] SOHAIL, A.Q., AMBRIN, R., MEHRUNISA, M. *et al.* Nutrient composition of rock phosphate enriched compost from various organic wastes. *Journal of Science Research*, 2, 2014, p. 047-051.
- [20] ABBASI, M.K., MUSA, N. and MANZOOR, M. 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 Discussion*, 12, 2015, p. 1839–1873.
- [21] BELTRÁN, M.E. La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal. *CORPOICA Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 15, 2014, p. 101-113.
- [22] SILVA, S. and LIMA, J. Spatial estimation of foliar phosphorus in different species of the genus *Coffea* based on soil properties. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 38, 2014, p. 1439-1447.
- [23] DIAS, K., FURTINI, A.E., GONTIJO, P.T. *et al.* Coffee yield and phosphate nutrition provided to plants by various phosphorus sources and levels. *Ciência e Agrotecnologia*, 39, 2015, p. 110-120.
- [24] EICHENBERG, D. Plant polyphenols in the context of biodiversity-ecosystem functioning [Ph.D. Thesis]. Halle-Wittenberg (Germany): Martin-Luther University, 2014.
- [25] LÓPEZ, B. Efecto de la disponibilidad de fósforo y variabilidad genética en las defensas constitutivas e inducidas con metil jasmonato: Concentración foliar de fenoles totales en juveniles de *Pinus pinaster* [Tesis Ingeniería Técnica Forestal]. Santiago de Compostela (España): Universidad Santiago de Compostela, Escuela Politécnica Superior Benigno Ledo, 2008.
- [26] ANGULO, V.C., SANFUENTES, E.A., RODRÍGUEZ, E. e SOSSA, K. Caracterización de rizobacterias promotoras de crecimiento en plántulas de *Eucalyptus nitens*. *Revista Argentina de Microbiología*, 46(4), 2014, p.338-347.
- [27] IBARRA, J.C., AGUIRRE, J.F., LEY, A., *et al.* *Coffea canephora* (Pierre) ex Froehner inoculado con micorriza y bacteria fijadora de nitrógeno en vivero. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 20(2), 2014, p. 201-213.