



Universidad Austral de Chile

Facultad de Ciencias Agrarias
Escuela de Agronomía

Efecto solubilizador de fósforo de una cepa de *Phanerochaete* sp. en trigo y cebada

Memoria de Título presentada como
parte de los requisitos para optar al
título de Ingeniero Agrónomo

Valeska Pinilla Rubilar

Valdivia – Chile

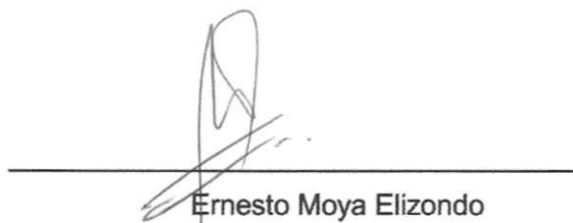
2013

PROFESOR PATROCINANTE:

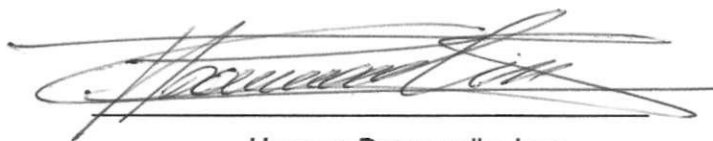


Luigi Ciampi Panno
Ing. Agr., M. Sc., Ph. D.
Instituto de Producción y Sanidad Vegetal

PROFESORES INFORMANTES:



Ernesto Moya Elizondo
Ing. Agr., M. Sc., Ph. D.
Departamento de Producción Vegetal
Universidad de Concepción



Herman Doussoulin Jara
Ing. Agr.
Instituto de Producción y Sanidad Vegetal

*Dedicado a
mis Padres
y al Amor de mi vida*

AGRADECIMIENTOS

Al concluir esta etapa de mi vida, deseo expresar mi enorme gratitud a mis padres, Noelia Osorio y César Rubilar, por su incondicional amor, apoyo y esfuerzo, gracias por los valores que me han entregado y por enseñarme que todo sacrificio tiene su recompensa y lo más importante; el amor inculcado hacia nuestra tierra, que me llevó a estudiar esta hermosa carrera.

Igualmente agradezco a mi novio, mejor amigo y compañero Alejandro Aguirre Araya por su constante apoyo y ayuda durante el transcurso de esta tesis, por su hermosa y alegre compañía, todo su amor y comprensión. Estoy orgullosa del futuro que juntos estamos formando, al culminar esta la primera etapa de las muchas que nos esperan por vivir juntos.

A mi profesor patrocinante Dr. Luigi Ciampi Panno por inculcar en mí el gusto por la ciencia y la investigación y todo su apoyo durante la realización de este trabajo.

A mis profesores informantes Dr. Ernesto Moya y Herman Doussoulin, por cada una de sus sugerencias y correcciones durante el transcurso de esta investigación.

Al grupo “Molekulare Pflanzenernährung” del Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK), comandado por el Prof. Dr. Nicolaus von Wirén, quienes pusieron desinteresadamente a disposición los equipos necesarios para efectuar los análisis necesarios para la presente investigación, durante mi pasantía de investigación en Alemania.

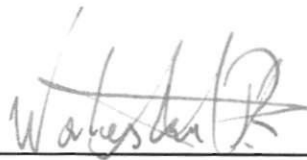
Finalmente agradezco a cada una de las personas, que participaron indirectamente en la realización del presente trabajo.

NOTA ACLARATORIA

En este trabajo de tesis se estableció originalmente, que la cepa de hongo solubilizadora de fósforo correspondió a *Phanerochaete* sp. Sin embargo, realizados los análisis de ADN de esta cepa, se estableció que corresponde a *Bjerkandera adusta*. Esta determinación se realizó mediante características morfológicas.



Luigi Ciampi Panno
Director Proyecto Fondef
D08I-1039



Valeska Pinilla Rubilar

GLOSARIO DE TÉRMINOS

APD	: Agar papa dextrosa
DDE	: Días después de la emergencia
IC	: Abreviación para el índice de cosecha
PVK	: Pikovskaya
RF	: Abreviación para roca fosfórica

INDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
	RESUMEN	1
	SUMMARY	2
1	INTRODUCCIÓN	3
2	MATERIAL Y MÉTODO	9
2.1	Ubicación del ensayo y diseño experimental	9
2.2	Material biológico	9
2.3	Medios de cultivo y replicación de la cepa de <i>Phanerochaete</i> sp.	10
2.4	Evaluación de la solubilización biológica de P por <i>Phanerochaete</i> sp.	10
2.5	Preparación del inóculo de <i>Phanerochaete</i> sp.	10
2.6	Establecimiento de los experimentos	11
2.7	Manejo de las macetas	12
2.8	Evaluaciones	12
2.9	Análisis estadísticos	12
3	PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	13
3.1	Capacidad de <i>Phanerochaete</i> sp. para solubilizar <i>in vitro</i> fuentes fosfatadas	13

3.2	Evolución de la altura, desarrollo fenológico y número de hojas	15
3.3	Efecto de la inoculación de <i>Phanerochaete</i> sp. sobre la biomasa aérea	18
3.4	Efecto de la inoculación de <i>Phanerochaete</i> sp. sobre la concentración de P	21
4	CONCLUSIONES	25
5	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
	ANEXOS	29

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Biomasa particionada en trigo con y sin inoculación de <i>Phanerochaete</i> sp. bajo cuatro diferentes niveles de RF.	19
2	Biomasa particionada en cebada con y sin inoculación de <i>Phanerochaete</i> sp. bajo cuatro diferentes niveles de RF.	20

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Evaluación a halos de solubilización en distintas fuentes fosfatadas inoculadas con <i>Phanerochaete</i> sp., <i>Rhizoctonia solani</i> y <i>Gaumannomyces graminis</i> .	14
2	Evaluación de la formación de micelio en distintas fuentes fosfatadas inoculadas con <i>Phanerochaete</i> sp., <i>Rhizoctonia solani</i> y <i>Gaumannomyces graminis</i> .	15
3	Evolución de la altura, ontogenia (Zadoks) y tasa de aparición de hojas (Haun) en trigo bajo cuatro condiciones de fertilización con roca fosfórica, con y sin la adición de <i>Phanerochaete</i> sp.	16
4	Evolución de la altura, ontogenia (Zadoks) y tasa de aparición de hojas (Haun) en cebada bajo cuatro condiciones de fertilización con roca fosfórica, con y sin la adición de <i>Phanerochaete</i> sp.	17
5	Concentración de P en tejidos de trigo, con y sin la adición de <i>Phanerochaete</i> sp. bajo cuatro condiciones de fertilización con RF.	22
6	Concentración de P en tejidos de cebada, con y sin la adición de <i>Phanerochaete</i> sp. bajo cuatro condiciones de fertilización con RF.	23

INDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Composición del medio agar papa dextrosa	30
2	Composición del medio agar Pikovskaya (PVK)	30
3	Fases del desarrollo según escala decimal Zadoks	31
4	Análisis de suelo utilizado como sustrato en experimentos	32
5	Biomasa particionada en trigo bajo cuatro condiciones de fertilización con RF, con y sin la adición del hongo	33
6	Altura (cm) en trigo por cada fecha de medición, bajo cuatro condiciones de RF (%), con y sin la adición de <i>Phanerochaete</i> sp.	35
7	Ontogenia (escala Zadoks) en trigo por cada fecha de medición, bajo cuatro condiciones de RF, con y sin la adición de <i>Phanerochaete</i> sp.	36
8	Número de hojas (escala Haun) en trigo por cada fecha de medición, bajo cuatro condiciones de RF, con y sin la adición de <i>Phanerochaete</i> sp.	37
9	Altura (cm) en cebada por cada fecha de medición, bajo cuatro condiciones de RF (%), con y sin la adición de <i>Phanerochaete</i> sp.	38
10	Ontogenia (escala Zadoks) en cebada por cada fecha de medición, bajo cuatro condiciones de RF, con y sin la adición de <i>Phanerochaete</i> sp.	39

11	Número de hojas (escala Haun) en cebada por cada fecha de medición, bajo cuatro condiciones de RF, con y sin la adición de <i>Phanerochaete</i> sp.	40
12	Análisis de varianza de las evaluaciones realizadas en trigo	41
13	Análisis de varianza de las evaluaciones realizadas en cebada	44

RESUMEN

En la actualidad, los biofertilizantes en base a microorganismos benéficos del suelo han tomado gran importancia, principalmente por su bajo costo económico y su armonía con el medio ambiente. En el marco del proyecto Fondef D08I-1039 “Biofertilizantes en base a rizobacterias para disminuir el uso de nutrientes fosforados en trigo y cebada”, se aisló una cepa de un hongo capaz de solubilizar fosfatos en placas con agar PVK correspondiente al género *Phanerochaete* sp. Este hongo es un basidiomicota, capaz de solubilizar formas de P no disponible para las plantas, por lo cual fue evaluado utilizando avena triturada como “carrier” y fuente de inóculo en un suelo Trumao deficiente en P. Se planteó la siguiente hipótesis: “Una cepa de hongo de *Phanerochaete* sp. promueve el crecimiento vegetal a través de la solubilización de P en plantas de trigo y cebada”. Como objetivo general, se propuso evaluar la capacidad de la cepa chilena de *Phanerochaete* sp., como solubilizador de roca fosfórica y su efecto en el crecimiento de trigo y cebada. Los objetivos específicos de esta investigación son dar a conocer cuáles son los efectos que *Phanerochaete* sp. causa en plantas de ambos cereales, evaluar estos efectos bajo diferentes concentraciones de roca fosfórica en un sustrato suelo y determinar la solubilización de P por *Phanerochaete* sp. proveniente de distintas fuentes fosfatadas. El ensayo se llevó a cabo en plantas de trigo y cebada, en los cuales se observaron diferencias altamente significativas en la biomasa aérea particionada inoculadas con la cepa, respecto al control en ambos cultivos. Por otra parte, se observaron efectos positivos en el crecimiento, pero no así en la ontogenia y número de hojas. Con respecto a la concentración de P, no se observaron diferencias significativas. No obstante, en los niveles con baja fertilización fosforada y adición de la cepa existieron granos, teniendo que esto último no se observó en el testigo. Lo anterior, permitió considerar a la cepa de *Phanerochaete* sp. como un hongo solubilizador de fosfatos *in vitro*, promotor del crecimiento vegetal en ambos cultivos, con lo cual queda abierta la posibilidad para ser estudiado en otros cultivos de importancia agrícola, como una importante alternativa a la tradicional fertilización fosforada de nuestros tiempos.

SUMMARY

Nowadays, biofertilizers based on soil microorganisms have become very important, mainly because of their low economic cost and their harmony with the environment. Under the Fondef D08I-1039 project "Rhizobacteria as biofertilizers to reduce phosphate fertilizers use in wheat and barley", it was isolated a fungus strain able to solubilize phosphate on PVK agar, corresponding to the genera *Phanerochaete* sp. This fungus is a Basidiomycota can solubilize unavailable P forms to plants, thus it was evaluated using crushed oat as a "carrier" and also as an inoculum source with a phosphorus deficient soil (Trumao). The hypothesis of this report was: "A fungus corresponding to *Phanerochaete* sp. strain promotes plant growth by phosphorus solubilization in wheat and barley plants". The general aim was to evaluate the ability of this chilean strain of *Phanerochaete* sp. such as rock phosphate solubilizing fungus and its effect on wheat and barley growth. The specific aims of this research were to know which are the effects of *Phanerochaete* sp. on both cereals, evaluating these effects under different phosphate rock concentrations in soil used as substrate and to determine P solubilization by *Phanerochaete* sp. from different phosphate sources. This work was carried out on wheat and barley plants. For both significant differences were observed in the above biomass in the inoculated treatments, whereas control not. Moreover, positive effects were observed on growth, but not in the development and leaves number. Regarding to the content of P, no significant differences were observed. However, at low P fertilization levels it was obtained grains and this was not seen in control treatments. This *Phanerochaete* sp. strain as a phosphate solubilizing fungus *in vitro*, which promotes plant growth on both crops, left open the possibility to be studied in other agriculturally important crops as an interesting alternative to traditional phosphorus fertilization of our times.

1 INTRODUCCIÓN

Los cereales constituyen por una parte, el grupo de especies cultivadas con mayor superficie a nivel mundial, además de ser el alimento más importante desde el punto de vista de las calorías que proporcionan a las personas. En el mundo, como promedio para el periodo 2011/12, hubo una producción de 2.344 millones de toneladas anuales, de las cuales aproximadamente un tercio correspondió a trigo y cebada (FIA, 2012).

Según cifras de Danty (2012), en Chile los cereales corresponden a un 80% de la producción total de cultivos anuales, alcanzando las 545.824 ha en la temporada 2011/12, destacando el trigo que concentró un 49% de la superficie total y la cebada un 3,2%. Esta superficie de producción se localiza principalmente en la zona sur de Chile, comprendida entre las regiones del Bío Bío y Los Lagos, debido a las condiciones agroecológicas propicias para alcanzar rendimientos que van desde los 80 a los 120 q ha⁻¹ de trigo (Fundación Chile, 2011) y 46 q ha⁻¹ en el caso de cebada (Astudillo, 2007).

En la actualidad uno de los principales problemas en la producción de cereales en el sur de Chile es la retención de fósforo en los suelos. Esto último se da por el origen de estos suelos derivados de cenizas volcánicas, que se caracterizan por una alta fijación de P, ya que más de un 80% del P suministrado a estos suelos desaparece de la solución de suelo (Schalscha *et al.*, 1972). La falta de P en los suelos es una limitante del crecimiento en las plantas, dado que este macronutriente se caracteriza por su estabilidad al ligarse a elementos abundantes en algunos suelos como el aluminio y hierro, dejándolo muy poco soluble (Vera *et al.*, 2002). Estos mismos autores señalan, que el fenómeno de fijación y precipitación del P en el suelo, el cual es altamente dependiente del pH, causa una baja eficiencia de los fertilizantes fosforados solubles, tales como el superfosfato, el cual tiende a precipitarse en forma de fosfato bicálcico o fosfatos de Al y Fe. La deficiencia de P en los suelos del sur de Chile se caracteriza por provocar importantes trastornos fisiológicos en las plantas,

disminuyendo considerablemente la producción. Según Mellado (2007), en Chile la deficiencia de P es la segunda más extendida e importante después del N, especialmente en los suelos trumaos, ya que éste se encuentra en formas no disponibles para la plantas.

El P es uno de los macronutrientes esenciales para el crecimiento y desarrollo fenológico de las plantas, ya que es un importante componente de los nucleótidos que conforman el material genético presente en el núcleo y citoplasma celular, por lo cual procesos como el crecimiento y la división celular son dependientes de la disponibilidad de P. Además, este elemento tiene la capacidad de formar enlaces altamente energéticos, permitiendo el almacenamiento, liberación y transferencia de energía al interior de la planta para que se lleven a cabo los procesos metabólicos en ella, razón por la que una deficiencia de P obstaculizaría procesos como la conversión de azúcar en almidón y celulosa. Esta acumulación de azúcares colabora en la producción de antocianinas, lo que da el característico color púrpura apreciado en plantas con déficit de P (Afif *et al.*, 2013). Según Mellado (2007), otros síntomas asociados a una deficiencia de P, causan una disminución en la eficiencia y producción. Entre éstos, se tiene la falta de vigor en tallos y hojas, volviéndose los tallos más delgados y las espigas más pequeñas, por lo que existe una disminución en el número de granos, afectando el rendimiento total del cultivo. También se puede presentar un retraso en la madurez y una disminución en el número de macollos por planta.

En consecuencia, los rangos de rentabilidad de la producción de cereales han bajado sostenidamente en el tiempo, por lo que nuevas caídas en el precio no podrían seguir siendo absorbidas, al menos por parte de los agricultores. Esta situación impulsa a aumentar la escala de los cultivos y/o a evitar las siembras en suelos de baja calidad, con lo que se favorece una mayor competitividad (FIA, 2012). Otra forma de aumentar la rentabilidad de estos cultivos es acceder a un mercado con mejores precios de venta, pero esta solución es poco viable, ya que esto no se encuentra en manos de los productores. No obstante, una alternativa es la posibilidad de incrementar la eficiencia

agronómica de los cultivos, disminuyendo costos de producción y, consecuentemente mejorando la rentabilidad de sus sementeras (González, 2009).

Para aumentar la eficiencia agronómica dentro del contexto de la problemática del P, una propuesta es la utilización de fertilizantes fosforados de bajo costo, como es el caso de la roca fosfórica. Schwaner (2006), señala que para un efecto favorable en la aplicación de la roca fosfórica, el pH debe ser bajo (<6,5). La roca fosfórica a un pH mayor pierde efectividad, por lo cual, las condiciones de los suelos derivados de cenizas volcánicas son las idóneas para su utilización. Las rocas fosfóricas son fosfatos tricálcicos o apatitas, cuya principal característica es su escasa solubilidad en agua, por lo que su uso en la agricultura no es tan masivo, a pesar de su bajo costo económico. A diferencia de otras fuentes fosfatadas como es el caso del superfosfato triple, el que posee un 46% de P_2O_5 y que dentro de los fertilizantes fosforados es el que presenta la mayor tasa de solubilización al agua, pero también es el que tiene el mayor precio en el mercado (Sierra, 1990).

Según Pinilla (1994), las propiedades de las rocas fosfóricas de ser insolubles en agua, producen que la reacción con el suelo sea mínima, liberándose inicialmente una cantidad menor de P y no acidificando a la vez. Por tal motivo, se reduce la formación de precipitados, lo cual resulta ventajoso. La entrega pequeña, pero sostenida de P que aportan las rocas fosfóricas durante las distintas etapas de crecimiento de las plantas, especialmente cuando existe una rizósfera desarrollada, facilita la competencia de ellas por el P (Sepúlveda *et al.*, 1997; Schwaner, 2006). Sin embargo, esta baja entrega inicial no satisface la demanda en la primera etapa de vida de las plantas (Pinilla, 1994). Para mejorar esta situación, se ha establecido que las raíces de algunas plantas como el lupino, pueden secretar ácidos orgánicos que permiten solubilizar el fosfato de las partículas de roca fosfórica (Sierra, 1990). Por otra parte, el suelo está compuesto por una serie de microorganismos que juegan importantes roles en sus propiedades físicas y químicas, ya que estos aprovechan las condiciones que el suelo les proporciona, tales como temperatura, humedad y materia orgánica para completar su ciclo de vida. La población microbial del suelo está compuesta por cinco

grupos principales: bacterias, actinomicetes, hongos, algas y protozoos (Alexander, 1961). Esta microbiota tiene un importante rol en la fertilidad de un suelo, la cual no sólo se encuentra determinada por la presencia de macronutrientes como N, P y K, sino que también por la microflora que los hace biodisponibles para las plantas (Olvera y Pacheco, 2005). Dentro de habitantes del suelo, se encuentran algunos solubilizadores de P, desempeñando un importante papel en el aporte de este nutriente para las plantas, propiedad que potencia su utilización como inoculantes (Pérez *et al.*, 2009), por lo cual su presencia en la rizósfera es beneficiosa, ya que promueve la movilización de las formas no disponibles para las plantas.

Entre los organismos solubilizadores de P del suelo, podemos mencionar algunos grupos, entre ellos hongos de los géneros *Penicillium*, *Sclerotium* y *Fusarium*, con gran capacidad solubilizadora de P, aunque con riesgo de patogenicidad a los cultivos. Otro grupo corresponde a los Actinomicetes (*Streptomyces*), caracterizados por la producción de antibióticos, su difícil cultivo y multiplicación a nivel industrial. Finalmente, encontramos distintas bacterias y entre ellas, el género *Pseudomonas* sp., con el que se ha observado una importante capacidad solubilizadora de P y mayor producción de fitohormonas que inducen a un gran desarrollo radicular (Cuervo, 2010). Estos microorganismos solubilizadores de P, liberan ácidos orgánicos que disuelven los fosfatos insolubles haciéndolos disponibles para las plantas por lo que son considerados de gran importancia dentro de la microflora del suelo (Pérez *et al.*, 2009). La producción de ácidos orgánicos por parte de hongos u otros microorganismos, lograría una disminución del pH del medio o bien favorecería la formación de quelatos, con lo cual sería liberado el P de sus fuentes no disponibles (Whitelaw, 1999; Schwaner, 2006).

Los hongos filamentosos poseen ventajas en suelos ácidos y presentan características morfológicas y metabólicas que los hacen organismos promisorios para solubilizar P. Adicionalmente, ha sido reportada una mayor habilidad de solubilizar fosfatos en relación con las bacterias (Vera *et al.* 2002) Estos hongos forman asociaciones simbióticas con las raíces de la mayor parte de las plantas terrestres. Además,

incrementan el número y la actividad de los organismos benéficos del suelo. Según Borie *et al.* (1983), dentro de las cepas más activas en los suelos del sur de Chile, se encuentran: *Aspergillus* y *Penicillium*, los que concentran su mayor biomasa en los suelos alofánicos presentes en dicha área. En Chile, el Dr. Luigi Ciampi Panno ha sido uno de precursores en la investigación de estos microorganismos, quien en la actualidad lidera el proyecto FONDEF D08I-1039 titulado como “Biofertilizantes en base a rizobacterias para disminuir el uso de nutrientes fosforados en trigo y cebada”. Este proyecto se relaciona con el uso innovador de microorganismos y el desarrollo de productos en base a rizobacterias solubilizadoras de P, bioformulando productos biológicos que, aplicados a cultivos como trigo y cebada, disminuyan el aporte de fertilizantes fosfatados. Dentro de este mismo proyecto, trabajos realizados en el Laboratorio de Bioinsumos y Bacteriología de la Facultad de Ciencias Agrarias (Universidad Austral de Chile), buscando aislar bacterias solubilizadoras de P desde muestras de suelo de la rizósfera de trigo, permitieron aislar una cepa de hongo capaz de solubilizar P en placas con agar Pikovskaya. La cepa del hongo procedió desde un suelo Trumao de origen volcánico, específicamente perteneciente a la serie Máfil, ubicado en la Provincia de Valdivia. Este hongo se caracteriza por producir un micelio blanco, tabicado, sin producción de conidias, y que mediante claves taxonómicas se identificó como perteneciente al género *Phanerochaete* sp. (Ciampi, comunicación personal).

Phanerochaete sp. son hongos pertenecientes al *Phylum* Basidiomicotas, de la clase Agaricomycetes, del orden Poliporales. En la actualidad, se conocen 46 especies pertenecientes a este género, las que se caracterizan principalmente por ser termófilas oscilando su temperatura óptima alrededor de los 40°C (Vassilev *et al.*, 2006). Este hongo es característico en los bosques templados de América del Norte, Europa e Irán (Blanco, *et al.*, 2006). Según los mismos autores, otra característica que destaca a este género es la capacidad de degradación de lignina, propiedad típica de los basidiomicotas, por lo que cuentan con una batería de enzimas extracelulares, oxidasas y peroxidasas, que contribuyen en determinadas condiciones, a despolimerizar la compleja estructura de la lignina, posibilitando así la conversión de polisacáridos, que constituyen una importante fuente de energía. Además, la mayoría

de los estudios sobre estos hongos se han centrado en la capacidad que poseen para la degradación de hidrocarburos aromáticos como biodescontaminante (Lopera *et al.*, 2005). Para nuestro conocimiento, no existen trabajos reportados que muestren que éste se trate de un hongo solubilizador de P, como fue observado en la cepa chilena.

En base a los antecedentes anteriormente mencionados, se planteó la siguiente hipótesis: “Una cepa del hongo *Phanerochaete* sp. promueve el crecimiento vegetal a través de la solubilización de P en plantas de trigo y cebada”. Como objetivo general, se propuso evaluar la capacidad de la cepa chilena de *Phanerochaete* sp., como solubilizador de roca fosfórica y su efecto en el crecimiento de trigo y cebada. Los objetivos específicos de esta investigación son determinar cuáles son los efectos que *Phanerochaete* sp. causa en plantas de ambos cereales bajo diferentes concentraciones de roca fosfórica en un sustrato suelo y determinar la solubilización *in vitro* de P por *Phanerochaete* sp. bajo distintas fuentes fosfatadas.

2 MATERIAL Y MÉTODO

2.1 Ubicación del ensayo y diseño experimental

La investigación fue realizada en el Laboratorio de Bioinsumos y Bacteriología del Instituto de Producción y Sanidad Vegetal, de la Facultad de Ciencias Agrarias, ubicada en el campus Isla Teja de la Universidad Austral de Chile, Valdivia. Un ensayo *in vitro* fue realizado en un arreglo en bloques completamente al azar para evaluar halos de solubilización y formación de micelio por 3 hongos en 6 diferentes fuentes fosforadas, con 6 repeticiones durante 6 d. Posteriormente, los experimentos en trigo y cebada, fueron conducidos en macetas, en un diseño factorial en bloques completamente al azar con 8 tratamientos, teniendo tratamientos inoculados con el hongo solubilizador y otros sin la cepa (control), siendo evaluados en cuatro diferentes niveles de roca fosfórica: 0, 10, 50 y 100% de la dosis recomendada con 5 repeticiones por cada tratamiento en ambos cereales.

2.2 Material biológico

El material biológico utilizado correspondió a una cepa de *Phanerochaete* sp. aislada en el Laboratorio de Bioinsumos y Bacteriología del Instituto de Producción y Sanidad Vegetal, desde la rizósfera de plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.) cultivado en un suelo Trumao de la serie Máfil. Para evaluar la solubilización *in vitro* de esta cepa, se utilizaron dos testigos negativos, los cuales correspondieron a los hongos *Rhizoctonia solani* (Kühn) y *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, (Walker) ambos provenientes del cepario que posee el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la citada universidad. Se utilizaron además, granos de avena (*Avena sativa* L.) como sustrato para el inóculo de la cepa del hongo. Las semillas utilizadas fueron obtenidas desde el Laboratorio de Fitotecnia del Instituto de Producción y Sanidad Vegetal de la Universidad y correspondieron a trigo (*T. aestivum* L.) cv. Otto-Baer y cebada (*Hordeum vulgare* L.) cv. Barke.

2.3 Medios de cultivo y repique de la cepa de *Phanerochaete* sp.

Con el objeto de repicar la cepa de este hongo y evaluar la solubilización de P, se utilizaron dos medios de cultivo correspondientes a APD (Anexo 1) enriquecido con ácido láctico para inhibir el crecimiento de colonias bacterianas y el medio PVK, éste último como un medio indicador de solubilización de P (Anexo 2). La cepa del hongo fue obtenida desde placas con APD que contenían una muestra pura del hongo con un sacabocados estéril de 4 mm de diámetro. Los discos de micelio fueron tomados con una aguja enmangada, previamente flameada en mechero y depositados en el centro de placas Petri con APD, para ser incubados en estufa a $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 7 d, por quintuplicado.

2.4 Evaluación de la solubilización *in vitro* de P por *Phanerochaete* sp.

Se sembraron cepas de *Phanerochaete* sp., *R. solani* y *G. graminis* var. *tritici*, siguiendo el procedimiento descrito anteriormente (2.3), pero sobre agar PVK, con seis repeticiones para *Phanerochaete* sp. y dos para cada uno de los otros hongos. Las placas se incubaron a $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 6 d. Se evaluó diariamente el crecimiento del micelio y halo de solubilización, midiendo con un pie de metro el diámetro de estos. Los hongos *R. solani* y *G. graminis* fueron utilizados como testigos negativos debido a su baja capacidad solubilizadora de P (Doussoulin, comunicación personal¹). Las fuentes de P utilizadas correspondieron a 1) fosfato de hierro, 2) ácido fítico, 3) fosfato de aluminio, 4) fosfato de calcio, 5) roca fosfórica (BIFOX) y 6) roca peruana. El medio de cultivo sólido fue utilizado como un indicador cualitativo de la acción solubilizadora de fosfatos para el hongo, mediante el cual se puede observar la formación de un halo claro alrededor del micelio (Sundara y Sinha, 1963).

2.5 Preparación del inóculo de *Phanerochaete* sp.

Se preparó inóculo de la cepa de *Phanerochaete* sp. utilizando avena como sustrato. Para ello se realizaron dos enjuagues de los granos de avena con agua destilada estéril, posteriormente se sumergieron en una solución de NaOCl al 1% por 5 min y

¹ Prof. Ing. Agr. Herman Doussoulin, Instituto de Producción y Sanidad Vegetal (UACH).

luego de esto, se realizó un último enjuague con agua destilada estéril para eliminar los restos de la solución clorada. Los granos desinfectados fueron triturados en una picadora Moulinex®, hasta alcanzar un tamaño de partículas entre 2 y 3 mm, evitando que tuviese una consistencia pastosa. En matraces de 500 mL se agregó 250 mL de agua destilada estéril junto a 250 g de avena triturada, dejándolos reposar por un período de 24 h para la hidratación de los granos. Se eliminó el exceso de agua y fueron sometidos a un proceso de tinalización, el cual corresponde a una esterilización en donde se elevan las temperaturas en tres intervalos de 24 h para conseguir la destrucción de microorganismos sin alterar la composición química de los granos. Después de 24 h, los granos de avena fueron inoculados con trozos de aproximadamente 1,0 cm² de micelio de *Phanerochaete* sp. de 7 d de desarrollo en medio APD. Posteriormente, los matraces fueron incubados en una estufa a 30±1°C por 21 d. Finalmente, el contenido de cada matraz fue esparcido en bandejas limpias, desinfectadas y cubiertas con papel de envolver para favorecer el secado y pérdida de humedad del inóculo por alrededor de 7 d.

2.6 Establecimiento de los experimentos en macetas

El establecimiento de los experimentos se realizó en macetas plásticas de 30x35 cm, las cuales fueron llenadas con 4 kg de un suelo Trumao de la serie Valdivia utilizado como sustrato, que fue recolectado en el sector “La ovejería” de la Estación Experimental Austral, ubicada en el sector de Cabo Blanco, en la ciudad de Valdivia (39°45’S y 73°14’O, a 10 m.s.n.m.), seleccionado por su bajo contenido de P.

Los cálculos de fertilización correspondientes, se realizaron considerando los resultados del análisis de suelo (Anexo 4), y las concentraciones de fertilizantes se efectuaron con el apoyo de una planilla de fertilización para cultivos, basada en trabajos realizados por Pinochet (2005). Los fertilizantes utilizados correspondieron a salitre potásico y roca fosfórica; éste último en concentraciones de 0, 10, 50 y 100% de la dosis recomendada (349 y 154 kg de N ha⁻¹ para trigo y cebada, respectivamente; 455 y 254 kg de P₂O₅ ha⁻¹ para trigo y cebada, respectivamente). La mezcla del suelo, fertilizantes e inóculo con las dosis de fertilización independientes para cada

tratamiento, se realizaron con una betonera mecánica. Se sembraron 20 semillas por cada maceta de forma manual.

2.7 Manejo de las macetas

El experimento fue sembrado el 11 de noviembre de 2011 y fue mantenido por 90 d hasta el estado fisiológico de antesis. Dentro de este periodo, a los 15 DDE se realizó un raleo dejando 15 plántulas por maceta, con el fin de homogenizar el número de plantas por cada unidad experimental. Por otra parte, el control de malezas se efectuó manualmente a medida que éstas aparecieron. El mismo procedimiento fue utilizado en el caso de la aparición de algunos insectos que pudieron perjudicar el normal desarrollo de las plantas.

2.8 Evaluaciones

Durante el experimento, se evaluó el desarrollo fenológico de los cultivos por medio de la escala Zadoks (Anexo 3). Otra evaluación realizada fue la contabilización del número de hojas, a través de la escala Haun (1973), la cual permite además conocer la tasa de aparición de hojas. Por último se efectuaron mediciones periódicas de altura con una regla graduada. Al final del experimento, luego de la cosecha, se realizó un análisis de la concentración de P foliar mediante ICP (Hou y Jones, 2000), así como también en tallos y granos ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS). Además, se evaluó el peso seco total de las plantas y de cada una de las estructuras por cada unidad experimental (g).

2.9 Análisis estadísticos

Los datos obtenidos fueron procesados con el software Microsoft Excel 2007 y el análisis estadístico se efectuó con el programa Statgraphics Centurión XV, realizando un ANOVA (Anexos 12 y 13) y separación de medias mediante prueba de Tukey ($p \leq 0,05$). En altura, ontogenia y número de hojas se realizó una prueba t de Student ($p \leq 0,05$) de contraste para una misma fecha, asumiendo la normalidad y homogeneidad de los datos.

3 PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados *in vitro* obtenidos en laboratorio y su etapa posterior conducida en macetas, con el fin de evaluar la cepa chilena del hongo *Phanerochaete* sp.

3.1 Capacidad de *Phanerochaete* sp. para solubilizar *in vitro* fuentes fosfatadas

En la Figura 1 se muestran los halos de solubilización, evaluados durante un período de 6 d, donde se puede apreciar, que el medio enriquecido con $\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, fue solubilizado por la cepa de *Phanerochaete* sp. Esto se contradice con resultados obtenidos por Fassbender y Bornemisza (1987), quienes señalan que el compuesto de Fe aparece como uno de los más insolubles entre los fosfatos inorgánicos, aún más que el fosfato de Al, no existiendo solubilización de esta sal por parte de los 2 testigos.

Sin embargo, Jones *et al.* (1991) y Whitelaw (1999) señalan que la ausencia de halos de solubilización en los medios de cultivo sólido, no necesariamente indica que el organismo carezca de habilidad solubilizadora, sino que posiblemente este tipo de medios son insensibles para detectar la actividad de algunos microorganismos, por lo cual Hernández-Leal *et al.* (2011) recomienda recurrir a medios líquidos para obtener resultados más precisos.

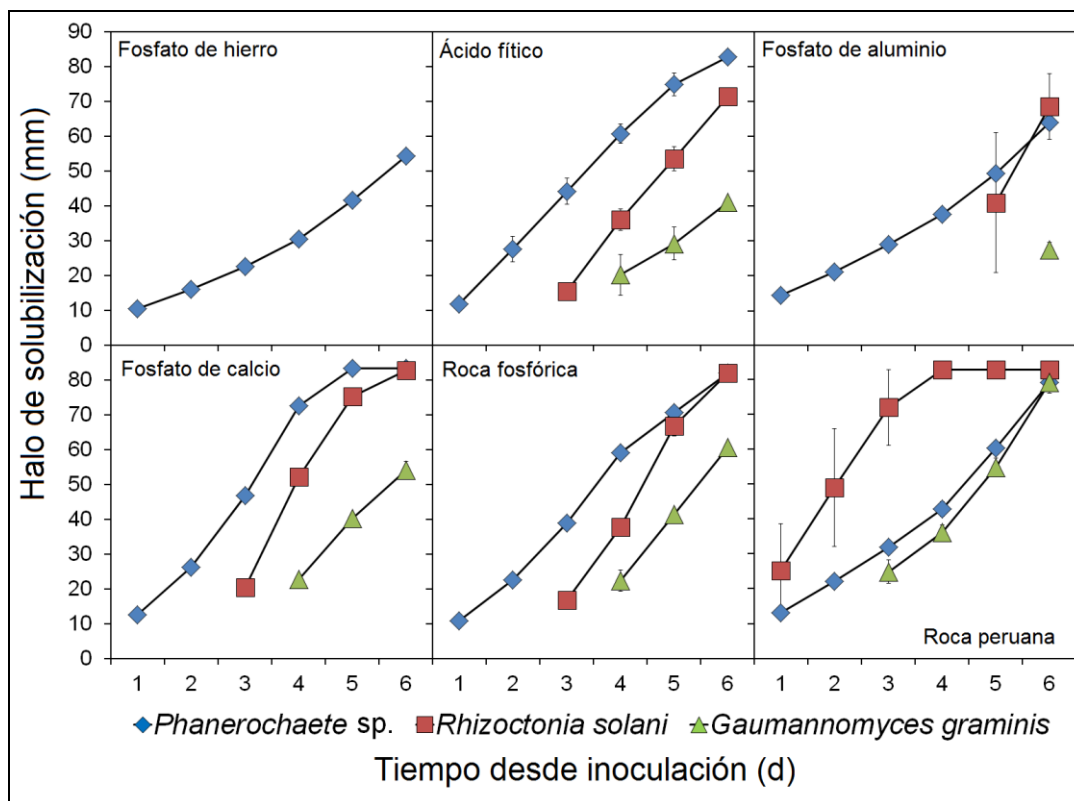


Figura 1. Evaluación a halos de solubilización en distintas fuentes fosfatadas inoculadas con *Phanerochaete sp.*, *Rhizoctonia solani* y *Gaumannomyces graminis*. Barras sobre cada punto indican error estándar.

En el caso de los medios enriquecidos con ácido fítico, AlPO_4 , $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ y roca fosfórica, la solubilización por la cepa fue mayor con respecto a los testigos, destacando que ésta comenzó solubilizando desde el primer día de evaluación, a diferencia de los controles, cuya solubilización comenzó en promedio al cuarto día desde la inoculación, patrón que se repite en investigaciones efectuadas por Hernández-Leal *et al.* (2011), en donde la cepa del hongo *Paecilomyces lilacinus* mostró actividad solubilizadora desde el cuarto día desde la inoculación. Cabe mencionar, que el medio enriquecido con roca peruana, promovió la solubilización fosforada de uno de los testigos, específicamente *R. solani*.

Con respecto al crecimiento del micelio de la cepa de *Phanerochaete sp.* (Figura 2), se observó en los medios enriquecidos con RF y ácido fítico, un mayor crecimiento de

éste con respecto a los testigos, mientras que en los tratamientos enriquecidos con AlPO_4 y $\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, no se observaron diferencias. En el caso de los medios enriquecidos con $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ y roca peruana, el crecimiento del micelio se vio favorecido para *R. solani* sobrepasando a la cepa evaluada.

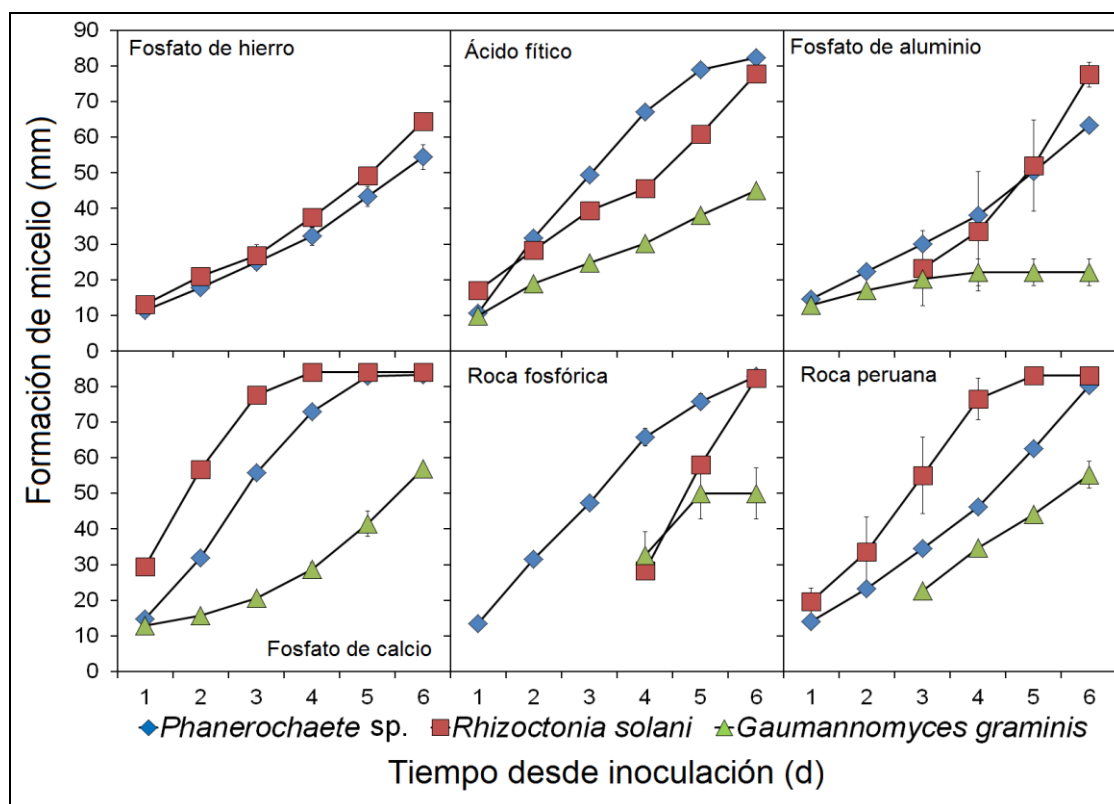


Figura 2. Evaluación de la formación de micelio en distintas fuentes fosfatadas inoculadas con *Phanerochaete sp.*, *Rhizoctonia solani* y *Gaumannomyces graminis*. Barras sobre cada punto indican error estándar.

3.2 Evolución de la altura, desarrollo fenológico y número de hojas

En las Figuras 3 y 4 se presenta el efecto de la adición de la cepa del hongo con respecto al control, sobre la altura promedio en diferentes fechas de medición durante el ciclo ontogénico de plantas de trigo y cebada, respectivamente. Tanto en trigo como en cebada, se observaron diferencias significativas en la altura de los cuatro niveles de fertilización fosforada evaluados, en donde la altura de las plantas adicionadas con la cepa fue mayor con respecto al control, lo cual coincide con lo investigado por

Maddonni *et al.* (2003), quien señala que las mejoras en el crecimiento de las plantas adicionadas con hongos solubilizadores, se deben fundamentalmente a la mayor absorción y translocación de nutrientes.

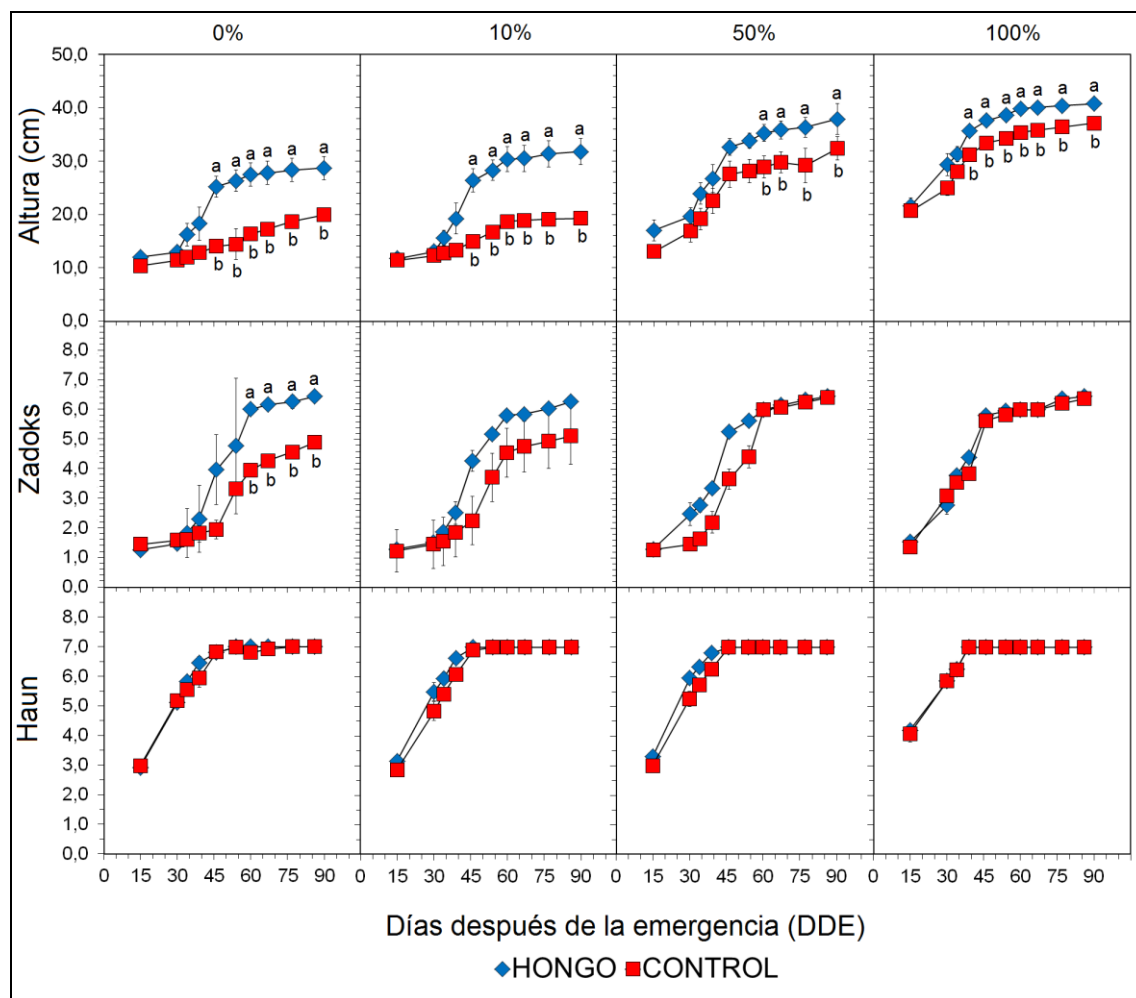


Figura 3. Evolución de la altura, ontogenia (Zadoks) y tasa de aparición de hojas (Haun) en trigo bajo cuatro condiciones de fertilización con roca fosfórica, con y sin la adición de *Phanerochaete* sp. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas (prueba t, $p \leq 0,05$).

En los niveles con una fertilización fosforada deficiente (0, 10 y 50%), se observó que la altura de las plantas con la adición del hongo, sobrepasó al tratamiento control entre los 60 y 75 DDE. En cambio, en el tratamiento con fertilización fosforada completa, la

cepa alcanzó mayores valores de altura, respecto al testigo a los 45 DDE. Las plantas de cebada presentaron diferencias significativas en la altura, en casi todos los niveles de fertilización, excluyendo los tratamientos fertilizados con un 10% de la dosis recomendada, donde estas diferencias se encontraron a partir de los 45 DDE como se puede observar en la Figura 4.

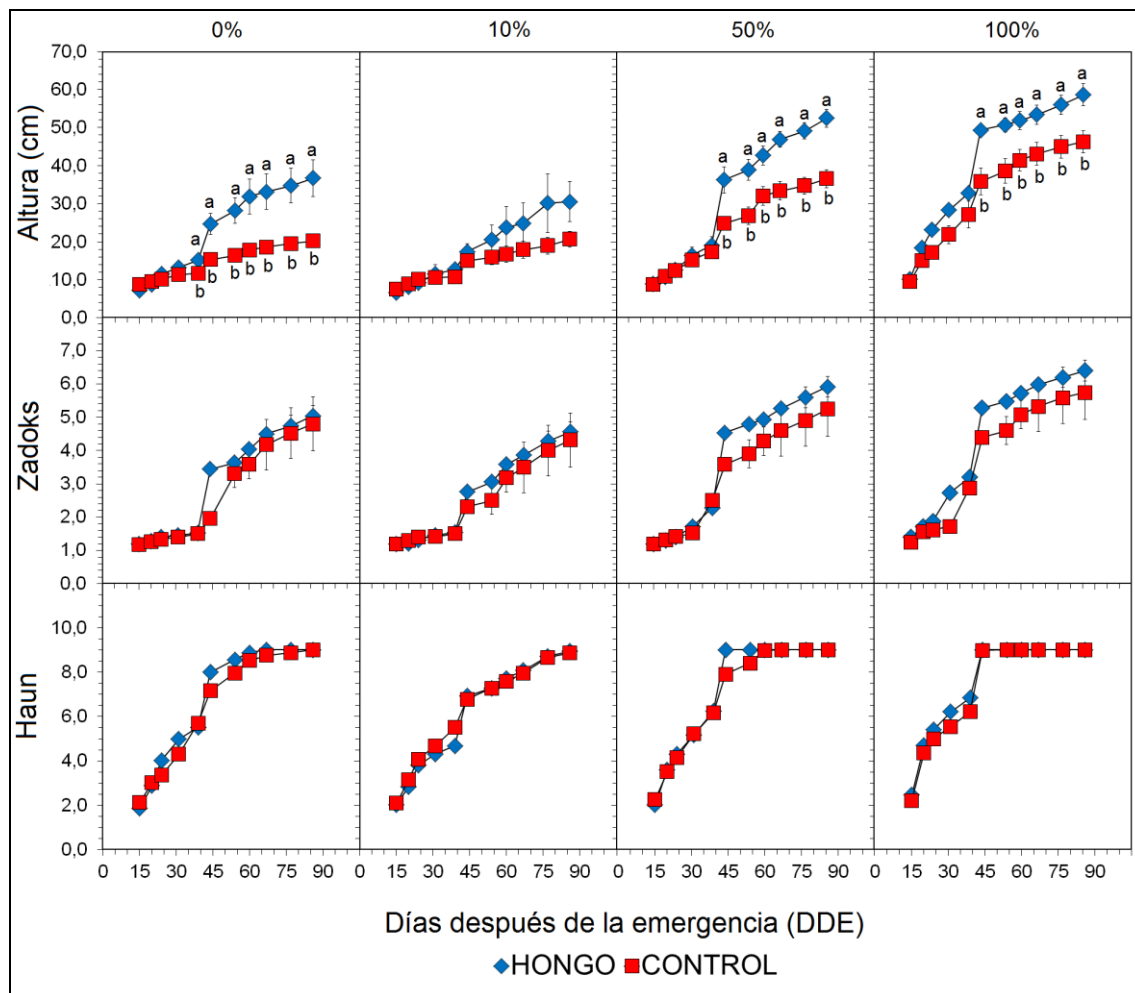


Figura 4. Evolución de la altura, ontogenia (Zadoks) y tasa de aparición de hojas (Haun) en cebada bajo cuatro condiciones de fertilización con roca fosfórica, con y sin la adición de *Phaeochaete* sp. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas (prueba t, $p \leq 0,05$).

En la Figura 3, con la adición de *Phanerochaete* sp. se obtuvo un efecto positivo sobre la ontogenia de las plantas sólo cuando no existió la adición de una fuente fosforada, observándose estas diferencias a partir de los 60 DDE. Cruz-Flores *et al.* (2001) señala que la deficiencia de P en el suelo es un factor limitante para el crecimiento y desarrollo de las plantas, por lo cual se presume que existe una solubilización de formas fosfatadas no disponibles por parte de la cepa.

En los niveles con adición de roca fosfórica, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos con y sin la adición de la cepa en la ontogenia de las plantas de ambos cereales. Las plantas de cebada no presentaron un efecto de la adición de la cepa de *Phanerochaete* sp., con respecto al testigo, en ninguno de los cuatro niveles de fertilización fosforada, como se puede observar en la Figura 4. En cuanto al número de hojas (Figuras 3 y 4), se observó que la adición del hongo en trigo y cebada no presentó diferencias significativas, en ninguno de los niveles de fertilización fosforada, lo cual coincide con lo señalado por Olivares (2009), quien indica que factores ambientales como luz y temperatura son los que influyen en esta variable y no la disponibilidad fosforada.

3.3 Efecto de la inoculación de *Phanerochaete* sp. sobre la biomasa aérea

En trigo, se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) en el tratamiento con la adición del hongo, específicamente en el peso seco de láminas (Cuadro 1).

En el mismo cuadro, se observaron altas diferencias estadísticamente significativas en el peso obtenido de macollos, espigas y granos, en los tratamientos adicionados con la cepa, en comparación a sus respectivos controles. Sólo en tallos, la adición del hongo no causó efecto alguno, no presentando diferencias significativas con respecto al control, lo cual coincide con resultados obtenidos por De Grazia *et al.* (2003), quien señala que la fertilización fosforada no afecta el peso seco ni el diámetro de tallos.

Cuadro 1. Biomasa particionada en trigo con y sin inoculación de *Phanerochaete* sp. bajo cuatro diferentes niveles de RF.

	RF (%)	Láminas (g)	Macollos (g)	Tallos (g)	Espigas (g)	Granos (g)
Control	0	0,56±0,07 c	0,06±0,05 cB	0,92±0,07 c	n.d	n.d
	10	0,30±0,05 c	0,09±0,04 cB	0,84±0,05 c	0,37±0,06 cB	n.d
	50	1,05±0,06 b	0,11±0,04 bAB	1,89±0,05 b	0,39±0,02 bAB	0,49±0,04 b
	100	1,74±0,06 a	0,08±0,05 aAB	2,73±0,11 a	0,55±0,09 aA	1,85±0,02 a
Hongo	0	0,54±0,11 c*	0,05±0,05 cB*	0,92±0,06 c	0,40±0,03 cB*	0,31±0,02 c*
	10	0,58±0,09 c*	0,08±0,04 cB*	1,13±0,10 c	0,37±0,02 cAB*	0,36±0,08 c*
	50	1,12±0,05 b*	0,10±0,03 bA*	1,78±0,08 b	0,39±0,02 bAB*	0,80±0,06 b*
	100	1,84±0,03 a*	0,10±0,05 aA*	2,88±0,16 a	0,47±0,06 aA*	1,98±0,12 a*
ANOVA						
Nivel RF		**	**	**	**	**
Hongo v/s Control		*	**	n.s.	**	**
Hongo*Nivel RF		n.s.	**	n.s.	**	n.s.

Valores corresponden al promedio \pm error estándar. Letras minúsculas y mayúsculas dentro de una misma columna, indican diferencias estadísticamente significativas en nivel de RF e interacción de factores, respectivamente. Asteriscos indican diferencias significativas entre tratamientos con y sin hongo (prueba de Tukey con $p \leq 0,05$); (n.d.) sin información y (n.s.) no significativo.

En cebada (Cuadro 2), la adición de la cepa causó un efecto positivo en la totalidad de las estructuras evaluadas, encontrándose diferencias altamente significativas ($p \leq 0,001$) en el peso de láminas, tallos, espigas y granos, en comparación al testigo respectivo. Estos resultados son coherentes con la investigación de Fontanetto (1993), quien determinó que la acumulación de materia seca en la biomasa aérea se ve disminuida por la deficiencia de P, por lo cual la cepa evaluada deja a disposición de la planta las formas fosforadas no solubles.

Cuadro 2. Biomasa particionada en cebada con y sin inoculación de *Phanerochaete* sp. bajo cuatro diferentes niveles de RF.

	RF (%)	Láminas (g)	Tallos (g)	Espigas (g)	Granos (g)
Control	0	0,40±0,01cB	0,31±0,01 cB	0,13±0,07 cB	n.d
	10	0,37±0,01 cB	0,33±0,00 cB	0,05±0,05 cB	0,08±0,07 cB
	50	1,03±0,02 bAB	1,13±0,01 bAB	0,01±0,01 bAB	0,73±0,04 bAB
	100	1,33±0,01 aAB	1,95±0,01 aAB	0,07±0,04 aA	1,34±0,03 aAB
Hongo	0	0,66±0,01 cB*	0,78±0,01 cB*	0,14±0,03 cB*	0,26±0,04 cB*
	10	0,45±0,01 cB*	0,42±0,01 cB*	0,09±0,06 cB*	0,36±0,01 cB*
	50	1,11±0,01 bAB*	1,34±0,01 bAB*	0,03±0,02 bAB*	0,94±0,01 bAB*
	100	1,82±0,02 aA*	3,14±0,01 aA*	0,04±0,04 aA*	2,18±0,02 aA*
ANOVA					
Nivel RF		**	**	**	**
Hongo v/s Control		**	**	**	**
Hongo*Nivel RF		**	**	**	**

Valores corresponden al promedio \pm error estándar. Letras minúsculas y mayúsculas dentro de una misma columna, indican diferencias estadísticamente significativas en nivel de RF e interacción de factores, respectivamente. Asteriscos indican diferencias significativas entre tratamientos con y sin hongo (prueba de Tukey con $p \leq 0,05$); (n.d.) sin información.

En comparación a otros microorganismos solubilizadores de P, específicamente bacterias del género *Serratia* sp., aisladas desde el mismo suelo que la cepa evaluada, ésta posee un mayor impacto sobre la biomasa aérea de las plantas tratadas, puesto que según los resultados obtenidos por Ceballo (2012), *Serratia* sp. no presentó diferencias estadísticamente significativas. Esto último es explicado por Borie *et al.* (1983), quien señala que los hongos poseen mayor habilidad que las bacterias para solubilizar fosfatos.

3.4 Efecto de la inoculación de *Phanerochaete* sp. sobre la concentración de P

Luego de las evaluaciones realizadas a la concentración de P en tejidos, se observó que tanto en láminas como tallos de trigo no hubo diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las fuentes de variación analizadas (Figura 5).

Con respecto a los granos (Figura 5), en estos sí se observó un efecto positivo de la cepa, ya que en los tratamientos con 0 y 10% de la dosis fosforada recomendada, hubo presencia de granos y no así en los tratamientos control. Esto coincide con lo señalado por Faggioli *et al.* (2008), quienes demostraron que las plantas micorrizadas absorben y acumulan más P que las plantas sin micorrizas, especialmente si crecen en suelos con baja disponibilidad del nutriente, por lo que se destaca el tratamiento sin RF y adicionado con la cepa, que presentó un valor promedio de 1.642 ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS), lo cual coincide con resultados obtenidos por otros investigadores antes mencionados, quienes señalan que en ausencia de fertilización el porcentaje de sobrevivencia de hongos solubilizadores es mayor.

En los tratamientos con la dosis fosforada completa y la mitad de ésta no se observaron diferencias significativas, pero cabe destacar que los valores obtenidos en los tratamientos adicionados con la cepa fueron mayores con respecto al testigo. Esto se debe a que altas dosis de fertilizantes ocasionan una menor sobrevivencia del hongo en las raíces. En cambio, dosis medias no afectan significativamente la supervivencia de las cepas fúngicas (Faggioli *et al.*, 2008).

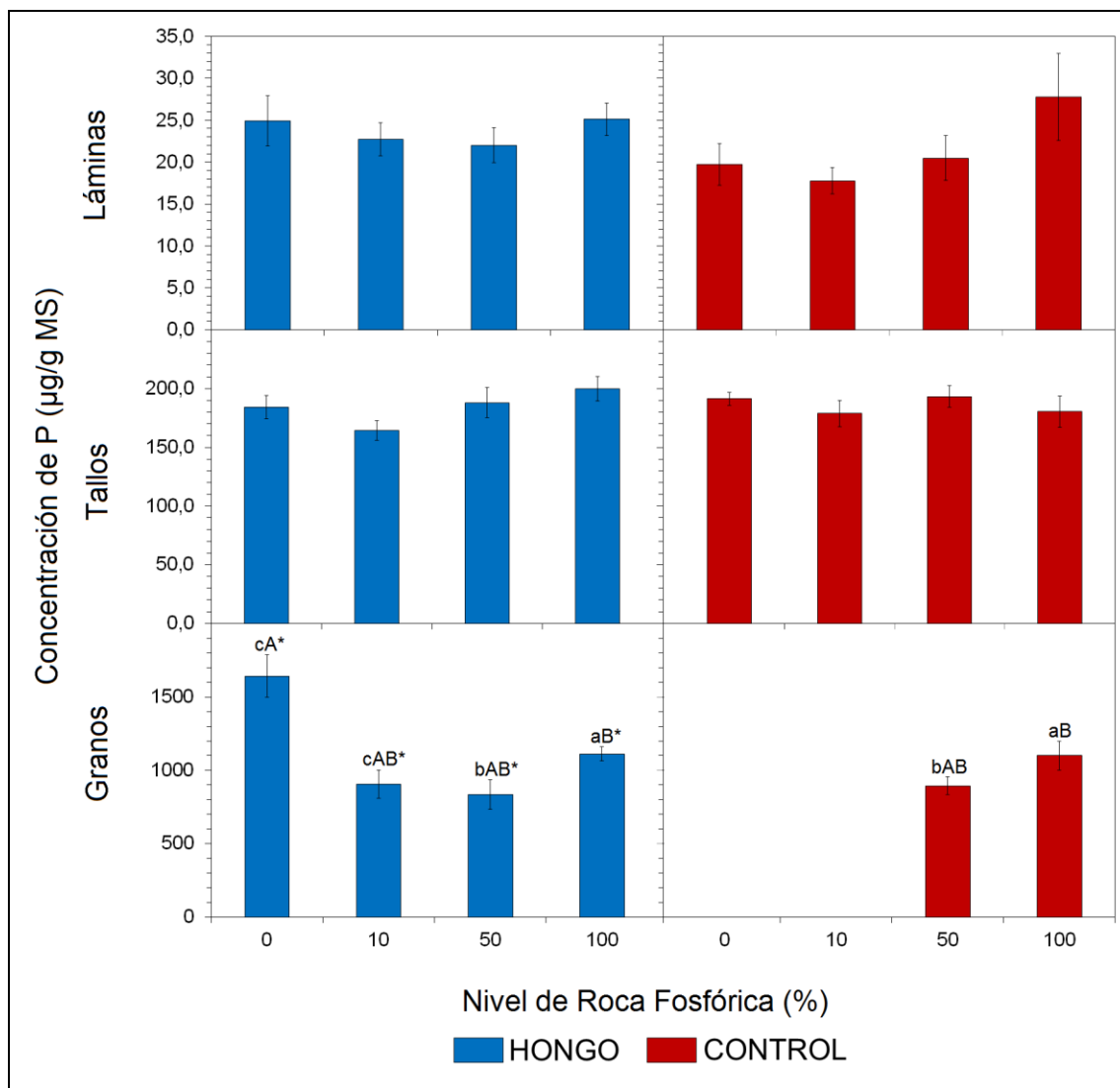


Figura 5. Concentración de P en tejidos de trigo, con y sin la adición de *Phanerochaete* sp. bajo cuatro condiciones de fertilización con RF. Letras minúsculas y mayúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas en nivel de RF e interacción de los factores, respectivamente. Asteriscos indican diferencias significativas entre tratamientos con y sin hongo, posicionados sobre tratamiento con mayor valor.

En plantas de cebada, la adición de la cepa del hongo no mostró diferencias estadísticamente significativas en la concentración de P de láminas (Figura 6).

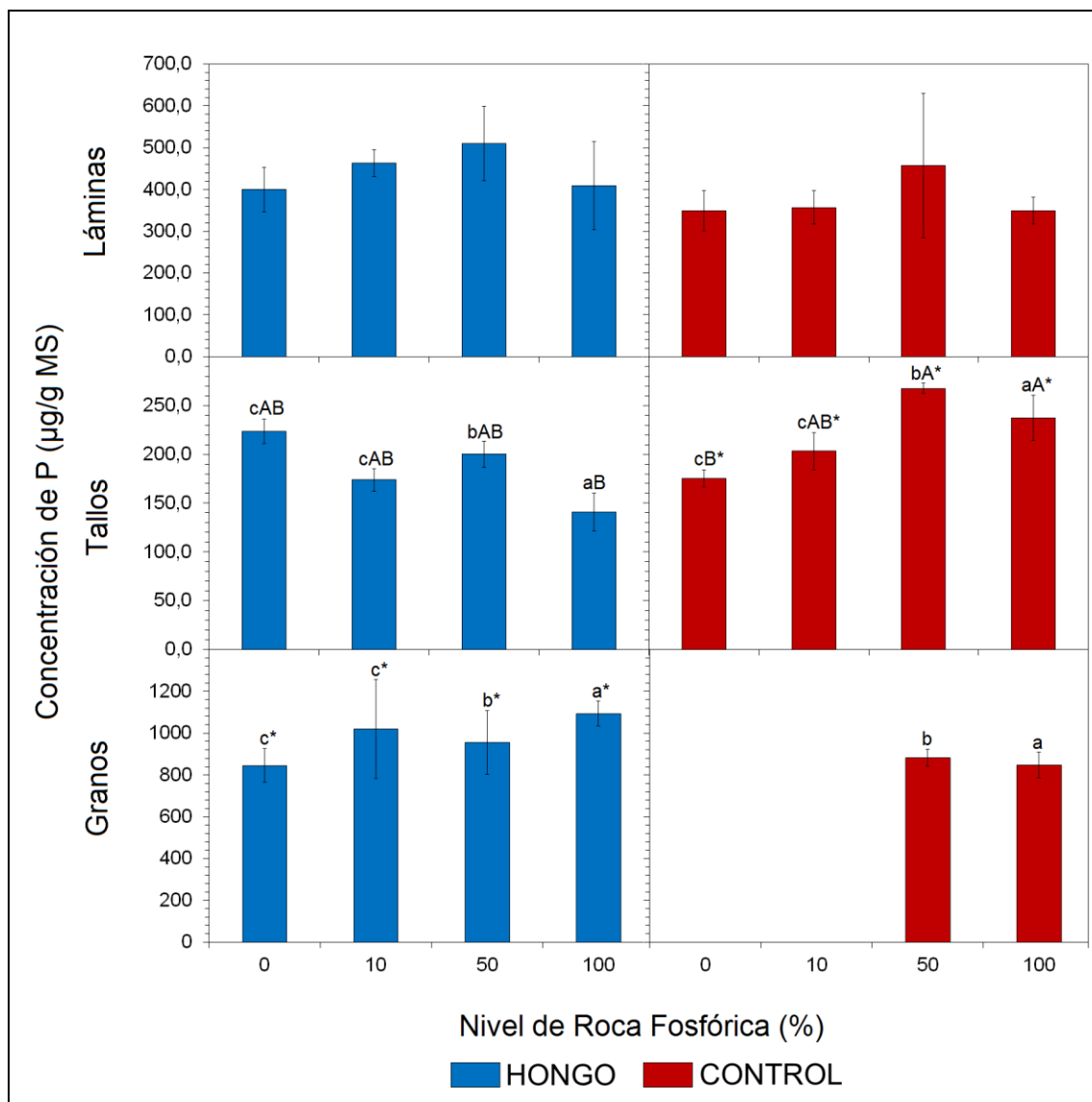


Figura 6. Concentración de P en tejidos de cebada, con y sin la adición de *Phanerochaete* sp. bajo cuatro condiciones de fertilización con RF. Letras minúsculas y mayúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas en nivel de RF e interacción de los factores, respectivamente. Asteriscos indican diferencias significativas entre tratamientos con y sin hongo, posicionados sobre tratamiento con mayor valor.

Con respecto a la concentración de P en tallos, se puede apreciar que sólo existió un efecto positivo de la cepa en el tratamiento sin adición con roca fosfórica. En el tratamiento con un 10% de la dosis fosforada recomendada, no se observaron diferencias estadísticamente significativas. En tanto, en los tratamientos con una dosis

fosforada completa y con un 50% de ésta, la cepa tuvo un efecto negativo, puesto que la concentración de P promedio se vio superada por los respectivos controles.

En los granos de cebada, no se observaron diferencias significativas con respecto a la concentración de P en la interacción de la cepa y el nivel de roca fosfórica. Las diferencias significativas observadas corresponden sólo al nivel de roca fosfórica, destacando que los valores de P en los tratamientos adicionados con la cepa, presentan valores mayores respecto del tratamiento testigo, teniendo en cuenta las observaciones realizadas por Lacasta *et al.* (2006), quienes señalan que el P en la cebada, se encuentra principalmente en los granos. Se puede asumir un efecto positivo de la cepa de *Phanerochaete* sp., ya que en los tratamientos sin fertilización fosforada y con un 10% de la dosis recomendada, no se presentó formación de granos.

La utilización de este hongo en asociación a la roca fosfórica, como alternativa a los fertilizantes fosforados tradicionales, tales como el superfosfato triple, significaría una ventaja importante en la agricultura actual. La consideración de evaluar el costo económico versus los beneficios que proporcionaría esta cepa a la agricultura, será de total relevancia en una futura investigación.

4 CONCLUSIONES

-La cepa de *Phanerochaete* sp. demostró, bajo condiciones *in vitro*, solubilizar tanto roca fosfórica como otras fuentes fosforadas, entre ellas fosfato de hierro, ácido fítico, fosfato de aluminio y fosfato de calcio inmediatamente después de la inoculación en estos sustratos, con resultados mayores al de otros hongos como *Rhizoctonia solani* y *Gaumannomyces graminis*.

-Entre los distintos efectos observados tras la inoculación con la cepa del hongo *Phanerochaete* sp., se encontró que en la condición de nula y baja fertilización con roca fosfórica (0 y 10%) se formaron granos, mientras los tratamientos sin la adición del hongo no los presentaron.

-Bajo las condiciones en que se realizó este estudio, se concluye que no se rechaza la hipótesis planteada, teniendo que la cepa de *Phanerochaete* sp. solubilizó formas de P no disponible para las plantas, promoviendo el crecimiento vegetal, lo que se fundamenta en las diferencias altamente significativas observadas en todos los componentes de la biomasa particionada, es decir, en láminas, tallos, macollos, espigas y granos. Así mismo, se observaron valores estadísticamente significativos alcanzados para la altura en trigo y cebada, en todas las diferentes condiciones de fertilización con roca fosfórica.

5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFIF, E.; PALENCIA, P.; OLIVEIRA, A. 2013. Applying phosphorus sources to soils during different cuts of cultivated grass. *Agrociencia*. 47: 553-566
- ALEXANDER, M. 1961. Introduction to soil microbiology. Nueva York, Estados Unidos. Ed. Wiley. 472 p.
- ASTUDILLO, F. 2007. Evaluación de estrobilurina aplicada a la semilla y al follaje en el control de enfermedades foliares en cebada y sus efectos en el rendimiento y calidad maltera del grano. Tesis Lic. Agr. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile. 128 p.
- BLANCO, P.; GALEANO, D.; QUIROGA, I.; HERRERA, L. 2006. Degradación de hidrocarburos aromáticos por basidiomicetes (*Phanerochaete chrysosporium*). Tesis Microbiólogo ambiental, Pontificia Universidad Javeriana. Bogota D.C, Colombia. 189 p.
- BORIE, F.; QUINTEROS, J.; AGUILERA, M. 1983. Bioquímica de suelos derivados de cenizas volcánicas: solubilización de fosfatos por hongos del suelo. *Agricultura técnica*. 43 (4): 371-376
- CEBALLO, C. 2012. Efecto de la inoculación de bacterias solubilizadoras de fósforo a través de bioencapsulados en trigo (*Triticum aestivum* L.). Tesis Lic. Agr. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile. 68 p.
- CRUZ-FLORES, G.; TIRADO, J.; ALCÁNTAR, G.; SANTIZO, J. 2001. Eficiencia de uso de fósforo en triticale y trigo en dos suelos con diferente capacidad de fijación de fósforo. *Terra*. 19: 47-54
- CUERVO, J. 2010. Aislamiento y caracterización de *Bacillus* sp. como fijadores biológicos de nitrógeno y solubilizadores de fosfatos en dos muestras de biofertilizantes comerciales. Tesis Lic. Microbiología Agrícola y Veterinaria. Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá D.C. 35 p.
- DANTY, J. 2012. Mercado del trigo en Chile. Producción y comercialización en la temporada 2011/12. Documento ODEPA, Ministerio de Agricultura, Chile. 9 p.
- DE GRAZIA, J.; TITTONELL, P.; GERMINARA, D.; DIESA, A. 2003. Fertilización fosforada y nitrogenada en el cultivo de maíz dulce (*Zea Mays* L. var. *Saccharata* Bailey). Universidad Nacional de Lomas de Zamora. Buenos Aires, Argentina. 10 p.
- FAGGLIOLI, V.; FREYTES, G.; GALARZA, C. 2008. Las micorrizas en trigo y su relación con la absorción de fósforo del suelo. Universidad Nacional de Villa María. Córdoba, Argentina. 10 p.

- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación) 2001. Descripción de las fases de desarrollo del cultivo. ¿En qué fases se determina el rendimiento? En: Rawson, H.; Gómez, H. Trigo regado. Roma, Italia. 106 p.
- FASSBENDER, H.; BORNEMISZA, E. 1987. Química de suelos. Con énfasis en suelos en América Latina. IICA, San José, Costa Rica. 398 p.
- FIA (Fundación para la Innovación Agraria). 2012. Perspectivas de cosecha y situación alimentaria. Boletín FIA N°1. pp. 4-8
- FONTANETTO, H. 1993. Efecto del método de aplicación del fertilizante fosfórico en maíz a dos niveles de disponibilidad hídrica. Tesis de Magíster. Universidad Nacional de Mar del Plata. Buenos Aires, Argentina. 138 p.
- FUNDACIÓN CHILE. 2011. Cropcheck Chile: Manual de recomendaciones cultivo de trigo. Santiago de Chile, Chile. 47 p.
- GONZÁLEZ, G. 2009. Promotores de crecimiento y terápicas de semillas. (Disponible en: <http://www.rizobacter.com.ar/promotores-de-crecimiento-y-terapicos-de-semillas.html>, 24/01/2013).
- HAUN, J. 1973. Visual quantification of wheat development. *Agronomy journal* 65: 116-119
- HERNÁNDEZ-LEAL, T.; CARRIÓN, G.; HEREDIA, G. 2011. Solubilización *in vitro* de fosfatos por una cepa de *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson. *Agrociencia*. 45: 881 – 892.
- HOU, X.; JONES, B. 2000. Inductively Coupled Plasma/Optical Emission Spectrometry. En: *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. Ed. R. A. Meyers. pp. 9468-9485
- JONES, D.; SMITH, L.; WILSON, J.; GOODMAN, A. 1991. Phosphate solubilizing fungi in a Scottish upland soil. *Mycology research*. 95: 1090-1093
- LACASTA, C.; MECO, R.; BENÍTEZ, M. 2006. El fósforo en los agrosistemas de cereales. VII Congreso SEAE. Zaragoza, España. 131: 1-10
- LOPERA, M.; PEÑUELA, G.; DOMÍNGUEZ, M.; MEJÍA, G. 2005. Evaluación de la degradación del plaguicida clorpirifos en muestras de suelo utilizando el hongo *Phanerochaete chrysosporium*. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquía*. Medellín, Colombia. pp. 58-69
- MADDONI, G.; RUIZ, R.; VILARIÑO, P.; GRACÍA, I. 2003. Producción de granos. Bases funcionales para su manejo. Editorial facultad de agronomía. 17: 469 – 474 p.
- MELLADO, M. 2007. El trigo en Chile. Colección de libros Instituto de Investigaciones Agropecuarias N°21, Centro Regional de Investigación Quilamapu, Chillán, Chile. 684 p.
- OLIVARES, A. 2009. La morfofisiología de especies forrajeras como base del manejo de pastizales. Universidad de Chile. Santiago, Chile. 13 p.

- OLVERA, A.; PACHECO, J. 2005. Fertilidad de suelo y poblaciones microbianas solubilizadoras de fósforo. Laboratorio de Plantas y Biotecnología Agrícola. Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro. 4 p.
- OPAZO, J. 1992. Fertilidad de suelos: suelos, una visión actualizada del recurso. Universidad de Chile. Santiago, Chile. pp. 166-169
- PÉREZ, C.; HUIDOBRO, J.; CONFORTO, C.; ARZENO, J.; MARCH, G.; MERILES, J.; VARGAS, S. 2009. Efecto de la rotación de cultivos sobre la diversidad de las comunidades microbianas del suelo cuantificada mediante PCR-TRFLP. Documento INTA EEA Salta, Argentina. 4 p.
- PINILLA, H. 1994. Uso de roca fosfórica parcialmente acidulada en suelos de la zona sur. Frontera Agrícola, Chile. 2 (1): 51-60
- PINOCHET, D. 2005. Planilla para el cálculo de la Fertilización de los Cultivos. Disponible en Simposio de fertilidad, nutrición, producción y ambiente. INFOPOS. Rosario, Argentina. pp. 35-39
- SCHALSCHA, E.; NIETO, C.; BINGHAM, A. 1972. Algunas características de fijación de fosfatos en suelos alofánicos de Chile. Agricultura Técnica, Chile. 33 (2): 81-86
- SCHWANER, SCH. 2006. Solubilización de roca fosfórica Carolina del Norte por cepas de *Aspergillus niger* Van Tieghem y su evaluación en plántulas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) en invernadero. Tesis Lic. Agr. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile. 93 p.
- SEPÚLVEDA, G.; BEOAIN, E.; MOLINA, R. 1997. Rocas fosfóricas chilenas. Eficiencia agronómica y su uso como fertilizantes fosfatados en suelos volcánicos. Agricultura Técnica (Chile). 57: 225-241
- SIERRA, C.. 1990. Rocas fosfóricas. Nueva fuente de fósforo para praderas y cultivos. Boletín técnico INIA N° 159. Remehue, Chile. 9 p.
- SUNDARA, R.; SINHA, M. 1963. Organisms phosphate solubilizers in soil. Indian Journal Agricultural Science. 33: 272-278
- VASSILEV, N.; MEDINA, A.; AZCÓN, R.; VASSILEVA, M. 2006. Microbial solubilization of rock phosphate on media containing agro-industrial wastes and effect of the resulting products on plant growth and P uptake. Plant and Soil. 287 (1): 77-84
- VERA, D.; PÉREZ, H.; VALENCIA, H. 2002. Aislamiento de hongos solubilizadores de fosfatos de la rizósfera de arazá (*Eugenia stipitata*, Myrtaceae). Acta biológica colombiana. 7 (1): 33-40
- WHITELAW, M. 1999. Growth promoting of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi. Advanced in agronomy. 69: 99-151

ANEXOS

ANEXO 1 Composición del medio agar papa dextrosa

Componente	Cantidad
APD Merck	39,0 g
Agua	1.000 mL

ANEXO 2 Composición del medio agar Pikovskaya (PVK)

Componente	Cantidad
Glucosa	10,0 g
$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	5,0 g
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,5 g
NaCl	0,2 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,1 g
KCl	0,2 g
Extracto de levadura	0,5 g
$\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,002 g
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,002 g
Agar agar	15,0 g
Agua	1.000 mL

Se mezcla bien y se esteriliza a 121°C a 15 PSI por 15 minutos.

ANEXO 3 Fases del desarrollo según escala decimal Zadoks

Etapa principal	Descripción	Sub-fase
0	Germinación	0,0 - 0,9
1	Producción de hojas	1,0 - 1,9
2	Producción de macollos	2,0 - 2,9
3	Producción de nudos	3,0 - 3,9
4	Vaina engrosada	4,0 - 4,9
5	Espigado	5,0 - 5,9
6	Antesis	6,0 - 6,9
7	Grano lechoso	7,0 - 7,9
8	Grano pastoso	8,0 - 8,9
9	Madurez	9,0 - 9,9

Fuente: FAO (2001).

ANEXO 4 Análisis de suelo utilizado como sustrato en experimentos

pH en agua (1:2,5)	5,4
pH CaCl ₂ 0,01 M (1:2,5)	4,8
MO (%)	13,7
N-Mineral (N-NO ₃ +NH ₄) (mg kg ⁻¹)	11,2
P-Olsen (mg kg ⁻¹)	4,8
K-intercambiable (mg kg ⁻¹)	90
Na-intercambiable (cmol ₊ kg ⁻¹)	0,18
Ca-intercambiable (cmol ₊ kg ⁻¹)	2,35
Mg-intercambiable (cmol ₊ kg ⁻¹)	0,89
Suma de Bases (cmol ₊ kg ⁻¹)	3,65
Al (cmol ₊ kg ⁻¹)	0,66
CICE (cmol ₊ kg ⁻¹)	4,31
Saturación de Al (%)	15,3

Fuente: Laboratorio de Suelos, Instituto de Ingeniería Agraria y Suelos (Universidad Austral de Chile).

ANEXO 5 Biomasa particionada en trigo bajo cuatro condiciones de fertilización con RF, con y sin la adición del hongo

RF(%)	Tratamientos	Láminas (g)	Macollos (g)	Tallos (g)	Espigas (g)	Granos (g)
0	Con cepa	0,43	0,00	0,89	0,29	0,29
		0,36	0,00	1,15	0,25	0,25
		0,65	0,00	0,88	0,38	0,38
		0,91	0,00	0,92	0,32	0,32
		0,33	0,24	0,75	0,33	0,33
0	Sin cepa	0,53	0,07	1,02	0,00	0,00
		0,68	0,08	0,95	0,00	0,00
		0,45	0,05	1,10	0,00	0,00
		0,41	0,07	0,81	0,00	0,00
		0,75	0,28	0,73	0,00	0,00
10	Con cepa	0,83	0,00	1,34	0,32	0,32
		0,74	0,00	0,94	0,13	0,13
		0,43	0,28	1,28	0,28	0,28
		0,46	0,00	1,26	0,44	0,44
		0,42	0,00	0,82	0,62	0,62
10	Sin cepa	0,25	0,36	0,75	0,01	0,01
		0,23	0,00	0,83	0,00	0,00
		0,19	0,00	0,96	0,00	0,00
		0,42	0,00	0,72	0,00	0,00
		0,40	0,00	0,94	0,00	0,00

		1,09	0,26	1,79	0,81	0,81
		0,95	0,34	1,89	0,73	0,73
50	Con cepa	1,26	0,41	1,56	0,63	0,63
		1,16	0,34	1,66	1,01	1,01
		1,14	0,34	1,99	0,82	0,82
		1,26	0,40	1,86	0,43	0,43
		0,98	0,00	1,95	0,55	0,55
50	Sin cepa	1,11	0,00	1,71	0,45	0,45
		1,03	0,00	2,03	0,62	0,62
		0,88	0,00	1,88	0,38	0,38
		1,82	0,42	2,42	2,1	2,10
		1,84	0,36	3,01	1,98	1,98
100	Con cepa	1,93	0,31	3,31	1,89	1,89
		1,77	0,36	3,06	2,33	2,33
		1,85	0,36	2,62	1,6	1,60
		1,55	0,43	2,72	1,79	1,79
		1,91	0,00	2,34	1,82	1,82
100	Sin cepa	1,68	0,00	2,85	1,93	1,93
		1,76	0,00	2,99	1,85	1,85
		1,82	0,00	2,74	1,87	1,87

ANEXO 6 Altura (cm) en trigo por cada fecha de medición, bajo cuatro condiciones de RF (%), con y sin la adición de *Phanerochaete* sp.

DDE	HONGO				CONTROL			
	0%	10%	50%	100%	0%	10%	50%	100%
15	11,9±0,3	11,7±0,4	17,0±1,9	21,6±1,5	10,4±0,9	11,4±0,5	13,0±0,6	20,7±1,2
30	12,9±0,4	13,0±0,6	19,6±1,6	29,3±2,1	11,4±0,6	12,3±0,4	16,8±2,1	24,9±1,4
34	16,2±2,1	15,6±1,4	23,9±2,0	31,3±1,5	11,9±0,5	12,8±0,3	19,1±2,0	28,0±0,7
39	18,3±3,1	19,2±2,9	26,7±2,6	35,6±0,7	12,8±0,5	13,3±0,3	22,5±2,3	31,1±1,0
46	25,2±1,9	26,4±2,2	32,7±1,5	37,6±0,9	14,0±0,5	14,9±1,1	27,5±2,5	33,4±0,4
54	26,3±2,0	28,3±1,9	33,8±1,4	38,7±0,9	14,4±2,9	16,7±0,7	28,1±2,2	34,2±0,4
60	27,5±2,2	30,4±2,4	35,2±1,6	39,8±1,1	16,3±0,7	18,7±0,5	28,9±2,1	35,4±0,7
67	27,8±2,2	30,5±2,5	35,9±1,7	40,1±1,1	17,2±0,7	18,9±0,5	29,7±2,0	35,8±0,6
77	28,3±2,2	31,4±2,4	36,4±1,9	40,4±1,0	18,7±1,0	19,1±0,4	29,2±3,2	36,4±0,5
86	28,7±2,2	31,8±2,5	37,9±2,9	40,8±1,0	19,9±1,3	19,2±0,4	32,4±2,2	37,1±0,5

Valores expresados como media aritmética ± error estándar del total de repeticiones.

ANEXO 7 Ontogenia (escala Zadoks) en trigo por cada fecha de medición, bajo cuatro condiciones de RF, con y sin la adición de *Phanerochaete* sp.

DDE	HONGO				CONTROL			
	0%	10%	50%	100%	0%	10%	50%	100%
15	1,3±0,2	1,3±0,0	1,3±0,0	1,5±0,2	1,4±0,2	1,2±0,7	1,3±0,0	1,4±0,0
30	1,5±0,2	1,5±0,0	2,5±0,4	2,8±0,3	1,6±0,1	1,5±0,8	1,5±0,0	3,1±0,0
34	1,8±0,8	1,9±0,2	2,8±0,2	3,8±0,1	1,6±0,2	1,6±0,8	1,6±0,1	3,6±0,1
39	2,3±1,1	2,5±0,4	3,4±0,2	4,4±0,0	1,8±0,3	1,9±0,8	2,2±0,4	3,8±0,2
46	4,0±1,2	4,3±0,4	5,3±0,1	5,8±0,1	1,9±0,3	2,3±0,8	3,7±0,3	5,6±0,2
54	4,8±2,3	5,2±0,2	5,6±0,1	6,0±0,0	3,3±0,1	3,7±0,8	4,4±0,4	5,8±0,1
60	6,0±0,0	5,8±0,2	6,0±0,0	6,0±0,0	3,9±0,2	4,6±0,8	6,0±0,0	6,0±0,0
67	6,2±0,2	5,9±0,1	6,2±0,1	6,0±0,0	4,3±0,2	4,8±0,9	6,1±0,0	6,0±0,0
77	6,3±0,2	6,0±0,1	6,3±0,0	6,4±0,0	4,6±0,2	4,9±0,9	6,3±0,1	6,2±0,0
86	6,4±0,2	6,3±0,1	6,5±0,0	6,5±0,0	4,9±0,2	5,1±1,0	6,4±0,0	6,4±0,0

Valores expresados como media aritmética ± error estándar del total de repeticiones.

ANEXO 8 Número de hojas (escala Haun) en trigo por cada fecha de medición, bajo cuatro condiciones de RF, con y sin la adición de *Phanerochaete* sp.

DDE	HONGO				CONTROL			
	0%	10%	50%	100%	0%	10%	50%	100%
15	2,9±0,1	3,2±0,1	3,3±0,1	4,2±0,2	3,0±0,1	2,9±0,2	3,0±0,1	4,1±0,3
30	5,1±0,2	5,5±0,3	5,9±0,1	5,9±0,2	5,2±0,2	4,8±0,3	5,3±0,3	5,9±0,2
34	5,8±0,1	5,9±0,2	6,3±0,7	6,3±0,1	5,5±0,2	5,4±0,1	5,7±0,2	6,2±0,2
39	6,5±0,2	6,6±0,2	6,8±0,1	7,0±0,0	5,9±0,3	6,1±0,1	6,3±0,1	7,0±0,0
46	6,8±0,2	7,0±0,0	7,0±0,0	7,0±0,0	6,8±0,1	6,9±0,1	7,0±0,0	7,0±0,0
54	7,0±0,0	7,0±0,0	7,0±0,0	7,0±0,0	7,0±0,0	7,0±0,0	7,0±0,0	7,0±0,0
60	7,0±0,0	7,0±0,0	7,0±0,0	7,0±0,0	6,8±0,2	7,0±0,0	7,0±0,0	7,0±0,0
67	7,0±0,0	7,0±0,0	7,0±0,0	7,0±0,0	6,9±0,1	7,0±0,0	7,0±0,0	7,0±0,0
77	7,0±0,0	7,0±0,0	7,0±0,0	7,0±0,0	7,0±0,0	7,0±0,0	7,0±0,0	7,0±0,0
86	7,0±0,0	7,0±0,0	7,0±0,0	7,0±0,0	7,0±0,0	7,0±0,0	7,0±0,0	7,0±0,0

Valores expresados como media aritmética ± error estándar del total de repeticiones.

ANEXO 9 **Altura (cm) en cebada por cada fecha de medición, bajo cuatro condiciones de RF (%), con y sin la adición de *Phanerochaete* sp.**

DDE	HONGO				CONTROL			
	0%	10%	50%	100%	0%	10%	50%	100%
15	7,3±0,5	6,6±0,4	8,9±0,7	10,2±0,6	8,76±0,3	7,58±0,4	8,78±0,8	9,52±0,6
20	8,7±0,5	8,2±0,4	10,8±0,4	18,4±1,2	9,60±0,4	8,96±0,7	10,90±0,3	15,10±1,4
24	11,5±0,9	9,2±0,7	12,6±0,7	23,2±1,2	10,16±0,5	10,16±0,4	12,42±0,7	17,18±1,6
31	13,3±0,9	11,5±2,5	16,5±2,1	28,3±1,0	11,30±0,5	10,54±0,4	15,24±1,2	21,88±2,4
39	15,2±1,4	12,7±1,4	19,0±2,3	32,7±1,1	11,72±0,5	10,80±0,4	17,34±1,8	27,14±3,5
44	24,6±2,7	17,3±2,1	36,2±3,4	49,3±1,2	15,32±1,7	14,96±1,6	24,82±1,6	35,82±3,6
54	28,2±3,4	20,5±3,8	38,9±2,8	50,7±1,9	16,36±1,8	15,90±1,9	26,76±2,3	38,54±3,2
60	31,9±4,6	23,7±5,5	42,7±2,5	51,8±2,4	17,86±1,8	16,74±2,1	32,04±2,5	41,36±2,9
67	33,1±4,7	24,9±5,4	46,9±2,0	53,4±2,5	18,60±1,6	17,88±2,2	33,36±2,4	43,04±2,9
77	34,7±4,6	30,1±7,6	49,1±2,2	55,9±2,5	19,54±1,4	18,98±2,2	34,70±2,3	44,94±2,9
86	36,7±4,8	30,5±5,3	52,4±2,4	58,6±2,9	20,20±1,4	20,66±2,1	36,56±2,4	46,24±2,9

Valores expresados como media aritmética ± error estándar del total de repeticiones.

ANEXO 10 Ontogenia (escala Zadoks) en cebada por cada fecha de medición, bajo cuatro condiciones de RF, con y sin la adición de *Phanerochaete* sp.

DDE	HONGO				CONTROL			
	0%	10%	50%	100%	0%	10%	50%	100%
15	1,2±0,0	1,2±0,0	1,2±0,0	1,4±0,0	1,2±0,0	1,2±0,0	1,2±0,0	1,2±0,0
20	1,3±0,0	1,2±0,0	1,3±0,0	1,7±0,0	1,3±0,0	1,3±0,0	1,3±0,0	1,6±0,2
24	1,4±0,0	1,3±0,0	1,4±0,0	1,9±0,0	1,3±0,0	1,4±0,0	1,4±0,0	1,6±0,2
31	1,5±0,0	1,5±0,1	1,7±0,1	2,7±0,1	1,4±0,0	1,4±0,0	1,5±0,1	1,7±0,1
39	1,5±0,0	1,5±0,2	2,3±0,4	3,2±0,4	1,5±0,0	1,5±0,0	2,5±0,4	2,9±0,3
44	3,4±0,2	2,8±0,6	4,5±0,2	5,3±0,2	2,0±0,3	2,3±0,5	3,6±0,2	4,4±0,3
54	3,6±0,2	3,1±0,6	4,8±0,2	5,5±0,2	3,3±0,1	2,5±0,5	3,9±0,3	4,6±0,3
60	4,0±0,2	3,6±0,6	4,9±0,1	5,7±0,1	3,6±0,2	3,2±0,5	4,3±0,2	5,1±0,2
67	4,5±0,3	3,9±0,6	5,3±0,1	6,0±0,1	4,2±0,1	3,5±0,5	4,6±0,2	5,3±0,1
77	4,7±0,2	4,3±0,4	5,6±0,1	6,2±0,1	4,5±0,1	4,0±0,3	4,9±0,2	5,6±0,1
86	5,0±0,2	4,6±0,4	5,9±0,1	6,4±0,1	4,8±0,1	4,3±0,2	5,2±0,2	5,7±0,1

Valores expresados como media aritmética ± error estándar del total de repeticiones.

ANEXO 11 Número de hojas (escala Haun) en cebada por cada fecha de medición, bajo cuatro condiciones de RF, con y sin la adición de *Phanerochaete* sp.

DDE	HONGO				CONTROL			
	0%	10%	50%	100%	0%	10%	50%	100%
15	1,9±0,1	2,0±0,2	2,0±0,1	2,5±0,2	2,1±0,1	2,1±0,1	2,3±0,1	2,2±0,2
20	2,9±0,2	2,8±0,1	3,6±0,1	4,7±0,1	3,0±0,2	3,2±0,2	3,5±0,2	4,4±0,2
24	4,0±0,3	3,8±0,3	4,3±0,1	5,4±0,1	3,4±0,2	4,1±0,1	4,1±0,2	5,0±0,1
31	5,0±0,2	4,3±0,3	5,2±0,1	6,2±0,2	4,3±0,3	4,7±0,2	5,2±0,2	5,5±0,2
39	5,5±0,2	4,7±0,3	6,2±0,3	6,8±0,3	5,7±0,2	5,5±0,3	6,2±0,3	6,2±0,3
44	8,0±0,3	6,9±0,6	9,0±0,0	9,0±0,0	7,2±0,3	6,8±0,7	7,9±0,3	9,0±0,0
54	8,6±0,1	7,3±0,7	9,0±0,0	9,0±0,0	8,0±0,3	7,3±0,7	8,4±0,2	9,0±0,0
60	8,9±0,1	7,7±0,6	9,0±0,0	9,0±0,0	8,5±0,3	7,6±0,8	9,0±0,0	9,0±0,0
67	9,0±0,0	8,1±0,5	9,0±0,0	9,0±0,0	8,8±0,2	8,0±0,6	9,0±0,0	9,0±0,0
77	9,0±0,0	8,7±0,2	9,0±0,0	9,0±0,0	8,9±0,1	8,7±0,2	9,0±0,0	9,0±0,0
86	9,0±0,0	8,9±0,1	9,0±0,0	9,0±0,0	9,0±0,0	8,9±0,1	9,0±0,0	9,0±0,0

Valores expresados como media aritmética ± error estándar del total de repeticiones.

ANEXO 12 Análisis de varianza de las evaluaciones realizadas en trigo

Peso seco láminas (g)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	P-Valor
Hongo vs. Control	0,108	1	0,108	4,680	0,038
Nivel RF	11,512	3	3,837	165,960	0,000
Cepa*Nivel RF	0,123	3	0,041	1,770	0,173
Error	0,740	32	0,023		
Total	12,483	39			
Peso seco macollos (g)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	P-Valor
Hongo vs. Control	0,114	1	0,114	6,820	0,014
Nivel RF	0,196	3	0,065	3,890	0,018
Cepa*Nivel RF	0,263	3	0,088	5,230	0,005
Error	0,537	32	0,017		
Total	1,111	39			
Peso seco tallos (g)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	P-Valor
Hongo vs. Control	0,069	1	0,069	1,620	0,212
Nivel RF	23,451	3	7,817	183,710	0,000
Cepa*Nivel RF	0,229	3	0,076	1,790	0,169
Error	1,362	32	0,043		
Total	1,111	39			

Peso seco espigas (g)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	P-Valor
Hongo vs. Control	1,146	1	1,146	30,240	0,000
Nivel RF	58,440	3	19,480	514,110	0,000
Cepa*Nivel RF	0,471	3	0,157	4,140	0,014
Error	1,213	32	0,039		
Total	61,270	39			
Peso seco granos (g)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	P-Valor
Hongo vs. Control	0,773	1	0,773	44,080	0,000
Nivel RF	20,449	3	6,816	388,750	0,000
Cepa*Nivel RF	0,078	3	0,026	1,480	0,238
Error	0,561	32	0,018		
Total	21,860	39			
Concentración de P en láminas					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	P-Valor
Hongo vs. Control	50,490	1	50,490	1,270	0,269
Nivel RF	222,126	3	74,042	1,860	0,156
Cepa*Nivel RF	101,966	3	33,989	0,850	0,475
Error	1274,340	32	39,823		
Total	1648,920	39			

Concentración de P en tallos					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	P-Valor
Hongo vs. Control	34,188	1	34,188	0,060	0,802
Nivel RF	2440,530	3	813,510	1,520	0,228
Cepa*Nivel RF	1611,350	3	537,118	1,000	0,404
Error	17132,600	32	535,394		
Total	21218,700	39			
Concentración de P en granos					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	P-Valor
Hongo vs. Control	3905730	1	3905730	110,510	0,000
Nivel RF	2181240	3	727081	20,570	0,000
Cepa*Nivel RF	4892410	3	1630800	46,140	0,000
Error	1130960	32	35342		
Total	12110300	39			

ANEXO 13 Análisis de varianza de las evaluaciones realizadas en cebada

Peso seco láminas (g)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	P-Valor
Hongo vs. Control	0,520	1	0,520	890,520	0,000
Nivel RF	8,597	3	2,866	4908,840	0,000
Cepa*Nivel RF	0,296	3	0,099	169,280	0,000
Error	0,019	32	0,001		
Total	9,432	39			
Peso seco tallos (g)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	P-Valor
Hongo vs. Control	2,396	1	2,396	7576,610	0,000
Nivel RF	29,213	3	9,738	30790,860	0,000
Cepa*Nivel RF	1,816	3	0,605	1914,020	0,000
Error	0,010	32	0,000		
Total	33,435	39			
Peso seco espigas (g)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	P-Valor
Hongo vs. Control	3,344	1	3,344	327,610	0,000
Nivel RF	29,303	3	9,768	957,000	0,000
Cepa*Nivel RF	1,187	3	0,396	38,770	0,000
Error	0,327	32	0,010		
Total	34,161	39			

Peso seco granos (g)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	P-Valor
Hongo vs. Control	1,663	1	1,663	503,390	0,000
Nivel RF	17,237	3	5,746	1739,600	0,000
Cepa*Nivel RF	0,651	3	0,217	65,710	0,000
Error	0,106	32	0,003		
Total	19,656	39			
Concentración de P en láminas					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	P-Valor
Hongo vs. Control	45081,200	1	45081,200	1,250	0,272
Nivel RF	76281,600	3	25427,200	0,710	0,556
Cepa*Nivel RF	5164,600	3	1721,530	0,050	0,986
Error	1153740,000	32	36054,400		
Total	1280270,000	39			
Concentración de P en tallos					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	P-Valor
Hongo vs. Control	13075,800	1	13075,800	11,330	0,002
Nivel RF	13672,500	3	4557,510	3,950	0,017
Cepa*Nivel RF	29477,900	3	9825,980	8,510	0,000
Error	36934,100	32	1154,190		
Total	93160,400	39			

Concentración de P en granos					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	P-Valor
Hongo vs. Control	1967560,000	1	1967560,000	14,740	0,001
Nivel RF	1852010,000	3	617336,000	4,620	0,009
Cepa*Nivel RF	908892,000	3	302964,000	2,270	0,099
Error	4272820,000	32	133526,000		
Total	9001280,000	39			