

Revisión Bibliográfica

Nuevos desafíos en la producción de inoculantes a partir de hongos micorrízicos arbusculares en Cuba

Yonaisy Mujica-Pérez^{1*}

¹Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), carretera San José-Tapaste, km 3½, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. CP 32 700

*Autor para correspondencia. ymujica@inca.edu.cu

RESUMEN

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) representan un grupo de microorganismos edáficos que establecen simbiosis con numerosas especies vegetales de interés agrícola. La producción de inoculantes micorrízicos experimentó un ascenso desde la pasada década, con el surgimiento de productos en varias formulaciones orientados a garantizar su inserción en las diversas tecnologías de cultivos. Sin embargo, las experiencias prácticas con el empleo de estas formulaciones han demostrado que no existe un portador universal y que la elección de los inoculantes depende de las características de los cultivos y las condiciones para su manejo. La experiencia cubana con el manejo de la simbiosis micorrízica, empleando formulaciones sólidas, ha aportado resultados significativos a lo largo de más de 20 años de investigaciones sostenidas y representa un modelo vigente a considerar en la implementación de nuevos estudios relacionados con la inclusión de estos simbioses en las prácticas agrícolas actuales. El siglo XXI marcó una nueva etapa en el perfeccionamiento de inoculantes a base de estos hongos con la obtención de una formulación líquida con vistas a diversificar las formas de aplicación de estos simbioses, a partir de su inclusión en los sistemas agrícolas a través del fertirriego. En la presente revisión se abordarán aspectos relacionados con las tecnologías para la reproducción de propágulos fúngicos, la obtención de inoculantes, así como las potencialidades de la inoculación de los HMA en soporte líquido.

Palabras claves: micorriza arbuscular, inoculación, diversificación, agricultura

Recibido: 16/5/2019

Aceptado: 16/12/2019

INTRODUCCIÓN

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) representan un grupo de microorganismos edáficos que establecen simbiosis con numerosas especies vegetales de interés agrícola ⁽¹⁾. Dentro de los principales beneficios de esta interacción se destacan: los efectos directos en la nutrición mineral; especialmente en la absorción de macro y micronutrientes ^(2,3), la inducción de tolerancia frente a condiciones de estrés biótico (ej. fitopatógenos) ⁽⁴⁾ y abiótico (ej. sequía y salinidad) ^(5,6), su participación en los procesos de fitorremediación ^(7,8) y su contribución a la estabilidad de los agregados del suelo ⁽⁹⁾.

La inoculación de las plantas ha sido el mecanismo más generalizado para la inclusión de estos simbiosis en los procesos agrícolas ⁽¹⁰⁾, lo cual provocó un ascenso en la producción de inoculantes micorrízicos, a partir del surgimiento de nuevas empresas y cadenas de distribuidores que orientaron sus estrategias a la obtención de productos en varias formulaciones (sólidos y líquidos) ^(11,12). Sin embargo, las experiencias prácticas con el empleo de estas formulaciones demostraron que no existe un portador universal ⁽¹⁰⁾ y algunos reportes sugieren que la elección de los inoculantes depende de las características de los cultivos y las condiciones para su manejo ⁽¹³⁾.

Las investigaciones relacionadas con el manejo de la simbiosis micorrízica en Cuba, a partir de la inoculación de formulaciones sólidas (EcoMic[®]), establecieron los criterios para su aplicación en correspondencia con el ambiente edáfico, lo cual contribuyó a establecer un sistema de recomendación de cepas eficientes por tipo de suelo ⁽¹⁴⁾ y en condiciones de suministro de nutrientes subóptimo al requerido por las plantas no micorrizadas ⁽¹⁵⁾. No obstante, el éxito alcanzado en nuestro país con la formulación sólida tradicional, se hizo necesario la obtención de un nuevo inoculante, en formulación líquida, que permitiera la aplicación de los HMA a través de los sistemas de fertirriego, como una forma de diversificar el uso de estos microorganismos a tecnologías de producción más actuales y reducir los volúmenes de producto a manipular ⁽¹⁶⁾.

El fertirriego constituye una tecnología de avanzada que optimiza el consumo de agua y nutrientes en función de las etapas fenológicas del cultivo ⁽¹⁷⁾. Actualmente, se potencia su

implementación en nuestro país, como parte de la política agroindustrial reflejada en los lineamientos del 156, 157 y 158 del Partido Comunista de Cuba ⁽¹⁸⁾.

Por tal motivo, en la presente revisión se abordarán algunos aspectos relacionados con las tecnologías para la reproducción de propágulos fúngicos implicadas en la obtención de inoculantes, así como los antecedentes relacionados con el manejo de los HMA en soporte líquido.

Los hongos micorrízicos arbusculares

Las micorrizas son asociaciones mutualistas que se establecen entre determinados hongos del suelo y las raíces de la mayoría de las plantas vasculares con variados patrones morfológicos ⁽¹⁹⁾, pero la más común es la simbiosis micorrízica arbuscular, representada en más del 74 % de las plantas terrestres, lo cual demuestra que los caracteres genéticos esenciales para su asociación son similares en una parte extensa del reino vegetal ⁽²⁰⁾. Algunas evidencias fósiles demostraron la existencia de este tipo de asociación desde hace más 450 millones de años en los tejidos de las primeras plantas terrestres ⁽²¹⁾.

A partir de los caracteres morfológicos de las esporas, se han descrito unas 244 especies de HMA ⁽²²⁾, no obstante, se estima que dicha diversidad fúngica puede oscilar de 341 a 1600 especies considerando la secuencia del ADN ribosomal ^(23,24). Recientemente se reclasificaron los hongos formadores de este tipo de micorrizas al *Phylum Mucoromycota* y a la clase *Glomeromycotina* ⁽²⁵⁾.

El carácter de simbiosis obligados de los HMA está dado porque no pueden completar su ciclo de vida en ausencia de una raíz hospedera ⁽¹⁹⁾. Dentro de los factores que explica esta condición se señala el metabolismo o la absorción de carbono en el estadio presimbótico, pues las hifas extrarradicales son incapaces de absorber carbohidratos ⁽²⁶⁾. El HMA recibe el carbono proveniente de la fotosíntesis de la planta hospedera y se promueve el crecimiento del micelio formando una extensa red de hifas en el suelo que transportan el agua y los nutrientes hacia los compartimentos internos de la planta ⁽²⁷⁾. Algunos estudios han estimado que entre el 4 y 17 % del carbono fotosintético es consumido por el hongo para su metabolismo ⁽²⁸⁾.

Dentro de los principales beneficios que esta simbiosis le confiere a las plantas hospederas se destacan el aumento en la absorción de agua y nutrientes ^(10,29), lo cual favorece el establecimiento y la supervivencia de las plantas ^(30,31); la tolerancia de las especies vegetales

frente a condiciones de estrés biótico (fitopatógenos) y abiótico (sequía y salinidad)⁽³²⁾; el incremento en la disponibilidad de nutrientes para las plantas⁽³³⁾, lo cual permite realizar un uso racional de los fertilizantes químicos⁽³⁴⁾; además de su contribución en la estabilidad de los agregados del suelo⁽³⁵⁾ y su efecto en la restauración ecológica⁽³⁴⁾.

Metodologías empleadas en la reproducción de propágulos fúngicos. Producción de inoculantes a base de HMA

El manejo de la simbiosis micorrízica vía inoculación ha sido el mecanismo más generalizado para la inclusión de los HMA en las prácticas agrícolas actuales, en correspondencia con las características de las tecnologías de los cultivos y exigencias de cada especie vegetal⁽³⁶⁻³⁸⁾.

En tal sentido, la producción de inoculantes micorrízicos experimentó un ascenso (40 %) desde la pasada década en los continentes europeo (Reino Unido, República Checa, Alemania, Suiza, España y Francia), americano (Estados Unidos, Canadá, Chile, Perú, México, Colombia, Ecuador y Guatemala) y asiático (China y Japón)⁽¹⁰⁾.

De igual manera, se destacó un aumento en el registro de patentes de inoculantes micorrízicos (15 %) y en la creación de nuevas empresas y cadenas de distribuidores⁽¹¹⁾ que identificaron sus oportunidades en sectores destinados a la producción en viveros, la horticultura y plantas ornamentales^(39,40), así como en la fitorremediación en suelos con altos contenidos de metales pesados⁽⁴¹⁾.

En otras investigaciones se indicó que la selección y reproducción de especies de HMA constituye una etapa decisiva en proceso de formulación de los inoculantes⁽⁴¹⁾ y destacaron la participación directa de las colecciones internacionales [INVAM (<http://invam.wvu.edu>), IBG (<http://www.kent.ac.uk/bio/beg>) o GINCO (<http://www.mycorrhiza.be/ginco-bel/>)] en el aislamiento, caracterización y multiplicación de cepas, basados en criterios relacionados con su funcionamiento (capacidad de colonización y la tasa de germinación de las esporas)⁽²²⁾.

Recientemente, el empleo de nuevas técnicas en algunos países desarrollados (Canadá, China, Alemania y Bélgica) ha permitido incorporar los métodos moleculares, a partir de las secuencias de genes de ADN ribosomal (ADNr) y técnicas de PCR con cebadores específicos, como una herramienta que permiten caracterizar y evaluar el comportamiento de las especies de HMA inoculadas^(42,43).

Los HMA requieren de un hospedante para completar su ciclo de vida, por lo que el sistema de cultivo a partir del empleo de plantas trampa se reconoce como un método clásico y el más extendido en su reproducción ⁽¹⁹⁾. Para este fin pueden emplearse diversos materiales (ejemplo: suelo, turba, perlita, vermiculita, arena, arcilla, arcilla calcinada) o combinaciones de algunos de ellos ^(10,11,44,45).

Algunos criterios señalan que mediante esta técnica se obtienen inoculantes que pueden aplicarse desde la siembra del cultivo y en la etapa de trasplante, pero tiene como desventaja que se requieren de la esterilización del sustrato a emplear, además de que suelen ser pesados y dificulta su transportación ^(1,46).

En otras técnicas como el sistema hidropónico, se emplean raicillas de las plantas previamente colonizadas que se ponen en contacto con una solución nutritiva en constante movimiento. Este método tiene como inconveniente que se debe realizar un control del pH de la solución y además requieren de la aplicación de soluciones nutritivas con cierta sistematicidad ^(11,40).

Dichos sistemas se han perfeccionado hasta llegar a tecnologías más complejas que involucran los métodos de cultivo *in vitro* para la reproducción de los HMA a partir del empleo de raíces transformadas que se colonizan y subcultivan en ambientes controlados ⁽⁴⁶⁾. Mediante esta metodología se obtiene un material homogéneo y libre de fitopatógenos, pero resulta oportuno señalar que son técnicas altamente especializadas ⁽¹⁾.

Por otra parte, algunos proyectos de investigación se han enfocado en perfeccionar los métodos de reproducción de los HMA hacia la búsqueda de nuevas alternativas que garanticen la liberación gradual de los microorganismos al suelo tras su inoculación ^(47,48). En tal sentido, la inmovilización de estructuras (esporas, pequeños segmentos de hifas o raíces colonizadas) empleando la técnica de la encapsulación, por medio de portadores gelificantes u otras sustancias similares, representa un paso de avance para el manejo de nuevas formulaciones con fines agrícolas ^(49,50).

Los métodos de reproducción de los HMA definen, en la mayoría de los casos, el tipo de portador a emplear en la formulación de los inoculantes micorrízicos ⁽¹¹⁾. Algunas investigaciones apuntan a la no existencia de un portador universal y a su vez destacan que aquel que sea seleccionado para este fin debe ⁽⁵¹⁾:

- Proporcionar un microambiente adecuado para el microorganismo.

- Poseer propiedades físicas y químicas adecuadas que garanticen la supervivencia y la estabilidad de las estructuras fúngicas.
- Garantizar su compatibilidad con las nuevas tecnologías agrícolas (maquinaria) ⁽⁵¹⁾.

Con respecto a la composición de los inoculantes, la experiencia práctica indica que en muchos de los experimentos, independientemente de las condiciones que se evalúen y los objetivos propuestos, se realiza la aplicación de una sola especie, destacándose *Rhizoglyphus irregularis* y *Funneliformis mosseae* ^(10,52). Aspectos relacionados con su habilidad para colonizar a diversos grupos de especies vegetales, su fácil y rápida multiplicación, su resistencia a largos períodos de conservación y su amplia distribución en varios ecosistemas, hacen de estas especies simbiotes idóneos para ser utilizadas en la formulación de los inoculantes ⁽²³⁾.

Algunos reportes señalan que una de las estrategias adoptadas por algunas compañías para potenciar la comercialización de sus formulaciones en el mercado internacional, es la obtención de inoculantes mixtos (compuestos por varias especies de HMA) o por otros microorganismos (bacterias promotoras del crecimiento vegetal) ^(13,40).

Los inoculantes micorrízicos que en la actualidad se comercializan pueden estar compuestos por esporas, fragmentos de raíces colonizadas e hifas o por la combinación de estos propágulos ⁽⁵³⁾ y se encuentran en soporte sólidos, líquido o geles ^(11,40,54).

Aspectos generales de los inoculantes líquidos

Los biofertilizantes en soporte líquido son suspensiones acuosas (pueden estar compuestas por caldo de cultivos, aceites minerales u orgánicos, o polímeros) ⁽⁵²⁾ que han ganado popularidad en las últimas décadas por su fácil manejo y su sincronización con las nuevas tecnologías asociadas a las prácticas agrícolas actuales ⁽⁴¹⁾.

En la literatura se hace referencia a que algunas ventajas de estas formulaciones pueden estar relacionadas con: (I) la alta concentración (células o microorganismos) lo que permite optimizar sus aplicaciones ⁽⁵⁵⁾, (II) la incorporación de aditivos (sacarosa o glicerol) que favorecen la supervivencia de los microorganismos y extienden su viabilidad ⁽⁵⁰⁾ y (III) el ajuste con los sistemas agrícolas actuales (compatibilidad con los implementos agrícolas o sistemas por fertirriego) lo que facilita su aplicación en condiciones de producción ⁽¹²⁾.

Antecedentes relacionados con la aplicación de los HMA en soporte líquido. Experiencias prácticas

La experiencia cubana con el manejo de la simbiosis micorrízica, empleando formulaciones sólidas, ha aportado resultados significativos a lo largo de más de 20 años de investigaciones sostenidas y representa un modelo vigente a considerar en la implementación de nuevos estudios relacionados con la inclusión de estos simbiosis en las prácticas agrícolas actuales. En tal sentido, con el inoculante comercial EcoMic[®], obtenido en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), se condujeron de varios experimentos en diferentes cultivos de importancia agrícola [como la soya (*Glycine max* L.), sorgo (*Sorghum bicolor* L.), arroz (*Oryza sativa* L.), maíz (*Zea mays* L.), frijoles (*Phaseolus vulgaris* L.), girasol (*Helianthus annuus* L.), yuca (*Manihot esculenta* Crantz), trigo (*Triticum aestivum* L.) y hortalizas, etc.], demostrando incrementos significativos en los rendimientos entre un 15 y 40 % en dependencia de la especie vegetal ⁽⁵⁶⁾.

De igual manera, con estas investigaciones se establecieron algunos criterios para el manejo de la simbiosis micorrízica en correspondencia con el ambiente edáfico, partiendo de la recomendación de cepas eficientes por condición edáfica ⁽⁵⁷⁾. Asimismo, otros aportes se centraron en la integración efectiva de la simbiosis micorrízica, vía inoculación de cepas eficientes, en presencia de sistemas de suministro de nutrientes ⁽⁵⁶⁾ y otras tecnologías de producción como el manejo de posturas de cafeto ⁽⁵⁸⁾, abonos verdes ⁽⁵⁹⁾, pastizales ⁽⁶⁰⁾ y vitroplantas de banano ⁽⁶¹⁾.

Pero el siglo XXI marcó una nueva etapa en el perfeccionamiento de inoculantes a base de estos hongos en Cuba con la obtención de una formulación líquida LicoMic[®], cuyo objetivo principal fue diversificar las formas de aplicación de estos simbiosis a partir de su inclusión en los sistemas agrícolas a través del fertirriego ⁽¹⁶⁾.

Inicialmente se evaluó el efecto de la aplicación de *Glomus fasciculatum* en soporte sólido y líquido en los cultivos de lechuga (*Lactuca sativa* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.) y tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y se demostró que ambas formulaciones incrementaron eficiencia micorrízica (25 %), extracción de nutrientes minerales y el rendimientos de los cultivos en las condiciones experimentales estudiadas ⁽⁶²⁾.

Posteriormente se evaluó la viabilidad y capacidad germinativa de esporas de dos especies de *Glomus* en soporte líquido y se obtuvo una estabilidad superior a los ocho meses en los

propágulos fúngicos, con porcentajes de colonización (25 - 28 %) que demostraron el funcionamiento de ambas especies ⁽⁶³⁾.

En otros estudios se comparó la eficiencia de diferentes inoculantes micorrizógenos (EcoMic[®] y LicoMic[®]) en plantas de tomate (*S. lycopersicum* L.) y a pesar de las variaciones en la colonización micorrízica marcadas por las etapas de desarrollo del cultivo, se incrementaron los valores fúngicos (50 %) en la etapa de fructificación en presencia de la inoculación líquida ⁽⁶⁴⁾.

De igual forma se evaluó el efecto de la aplicación de dos inoculantes micorrízicos (líquido y sólido) en el cultivo de trigo duro (*Triticum durum* L.) en condiciones de campo y se demostró la acción positiva de ambas formulaciones en las variables relacionadas con el funcionamiento micorrízico, el estado nutricional y el rendimiento del cultivo ⁽⁶⁵⁾.

En otras investigaciones se evaluó el efecto de la inoculación en soporte líquido de *Glomus hoi* en el crecimiento y producción de arroz (*Oryza sativa* L. 'INCA-LP5') en condiciones de salinidad y se demostró la efectividad de dicho inoculante al estimular el crecimiento, desarrollo y la producción del cultivo ⁽⁶⁶⁾.

Posteriormente, se condujeron otros ensayos para estudiar el efecto protector de *Glomus iranicum* var *tenuihypharum* inoculado en soporte líquido en plantas de durillo (*Viburnum tinus*) tratadas con aguas residuales y se encontró una colonización eficiente en las raíces del cultivo con incrementos significativos en los niveles de glomalina y carbono en el suelo ⁽⁶⁷⁾.

Otros autores comprobaron la viabilidad funcional de *Glomus cubense* en soporte líquido en condiciones controladas y demostraron que dicho inoculante conservó su estabilidad y favoreció los indicadores de crecimiento en plantas de sorgo (10 %) (*S. bicolor* L. Moench) ⁽⁶⁸⁾.

Otras investigaciones se realizaron para conocer el efecto de diferentes dosis de un inoculante micorrizógeno en soporte líquido (75, 150 y 300 esporas por planta) en las variables del crecimiento, las relaciones hídricas y la eficiencia en el aprovechamiento de los nutrientes de plantas de tomate (*S. lycopersicum* L.). Los resultados mostraron, que con cualquiera de las dosis aplicadas se favoreció la simbiosis, con incrementos en las variables fúngicas, el contenido de biomasa seca, las relaciones hídricas y la mejor eficiencia en la utilización de los nutrientes en comparación con las plantas no micorrizadas ⁽⁶⁹⁾.

CONCLUSIONES

- Con los resultados anteriormente quedó demostrado que la inoculación de los HMA en formulación líquida indujo respuestas positivas en las plantas micorrizadas, sin embargo, resulta importante destacar que los estudios desarrollados hasta el momento con este inoculante no varían los criterios de selección de cepas ya establecidos con el inoculo sólido, con lo cual se favorece el manejo de la simbiosis para diferentes agroecosistemas.
- Estos aspectos sugieren que el manejo de los HMA en formulación líquida puede ser efectivo tanto como el inoculante sólido y permite establecer nuevas vías para el manejo de estos simbioses, con vistas a diversificar sus formas de aplicación a través de los sistemas de fertirriego y favorecer las producciones agrícolas.
- Por lo tanto, el empleo de los HMA en formulación líquida puede convertirse en una práctica agrícola que enfrenta nuevos desafíos y enfoques en el manejo de estos simbioses ante las diferentes tecnologías de cultivos vigentes en el modelo agrícola cubano.

BIBLIOGRAFÍA

1. Priyadharsini P, Muthukumar T. Insight into the role of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable agriculture. In: Environmental Sustainability. Springer; 2015. p. 3–37.
2. Nouri E, Breuillin-Sessoms F, Feller U, Reinhardt D. Phosphorus and nitrogen regulate arbuscular mycorrhizal *symbiosis in Petunia hybrida*. PLoS One. 2014;9(3):e90841.
3. Zhang L, Xu M, Liu Y, Zhang F, Hodge A, Feng G. Carbon and phosphorus exchange may enable cooperation between an arbuscular mycorrhizal fungus and a phosphate-solubilizing bacterium. New Phytologist. 2016;210(3):1022–32.
4. Lenoir I, Fontaine J, Sahraoui AL-H. Arbuscular mycorrhizal fungal responses to abiotic stresses: a review. Phytochemistry. 2016;123:4–15.
5. Augé RM, Toler HD, Saxton AM. Arbuscular mycorrhizal symbiosis alters stomatal conductance of host plants more under drought than under amply watered conditions: a meta-analysis. Mycorrhiza. 2015;25(1):13–24.

6. Sánchez-Romera B, Ruiz-Lozano JM, Zamarreño ÁM, García-Mina JM, Aroca R. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and methyl jasmonate avoid the inhibition of root hydraulic conductivity caused by drought. *Mycorrhiza*. 2016;26(2):111–22.
7. Khan A, Sharif M, Ali A, Shah SNM, Mian IA, Wahid F, et al. Potential of AM fungi in phytoremediation of heavy metals and effect on yield of wheat crop. *American Journal of Plant Sciences*. 2014;5(11):1578–86.
8. Kanwal S, Bano A, Malik RN. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metals and effects on growth and biochemical activities of wheat *Triticum aestivum* L. plants in Zn contaminated soils. *African Journal of Biotechnology*. 2016;15(20):872–83.
9. Wu Q-S, Srivastava AK, Cao M-Q, Wang J. Mycorrhizal function on soil aggregate stability in root zone and root-free hyphae zone of trifoliate orange. *Archives of Agronomy and Soil Science*. 2015;61(6):813–25.
10. Berruti A, Lumini E, Balestrini R, Bianciotto V. Arbuscular mycorrhizal fungi as natural biofertilizers: let's benefit from past successes. *Frontiers in microbiology*. 2016;6:1559.
11. Ijdo M, Cranenbrouck S, Declerck S. Methods for large-scale production of AM fungi: past, present, and future. *Mycorrhiza*. 2011;21(1):1–16.
12. Bashan Y, de-Bashan LE, Prabhu SR, Hernandez J-P. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). *Plant and Soil*. 2014;378(1–2):1–33.
13. Igiehon NO, Babalola OO. Biofertilizers and sustainable agriculture: exploring arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied microbiology and biotechnology*. 2017;101(12):4871–81.
14. Rivera R, Fernández F, Hernández A, Martín JR, Fernández K. El manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: El Caribe. *INCA*. 2003;166.
15. Rivera R, González PJ, Hernández A, Martín G, Ruiz L, Fernández K, et al. La importancia del ambiente edáfico y del pH sobre la efectividad y la recomendación de cepas eficientes de HMA para la inoculación de los cultivos. In: VIII Congreso de la Sociedad Cubana de la Ciencia del Suelo. 2015.

16. Fernández F, Dell'Amico J, Pérez Y. Inoculante micorrizógeno líquido. Oficina Cubana de la Propiedad Industrial; 23479, 2009.
17. Manzano J, Palau CV, de Azevedo BM, do Bomfim GV, Vasconcelos DV. Diseño y alternativas en la instalación de inyectores Venturi en riego localizado. *Revista Ciência Agronômica*. 2015;46(2):287–98.
18. de Cuba PC. Lineamientos de la Política Económica y Social del Partido y la Revolución para el período 2016-2021. 2017 p. 47.
19. Smith SE, Read DJ. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic press; 2010.
20. Lanfranco L, Fiorilli V, Venice F, Bonfante P. Strigolactones cross the kingdoms: plants, fungi, and bacteria in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Journal of experimental botany*. 2017;69(9):2175–88.
21. Solaiman ZM, Abbott LK, Varma A. *Mycorrhizal fungi: use in sustainable agriculture and land restoration*. Solaiman ZM, Abbott LK, Varma A, editors. Vol. 41. Springer; 2014. 407 p.
22. Ohsowski BM, Zaitsoff PD, Öpik M, Hart MM. Where the wild things are: looking for uncultured *Glomeromycota*. *New Phytologist*. 2014;204(1):171–9.
23. Öpik M, Zobel M, Cantero JJ, Davison J, Facelli JM, Hiiesalu I, et al. Global sampling of plant roots expands the described molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*. 2013;23(5):411–30.
24. Senés-Guerrero C, Schüßler A. DNA-based characterization and identification of arbuscular mycorrhizal fungi species. In: *Microbial Environmental Genomics (MEG)*. Springer; 2016. p. 101–23.
25. Lee SC, Idnurm A. Fungal sex: the Mucoromycota. *The Fungal Kingdom*. 2017;5(2):177–91.
26. Smith SE, Smith FA. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystem scales. *Annual review of plant biology*. 2011;62:227–50.
27. Camarena-Gutiérrez G. Interacción planta-hongos micorrízicos arbusculares. *Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente*. 2012;18(3):409–21.
28. Wright DP, Read DJ, Scholes JD. Mycorrhizal sink strength influences whole plant carbon balance of *Trifolium repens* L. *Plant, Cell & Environment*. 1998;21(9):881–91.

29. Birhane E, Kuyper TW, Sterck FJ, Gebrehiwot K, Bongers F. Arbuscular mycorrhiza and water and nutrient supply differently impact seedling performance of dry woodland species with different acquisition strategies. *Plant Ecology & Diversity*. 2015;8(3):387–99.
30. Karthikeyan A, Krishnakumar N. Reforestation of bauxite mine spoils with *Eucalyptus tereticornis* Sm. seedlings inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi. *Annals of Forest Research*. 2012;55(2):207–16.
31. Manaut N, Sanguin H, Ouahmane L, Bressan M, Thioulouse J, Baudoin E, et al. Potentialities of ecological engineering strategy based on native arbuscular mycorrhizal community for improving afforestation programs with carob trees in degraded environments. *Ecological Engineering*. 2015;79:113–9.
32. Soka G, Ritchie M. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and ecosystem processes: Prospects for future research in tropical soils. *Open Journal of Ecology*. 2014;4(01):11.
33. Mujica MI, Saez N, Cisternas M, Manzano M, Armesto JJ, Pérez F. Relationship between soil nutrients and mycorrhizal associations of two *Bipinnula* species *Orchidaceae* from central Chile. *Annals of botany*. 2016;118(1):149–58.
34. Asmelash F, Bekele T, Birhane E. The potential role of arbuscular mycorrhizal fungi in the restoration of degraded lands. *Frontiers in microbiology*. 2016;7:1095.
35. Berruti A, Borriello R, Orgiazzi A, Barbera AC, Lumini E, Bianciotto V. Arbuscular mycorrhizal fungi and their value for ecosystem management. In: *Biodiversity-The dynamic balance of the planet*. IntechOpen; 2014. p. 160–91.
36. Sadhana B. Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) as a Biofertilizer-a Review. *Int J Curr Microbiol App Sci*. 2014;3(4):384–400.
37. Mahanty T, Bhattacharjee S, Goswami M, Bhattacharyya P, Das B, Ghosh A, et al. Biofertilizers: a potential approach for sustainable agriculture development. *Environmental Science and Pollution Research*. 2017;24(4):3315–35.
38. Gianinazzi S, Vosátka M. Inoculum of arbuscular mycorrhizal fungi for production systems: science meets business. *Canadian Journal of Botany*. 2004;82(8):1264–71.
39. Vosátka M, Albrechtová J. Theoretical aspects and practical uses of mycorrhizal technology in floriculture and horticulture. *Floriculture, ornamental and plant biotechnology: advances and topical*. 2008;(5):466–79.

40. Vosátka M, Látr A, Gianinazzi S, Albrechtová J. Development of arbuscular mycorrhizal biotechnology and industry: current achievements and bottlenecks. *Symbiosis*. 2012;58(1–3):29–37.
41. Herrmann L, Lesueur D. Challenges of formulation and quality of biofertilizers for successful inoculation. *Applied microbiology and biotechnology*. 2013;97(20):8859–73.
42. Sridevi G, Thangavel P. Environmental sustainability: Sole of green technologies. Sridevi G, Thangavel G, editors. Springer; 2015. 324 p.
43. Krishnamoorthy R, Premalatha N, Karthik M, Anandham R, Senthilkumar M, Gopal NO, et al. Molecular Markers for the Identification and Diversity Analysis of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF). In: *Molecular Markers in Mycology*. Springer; 2017. p. 177–99.
44. Vosátka M, Albrechtová J, Patten R. The international market development for mycorrhizal technology. In: *Mycorrhiza*. Springer; 2008. p. 419–38.
45. Kumar M, Saxena AK. Conventional Methods for Mass Multiplication of AMF. In: *Mycorrhiza-Nutrient Uptake, Biocontrol, Ecorestoration*. Springer; 2017. p. 287–300.
46. Declerck S, Strullu D-G, Fortin A. In vitro culture of mycorrhizas. Vol. 4. Springer Science & Business Media; 2005. 375 p.
47. Kim I-Y, Pusey PL, Zhao Y, Korban SS, Choi H, Kim KK. Controlled release of *Pantoea agglomerans* E325 for biocontrol of fire blight disease of apple. *Journal of controlled release*. 2012;161(1):109–15.
48. Schoebitz M, López MD, Roldán A. Bioencapsulation of microbial inoculants for better soil–plant fertilization. A review. *Agronomy for sustainable development*. 2013;33(4):751–65.
49. Saxena J. Efficacy of rhizobacterial strains encapsulated in nontoxic biodegradable gel matrices to promote growth and yield of wheat plants. *Applied soil ecology*. 2011;48(3):301–8.
50. Song Z, Shen L, Zhong Q, Yin Y, Wang Z. Liquid culture production of microsclerotia of *Purpureocillium lilacinum* for use as bionematicide. *Nematology*. 2016;18(6):719–26.
51. Selvaraj S, Ganeshamoorthi P, Anand T, Raguchander T, Seenivasan N, Samiyappan R. Evaluation of a liquid formulation of *Pseudomonas fluorescens* against *Fusarium*

oxysporum f. sp. cubense and *Helicotylenchus multicinctus* in banana plantation. *BioControl*. 2014;59(3):345–55.

52. Wagg C, Barendregt C, Jansa J, van der Heijden MG. Complementarity in both plant and mycorrhizal fungal communities are not necessarily increased by diversity in the other. *Journal of Ecology*. 2015;103(5):1233–44.

53. Dalpe Y, Monreal M. Arbuscular mycorrhiza inoculum to support sustainable cropping systems. *Crop management*. 2004;3(1).

54. Mishra J, Arora NK. Bioformulations for plant growth promotion and combating phytopathogens: a sustainable approach. In: Arora NK, Mehnaz S, Balestrini R, editors. *Bioformulations: for Sustainable Agriculture*. Springer; 2016. p. 3–33.

55. Sahu PK, Brahma Prakash GP. Formulations of biofertilizers—approaches and advances. In: Singh D, Singh H, Prabha R, editors. *Microbial inoculants in sustainable agricultural productivity*. Springer; 2016. p. 179–98.

56. Rivera R, Fernandez F. Inoculation and management of mycorrhizal fungi within tropical agroecosystems. Ball AS N, Fernandes E, Herren H, Husson H, Laing M, Palm C, et al., editors. *Norman Uphoff*. 2006;479–89.

57. Rivera R, Fernández F, Hernández A, Triana J, Fernández K. El manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: El Caribe. INCA Ediciones: La Habana, Cuba. 2003; 166p.

58. Pedro JJ. Efectividad de la inoculación de cepas de HMA en la producción de posturas de cafeto sobre suelo Ferralítico Rojo compactado y Ferralítico Rojo lixiviado de montaña. [Tesis de Maestría]. [La Habana, Cuba]: INCA. 2002. 97p

59. Martín GM, Rivera R. Influencia de la inoculación micorrízica en los abonos verdes. Efecto sobre el cultivo principal. Estudio de caso: el maíz. *Cultivos Tropicales*. 2015;36(5):34–50.

60. González Cañizares PJ, Ramírez Pedroso JF, Morgan Rosemond O, Rivera Espinosa R, Plana Llerena R. Contribución de la inoculación micorrízica arbuscular a la reducción de la fertilización fosfórica en *Brachiaria decumbens*. *Cultivos Tropicales*. 2015;36(1):135–42.

61. Simó-González JE, Ruiz-Martínez LA, Rivera-Espinosa R. Inoculación de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) y relaciones suelo pardo-abonos orgánicos en la aclimatización de vitroplantas de banano. *Cultivos Tropicales*. 2017;38(3):102–11.

62. Jean Y. La biofertilización a base de hongos micorrizógenos sobre la producción hortícola bajo cubierta. [La Habana, Cuba]: Universidad Agraria de la Habana, INCA; 2004.
63. Fernández F, Dell'Amico JM, Fernández K, de la Providencia I, Morte A. Inoculantes de hongos micorrízicos arbusculares de *Glomus mosseae* y *Glomus* sp1 en medio líquido. Cultivos Tropicales. 2005;26(4):29–36.
64. Fernández F, Dell JM, Rodríguez P. Efectividad de algunos tipos de inoculantes micorrízicos a base de *Glomus hoi* en el cultivo del tomate *Lycopersicon esculentum* Mill. var. Amalia). Cultivos Tropicales. 2006;27(3):25–30.
65. Plana R, González PJ, Fernández F, Calderón A, Marrero Y, DellAmico JM. Efecto de dos inoculantes micorrízicos arbusculares (base líquida y sólida) en el cultivo del trigo duro *Triticum durum*. Cultivos Tropicales. 2008;29(4):35–40.
66. Fernández F, Dell'Amico JM, Angoa MV, de la Providencia IE. Use of a liquid inoculum of the arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus hoi* in rice plants cultivated in a saline Gleysol: A new alternative to inoculate. Journal of Plant Breeding and Crop Science. 2011;3(2):24–33.
67. Gómez-Bellot MJ, Ortuño MF, Nortes PA, Vicente-Sánchez J, Martín FF, Bañón S, et al. Protective effects of *Glomus iranicum* var. *tenuihypharum* on soil and *Viburnum tinus* plants irrigated with treated wastewater under field conditions. Mycorrhiza. 2015;25(5):399–409.
68. Mena Echevarría A, Mujica Pérez Y, Fernández Suárez K, Rodríguez A, Dell J. Viabilidad de esporas y funcionamiento de un inoculante líquido a base de *Glomus cubense* en *Sorghum bicolor* L. cv. Moench. Cultivos Tropicales. 2015;36(3):27–33.
69. Dell Amico JM, Fernández F, Nicolás Nicolás E, Sánchez-Blanco M de J. Crecimiento, relaciones hídricas y aprovechamiento nutricional en el tomate inoculado con un inoculante micorrízico en soporte líquido. Cultivos Tropicales. 2015;36(4):77–85.