


Micorrizas y rizobios: un diálogo molecular con el huésped vegetal

Andrés Zúñiga-Orozco^{1*} 

Ayerin Carrodeguas- Gonzalez² 

Laura Yesenia Solís-Ramos³ 

¹Escuela de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Estatal a Distancia. San Pedro, San José, Costa Rica

²Instituto de Investigaciones Hortícolas Lilliana Dimitrova, Mayabeque, Cuba

³Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica. San Pedro, San José, Costa Rica

*Autor para correspondencia: azunigao@uned.ac.cr

RESUMEN

Los rizobios (Rhs) y los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son microsimbiontes edáficos que se encuentran asociados a raíces de cultivos. Para los Rhs la mayoría de ellos son leguminosas y para los HMA hay un rango de hospedantes más amplio; sin embargo, hay cultivos que desarrollan la colonización por parte de ambos simbiontes. En cualquiera de las relaciones simbióticas, los beneficios que reciben los cultivos al ser colonizados por estos microorganismos son variados y contribuyen al empleo de alternativas para la agricultura sostenible. El mecanismo por el cual ambos simbiontes penetran en su huésped vegetal ha sido estudiado a nivel molecular y se han identificado genes comunes, así como las vías en las que intervienen. Algunos de estos genes se relacionan con la recepción de la señal mediada por los factores Nod, en el caso de los Rhs y por los factores Myc, en el caso de los HMA, otros están relacionados con el mecanismo de penetración y finalmente con la ruta por la cual se comunican el simbionte y la planta. En la presente revisión se realiza un listado de estudios referentes a los microsimbiontes, a nivel de pre-colonización, colonización y mecanismo compartido. Se presenta una propuesta de posibles genes candidatos comunes para Rhs y HMA para aplicar ingeniería genética, de tal forma que se explora un campo de investigación que se denomina: optimización de genes. Por la similitud por la cual estos simbiontes penetran en su huésped y por el potencial de modificación genética que esto supone, se describe una estrecha relación molecular, metabólica y fisiológica.

Palabras clave: rizobio micorrizas arbusculares, ingeniería genética, simbiosis, genes

Recibido: 12/03/2021

Aceptado: 09/08/2021

INTRODUCCIÓN

La creación de bioeconomías sustentables enmarcadas en el concepto de economía circular, demanda la optimización de recursos biológicos para mejorar la productividad agrícola. Los hallazgos encontrados durante los últimos 30 años, en cuanto a la simbiosis, el uso de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y rhizobios (Rhs), ha sido de gran interés por el impacto que tienen en la agricultura ⁽¹⁻³⁾.

La simbiosis es la relación mutualista estrecha entre dos organismos, que tiene un efecto benéfico en la adaptación, ecología y evolución para ambas partes ⁽⁴⁻⁶⁾. Entre las relaciones simbióticas mutualistas más interesantes se encuentran las que se establecen entre hongos, bacterias y células vegetales ⁽⁷⁾. Los HMA y Rhs se originaron aproximadamente hace 400 y 100 millones de años respectivamente ⁽⁸⁻¹²⁾.

Los HMA pertenecen al phyla *Glomeromycota* y son organismos que colonizan entre el 70-90 % de las especies vegetales, algunos autores mencionan que colonizan todas las gimnospermas, 83% de dicotiledóneas y 79 % de monocotiledóneas ^(12,13); mientras los Rhs son más restringidas al clado FaFaCuRo (Fabales, Fagales, Cucurbitales y Rosales) ⁽¹⁴⁻¹⁶⁾.

Los HMA han recibido especial atención desde el punto de vista agrícola por los beneficios que proveen para las plantas; tales como, mayor resistencia a estreses bióticos y abióticos, aumento en la superficie de absorción de agua y nutrientes ^(11,15), así como su uso en la bioremediación ⁽¹⁷⁾, entre otros. Por su parte, los rhizobios también son muy importantes por la habilidad de fijar nitrógeno atmosférico, incluso hay estudios que mencionan que podrían fijar la cantidad anual producida de amonio sintético ^(1,18).

En la actualidad, se ha promovido el uso natural de la simbiosis de bacterias fijadoras de nitrógeno en plantas leguminosas para disminuir la cantidad de nitrógeno aplicado a través de fertilizantes químicos, los cuales, pueden ocasionar eutroficación y disminuir la diversidad de microorganismos del suelo ^(3,19).

Los HMA penetran en el hospedante por el córtex del parénquima de las raíces más finas y en el interior de las células forman estructuras ramificadas llamadas arbusculos ⁽²⁰⁾; mientras que los Rhs, penetran su hospedero a través de los pelos radiculares, realizan un plegamiento de los mismos hasta que se forma un tubo de infección en el que se desarrolla, en el extremo interno, el simbiosoma ^(21,22). Los mecanismos de colonización de HMA y Rhs tienen gran similitud, incluso al grado de activar y desactivar genes comunes. Para su estudio, se han utilizado especies de la familia de las leguminosas, las cuales pueden hospedar ambos microsimbiontes y como resultado acumulan mayor masa seca y tienen mayor superficie radical para la absorción de nutrientes ⁽²³⁾.

Hay evidencia clara de la existencia de un mecanismo compartido en la colonización compartida que induce un tipo de autoregulación entre los microsimbiontes y que ocurre en una constante comunicación con la planta ⁽²⁴⁾.

Por medio de estudios de la composición de comunidades de microorganismos se ha comprobado que diversos hábitats son capaces de albergar una gran diversidad biológica de HMA y Rhs ⁽²⁵⁾, los cuales tienen aplicaciones en la agricultura. Además, recientemente se ha logrado un gran avance en cuanto a la secuenciación y los perfiles de expresión génica, lo que ha permitido dilucidar aspectos comunes que posee la colonización compartida ente HMA y Rhs ⁽²⁶⁻³⁰⁾.

Teniendo en cuenta los criterios escritos anteriormente, este artículo constituye una recopilación de una serie de evidencias científicas que reflejan la similitud del comportamiento en el proceso de colonización que realizan los HMA y los Rhs, ante las señales del huésped vegetal. De esta forma se considera esta recopilación de información un puente para definir nuevas líneas de investigación en ingeniería genética; por lo tanto, contribuir al estado del conocimiento en cuanto a genes candidatos que podrían modificarse a futuro haciendo más eficiente la relación entre a los Rhs y HMA con sus huéspedes vegetales.

El microsimbionte: los rhizobios

Las bacterias que forman parte de la microbiota del suelo están incluidas, principalmente, en los siguientes phyla: Acidobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Chloroflexi (Chlorobacteria), Firmicutes y Proteobacteria ^(31,32). Las raíces, al crecer, incorporan depósitos orgánicos (células muertas + compuestos orgánicos) a nivel de la rizosfera, lo cual resulta en una rizodeposición que modifica la estructura y la composición poblacional de las bacterias. Consecuentemente, se reduce la diversidad, principalmente, de los phyla Acidobacterias, Proteobacterias y Actinobacterias ⁽³²⁾.

Las bacterias son atraídas hacia su huésped por células de la rizodermis, rizodepósitos y el mucílago que es exudado en el extremo de las raíces. Ese mucílago está compuesto por ácidos orgánicos e inorgánicos, sideróforos, vitaminas, aminoácidos, purinas y nucleósidos, pero especialmente hay unos compuestos en particular: los flavonoides e isoflavonoides, que son los principales encargados de atraer a las bacterias hacia la planta ^(33,34). Los Rhs al percibir la señal comienzan a secretar un lipo-chito-oligosacárido (LCO) mediado por los factores Nod (NF, por sus siglas en inglés) ⁽³⁵⁻³⁷⁾. En el caso de los Rhs, el LCO interactúa con las hidrolasas NFH1 y CHIT5 emitidas por el huésped para preparar así el contacto con la membrana celular vegetal ⁽³⁸⁾.

Por su parte, los Rhs colonizan a la planta, principalmente, por una infección tubular que se forma después de que los pelos radicales se pliegan en forma de bucle, aunque en menor medida, pueden acceder también por heridas, o a través de espacios intercelulares de forma independiente a los factores Nod ⁽³¹⁾.

Por lo tanto, el proceso de colonización de los Rhs en su huésped transcurre por varias etapas progresivas, que van desde la señalización inicial, la restricción del rango del hospedante, la colonización bacteriana, la autoregulación del número de nódulos (AON por sus siglas en inglés), la maduración bacterial, la formación del simbiosoma, el desarrollo del metabolismo del nódulo y el transporte hasta que comienza la fase final de senescencia ^(18,38).

La correcta comunicación química entre bacteria-huésped depende de los factores Nod y de un acoplamiento adecuado con los receptores de la membrana vegetal. Este proceso es clave para desencadenar la colonización, la cual resulta, posteriormente, en un cambio en el gradiente de calcio en la membrana nuclear de la célula vegetal, lo cual será explicado más adelante.

El microsimbionte: los hongos micorrízicos arbusculares

Los HMA son organismos que inician su ciclo de vida a partir de un propágulo que puede ser una espora, un fragmento de hifa o de raíz colonizada. El propágulo germina estimulado por señales derivadas del hospedante potencial, aunque también puede germinar en ausencia de estas. Se produce una hifa de germinación que comienza a crecer en busca de un huésped y al encontrarlo se adhiere a las paredes del córtex de las raíces más finas (secundarias o terciarias) produciendo una estructura de sostén denominada apresorio. Posteriormente, penetra al interior del córtex sin atravesar el cilindro central y coloniza la planta intracelular y extracelularmente. Al acceder a las células atraviesa la pared celular, no así la membrana plasmática, ocurre una retracción del citoplasma y la hifa comienza a ramificarse para formar los arbusculos, que son las estructuras de intercambio entre el hongo y su huésped.

En la mayoría de especies de HMA se producen vesículas que son estructuras de reserva⁽³⁹⁾; sin embargo, las vesículas no están presentes en todas las especies de HMA, algunas como las pertenecientes a la familia *Gigasporaceae* pueden formar en su lugar estructuras denominadas células auxiliares, pero en el micelio externo y se reconoce que tienen similar función a las vesículas.

Los HMA tienen la particularidad de que son simbioses obligados por lo que requieren un hospedante para completar su ciclo de vida. Cuando encuentran uno, se reproducen aceleradamente e incluso se conoce que comparten varios hospedantes al mismo tiempo a través de una red conectiva de micelio extrarradical, por lo cual su diversidad funcional es alta y le permite tener gran adaptabilidad a diversas condiciones ambientales^(40,41).

El hongo invagina las células corticales internas, donde produce una ramificación extensa convirtiéndose en una estructura que llena enteramente las células corticales⁽⁴²⁾. En consecuencia, la arquitectura de la célula hospedante cambia: el núcleo se mueve de una posición periférica a una central, la vacuola comienza a fragmentarse y una extensa membrana periarbuscular se sintetiza de forma continua a la membrana plasmática⁽⁴³⁾. A pesar de la intensa actividad de ambos simbioses que permite la formación de arbusculos en las células, éstos colapsan después de varios días, dejando la célula cortical intacta y lista para hospedar un nuevo arbusculo⁽⁴²⁾.

Existen varias situaciones que se presentan en la relación simbiote-planta, una de ellas es cuando el huésped tiene suficiente disponibilidad de nutrientes, en este caso, las vesículas, almacenan estructuras carbonadas como medio de sobrevivencia siendo muy similar en función a los gránulos de polihidroxibutirato que se presentan en los Rhs^(44,45). Tal es el caso del fósforo, puesto que la planta inactiva genes transportadores de este elemento cuando se presenta alta disponibilidad de éste nutriente⁽⁴⁶⁾.

Por otra parte, se ha encontrado que los arbusculos proveen de mayor cantidad de fósforo a los tejidos que le proveen mayor cantidad de carbono. Lo descrito anteriormente indica que puede existir un mecanismo de autoregulación por parte de la planta. Se ha encontrado que moléculas como lisofosfatidilcolina (LPc) podrían ayudar al huésped a percibir la concentración de fósforo en el suelo; sin embargo, se necesita profundizar en nuevas investigaciones al respecto, pues no está bien descrito en comparación a lo que sucede con los Rhs⁽⁴⁷⁾. Otra de las características menos exploradas de los HMA es que tienen la capacidad de proteger las raíces del huésped de hifas patógenas, ya que, crecen cerca de 100 veces más rápido que los pelos radiculares, lo que

les permite una colonización más rápida del área de la raíz. Tal es el caso de la familia *Glomeraceae*, cuyas especies han mostrado alta tolerancia a *Fusarium* sp. y *Pythium* sp. ⁽⁴⁶⁾, también es posible que exista un mecanismo molecular de interacción simbiótica aún inexplorado. Lo anterior se suma a muchos otros estudios enfocados en cuantificar la tolerancia a diversos patógenos como: *Alternaria*, *Fusarium*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Rhizoctonia* y *Verticillium*, bacterias como *Ralstonia solanacearum* y *Pseudomonas syringae*, nemátodos de los géneros *Pratylenchus* y *Meloidogyne*) e incluso insectos como *Otiorynchus sulcatus* ⁽⁴⁸⁻⁵²⁾. En cuanto a la colonización de los HMA en su huésped es importante señalar que sus propágulos se ven estimulados por flavonoides e isoflavonoides procedentes de las plantas, al igual que como sucede con los Rhs; sin embargo, los HMA se estimulan también por sesquiterpenos como es el caso de las estrigolactonas, las cuales estimulan la ramificación de las hifas germinantes ⁽⁵³⁾. Los flavonoides e isoflavonoides secretados por las plantas activan el proceso de germinación y el crecimiento hifal; y por su parte, los HMA comienzan secretar un lipo-chito-oligosacárido (LCO) mediado por los factores Myc ⁽³⁵⁻³⁷⁾ y un oligómero de quitina de cadena corta o quitooligosacárido (COS) ⁽⁵⁴⁾.

En respuesta a los factores Myc se ha registrado en las plantas el gen ENOD11 como responsable de codificar proteínas ricas en lisina en la membrana, por lo cual, de cierta forma, las plantas también se preparan para recibir a los HMA ⁽⁵⁵⁾. Además, como se profundizará más adelante, el gen ENOD tiene cierta relación con los Rhs.

Otros genes han sido identificados como necesarios para inducir la formación del apresorio de la membrana periaustorial tal es el caso de los genes DMI2 y DMI3 ⁽¹⁸⁾. De manera similar, se ha encontrado en hongos patógenos (*Magnaphorte oryzae* y *Colletotrichum inemuthianum*) un gen ortólogo relacionado con la penetración, denominado STE12 ⁽⁵⁶⁾.

Finalmente, se conocen genes vegetales que codifican para transportadores de fósforo (PT3 y PT4), como responsables de asociarse con las hifas, además de un gen llamado Gmar-CuZnSOD que codifica para la superóxido dismutasa, que le brinda a la planta tolerancia a estrés oxidativo ⁽⁵⁷⁾.

El macrosimbionte: el huésped vegetal y el mecanismo de colonización

En esta sección se realizará un recuento general de lo descrito para el mecanismo de colonización por Rhs, pues, aunque para los HMA ha sido descrito, aún faltan estudios relacionados con los genes involucrados y su regulación. No obstante, en la siguiente sección, se abordarán las similitudes entre ambas vías de colonización. El papel que juega el huésped vegetal es trascendental en la atracción de Rhs y HMA, así como en la aceptación y en el mantenimiento de los microorganismos, ya que los simbioses se ven beneficiados por fuentes de carbono producidas por la planta, principalmente sacarosa, hexosas y almidón, en una especie de “comercio mutuo” entre Rhs-HMA-planta ^(38,39,42,58).

Primeramente, es importante describir cómo la planta realiza el proceso de atracción de las bacterias, dando paso a la pre-colonización o fase presimbiótica; en este paso están relacionados los genes CHS, CHR, FNS y IFS, que son responsables de producir los flavonoides e isoflavonoides, por parte de la planta ⁽⁵⁹⁻⁶¹⁾.

Algunos investigadores muestran evidencias de que las isoflavonas genisteína y diadzeína producidas por *Glycine max* y *Phaseolus vulgaris*, inducen la activación de los genes Nod en bacterias simbiotes muy específicas de su especie, como son *Bradyrhizobium japonicum* y *Rhizobium leguminosarum* bv phaseoli⁽⁶²⁾. Una vez que la planta percibe los factores Nod en la membrana, se activan genes que inducen la degradación de la pared celular y el plegamiento de los pelos radiculares para que los Rhs se alojen y se forme el tubo de colonización, en este proceso se han identificado los siguientes genes: NPL, FLOT2, FLOT4 y SYMREM1⁽⁶³⁻⁶⁵⁾.

Posterior al estímulo de los genes Nod y al plegamiento de los pelos radiculares, el huésped vegetal, percibe en los receptores de membrana la señal, estos receptores están codificados por los genes de pares ortólogos LjNFR1/MtLYK3 y LjNFR5/MtNFP, los cuales son receptores quinasas con tres dominios extracelulares de lisina (LysM) en el que forman un complejo homo y heteromérico entre la membrana celular y la de colonización⁽⁶⁶⁻⁶⁸⁾. De acuerdo a lo anterior, se realiza la comunicación con los factores provenientes de las bacterias, a través del complejo LCO, además de la unión con las hidrolasas NFH1/CHIT5; esa interacción es el punto de entrada para desencadenar en el huésped un complejo de señalización interna, que da comienzo a la infección de los Rhs y en un segundo paso a la organogénesis.

Además, relacionado con la percepción de la señal, se ha registrado que las hormonas vegetales tienen un papel importante, ya que interactúan con los factores Nod y los procesos subsiguientes, tal es el caso de los brasinoesteroides con el gen BRI1 y las estrigolactonas con el gen CCD7, quienes colaboran en la progresión de la colonización por rhizobios, así como citoquininas y auxinas que inician el proceso de organogénesis. Las citoquininas se relacionan directamente con el TF NSP2 y las auxinas con el gen ARF16a, responsable de la regulación positiva en el proceso de colonización⁽⁶⁹⁻⁷²⁾. Otros genes muy importantes y que se ha comprobado que silenciados reducen la colonización y la cantidad de nódulos, son los relacionados con giberelinas, estos genes codifican para las proteínas DELLA y estas proteínas, a su vez, interactúan con los TF IPD3 y NSP2, necesarios para la transcripción de NIN (iniciación del nódulo)⁽⁶⁹⁾.

Posterior a la recepción de la señal en la membrana vegetal, se induce un gradiente de calcio en la membrana nuclear, lo cual reduce el potencial de ingreso del catión. Se ha registrado que existe afectación en los canales de calcio (LjCASTOR, LjPOLLUX/MtDMI1), MtCNGC a/b/c y su ortólogo LjBRUSH, así también como en nucleoporinas (LjNUP85 y LjNUP133), esto propicia que la quinasa MtDMI3/CCaMK y los factores de transcripción LjCYCLOPS/MtIPD3 regulen la expresión positiva del gen NIN, en conjunto con otros dos factores de transcripción llamados NSP1 y NSP2, encontrados en *M. truncatula*^(22,73,74). NIN, en conjunto con los genes NF-YA y NF-YB, son de gran importancia porque son la señal de partida para que comience la organogénesis y la proliferación de los nódulos⁽³⁸⁾.

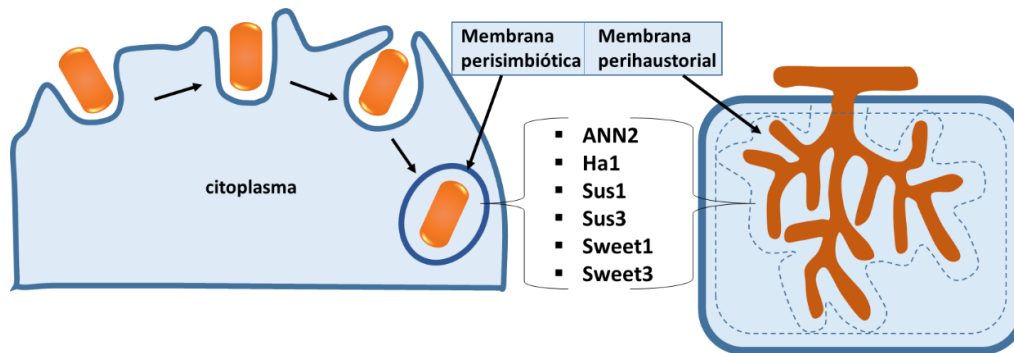
La planta tiene mecanismos para aceptar a los simbiotes, pero también emite una leve reacción de defensa intentando rechazar a los mismos⁽⁷⁵⁾, esta reacción se ha encontrado que es muy similar a la que se produce ante una afectación patogénica y, en consecuencia, se activan muchos genes comunes. Tal es el caso de *Sinorhizobium meliloti* que tiene la capacidad de inducir genes en el hospedante, similares a los que activa la planta cuando es atacada por *Pseudomonas syringae*⁽²⁶⁾. Lo que sucede a nivel molecular es que los complejos de receptores quinasas de defensa, tales como LRR-RLKs y LysM-RLKs, reconocen las moléculas de Rhs,

al tiempo que producen proteínas de tipo NBS-LRR para neutralizar a las bacterias ⁽⁷⁶⁾. Algunos genes del grupo NBS-LRR, tales como Rj2, Rfg1 y Rj4 están asociados con la restricción del hospedante a un rango de bacterias, debido a que codifican para la familia cinco de proteínas asociadas con patogénesis ^(77,78).

En el caso de los Rhs, los nódulos no pueden crecer indefinidamente, es por esta razón, que el hospedante trata de regular la cantidad y el momento de la colonización. Se han logrado identificar al menos cinco factores endógenos y exógenos principales que controlan la nodulación, los cuales, de una manera u otra, se encuentran relacionados. En primera instancia se presenta un mecanismo propio del huésped denominado “sistema de autorregulación (AON)”, mediado por un complejo de señalización inducido por las bacterias, también la cantidad de nitrógeno disponible en el suelo puede influir, la presencia del etileno en la rizosfera, el pH del suelo (principalmente ácido) y varios factores bióticos/abióticos, que pueden ocasionar estrés para la planta huésped y, en consecuencia, producir menos nódulos por un efecto de reducción de las fuentes carbonadas en el sumidero ⁽⁵⁸⁾. Para el caso del mecanismo AON, los péptidos CLE1 y CLE2 en *M. truncatula*, sus homólogos RIC 1 y RIC 2 en *G. max* y *P. vulgaris* o los CLE-RS1 y CLE-RS2 en *Lotus japonicus*, son los responsables de enviar una señal al tallo de la planta para que se regule la cantidad de nódulos y, en consecuencia, en este órgano vegetal, se forme un complejo de receptores con el péptido para desencadenar una señal que vuelve a ser enviada a las raíces, para frenar el número de nódulos simbióticos ⁽⁷⁹⁻⁸²⁾.

El mecanismo de colonización compartido

Para entender el proceso de colonización, desarrollo y reproducción de los Rhs, inicialmente se trabajó con mutantes que nodulaban poco o no lo hacían. En estos experimentos la idea fue evaluar el comportamiento del huésped vegetal en ausencia o expresión de uno o varios genes ⁽⁸³⁾. En este tipo de experimento se observó una afectación en cuanto a la actividad y capacidad colonizativa de los HMA. Lo anterior llevó a pensar a los investigadores que, de alguna manera, el mecanismo por el cual se abrían paso los microsimbiontes, era más que anatómico-fisiológico y se podría encontrar su origen a nivel molecular ⁽⁸³⁻⁸⁵⁾. Era de esperar encontrar genes comunes ya que estos microorganismos simbiotes comparten un mecanismo de entrada en la planta muy similar en el estado previo a ingresar en su huésped, el cual se encuentra separado por una membrana perisimbiótica altamente especializada ⁽⁸⁶⁾. En los Rhs se forma una estructura llamada simbiosoma ⁽⁸⁷⁾ y en los HMA se conoce como membrana perihaustral, que es la que rodea los arbusculos ⁽¹⁸⁾. Es a través de esas membranas donde ocurre el intercambio de nutrientes con el huésped ^(88,89) y se ha encontrado a los genes HA1 y ANN2 en la planta modelo *Medicago truncatula*, como responsables de acidificar la membrana perisimbiótica y perihaustral, probablemente para facilitar el transporte cruzado entre huésped-simbionte en el caso de HA1 y ANN2 como un inductor del primordio de nodulación, así como de células que contienen arbusculos ⁽⁹⁰⁾ (Figura 1).

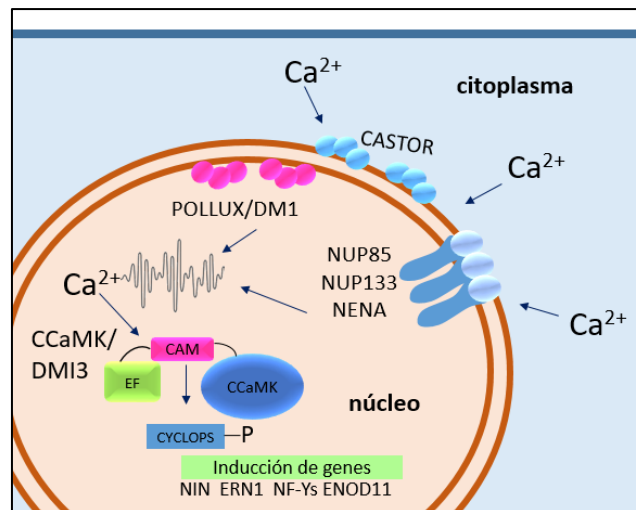


Fuente propia

Figura 1. Genes responsables de acidificar la membrana perisimbótica y perihaustral (ANN2 y Ha1) y genes responsables de transportar glucosa (Sweet1 y Sweet3) e hidrolizar sacarosa (Sus1 y Sus3)

En cuanto al transporte de fuentes de carbono desde el huésped hacia los simbiontes se ha encontrado en *Medicago truncatula* que Sus1 y Sus3 son genes presentes, tanto en HMA como en Rhs, los cuales codifican para la sacarosa sintasa, cuya responsabilidad es hidrolizar fuentes como sacarosa y almidón ⁽⁹¹⁾. En el caso de los HMA se expresa el gen SWEET1b que codifica para un transportador de glucosa desde el huésped a la membrana periarbuscular, lo que se convierte en un factor importante para el crecimiento intraradical del micelio, así como la proliferación de bacterias (Figura 1). Los genes SWEET incluso han sido identificados en hongos y bacterias patogénicas ⁽⁹²⁾.

Aunque el mecanismo por el cual se desarrollan las estructuras de los HMA y Rhs son distintos, en el proceso inicial de la percepción, colonización y el posterior complejo de traducción de señales que da inicio a la nodulación y la micorrización en leguminosas, son muy similares y se pueden incluso solapar. Los genes que se comparten a nivel del proceso de colonización son denominados genes comunes SYM ⁽¹⁸⁾, haciendo alusión al proceso de simbiosis. Algunos investigadores han realizado un resumen de al menos siete genes SYM (SYMRK, CASTOR, POLLUX, SYM3, SYM6, SYM15 y SYM24), entre ellos quinasas receptoras, canales putativos de proteínas y nucleoporinas, los cuales son necesarios para la entrada en la epidermis vegetal en ambos simbiontes ⁽⁹³⁻⁹⁵⁾. NUP85 y CYCLOPS también han sido informados ⁽¹⁶⁾. En otros cultivos diferentes a las leguminosas, como es el caso de arroz (*Oryza sativa* L.), se ha reportado también genes comunes para Rhs y HMA, tales como CASTOR, POLLUX, DMI3/CCaMK y CYCLOPS ⁽⁹⁶⁾ (Figura 2).



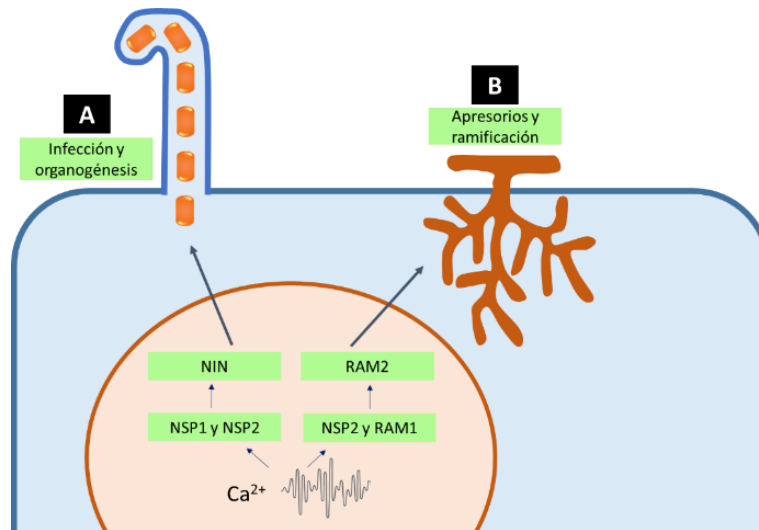
Fuente propia

Ruta compartida por la colonización de Rhs y HMA

Figura 2. Genes que codifican para los transportadores de calcio (CASTOR, POLLUX/DM1, NUP85, NUP133, NENA) dentro del núcleo celular vegetal e inducción de una gradiente del catión

A pesar de que hay genes SYM que comparten los Rhs y los HMA, es importante destacar que ambos simbiontes desarrollaron formas diferentes para colonizar en su huésped. En el caso de los Rhs, forman un tubo que va penetrando las células y en el caso de los HMA un aparato de pre-penetración o apresorio. Algunos investigadores sugieren que el apresorio está relacionado con factores transcripcionales de los genes ENOD11 y ENOD12 que, a su vez, son inducidos por los Rhs⁽⁹⁷⁾. Posteriormente otros investigadores encontraron que los ENOD son claves para la colonización y la organogénesis en Rhs y son regulados por ERN1 (Factor de respuesta de etileno requerido para la nodulación 1)⁽⁵⁵⁾.

Por otra parte, ambos simbiontes, tal como se mencionó anteriormente, requieren comunicarse con las raíces del huésped para poder desarrollar el proceso simbiótico. En esta comunicación se mencionó que se activan los genes Nod (en Rhs) y Myc (en HMA), los cuales logran producir un LCOs y LCOs+COS, respectivamente. Algunos hongos formadores de micorrizas como *Rhizophagus irregularis* producen LCOs sulfatados muy similares a los LCOs emitidos por los factores Nod de la bacteria *Sinorhizobium meliloti* en la planta *M. truncatula*. Esto provoca, en paralelo, que la planta “crea” que será colonizada por Rhs, cuando en realidad será por un HMA, ocasionando así la curvatura de los pelos radicales y la proliferación de raíces laterales⁽³⁶⁾. A nivel molecular, este acontecimiento desencadena que la leguminosa active el factor de transcripción NSP1 (Ruta de señalización para la nodulación) requerido para la nodulación y el gen RAM1 (Requerido para la micorrización arbuscular) requerido para la colonización por HMA^(98,99) (Figura 3).



Fuente propia

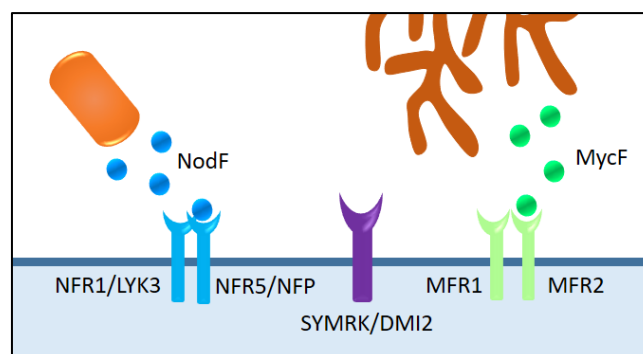
A: en el primer caso, se dispone la activación de NIN para continuar con la colonización y la organogénesis de los nódulos

B: en el segundo caso se promueve la ramificación de las hifas

Figura 3. Inducción del mecanismo de aceptación del huésped vegetal al exponerse a Rhs y HMA

Otro mecanismo de percepción de la señal externa y que, además, interactúa con los factores Nod/Myc es llevado a cabo por hormonas, tal es el caso de los brasinoesteroides, con el gen BRI1 y las estrigolactonas con el gen CCD7, los cuales están implicados en la señalización de la simbiosis entre Rhs/HMA ^(69,70). Las proteínas DELLA, relacionadas con las giberelinas, también participan en la regulación de la expresión negativa de genes inducidos por los factores Nod para Rhs/MA y esto se manifiesta en la relación estrecha que presentan con los TF IPD3 y NSP2 ⁽¹⁰⁰⁾.

A nivel de receptores del huésped, los receptores LjNFR1/MtLYK3 y LjNFR5/MtNFP de la membrana vegetal, perciben el estímulo de los factores Nod. Sin embargo, existe un tercer gen que codifica para un tipo de receptor similar llamado LjSYMRK y su ortólogo MtDMI2. Estos últimos cumplen la misma función, puesto que son del tipo SYM, lo que quiere decir que logran percibir el estímulo, tanto de los HMA, como de los Rhs (Figura 4) ^(101,102). El gen LjSYMRK/MtDMI2 fue el primero encontrado como común para la simbiosis de HMA y Rhs. También los receptores MFR1 y MFR2 son específicos de los HMA.

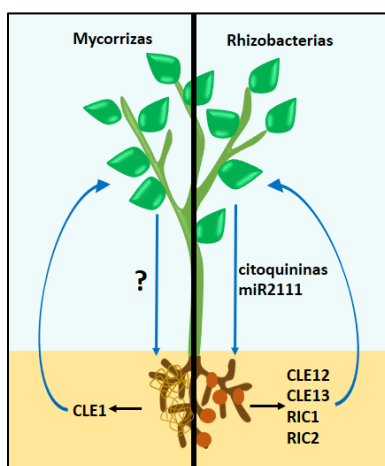


Fuente propia

Figura 4. Genes que codifican para los receptores vegetales involucrados con el reconocimiento de los factores de nodulación y colonización en Rhs y HMA

Una vez percibido el estímulo y dentro del núcleo celular del huésped, se induce una despolarización de la membrana celular y un cambio en el flujo de iones, especialmente de calcio en la membrana nuclear. Este proceso fue descrito anteriormente y, de acuerdo a lo mencionado, quedó demostrada la similitud entre Rhs y HMA, pues el calcio es modulado por los genes DMI1 y NENA, que son compartidos entre Rhs y HMA. DMI1 está relacionado con un canal transportador de Ca^{2+} y NENA con una proteína transportadora por nucleoporinas, ambos afectan en igual medida la infección de los simbiontes ⁽⁷⁴⁾. Posterior a la despolarización de Ca^{2+} en Rhs, se produce en paralelo una formación de complejos entre proteínas GRAS como factores de transcripción (NSP1, NSP2), en conjunto con los RAM1 y RAM2, los cuales inducen la biosíntesis de monómeros de cutina y están relacionados con la formación de apresorios en HMA (Figura 3).

Otro hecho relevante y que es compartido por los Rhs y HMA es la presencia de hormonas específicas como las proteínas CLE, las cuales actúan como mediadores de la comunicación entre célula-célula en las plantas y están claramente identificadas en *M. truncatula*, así como sus homólogos en otras especies de leguminosas. Específicamente, son las moléculas que le comunican a los brotes para que envíen una señal a las raíces, indicando detener la colonización por bacterias ^(80,81) (Figura 5). Sin embargo, estos péptidos también son incorporados en las raíces, a través de los HMA, para modular la arquitectura radicular, favoreciendo el crecimiento lateral e inhibiendo el apical ⁽¹⁰³⁾. Lo anterior, de alguna manera, hace pensar que pueda haber una implicación directa o indirecta en la regulación de la infección por Rhs, mediada por los HMA, ya que en condiciones de una colonización dual, los péptidos CLE activarán el mecanismo de regulación en las plantas para no permitir más colonización.



Fuente propia

CLE1 también es incorporado por HMA, resultando en ramificación de las raíces secundarias

Figura 5. Péptidos CLE enviados desde los nódulos a los brotes y estos, a su vez, activan el mecanismo AON para regular la cantidad de los mismos

Algunos investigadores reportan disminución en la presencia de Rhs por inoculación de HMA ⁽¹⁰⁴⁾. En otros estudios, por el contrario, se ha realizado y cuantificado la infección dual por inoculación con Rhs/HMA *versus* inoculación individual y se ha encontrado que, a pesar de que los HMA pueden activar el mecanismo AON por medio de los péptidos CLE, no son suficientes para reducir la infección por Rhs; de hecho, se han visto incluso reducidas en cuanto a la cantidad de hifas en el tejido de su huésped y son más eficientes cuando se inoculan en conjunto con Rhs ^(23,105–107). Lo descrito anteriormente expone cómo no solamente existe una regulación de los simbioses por parte de la planta; sino que también se da a nivel de los propios microorganismos; sin embargo, no tiene la magnitud suficiente y más bien conviven con su huésped. Por otra parte, los Rhs tienen un compuesto característico y abundante: las leghemoglobinas, cuya función es proteger a las bacterias de la entrada de oxígeno para que la nitrogenasa pueda realizar la fijación biológica de nitrógeno atmosférico ⁽²¹⁾. El gen Vflb29 es el responsable de producir las proteínas necesarias para la leghemoglobina. Este gen se expresa de igual manera cuando hay infección por HMA, debido a que la expresión del promotor de un gen que codifica para un transportador de fósforo (StPt3), activa la expresión de Vflb29 ^(18,108).

Con la llegada de nuevas tecnologías, como los estudios de expresión génica, a través del transcriptoma, se han logrado dilucidar los genes que se activan o silencian cuando una planta es colonizada por HMA, Rhs o ambos. Los primeros estudios en esta temática encontraron 75 genes regulados “corriente arriba” (hacia el extremo 5´) durante el evento de colonización dual ⁽⁹⁰⁾.

Posteriormente, otros investigadores compararon perfiles diferenciados de expresión de genes (DEGs), y se encontró expresión génica “corriente arriba/corriente abajo” (hacia el extremo 5´/hacia el extremo 3´), siendo 288/233 genes comunes para HMA y Rhs ⁽²⁷⁾. En este estudio se encontraron perfiles de expresión cuantitativa de genes en tres etapas: procesos biológicos (PB), función molecular (FM) y componentes celulares (CC). De acuerdo a lo anterior, en PB se obtuvo alta frecuencia de genes relacionados con procesos metabólicos, rutas energéticas, traducción de señales, transporte y respuesta al estrés; para la etapa FM genes relacionados con enzimas de actividad catalítica como la hidrolasa, oxidoreductasa, proteínas quinasas y actividad transferasa y, finalmente, para la etapa CC, se encontraron genes para la pared celular y la membrana plasmática. En resumen, los genes se agruparon en tres conglomerados de expresión, según los procesos involucrados y se determinó que, tanto los HMA como los Rhs, comparten genes involucrados en los procesos de defensa, la estructura de la pared celular y el metabolismo de N y P ⁽²⁷⁾.

Finalmente, los estudios aquí presentados no necesariamente describen la totalidad de la diversidad de expresión de genes, pues se han realizado en especies modelo y cada huésped vegetal interactúa de forma singular con su(s) simbiote(s). En algunos casos se han inoculado varias especies vegetales con un mismo HMA y se han obtenido respuestas metabólicas similares, a este mecanismo se le conoce como especie-independiente. Por ejemplo, al inocular varias especies vegetales con el hongo *Rhizophagus irregularis* se observó un cambio en el metaboloma de entre 18-45 % en todas las especies inoculadas ^(109,110). También se ha registrado una asociación especie-dependiente, es decir, al inocular con un hongo varias especies vegetales se ha obtenido únicamente un cambio en el metaboloma de una sola especie ⁽¹¹¹⁾.

El proceso de colonización de los HMA a nivel molecular aún no está esclarecido, por lo cual es necesario profundizar al respecto. En perspectivas futuras, los estudios de expresión de genes y edición de genomas serán clave para dilucidar el mecanismo de la simbiosis dual, a nivel de señalización temprana y colonización temprana, los cuales permitirán a su vez en el caso de los HMA, aclarar cada proceso a nivel molecular.

La ingeniería genética como proa del desarrollo biotecnológico de los hma y los Rhs

Con el advenimiento de nuevas tecnologías y herramientas en el campo de la ingeniería genética, existe una tendencia a desarrollar proyectos en esta línea, debido a que cada vez que un estudio se publica, se abren más interrogantes y posibilidades de realizar modificaciones en numerosos campos. En cuanto a los Rhs es importante destacar el potencial que existe en cuanto a la modificación de la aceptación de una bacteria por parte del huésped vegetal.

Según lo mencionado y de acuerdo a lo descrito durante este documento, se han registraron genes del grupo NBS-LRR, tales como Rj2, Rfg1 y Rj4 que están asociados a la restricción del hospedero a un rango de bacterias, debido a que codifican para la familia 5 de proteínas asociadas con patogénesis ^(77,78) y esto es motivo de atención para una posible modificación de estos genes. Un grupo de investigadores realizaron las primeras aproximaciones, utilizando CRISPR/Cas9 para aumentar la colonización de cepas incompatibles con soya (*Glycine max*) ⁽⁷⁸⁾.

Otra investigación ⁽¹¹²⁾, en la que se realizó la modificación de los péptidos NCR (nódulo rico en cisteína) fue informada. Estas moléculas tienen un papel importante en la restricción de Rhs y esto le permitió a *M. truncatula* ser colonizada por una cepa de Rhs poco infectiva hasta entonces ⁽¹⁰³⁾. Finalmente, existe también la posibilidad de modificar los receptores LjNFR1/MtLYK3 y LjNFR5/MtNFP, ya que alteran el grado y la especificidad en que una especie de Rhs logra colonizar al huésped vegetal ⁽¹¹³⁾.

Los criterios señalados indican que existe la posibilidad de que diferentes especies vegetales puedan ser colonizadas por más de una cepa de Rhs, aunque puede existir cierta especificidad entre el genoma vegetal y bacteriano, contribuyendo a optimizar la expresión de cada gen. A pesar de lo anterior, también debe asumirse una posición cautelosa para que el balance hacia la planta o el ecosistema sea siempre positivo, sin embargo, constituye una línea de investigación interesante.

Otro aspecto a considerar es el uso de la transformación genética con el propósito de transferir genes de unas especies de Rhs a otras, en la búsqueda de mejorar la eficiencia de la colonización del huésped. Se ha registrado transferencia de genes Nod de unas bacterias a otras; por ejemplo, de *Rhizobium leguminosarum* a *Rhizobium phaseoli* para que estas últimas colonicen arvejas (*Pisum sativum*), además de frijoles (*Phaseolus vulgaris*) ⁽¹¹⁴⁾. Por medio de esta tecnología también se abre la posibilidad de transferir genes Nif (fijación de nitrógeno).

La transformación genética puede llevarse a cabo por métodos directos o indirectos. En este caso utilizar métodos indirectos por medio de *Agrobacterium* sería lo indicado, debido a que comparte mucha similitud con los Rhs de leguminosas.

Además de la transformación genética a nivel de bacteria, podría considerarse la transformación a nivel de huésped. Los genes candidatos para este fin son: Rj2, Rfg1 y Rj4 del grupo de los NBS-LRR y los relacionados con los receptores NFR1/LYK3 y NFR5/NFP (alteran el grado y la especificidad en que una especie de Rh logra colonizar al huésped vegetal).

Siguiendo la línea de los Rhs, existe la posibilidad de modificar la enzima nitrogenasa (NifH, NifD, NifK, NifE y NifN), la cual está constituida de una subunidad larga compuesta por Molibdeno-Hierro y una pequeña compuesta por una proteína férrica o reductasa dinitrogenasa. Esta última, se acopla a un complejo de Mg-ATP que entrega energía y dona electrones para la reducción de nitrógeno ⁽¹¹⁴⁾. Esta enzima se ha identificado en la mayoría de las especies de leguminosas infectadas por Rhs, razón por la cual puede ser de especial atención para su modificación genética. El principal objetivo sería hacerla más eficiente mejorando el acoplamiento con Mg-ATP e incrementando la reducción de nitrógeno. Lo anterior provocaría una mayor entrega de amonio (principalmente) a la planta.

Por otra parte, el molibdeno, así como el hierro y el azufre son importantes para la nitrogenasa. Un grupo de investigadores identificaron que los genes MOT1.2/1.3 están relacionados con transportadores que se encuentran en la membrana plasmática de las células endodermiales los cuales encierran las ramificaciones vasculares del nódulo y estas modulan la entrada, así como la distribución de Mo en las células ⁽¹¹⁵⁾. Aún falta por determinar cómo el Mo es transportado al simbiosoma ⁽³⁸⁾, pero esos genes son candidatos para ser estudiados y descifrar la posibilidad de hacer la subunidad Mo-Fe de la nitrogenasa más eficiente.

Los transportadores de calcio (NENA, CASTOR, POLLUX, NUP85, NUP133, DMI3 y DMI1) también son susceptibles de ser modificados, de tal forma que el gradiente de calcio que se produzca en el núcleo sea motivo de una mayor transcripción de respuesta de la colonización. Resulta importante destacar que, independientemente del transportador que se elija modificar, lo que debe buscarse es la optimización del proceso; es decir, no exceder los límites que la planta pueda tolerar para no causar un desequilibrio en términos de balance energético.

En cuanto a los HMA el uso más común es la extracción de sus propágulos del suelo para inocular *ex-situ* y de esta forma incrementar la cantidad de este tipo de hongo en suelos agrícolas, esto se lleva a cabo debido a que los HMA son poco específicos y pueden colonizar varios hospederos, registrándose así muchos estudios al respecto ⁽¹¹⁶⁾. La identificación de especies nuevas a través de la metagenómica puede apoyar la típica inoculación *ex-situ*; recientemente se encontró especies nuevas en ambientes tan inhóspitos como desiertos y podrían ser utilizados en diversos cultivos para incrementar sus rendimientos ⁽¹¹⁷⁾. Además, la secuenciación de los HMA podría brindar nuevos descubrimientos en cuanto a genómica y transcriptómica referentes al mecanismo de infección que comparten con los Rhs.

El uso de la ingeniería genética tiene un gran potencial para la agricultura, pero se necesita la secuenciación de especies para identificar y modificar la expresión de genes de interés. Sin embargo, este aspecto ha sido

poco investigado y solamente se ha secuenciado *R. irregularis*, en un estudio, donde se realiza una recopilación de genes de interés que pueden ser modificados en esta especie ⁽¹⁰⁹⁾. Por su parte, algunos investigadores sugieren utilizar, inicialmente, la información obtenida en otros hongos como *Aspergillus niger* y *Penicillium chrysogenum* en cuanto a promotores y factores de transcripción ⁽¹¹⁸⁾.

Debido a que la mayoría de HMA no se reproducen sexualmente, convierte a estos organismos en altamente prometedores al utilizar ingeniería genética y biología sintética, ya que los genes que se introduzcan difícilmente se incorporarán de forma cruzada en otras especies ⁽¹¹⁹⁾. Además, este tipo de hongos tiene gran importancia en la fitoremediación de suelos contaminados con metales pesados, puesto que hay registros científicos de la posibilidad de mejorar la expresión de genes que codifican para proteínas quelatantes como fitoquelatinas y metalotioneinas, así como metabolitos como oxalato, los cuales desactivan la toxicidad por metales pesados ^(109,120).

A pesar de los beneficios brindados por los HMA mencionados en esta revisión, no es suficiente la investigación que se ha realizado en genética molecular para incrementar los efectos benéficos de estos hongos. Primeramente, la investigación futura debe enfocarse en temas básicos como identificación y expresión de genes que puedan afectar el crecimiento y el metabolismo de las plantas. Por otra parte, con estudios de metagenómica, caracterizar la diversidad que existe en el ambiente edáfico, para de esta forma contar con una amplia variedad de opciones en cuanto a futuras aplicaciones que podrían ser provechosas para el ser humano y los diferentes ecosistemas.

CONCLUSIONES

- Los microsimbiontes (Rhs y HMA) se orientan a su huésped por la señal emitida por las raíces del mismo. Al percibir la señal, ambos microsimbiontes comienzan a activar genes que secretan compuestos que se ligan con la membrana de su huésped para, a su vez, activar el mecanismo de aceptación y acoplamiento por parte de la planta.
- La planta configura su anatomía, expresando genes que le permiten a los microsimbiontes colonizar e intercambiar compuestos químicos en un proceso de comunicación continuo, a través de la membrana perisimbótica y perihaustral para el caso de Rhs y HMA, respectivamente.
- Los genes comunes tienen gran potencial para ser candidatos de modificación genética y de esta forma hacer más eficiente la colonización, ya sea por una o varias especies de microsimbiontes. Es importante evaluar cuando la eficiencia máxima se alcanza de forma individual o con un conjunto de especies/cepas.
- A pesar de que la mayoría de los HMA son complejos de secuenciar por su dificultad de cultivo a nivel de laboratorio, es necesario llevar a cabo este tipo de estudios, así como aprovechar tecnologías actuales, como la metagenómica, para identificar especies y los genes relacionados con las vías de colonización, regulación y expresión. Una vez esclarecidos, se podrán identificar nuevos genes comunes a ambos simbiontes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gruber N, Galloway JN. An Earth-system perspective of the global nitrogen cycle. *Nature* [Internet]. 2008;451(7176):293–6. Available from: <https://www.nature.com/articles/nature06592>
2. Sakamoto K, Ogiwara N, Kaji T. Involvement of autoregulation in the interaction between rhizobial nodulation and AM fungal colonization in soybean roots. *Biology and Fertility of soils* [Internet]. 2013;49(8):1141–52. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00374-013-0804-8>
3. Foyer CH, Lam H-M, Nguyen HT, Siddique KH, Varshney RK, Colmer TD, et al. Neglecting legumes has compromised human health and sustainable food production. *Nature plants* [Internet]. 2016;2(8):1–10. Available from: <https://www.nature.com/articles/nplants2016112>
4. Wade MJ. The co-evolutionary genetics of ecological communities. *Nature Reviews Genetics* [Internet]. 2007;8(3):185–95. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrg2031>
5. Gilbert SF, Bosch TC, Ledón-Rettig C. Eco-Evo-Devo: developmental symbiosis and developmental plasticity as evolutionary agents. *Nature Reviews Genetics* [Internet]. 2015;16(10):611–22. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrg3982>
6. Kiers ET, West SA. Evolving new organisms via symbiosis. *Science* [Internet]. 2015;348(6233):392–4. Available from: <https://www.science.org/doi/abs/10.1126/science.aaa9605>
7. McFall-Ngai M, Hadfield MG, Bosch TC, Carey HV, Domazet-Lošo T, Douglas AE, et al. Animals in a bacterial world, a new imperative for the life sciences. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [Internet]. 2013;110(9):3229–36. Available from: <https://www.pnas.org/content/110/9/3229.short>
8. Simon L, Bousquet J, Lévesque RC, Lalonde M. Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. *Nature* [Internet]. 1993;363(6424):67–9. Available from: <https://www.nature.com/articles/363067a0>
9. Remy W, Taylor TN, Hass H, Kerp H. Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1994;91(25):11841–3.
10. Doyle JJ. Phylogenetic perspectives on the origins of nodulation. *Molecular Plant-Microbe Interactions* [Internet]. 2011;24(11):1289–95. Available from: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/MPMI-05-11-0114>
11. Lum MR, Hirsch AM. Roots and their symbiotic microbes: strategies to obtain nitrogen and phosphorus in a nutrient-limiting environment. *Journal of Plant Growth Regulation* [Internet]. 2002;21(4):368–82. Available from: https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/50695661/Roots_and_Their_Symbiotic_Microbes_Strat20161203-18979-zmsc1o.pdf?1480786248=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DRoots_and_their_symbiotic_microbes_strat.pdf&Expires=1637980035&Signature=CLS84WGYgwkPInm3BQHfvQcxuywR35uX-15tbKWTGDWhvTiOOJrRWuR-GP1M6AhDYI2pcH5beB7wk3ZL3h3Bqlq5W5phQyTb5qUqYGs7c8w~a3ZgGzYNS8ZQcFTTrFA0M

jAZItmdG-AsX6a3dcCrEJXkDIyC6AbkWREc8h7Ekhwb4zJ12R4w2gshuoVmXm7NbeVCkcB-
K7juNRbTFff-gApnUfrPvYxydDq9c8rng9DKr8S3tynVW9-
d5EW~X1x~RB7hVM83kwAfr9Tx0zWoJzt8ardCPY6E7YVMMU1QOPvb-
e1gCCNwImedD5azzJt0YNMjdNRnsZd7jGcaZ~iBsQ__&Key-Pair-
Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA

12. Kennedy AC, de Luna LZ. RHIZOSPHERE. In: Hillel D, editor. Encyclopedia of Soils in the Environment [Internet]. Oxford: Elsevier; 2005 [cited 26/11/2021]. p. 399–406. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B0123485304001636>
13. SCHÜBLER A, Schwarzott D, Walker C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. Mycological research [Internet]. 2001;105(12):1413–21. Available from: <https://www.cambridge.org/core/journals/mycological-research/article/abs/new-fungal-phylum-the-glomeromycota-phylogeny-and-evolution/6A4E3EB5D8D502B5571F591F5B705C47>
14. Kistner C, Parniske M. Evolution of signal transduction in intracellular symbiosis. Trends in plant science [Internet]. 2002;7(11):511–8. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1360138502023567>
15. Vessey JK, Pawlowski K, Bergman B. Root-based N₂-fixing symbioses: legumes, actinorhizal plants, *Parasponia* sp. and cycads. Plant and soil [Internet]. 2005;274(1):51–78. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11104-005-5881-5>
16. Parniske M. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. Nature Reviews Microbiology [Internet]. 2008;6(10):763–75. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrmicro1987>
17. Solís-Ramos LY, Coto-López C, Andrade-Torres A. Role of arbuscular mycorrhizal symbiosis in remediation of anthropogenic soil pollution. Symbiosis [Internet]. 2021;1–16. Available from: https://www.researchgate.net/profile/Laura-Solis-Ramos/publication/351356453_Role_of_arbuscular_mycorrhizal_symbiosis_in_remediation_of_anthropogenic_soil_pollution/links/6102c0bd0c2bfa282a0d4330/Role-of-arbuscular-mycorrhizal-symbiosis-in-remediation-of-anthropogenic-soil-pollution.pdf
18. Manchanda G, Garg N. Endomycorrhizal and rhizobial symbiosis: How much do they share? Journal of Plant Interactions [Internet]. 2007;2(2):79–88. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17429140701558000>
19. Matson PA, Parton WJ, Power AG, Swift MJ. Agricultural intensification and ecosystem properties. Science [Internet]. 1997;277(5325):504–9. Available from: <https://www.science.org/doi/abs/10.1126/science.277.5325.504>
20. Bonfante P, Genre A. Mechanisms underlying beneficial plant–fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. Nature communications [Internet]. 2010;1(1):1–11. Available from:

https://www.nature.com/articles/ncomms1046?fbclid=IwAR1g7_DQ5BfH6DKqDAuMLO0CIqwsSMMgkEUVRMWED7EVdhpQcloMbKDEMfs

21. Li X, Feng H, Wen J, Dong J, Wang T. MtCAS31 aids symbiotic nitrogen fixation by protecting the leghemoglobin MtLb120-1 under drought stress in *Medicago truncatula*. *Frontiers in plant science* [Internet]. 2018;9:633. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2018.00633/full>
22. Kim G-B, Son S-U, Yu H-J, Mun J-H. MtGA2ox10 encoding C20-GA2-oxidase regulates rhizobial infection and nodule development in *Medicago truncatula*. *Scientific reports* [Internet]. 2019;9(1):1–13. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-42407-3>
23. Sakamoto K, Ogiwara N, Kaji T, Sugimoto Y, Ueno M, Sonoda M, et al. Transcriptome analysis of soybean (*Glycine max*) root genes differentially expressed in rhizobial, arbuscular mycorrhizal, and dual symbiosis. *Journal of plant research* [Internet]. 2019;132(4):541–68. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31165947/>
24. Sakamoto K, Nohara Y. Soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) shoots systemically control arbuscule formation in mycorrhizal symbiosis. *Soil science and plant nutrition* [Internet]. 2009;55(2):252–7. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1111/j.1747-0765.2009.00358.x>
25. Gill AS, Purnell K, Palmer MI, Stein J, McGuire KL. Microbial Composition and Functional Diversity Differ Across Urban Green Infrastructure Types. *Frontiers in Microbiology* [Internet]. 2020;11:912. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.00912/full>
26. Bozsó Z, Maunoury N, Szatmari A, Mergaert P, Ott PG, Zsíros LR, et al. Transcriptome analysis of a bacterially induced basal and hypersensitive response of *Medicago truncatula*. *Plant molecular biology* [Internet]. 2009;70(6):627–46. Available from: https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/46335421/s111103-009-9496-820160608-1847-i5rbjk.pdf?1465381657=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DTranscriptome_analysis_of_a_bacterially.pdf&Expires=1637981832&Signature=aeoaEBCzv8zj58xJM0o4sYtIYNXTA-ToUh7sY6BR1UBVterlBMLVypqejVHJyV-F-dZ4SpcQHOOgo4bchiNK4k5ZkJiwbrLMH-cTqIRYjngcIvYPydWGNnWpG8Fq2J-SgrU6laJ5ySma0kmp4SUYquIqxqDR-yDgfYuqBW~wLGBhCZcr55SqmAXRsBgbqCohU1Ub1~8f4QeSW6V1IKHLF5-8qsAAV-RQp2Zr4io7yZcCYVH2ooRiPGu5v89pn-o0tmZ4VIPnW12JNtONCpn1-nD1qYs9yiUDn~~6-1sk12X7xGkjmFeoQIDGfO4yqOuRsREByVtPtQvoxw4foIkubuA__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA
27. Nanjareddy K, Arthikala M-K, Gómez B-M, Blanco L, Lara M. Differentially expressed genes in mycorrhized and nodulated roots of common bean are associated with defense, cell wall architecture, N metabolism, and P metabolism. *PloS one* [Internet]. 2017;12(8):e0182328. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0182328>

28. Mohammadi-Dehcheshmeh M, Niazi A, Ebrahimi M, Tahsili M, Nurollah Z, Ebrahimi Khaksefid R, et al. Unified transcriptomic signature of arbuscular mycorrhiza colonization in roots of *Medicago truncatula* by integration of machine learning, promoter analysis, and direct merging meta-analysis. *Frontiers in plant science* [Internet]. 2018;9:1550. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2018.01550/full>
29. Tromas A, Parizot B, Diagne N, Champion A, Hocher V, Cissoko M, et al. Heart of endosymbioses: transcriptomics reveals a conserved genetic program among arbuscular mycorrhizal, actinorhizal and legume-rhizobial symbioses. 2012; Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0044742>
30. Barea J-M. Interaction between mycorrhizal fungi and rhizosphere micro-organisms with in the context of sustainable soil-plant systems. *Multitrophic interactions in terrestrial systems* [Internet]. 1997;65–7. Available from: <https://ci.nii.ac.jp/naid/10029653607/>
31. Sprent JI, James EK. Legume evolution: where do nodules and mycorrhizas fit in? *Plant physiology* [Internet]. 2007;144(2):575–81. Available from: <https://academic.oup.com/plphys/article/144/2/575/6106716?login=true>
32. Zgadzaj R, Garrido-Oter R, Jensen DB, Koprivova A, Schulze-Lefert P, Radutoiu S. Root nodule symbiosis in *Lotus japonicus* drives the establishment of distinctive rhizosphere, root, and nodule bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [Internet]. 2016;113(49):E7996–8005. Available from: <https://www.pnas.org/content/113/49/E7996.short>
33. Ferguson BJ, Indrasumunar A, Hayashi S, Lin M-H, Lin Y-H, Reid DE, et al. Molecular analysis of legume nodule development and autoregulation. *Journal of integrative plant biology* [Internet]. 2010;52(1):61–76. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1744-7909.2010.00899.x>
34. Sprent JI, Ardley J, James EK. Biogeography of nodulated legumes and their nitrogen-fixing symbionts. *New Phytologist* [Internet]. 2017;215(1):40–56. Available from: <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/nph.14474>
35. Dénarié J, Debellé F, Promé J-C. Rhizobium lipo-chitoooligosaccharide nodulation factors: signaling molecules mediating recognition and morphogenesis. *Annual review of biochemistry* [Internet]. 1996;65(1):503–35. Available from: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.bi.65.070196.002443>
36. Mailliet F, Poinso V, André O, Puech-Pagès V, Haouy A, Gueunier M, et al. Fungal lipochitoooligosaccharide symbiotic signals in arbuscular mycorrhiza. *Nature* [Internet]. 2011;469(7328):58–63. Available from: <https://www.nature.com/articles/nature09622>
37. Persson T, Battenberg K, Demina IV, Vigil-Stenman T, Vanden Heuvel B, Pujic P, et al. Candidatus *Frankia daticae* Dg1, the actinobacterial microsymbiont of *Datisca glomerata*, expresses the canonical

- nod genes nodABC in symbiosis with its host plant. *PloS one* [Internet]. 2015;10(5):e0127630. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0127630>
38. Roy S, Liu W, Nandety RS, Crook A, Mysore KS, Pislariu CI, et al. Celebrating 20 years of genetic discoveries in legume nodulation and symbiotic nitrogen fixation. *The Plant Cell* [Internet]. 2020;32(1):15–41. Available from: <https://academic.oup.com/plcell/article/32/1/15/6099066?login=true>
39. Solís-Ramos LY, Andrade-Torres A. Arbuscular Mycorrhizal Fungi in tropical ecosystems towards its management? *Agricultural Research & Technology: Open Access Journal* [Internet]. 2020;24(4):152–5. Available from: https://www.researchgate.net/profile/Laura-Solis-Ramos/publication/343322429_Arbuscular_Mycorrhizal_Fungi_in_Tropical_Ecosystems_Towards_its_Management_Mini_Review/links/5f22ff91a6fdcccc4399dfc9/Arbuscular-Mycorrhizal-Fungi-in-Tropical-Ecosystems-Towards-its-Management-Mini-Review.pdf
40. Croll D, Giovannetti M, Koch AM, Sbrana C, Ehinger M, Lammers PJ, et al. Nonself vegetative fusion and genetic exchange in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *New Phytologist* [Internet]. 2009;181(4):924–37. Available from: <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1469-8137.2008.02726.x>
41. den Bakker HC, VanKuren NW, Morton JB, Pawlowska TE. Clonality and recombination in the life history of an asexual arbuscular mycorrhizal fungus. *Molecular Biology and Evolution* [Internet]. 2010;27(11):2474–86. Available from: <https://academic.oup.com/mbe/article/27/11/2474/1127206?login=true>
42. Paszkowski U. A journey through signaling in arbuscular mycorrhizal symbioses 2006. *New Phytologist* [Internet]. 2006;172(1):35–46. Available from: <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1469-8137.2006.01840.x>
43. Harrison MJ. Molecular and cellular aspects of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Annual review of plant biology* [Internet]. 1999;50(1):361–89. Available from: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.arplant.50.1.361>
44. Johnson NC, Rowland DL, Corkidi L, Egerton-Warburton LM, Allen EB. Nitrogen enrichment alters mycorrhizal allocation at five mesic to semiarid grasslands. *Ecology* [Internet]. 2003;84(7):1895–908. Available from: [https://esajournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1890/0012-9658\(2003\)084\[1895:NEAMAA\]2.0.CO;2](https://esajournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1890/0012-9658(2003)084[1895:NEAMAA]2.0.CO;2)
45. Johnson NC. Resource stoichiometry elucidates the structure and function of arbuscular mycorrhizas across scales. *New Phytologist* [Internet]. 2010;185(3):631–47. Available from: <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1469-8137.2009.03110.x>
46. Maherali H, Klironomos JN. Influence of phylogeny on fungal community assembly and ecosystem functioning. *science* [Internet]. 2007;316(5832):1746–8. Available from: <https://www.science.org/doi/abs/10.1126/science.1143082>

47. Denison RF, Kiers ET. Life histories of symbiotic rhizobia and mycorrhizal fungi. *Current Biology* [Internet]. 2011;21(18):R775–85. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960982211006634>
48. Garcia-Garrido JM, Ocampo JA. Effect of VA mycorrhizal infection of tomato on damage caused by *Pseudomonas syringae*. *Soil Biology and Biochemistry* [Internet]. 1989;21(1):165–7. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0038071789900278>
49. De La Peña E, Echeverría SR, Van Der Putten WH, Freitas H, Moens M. Mechanism of control of root-feeding nematodes by mycorrhizal fungi in the dune grass *Ammophila arenaria*. *New Phytologist* [Internet]. 2006;169(4):829–40. Available from: <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1469-8137.2005.01602.x>
50. Fritz M, Jakobsen I, Lyngkjær MF, Thordal-Christensen H, Pons-Kühnemann J. Arbuscular mycorrhiza reduces susceptibility of tomato to *Alternaria solani*. *Mycorrhiza* [Internet]. 2006;16(6):413–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16614816/>
51. Pozo MJ, Azcón-Aguilar C. Unraveling mycorrhiza-induced resistance. *Current opinion in plant biology* [Internet]. 2007;10(4):393–8. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369526607000702>
52. Jung SC, Martinez-Medina A, Lopez-Raez JA, Pozo MJ. Mycorrhiza-induced resistance and priming of plant defenses. *Journal of chemical ecology* [Internet]. 2012;38(6):651–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22623151/>
53. Akiyama K, Matsuzaki K, Hayashi H. Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature* [Internet]. 2005;435(7043):824–7. Available from: <https://www.nature.com/articles/nature03608>
54. Genre A, Chabaud M, Balzergue C, Puech-Pagès V, Novero M, Rey T, et al. Short-chain chitin oligomers from arbuscular mycorrhizal fungi trigger nuclear Ca²⁺ spiking in *Medicago truncatula* roots and their production is enhanced by strigolactone. *New Phytologist* [Internet]. 2013;198(1):190–202. Available from: <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/nph.12146>
55. Andriankaja A, Boisson-Dernier A, Frances L, Sauviac L, Jauneau A, Barker DG, et al. AP2-ERF transcription factors mediate Nod factor-dependent Mt ENOD11 activation in root hairs via a novel cis-regulatory motif. *The Plant Cell* [Internet]. 2007;19(9):2866–85. Available from: <https://academic.oup.com/plcell/article/19/9/2866/6092340?login=true>
56. Heupel S, Roser B, Kuhn H, Lebrun M-H, Villalba F, Requena N. Erl1, a novel era-like GTPase from *Magnaporthe oryzae*, is required for full root virulence and is conserved in the mutualistic symbiont *Glomus intraradices*. *Molecular plant-microbe interactions* [Internet]. 2010;23(1):67–81. Available from: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/MPMI-23-1-0067>

57. Lanfranco L, Novero M, Bonfante P. The mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* possesses a CuZn superoxide dismutase that is up-regulated during symbiosis with legume hosts. *Plant Physiology* [Internet]. 2005;137(4):1319–30. Available from: <https://academic.oup.com/plphys/article/137/4/1319/6112689?login=true>
58. Ferguson BJ, Mens C, Hastwell AH, Zhang M, Su H, Jones CH, et al. Legume nodulation: The host controls the party. *Plant, cell & environment* [Internet]. 2019;42(1):41–51. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/pce.13348>
59. Wasson AP, Pellerone FI, Mathesius U. Silencing the flavonoid pathway in *Medicago truncatula* inhibits root nodule formation and prevents auxin transport regulation by rhizobia. *The Plant Cell* [Internet]. 2006;18(7):1617–29. Available from: <https://academic.oup.com/plcell/article/18/7/1617/6115313?login=true>
60. Zhang J, Subramanian S, Stacey G, Yu O. Flavones and flavonols play distinct critical roles during nodulation of *Medicago truncatula* by *Sinorhizobium meliloti*. *The Plant Journal* [Internet]. 2009;57(1):171–83. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-313X.2008.03676.x>
61. Subramanian S, Stacey G, Yu O. Endogenous isoflavones are essential for the establishment of symbiosis between soybean and *Bradyrhizobium japonicum*. *The Plant Journal* [Internet]. 2006;48(2):261–73. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-313X.2006.02874.x>
62. Bolaños-Vásquez MC, Werner D. Effects of *Rhizobium tropici*, *R. etli* and *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* on nod gene-inducing flavonoids in root exudates of *Phaseolus vulgaris*. *Molecular plant-microbe interactions* [Internet]. 1997;10(3):339–46. Available from: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/MPMI.1997.10.3.339>
63. Xie F, Murray JD, Kim J, Heckmann AB, Edwards A, Oldroyd GE, et al. Legume pectate lyase required for root infection by rhizobia. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [Internet]. 2012;109(2):633–8. Available from: <https://www.pnas.org/content/109/2/633.short>
64. Haney CH, Long SR. Plant flotillins are required for infection by nitrogen-fixing bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [Internet]. 2010;107(1):478–83. Available from: <https://www.pnas.org/content/107/1/478.short>
65. Lefebvre B, Timmers T, Mbengue M, Moreau S, Hervé C, Tóth K, et al. A remorin protein interacts with symbiotic receptors and regulates bacterial infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [Internet]. 2010;107(5):2343–8. Available from: <https://www.pnas.org/content/107/5/2343.short>
66. Haney CH, Riely BK, Tricoli DM, Cook DR, Ehrhardt DW, Long SR. Symbiotic rhizobia bacteria trigger a change in localization and dynamics of the *Medicago truncatula* receptor kinase LYK3. *The Plant Cell* [Internet]. 2011;23(7):2774–87. Available from: <https://academic.oup.com/plcell/article/23/7/2774/6097218?login=true>

67. Broghammer A, Krusell L, Blaise M, Sauer J, Sullivan JT, Maolanon N, et al. Legume receptors perceive the rhizobial lipochitin oligosaccharide signal molecules by direct binding. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [Internet]. 2012;109(34):13859–64. Available from: <https://www.pnas.org/content/109/34/13859.short>
68. Moling S, Pietraszewska-Bogiel A, Postma M, Fedorova E, Hink MA, Limpens E, et al. Nod factor receptors form heteromeric complexes and are essential for intracellular infection in *Medicago nodules*. *The Plant Cell* [Internet]. 2014;26(10):4188–99. Available from: <https://academic.oup.com/plcell/article/26/10/4188/6101576?login=true>
69. Liu H, Zhang C, Yang J, Yu N, Wang E. Hormone modulation of legume-rhizobial symbiosis. *Journal of Integrative Plant Biology* [Internet]. 2018;60(8):632–48. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jipb.12653>
70. Cheng X, Gou X, Yin H, Mysore KS, Li J, Wen J. Functional characterisation of brassinosteroid receptor MtBRI1 in *Medicago truncatula*. *Scientific reports* [Internet]. 2017;7(1):1–12. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-017-09297-9>
71. Grunewald W, Van Noorden G, Van Isterdael G, Beeckman T, Gheysen G, Mathesius U. Manipulation of auxin transport in plant roots during *Rhizobium* symbiosis and nematode parasitism. *The Plant Cell* [Internet]. 2009;21(9):2553–62. Available from: <https://academic.oup.com/plcell/article/21/9/2553/6096165?login=true>
72. Ariel F, Brault-Hernandez M, Laffont C, Huault E, Brault M, Plet J, et al. Two direct targets of cytokinin signaling regulate symbiotic nodulation in *Medicago truncatula*. *The Plant Cell* [Internet]. 2012;24(9):3838–52. Available from: <https://academic.oup.com/plcell/article/24/9/3838/6100604?login=true>
73. Charpentier M, Bredemeier R, Wanner G, Takeda N, Schleiff E, Parniske M. Lotus japonicus CASTOR and POLLUX are ion channels essential for perinuclear calcium spiking in legume root endosymbiosis. *The Plant Cell* [Internet]. 2008;20(12):3467–79. Available from: <https://academic.oup.com/plcell/article/20/12/3467/6092747?login=true>
74. Groth M, Takeda N, Perry J, Uchida H, Dräxl S, Brachmann A, et al. NENA, a Lotus japonicus homolog of Sec13, is required for rhizodermal infection by arbuscular mycorrhiza fungi and rhizobia but dispensable for cortical endosymbiotic development. *The Plant Cell* [Internet]. 2010;22(7):2509–26. Available from: <https://academic.oup.com/plcell/article/22/7/2509/6096023?login=true>
75. Bapaume L, Reinhardt D. How membranes shape plant symbioses: signaling and transport in nodulation and arbuscular mycorrhiza. *Frontiers in Plant Science* [Internet]. 2012;3:223. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2012.00223/full>

76. Cao Y, Halane MK, Gassmann W, Stacey G. The role of plant innate immunity in the legume-rhizobium symbiosis. *Annual review of plant biology* [Internet]. 2017;68:535–61. Available from: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-arplant-042916-041030>
77. Yang S, Tang F, Gao M, Krishnan HB, Zhu H. R gene-controlled host specificity in the legume–rhizobia symbiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [Internet]. 2010;107(43):18735–40. Available from: <https://www.pnas.org/content/107/43/18735.short>
78. Tang F, Yang S, Liu J, Zhu H. Rj4, a gene controlling nodulation specificity in soybeans, encodes a thaumatin-like protein but not the one previously reported. *Plant Physiology* [Internet]. 2016;170(1):26–32. Available from: <https://academic.oup.com/plphys/article/170/1/26/6114002?login=true>
79. Ferguson BJ, Li D, Hastwell AH, Reid DE, Li Y, Jackson SA, et al. The soybean (*Glycine max*) nodulation-suppressive CLE peptide, Gm RIC 1, functions interspecifically in common white bean (*Phaseolus vulgaris*), but not in a supernodulating line mutated in the receptor Pv NARK. *Plant Biotechnology Journal* [Internet]. 2014;12(8):1085–97. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/pbi.12216>
80. Mortier V, Den Herder G, Whitford R, Van de Velde W, Rombauts S, D’haeseleer K, et al. CLE peptides control *Medicago truncatula* nodulation locally and systemically. *Plant Physiology* [Internet]. 2010;153(1):222–37. Available from: <https://academic.oup.com/plphys/article/153/1/222/6108407?login=true>
81. Okamoto S, Ohnishi E, Sato S, Takahashi H, Nakazono M, Tabata S, et al. Nod factor/nitrate-induced CLE genes that drive HAR1-mediated systemic regulation of nodulation. *Plant and Cell Physiology* [Internet]. 2009;50(1):67–77. Available from: <https://academic.oup.com/pcp/article/50/1/67/1851930?login=true>
82. Reid DE, Ferguson BJ, Gresshoff PM. Inoculation-and nitrate-induced CLE peptides of soybean control NARK-dependent nodule formation. *Molecular Plant-Microbe Interactions* [Internet]. 2011;24(5):606–18. Available from: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/MPMI-09-10-0207>
83. Harrison MJ. Signaling in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Annu. Rev. Microbiol.* [Internet]. 2005;59:19–42. Available from: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.micro.58.030603.123749>
84. Catoira R, Galera C, de Billy F, Penmetsa RV, Journet E-P, Maillet F, et al. Four genes of *Medicago truncatula* controlling components of a Nod factor transduction pathway. *The Plant Cell* [Internet]. 2000;12(9):1647–65. Available from: <https://academic.oup.com/plcell/article/12/9/1647/6009341?login=true>
85. Senoo K, Solaiman MZ, Kawaguchi M, Imaizumi-Anraku H, Akao S, Tanaka A, et al. Isolation of two different phenotypes of mycorrhizal mutants in the model legume plant *Lotus japonicus* after EMS-treatment. *Plant and Cell Physiology* [Internet]. 2000;41(6):726–32. Available from: <https://academic.oup.com/pcp/article/41/6/726/1923261?login=true>

86. Provorov NA, Borisov AY, Tikhonovich IA. Developmental genetics and evolution of symbiotic structures in nitrogen-fixing nodules and arbuscular mycorrhiza. *Journal of Theoretical Biology* [Internet]. 2002;214(2):215–32. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022519301924531>
87. Roth LE, Stacey G. Bacterium release into host cells of nitrogen-fixing soybean nodules: the symbiosome membrane comes from three sources. *European journal of cell biology* [Internet]. 1989;49(1):13–23. Available from: <https://europepmc.org/article/med/2759097>
88. Day DA, Kaiser BN, Thomson R, Udvardi MK, Moreau S, Puppo A. Nutrient transport across symbiotic membranes from legume nodules. *Functional Plant Biology* [Internet]. 2001;28(7):669–76. Available from: <https://www.publish.csiro.au/fp/pp01028>
89. Parniske M. Intracellular accommodation of microbes by plants: a common developmental program for symbiosis and disease? *Current opinion in plant biology* [Internet]. 2000;3(4):320–8. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369526600000881>
90. Manthey K, Krajinski F, Hohnjec N, Firnhaber C, Pühler A, Perlick AM, et al. Transcriptome profiling in root nodules and arbuscular mycorrhiza identifies a collection of novel genes induced during *Medicago truncatula* root endosymbioses. *Molecular Plant-Microbe Interactions* [Internet]. 2004;17(10):1063–77. Available from: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/MPMI.2004.17.10.1063>
91. Hohnjec N, Perlick AM, Pühler A, Küster H. The *Medicago truncatula* sucrose synthase gene MtSucS1 is activated both in the infected region of root nodules and in the cortex of roots colonized by arbuscular mycorrhizal fungi. *Molecular Plant-Microbe Interactions* [Internet]. 2003;16(10):903–15. Available from: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/MPMI.2003.16.10.903>
92. Chen L-Q, Hou B-H, Lalonde S, Takanaga H, Hartung ML, Qu X-Q, et al. Sugar transporters for intercellular exchange and nutrition of pathogens. *Nature* [Internet]. 2010;468(7323):527–32. Available from: <https://www.nature.com/articles/nature09606>
93. Imaizumi-Anraku H, Takeda N, Charpentier M, Perry J, Miwa H, Umehara Y, et al. Plastid proteins crucial for symbiotic fungal and bacterial entry into plant roots. *Nature* [Internet]. 2005;433(7025):527–31. Available from: <https://www.nature.com/articles/nature03237>
94. Kistner C, Winzer T, Pitzschke A, Mulder L, Sato S, Kaneko T, et al. Seven *Lotus japonicus* genes required for transcriptional reprogramming of the root during fungal and bacterial symbiosis. *The Plant Cell* [Internet]. 2005;17(8):2217–29. Available from: <https://academic.oup.com/plcell/article/17/8/2217/6114612?login=true>
95. Kanamori N, Madsen LH, Radutoiu S, Frantescu M, Quistgaard EM, Miwa H, et al. A nucleoporin is required for induction of Ca²⁺ spiking in legume nodule development and essential for rhizobial and

- fungal symbiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [Internet]. 2006;103(2):359–64. Available from: <https://www.pnas.org/content/103/2/359.short>
96. Gutjahr C, Banba M, Croset V, An K, Miyao A, An G, et al. Arbuscular mycorrhiza–specific signaling in rice transcends the common symbiosis signaling pathway. *The Plant Cell* [Internet]. 2008;20(11):2989–3005. Available from: <https://academic.oup.com/plcell/article/20/11/2989/6092513?login=true>
 97. Genre A, Bonfante P. Building a mycorrhizal cell: how to reach compatibility between plants and arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Plant Interactions* [Internet]. 2005;1(1):3–13. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17429140500318986>
 98. Gobbato E, Marsh JF, Vernié T, Wang E, Maillet F, Kim J, et al. A GRAS-type transcription factor with a specific function in mycorrhizal signaling. *Current Biology* [Internet]. 2012;22(23):2236–41. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960982212011463>
 99. Charpentier M, Sun J, Martins TV, Radhakrishnan GV, Findlay K, Soumpourou E, et al. Nuclear-localized cyclic nucleotide–gated channels mediate symbiotic calcium oscillations. *Science* [Internet]. 2016;352(6289):1102–5. Available from: <https://www.science.org/doi/abs/10.1126/science.aae0109>
 100. Jin Y, Liu H, Luo D, Yu N, Dong W, Wang C, et al. DELLA proteins are common components of symbiotic rhizobial and mycorrhizal signalling pathways. *Nature Communications* [Internet]. 2016;7(1):1–14. Available from: <https://www.nature.com/articles/ncomms12433?origin=ppub>
 101. Endre G, Kereszt A, Kevei Z, Mihacea S, Kaló P, Kiss GB. A receptor kinase gene regulating symbiotic nodule development. *Nature* [Internet]. 2002;417(6892):962–6. Available from: <https://www.nature.com/articles/nature00842>
 102. Stracke S, Kistner C, Yoshida S, Mulder L, Sato S, Kaneko T, et al. A plant receptor-like kinase required for both bacterial and fungal symbiosis. *Nature* [Internet]. 2002;417(6892):959–62. Available from: <https://www.nature.com/articles/nature00841>
 103. Wang G, Zhang G, Wu M. CLE peptide signaling and crosstalk with phytohormones and environmental stimuli. *Frontiers in plant science* [Internet]. 2016;6:1211. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2015.01211/full>
 104. Ballesteros-Almanza L, Altamirano-Hernandez J, Pena-Cabriaes JJ, Santoyo G, Sanchez-Yanez JM, Valencia-Cantero E, et al. Effect of co-inoculation with mycorrhiza and rhizobia on the nodule trehalose content of different bean genotypes. *The open microbiology journal* [Internet]. 2010;4:83. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3023947/>
 105. González RL, Sosa BN, Díaz RB. Efecto de la aplicación de Rhizobium y Mycorrizas en el crecimiento del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad CC-25-9 negro. *Centro Agrícola* [Internet]. 2012;39(4):17–20. Available from: http://cagricola.uclv.edu.cu/descargas/pdf/V39-Numero_4/cag044121877.pdf
 106. Quintana LJO, Peraza RH, Gómez EF, Rodríguez CH. Efecto de inoculaciones conjuntas de Rhizobium-micorrizas arbusculares en *Leucaena leucocephala* cv: Perú. *Centro Agrícola* [Internet].

- 2014;41(3):17–21. Available from: http://cagricola.uclv.edu.cu/descargas/pdf/V41-Numero_3/cag033141982.pdf
107. Tajini F, Trabelsi M, Drevon J-J. Combined inoculation with *Glomus intraradices* and *Rhizobium tropici* CIAT899 increases phosphorus use efficiency for symbiotic nitrogen fixation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Saudi Journal of Biological Sciences [Internet]. 2012;19(2):157–63. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319562X11000726>
108. Fehlberg V, Vieweg MF, Dohmann EM, Hohnjec N, Pühler A, Perlick AM, et al. The promoter of the leghaemoglobin gene Vflb29: functional analysis and identification of modules necessary for its activation in the infected cells of root nodules and in the arbuscule-containing cells of mycorrhizal roots. Journal of Experimental Botany [Internet]. 2005;56(413):799–806. Available from: <https://academic.oup.com/jxb/article/56/413/799/550015?login=true>
109. French KE. Engineering mycorrhizal symbioses to alter plant metabolism and improve crop health. Frontiers in Microbiology [Internet]. 2017;8:1403. Available from: <https://internal-journal.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.01403/full>
110. Schweiger R, Baier MC, Persicke M, Müller C. High specificity in plant leaf metabolic responses to arbuscular mycorrhiza. Nature Communications [Internet]. 2014;5(1):1–11. Available from: <https://www.nature.com/articles/ncomms4886>
111. Rivero J, Gamir J, Aroca R, Pozo MJ, Flors V. Metabolic transition in mycorrhizal tomato roots. Frontiers in Microbiology [Internet]. 2015;6:598. Available from: <https://internal-journal.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2015.00598/full>
112. Wang Q, Yang S, Liu J, Terecskei K, Ábrahám E, Gombár A, et al. Host-secreted antimicrobial peptide enforces symbiotic selectivity in *Medicago truncatula*. Proceedings of the National Academy of Sciences [Internet]. 2017;114(26):6854–9. Available from: <https://www.pnas.org/content/114/26/6854.short>
113. Radutoiu S, Madsen LH, Madsen EB, Felle HH, Umehara Y, Grønlund M, et al. Plant recognition of symbiotic bacteria requires two LysM receptor-like kinases. Nature [Internet]. 2003;425(6958):585–92. Available from: <https://www.nature.com/articles/nature02039>
114. Kumar SA, Babu RP, Vivek P, Saravanan D. Role of Nitrogen Fixers as Biofertilizers in Future Perspective: A Review. Research Journal of Pharmacy and Technology [Internet]. 2020;13(5):2459–67. Available from: <https://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:rjpt&volume=13&issue=5&article=070>
115. Gil-Díez P, Tejada-Jiménez M, León-Mediavilla J, Wen J, Mysore KS, Imperial J, et al. MtMOT1. 2 is responsible for molybdate supply to *Medicago truncatula* nodules. Plant, cell & environment [Internet]. 2019;42(1):310–20. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/pce.13388>

116. Torrez V, Ceulemans T, Mergeay J, De Meester L, Honnay O. Effects of adding an arbuscular mycorrhizal fungi inoculum and of distance to donor sites on plant species recolonization following topsoil removal. *Applied Vegetation Science* [Internet]. 2016;19(1):7–19. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/avsc.12193>
117. Symanczik S, Błaszowski J, Chwat G, Boller T, Wiemken A, Al-Yahya’ei MN. Three new species of arbuscular mycorrhizal fungi discovered at one location in a desert of Oman: *Diversispora omaniana*, *Septoglomus nakheelum* and *Rhizophagus arabicus*. *Mycologia* [Internet]. 2014;106(2):243–59. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3852/106.2.243>
118. Polli F, Meijrink B, Bovenberg RA, Driessen AJ. New promoters for strain engineering of *Penicillium chrysogenum*. *Fungal Genetics and Biology* [Internet]. 2016;89:62–71. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1087184515300517>
119. Pawlowska TE. Genetic processes in arbuscular mycorrhizal fungi. *FEMS Microbiology Letters* [Internet]. 2005;251(2):185–92. Available from: <https://academic.oup.com/femsle/article/251/2/185/601349?login=true>
120. Sayer JA, Gadd GM. Solubilization and transformation of insoluble inorganic metal compounds to insoluble metal oxalates by *Aspergillus niger*. *Mycological Research* [Internet]. 1997;101(6):653–61. Available from: <https://www.cambridge.org/core/journals/mycological-research/article/abs/solubilization-and-transformation-of-insoluble-inorganic-metal-compounds-to-insoluble-metal-oxalates-by-aspergillus-niger/0A498FDCFD1784B980BAD284216A8EAB>