



Beneficios de la coinoculación de Hongos Micorrizógenos Arbusculares y rizobios en el cultivo del frijol

Benefits of co-inoculation of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and rhizobia in bean cultivation

✉ Anicel Delgado-Álvarez*, ✉ Gloria M. Martín-Alonso, ✉ Ramón A. Rivera-Espinosa

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

RESUMEN: El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) constituye una de las especies de leguminosas de alto consumo humano. En Cuba, constituye uno de los platos indispensables en el menú cubano, siendo el frijol negro el más común en la comida criolla. A pesar de su importancia y el hecho de que es un cultivo tradicional, es necesario incrementar la productividad de las plantas de manera sostenible, con baja cantidad de recursos y con los mejores estándares de calidad, la producción nacional aún no satisface la demanda del consumo. Los biofertilizantes representan un medio sustentable, económicamente atractivo y ecológicamente aceptable, para reducir los insumos externos y mejorar la cantidad y calidad de los productos agrícolas, mediante la utilización de microorganismos del suelo debidamente seleccionados, capaces de poner a disposición de las plantas, mediante su actividad biológica. Entre los microorganismos que más se han utilizado para la elaboración de biofertilizantes se encuentran las bacterias del género *Rhizobium* (rizobios) y los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA). Los rizobios son bacterias fijadoras de nitrógeno y las plantas, tiene lugar en la raíz la formación del nódulo especializado, que garantiza la reducción del nitrógeno atmosférico. Las micorrizas son asociaciones simbióticas mutualistas esta interacción los hongos se benefician con el suministro de fuentes carbonadas provenientes de la planta y ésta se beneficia por la mayor exploración del suelo, lo que aumenta el crecimiento y desarrollo de las plantas. Los beneficios de la coinoculación rizobios-HMA en las leguminosas de interés agrícola, sin embargo, es necesario proseguir los estudios en estos temas.

Palabras clave: leguminosas, biofertilizantes, inoculación, nutrición de las plantas.

ABSTRACT: The common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is one of the leguminous plants of high human consumption. In Cuba, it constitutes one of the indispensable dishes in the Cuban menu, being the black bean the most common in Creole food. In spite of its importance and the fact that it is a traditional crop, it is necessary to increase the productivity of plants in a sustainable way, with little amount of resources and with the best quality standards, the national production still does not satisfy the consumption demand. Biofertilizers represent a sustainable, economically attractive and ecologically acceptable means to reduce external inputs and improve the quantity and quality of agricultural products, through the use of properly selected soil microorganisms, capable of making available to plants, through their biological activity. Among the microorganisms that have been most widely used for the development of biofertilizers are bacteria of the genus *Rhizobium* (rhizobia) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). Rhizobia are nitrogen-fixing bacteria and plants, the formation of the specialized nodule, which ensures the reduction of atmospheric nitrogen, takes place in the root. Mycorrhizae are mutualistic symbiotic associations this interaction fungi benefit from the supply of carbon sources from the plant and the plant benefits from increased exploration of the soil, which enhances plant growth and development. However, the benefits of rhizobium-AMF co-inoculation in legumes of agricultural interest need further studies on these issues

Key words: legumes, biofertilizers, inoculation, plant nutrition.

*Autor para correspondencia: anicel.delgado@gmail.com

Recibido: 20/01/2021

Aceptado: 31/08/2021

Este artículo se encuentra bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial (CC BY-NC 4.0). <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



INTRODUCCIÓN

El cultivo del frijol se destaca por su importancia socioeconómica y por la superficie destinada para la siembra y la producción en grano. Existen otros factores que hacen que el frijol tenga un lugar preferencial, sobre todo su composición nutricional, al ser una fuente rica en proteínas, minerales como calcio, hierro, fósforo, magnesio y zinc y de las vitaminas tiamina, niacina y ácido fólico (1).

En Cuba, constituye uno de los platos indispensables en el menú cubano, siendo el frijol negro el más común en la comida criolla (2). A pesar de su importancia y el hecho que es un cultivo tradicional, es necesario incrementar la productividad de las plantas de manera sostenible, con baja cantidad de recursos y con los mejores estándares de calidad (3).

En este sentido, los biofertilizantes representan un medio sustentable, económicamente atractivo y ecológicamente aceptable, para reducir los insumos externos y mejorar la cantidad y calidad de los productos agrícolas, mediante la utilización de microorganismos del suelo debidamente seleccionados, capaces de poner a disposición de las plantas, mediante su actividad biológica, una parte importante de los nutrimentos que se necesitan para su desarrollo, así como suministrar sustancias hormonales o promotoras del crecimiento (4).

Entre los microorganismos que más se han utilizado para la elaboración de biofertilizantes se encuentran las bacterias del género *Rhizobium* (rizobios) y los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA).

Los rizobios son conocidos por su interacción simbiótica con las leguminosas, entre las se establece un intenso intercambio de señales, donde se destaca la liberación de compuestos isoflavonoides por la raíz, que inducen la síntesis de los factores de la nodulación en la bacteria (5). Como resultado, tiene lugar en la raíz la formación del nódulo especializado, que garantiza la reducción del nitrógeno atmosférico a través de la enzima nitrogenasa y el suministro adecuado de amonio a la planta en forma de ureidos y amidas (6).

Por otra parte, las micorrizas son asociaciones simbióticas mutualistas existentes entre ciertos hongos del suelo y las raíces de las plantas superiores. En esta interacción los hongos se benefician con el suministro de fuentes carbonadas provenientes de la planta y ésta se beneficia por la mayor exploración del suelo, lo que aumenta el crecimiento y desarrollo de las plantas (7). La utilización de las micorrizas como biofertilizantes no implica que se pueda dejar de fertilizar, sino que permite que la fertilización sea más eficiente y puedan disminuirse parcialmente las dosis a aplicar, al incrementar el porcentaje de absorción de los nutrientes por las plantas (8).

En la coinoculación *Rhizobium*-HMA-leguminosas se ha informado que las relaciones simbióticas proporcionan un mayor intercambio entre los simbioses y efectos superiores a las plantas. En este caso la simbiosis *Rhizobium* - leguminosas aporta N₂ y las micorrizas incrementan la absorción de otros elementos, entre ellos el

P, muy importante para garantizar una adecuada fijación biológica de N, aumentan el número, peso seco en los nódulos y el crecimiento de las plantas (9).

En la presente revisión bibliográfica se resumen algunos resultados obtenidos en los estudios de la inoculación de Hongos Micorrizógenos Arbusculares y *Rhizobium* en el cultivo del frijol.

Importancia del cultivo del frijol

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es la leguminosa más consumida en el mundo, en la actualidad se producen alrededor de 19 millones de toneladas anualmente, en ambientes tan diversos como América Latina, norte y centro de África, China, EUA, Europa y Canadá. Dentro de estos, América Latina es el mayor productor y consumidor liderado por Brasil, México y Centroamérica y el Caribe (10). El frijol común es la leguminosa comestible de mayor importancia en el mundo y proporciona una fuente importante de proteínas (22 %), vitaminas, y minerales (Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Zn) a la dieta humana, sobre todo en los países en vías de desarrollo (11,12). En los países más desarrollados la producción anual excede los 21 millones de toneladas y representa más de la mitad de la producción total de legumbres para el consumo del mundo (13,14).

El frijol es uno de los granos más importantes para el consumo directo por los humanos (15). Esta leguminosa constituye uno de los granos fundamentales en la alimentación del pueblo cubano junto al arroz y las viandas; es un alimento de preferencia en la dieta diaria en, al menos, una de las comidas. En Cuba en el año 2018 se sembraron 147 500 ha con un rendimiento promedio de 1,09 t ha⁻¹ (16); no obstante, la producción nacional aún no satisface la demanda del consumo (17).

Necesidades nutricionales del cultivo del frijol

Los requerimientos nutricionales de un cultivo varían con el nivel de producción (fertilización y tecnología de manejo), suelo y condiciones agroecológicas (18,19). El frijol absorbe cantidades altas de N, K y Ca y en menor cantidad S, Mg y P. Una medida esencial para determinar el total de nutrientes a aplicar en un cultivo es conocer las cantidades de elementos que contiene el suelo, mediante un análisis químico en laboratorio. El aporte de nutrientes a la planta de cantidades recomendadas es un objetivo fundamental en los programas de fertilización. En la Tabla 1 se muestran los porcentajes de nutrientes en la materia seca de las hojas superiores de la planta y el resumen de la cantidad de nutrientes extraídos por los cultivos expresado en kg de nutrientes por tonelada de grano (20).

Para ofrecer al cultivo las condiciones óptimas y obtener rendimientos adecuados es importante conocer el desarrollo del mismo y las etapas de mayor demanda de nutrientes (21). Al respecto en un experimento en invernadero se encontró que la máxima tasa de absorción de nutrientes del frijol corresponde a los 50 días después de la siembra para el nitrógeno (N), potasio (K) y calcio (Ca) y a los 60 días para magnesio (Mg) y azufre (S) (22).

Tabla 1. Porcentaje de nutrientes en la materia seca de las hojas superiores de la planta de frijol común y cantidad de nutrientes extraídos por el frijol, expresados en kg de nutrientes por tonelada de grano

Parte de la planta	N	P	K
Hojas superiores maduras (% de materia seca)	> 3	0,4	2-4
Extracción por las semillas (kg t ⁻¹ de grano)	31-129	8-21	25-68

La absorción y acumulación de nutrientes por el frijol, permite conocer la cantidad e intensidad de absorción nutrimental durante todo el ciclo vegetativo (23). A través de los patrones de acumulación y absorción de nutrientes se obtendrá información básica del momento más apropiado para la fertilización (24).

El frijol es una planta que presenta extracciones moderadas de nutrientes en relación con otros cultivos. Sin embargo, cuando algún nutriente se encuentra deficiente, esta carencia se expresa en un menor crecimiento o posible muerte de los tejidos de la planta (25).

En ensayos realizados en Brasil, se logró determinar que la máxima extracción de los elementos ocurre al final del ciclo fenológico del cultivo del frijol, aproximadamente entre los 65 y 80 días, se ubica en primer orden el N, seguido por el K y Ca, en cantidades casi semejantes y por último el Mg y P (23).

Fertilización del frijol

La fertilización del frijol es una labor de suma importancia para su producción. Una adecuada fertilización aporta los nutrientes necesarios para obtener un buen crecimiento, desarrollo y producción del cultivo. Por tradición, en los últimos años se ha fertilizado el cultivo para cubrir requerimientos de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K), y en muchos de los casos solamente para los dos primeros (26,27).

Los suelos para el cultivo del frijol común poseen condiciones físicas y químicas muy variables. Existen suelos cuyas deficiencias nutricionales pueden afectar el desarrollo y rendimiento del cultivo. En diferentes variedades y poblaciones, el promedio de absorción de nutrientes para alcanzar elevados rendimientos agrícolas oscila entre 0,133-0,016-0,116 t ha⁻¹ y una media de extracción y exportación de 0,0322-0,054-0,0172 t de nitrógeno, fósforo y potasio, respectivamente por t de semillas. Las aplicaciones de nutrientes se recomiendan realizarlas en el fondo del surco (28).

En áreas de monocultivo con riego se harán dos aplicaciones de fertilizantes, la primera en el momento de la siembra con fórmula completa, donde se deposita 1/3 del nitrógeno con todo el fósforo y el potasio, lo cual puede ajustarse con la sembradora, siempre que garantice que el fertilizante quede localizado por debajo de la semilla para evitar el contacto directo con esta. La segunda aplicación, cubriendo los 2/3 restantes de nitrógeno, será 20-25 días después de germinado el grano (etapas V4-R5) con un fertilizante nitrogenado, la misma se hará en bandas laterales, separada del hilo de siembra entre 10-12 cm.

Esta operación se realizará con una adecuada humedad del suelo.

La urea se puede aplicar ventajosamente tanto introduciéndola al suelo como a través de las hojas, se ha comprobado que la absorción mediante esta última vía es rápida y por medio de la aspersión foliar se puede mantener una concentración de nitrógeno conveniente en las hojas. La aspersión foliar pone a disposición de las plantas cantidades de nitrógeno mucho menos importantes que las que se logran como resultado de la aplicación de urea al suelo (29).

Cuando en los cultivos se aportan cantidades muy elevadas de fertilizantes nitrogenados, de los cuales, solamente una parte es aprovechada por las plantas, la otra se pierde por volatilización y lavado (esta última contamina los acuíferos) con la consiguiente pérdida económica y ecológica (30).

Debido a esto, es recomendable aplicar los fertilizantes de acuerdo con las necesidades del cultivo o disminuir las dosis de los mismos, combinándolos con el uso de los biofertilizantes o abonos verdes y orgánicos, que ayudan a un mayor aprovechamiento de los nutrientes en el suelo siendo menos costosos y más ecológicos.

Biofertilización del frijol

Los biofertilizantes son productos a base de microorganismos, que viven normalmente en el suelo y que tienen la capacidad de poner a disposición de las plantas, mediante su actividad biológica, una parte importante de los nutrientes que necesitan para su desarrollo (31).

El empleo de microorganismos promotores del crecimiento vegetal constituye una estrategia en la agricultura sostenible a nivel mundial (32). Su uso está enfocado hacia el incremento de la nutrición de las plantas, con la correspondiente sustitución de fertilizantes químicos y a la búsqueda de protección a enfermedades y plagas. Los microorganismos intervienen en una serie de procesos como la descomposición, mineralización de compuestos orgánicos y la movilización de nutrientes en la interacción suelo-planta (32).

La sustentabilidad de los sistemas agrícolas a largo plazo debe fomentar el uso y manejo efectivo de los recursos internos de los agroecosistemas. En este sentido, los biofertilizantes son un componente vital de los sistemas sustentables, ya que constituyen un medio económicamente atractivo y ecológicamente aceptable (33). La necesidad de obtener elevados rendimientos agrícolas y al mismo tiempo preservar el medio ambiente está ligada al uso generalizado de estos productos (34).

Los biofertilizantes incluyen a todos los recursos biológicos que ayuden o estimulen el desarrollo de los cultivos agrícolas mediante transformaciones de elementos o compuestos que se encuentran en el suelo en formas no aprovechables, de manera que se conviertan en formas que puedan ser utilizadas mediante la acción de los microorganismos o de asociaciones microorganismos-plantas (35).

Entre los biofertilizantes que mayor uso han tenido en Cuba, se destacan: Dimargon®, a base de *Azotobacter chroococcum*; AzoFert® y Biofer®, compuestos por rizobios como principio activo; Fosforina® y Nitrofix®, a base de *Pseudomonas fluorescens* y *Azospirillum sp.*, respectivamente y el EcoMic®, compuesto por hongos micorrizógenos arbusculares.

La calidad de un inoculante se mide por la capacidad de mantener una población elevada del microorganismo durante varios meses posterior a su inoculación. El número de células por encima de 10^8 por gramo o mL de inoculante, o alrededor de 10^6 por semilla, asegura los mejores beneficios de la interacción (36).

Fijación biológica del N por leguminosas

La fijación biológica del nitrógeno (FBN), constituye uno de los componentes primordiales de la sustentabilidad agrícola. La misma es realizada por un número limitado de especies procariotas, generalmente bacterias y algas verdes-azules (*Cyanophyceae*) y se manifiesta en diversos procesos, tanto simbióticos como no simbióticos. Dentro del grupo de microorganismos procariotas que establecen simbiosis con plantas pertenecientes a la familia *Fabaceae*, se encuentran las bacterias de la familia *Rhizobiaceae*, principalmente los géneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* y *Azorhizobium*, las cuales infectan y nodulan las raíces de las plantas y dentro de los microorganismos de vida libre que establecen fijación no simbiótica del N se encuentran las bacterias de los géneros *Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Clostridium* y otras (37,38).

Las bacterias del género *Rhizobium* son habitantes naturales del suelo, aunque su población depende de diversos factores como el pH, temperatura, humedad y las fuentes de energía (39). La rizosfera de las leguminosas estimula la proliferación de géneros de *Rhizobium*, debido a que estos encuentran allí un ambiente más favorable que en el resto del suelo.

Además, se debe considerar la especificidad biológica que se manifiesta cuando el hospedero y el macrosimbionte interactúan con algún grado de selectividad para dar lugar a la infección nodular y a la FBN, por lo que es necesario que en la rizosfera de la planta se encuentre la cepa de *Rhizobium* efectiva para la leguminosa (40).

Sin embargo, los rizobios autóctonos no siempre se encuentran en número suficiente o compatible con el cultivo de leguminosas específico para estimular fijación biológica del nitrógeno y aumentar los rendimientos. La inoculación de leguminosas con rizobios es una opción importante para

mejorar la fijación biológica del nitrógeno en los sistemas de producción de cultivos (41).

El nitrógeno fijado biológicamente por algunos microorganismos en simbiosis con plantas leguminosas garantiza una fuente directa de este elemento a ser utilizada por la planta, y de esta manera, el elemento se torna menos susceptible a los procesos naturales como la volatilización, desnitrificación y el lavado. El proceso de fijación biológica del nitrógeno contribuye a la nutrición y desarrollo de las plantas, principalmente en suelos deficientes de este elemento (42).

La Fijación Biológica del Nitrógeno (FBN) ha sido extensamente utilizada en lugar de los fertilizantes nitrogenados en la producción de leguminosas por su eficiencia económica en los agroecosistemas sostenibles (43). El uso de cepas nativas de rizobios como biofertilizantes contribuye al mantenimiento de la biodiversidad del suelo, mediante la disminución de los efectos negativos de los fertilizantes minerales (44).

De ese modo, el incremento positivo en el rendimiento agrícola con la inoculación de las especies de rizobios sugiere que pueden ser usadas como estimulantes del rendimiento agrícola, en una agricultura sostenible (45). Asimismo, se ha demostrado que el peso de 100 semillas de plantas que fueron inoculadas con aislados de rizobios, fueron semejantes a los valores de las plantas en que se aplicó fertilizante nitrogenado (46).

En resumen, una adecuada inoculación en leguminosas, con cepas efectivas, aumenta la fijación simbiótica y por consiguiente aumenta la masa seca de las plantas y se incrementa el aporte de nutrientes (47).

Formación de nódulos en las leguminosas

La formación de los nódulos en las raíces de las leguminosas es una de las etapas de importancia fundamental en el proceso de fijación biológica de nitrógeno debido a la perfecta relación de simbiosis que existe entre la planta (leguminosa) y las bacterias, que consiste en que el microorganismo entrega a la planta nitrógeno en forma asimilable para la misma, y a su vez, la planta suministra las sustancias nutritivas que necesita el *Rhizobium* para cumplir sus funciones vitales (48).

La formación de nódulos radicales en plantas leguminosas es un complejo proceso que resulta en la FBN y requiere de la interacción armónica entre la planta huésped y las bacterias del género *Rhizobium* en la rizosfera (Figura 1). Muchas especies de bacterias y plantas son extremadamente específicas, sin embargo, algunas especies de rizobios interactúan con un gran número de leguminosas (49). La nodulación tiene lugar solo cuando adecuadas especies de leguminosas y rizobios establecen contacto (50). La excreción de compuestos específicos y la inducción de la actividad de los genes *nod* en el microsimbionte es el principal papel de la planta huésped en el proceso.

Después de la recepción de las señales flavonoides del exudado de la raíz, las bacterias se adhieren a la superficie

de los pelos radiculares. La producción del factor *Nod* por la bacteria inicia la secuencia de eventos (izquierda a derecha), lo cual al nivel morfológico incluye el engrosamiento, deformación y encrespamiento del pelo radical, la formación del hilo de infección que surgen de las células bacterianas encapsuladas, el crecimiento del hilo de infección hacia el primordio del nódulo con la liberación de las bacterias a través de gotitas de infección (51).

El intercambio de señales entre ambos simbioses es el primer paso de la formación de los nódulos (52,53). La raíz de la planta libera exudados (flavonoides, ácidos orgánicos y aminoácidos) que atraen las bacterias a un sitio particular de la raíz de la planta y activa la secreción del factor *nod* por la bacteria (54). Después del reconocimiento del factor *nod* por la planta, los rizobios se adhieren a los pelos de la raíz y promueven su deformación y la división cortical en la corteza de la raíz (55).

Las bacterias son después atrapadas en el pelo enrascado de la raíz y penetran en la planta mediante el hilo de infección. Una vez dentro, las bacterias se multiplican rápidamente en las células de la planta y son transformadas en bacteroides, rodeados por las membranas de la planta para formar simbiosomas (56). En esta estructura, las bacterias inician la conversión de N_2 a NH_3 , el cual es el resultado del proceso de fijación de nitrógeno.

El color interno de los nódulos varía desde rojo hasta blanco y constituye una característica utilizada para medir la efectividad de la fijación. Cuando la simbiosis funciona con efectividad, tienen una coloración de rosada a roja debido a la presencia del pigmento leghemoglobina, cuya función consiste en regular los niveles de O_2 y aportar este elemento a las bacterias. Los nódulos de color claro indican en general poca o ninguna eficiencia de la fijación de N_2 (48).

La actividad fijadora del nódulo es afectada por las condiciones de la humedad del suelo (57). Una delgada capa de agua alrededor del nódulo disminuye la fijación, debido a que hay un suministro reducido de O_2 , así como una ligera disminución del contenido de agua del nódulo conduce a una fuerte inhibición de la respiración y de la fijación.

Hongos Micorrizógenos Arbusculares

La simbiosis micorrízica es una asociación mutuamente beneficiosa que se establece entre las plantas y ciertos hongos del suelo. Es la asociación más antigua del planeta y se plantea que ya estaba presente hace 400 millones de años (58).

Se han definido tres tipos de asociaciones micorrízicas, al tomar en consideración sus características morfoanatómicas y ultraestructurales: Ectomicorrizas, Ectendomicorrizas y Endomicorrizas. Las endomicorrizas no son detectadas a simple vista, forman una red externa de hifas y penetran el interior de las células corticales sin llegar a colonizar el endoderma. Es el grupo más difundido

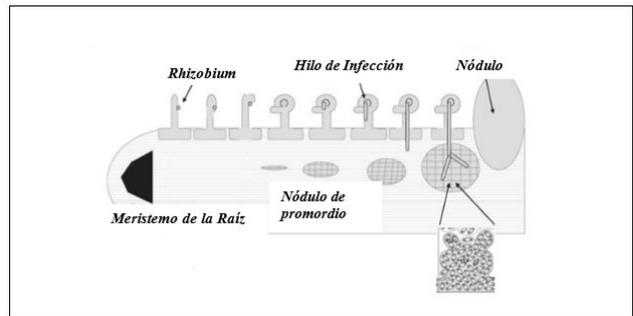


Figura 1. Diagrama esquemático del desarrollo del nódulo

en el planeta y se divide en varios subtipos, de los cuales el más representativo es el arbuscular, que es el más importante en los ecosistemas tropicales.

Los HMA toleran un amplio ámbito de pH que oscila entre 5 a 8 (59). A pesar de ello, algunas especies no se adaptan a condiciones de pH diferentes al suelo de donde fueron aisladas (60), aunque de manera general, los HMA presentan la más amplia distribución geográfica de todos los microorganismos biofertilizantes.

Numerosos factores bióticos y abióticos influyen sobre el establecimiento y funcionamiento de la simbiosis micorrízica, dentro de ellos, la interacción de los HMA con las poblaciones microbianas en la rizosfera que, de forma recíproca, influye también sobre la microbiota del suelo (61). En general, la competencia por nutrientes genera en la zona rizosférica interacciones microbianas acorde al metabolismo de las plantas, debido a la liberación de secreciones, gases y mucílago (62). La asociación de los hongos micorrizicos y las bacterias rizosféricas fijadoras de nitrógeno beneficia agrónomicamente a las plantas por incremento en el crecimiento, la producción y la tolerancia a estreses bióticos y abióticos. Algunos grupos bacterianos y los HMA pueden interactuar sinérgicamente para movilizar el PO_4^{3-} del suelo a las raíces de la planta a través de la solubilización o mineralización. Ocasionalmente, rizobacterias específicas afectan el estado pre-simbiótico del desarrollo de la micorriza (32).

Se ha observado que con muy alta disponibilidad de nutrientes se obtienen los menores efectos de la inoculación con cepas eficientes y se alcanza la mayor efectividad con disponibilidad media. Si esta es baja o nula, tampoco funciona adecuadamente la simbiosis y se obtienen plantas con menor crecimiento y baja efectividad de la inoculación (9,63).

La dependencia micorrízica es una propiedad intrínseca de las plantas, según la cual pueden estar agrupadas en: plantas micorrízicas obligadas, presentan un crecimiento muy reducido en ausencia de la simbiosis con HMA y las tasas de colonización son superiores al 60 %; plantas micorrízicas facultativas, tienen un sistema radical más profuso y desarrollado, aunque bajo condiciones adversas responden a la micorrización y las tasas de colonización son inferiores al 50 %. Plantas no micorrízicas, son las que no forman la asociación (64).

Características y beneficios de los Hongos Micorrizógenos Arbusculares

La efectividad micorrizica es la capacidad de un endófito de influir positivamente sobre el crecimiento de la planta, aumentar el número de propágulos y mejorar la transferencia de nutrientes como resultado de la interacción fisiológica entre los simbioses (64).

Los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) forman una simbiosis mutualista con las raíces con aproximadamente el 80 % de las plantas vasculares (65). Los HMA aportan a la planta nutrientes minerales y agua, debido a la capacidad de exploración de las hifas del hongo, lo que le permite tener acceso a recursos distantes al sistema radical. Las hifas extrarradicales de los HMA contribuyen en la absorción de hasta 80 % de P, 10 % de K, 25 % de Zn, 60 % de Cu y 25 % de N de la planta (66).

En esta asociación simbiótica, ambos simbioses se benefician mutuamente. Los HMA reciben fuentes carbonadas provenientes de la planta, mientras que en estas se incrementa la capacidad de exploración del suelo, la absorción de nutrientes minerales y el crecimiento y desarrollo (67).

Con la aplicación de los HMA en cultivos anuales se han observado incrementos del crecimiento y los rendimientos de los cultivos, así como mejoras del estado físico del suelo, mediante la producción de glomalina, la cual es una proteína que actúa como adherente y aglutinante de las partículas del suelo para formar agregados más estables. Por otro lado, al incrementar la capacidad de absorción de agua y nutrientes, los HMA permiten al hospedante resistir mejor las condiciones adversas de suelo y clima (68).

Los resultados obtenidos con el biofertilizante EcoMic® producido a base de HMA desarrollado por el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) y su manejo tecnológico, mediante el recubrimiento de las semillas, ha sido evaluado como exitoso en sistemas agrícolas de altos y bajos insumos, en diferentes cultivos como café (*Coffea arabica* L.), soya (*Glycine max* L.), arroz (*Oryza sativa* L.), maíz (*Zea maíz* L.), frijol, entre otros de importancia económica (69).

El frijol inoculado con EcoMic® además de incrementar el rendimiento del cultivo permite micorrizar eficientemente cultivos en sucesión, siempre que no pasen más de 40 días entre la cosecha del frijol y la siembra o plantación del cultivo sucesor (70). Este efecto de permanencia es muy conveniente para cultivos en sucesión como el boniato (*Ipomoea batatas* L.) y la yuca (*Manihot esculenta* Crantz), que requieren altas cantidades de EcoMic® para su inoculación directa (58).

La aplicación de inoculantes micorrizicos, más que una alternativa, es un modelo para hacer agricultura, su justo valor está, en lograr que se alcance una simbiosis efectiva a través del papel de los HMA en la potenciación de la nutrición de las plantas, de manera que la función principal de la simbiosis es aumentar las posibilidades de absorción del sistema radical (71).

Papel de los Hongos Micorrizógenos Arbusculares en la Nutrición

Se han realizado muchos estudios relacionados con el papel de los hongos micorrizógenos arbusculares en la nutrición de las de diferentes cultivos de interés económico, debido principalmente a su influencia en el crecimiento y desarrollo de las plantas y la elevación de los rendimientos agrícolas. Este efecto está estrechamente ligado al mayor volumen de suelo que exploran las raíces de las plantas micorrizadas, que facilita el acceder a nutrientes de fuentes minerales y orgánicas menos accesibles en el suelo (72).

En relación a la nutrición nitrogenada, es conocida la absorción de nitritos (NO_2^-) y nitratos (NO_3^-) del suelo a través del micelio extrarradical de los HMA (73) y existen criterios sobre la posible absorción de cantidades importantes de N orgánico (74,75). Esto parece estar relacionado con la presencia de un transportador de alta afinidad por el NH_4^+ , expresado en las hifas extrarradicales de *Glomus intraradices* (76).

También se ha comprobado la transferencia a través de este mecanismo, de nutrientes como el K, Ca, Mg y S, y de micronutrientes como el Zn, B, Cu y Mo (77). Aunque no abundan los estudios sobre los mecanismos fisiológicos y bioquímicos que regulan los procesos de absorción de estos elementos, se ha sugerido que la influencia de los HMA en su absorción y transferencia, está directamente relacionada con el aumento del volumen de suelo que pueden explorar las estructuras fúngicas (64).

La absorción del P es considerada el beneficio más importante debido al incremento que se produce de este elemento en los tejidos de la planta, siendo de las más estudiadas, ya que, de las cantidades presentes de este elemento en el suelo, entre un 90 y un 95 % se encuentran de forma no disponible para las plantas (78). Fundamentalmente en las zonas tropicales, este elemento se encuentra en bajas concentraciones y su baja movilidad es su característica distintiva. Es precisamente en estas condiciones en que se pone de manifiesto el efecto beneficioso de la simbiosis, siendo determinante en la supervivencia de diversas especies vegetales, sobre todo de aquellas incapaces de absorber formas menos móviles de este elemento (79).

La presencia de transportadores de H_2PO_4^- de alta afinidad, determina que la absorción y transferencia de P a la planta mediante las hifas del hongo, sea un proceso rápido y eficiente (80,81). El H_2PO_4^- absorbido es rápidamente transformado en polifosfato en el micelio extrarradical (82). Conjuntamente con estos procesos, los ácidos orgánicos y las fosfatasa que producen las hifas extrarradicales, posibilitan la solubilización del fósforo fijado en el suelo (83,84). Al interactuar los HMA con otros microorganismos ocurren cambios que también influyen en la nutrición de las plantas. Entre ellos se puede mencionar el suministro de energía a través de compuestos carbonados procedentes de la planta hospedera, los cambios en el pH de la micorrizosfera inducidos por el

hongo y la exudación de sustancias que estimulan o inhiben la actividad de los otros microorganismos (79).

De manera general, se ha demostrado que se pueden obtener altos rendimientos utilizando los HMA, aunque resulta necesario aplicar dosis bajas de nutrientes para, de conjunto con la inoculación de cepas eficientes de HMA, garantizar rendimientos altos con menores costos de fertilización (69,85,86).

Coinoculación de rizobios y hongos micorrizógenos arbusculares

El empleo en la agricultura de inoculantes de forma combinada (mezcla de microorganismos) ha recibido el nombre de "coinoculación" la cual, frecuentemente, incrementa el crecimiento de las plantas y su rendimiento con mayor intensidad que si emplearan los microorganismos por separado. Estas combinaciones de microorganismos pueden ofrecer a las plantas una nutrición mineral más balanceada por el mejoramiento de la absorción de nitrógeno, fósforo y otros nutrientes minerales (87). Múltiples trabajos han comprobado que cuando la coinoculación se realiza correctamente, es esperable un aumento de rendimiento que oscila entre 5 y 10 % (88).

Al respecto, se ha demostrado los beneficios en la coinoculación de los hongos micorrizógenos arbusculares y los rizobios. En su mayoría, las bacterias de la rizósfera y los hongos son altamente dependientes de las asociaciones con las plantas y están claramente reguladas por exudados de las raíces (89).

En Brasil se han realizados diversos estudios de la coinoculación *Rhizobium*-HMA-leguminosas han confirmado que se incrementa la nodulación y el crecimiento de las plantas y que la masa seca y los contenidos de N y P son mayores en las plantas micorrizadas (90).

La coinoculación potencia el contenido de proteínas solubles totales en las plantas, donde hay un efecto aditivo de la acción del hongo, esto debido al tiempo que le toma al hongo colonizar la raíz y producir suficiente micelio externo para que la planta reciba el beneficio (91). Un mayor contenido foliar de proteínas solubles totales en las plantas coinoculadas, les permite una actividad metabólica mayor, efecto asociado a un mejor estado nutricional y a un contenido de N foliar mayor. Como resultado, se obtienen plantas con mayor vigor (92).

En la coinoculación *Rhizobium*-HMA-leguminosas, se ha informado que las relaciones simbióticas proporcionan un mayor intercambio entre los simbioses y efectos superiores a las plantas, que las relaciones basadas en asociaciones no simbióticas. En este caso, la simbiosis *Rhizobium*-leguminosas aporta N_2 y las micorrizas incrementan la absorción de otros elementos, entre ellos P, muy importante para garantizar una adecuada FBN y crecimiento de la planta (9). La doble inoculación *Rhizobium*-HMA produce mayor crecimiento, número, peso seco en los nódulos y mayores contenidos de P y N en la planta (93).

En Cuba y el mundo en investigaciones realizadas en otros cultivos leguminosos, también han demostrado una relación armónica y ecológicamente compatible al coinocular varios bioproductos, por ejemplo, la habichuela (*Phaseolus vulgaris* L. var. Verilli), responde positivamente a la aplicación sola o combinada de EcoMic® y otros bioestimulantes (94).

Por otra parte, en Cuba, la inoculación combinada de *Bradyrhizobium elkanii* y una cepa de hongos micorrizógenos arbusculares, así como la aplicación a la semilla o foliar del bioestimulador del crecimiento vegetal Biobras-16, incrementó el rendimiento del cultivar de soya INCAsoy-24 (95). Además, otro resultado positivo se obtuvo con la coinoculación de aislados de rizobios y HMA en el establecimiento de *Stylosanthes guianensis* en asociación con *Brachiaria decumbens* (96).

En otros estudios realizados en Cuba, se evaluó la respuesta de canavalia (*Canavalia ensiformis* (L.) D.C.) a la coinoculación con *Rhizobium* y hongos micorrizógenos arbusculares en dos tipos de suelo y se demostró que la canavalia respondió positivamente a la coinoculación y las cepas más eficientes, tanto de rizobios como de HMA dependieron del tipo de suelo y sus propiedades (93).

Por otra parte, en condiciones de producción, durante seis campañas de validación en varias provincias de Cuba se evaluó la aplicación del biofertilizante EcoMic® (Tabla 2) donde se originó un incremento en el rendimiento entre 15 y 40 %, con un incremento promedio del 31 % (0,27 t ha⁻¹); la aplicación conjunta con AzoFert® y QuitoMax® (bioestimulante a base de quitosanas), alcanzó incrementos entre 45 y 100 %, con incrementos promedios de 57 % (0,50 t ha⁻¹) y siempre en presencia de aplicaciones medias de fertilizantes minerales, para garantizar estos incrementos en el rendimiento (58).

La utilización de los biofertilizantes no implica que se pueda dejar de fertilizar, sino permitir que la fertilización sea más eficiente y puedan disminuirse total o parcialmente las dosis a aplicar, al incrementar el porcentaje de absorción de los nutrientes por las plantas (8).

CONCLUSIONES

- Debido a la importancia económica y nutricional del frijol común, no quedan dudas de la importancia de la adecuada y balanceada nutrición de este cultivo, a través de los beneficios de la coinoculación rizobios-HMA. Sin embargo, es necesario proseguir los estudios en estos temas, no solo para definir las mejores combinaciones de cepas de cada microorganismo involucrado por tipo de suelo y ambiente edáfico y realizar nuevos aislamientos de cepas promisorias, sino además, urge extender los resultados experimentales al nivel productivo.
- Llevar a manos de los productores las facilidades y ventajas de la aplicación de biofertilizantes y técnicas agrícolas amigables con el medio ambiente es una tarea crucial desde el punto de vista agronómico, medioambiental, económico y social.

Tabla 2. Respuesta de la aplicación conjunta de EcoMic® y otros biofertilizantes durante seis campañas de validación en varias provincias de Cuba (2010-2018)

Periodo	Provincia	Cantidad de campos control	Testigo (t ha ⁻¹)	EcoMic® (t ha ⁻¹)	EcoMic®+AzoFert®	EcoMic®+AzoFert® + QuitoMax®
2010-2011	Villa Clara	9	0,87	1,25		
	S. Spiritus	3	0,73	0,98	1,15	
	C. de Ávila	1	1,3	1,6		
2011-2012	Villa Clara	4	1,02	1,23		
	Matanzas	2	1,3	1,8		
	P. del Rio	2	0,73	0,99		
	S. Spiritus	9	0,87	1,14	1,49	
	C. de Ávila	3	0,64	0,81	0,86	
	Villa Clara	1	0,9	1,02	1,5	
2012-2013	C. de Ávila	2	0,75	1,05		
	Mayabeque	9	1,10		1,52	
	S. Spiritus	4	0,93	1,15	1,28	1,47
	S. Spiritus	6	0,99	1,27	1,46	1,57
	Mayabeque	1	0,4	0,7	0,9	1,1
2013-2014	S. Spiritus	10	1,11			1,34
	Mayabeque	5	1,00			1,37
	Mayabeque	8	0,69	0,99		1,11
2014-2015	Villa Clara	7	0,88			1,23
	Mayabeque	2	1,04			1,47
	Habana	1	0,72			1,08
	C. de Ávila	4	0,86			1,18
2017-2018	Mayabeque	18	0,87	1,29		1,63

BIBLIOGRAFÍA

- Ulloa JA, Rosas Ulloa P, Ramírez Ramírez JC, Ulloa Rangel BE. El frijol (*Phaseolus vulgaris*): su importancia nutricional y como fuente de fitoquímicos. CONACYT [Internet]. 2011; Available from: <http://dspace.uan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/582>
- Chazan M. World prehistory and archaeology: pathways through time [Internet]. Routledge; 2021. Available from: <https://www.routledge.com/World-Prehistory-and-Archaeology-Pathways-Through-Time/Chazan/p/book/9780367415686>
- Rivera R, Calderón A, Nápoles MC, Ruiz L, Mederos JD, Marrero Y, et al. La validación a escala productiva del biofertilizante EcoMic® y su aplicación conjunta con rizobios en el cultivo del frijol en el centro y occidente del país. Mayabeque, Cuba: INCA [Internet]. 2012; Available from: https://www.researchgate.net/publication/269993929_La_validacion_a_escal_a_productiva_del_biofertilizante_EcoMicR_y_su_aplicacion_conjunta_con_rizobios_en_el_cultivo_del_frijol_en_el_centro_y_occidente_del_pais
- Martínez R, Dibut B. Biofertilizantes Bacterianos. La Habana, Cuba: Editorial Científico-Técnica; 279AD.
- Gage DJ. Infection and invasion of roots by symbiotic, nitrogen-fixing rhizobia during nodulation of temperate legumes. Microbiology and molecular biology reviews [Internet]. 2004;68(2):280-300. doi:DOI: <https://doi.org/10.1128/MMBR.68.2.280-300.2004>
- Werner AK, Sparkes IA, Romeis T, Witte C-P. Identification, biochemical characterization, and subcellular localization of allantoate amidohydrolases from Arabidopsis and soybean. Plant Physiology [Internet]. 2008;146(2):418-30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18065556/>
- Sánchez C. Uso y manejo de los hongos micorrizógenos y abonos verdes en la producción de posturas de cafeto en algunos suelos del macizo Guamuhaya. Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. La Habana; 2001.
- Peterson R, Mossicotte A, Milvelle L. Biofertilizantes, bioprotectores y biorestauradores Micorrizicos para la producción agroecológica en las fincas de los Productores de café [Internet]. Feniagro. Nicaragua; 2010. Available from: <http://www.renida.net.ni/renida/funica/REE14-F981b.pdf>
- Rivera Espinosa R, Fernández Suárez K. Bases científico-técnicas para el manejo de los sistemas agrícolas micorrizados eficientemente. In Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas; 2003 [cited 21/01/2022]. Available from: <http://repositorio.geotech.cu/jspui/handle/1234/3461>
- FAO. Food and Agriculture Statistics [Internet]. Food and Agriculture Organization of the United Nations. [cited 23/01/2022]. Available from: <http://www.fao.org/food-agriculture-statistics/en/>
- Voysest O. Mejoramiento genético del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.): Legado de variedades de América Latina 1930-1999 [Internet]. CIAT; 2000. 220 p. Available from: <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/54161>
- Shi C, Chaudhary S, Yu K, Park SJ, Navabi A, McClean PE. Identification of candidate genes associated with CBB resistance in common bean HR45 (*Phaseolus vulgaris* L.) using cDNA-AFLP. Molecular biology reports [Internet].

- 2011;38(1):75-81. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11033-010-0079-1>
13. Miklas P, Singh S. Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants [Internet]. Springer. 2006 [cited 21/01/2022]. Available from: <https://www.springer.com/series/7367>
 14. Vandemark GJ, Fourie D, Miklas PN. Genotyping with real-time PCR reveals recessive epistasis between independent QTL conferring resistance to common bacterial blight in dry bean. Theoretical and applied genetics [Internet]. 2008;117(4):513-22. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18512042/>
 15. Alvarado A. Hemiptera-Pentatomidae en diferentes variedades de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) en tres localidades de la provincia Villa Clara. [Universidad Central de las Villas (UCLV)]; 2009. 24 p.
 16. ONEI. Anuario Estadístico de Cuba. Año 2018 [Internet]. Oficina Nacional de Estadística e Información, Sitio en Actualización. 2018 [cited 21/01/2022]. Available from: <http://www.onei.gob.cu/node/13804>
 17. Martínez-González L, Maqueira-López L, Nápoles-García MC, Núñez-Vázquez M. Efecto de bioestimulantes en el rendimiento de dos cultivares de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) Biofertilizados. Cultivos Tropicales [Internet]. 2017;38(2):113-8. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-5936201700020017
 18. Delgado R, Cabrera de Bisbal E, Ortega B, Velásquez L. Acumulación de materia seca, N, P y K en frijol cultivado bajo labranza mínima y convencional en un mollisol de Venezuela. Agronomía Tropical [Internet]. 2009;59(4):401-11. Available from: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X200900040005
 19. Valladares C. Taxonomía, Botánica y Fisiología de los cultivos de grano. Serie Lecturas Obligatorias [Internet]. Universidad Nacional Autónoma de Honduras. Centro Universitario Regional del Litoral Atlántico (CURLA); 2010. Available from: <https://curlacavunah.files.wordpress.com/2010/04/unidad-ii-taxonomia-botanica-y-fisiologia-de-los-cultivos-de-grano-agosto-2010.pdf>
 20. Quintero E. Manejo agrotécnico del frijol en Cuba. Monografía. Facultad de Ciencias Agropecuarias, UCLV, Santa Clara. 2000;42.
 21. Fallas R, Bertsch F, Echandi C, Henríquez C. Caracterización del desarrollo y absorción de nutrimentos del híbrido de maíz HC-57. Agronomía Costarricense [Internet]. 2011;35(2):33-47. Available from: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0377-9424201100020003&script=sci_arttext
 22. Haag WL, Adams MW, Wiersma JV. Differential Responses of Dry Bean Genotypes to N and P Fertilization of a Central American Soil 1. Agronomy journal [Internet]. 1978;70(4):565-8. Available from: <https://access.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2134/agronj1978.00021962007000040014xa>
 23. Lata-Tenesaca L, Villaseñor-Ortiz D, Chabla-Carrillo J. Fraccionamiento de la absorción de nutrientes en cuatro etapas fenológicas del cultivo de Fréjol. Revista Universidad y Sociedad [Internet]. 2017;9(1):20-7. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2218-36202017000100003&script=sci_arttext&lng=en
 24. Andrade MJB, Silva VMP, Carvalho JG, Vieira NMB, Junior JA. Pattern of nutrients absorption by common bean cv. BRS MG Talisma. Annual Report-Bean Improvement Cooperative [Internet]. 2005;48:162. Available from: http://arsffbean.uprm.edu/bic/wp-content/uploads/2018/05/BIC_2005_volume_48.pdf#page=179
 25. Hirzel C. Fertilización de cultivos en Chile. Colección Libros INIA-Instituto de Investigaciones Agropecuarias [Internet]. 2011; Available from: <https://200.54.96.10/handle/123456789/3543>
 26. Arias J, Rengifo T, Jaramillo M. Buenas prácticas agrícolas en la producción de frijol voluble. Food and Agriculture Organization [Internet]. 2007;168. Available from: <https://www.fao.org/3/a1359s/a1359s00.htm>
 27. Betancourt P, Pierre F. Extracción de macronutrientes por el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* Mill. var. Alba) en casas de cultivo en Quíbor, estado Lara. Bioagro [Internet]. 2013;25(3):181-8. Available from: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-33612013000300005
 28. Faure Alvarez B, Bentez González R. Guía técnica para la producción de frijol común y maíz. Instituto de Investigaciones en Granos, Artemisa (Cuba); 2014 p. 7-21.
 29. MINAGRI. Informe del diagnóstico de la cadena del frijol en la región central Cuba. 2015.
 30. Paredes FL, Millo EP. Influencia de la fertilización nitrogenada en la contaminación por nitratos de las aguas subterráneas. Levante Agrícola: Revista internacional de cítricos [Internet]. 1992;(317):4-14. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4639176>
 31. Martínez-Viera R, Dibut B, Yoania R. Efecto de la integración de aplicaciones agrícolas de biofertilizantes y fertilizantes minerales sobre las relaciones suelo-planta. Cultivos Tropicales [Internet]. 2010;31(3):27-31. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362010000300009
 32. Barea J, Azcón-Aguilar C. Microbial co-operation in the rhizosphere | Journal of Experimental Botany | Oxford Academic [Internet]. 2005 [cited 21/01/2022]. Available from: <https://academic.oup.com/jxb/article/56/4/17/1761/484466>
 33. Alvarez BD. Biofertilizantes como insumos en agricultura sostenible [Internet]. INIFAT, Cub: Editorial Universitaria (Cuba); 2009. Available from: <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=-vzDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP2&dq=Biofertilizantes+como+insumos+en+Agricultura+Sostenible&ots=DzqnNhsgz6&sig=-hhXdGgFpLv9m5p5Z-v8qrAZhxs#v=onepage&q=Biofertilizantes%20como%20insumos%20en%20Agricultura%20Sostenible&f=false>
 34. Martínez-González L, Reyes-Guerrero Y, Falcón-Rodríguez A, Nápoles-García MC, Núñez-Vázquez M de la C. Efecto de productos bioactivos en plantas de frijol

- (*Phaseolus vulgaris* L.) biofertilizadas. Cultivos Tropicales [Internet]. 2016;37(3):165-71. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0258-59362016000300018&script=sci_arttext&lng=en
35. Urquiaga S, Zapata F. Manejo eficiente de la fertilización nitrogenada de cultivos anuales en América Latina y el Caribe, Segundo Urquiaga, Felipe Zapata, eds. 2000;110. Available from: <https://biblioteca.epn.edu.ec/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=23790>
 36. Deaker R, Roughley RJ, Kennedy IR. Legume seed inoculation technology. A review. Soil biology and biochemistry [Internet]. 2004;36(8):1275-88. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0038071704001269>
 37. Mayea S, Novo R, Valiño A. Introducción a la microbiología del suelo. Editorial Pueblo y Educación, La Habana. 1982;
 38. Bauer T. Microorganismos fijadores de nitrógeno: Familia rhizobiaceae. fgranea@microbiología.com. 2001;
 39. Jiménez-Zacarías JJ, Peña-Cabriales JJ. Fijación biológica de N₂ (FBN) en leguminosas de América Latina. La fijación biológica de nitrógeno en América Latina: El aporte de las técnicas isotópicas. 2000;
 40. García M, Treto E, Álvarez M. Los abonos verdes: una alternativa para la economía del nitrógeno en el cultivo de la papa. II. Efecto de la interacción abono verde-dosis de nitrógeno. Cultivos tropicales [Internet]. 2000;21(1):13-9. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/1932/193232232002.pdf>
 41. Giller KE. Nitrogen fixation in tropical cropping systems [Internet]. Cabi; 2001. Available from: <https://www.cabi.org/ISC/ebook/20013118217>
 42. Long SR. Genes and signals in the Rhizobium-legume symbiosis. Plant physiology [Internet]. 2001;125(1):69-72. Available from: <https://academic.oup.com/plphys/article/125/1/69/6098962?login=true>
 43. Ouma EW, Asango AM, Maingi J, Njeru EM. Elucidating the potential of native rhizobial isolates to improve biological nitrogen fixation and growth of common bean and soybean in smallholder farming systems of Kenya. International Journal of Agronomy [Internet]. 2016;2016:1-7. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/ija/2016/4569241/>
 44. Nkot LN, Fankem H, Adamou S, Ngakou A, Nwaga D, Etoa F-X. Abundance of legume nodulating bacteria in soils of diverse land use systems in Cameroon. Universal Journal of Plant Science [Internet]. 2015;3(5):97-108. Available from: https://www.researchgate.net/profile/Ngakou-Albert-2/publication/290996824_Abundance_of_Legume_Nodulating_Bacteria_in_Soils_of_Diverse_Land_Use_Systems_in_Cameroon/links/569d476408aed27a702f9dea/Abundance-of-Legume-Nodulating-Bacteria-in-Soils-of-Diverse-Land-Use-Systems-in-Cameroon.pdf
 45. Colás-Sánchez A, Díaz-Pérez B, Rodríguez-Urrutia A, Gatorno-Muñoz S, Rodríguez López O. Efecto de la biofertilización en la morfo fisiología y rendimiento del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Centro Agrícola [Internet]. 2018;45(4):34-42. Available from: [scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-57852018000400034](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-57852018000400034)
 46. Mercante FM, Otsubo AA, Brito OR. New native rhizobia strains for inoculation of common bean in the *Brazilian savanna*. Revista Brasileira de Ciência do Solo [Internet]. 2017;41. Available from: <https://www.scielo.br/j/rbcs/a/qkFXhNRKPmgtY5krCVz55C/?lang=en>
 47. C N, Gretel G, Costales D, Freixas-Coutin J, Guevara E, Meira S, et al. Signals in Soybean's Inoculants. In 2011. doi:10.5772/14882
 48. Martínez Viera R, López M, Dibut B, Parra C, Rodríguez J. La fijación biológica del nitrógeno atmosférico en el medio tropical. Ed. MPPAT, Caracas. 2007;190.
 49. Pueppke SG, Broughton WJ. *Rhizobium* sp. strain NGR234 and *R. fredii* USDA257 share exceptionally broad, nested host ranges. Molecular Plant-Microbe Interactions [Internet]. 1999;12(4):293-318. Available from: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/MPMI.1999.12.4.293>
 50. Wais RJ, Keating DH, Long SR. Structure-function analysis of nod factor-induced root hair calcium spiking in Rhizobium-legume symbiosis. Plant physiology [Internet]. 2002;129(1):211-24. Available from: <https://academic.oup.com/plphys/article/129/1/211/6110204?login=true>
 51. Kinkema M, Scott PT, Gresshoff PM. Legume nodulation: successful symbiosis through short-and long-distance signalling. Functional Plant Biology [Internet]. 2006;33(8):707-21. Available from: <https://www.publish.csiro.au/fp/fp06056>
 52. Oldroyd GE, Murray JD, Poole PS, Downie JA. The rules of engagement in the legume-rhizobial symbiosis. Annual review of genetics [Internet]. 2011;45:119-44. Available from: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-genet-110410-132549>
 53. Hayashi S, Gresshoff PM, Ferguson BJ. Mechanistic action of gibberellins in legume nodulation. Journal of integrative plant biology [Internet]. 2014;56(10):971-8. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jipb.12201>
 54. Russelle MP, Schepers JS, Raun WR. Biological dinitrogen fixation in agriculture. Agronomy [Internet]. 2008;49:281-359. Available from: https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=an-LKuRRmwoC&oi=fnd&pg=PA281&dq=Biological+Dinitrogen+Fixation+in+Agriculture.+Nitrogen+in+Agricultural+Systems&ots=oBH1-TWlw7&sig=GV07Yrm3_sE9snFKJzrze-RroDg#v=onepage&q=Biological%20Dinitrogen%20Fixation%20in%20Agriculture.%20Nitrogen%20in%20Agricultural%20Systems&f=false
 55. 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>
 56. Martínez R, López M, Dibut B, Parra C, Rodríguez J. La fijación del nitrógeno atmosférico en el medio tropical, Ed. MPPAT, Caracas. 2007;190.

57. Freixas JA, Reynaldo IM, Nápoles MC. Influencia de la sequía sobre el metabolismo del nitrógeno fijado durante la simbiosis Bradyrhizobium-soya. Cultivos Tropicales [Internet]. 2010;31(2):00-00. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0258-59362010000200009&script=sci_arttext&lng=pt
58. González JES, Cuéllar AE, Espinosa RR. Manejo, integración y beneficios del biofertilizante micorrizico EcoMic® en la producción agrícola. Agricultura Tropical [Internet]. 2021;6(3). Available from: https://www.researchgate.net/publication/340223155_Manejo_integracion_y_beneficios_del_biofertilizante_micorrizico_EcoMicR_en_la_produccion_agricola
59. Alvarado A, Chavarría M, Guerrero R, Boniche J, Navarro JR. Características edáficas y presencia de micorrizas en plantaciones de teca (*Tectona grandis* Lf) en Costa Rica. Agronomía Costarricense [Internet]. 2004;28(1):89-100. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/436/43628109.pdf>
60. Entry JA, Rygielwicz PT, Watrud LS, Donnelly PK. Influence of adverse soil conditions on the formation and function of arbuscular mycorrhizas. Advances in Environmental Research [Internet]. 2002;7(1):123-38. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1093019101001095>
61. Linderman RG. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and soil microbial interactions. Mycorrhizae in sustainable agriculture [Internet]. 1992;54:45-70. Available from: <https://access.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2134/asa-specpub54.c3>
62. Benizri E, Baudoin E, Guckert A. Root colonization by inoculated plant growth-promoting rhizobacteria. Biocontrol science and technology [Internet]. 2001;11(5):557-74. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09583150120076120>
63. Gamper H, Hartwig UA, Leuchtman A. Mycorrhizas improve nitrogen nutrition of *Trifolium repens* after 8 years of selection under elevated atmospheric CO₂ partial pressure. New Phytologist [Internet]. 2005;167(2):531-42. Available from: <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1469-8137.2005.01440.x>
64. Janos DP. Plant responsiveness to mycorrhizas differs from dependence upon mycorrhizas. Mycorrhiza [Internet]. 2007;17(2):75-91. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00572-006-0094-1>
65. Smith SE, Read DJ. Mycorrhizal symbiosis [Internet]. Academic press; 2010. Available from: https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=qLciOJaG0C4C&oi=fnd&pg=PP1&dq=Mycorrhizal+symbiosis&ots=zrvSoTSyKk&sig=abuTQELXzzJjWe_ADZ1KTc1kpAs#v=onepage&q=Mycorrhizal%20symbiosis&f=false
66. Allen MF, Swenson W, Querejeta JI, Egerton-Warburton LM, Treseder KK. Ecology of mycorrhizae: a conceptual framework for complex interactions among plants and fungi. Annual Review of Phytopathology [Internet]. 2003;41(1):271-303. Available from: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.phyto.41.052002.095518>
67. Rivera R, Ruiz L, Fernández F, Sánchez C, Riera M, Hernández A, et al. La simbiosis micorrizica efectiva y el sistema suelo-planta-fertilizante. In: Congreso Sociedad Cubana de la Ciencia del Suelo (6: 2006 mar 8-10: La Habana). Memorias.[CD-ROM] Ciudad de la Habana: Centro de Convenciones Capitolio [Internet]. 2006. Available from: https://www.researchgate.net/profile/Ramon-Espinosa-3/publication/301624642_La_SimbiosisS_Micorrizica_Efectiva_y_el_Sistema_Suelo-Planta-_Fertilizante/links/571e1b8808aefa6488999769/LA-SIMBIOSIS-MICORRIZICA-EFECTIVA-Y-EL-SISTEMA-SUELO-PLANTA-FERTILIZANTE.pdf
68. Ibarra-Puón JC, Aguirre-Medina JF, Coss L-D, Cadena-Iñiguez J, Zavala-Mata GA. *Coffea canephora* (Pierre) ex Froehner inoculado con micorriza y bacteria fijadora de nitrógeno en vivero. Revista Chapingo. Serie horticultura [Internet]. 2014;20(2):201-13. Available from: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1027-152X2014000200006&script=sci_abstract&lng=pt
69. Rivera R, Fernández F, Fernández K, Ruiz L, Sánchez C, Riera M. Advances in the management of effective arbuscular mycorrhizal symbiosis in tropical ecosystems. Mycorrhizae in crop production [Internet]. 2007;151-96. Available from: https://www.researchgate.net/profile/Ramon-Espinosa-3/publication/269993713_Advances_in_the_management_of_effective_arbuscular_mycorrhizal_symbiosis_in_tropical_ecosystems/links/550c4e3f0cf2ac2905a3c2fb/Advances-in-the-management-of-effective-arbuscular-mycorrhizal-symbiosis-in-tropical-ecosystems.pdf
70. Espinosa-Cuéllar A, Rivera-Espinosa R, Ruiz-Martínez L, Espinosa-Cuéllar E, Lago-Gato Y. Manejo de precedentes inoculados con HMA para micorrizar eficientemente el boniato *Ipomoea batatas* (L.) Lam en sucesión. Cultivos Tropicales [Internet]. 2019;40(2). Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0258-59362019000200003&script=sci_arttext&lng=pt
71. Marrero-Cruz YJ, Rivera Espinosa RA. Efecto de frecuencias de inoculación micorrizica y el laboreo sobre una secuencia de cultivos en un suelo Pardo Mullido Carbonatado [Internet]. [Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Cuba]; 2010. 78 p. Available from: <http://repositorio.geotech.cu/jspui/bitstream/1234/2843/2/Efecto%20de%20frecuencias%20de%20inoculaci%C3%B3n%20micorr%C3%ADzica%20y%20laboreo%20sobre%20una%20secuencia%20de%20cultivos%20en%20suelo%20pardo.pdf>
72. Covacevich F, Marino MA, Echeverría HE. The phosphorus source determines the arbuscular mycorrhizal potential and the native mycorrhizal colonization of tall fescue and wheatgrass. European Journal of Soil Biology [Internet]. 2006;42(3):127-38. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S116455630500076272>
73. Leigh J, Hodge A, Fitter AH. Arbuscular mycorrhizal fungi can transfer substantial amounts of nitrogen to their host plant from organic material. New Phytologist [Internet]. 2009;181(1):199-207. Available from: <https://>

- nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1469-8137.2008.02630.x
74. Villegas J, Fortin JA. Phosphorus solubilization and pH changes as a result of the interactions between soil bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on a medium containing NO₃-as nitrogen source. Canadian Journal of Botany [Internet]. 2002;80(5):571-6. Available from: <https://cdnsiencepub.com/doi/abs/10.1139/b02-038>
75. Gryndler M. Interactions of arbuscular mycorrhizal fungi with other soil organisms. In: Arbuscular mycorrhizas: Physiology and function [Internet]. Springer; 2000. p. 239-62. Available from: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-017-0776-3_11
76. López-Pedrosa A, González-Guerrero M, Valderas A, Azcón-Aguilar C, Ferrol N. *Gint*AMT1 encodes a functional high-affinity ammonium transporter that is expressed in the extraradical mycelium of *Glomus intraradices*. Fungal Genetics and Biology [Internet]. 2006;43(2):102-10. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1087184505001660>
77. Cardoso IM, Kuyper TW. Mycorrhizas and tropical soil fertility. Agriculture, ecosystems & environment [Internet]. 2006;116(1-2):72-84. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167880906001149>
78. Helgason T, Fitter AH. Natural selection and the evolutionary ecology of the arbuscular mycorrhizal fungi (*Phylum glomeromycota*). Journal of experimental botany [Internet]. 2009;60(9):2465-80. Available from: <https://academic.oup.com/jxb/article/60/9/2465/513679?login=true>
79. Atul-Nayyar A, Hamel C, Hanson K, Germida J. The arbuscular mycorrhizal symbiosis links N mineralization to plant demand. Mycorrhiza [Internet]. 2009;19(4):239-46. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00572-008-0215-0>
80. Requena N, Breuninger M, Franken P, Ocón A. Symbiotic status, phosphate, and sucrose regulate the expression of two plasma membrane H⁺-ATPase genes from the mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. Plant physiology [Internet]. 2003;132(3):1540-9. Available from: <https://academic.oup.com/plphys/article/132/3/1540/6111703?login=true>
81. Yao Q, Zhu H-H, Hu Y-L, Li L-Q. Differential influence of native and introduced arbuscular mycorrhizal fungi on growth of dominant and subordinate plants. Plant Ecology [Internet]. 2008;196(2):261-8. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11258-007-9350-5>
82. Ezawa T, Cavagnaro TR, Smith SE, Smith FA, Ohtomo R. Rapid accumulation of polyphosphate in extraradical hyphae of an arbuscular mycorrhizal fungus as revealed by histochemistry and a polyphosphate kinase/luciferase system. New Phytologist [Internet]. 2004;161(2):387-92. Available from: <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.1469-8137.2003.00966.x>
83. Koide RT, Kabir Z. Extraradical hyphae of the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* can hydrolyse organic phosphate. New Phytologist [Internet]. 2000;148(3):511-7. Available from: <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1469-8137.2000.00776.x>
84. Wang S, Lin X, Yin R, Hou Y. Effect of inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi on the degradation of DEHP in soil. Journal of Environmental Sciences [Internet]. 2004;16(3):458-61. Available from: <https://content.iospress.com/articles/journal-of-environmental-sciences/jes16-3-23>
85. González PJ, Ramírez JF, Rivera R, Hernández A, Plana R, Crespo G, et al. Management of arbuscular mycorrhizal inoculation for the establishment, maintenance and recovery of grasslands. Revista Cubana de Ciencia Agrícola [Internet]. 2015;49(4):535-40. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/1930/193045908016.pdf>
86. Martínez LAR, Cuéllar AE, Hernández MC, González JS, Espinosa RR. Efecto de dosis de nitrógeno, fósforo y potasio combinadas con micorrizas sobre el cultivo de la yuca en un suelo pardo mullido carbonatado. Agricultura Tropical [Internet]. 2017;2(2). Available from: https://www.researchgate.net/publication/326129315_Efecto_de_dosis_de_Nitrogeno_Fosforo_y_Potasio_combinadas_con_micorrizas_sobre_el_cultivo_de_la_yuca_en_un_suelo_Pardo_mullido_carbonatado
87. Novo R. Curso internacional de Microbiología del Suelo, los Biofertilizantes y la Biofertilización. Asociación de Ingenieros Agrónomos Colombianos residentes en el Ecuador (ASOINCO). Quito, agosto. 2002;19:58.
88. Ventimiglia LA, Torrens Baudrix L. Inoculación y coinoculación en soja: sumando esfuerzos para mejorar el rendimiento [Internet]. AER 9 de Julio, EEA Pergamino, INTA; 2019. Available from: <https://repositorio.inta.gov.ar/handle/20.500.12123/6593>
89. Bonfante P, Anca I-A. Plants, mycorrhizal fungi and bacteria: a network of interactions. Annual review of microbiology [Internet]. 2009;63:363-83. Available from: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.micro.091208.073504>
90. Sodré Filho J, Cardoso AN, Carmona R, Carvalho AM de. Fitomassa e cobertura do solo de culturas de sucessão ao milho na Região do Cerrado. Pesquisa Agropecuária Brasileira [Internet]. 2004;39:327-34. Available from: <https://www.scielo.br/j/pab/a/YSmFRnWsfH6zFrJqTMHrk8w/abstract/?lang=pt>
91. Dodd JC, Rosendahl S, Giovannetti M, Broome A, Lanfranco L, Walker C. Inter- and intraspecific variation within the morphologically-similar arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus mosseae* and *Glomus coronatum*. New Phytologist [Internet]. 1996;133(1):113-32. Available from: <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1469-8137.1996.tb04347.x>
92. Alfonso ET, Galán AL. Evaluación agrobiológica de la coinoculación micorrizas-rizobacterias en tomate. Agronomía Costarricense [Internet]. 2006;30(1):65-73. Available from: <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/agrocost/article/view/6832>
93. Martín GM, Reyes R, Ramírez JF. Coinoculación de *Canavalia ensiformis* (L.) DC con *Rhizobium* y Hongos micorrízicos arbusculares en dos tipos de suelos de Cuba. Cultivos Tropicales [Internet]. 2015;36(2):22-9. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362015000200004

94. Terry Alfonso E, Ruiz Padrón J, Tejeda Peraza T, Díaz de Armas MM. Respuesta del cultivo de la habichuela (*Phaseolus vulgaris* L. var. Verlili.) a la aplicación de diferentes bioproductos. Cultivos Tropicales [Internet]. 2013;34(3):05-10. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-5936201300030001
95. Corbera J, Nápoles MC. Evaluación de la inoculación conjunta *Bradyrhizobium japonicum*-hongos MA y la aplicación de un bioestimulador del crecimiento vegetal en soya, cultivada en época de primavera. Cultivos Tropicales [Internet]. 2011;32(4):13-9. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0258-5936201100040002&script=sci_arttext&tlng=pt
96. Flores GC, Ramírez JF, González PJ, Hernández I. Coinoculación de cepas de rizobios y del hongo micorrízico arbuscular en *Stylosanthes guianensis* vc. CIAT-184. Revista Cubana de Ciencia Agrícola [Internet]. 2014;48(3):297-300. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/1930/193032133016.pdf>