

## Impacto de los biofertilizantes en la agricultura\*

### Impact of biofertilizers in agriculture

Oscar Arath Grageda-Cabrera<sup>1§</sup>, Arturo Díaz-Franco<sup>1</sup>, Juan José Peña-Cabriales<sup>2</sup> y José Antonio Vera-Núñez<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Campo Experimental Bajío. INIFAP. Carretera Celaya-San Miguel de Allende, km 6.5. Celaya, Guanajuato, México. C. P. 38110. Tel. 01 461 6115323. Ext. 233. (diaz.arturo@inifap.gob.mx). <sup>2</sup>Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Unidad Irapuato. Irapuato, Guanajuato, México. (jpena@ira.cinvestav.mx), (jvera@ira.cinvestav.mx). Tel. 01 462 6239600. <sup>§</sup>Autor para correspondencia: grageda.oscar@inifap.gob.mx.

#### Resumen

Este trabajo es el producto de un ejercicio multidisciplinario y examina el significado de la microbiología en la agricultura, haciendo énfasis en el beneficio de los biofertilizantes. Una evaluación de los biofertilizantes puede tratar un gran número de tópicos, cuya relevancia depende del interés del lector o tema concreto; sin embargo, el contenido principal está centrado en los tipos, modos de acción, factores que afectan su eficiencia, producción e impacto en la agricultura. La tecnología relativamente simple de la biofertilización se practica desde hace siglos y en la mayoría de los casos se reportan respuestas positivas sobre el rendimiento; sin embargo, resulta preocupante que en México no ha sido transferida y gran parte de los productores la desconoce. Por lo tanto, se requiere una mayor vinculación entre la industria y los científicos con el fin de colaborar en mejorar los sistemas de producción y calidad de los biofertilizantes. Además, es indispensable contar con asesoría, orientación y capacitación sobre su uso a los productores agrícolas.

**Palabras clave:** bacterias, fertilizantes, hongos, inoculantes.

#### El presente de la agricultura

Del área total del planeta (510 072 000 km<sup>2</sup>), la parte acuática representa 71% y la terrestre 29%; de la parte terrestre, sólo 13% se puede utilizar para la producción agrícola. Aun así,

#### Abstract

This work is product of a multidisciplinary exercise and examines the meaning of microbiology in agriculture, emphasizing the benefit of bio fertilizers. An evaluation of the biofertilizers can treat a large number of topics, whose relevance depends on the reader's interest or topic; however, the main content focuses on the types, modes of action, factors affecting its efficiency, production and impact in agriculture. Relatively simple technology of bio fertilization has been practiced for centuries and in most cases reported a positive effect on yield; however, the fact that in Mexico hasn't been transferred this technology and that most producers doesn't know about it, is preoccupying. Therefore, a greater link between the industry and scientist is required to collaborate on improving the production systems and quality of biofertilizers. It is also indispensable to have advice, guidance and training on its use to agricultural producers.

**Key words:** bacteria, fertilizers, fungus, inoculants.

#### Today's agriculture

Of the total area of the planet (510 072 000 km<sup>2</sup>), water represents 71% and 29% of land; of the land, only 13% can be used for agricultural production. Even so, 98% of

\* Recibido: abril de 2011  
Aceptado: septiembre de 2012

el 98% de los alimentos proviene del área agrícola y un 2% de la acuática. En los últimos años, la tasa de crecimiento de la producción agrícola ha disminuido; existen tres fuentes principales de crecimiento en la producción de cultivos: aumento de la tierra cultivada, incremento de la frecuencia de las cosechas y aumento de los rendimientos. Hay indicios de que podríamos estar llegando al límite de las posibilidades para las tres fuentes (FAO, 2002).

Entre los años sesenta y noventa, la tierra de cultivo en el mundo sólo creció 11% mientras que la población mundial casi se duplicó. Como resultado, la tierra de cultivo *per cápita* disminuyó 40%, pasando de 0.43 ha a sólo 0.26 ha. No obstante, a lo largo de este mismo período, los niveles de nutrición mejoraron considerablemente y disminuyó el precio de los alimentos. La explicación es que el crecimiento de la productividad redujo la cantidad de tierra necesaria para producir la misma cantidad de alimentos en un 56%. Esta reducción, facilitada por el aumento del rendimiento e intensidad de cultivos, compensó sobradamente la disminución de superficie *per cápita*.

En las últimas décadas se ha tomado conciencia del agotamiento de los recursos naturales debido a la explotación desmesurada de los mismos. En el ámbito agrícola, el objetivo es lograr altos rendimientos por unidad de superficie para satisfacer la creciente demanda de alimentos, sin considerar la sostenibilidad de la producción (viabilidad técnica, rentabilidad económica y sin contaminación). Los éxitos de esta estrategia han sido importantes, pero es una agricultura muy ineficiente y altamente contaminante, la cual ha ocasionado la pérdida de la diversidad biológica, disminución de los recursos forestales, erosión del suelo, cambios climáticos, etc. Esta situación ha disminuido la superficie apropiada para la agricultura, causando graves problemas ecológicos, económicos y sociales. Por tal motivo, es necesario encontrar soluciones de producción adecuadas. Las nuevas tecnologías deben estar orientadas a mantener la sostenibilidad del sistema mediante la explotación racional de los recursos naturales y aplicación de medidas adecuadas para preservar el ambiente.

Uno de los requerimientos más importantes es el mantenimiento de la fertilidad del suelo. Tradicionalmente, la deficiencia de nutrientes, especialmente la de N, es corregida a través de la adición de fertilizantes. Sin embargo, los altos costos limitan su uso, sobre todo en los países en desarrollo, donde la necesidad de incrementar la producción de alimentos es más urgente. Por otro lado, se estima que los

food comes from the agricultural area and 2% from water. In the last years, the growth rate of agricultural production has declined; there are three major sources of growth in crop production: increase in cultivated land, increase on the harvest frequency and increase on crop yield. There are indications that we may be reaching the limit of possibilities for the three sources (FAO, 2009).

In between the sixties and nineties, the agricultural land in the world grew 11%, while world population almost doubled. As result, arable land *per capita* decreased 40%, going from 0.43 ha to only 0.26 ha. However, during this period, the nutrition levels improved considerably and food price decreased. The explanation is that the growth productivity reduced the amount of necessary land to produce the same amount of food in 56%. This reduction, facilitated by increased yield and cropping intensity, over compensates the decrease of land *per capita*.

In recent decades it has become aware of the depletion of natural resources due to overexploitation of them. In agriculture, the objective is to achieve high yields per unit of surface to satisfy the growing demand for food, without considering the production sustainability (technical feasibility, economic viability and without pollution). The success of this strategy has been important, but agriculture is very inefficient and highly polluting, which has caused the loss of biological biodiversity, reduction of forest resources, soil erosion, climate change, etc.

This situation has reduced the suitable area for agriculture, causing severe ecological, economic and social problems. For this reason, is necessary to find suitable solutions for production. The new technologies must be orientated to maintain the sustainability of the system through the rational exploitation of natural resources and application of appropriate measures to preserve the environment.

One of the most important requirements is the maintenance of soil fertility. Traditionally, nutritional deficiency, especially N, is corrected through addition of fertilizers. However, the high costs limit its use, especially in developing countries, where the need for increased food production is more urgent. On the other hand, it is estimated that crop adsorb between 20 and 40% of the applied fertilizer, the rest is lost through various mechanisms, generating economic losses and environmental pollution, such as eutrophication of water bodies, acid rain, destruction of the stratospheric ozone layer and an increase greenhouse effect (Duxbury, 1994).

cultivos absorben entre un 20 a 40% del fertilizante aplicado, el resto se pierde por diversos mecanismos, generando cuantiosas pérdidas económicas y contaminación ambiental, tal como la eutrofización de cuerpos de agua, lluvia ácida, destrucción de la capa de ozono estratosférica e incremento del efecto de invernadero (Duxbury, 1994).

Se ha valorado que la fijación biológica de nitrógeno (FBN) contribuye con más N al crecimiento de las plantas que la cantidad total de fertilizantes nitrogenados aplicados a los cultivos. Alrededor de  $1.75 \times 10^8$  Mg N a<sup>-1</sup> se fijan biológicamente, lo que equivale a un poco más de la producción mundial de fertilizantes nitrogenados ( $8.9 \times 10^7$  Mg N a<sup>-1</sup>). En contraste, la fertilización nitrogenada en cultivos no-leguminosos es una de los insumos más costosos en la agricultura (FAO, 2008).

### Agricultura mexicana

En México, la agricultura se practica en *ca.*  $2.19 \times 10^7$  ha (SAGARPA, 2010). La agricultura del pasado se caracterizó por usar una tecnología empírica y poco productiva; la del presente se sigue sustentando en los principios de hace más de 50 años, se caracteriza por el uso de dos tecnologías: i) la misma del pasado, empleada en las áreas de temporal, y ii) una tecnología cara y derrochadora de energía (Gabino de Alba, 2010). El resultado directo es que los productos agrícolas no son competitivos con los de otros países.

El consumo de fertilizantes sintéticos data desde 1950 y ha crecido ininterrumpidamente hasta llegar al consumo actual de  $4.0 \times 10^6$  Mg a<sup>-1</sup>. En 1943 se crea la empresa pública Guanos y Fertilizantes de México, a la cual en la década de los 1970 se le cambió el nombre a Fertimex. Hasta 1970 se tenían plantas productoras de fertilizantes con las mejores tecnologías disponibles en el mundo y México era un exportador neto. Contaba con gas natural para producir amoníaco, principal insumo para la fabricación de los fertilizantes, aunque se importaba roca fosfórica. A inicios de 1990 incrementó el precio del gas y del amoníaco, lo que provocó que en 1992 Fertimex se privatizara, el gobierno decidió fragmentarlo en 13 unidades productoras y se disparó el precio de los fertilizantes (Figura 1) (Grageda-Cabrera *et al.*, 2000). Así, desde el año 2000 México se convirtió en importador neto, actualmente se importa *ca.* 63% de los fertilizantes (Cuadro 1).

Prácticamente 80% de la superficie agrícola se fertiliza en diversas dosificaciones, dependiendo de la capacidad económica del productor; en la mayoría de los casos se

It has been assessed that biological nitrogen fixation (BNF) contributes with more N to plant growth than the total amount of nitrogen fertilizers applied to crops. Around  $1.75 \times 10^8$  Mg N a<sup>-1</sup> is biologically fixated, which is equivalent to a little more than the world production of nitrogen fertilizers ( $8.9 \times 10^7$  Mg N a<sup>-1</sup>). In contrast, to nitrogen fertilization in non-leguminous crops is one of the most expensive inputs in agriculture (FAO, 2008).

### Mexican agriculture

In Mexico, the agriculture is practiced in *ca.*  $2.19 \times 10^7$  ha (SAGARPA, 2010). Agriculture in the past characterized by using empirical technology and unproductive; that of the present continues to build upon the principles of more than 50 years, is characterized by the use of two technologies: i) the same of the past, used in rainfed areas and ii) an expensive technology and wasteful energy (Gabino de Alba, 2010). The direct result is that agricultural products aren't competitive with other countries. Synthetic fertilizer consumption data since 1950 and has grown steadily until it reached the current consumption of  $4.0 \times 10^6$  Mg a<sup>-1</sup>.

In 1943 a public company Guanos and fertilizers of Mexico is build, which in the decade of 1970 changed its name to Fertimex. Until 1970 it had plants producing fertilizers with the best technology available in the world and Mexico was one of the bigger exporters. It had natural gas to produce ammonia, the main input for the manufacture of fertilizer; even do phosphoric rock was imported. At the beginning of 1990 raised price on gas and ammonium, provoked that Fertimex was privatized in 1992, the government decided to break it into 13 producing units and the fertilizers shot price (Figure 1) (Grageda-Cabrera *et al.*, 2000). Thus since 2000 Mexico became a big importer, actually imports *ca.* 63% of fertilizers (Chart 1).

Almost 80% of agricultural land is fertilized in different dosages, depending on the economic capacity of the producer; in most cases applied without the technical accuracy required, which is reflected in many producers apply excessive amounts of fertilizers.

The low profitability of farming promotes research to develop new supplies, in order to provide technological innovations that tend to maximize revenue. Under these conditions, presents the option of using technologies compatible with the microbiological activity to promote plant nutrition.

aplican sin el rigor técnico requerido, lo que se ha reflejado en que muchos productores apliquen cantidades desmesuradas de fertilizantes.

La baja rentabilidad de la actividad agrícola impulsa la investigación para desarrollar nuevos insumos, con el fin de proveer innovaciones tecnológicas que tiendan a maximizar el ingreso. Bajo estas condiciones, se presenta la alternativa de utilizar tecnologías compatibles con la actividad microbiológica para favorecer la nutrición de las plantas.

### Microbiología y agricultura

La importancia que tienen los microorganismos en la naturaleza y en sus relaciones con el hombre es cada día más evidente. Cuando la agricultura tiene la necesidad de adoptar medidas conservacionistas, los microorganismos utilizados como biofertilizantes tienen un papel sustancial. El desarrollo y uso de los biofertilizantes se contempla como una importante alternativa para la sustitución parcial o total de los fertilizantes minerales.

Los beneficios que presenta el uso de microorganismos en la agricultura pueden concretarse de la siguiente manera: a) Fitoestimulantes, estimulan la germinación de las semillas y el enraizamiento por la producción de reguladores del crecimiento, vitaminas y otras sustancias; b) Biofertilizantes, incrementan el suministro de los nutrimentos por su acción sobre los ciclos biogeoquímicos, tales como la fijación de  $N_2$ , la solubilización de elementos minerales o la mineralización de compuestos orgánicos; c) Mejoradores, mejoran la estructura del suelo por su contribución a la formación de agregados estables; d) Agentes de control biológico de patógenos, desarrollan fenómenos de antagonismo microbio-microbio; e) Biorremediadores, eliminan productos xenobióticos tales como pesticidas, herbicidas y fungicidas; y f) Mejoradores ecofisiológicos, incrementan la resistencia al estrés tanto biótico como abiótico (Bowen y Rovira, 1999).

### Los biofertilizantes

La interpretación del término biofertilizante es muy amplia, representando desde microorganismos, abonos verdes y estiércoles, hasta extractos de plantas. De manera sintetizada, podemos decir que son productos que contienen microorganismos, que al ser inoculados pueden vivir asociados o en simbiosis con las plantas y le ayudan a su nutrición y protección (Vessey, 2003). Estos

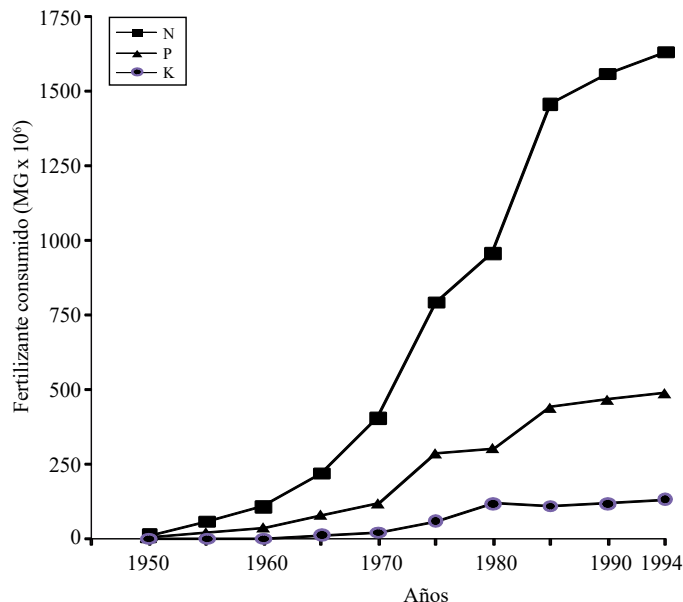


Figura 1. Consumo de fertilizantes en México (Grageda-Cabrera *et al.*, 2000a).

Figure 1. Fertilizer consumption in Mexico (Grageda-Cabrera *et al.*, 2000a).

### Cuadro 1. Consumo de fertilizantes en México.

Table 1. Fertilizer consumption in Mexico.

Característica	Consumo fertilizantes sintéticos	
	10 <sup>6</sup> Mg	%
Producción	1.5	37.5
Importación	2.5	62.5
Total	4.0	100.0

### Microbiology and agriculture

The importance that microorganisms have in nature and its relationship with man is more evident every day. When agriculture is in need of conservation measures, microorganisms used as biofertilizers play a substantial role. The development and use of fertilizers is contemplated as an important alternative for the partial or total substitution of mineral fertilizers.

Regarding the benefits of the use of microorganisms in agriculture can be specified as follows: a) phytostimulants, stimulates seed germination and rooting by production of growth regulators, vitamins and other substances; b) biofertilizers increase the nutrimental supply by its action on the biogeochemical cycles, such as nitrogen fixation, mineral solubility of elements or mineralization of organic

microorganismos se encuentran de forma natural en el suelo y abarcan diversos grupos; sin embargo, su población es afectada por el manejo de suelo y uso excesivo de agroquímicos (Caballero-Mellado *et al.*, 1992; Grageda-Cabrera *et al.*, 2003).

Aunque no se conocía la existencia de las bacterias, hasta que en 1683 von Leewenhoek las describió, su utilización para estimular el crecimiento de las plantas se remonta siglos atrás. Teofrasto (287 a.C.) y Virgilio (30 a.C.) sugerían mezclar el suelo donde se habían cultivado leguminosas con suelo donde no se habían cultivado, para remediar sus defectos y adicionarle fuerza (Tisdale y Nelson, 1975).

Desde el siglo XVIII se inocularon hongos en plántulas de encino para incrementar la producción de trufas, que son hongos que tienen alto valor económico por su enorme importancia gastronómica. Las trufas eran colocadas en los “cajetes” donde las plántulas de los encinos eran sembradas. Esto ocurrió mucho antes de que en 1885 se acuñara el vocablo “micorriza” (Smith y Read, 1997).

A finales del siglo XIX, la práctica de mezclar suelo con semillas, se convirtió en un método recomendado para inocular leguminosas en Estados Unidos; poco después, Nitragin registró la primer patente para inocular plantas con bacterias del género *Rhizobium* spp. En los años 1930's y 1940's, la inoculación con bacterias rizosféricas asociativas con cepas de los géneros *Azotobacter* y *Bacillus* fue utilizada a gran escala en Rusia y Europa del Este. Sin embargo, estas prácticas no tuvieron éxito y fueron abandonadas durante la Segunda Guerra Mundial (Barea *et al.*, 2005; Bashan, 2008). Todo apuntaba que el futuro de los biofertilizantes era promisorio en el desarrollo de la agricultura del siglo XX. Sin embargo, la asombrosa industrialización y urbanización que surgió después de 1945, demandó una gran cantidad de materias primas y alimentos. Es aquí donde la demanda de los fertilizantes, que son capaces de generar una rápida respuesta productiva, tuvieron su extensa utilización (Duxbury, 1994).

Aunque por casi 100 años se han producido comercialmente inoculantes a base de *Rhizobium* spp., con las crisis energéticas en la década de 1970, el estudio de los biofertilizantes avanzó rápidamente en algunos países europeos y asiáticos; sin embargo, el avance fue menor en México y países latinoamericanos (Okon y Labandera-González, 1994).

compounds; c) improvers, improve soil structure for their contribution to the formation to stable aggregates; d) biological control agents of pathogens, phenomena development of microbial-microbial antagonism; e) biorremedial, eliminate xenobiotic products, such as, pesticides, herbicides and fungicides; and f) eco physiological improvers, increase the resistance to both biotic and abiotic stress (Bowen and Rovira, 1999).

## Biofertilizers

The interpretation of biofertilizer is very broad, representing from microorganisms, green fertilizers and manures to plant extracts. These are summarized, we can say that they are products containing microorganisms that can live to be inoculated associates or in symbiosis with plants and help their nutrition and protection (Vessey, 2003). These microorganisms often are found naturally in soil and cover various groups; however, its population is affected by soil management and excessive use of agrochemicals (Caballero-Mellado *et al.*, 1992; Grageda-Cabrera *et al.*, 2003).

Although not know the existence of bacteria, until 1683 Von Leewenhoek described them, its use to stimulate plant growth goes back centuries. Teofrasto (287 BC) and Virgilio (30 BC) suggested mixing the soil were legumes have been grown with soil were has not been sown, to remedy its defects and strengthen it (Tisdale and Nelson, 1975).

Since the XVIII century fungi were inoculated oak seedlings to increase the production of truffle, which are fungi that have high economic value because of its enormous importance cuisine. Truffles are placed in “cajetes or bowls” were oak seedlings are sown. This was long before that in 1885 was coined the term "mycorrhiza" (Smith and Read 1997).

In the late nineteenth century, the practice of mixing soil with seeds became a preferred method for inoculating legumes in the United States of America; soon after the first patent registered by Nitragin to inoculate plants with bacteria of the genus *Rhizobium* spp. In 1930 and 1940, inoculation with associative rhizosphere bacteria strains of the genera *Azotobacter* and *Bacillus* was used on a large scale in Russia and Eastern Europe. However, an amazing industrialization and urbanization that surged after 1945 claimed a large amount of raw materials and food. This is where the demand for fertilizers, that are capable of generating a quick response production, had its extensive use (Duxbury, 1994).

Actualmente, existe una gran variedad de biofertilizantes con diversas funciones y atendiendo al tipo de cultivo. En general, los biofertilizantes más difundidos se componen de hongos micorrícicos y bacterias (All-Taweil *et al.*, 2009; Pooja *et al.*, 2007).

## Tipos y modos de acción de biofertilizantes

### Hongos

El término micorriza fue creado por el botánico alemán Albert Bernard Frank en 1885, y procede del griego *mykos* que significa hongo y del latín *rhiza* que significa raíz, definiendo así la asociación simbiótica entre el micelio de un hongo y las raíces de un vegetal. De entre las diversas asociaciones benéficas planta-microorganismo, la micorrícica es la que se encuentra más ampliamente extendida sobre la superficie terrestre, alrededor del 90% de las plantas terrestres la forman (Smith y Read, 1997), también es la más antigua, se han encontrado fósiles con *ca.*  $4.0 \times 10^8$  años (Simon *et al.*, 1993).

Los medios por los cuales las micorrizas pueden mejorar el estado nutricional de las plantas son: 1) incrementan el volumen de exploración de las raíces, ya que las hifas del hongo actúan como una extensión, 2) incrementan la captación de agua y nutrimentos como P, N, K y Ca, 3) incrementan la tolerancia a los cambios de temperatura y acidez extrema del suelo causadas por la presencia de Al, Mg y S, 4) proveen protección contra ciertos patógenos, 5) las raíces permanecen activas más tiempo, y 6) mejoran la estructura del suelo ayudando a mantener unidos a los agregados gracias al micelio y secreción de glomalinas (Alarcón y Ferrara, 2000). Es por ello que a las micorrizas se les reconoce un gran potencial en el contexto de la agricultura sostenible.

Por otro lado, el hongo del género *Trichoderma* es habitante común en la rizosfera, tiene varios mecanismos a través de los cuales influye el desarrollo de las plantas tales como la producción de reguladores de crecimiento, la solubilización y absorción de P, Cu, Fe, Zn, y Mn, y capacidad antagonista contra ciertos hongos fitopatógenos de plantas de interés agrícola (Gravel *et al.*, 2007; Osman *et al.*, 2010).

### Bacterias promotoras del crecimiento vegetal

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) representan una amplia variedad de bacterias del suelo, las cuales cuando crecen en asociación con las plantas estimulan

Although for almost 100 years have been commercially produced inoculants of *Rhizobium* spp., with the energetic crises in the 1970s, the study of biofertilizers advanced rapidly in some European and Asian countries, but progress was lower in Mexico and Latin American countries (Okon and Labandera-González, 1994).

Currently, there are a variety of biofertilizers with various functions and by type of crop. In general, the most widespread biofertilizers consist of mycorrhizal fungi and bacteria (Pooja *et al.*, 2007; All-Taweil *et al.*, 2009).

## Types and modes of action of biofertilizers

### Fungus

The term mycorrhiza was created by the German botanist Albert Bernard Frank in 1885, and from the Greek meaning mushroom *mykos* and from the Latin meaning *root rhiza*, thus defining the symbiotic association between the mycelium of a fungus and the roots of a plant. Of the various plant-microbe beneficial associations, the mycorrhiza is what is most widespread on the earth surface, about 90% of the plants form it (Smith and Read, 1997), also is the oldest fossil found with *ca.*  $4.0 \times 10^8$  years (Simon *et al.*, 1993).

The means by which mycorrhizae can improve the nutritional status of the plants are: 1) increase the volume of root exploration, because fungal hyphae act as an extension; 2) increase the uptake of water and nutrients as P, N, K and Ca; 3) increased tolerance to the temperature changes and extreme soil acidity caused by the presence of Al, Mg and S; 4) provide protection against certain pathogens; 5) roots remain active longer; 6) improve soil structure helping to hold together the aggregate through the mycelium and glomalin secretions (Alarcón and Ferrara, 2000). That is why the mycorrhizal are recognized great potential in the context of sustainable agriculture.

Furthermore, the fungus of the genus *Trichoderma* is common inhabitant of the rhizosphere, has several mechanisms by which influences the growth of plants such as the production of plant growth regulators, solubilization and absorption of P, Cu, Fe, Zn, and Mn, and antagonistic capacity against certain fungal pathogens of plants of agricultural interest (Gravel *et al.*, 2007; Osman *et al.*, 2010).

su crecimiento. Los medios por los cuales las BPCV pueden mejorar el estado nutricional de las plantas son: 1) fijación biológica de  $N_2$ , 2) producción de reguladores del crecimiento, vitaminas y otras sustancias, 3) disponibilidad de nutrimentos en la rizosfera, 4) incremento en el área superficial de la raíz y 5) control de microorganismos patogénicos (Lugtenberg y Kamilova, 2009).

La capacidad de producir reguladores de crecimiento está ampliamente distribuida entre las bacterias que viven asociadas a las plantas y aproximadamente el 80% son productoras de auxinas (Bowen y Rovira, 1999). La auxina más importante en términos cuantitativos es el ácido-3-indol-acético (AIA), la producción de este regulador incrementa el sistema radical y se relaciona con la mayor absorción de nutrimentos (Okon y Kapulnik, 1986).

A pesar de las intensas investigaciones sobre la FBN en no-leguminosas a finales de 1970, hay poca evidencia de la inoculación de BPCV en no-leguminosas que alcancen niveles significantes de FBN. Por ejemplo, se creyó que los efectos benéficos de *Azospirillum brasilense* en plantas no-leguminosas era vía FBN, ahora se reconoce que el efecto en la estimulación del crecimiento se debe predominantemente a otros mecanismos *i.e.* producción de reguladores del crecimiento y sus efectos sobre la fisiología y morfología de la raíz (Bashan, 2008).

### Producción de biofertilizantes

La producción de biofertilizantes se centra en países desarrollados donde es una práctica adoptada. Se fabrican por empresas gubernamentales o privadas e incluyen micorrizas, *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas* y agentes de biocontrol como *Trichoderma*. Los inoculantes son inocuos y se requiere de un cuidadoso manejo para no menguar su efectividad. En muchos países en desarrollo no hay industrias de inoculantes, lo cual hace aún más difícil su popularización. Además, en muchas áreas rurales hay una renuencia básica a usar bacterias y hongos como microorganismos benéficos, en estas culturas los microbios están asociados con enfermedades humanas y de animales (Bashan, 2008).

En los diferentes países latinoamericanos, existe una amplia gama de factores tanto favorables como desfavorables que influyen en la calidad, producción y distribución de los biofertilizantes. En ocasiones, las empresas no cuentan con almacenes apropiados a gran escala o la estructura

### Plant growth promoting bacteria

The Plant growth promoting bacteria (PGPB) represents a wide variety of soil bacteria, which when grown in association with plants stimulates their growth. The means by which PGPB can improve the nutritional status of plants are: 1) biological fixation of  $N_2$ ; 2) production of growth regulators, vitamins and other substances; 3) nutrient availability in the rhizosphere; 4) increased root surface area; and 5) control pathogenic microorganisms (Lugtenberg and Kamilova, 2009). The ability to produce growth regulators is widely distributed among bacteria that live in association with plants and approximately 80% are producers of auxin (Bowen and Rovira, 1999). Auxin quantitatively more important is the acid-3-indol-acetic (AIA), the production of this regulator increases the root system and is related to the greater absorption of nutrients (Okon and Kapulnik, 1986).

Despite extensive research on the BNF in non-legumes in late 1970, there is little evidence of PGPB inoculation in non-legumes to reach significant levels of BNF. For example, it was believed that the beneficial effects of *Azospirillum brasilense* in non-legume plants via BNF was now recognized that the effect on growth stimulation is predominantly due to other mechanisms *i.e.* production of growth regulators and their effects on physiology and root morphology (Bashan, 2008).

### Production of biofertilizers

Biofertilizers production focuses on developed countries where it is an adopted practice. They are made by government or private companies and include mycorrhizae, *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas* and *Trichoderma* as biocontrol agents. Inoculants are harmless and require careful handling to not diminish its effectiveness. In many developing countries there are no industries of inoculants, which makes even more difficult to popularize it. Moreover, in many rural areas there is a basic reluctance to use bacteria and fungi as beneficial microorganisms, microbes in these cultures are associated with human and animal diseases (Bashan, 2008).

In the Latin American countries, there are a wide range of both favorable and unfavorable factors affecting the quality, production and distribution of bio-fertilizers. Sometimes companies do not have adequate storage or large-scale structure necessary for transportation. In others, technology and infrastructure for their production is not developed.

necesaria para su transportación. En otros, la tecnología e infraestructura para su producción no está desarrollada. Es evidente que se necesita un organismo regulatorio que ejerza un fuerte control de los inoculantes presentes en el mercado para evitar que el agricultor adquiera productos de baja calidad (Elliott y Lynch, 1995).

En México, la producción actual de biofertilizantes se realiza por pequeñas empresas, instituciones de educación e investigación y por el INIFAP, apoyada por el gobierno federal y/o por gobiernos estatales. A pesar de este desarrollo, la distribución y aplicación a gran escala ha tenido serias dificultades, principalmente por problemas de promoción y distribución.

### Casos exitosos

En la literatura es común encontrar sólo aquellos reportes exitosos del uso de inoculantes. Por consiguiente, es difícil identificar los factores involucrados con la poca o nula respuesta de los cultivos. La aplicación eficaz de inoculantes a base de *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Bradyrhizobium* (Sessitsch *et al.*, 2002); *Azospirillum* (Caballero-Mellado *et al.*, 1992; Okon y Labandera-González, 1994); *Azotobacter* (Lakshmanan, 2000; Somers *et al.*, 2004), *Pseudomonas* (Gravel *et al.*, 2007), microorganismos solubilizadores de fosfato (Lugtenberg y Kamilova, 2009) y *Trichoderma* (Gravel *et al.*, 2007), para mejorar la nutrición de las plantas y la producción agrícola está bien documentado.

En países como Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay, los biofertilizantes constituyen la base de su producción de leguminosas. Uno de los cultivos más importantes es la soya, ésta presenta una alta acumulación de proteínas en la semilla que la convierte en el cultivo con la mayor demanda de N. Se estima que se requieren entre 70 y 80 kg N por Mg de grano. Un rendimiento promedio de 3 Mg ha<sup>-1</sup> equivale a una demanda de 240 kg N, la soya puede fijar desde 0 a 450 kg N ha<sup>-1</sup> y abastecer hasta un 90% de los requerimientos de N del cultivo.

En más de 300 ensayos realizados desde 1990 a 2006 en Argentina, inoculando la soya con cepas altamente eficientes, se determinó una respuesta positiva en el incremento del rendimiento en 11% de los casos (Agrositio.com 31/08/2009 INTA 23/03/2010).

Castellanos *et al.* (1995), en un análisis retrospectivo de ensayos experimentales de inoculación de frijol con cepas elite llevados en México en el periodo de 1980 a 1995,

Obviously a regulatory body is needed to exercise strong control of inoculants on the market to prevent the farmer of acquiring low quality products (Elliott and Lynch, 1995). In Mexico, the current production of biofertilizers is done by small businesses, educational institutions and research and by the National Institute of forest, agricultural and livestock (INIFAP), supported by the federal government and state government. Despite this development, distribution and large scale application has had serious difficulties, mainly due to problems of promotion and distribution.

### Successful cases

In literature it is common to find only those reports of successful use of inoculants. It is therefore, difficult to identify the factors involved with little or no crop response. Effective implementation of inoculants based on *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Bradyrhizobium* (Sessitsch *et al.*, 2002); *Azospirillum* (Caballero-Mellado *et al.*, 1992; Okon and Labandera-González, 1994); *Azobacter* (Lakshmanan, 2000; Somers *et al.*, 2004), *Pseudomonas* (Gravel *et al.*, 2007), phosphate solubilizing microorganisms (Lugtenberg and Kamilova, 2009) and *Trichoderma* (Gravel *et al.*, 2007), to improve the plant nutrition and agricultural production is well documented.

In countries as Argentina, Brazil, Paraguay and Uruguay, biofertilizers form the basis of its production of legumes. One of the most important crops is soybean; it has a high accumulation of protein in the seed that makes the crop with the higher demand for N. It is estimated that it takes between 70 and 80 kg N per grain Mg. An average yield of 3 Mg ha<sup>-1</sup> amounts to a demand of 240 kg N, soy can be set from 0 to 450 kg N ha<sup>-1</sup> and supply up to 90% of crop N requirements.

In more than 300 trials conducted from 1990 to 2006 in Argentina, inoculating soybeans with highly efficient strains, was determined a positive response in yield increases of 11% of cases (Agrositio.com 31/08/2009 INTA 23/03/2010).

Castellanos *et al.* (1995), in a retrospective analysis of experimental trials of bean inoculation with elite strains made in Mexico in the period 1980 to 1995, found success only 11% of the 47 cases analyzed, the inoculated treatments outperformed the non-inoculated checks and without N. These data indicate that the route of inoculation in our country has not been successful to increase BNF in beans. The failure of inoculation may be due to the large diversity of native strains, which are predominantly ineffective strains (Peña- Cabriales and Grageda-Cabrera, 1997).



encontraron éxito sólo en el 11% de los 47 casos analizados, los tratamientos inoculados superaron a los testigos sin inocular y sin N. Estos datos indican que la vía de inoculación en nuestro país no ha sido exitosa para incrementar la FBN en frijol. La falla en la inoculación quizás se debe a la gran diversidad de cepas nativas, las cuales predominantemente son cepas inefectivas (Peña-Cabriales y Grageda-Cabrera, 1997). También se evaluaron los biofertilizantes a base de *Azospirillum brasilense*, *Glomus intraradices* y *Rhizobium etli* durante los ciclos agrícolas Primavera-verano y otoño-invierno 1999-2000 en  $1.9 \times 10^6$  ha en prácticamente todo el país. Los resultados mostraron que cuando se aplicaron biofertilizantes los rendimientos incrementaron en un 62% respecto al testigo absoluto y en un 30% con relación a la aplicación de fertilizantes sintéticos (Aguirre-Medina, 2004). Actualmente, se estima que se aplican biofertilizantes en *ca.*  $2.5 \times 10^6$  ha.

A través del empleo de técnicas convencionales e isotópicas con  $^{15}\text{N}$ , se han encontrado grandes diferencias en cuanto a efectividad de fijar  $\text{N}_2$  en diferentes especies de leguminosas y sus microsimbiontes. Estudios realizados en leguminosas cultivadas en El Bajío Guanajuatense, México, muestran tasas de fijación de  $\text{N}_2$  muy contrastantes, desde 31 hasta 552 kg  $\text{N}_2$  fijado  $\text{ha}^{-1} \text{a}^{-1}$  (Cuadro 2) (Peña-Cabriales y Grageda-Cabrera, 1997).

**Cuadro 2. Nitrógeno fijado simbióticamente por leguminosas en "El Bajío", Guanajuato, México.**

**Table 2. Symbiotically fixed nitrogen by legumes in "El Bajío", Guanajuato, Mexico.**

Leguminosa	Nitrógeno fijado estimado con la técnica de dilución isotópica de $^{15}\text{N}$ kg $\text{ha}^{-1} \text{a}^{-1}$
Haba	323
Chícharo	153
Garbanzo	31
Jícama	75-192
Frijol	33-68
Alfalfa	260
Lenteja	77
Soya	60-80

Fuente: Peña-Cabriales y Grageda-Cabrera, 1997.

Diversos estudios han demostrado que la inoculación de cereales con *Azospirillum* spp. promueve el crecimiento de las plantas, observándose un incremento en la emergencia, vigor, biomasa, desarrollo del sistema radical e incremento en el rendimiento en diferentes proporciones. En México, se han obtenido incrementos en el rendimiento de maíz

Also evaluated based biofertilizers of *Azospirillum brasilense*, *Glomus intraradices* and *Rhizobium etli* during the spring-summer and autumn-winter growing seasons of 1999-2000 at  $1.9 \times 10^6$  ha in virtually all the country. The results showed that when applied biofertilizers yields increased 62% compared check control and 30% in relation to the application of synthetic fertilizers (Aguirre-Medina, 2004). Currently it is estimated that apply biofertilizers in *ca.*  $2.5 \times 10^6$  ha.

Through the use of conventional and isotopic techniques with  $^{15}\text{N}$ , has been found large differences in effectiveness to fix  $\text{N}_2$  in different species of legumes and their micro symbionts. Studies in legumes grown in El Bajío Guanajuato, Mexico, show  $\text{N}_2$  fixation rates very contrasting, from 31 to 552 kg  $\text{ha}^{-1} \text{a}^{-1}$   $\text{N}_2$  fixed (Chart 2) (Peña-Cabriales and Grageda-Cabrera, 1997).

Studies have shown that inoculation of cereals with *Azospirillum* spp. promotes plant growth, with an increase in the emergence, vigor, biomass, root development and increased yield in different proportions. In Mexico, have been obtained increases in corn yield between 30 to 70% and 39% barley compared with the check without inoculant (Aguirre-Medina, 2004). Okon and Labandera-González (1994), presented favorable results in 70% yield of the results of research conducted from 1974 to 1994 in Latin America. Dobbelaere *et al.* (2001) reported positive effects of inoculation for 62 to 95% of cases.

One of the few associative relationships, which are fixed considerable amounts of  $\text{N}_2$ , is the symbiosis between sugarcane and endophytic diazotrophs, wherein the rod commonly obtained from 20 to 60% of its N requirement through nitrogen fixation (Bodder *et al.* 2001). On his behalf, Shamsuddin (1994) using the  $^{15}\text{N}$  isotope technique, found that up to 89% of plant N requirement of oil palm is supplied by the symbiosis with *Azospirillum*.

When inoculated with PGPB it has been seen an increase in fruit quality of tomato and Chile. Furthermore, inoculating mycorrhizal fungus and PGPB results are better. Yield in Chile increased 40% and reduced the harvest time. In sweet pepper increased quality in 30% (Olaldey and Serratos, 2004).

On the other hand, several studies indicate that cereal inoculation with PGPB and mycorrhizal can reduce the doses application of N, P and K fertilizers without reducing crop yield. It has been reported that the main economic rate

entre el 30 al 70% y en cebada del 39% en comparación con el testigo sin inocular (Aguirre-Medina, 2004). Okon y Labandera-González (1994), citan resultados favorables en el rendimiento en el 70% de los resultados de investigación realizados de 1974 a 1994 en Latinoamérica. Por su parte, Dobbelaere *et al.* (2001), reporta efectos positivos de la inoculación para el 62 al 95% de los casos.

Una de las pocas relaciones asociativas, en la cual se fijan cantidades considerables de N<sub>2</sub>, es la simbiosis entre caña de azúcar y diazotrofos endofíticos, en los cuales comúnmente la caña obtiene de un 20 al 60% de su requerimiento de N a través de la fijación de N<sub>2</sub> (Boddey *et al.*, 2001). Por su parte, Shamsuddin (1994) empleando la técnica isotópica de <sup>15</sup>N, encontró que hasta un 89% del requerimiento de N de plantas de palma de aceite es suplido por la simbiosis con *Azospirillum*.

Al inocular con BPCV se ha observado un incremento en la calidad de los frutos de jitomate y chile. Además, cuando se inoculan hongos micorrícicos y BPCV los resultados son mejores. En Chile el rendimiento se incrementó 40% y se redujo el tiempo de cosecha. En pimiento morrón se incrementó la calidad en un 30% (Olalde y Serratos, 2004).

Por otro lado, varios estudios indican que la inoculación de cereales con BPCV y micorrizas permite reducir la dosis de aplicación de fertilizantes N, P y K sin que disminuya el rendimiento del cultivo. Se ha reportado que la principal tasa de retorno económico es cuando se fertiliza con el 75% de la dosis recomendada (Okon y Labandera-González, 1994; El-Sirafy *et al.*, 2006; Bashan, 2008).

### Factores que afectan la simbiosis

La eficiencia de la simbiosis depende de los microorganismos, la planta hospedadora y las condiciones ambientales (Hardarson, 1993; Okon y Kapulnik, 1986; Kiely *et al.*, 2006).

Entre los factores agronómicos y ambientales que afectan la efectividad de la biofertilización se incluye la temperatura, humedad, acidez y otros componentes químicos del suelo, tales como el contenido de N, P, Ca, S, Mg, Mo, Fe y Co, estos pueden disminuir rápidamente la población de cualquier especie microbiana introducida (Abbott y Robson, 1991; Bowen y Rovira, 1999). Generalmente, la fertilización inhibe o disminuye la efectividad de la relación planta-microorganismo.

of return is when fertilized with 75% of the recommended dose (Okon and Labandera-González, 1994; El-Sirafy *et al.*, 2006; Bashan, 2008).

### Factors affecting the symbiosis

The efficiency of symbiosis depends of microorganisms, host plant and environmental conditions (Okon and Kapulnik, 1968; Handarson, 1993; Kiely *et al.*, 2006).

Among agronomic and environmental factors affecting the effectiveness of biofertilizing includes temperature, humidity, acidity and other chemical components of soil, such as the content of N, P, Ca, S, Mg, Mo, Fe and Co, these can quickly deplete the population of any microbial species introduced (Abbot and Robson, 1991; Bowen and Rovira, 1999). Generally, fertilization inhibits or reduces the effectiveness of plant-microorganism relationship.

One factor which limits the BNF is the presence of combined forms of N in soil. Fertile soils with availability of inorganic forms of N affect the establishment of the symbiosis as delay the onset of nodulation and inhibit the operation of the fixative system, to the plant is more economical to take N from soil and fertilizer through BNF (Read, 1998).

In the mycorrhiza case, the main challenge to produce an adequate colonization is that the fungi have low specificity for the host plant, despite which, there have been differences in the effectiveness of the symbiosis (Abbot and Robson, 1991). Each culture has different degree of dependence to mycorrhiza. For example, maize and sorghum have high mycorrhizal dependency while wheat, oats and barley have a low dependency. Consequently, the order of crop rotation has a significant effect on plant nutrition of phosphorus and other nutrients, due to, the population of mycorrhizae decreases in soil, when growing species with low mycorrhizal dependency (Afzal *et al.*, 2005). Ground shaking caused by tillage, breaks the web of mycelium of the fungus with which destroy the beneficial effect on the soil structure. A good strategy is to grow after fallow periods, species of high dependence on mycorrhizae to increase the population of fungi in the soil.

Fungicides and bactericides applied in the seed are extremely toxic to biofertilizers, mainly those of broad-spectrum control. The herbicides and insecticides normally used

Uno de los factores que limita la FBN es la presencia de formas combinadas de N en el suelo. Los suelos fértiles con disponibilidad de formas inorgánicas de N afectan el establecimiento de la simbiosis ya que retardan el inicio de la nodulación e inhiben el funcionamiento del sistema fijador, para la planta es más económico tomar N del suelo y/o del fertilizante que a través de la FBN (Read, 1998).

En el caso de las micorrizas, la principal dificultad para que se produzca una adecuada colonización radica en que los hongos poseen una baja especificidad por la planta hospedera, a pesar de lo cual, se han observado diferencias en la efectividad de la simbiosis (Abbott y Robson, 1991). Cada cultivo tiene diferente grado de dependencia a las micorrizas. Por ejemplo, el maíz y el sorgo tienen alta dependencia micorrícica mientras que el trigo, la avena y la cebada poseen baja dependencia. Consecuentemente, el orden de la rotación de cultivos tiene un efecto significativo sobre la nutrición vegetal de fósforo y otros nutrimentos debido a que la población de micorrizas decrece en el suelo cuando se cultivan especies de baja dependencia a las micorrizas (Afzal *et al.*, 2005). Los movimientos del suelo ocasionados por las labranzas rompen el entramado de micelio del hongo con lo cual destruyen el efecto benéfico sobre la estructura del suelo. Una buena estrategia es cultivar, luego de barbechos prolongados, especies de alta dependencia a las micorrizas para incrementar la población de hongos en el suelo.

Los fungicidas y bactericidas aplicados en la semilla son extremadamente tóxicos para los biofertilizantes, principalmente aquellos de amplio espectro de control. Los herbicidas e insecticidas utilizados normalmente tienen un bajo impacto sobre las micorrizas. Puesto que los biofertilizantes necesitan oxígeno para vivir, las poblaciones disminuyen en suelos con pobre drenaje y anegables. También se ha observado que en suelos salinos y/o sódicos el porcentaje de infección radical es muy bajo (Abbot y Robson, 1991).

Los microorganismos involucrados en la asociación pueden influenciar el grado de efectividad. Otra característica importante de los inoculantes es su capacidad para sobrevivir en el soporte y en el suelo, para colonizar la rizosfera y para migrar en el suelo, ya que en algunas ocasiones hay una gran cantidad de capas nativas que son inefectivas. También, los cultivares

have a low impact on mycorrhizae. Since biofertilizers need oxygen to live, populations decline in soils with poor drainage and floodplains. It has also been observed in saline and / or sodium root percentage of infection is low (Abbot and Robson, 1991).

The microorganisms involved in the association may influence the degree of effectiveness. Another important feature of inoculants is its capability to survive in the holder and the soil, to colonize the rhizosphere and to migrate into the ground, since in some cases there is a large amount of native layers that are ineffective. Also, cultivars of host plants and production conditions vary greatly in terms of effectiveness of the symbiosis (Peña-Cabriales *et al.*, 1993; Khalid *et al.*, 2004).

### Perspectives

The widespread use of biofertilizers in any agricultural production system would bring great benefits, without having any detrimental impact on the environment. However the fact that in Mexico the relatively simple technology of bio fertilization has not been transferred to most producers is disturbing.

In the short to medium term, research should focus on the development of better and cheaper inoculants (Díaz-Franco and Mayek-Pérez, 2008).

Overall, it can be said that the biofertilizers have a cost to the producer of only 10% of the cost of chemical fertilizer and in most cases should not represent more than 2 to 3% of the cost of crop production. It is also necessary to develop "disruptive technologies" *in situ*, with local conditions, as developed in other countries and applied to us are the main cause of economic and ecological crisis that afflicts Mexican agriculture of our time. It is indispensable to have advice, guidance and training should be provided by relevant authorities.

Finally, it is necessary to mention that quality control is a necessary tool to improve inoculants that are available in the market to ensure appropriate technology for their production. It also requires stronger links between industry and scientists to collaborate on improving production systems and quality of the inoculants.

*End of the English version*



de las plantas hospederas y las condiciones de producción varían grandemente en términos de efectividad de la simbiosis (Khalid *et al.*, 2004; Peña-Cabriales *et al.*, 1993).

### Perspectivas

El uso a gran escala de los biofertilizantes en cualquier sistema de producción agrícola traería grandes beneficios sin ejercer un impacto perjudicial sobre el ambiente. Sin embargo, resulta preocupante que en México la tecnología relativamente simple de la biofertilización no ha sido transferida a la mayoría de los productores.

A corto y mediano plazo, la investigación deberá enfocarse en el desarrollo de inoculantes de mejor calidad y más económicos (Díaz-Franco y Mayek-Pérez, 2008). En términos generales, se puede decir que los biofertilizantes tienen un costo para el productor de sólo 10% del costo de la fertilización química, y en la mayoría de los casos no debe representar más del 2 a 3% del costo de producción del cultivo. Además, es necesario desarrollar "tecnologías de punta" *in situ*, con las condiciones locales, ya que las desarrolladas en otros países y aplicadas al nuestro son la principal causa de la crisis económica y ecológica que agobia a la agricultura mexicana del presente. Es indispensable contar con asesoría, orientación y capacitación que debieran ofrecer las autoridades correspondientes.

Finalmente, es necesario mencionar que el control de calidad es una herramienta necesaria para mejorar los inoculantes que se ofrecen en el mercado, para que exista una adecuada tecnología para su producción. Asimismo, se requiere de mayor vinculación entre la industria y los científicos con el fin de colaborar en mejorar los sistemas de producción y calidad de los inoculantes.

### Agradecimientos

Esta contribución fue financiada por la SAGARPA a través del proyecto "Impulso a nuevos productos y procesos de la bioeconomía y de investigación, transferencia de tecnología y uso de biocombustibles, biofertilizantes y abonos orgánicos.

### Literatura citada

- Abbott, L. K. and Robson, A. D. 1991. Factors influencing the occurrence of vesicular arbuscular mycorrhizas. *Agric. Ecosystems Environ.* 35: 121-150.
- Afzal, A.; Ashraf, M.; Saeed, A.; Asad, A. and Farooq, M. 2005. Effect of phosphate solubilizing microorganisms on phosphorus uptake, yield and yield traits of wheat (*Triticum aestivum* L.) in rainfed area. *Int. J. Agri. Biol.* 7: 206-209.
- Agrositio.com. 31/08/2009 INTA 23/03/2010.
- Aguirre-Medina, J. F. 2004. Biofertilizantes microbianos: antecedentes del programa y resultados de validación en México. Simposio de biofertilización "La biofertilización como tecnología sostenible". Memoria
- Alarcón, A. y Ferrara, R. 2000. Biofertilizantes: importancia y utilización en la agricultura. *Agric. Téc. Méx.* 26:191-203.
- All-Taweil, H. I.; Osman, M. B.; Hamid, A. A. and Yusoff, W. M. W. 2009. Development of microbial inoculants and the impact of soil application on rice seedlings growth. *Am. J. Agric. Biol. Sc.* 4:79-82.
- Barea, J. M.; Pozo, M. J. Azcon, R. and Azcon-Aguilar, C. 2005. Microbial cooperation in the rhizosphere. *J. Exp. Bot.* 56:1761-1778.
- Bashan, Y. 2008. El uso de inoculantes microbianos como una importante contribución al futuro de la agricultura mexicana. *In: Díaz-Franco, A. y Meyek-Pérez, N. (Eds.). La biofertilización como tecnología sostenible.* Plaza y Valdéz. México. 17-24 pp.
- Boddey, R. M.; Polidoro, J. C.; Resende, A. S. Alves, B. J. R. and Urquiaga, S. 2001. Use of the <sup>15</sup>N natural abundance technique for the quantification of the contribution of N<sub>2</sub> fixation to sugar cane and other grasses. *Aust. J. Plant Physiol.* 28:889-895.
- Bowen, G. D. and Rovira, A. D. 1999. The rhizosphere and its management to improve plant growth. *Adv. Agron.* 66: 1-102.
- Caballero-Mellado, J.; Carcaño-Montiel, M. G. and Mascarua-Esparza, M. A. 1992. Field Inoculation of Wheat (*Triticum aestivum*) with *Azospirillum brasilense* under temperate climate. *Symbiosis.* 13: 243-253.
- Castellanos, R. J. Z.; Peña-Cabriales, J. J. y Rojas-Martínez, I. 1995. Análisis retrospectivo del uso de inoculantes con cepas élite en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en México. *Turrialba.* 45: 89-99.

- Díaz-Franco, A. y Mayek-Pérez, N. 2008. La biofertilización como tecnología sostenible. Plaza y Valdés, S.A. de C.V. México. 260 pp.
- Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Ptacek, D., Vanderleyden, J.; Dutto, P.; Labandera-González, C.; Caballero-Mellado, J.; Aguirre, J. F.; Kapulnik, Y.; Brener, S.; Burdman, S.; Kadouri, D.; Sang, S. and Okón, J. 2001. Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. *Aust. J. Plant Physiol.* 28:871-879.
- Duxbury, J. M. 1994. The significance of agricultural sources of greenhouse gases. *Fert. Res.* 38: 151-163.
- Elliott, L. F. and Lynch, J. M. 1995. The international workshop on establishment of microbial inoculant in soils: Cooperative research project on biological resource management of the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). *Am. J. Alt. Agric.* 10:50-73.
- El-Sirafy, Z. M., Woodard, H. J., and El-Norjar, E. M. 2006. Contribution of biofertilizers and fertilizer nitrogen to nutrient uptake and yield of Egyptian winter wheat. *J. Plant Nutr.* 29:587-599.
- FAO. 2002. Informe sobre agricultura mundial: hacia los años 2015/2030. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Italy, Rome. 241 p.
- FAO. 2008. Tendencias y perspectivas mundiales de los fertilizantes hasta 2011/2012. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Italy, Rome. 171 p.
- Gabino de Alba. 2010. El Presente y el futuro de la Agricultura en México. <http://www.itesm.mx/va/deptos/ci/articulos/Elpresente%20y%20elfuturodelah.htm>
- Grageda-Cabrera, O. A.; Esparza-García, F. and Peña-Cabriales, J. J. 2000. Environmental impact of nitrogen fertilizers in the region known as “Bajío” in México. 45-54 pp. In: Sánchez G. and Olguín G. (eds.). *Environmental biotechnology and cleaner processes*. Taylor and Francis, London, U. K.
- Grageda-Cabrera, O. A., Mora, M., Castellanos, R. J. Z., Follet, R. F., and Peña-Cabriales, J. J. 2003. Fertilizer nitrogen recovery under different tillage treatments and cropping sequences in a vertisol in central México. *IAEA-TECDOC.* 1354:39-55.
- Gravel, V., Antoun, H., and Tweddell, R.J. 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil Biol. Biochem.* 39:1968-1977.
- Hardarson, G. 1993. Methods for enhancing symbiotic nitrogen fixation. *Plant and Soil* 152:1-17.
- Khalid, A., Arshad, M., and Zahir, Z.A. 2004. Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *J. Appl. Microbiol.* 96: 473-480.
- Kiely, P. D., Haynes, J. M., Higgins, C. H., Franks, A., Mark, G. L., Morrissey, J. P., and O’Gara, F. 2006. Exploiting new systems based strategies to elucidate plant-bacterial interactions in the rhizosphere. *Microb. Ecol.* 51:257-266.
- Lugtenberg, B. and Kamilova, F. 2009. Plant-Growth-Promoting rhizobacteria. *Ann. Rev. Microbiol.* 63: 541-556.
- Okon, Y. and Kapulnik, Y. 1986. Development and function of *Azospirillum*-inoculated roots. *Plant Soil.* 90:3-16.
- Okon, Y. and Labandera-González, C. 1994. Agronomic applications of *Azospirillum* evaluation of 20 years world wide field inoculation. *Soil Biology.* 26: 1591-1601.
- Olalde, P. V. y Serratos, R. 2004. Biofertilizantes: micorrizas y bacterias promotoras de crecimiento. Simposio de biofertilización “la biofertilización como tecnología sostenible”. Memoria.
- Osman, M. B.; Abdulhamid, A.; Mohammad, N. and Wan, M. W. Y. 2010. Comparison of different delivery system of *Trichoderma* and *Bacillus* as biofertilizer. *Adv. Environ. Biol.* 4: 31-33.
- Peña-Cabriales, J. J.; Grageda-Cabrera, O. A.; Kola, V. and Hardarson, G. 1993. Time course of N<sub>2</sub> in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Soil.* 152:115-121.
- Peña-Cabriales, J. J. y Grageda-Cabrera, O. A. 1997. Dinámica del nitrógeno en el ecosistema agrícola. 345-366 pp. In: Ruíz-Herrera, J. (Ed.). *La Microbiología en México*. IPN. México. 371pp.
- Pooja, S.; Dudeja, S. and Neeru, N. 2007. Development of multiple co-inoculants of different biofertilizers and their interaction with plants. *Archives of Agron. Soil Sci.* 53: 221-230.
- Read, D. 1998. Plants on the web. *Nature.* 396:22-23.
- SAGARPA. 2010, <http://www.siap.gob.mx>.
- Sessitsch, A.; Howieson, J. G.; Perret, X.; Antoun, H. and Martínez-Romero, E. 2002. Advances in *Rhizobium* research. *Crit. Rev. Plant Sci.* 21:323-378.

- Shamsuddin, Z. H. 1994. Microbial inoculants for increased crop production. Research UPM. Malaysia. 156 p.
- Simon, L.; Bousquet, J.; Lévesque, R. C. and Lalonde, M. 1993. Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. *Nature*. 363:67-69.
- Smith, S. E. and Read, D. J. 1997. Mycorrhizal symbiosis. 2<sup>nd</sup> Edition. Academic Press. San Diego.
- Somers, E.; Vanderleyden, J.; and Srinivasan, M. 2004. Rhizosphere bacterial signaling: A love parade beneath our feet. *Crit. Rev. Microbiol.* 30: 205-240.
- Tisdale, S. L. and Nelson, W. L. 1975. Soil Fertility and Fertilizers. 3<sup>rd</sup> Ed. Macmillan Pub. New York, USA. 694 pp.
- Vessey, J. K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil.* 255:571-586.