

Inoculación de hongos solubilizadores de fósforo y micorrizas arbusculares en plantas de jitomate

Rosa María Arias Mota^{1§}
Abraham de Jesús Romero Fernández²
Jacob Bañuelos Trejo²
Yadeneiro de la Cruz Elizondo³

¹Instituto Tecnológico Superior de Xalapa. Reserva Territorial s/n, Col. Santa Bárbara, Xalapa, Veracruz, México. ²Facultad de Ciencias Agrícolas-Universidad Veracruzana-Campus Xalapa. Circuito Gonzalo Aguirre Beltrán s/n, Zona Universitaria, Xalapa, Veracruz, México. CP. 91090. ³Facultad de Biología-Universidad Veracruzana-Campus Xalapa. Circuito Gonzalo Aguirre Beltrán s/n, Zona Universitaria, Xalapa, Veracruz, México. CP. 91090.

§Autora para correspondencia: rosa.arias@itsx.edu.mx.

Resumen

La necesidad de reducir el uso de fertilizantes químicos demanda la creación de estrategias alternativas que mantengan una producción vegetal competitiva sin deterioro del ambiente. En este estudio, se evaluó la efectividad de la inoculación de hongos micorrícicos y solubilizadores de fósforo (solos y en consorcios) sobre la micorrización, el contenido de fósforo en la parte aérea, la altura, y longitud de la raíz de las plantas de jitomate. Los tratamientos incluyeron tres cepas de hongos solubilizadores (*Aspergillus niger*, *Penicillium brevicompactum* y *Penicillium waksmanii*), un consorcio de micorrizas y todas sus posibles combinaciones incluyendo un testigo (sin hongos). Después de cuatro meses, se cuantificó la colonización micorrícica, el contenido de fósforo de la parte aérea por el método del azul de molibdato y las variables altura y longitud de raíz. Los resultados obtenidos demostraron un rango de colonización del 48-66%; los valores más altos se detectaron con los tratamientos de HMA y HMA + An. Los tratamientos consorcios de HSF y HSF + HMA exhibieron 191% de incremento del fósforo foliar respecto a los testigos. La altura de las plantas de jitomate fue significativamente mayor en todos los tratamientos con respecto al testigo. Para la longitud de raíz el tratamiento HMA y el testigo presentaron los valores más altos. Los consorcios de hongos solubilizadores de fósforo en combinación con el consorcio de hongos micorrícicos tienen un alto potencial para ser utilizados como biofertilizantes de jitomate en invernadero.

Palabras clave: *Aspergillus niger*, *Penicillium brevicompactum*, *Penicillium waksmanii*, biofertilización, colonización micorrícica, consorcios.

Recibido: mayo de 2019

Aceptado: julio de 2019

Introducción

En el suelo, la cantidad de P disponible para las plantas depende de la modificación del equilibrio dinámico que mantiene la disolución de los compuestos inorgánicos insolubles y de la descomposición de la materia orgánica (Navarro, 2003). Estos procesos los llevan a cabo microorganismos del suelo, a través de una serie de reacciones físicas-químicas y biológicas. Aproximadamente, 10% de la comunidad microbiana del suelo transforma activamente el P mediante los procesos de mineralización, solubilización, inmovilización y oxidación (Alexander, 1980; Coyne, 2000; Reyes, 2011).

Los microorganismos rizosféricos como los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) y hongos solubilizadores de fósforo (HSF) son de particular importancia para las plantas, la fertilidad del suelo y los HSF promueven la disponibilidad del fósforo (Jeffries y Barea 2001), mientras que los HMA facilitan su transporte a la planta (Ferrol *et al.*, 2002). La inoculación de hongos solubilizadores es una técnica prometedora, ya que se han reportado incrementos en el rendimiento de trigo (Whitelaw *et al.*, 1997), cebolla (Vassilev *et al.*, 1997) y soya (El-Azouni, 2008).

Adicionalmente, otros estudios muestran un mejor desarrollo y productividad de las plantas utilizando mezclas o consorcios de hongos solubilizadores de fósforo (Shin *et al.*, 2006; Mittal *et al.*, 2008). Estudios sobre HMA, han mostrado que estos hongos no solo actúan en el desarrollo y crecimiento de la planta, sino que contribuyen a la protección contra los patógenos (Bañuelos *et al.*, 2014). Diversas investigaciones (Fernández *et al.*, 2006; Mujica, 2012; Mujica y Batlle, 2013; Velázquez *et al.*, 2017) han descrito que el sinergismo entre estos dos grupos de hongos (HSF y HMA), pueden repercutir en un mejor desarrollo de las plantas que cuando se inoculan solos.

El cultivo del jitomate en México es uno de los más importantes, durante 2015, el tomate fue el producto más importante en el valor de las exportaciones agropecuarias mexicanas, con una participación de 13%, al ubicarse en 1 665.8 millones de dólares y 1.43 millones de toneladas. El volumen exportado durante ese año fue equivalente al 53.3 por ciento de la producción nacional de esta hortaliza. La disponibilidad de nuevos tipos y variedades, nuevos métodos de cultivo y la creciente demanda de hortalizas han incentivado la producción mundial de tomate rojo.

El volumen cosechado a nivel mundial, el consumo total, así como el consumo promedio per cápita registran tendencia al alza durante la década reciente. China se mantiene como el principal productor y consumidor. Estados Unidos de América es el principal importador mundial, mientras que México es el principal proveedor externo (SAGARPA, 2018). Esta hortaliza demanda grandes cantidades de nitrógeno, fósforo y potasio; estos fertilizantes, al aplicarlos en dosis superiores a los requerimientos de los cultivos, conducen a un bajo aprovechamiento (Peña-Cabriales *et al.*, 2001), contaminación de los suelos (Castellanos y Peña-Cabriales, 1990) y de los mantos acuíferos, así como la eutrofización de aguas superficiales (Nebel y Wright, 1996).

En este contexto, el uso de microorganismos debidamente seleccionados por su eficiencia y generados a partir de recursos locales, constituye una alternativa ecológicamente aceptable para reducir los insumos externos y mejorar la cantidad y calidad de los recursos internos. Este estudio surge por el interés de investigar a nivel de invernadero las interacciones de HSF y HMA nativos para el planteamiento de biofertilizantes; a partir, de consorcios fúngicos que promuevan la disponibilidad y transporte del fósforo insoluble hacia las plantas de jitomate.

Materiales y métodos

Las semillas de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) previo a la germinación se desinfectaron con Cloralex® comercial al 50% (15 min). Las plántulas se trasladaron a macetas de 250 g con arena y perlita estéril 1:1 (v/v), a cada una se le agregó fosfato tricálcico como fuente insoluble de fósforo (0.125 g), el inoculo de HMA (10 g) y el inóculo de cada una de las cepas de HSF (1×10^8 UFC mL⁻¹) tal y como lo propone Souchie *et al.* (2010). La aplicación de los inoculantes se realizó directamente al sustrato y sobre el sistema radicular de la planta.

Se estableció un diseño experimental de dos factores con cinco niveles, en total 10 tratamientos con tres repeticiones, esto es 30 unidades experimentales. Los tratamientos incluyeron: un consorcio de HMA, tres cepas de HSF (*Aspergillus niger* Tiegh, *Penicillium brevicompactum* Dierckx y *Penicillium waksmanii* K. W. Zaleski) y todas las posibles combinaciones incluyendo un testigo (sin hongos).

Las cepas de HSF empleadas: *A. niger* (An), *P. brevicompactum* (Pb) y *P. waksmanii* (Pw) pertenecen a la colección del Laboratorio de micromicetos del Instituto de Ecología, las cuales fueron aisladas de suelos de la región del centro del estado de Veracruz, México y se seleccionaron por su alta capacidad para solubilizar fosfato tricálcico. El consorcio de HMA pertenece a la colección del laboratorio de organismos benéficos de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Veracruzana. Las especies que conforman este consorcio fueron aisladas de suelos de la región de Xalapa y sus alrededores en el estado de Veracruz.

El inóculo HMA contenía 60 esporas g⁻¹ de sustrato integrado con fragmentos de raíz con 79% de colonización, compuesto por las especies de *Acaulospora morrowiae* (Spain y N. C. Schenck), *A. spinosa* (C. Walker y Trappe), *A. scrobiculata* (Trappe), *Gigaspora rosea* (T. H. Nicolson y N. C. Schenck), *Scutellospora pellucida* (T. H. Nicolson y N. C. Schenck) C. Walker y F. E. Sanders, *Glomus macrocarpum* (Tul. y C. Tul.), *Funneliformis mosseae* (T. H. Nicolson y Gerd.) C. Walker y A. Schüßler, *F. geosporum* (T. H. Nicolson y Gerd.) C. Walker y A. Schüßler y *Rhizophagus aggregatus* (N. C. Schenck y G. S. Sm.) C. Walker.

El experimento se mantuvo durante cuatro meses (mayo-agosto de 2015) en un invernadero en el Instituto de Ecología, AC. El riego se realizó por capilaridad y se le adicionaron semanalmente 25 mL de solución nutritiva de Hewitt (Hewitt 1969) sin fósforo. Transcurrido ese tiempo, se procedió a cosechar las plantas, para medir la altura y longitud de raíz, porcentaje de colonización micorrícica y fósforo total de la parte aérea de las plantas.

Colonización micorrícica. El clareo y tinción de raíces, se realizó mediante la técnica de Phillips y Hayman (1970). Para ello, las raíces se lavaron con abundante agua, posteriormente se cortaron en pedazos pequeños y se colocaron en tubos con KOH al 10%, inmediatamente se sometieron a baño maría durante 15 min. Transcurrido ese tiempo se retiró el KOH y se lavaron con agua. Enseguida se les adicionó HCl al 10% y se mantuvieron en ese reactivo durante 10 min. Enseguida, se lavaron con agua y se les agregó azul de tripano al 0.05% y se dejaron a baño maría por 10 min.

Se eliminó el exceso de azul de tripano y se colocaron en tubos con ácido láctico hasta su observación. Para determinar el porcentaje de colonización de las raíces de las plantas, se utilizó la técnica descrita por Giovannetti y Mosse (1980), que consistió en colocar las raíces teñidas con azul de tripano en una caja Petri cuadrículada (1 cm x 1 cm) con ácido láctico y se observaron las

estructuras fúngicas bajo el microscopio estereoscópico. El porcentaje de colonización micorrícica se calculó dividiendo el número total de interacciones de raíces micorrizadas, sobre el número total de intersecciones, multiplicando el resultado por 100.

Medición de fósforo total foliar. Con 0.25 g de material vegetal foliar seco, se llevó a calcinación en una mufla a 500 °C durante 2 h (Mckean, 1993). Las cenizas se disolvieron en agua destilada y la concentración de fósforo se determinó a través del método del azul de molibdato (Murphy y Riley 1962). Las muestras se midieron en un espectrofotómetro a 660 nm de absorbancia.

VARIABLES DE CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS. La altura se midió a partir del cuello de la raíz hasta el meristemo apical y la longitud de la raíz desde el cuello de la raíz hasta el meristemo radicular.

Análisis estadísticos

Primeramente, se comprobó el supuesto de distribución normal y homogeneidad de varianza de los datos mediante pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Bartlett. Para detectar diferencias en la micorrización entre los tratamientos, se utilizó un análisis de varianza de una vía y pruebas de medias de Tukey. Además, con el fin de detectar una interacción significativa entre el factor hongos solubilizadores de fósforo y el factor micorriza se realizaron análisis de varianza factorial. Cuando los datos de las interacciones fueron significativos, se realizaron pruebas de medias de Tukey. Todos los análisis se realizaron en el programa Statistica versión 10.0 para Windows.

Resultados y discusión

Los resultados de la colonización micorrícica en este estudio muestran una variación significativa entre los diferentes tratamientos evaluados ($p=0.000$) (Figura 1). La colonización micorrícica en las plantas de jitomate inoculadas con los hongos micorrícicos y solubilizadores de fósforo estuvo en el rango de 48-66% de colonización, lo cual confirma la alta micotrofia de la planta, como se ha demostrado en otros estudios.

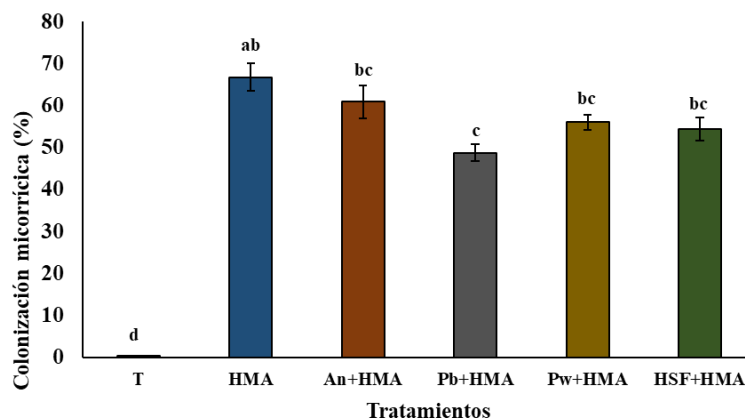


Figura 1. Porcentaje de colonización micorrícica de las plantas de jitomate después de cuatro meses de inoculados con los tratamientos. T= testigo; HMA= hongos micorrícicos arbusculares; An= *Aspergillus niger*; Pb= *Penicillium brevicompactum*; Pw= *Penicillium waksmanii*; y HSF= hongos solubilizadores de fósforo. n= 3; \pm desviación estándar. Letras idénticas entre las columnas no existen diferencias significativas entre los tratamientos (Tukey LSD, $p \leq 0.05$).

En comparación con otras investigaciones en las que se evaluó la colonización micorrícica en plantas de jitomate inoculadas con HMA, en este trabajo se encontró mayor colonización a la reportada por Velázquez *et al.* (2005), quienes detectaron de 30-50% colonización micorrícica; Mujica y Fuentes (2012) de 40-47%; Mujica y Batlle (2013) 58% de colonización. La colonización micorrícica en este estudio fue analizada por la presencia de arbuscúlos, vesículas y esporas; es importante señalar que se observó una alta esporulación dentro y fuera de las raíces (Figura 2).

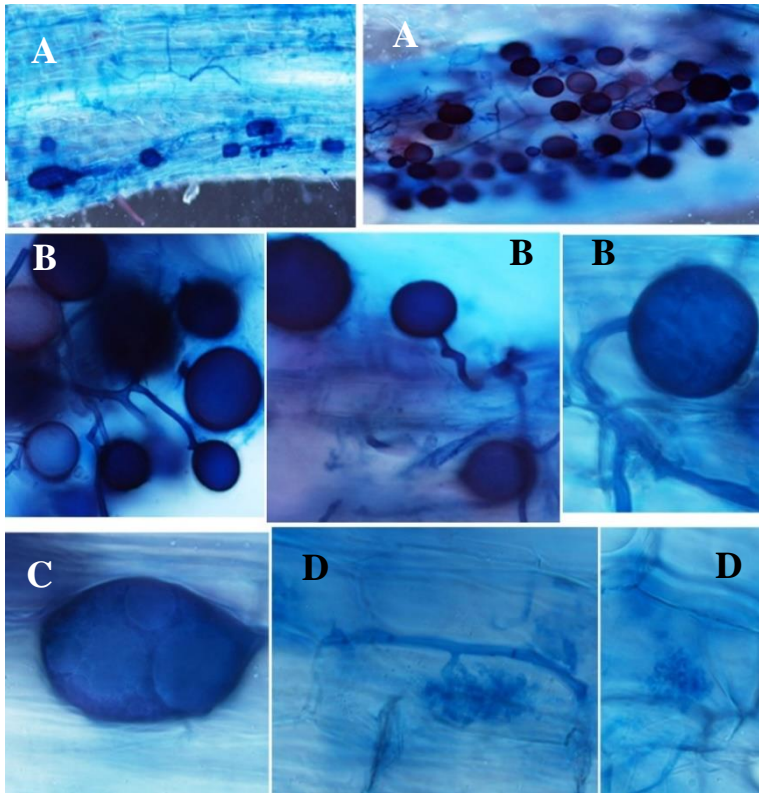


Figura 2. Raíces micorrizadas de jitomate a cuatro meses después de su inoculación. A) esporas germinadas dentro y fuera de las raíces; B) esporas; C) vesícula; y D) arbuscúlos.

Las plantas de jitomate inoculadas con los tratamientos HMA + An fueron significativamente mayores que los tratamientos Pw ($t= 0.006$), Pb ($t= 0.0002$) y con HSF+HMA ($t= 0.002$) (Figura 1), sugiere un sinergismo entre el consorcio de HMA y la cepa solubilizadora de fósforo *A. niger*.

Existen estudios que confirman que la inoculación de hongos saprobios favorece la colonización de HMA en cultivos como chile con *Claroideoglopus claroideum* con *Penicillium albidum* y *Penicillium frequentans* (Castillo *et al.*, 2013), en tomate con *Glomus mosseae* (*Funneliformis mosseae*) y *A. niger* (Velázquez *et al.*, 2005), en trébol con *Glomus clarum* (*Rhizophagus clarus*) y *Glomus geosporum* (*Funneliformis geosporum*) con *A. niger* (Souchie *et al.*, 2010); en bambú con *Glomus spp.* *Aspergillus tubingensis* (Babu y Reddy, 2011).

En este trabajo con jitomate, no se observó un incremento de la colonización micorrícica en presencia *A. niger*, *P. brevicompactum* y *P. waksamii* de manera que se recomienda continuar evaluando la efectividad de otras cepas de HSF con el propósito de detectar alguna que favorezca una mayor colonización micorrícica.

Fósforo total foliar

Para el fósforo total foliar de las plantas de jitomate, se detectó una interacción significativa entre los factores HSF y HMA ($p=0.000$). Todos los tratamientos presentaron una mayor concentración de fósforo total con respecto al testigo ($t<0.05$). El tratamiento HSF fue significativamente mayor que el resto de los tratamientos ($t<0.05$) (Figura 3). La concentración de fósforo total en la parte aérea en las plantas de jitomate osciló de 450 a 700 mg kg⁻¹. Los tratamientos consorcios (HSF y HSF+ HMA) exhibieron los mayores incrementos (191%) de fósforo respecto al testigo.

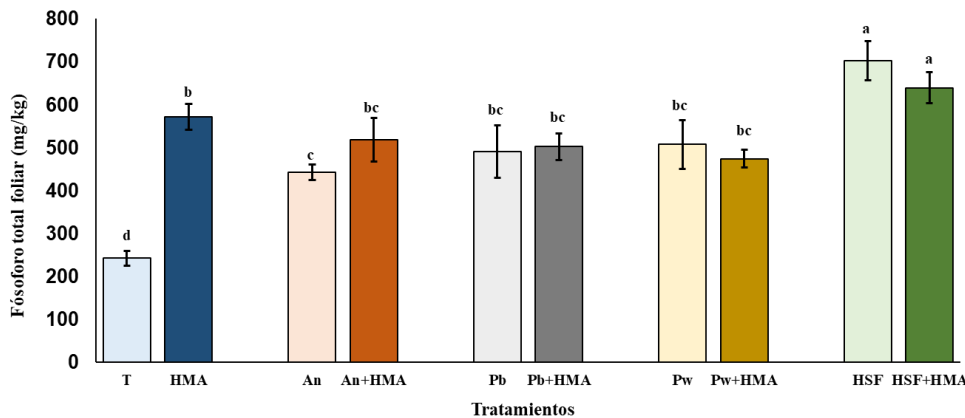


Figura 3. Fósforo total foliar de la parte aérea de las plantas de jitomate después de cuatro meses de inoculadas con los tratamientos. T= testigo; HMA= hongos micorrícicos arbusculares; An= *Aspergillus niger*; Pb= *Penicillium brevicompactum*; Pw= *Penicillium waksmanii*; y HSF= hongos solubilizadores de fósforo. $n=3$; \pm desviación estándar. Letras idénticas entre las columnas no existen diferencias significativas entre los tratamientos (Tukey LSD, $p\leq 0.05$).

Este incremento resultó superior a los reportados en otros estudios similares bajo condiciones de invernadero. Souchie *et al.* (2006) no detectaron incrementos del P foliar en *Trifolium* después de inocular *G. mossae* (*Funneliformes mosseae*) y *Aspergillus niger*. Por otra parte, Rodríguez-Cabral *et al.* (2012) encontraron 20% de incremento en esta variable en anacardo, también inoculado con estos hongos, Velázquez *et al.* (2005).

Reportan un incremento de 78% en el fósforo total foliar en tomate inoculado con *G. mosseae* (*Funneliformes mosseae*) y *A. niger*; Zhang *et al.* (2014) obtuvieron incrementos de 100% en una planta herbácea (*Kosteletzkya virginica*) inoculada con *G. mosseae* (*F. mosseae*) y *Mortierella* sp., Babu y Reddy (2011) detectaron 115% de incremento del fósforo foliar en plantas de bambú después de la co-inoculación de un consorcio de HMA y *Aspergillus tubingensis*, Zhang *et al.* (2014) por otro lado, detectaron un mayor incremento (300%) en fósforo foliar en plantas de ricino inoculadas con *G. mosseae* (*F. mosseae*) y *Mortierella* sp.

La combinación de la inoculación estos dos grupos de hongos (HMA y HSF) puede producir una mayor absorción de fósforo (Barea *et al.*, 2008) e incrementar el desarrollo de las plantas principalmente por el efecto nutricional que esta combinación aporta, sin embargo existen otros mecanismos por los cuales los hongos pudieron afectar el desarrollo vegetal, tal es el caso de una mejora en la estructura del suelo (Khan, 1993), incremento en la humedad del suelo (Camargo-Ricalde, 2002), inducción de tolerancia al estrés ambiental (Cantrell y Linderman, 2001), mayor tasa fotosintética (Finlay, 1992), entre otros efectos distintos a los nutricionales reportados.

VARIABLES DE CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS

Para la variable altura, se detectó una interacción significativa entre los factores HSF y HMA ($p=0.01$) y un efecto significativo del factor HSF ($p=0.004$). Sin embargo, el efecto del factor HMA no fue significativo ($p=0.35$). La altura fue significativamente mayor en todos los tratamientos con hongos con respecto al testigo (Figura 4). El rango de valores promedios de las alturas (51-81 cm) son superiores a los reportados por Velázquez *et al.*, 2005 en plantas de jitomate (42.3 cm) con inoculaciones dobles de *G. mossae* (*Funneliformes mosseae*) y una cepa de *A. niger*.

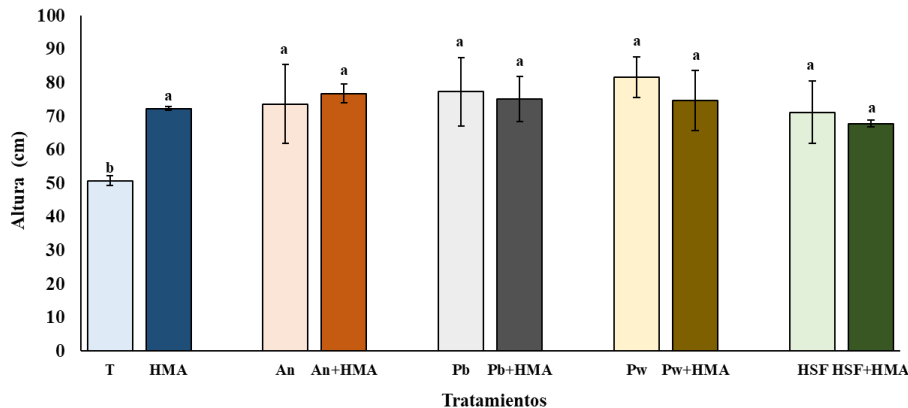


Figura 4. Altura de las plantas de jitomate después de cuatro meses de inoculadas con los tratamientos. T= testigo, HMA= hongos micorrícicos arbusculares, An= *Aspergillus niger*; Pb= *Penicillium brevicompactum*; Pw= *Penicillium waksmanii*; y HSF= hongos solubilizadores de fósforo. n= 3; \pm , desviación estándar. Letras idénticas entre las columnas indican que no existen diferencias significativas entre los tratamientos (Tukey LSD, $p \leq 0.05$).

En otros estudios, también se ha observado que las inoculaciones dobles de HMA y HSF favorecen la altura de las plantas (Babu y Reddy, 2011; Castillo *et al.*, 2013). Para la longitud de raíz de las plantas de jitomate, se detectó una interacción significativa entre los factores HSF y HMA ($p=0.03$). No se observó un efecto significativo del factor HMA ($p=0.93$); sin embargo, si lo hay con el factor HSF ($p=0.000$). Las plantas con los tratamientos HMA y el testigo mostraron raíces significativamente más largas que con Pb +HMA, Pw +HMA y HSF ($t < 0.05$) (Figura 5).

Los valores altos de longitud de raíces de las plantas testigos pudiera ser debido a las condiciones de poca disponibilidad de nutrientes en que se encontraban las plantas, las raíces se extendieron en busca de nutrientes (Barea *et al.*, 2008). La longitud de raíz de las plantas inoculadas con el consorcio de HSF (mejor tratamiento en la disponibilidad de fósforo en la parte aérea) presentaron los valores menores, probablemente se debió a que la inoculación con el consorcio de HSF al proporcionar una mayor concentración de nutrientes a la planta, no fue necesario la elongación de la raíz ya que los nutrientes se encontraban de manera directa para las plantas (Barea *et al.*, 2008).

Las cepas utilizadas son nativas de la región, el consorcio de HMA ya había sido probado y demostrado su eficiencia en otros cultivos (Ferrera *et al.*, 2007; Sangabriel-Conde *et al.*, 2010; Bañuelos *et al.*, 2012; Zulueta- Rodríguez *et al.*, 2013; Bañuelos *et al.*, 2014). Por su parte, las cepas *A. niger*, *P. brevicompactum* y *P. waksmanii* también son nativas de la región centro de Veracruz, ya se había demostrado su capacidad como solubilizadoras de fosfato de calcio en condiciones *in vitro* (Perea, 2019).

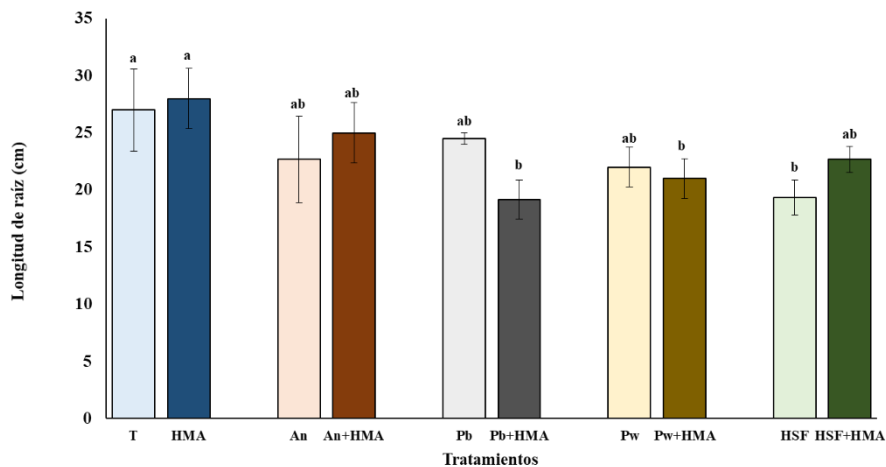


Figura 5. Longitud de raíz de las plantas de jitomate después de 4 meses de inoculadas con los tratamientos. T= testigo; HMA= hongos micorrícicos arbusculares; An= *Aspergillus niger*; Pb= *Penicillium brevicompactum*; Pw= *Penicillium waksmanii*; y HSF= hongos solubilizadores de fósforo. n= 3; \pm desviación estándar. Letras idénticas entre las columnas indican que no existen diferencias significativas entre los tratamientos (Tukey LSD, $p \leq 0.05$).

Es importante, incidir en los productores sobre el uso de estos hongos nativos como una alternativa para la aplicación de los biofertilizantes, adoptando de esta manera nuevas estrategias que vayan en aumento en la concientización sobre el cuidado del ambiente, una reducción en los costos de producción, la conservación y recuperación de los suelos, así como mantener la biodiversidad (Fernández y Rodríguez, 2005).

Conclusiones

Las inoculaciones de los consorcios de HSF y HMA funcionaron de manera sinérgica, la relación HMA y HMA + An propició un alto porcentaje de micorrización, la interacción de HSF y HMA una mayor disponibilidad y transporte del fósforo en las plantas de jitomate y las alturas de las plantas se incrementó con todos tratamientos con hongos.

Agradecimientos

Este estudio fue financiado por CONACYT (C01-0194) Proyecto CONACYT ‘Aplicación de las interacciones fúngicas en la restauración y fertilización del suelo’ (2011/169124) desarrollado en el Instituto de Ecología, AC. Los autores agradecen a la MC Yamel del Carmen Perea Rojas y a la Ingeniera Noemi Orozco Domínguez por su ayuda en el procesamiento de las muestras.

Literatura citada

- Alexander, M. 1980. Introducción a la microbiología del suelo. Libros y Editoriales, SA. México, DF. 49 p.
- Babu, A. G. and Reddy, M. S. 2011. Dual inoculation of arbuscular mycorrhizal and phosphate solubilizing fungi contributes in sustainable maintenance of plant health in fly ash ponds. *Water, Air and Soil Pollution*. 219(1-4):3-10.

- Bañuelos, J.; Alarcón, A.; Larsen, J.; Cruz-Sánchez, S. and Trejo-Aguilar, D. 2014. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and *Meloidogyne incognita* in the ornamental plant *Impatiens balsamina*. J. Soil Sci. Plant Nutr. 14(1):63-74.
- Bañuelos, J.; Trejo-Aguilar, D.; Alarcon, A.; Lara- Capistrán, L.; Moreira, C. and Cruz-Sánchez, S. 2012. The reduction in proline buildup in mycorrhizal plants affected by nematodes. J. Soil Sci. Plant Nutr. 12(2):263-270.
- Barea, J. M.; Ferrol, N.; Azcón, C. and Azcón R. 2008. Mycorrhizal symbioses. In: the ecophysiology of plant- phosphorus interactions. White, P. J. and Hammond, J. P. (Eds). Springer. 142-163 pp.
- Camargo-Ricalde, S. L. 2002. Dispersal, distribution and establishment of arbuscular mycorrhizal fungi: a review. Bot. Sci. 71:33-44.
- Cantrell, I. C. and Linderman, R. G. 2001. Preinoculation of lettuce and onion with mycorrhizal fungi reduces deleterious effects of soil salinity. Plant and Soil. 233(2):269-281.
- Castellanos, J. Z. y Peña-Cabriales J. J. 1990. Los nitratos provenientes de la agricultura: una fuente de contaminación de los acuíferos. Terra. 8(1):113-126.
- Castillo, C.; Morales, A.; Rubio, R. and Barea J. M. 2013. Interactions between native arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate solubilizing fungi and their effect to improve plant development and fruit production by *Capsicum annuum* L. Afr. J. Microbiol. Res. 7(26):3331-3340.
- Coyne, M. 2000. Microbiología del suelo: un enfoque exploratorio. Paraninfo. Madrid. España. 440 p.
- El-Azouni, I. 2008. Effect of phosphate solubilizing fungi on growth and nutrient uptake of soybean (*Glycine max* L.) plants. J. Appl. Sci. Res. 4(6):592-598.
- Fernández, F.; Dell, J. M. y Rodríguez, P. 2006. Efectividad de algunos tipos de inoculantes micorrízicos a base de *Glomus hoi* 'like' en el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. var. Amalia). Cultivos Tropicales. 27(3):25-30.
- Fernández, M. y Rodríguez, H. 2005. El papel de la solubilización del fósforo en los fertilizantes microbianos. Sobre los derivados de la caña de azúcar. ICIDCA. 39(3):27-34.
- Ferrera-Cerrato, R.; Alarcón, A.; Mendoza-López, M.; Sangabriel, W.; Trejo-Aguilar, D.; Cruz-Sánchez, J.; López- Ortiz, C. y Delgadillo-Martínez, J. 2007. Fitorremediación de un suelo contaminado con combustóleo utilizando *Phaseolus coccineus* y fertilización orgánica e inorgánica. Agrociencia. 41(8):817-826.
- Ferrol, N.; Barea, J. M. and Azcón-Aguilar, C. 2002. Mechanisms of nutrient transport across interfaces in arbuscular mycorrhizas. Plant and Soil. 244(2):231-237.
- Finlay, R. and Söderström, B. 1992. Mycorrhiza and carbon flow to the soil. In: Mycorrhizal functioning: an integrative plant-fungal process. Allen (Ed.) Chapman and Hall. 134-160 pp.
- Giovannetti, M. and Mosse, B. 1980. An evaluation of technique for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytologist. 84(3):489-500.
- Hewitt, E. 1969. Sand and water culture methods used in the study of plants nutrition. Technical communication. 2^{da}. (Ed.). Commonwealth Agricultural Bureaux. Inglaterra. 73 p.
- Jeffries, P. and Barea, J. M. 2001. Arbuscular mycorrhiza-a key component of sustainable plant-soil ecosystems. In: the mycota (a comprehensive treatise on fungi as experimental systems for basic and applied research). Hock, B. (Eds.). Fungal Associations. Springer, Berlin, Heidelberg. 9:95-113.
- Khan, A. 1993. Occurrence and importance of mycorrhizae in aquatic trees of New South Wales, Australia. Mycorrhiza. 3(1):31-38.

- Mckean, S. 1993. Manual de análisis de suelos y tejido vegetal: una guía teórica y práctica de metodologías. 9-10 p.
- Mittal, V.; Singh, O.; Nayyar, H.; Kaur, J. and Tewari, R. 2008. Stimulatory effect of phosphate solubilizing fungal strains (*Aspergillus awamori* and *Penicillium citrinum*) on the yield of chickpea (*Cicer arietinum* L. cv. GPF2). *Soil Biol. Soil Biochem.* 40(3):718-727.
- Mujica, Y. 2012. Inoculación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) por dos vías diferentes en el cultivo del tomate (*Solanum Lycopersicum* L.). *Cultivos Tropicales.* 33(4):71-76.
- Mujica, Y. y Batlle, J. 2013. Funcionamiento de la inoculación líquida con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Cultivos Tropicales.* 34(4):5-8.
- Mujica, Y. y Fuentes, A. 2012. Efecto a la biofertilización con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en el cultivo del tomate en condiciones de estrés abiótico. *Cultivos Tropicales.* 33(4):40-46.
- Murphy, J. y Riley, J. 1962. Modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta.* 27:31-36.
- Navarro, G. 2003. Química agrícola: el suelo y los elementos químicos esenciales para la vida. Ediciones Mundi Prensa. Madrid, España. 219-247 pp.
- Nebel, B. and Wright, R. 1996. Environmental science: the way the world works. Prentice Hall. Estados Unidos. 637 p.
- Peña-Cabriales, J. J.; Grageda-Cabrera, O. y Vera-Núñez, J. 2001. Manejo de los fertilizantes nitrogenados en México: uso de las técnicas isotópicas (^{15}N). *Terra Latinoam.* 20(1):51-56.
- Perea Rojas, Y. C.; Arias, R. M.; Medel Ortiz, R.; Trejo-Aguilar, D.; Heredia, G. and Rodríguez, J. 2019. Effects of native arbuscular mycorrhizal and phosphate-solubilizing fungi on coffee plants. *Agroforestry Systems.* 93(3):961-972.
- Phillips, J. and Hayman, D. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitizing and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesment of infection. *Transaction of The British Mycological Society.* 55(1):158-160.
- Reyes, J. I. 2011. La micorriza arbuscular (MA) centro de la rizósfera: comunidad dinámica del suelo. *Contactos.* 81:17-23.
- Rodríguez-Cabral, J. S.; De Assis, K. C.; Silva, F. G.; Souchie, E. L. and Carneiro, M. A. C. 2012. Seedlings of cashew trees of the brazilian cerrado inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing microorganisms. *Agrociencia.* 46(8):809-821.
- SAGARPA. 2018. Plan Agrícola Nacional 2017-2030. Secretaria de Agricultura Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación. Ciudad de México. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257077/Potencial-Jitomate.pdf>.
- Sangabriel-Conde, W.; Trejo-Aguilar, D.; Soto-Estrada, A.; Ferrera-Cerrato, R. y Lara-Capistrán, L. 2010. Potencial de colonización de hongos micorrízico-arbusculares en suelos cultivados con papayo bajo diferentes manejos de producción. *Rev. Mex. Micol.* 31:45-52.
- Shin, W.; Ryu, J.; Kim, Y.; Yang, J.; Madhaiyan, M. and Sa, T. 2006. Phosphate solubilization and growth promotion of maize (*Zea mays* L.) by the rhizosphere soil fungus *Penicillium oxalicum*. 18th World Congress of Soil Science. 140 p.
- Souchie, E. L.; Azcón, R.; Barea, J. M.; Saggin-Júnior, O. J. e Da Silva, E. M. R. 2006. Solubilização de fosfatos em meios sólido e líquido por bactérias e fungos do solo. *Pesquisa Agropeuária Brasileira.* 40(11):1149-1152.

- Souchie, E. L.; Azcón, R.; Barea, J. M.; Silva, E. and Saggin-Júnior, O. J. 2010. Enhancement of clover growth by inoculation of P-solubilizing fungi and arbuscular mycorrhizal fungi. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 82(3):771-777.
- Vassilev, N.; Vassilev, M. and Azcón, R. 1997. Solubilization of rock phosphate by immobilized *Aspergillus niger*. *Bio. Technol.* 59(1):1-4.
- Velázquez, M. S.; Cabello, M. N.; Elíades, L. A.; Russo, M. L.; Allegrucci, N. y Schalamuk, S. 2017. Combinación de hongos movilizadores y solubilizadores de fósforo con rocas fosfóricas y materiales volcánicos para la promoción del crecimiento de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.). *Rev. Argentina de Microbiología*. 49(4):347-355.
- Velázquez, M. S.; Elíades, L. A.; Irrazabal, G. B.; Saparrat, C. M. and Cabello, M. N. 2005. Mycobization with *Glomus mosseae* and *Aspergillus niger* in *Lycopersicon esculentum* plants. *J. Agric. Technol.* 1(2):315-326.
- Whitelaw, S.; McKeown, K. and Williams, J. 1997. Global health promotion models: enlightenment or entrapment? *Health Education Research*. 12(4):479-490.
- Zhang, H. S.; Qin, F. F.; Qin, P. and Pan, J. 2014. Evidence that arbuscular mycorrhizal and phosphate-solubilizing fungi alleviate NaCl stress in the halophyte *Kosteletzkya virginica*: nutrient uptake and ion distribution within root tissues. *Mycorrhiza*. 24(5):383-395.
- Zulueta-Rodríguez, R.; Trejo-Aguilar, D. y Lara-Capistrán, L. 2013. Hongos micorrízico-arbusculares en la producción de violeta africana en un sistema de manejo tradicional. *Rev. Chapingo, Ser. Hortic.* 19(3):343-353.