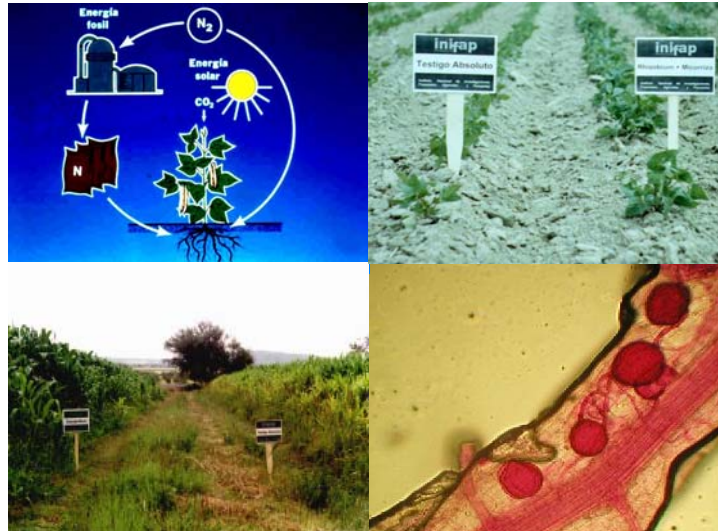


Los *Biofertilizantes microbianos*: alternativa para la agricultura en México



Juan Francisco Aguirre Medina
Martha Blanca Irizar Garza
Arturo Durán Prado
Oscar Arath Grajeda Cabrera
Ma. de los Ángeles Peña del Río
Catarina Loredo Osti
Álvaro Gutiérrez Baeza

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación

Ing. Alberto Cárdenas Jiménez
Secretario

Ing. Francisco López Tostado
Subsecretario de Agricultura

Ing. Antonio Ruíz García
Subsecretario de Desarrollo Rural

Lic. Jeffrey Max Jones Jones
Subsecretario de Fomento a los Agronegocios

Lic. José de Jesús Levy García
Oficial Mayor

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias

Dr. Pedro Brajcich Gallegos
Director General

Dr. Salvador Fernández Rivera
Coordinador de Investigación, Innovación y Vinculación

Dr. Enrique Astengo López
Coordinador de Planeación y Desarrollo

Lic. Marcial García Morteo
Coordinador de Administración y Sistemas

Centro de Investigación Regional Pacífico Sur

Dr. René Camacho Castro
Director Regional

Dr. Rafael Ariza Flores
Director de Investigación

C. P. José Luis Guillermo Monroy Nava
Director de Administración

Dr. Néstor Espinosa Paz
Director de Coordinación y Vinculación en Chiapas

Dr. Juan Francisco Aguirre Medina
Jefe del Campo Experimental Rosario Izapa

Los *Biofertilizantes microbianos*: alternativa para la agricultura en México

Dr. Juan Francisco Aguirre Medina

Campo Experimental Rosario Izapa

Dra. Martha Blanca Irizar Garza

Campo Experimental Valle de México

MC. Arturo Durán Prado

Campo Experimental Cotaxtla

Dr. Oscar Grajeda Cabrera

Campo Experimental Celaya

Dra. Ma. de los Ángeles Peña del Río

Campo Experimental General Terán

Dra. Catarina Loredo Osti

Campo Experimental San Luis

MC. Álvaro Gutiérrez Baeza

Campo Experimental Chetumal

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN REGIONAL PACÍFICO SUR
CAMPO EXPERIMENTAL ROSARIO IZAPA
TUXTLA CHICO, CHIAPAS, MÉXICO
MARZO 2009**

Folleto Técnico Núm. 5 Tuxtla Chico, Chiapas. Marzo 2009

No está permitida la reproducción total o parcial de esta publicación, ni la retransmisión de otra forma, ya sea por medio electrónico, mecánico, fotocopia, registro u otros métodos, sin el permiso previo y por escrito de los titulares del derecho de autor.

**Derechos Reservados © Instituto Nacional de
Investigaciones Forestales, Agrícolas Y Pecuarias
Avenida Progreso Núm. 5
Barrio de Santa Catarina
Delegación Coyoacán
C.P. 04010 México, D. F.**

Primera Edición
Tiraje: 2000 ejemplares
Impreso en México

ISBN: 000-00-0000-0000

Esta obra se terminó de imprimir en Marzo del 2009

La cita correcta es:

Aguirre-Medina, J. F., Irizar-Garza, M.B., Durán-Prado, A. Grajeda-Cabrera, O.A., Peña-del Río, M.A. y Loredó-Osti, C, Gutiérrez-Baeza, A. 2009. **Los Biofertilizantes microbianos: alternativa para la agricultura en México**, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Rosario Izapa, Tuxtla Chico, Chiapas, México. 86 p.

En el proceso editorial de la presente publicación participó el siguiente personal:

COMITÉ EDITORIAL DEL PACIFICO SUR

Presidente

Dr. René Camacho Castro

Secretario

Dr. Rafael Ariza Flores

Vocales

Dr. Carlos Avendaño Arrazate

Dr. Néstor Espinosa Paz

Dr. Efraín Cruz Cruz

M.C. Rafael Ambríz Cervantes

M.C. Marino González Camarillo

Ing. Manuel Grajales Solís

Edición

M.C. Marino González Camarillo

Formación y Diseño

Dr. Juan Francisco Aguirre Medina

Fotografía

Dr. Juan Francisco Aguirre Medina

Comité Editorial Campo Experimental Rosario Izapa

Dr. Carlos Avendaño Arrazate

M C. Alexander Mendoza López

Ing. Richar Arnoldo Gallardo Méndez

Ing. Pablo López Gómez

Para mayor información sobre el contenido de este documento y otras tecnologías, diríjase a:

**INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES
FORESTALES, AGRÍCOLAS Y PECUARIAS**

Progreso Núm. 5. Barrio de Santa Catarina
04010 Delegación Coyoacán, México, D.F.

www.inifap.gob.mx

**DIRECCION DE COORDINACIÓN Y VINCULACION DEL
INIFAP EN CHIAPAS**

Km. 3 Carretera Ocozocoautla - Cintalapa
Tel. 019686882911 al 18
C.P. 29140 Ocozocoautla de Espinosa, Chiapas.
espinosa.nestor@inifap.gob.mx

CAMPO EXPERIMENTAL ROSARIO IZAPA

Km. 18 Carretera Tapachula-Cacahoatán
Tuxtla Chico, Chiapas
Apartado Postal Num. 96
C. P. 30700 Tapachula, Chiapas.
aguirre.juan@inifap.gob.mx

CONTENIDO

		<i>Pág</i>	
ÍNDICE DE CONTENIDO		3	
ÍNDICE DE CUADROS		4	
ÍNDICE DE FIGURAS		5	
I	Antecedentes	5	
II	Importancia y definición de los biofertilizantes	11	
III	Formas de aplicación y cantidades	31	
IV	Resultados de Investigación y Validación	35	
	4.1	Colonización micorrízica y contenido de P en frijol	36
	4.2	Materia seca y tolerancia al estrés hídrico en frijol	40
	4.3	Rendimiento del frijol en terrenos de productores	47
	4.4	Componentes del rendimiento y contenido de NPK en maíz	50
	4.5	Rendimiento de maíz en terrenos de productores	54
V	Recomendaciones para el manejo exitoso de los biofertilizantes	60	
VI	Literatura citada	62	
VII	Agradecimientos	80	

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Pág.
1	Asignación de materia seca (g.g^{-1}) en dos variedades de frijol biofertilizadas con uno o dos microorganismos	41
2	Rendimiento de diversas variedades de Frijol (kg.ha^{-1}) con biofertilizantes microbianos	48
3	Rendimiento del maíz bajo diversos sistemas de producción (kg.ha^{-1}) con biofertilizantes microbianos.	56
4	Rendimiento del Maíz (kg.ha^{-1}) bajo diversos sistemas de producción con biofertilizantes microbianos y fertilizante químico	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Pág.
1	Espora de micorriza	10
2	Sistema radical de maíz con y sin micorriza	23
3	Presentación de los biofertilizantes	28
4	Aplicación del adherente y forma de revolver la semilla	32
5	Dinámica de la colonización micorrízica en frijol Michoacán 12A-3 con <i>Glomus intraradices</i> . Los valores son promedios de 99 observaciones \pm el error estándar.	37
6	Razón raíz-vástago en frijol Michoacán 12A-3 con <i>Glomus intraradices</i> .	38
7	Contenido de fósforo en frijol Michoacán 12A-3 con y sin biofertilización micorrízica y dos dosis de fósforo al suelo en invernadero.	39
8	Conductancia estomática del frijol <i>Phaseolus vulgaris</i> L. var. Pinto Villa inoculado con diferentes microorganismos, solos o combinados bajo riego y con suspensión del riego. Los valores son promedios de cuatro repeticiones.	43
9	Tasa de asimilación de CO ₂ en frijol <i>Phaseolus vulgaris</i> L. var. Bayo Madero inoculado con uno o varios microorganismos. La línea vertical indica \pm el error estándar de cuatro repeticiones.	45
10	Tasa de asimilación de CO ₂ en frijol <i>Phaseolus vulgaris</i> L. var. Pinto Villa inoculado con uno o varios microorganismos. La línea vertical indica	46

	± el error estándar de cuatro repeticiones.	
11	Rendimiento del frijol en parcelas de productores en el Centro de México	47
12	Rendimiento del frijol en parcelas de productores del Pacífico Sur de México	48
13	Asignación de materia seca en componentes del rendimiento del maíz H-40 cuando se biofertiliza con <i>Azospirillum brasilense</i> y/o <i>Glomus intraradices</i> en condiciones de campo. Los valores son promedios de cuatro repeticiones de cinco plantas.	51
14	Área foliar del maíz cuando se aplica o no <i>Glomus intraradices</i>. Los parajes, Huejutla Hidalgo. La línea vertical indica ± el error estándar de 10 repeticiones.	51
15	Contenido de fósforo en la lámina foliar de tres variedades de maíz biofertilizado con dos microorganismos en campo.	52
16	Contenido de nitrógeno en la lámina foliar de tres variedades de maíz biofertilizado con dos microorganismos en campo	53
17	Contenido de NPK en la lámina foliar del maíz V-537 biofertilizado con dos microorganismos en Campeche.	53
18	Rendimiento de grano de maíz criollo con y sin <i>Glomus intraradices</i> en Coyotepec, Otumba, Edo. de México. Los valores son promedios de tres repeticiones ± el error estándar.	54
19	Rendimiento de dos híbridos de maíz en el Valle de México.	55

Los *Biofertilizantes microbianos*: alternativa para la agricultura en México

I. Antecedentes

El conocimiento de los beneficios de los microorganismos en el desarrollo de las plantas se remonta a la edad media, en la Roma antigua, pero su evolución y progreso aumentaron con el invento del microscopio y las técnicas microbianas durante el periodo de 1891-1910 (Freire, 1975).

Se conocían importantes procesos microbiológicos, como la fijación de nitrógeno atmosférico, la formación de nódulos por microorganismos en las leguminosas, y el aislamiento del organismo responsable de la formación del nódulo por Beijerinck.

Por otro lado, en 1913, Fritz Haber (1868-1934) descubre un proceso para la síntesis de amoníaco por combinación directa del nitrógeno y el hidrógeno y en

1930 Carl Bosch (1874-1940) lo adaptó en forma comercial. El proceso actual de producción de fertilizante nitrogenado se conoce como Haber-Bosch y se caracteriza por requerir altas cantidades de energía para lograr fijar en materiales inertes el nitrógeno, y de esta forma, ser utilizado por los productores. La energía utilizada deriva de fuentes no renovables, como petróleo, gas o carbón. Döbereiner (1977) consigna que la energía requerida para producir una tonelada de fertilizante nitrogenado es la equivalente a 7 barriles de petróleo y Tilak (1998) refiere que la energía necesaria para elaborar 1 kg de fertilizante nitrogenado son 80 MJ ó 11.2 kWh; para fósforo 12 MJ ó 1.1 kWh y para potasio 8 MJ ó kWh. Los microorganismos realizan el mismo proceso; en el caso del nitrógeno a través de las bacterias fijadoras de nitrógeno y/o mediante el transporte del P y K con los hongos micorrízicos, pero en ambos casos, la energía utilizada deriva del proceso fotosintético de las plantas.

En México, los fertilizantes químicos sintéticos empezaron a usarse a mediados del siglo XX y rápidamente se convierten en elementos indispensables en los campos agrícolas. Su bajo costo y amplia distribución nacional entre los productores, dado que eran subsidiados por el gobierno federal, constituyeron una barrera para el aprovechamiento de los recursos biológicos del suelo; por lo anterior, la aplicación de los biofertilizantes fue muy exigua durante la llamada crisis energética mundial de los 70's. Al desaparecer Fertimex, la adquisición de fertilizantes industriales se tornó difícil para los pequeños y medianos agricultores, pero su utilización por más de 50 años había generado cambios en la microbiota del suelo. Una evidencia de esta condición es la documentada por Caballero-Mellado y Martínez (1999) quienes encontraron que las aplicaciones de fertilizantes nitrogenados ocasionan la disminución de la diversidad genética de rizobios en nódulos de frijol. Este hecho, seguramente influyó en el desbalance

biológico en la rizosfera de la mayoría de los terrenos de productores en México.

En condiciones naturales o con bajo nivel de disturbio en la vegetación original, se ha demostrado que la interdependencia planta-microorganismo ha contribuido al mantenimiento, funcionamiento y la estabilidad de los ecosistemas (Read, 1998) y como consecuencia en la diversidad de las especies en las comunidades vegetales (Read, 1998). En cambio, en la actividad agrícola, esta relación de interdependencia ha sido menospreciada y poco estudiada y, en general, en los terrenos agrícolas ha ido en detrimento. Se disturbó una simbiosis que evolucionó con las plantas, desde que se inició la colonización de la tierra (Remy *et al.*, 1994).

Agronómicamente, la parte aérea de las plantas ha recibido más atención para su estudio en comparación con el sistema radical (Kramer, 1983;

Gregory, 1994), aún cuando existe una estrecha interdependencia entre ambos órganos. El sistema radical ha sido llamado el componente olvidado (Davidson, 1978), la mitad escondida (Waisel *et al.*, 2002), aunque para muchas plantas representa mucho más que la parte aérea.

En la actualidad, encontramos explotaciones agrícolas con diferente nivel de deterioro en su rizosfera y este nivel depende de la intensidad, frecuencia y duración de las aplicaciones de agroquímicos.

En la agricultura nacional, los estudios sobre nutrición de los cultivos ha seguido dos grandes vertientes; una de ellas, la más tradicional en los últimos 60 años, se ha enfocado a la evaluación de los fertilizantes químicos sintéticos, y la otra, a la exploración de la capacidad que tienen algunos microorganismos para mejorar la nutrición de las

plantas y combatir algunos patógenos en el suelo. Además, se ha puesto de manifiesto el interés por la fermentación de los residuos orgánicos para abonar los cultivos; esto, mediante el desarrollo de compostas o bien con la utilización de lombrices para su descomposición.

En la actualidad se tiene mayor conciencia social sobre la explotación racional de los recursos naturales, al haberse demostrado la importancia de las relaciones entre los organismos. Esta nueva actitud ha favorecido el desarrollo de tecnologías de producción menos

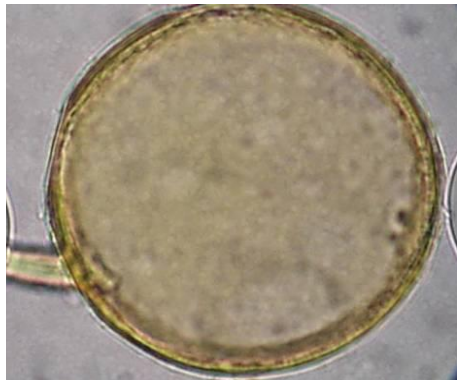


Figura 1. Espora de micorriza

contaminantes y ecológicamente más racionales, como el uso de los recursos microbiológicos del suelo en la agricultura (Figura 1).

II. Importancia y definición de los biofertilizantes

Los microorganismos benéficos para la agricultura son muchos y desarrollan sus funciones bajo la influencia de las raíces de las plantas.

La raíz, además de las funciones de anclaje, absorción y transporte de agua y nutrimentos al sistema vascular, pone a la planta en contacto con la rizosfera, es decir, la zona del suelo que rodea a las raíces de las plantas donde abundan los microorganismos (Balandreau y Knowles, 1978), que incluye especialmente la región de crecimiento en la raíz (Alexander, 1977; Arshad y Frankenberger, 1998), donde se da un flujo de compuestos orgánicos (Barea y Azcón-Aguilar, 1983) que sirven a los microorganismos como fuente de carbono (Bowen y Rovira, 1999).

Las fuentes de carbono pueden ser los residuos de células liberados por la lisis de células viejas de la epidermis, el mucílago y los exudados radicales de bajo peso molecular (Marschner y Römheld, 1996). Además de las fuentes de carbono, los microorganismos obtienen de la rizosfera, agua, condiciones favorables de O₂ y mayor acceso a minerales como molibdeno, hierro, calcio, potasio y magnesio (Loredo *et al.*, 2007). La rizosfera se extiende desde la superficie de la raíz hasta 2 mm fuera y sus condiciones físico-químicas y biológicas difieren en muchos aspectos del resto del suelo situado a cierta distancia. En esta región sucede además, competencia, mutualismo, predación y parasitismo (Barea y Azcón-Aguilar, 1983) que ayudan a la estabilidad de los sistemas de producción agropecuaria.

Dependiendo del tipo de relación con la planta, los microorganismos pueden ser benéficos o nocivos (Schippers *et al.*, 1987). En el caso de los microorganismos benéficos utilizados como

biofertilizante, la relación es mutualista y es conocida como simbiosis. Si se forman estructuras especializadas dentro de las células de las plantas (nódulos, vesículas, etc.) se denomina simbiosis obligada o estricta, y cuando el microorganismo sobrevive sin la planta y se asocia en beneficio de ambos, la simbiosis se conoce como asociativa o facultativa.

Hoy se utilizan diferentes microorganismos con funciones específicas en la agricultura para mejorar la productividad de las plantas. Todos son una fuente facilitadora del manejo de los nutrientes que benefician el funcionamiento de los cultivos, y forman parte de una tecnología que garantiza una productividad biológica, económica y ecológica más exitosa y sin contaminación del ambiente y de inocuidad reconocida para el hombre.

Los biofertilizantes son recomendados en la Agenda 21 como resultado de la llamada Cumbre de la

Tierra, firmada en Río de Janeiro en 1992. Son considerados biotecnologías “apropiables”, que es un término creado para las herramientas biotecnológicas que contribuyen al desarrollo sostenible de un país y que proveen beneficios tangibles a los destinatarios y, además, por ser ambientalmente seguras y socioeconómica y culturalmente aceptables.

Los microorganismos del suelo aprovechados en la agricultura han tenido diversas denominaciones. Tradicionalmente se han utilizado los términos “inóculo” o “inocular” que es la introducción de gérmenes en un sustrato cualquiera (Font Quer, 1977), pero también se han denominado “fertilizantes bacterianos” (Dommergues, 1978) e “inoculantes microbianos” (Kapulnik y Okon, 2002).

Algunos productos comerciales que contienen solamente bacterias, son comúnmente llamados “biofertilizantes”, como el caso de *Rhizobium*, “fitoestimulantes”, como en *Azospirillum*, “biopesticidas”

cuando se utilizan para el control biológico como *Pseudomonas* (Kapulnik y Okon, 2002) o también, “bioinoculante” (Loredo *et al.*, 2007). En todos los casos pueden utilizarse en los cultivos anuales, las praderas de gramíneas y leguminosas, hortalizas y frutales.

En general, los microorganismos promotores del crecimiento vegetal a base de bacterias, son llamadas rizobacterias (PGRP por sus siglas en inglés *Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) y generalmente provienen de un cultivo puro del microorganismo aislado de la raíz de alguna planta de interés y se multiplica en un medio de cultivo específico para luego ser transferido al sustrato, y de esta forma son utilizados en la agricultura.

Los principales mecanismos de acción de las rizobacterias son la fijación del nitrógeno atmosférico (Döbereiner *et al.*, 1995), la solubilización de minerales (Crowley *et al.*, 1991), la producción de sustancias reguladoras del crecimiento (Arshad y Frankenberger,

1991), el incremento en el volumen de la raíz (Bowen y Rovira, 1999), la inducción de resistencia sistémica a patógenos (Van Peer *et al.*, 1991), inhibición del crecimiento de organismos patógenos (Utkhede *et al.*, 1999) y la interacción sinérgica con otros microorganismos del suelo (Bashan *et al.*, 1996).

La simbiosis más conocida y más estudiada ha sido *Rhizobium*-leguminosa; agronómicamente es importante por su contribución en la nutrición nitrogenada de las plantas mediante la fijación del nitrógeno atmosférico y su efecto en las funciones y el desarrollo de la raíz y el vástago.

La fijación del nitrógeno por los microorganismos es una de las rutas más importantes para introducir de la atmósfera, el nitrógeno molecular (N₂) a las cadenas alimentarias de la biosfera (Bergersen, 1978). El 78% del aire en la atmósfera es nitrógeno y en esta forma no puede ser utilizado por los organismos que denominamos “superiores”. Este proceso se realiza por

algunos microorganismos de vida libre o asociados a los sistemas radicales que poseen el complejo enzimático nitrogenasa (Aparicio-Trejo y Arrese-Igor, 1993). La otra forma de poner disponible el nitrógeno a las plantas es mediante el proceso industrial, el cual requiere, para su fabricación, del uso de combustibles fósiles no renovables, que conlleva un riesgo potencial de contaminación y eutroficación de las aguas dulces por la lixiviación del NO_3^- de los suelos.

La fijación simbiótica del nitrógeno es un proceso metabólico con participación de la leguminosa y la bacteria. El rizobio se encuentra en los nódulos formados en el sistema radical y la planta le suministra los monosacáridos generados en la fotosíntesis. El microorganismo utiliza estas fuentes de carbono como energía para reducir el N_2 atmosférico a iones amonio y de esta manera “fijarlo” (Carrol *et al.*, 1985). Es la culminación de una compleja interacción entre la bacteria y el hospedero (Bergensen, 1978; Graham, 1984).

El frijol es una planta que nodula pobremente y fija pequeñas cantidades de nitrógeno. Mediante la utilización de métodos isotópicos (^{15}N), se ha estimado que la fijación de nitrógeno se encuentra normalmente en un rango de 25 - 71 kg N ha⁻¹ y en los mejores casos, de 40 - 50 % del total de nitrógeno en la planta (Grageda-Cabrera, 1990; Hardarson *et al.*, 1993). La eficiencia de la simbiosis planta-rizobio depende de la selección de las cepas de rizobio (Hardarson *et al.*, 1993), de la planta hospedera (Dart, 1977) y las condiciones ambientales (Chatel y Parker, 1973).

Las cepas de *Rhizobium* que infectan el frijol difieren en su capacidad para nodular y fijar nitrógeno (Vest *et al.*, 1973) y su elevada efectividad se ha relacionado con otras características, como la capacidad de producir más asparagina y glutamina (Döbereiner *et al.*, 1970), de acumular menor cantidad de 4-aminobutirato en los nódulos (Freney y Gibson, 1974), de utilizar con mayor eficiencia la energía de los

fotosintatos (Havelka y Hardy, 1976) y de poseer los genes *nif* que codifican las proteínas necesarias para la síntesis de la nitrogenasa (Aparicio-Trejo y Arrese-Igor, 1993).

Se han desarrollado diversos trabajos de investigación para obtener cepas de elevada eficiencia y alta competencia por los sitios de infección nodular (Guzmán *et al.*, 1990 y Uribe y Hernández, 1990), para estudiar los factores que afectan la sobrevivencia de los rizobios en el suelo (Saito y Ruschel, 1976) y, para definir estrategias que permitan la introducción de nuevas cepas en suelos con poblaciones establecidas de rizobio homólogo (González *et al.*, 1992). También se han evaluado la inoculación doble en frijol con *Rhizobium* y con otras bacterias promotoras del crecimiento vegetal, como *Azospirillum*, que ha tenido una interacción positiva en el desarrollo radical y del vástago del frijol (Andreeva *et al.*, 1992; 1993; Okón y Itzigsohn, 1995; Burdman, *et al.*, 1996 a; Aguirre-Medina *et al.*, 2005), con micorriza-arbuscular, que ha favorecido la toma de agua y de

nutrientes (Augé *et al.*, 1994), especialmente fósforo (Aguirre y Kohashi, 2002) y mejorado en general la nodulación y fijación de nitrógeno de las leguminosas (Burdman *et al.*, 1996b).

Recientemente, se ha encontrado que la aplicación de *Rhizobium* a la semilla, además de las funciones anteriores, también disminuye el ataque de *Fusarium solani*, causante de la marchitez del frijol (Estévez de Jensen *et al.*, 2000).

Otro grupo de interés para nosotros son los hongos micorrízicos. Son un grupo de hongos habitantes del suelo, benéficos para las plantas, con capacidad de colonizar la raíz de gran número de especies y establecer una simbiosis. Esta relación simbiótica es una de las más antiguas e importantes en la agricultura moderna. Además, constituye un *status* biotrófico obligado en la mayoría de las plantas.

El vocablo Micorriza, proviene de *mico* y *raíz* y significa la unión de la raíz de una planta con las hifas de determinados hongos (Font Quer, 1977). Etimológicamente, la palabra se forma del griego “*mykos*” (hongo) y del latín “*rhiza*” (raíz) y según Plenchette (1982), el término fue utilizado por primera vez por Albert B. Frank en 1881, para designar esta simbiosis como “la asociación de hifas a los órganos subterráneos de las plantas superiores” por lo tanto, el término implica “la asociación de un hongo con las raíces de las plantas” (Seifriz, 1938; Gerdemann, 1968; Safir, 1980; Maronek *et al.*, 1981; Harley y Smith, 1983), tanto cultivadas como silvestres.

Representa un proceso sucesivo de intercambios de sustancias nutritivas, metabolitos, creación de nuevas estructuras o síntesis de hormonas (Trappe, 1987).

Los hongos micorrízicos tienen amplia distribución geográfica (Mosse, 1973), en todos los

continentes y en la mayoría de los ecosistemas terrestres (Hall, 1979) con excepción de algunas plantas de zonas pantanosas y acuáticas (Solaiman e Hirata, 1995). Se encuentran en condiciones naturales en la mayoría de los cultivos tropicales y subtropicales de interés agronómico (Sieverding, 1989) y se asocian a plantas de interés económico como las gramíneas, leguminosas, hortalizas y frutales.

Las micorrizas difieren entre sí en sus características morfológicas y, de acuerdo con la formación de sus estructuras, dentro o fuera de la planta, se han descrito siete tipos siguiendo criterios estructurales, funcionales y taxonómicos y son: Ectomicorrizas, Endomicorrizas o Micorrizas Arbusculares (MA), Ectoendomicorrizas, Arbutoides, Monotropoides, Ericoides y Orquidioides. Los hongos micorrízicos más usados como biofertilizante son los endófitos (endomicorrizas), que tienen la propiedad de penetrar en la corteza de la raíz (no pasan banda de caspari) y su micelio se extiende hacia el exterior con

las hifas y son capaces de explorar mayor volumen de suelo y llegar a sitios donde la raíz no puede explorar.

De acuerdo con Gerdemann (1975), la mayoría de las especies vegetales son colonizadas por micorriza-arbuscular, con la excepción de las familias ectomicorrízicas, *Pinaceae*, *Betulaceae* y *Fagaceae*, las que forman endomicorrizas con hongos perfectos, *Orquidaceae* y *Ericaceae* y algunas familias que no se han encontrado evidencias de su asociación como en *Chenopodiaceae*, *Cruciferaeae*, *Fumariaceae*, *Cyperaceae*, *Commelinaceae*, *Urticaceae* y *Poligonaceae*.



Figura 2. Sistema radical de maíz con y sin micorriza

Las endomicorrizas benefician el desarrollo de las plantas o mejoran las condiciones del suelo mediante el incremento en el área de exploración del sistema radical (Figura 2) y mayor abastecimiento de nutrientes y agua (Aguirre-Medina *et al.*, 2005), mejor aprovechamiento del agua y tolerancia a sequía (Augé *et al.*, 2001 y Aguirre-Medina *et al.*, 2005), control de fitopatógenos, con la modificación de las condiciones de la rizosfera y por competencia por espacio y fotosintatos, así como, el mejoramiento de la estructura del suelo mediante la producción de glomalina, que es una sustancia que puede actuar como adherente y aglutinar partículas del suelo en agregados más estables (Wright y Upadhyaya, 1998).

El ciclo de vida de los hongos micorrízicos inicia con la germinación en el suelo de sus propágulos o esporas y crecen al azar en busca de una raíz susceptible a ser colonizada (Olalde y Serratos, 2004). Requieren de un sistema radical vivo para completar su

ciclo biológico. Por ello, la fuente de inóculo proviene de hongos asociados a raíces de plantas “nodriza”.

Los hongos micorrízicos se incrementan en diversos sustratos y procedimientos. Las fuentes de inóculo son las esporas, hifas, fragmentos de cuerpos fructíferos y raíces colonizadas.

Se ha comprobado que la aplicación de diversas combinaciones de microorganismos, hongos y bacterias en diferentes plantas, tienen efecto sinérgico en la nutrición de la planta huésped y su concomitante beneficio en el desarrollo vegetativo y reproductivo, como es el caso de la simbiosis doble con *Rhizobium-Glomus* sp en *Leucaena* (Aguirre-Medina y Velazco, 1994), *Azospirillum-Glomus* en cacao (Aguirre-Medina et al., 2007), *Azospirillum-Glomus*, *Rhizobium-Glomus* en diversos cultivos anuales o la simbiosis triple, *Rhizobium-Glomus-Azospirillum* en frijol (Irizar-Garza et al., 2003; Aguirre-Medina 2006). Además, existen evidencias de ciertos microorganismos asociados a las

raíces de las plantas que son capaces de inducir tolerancia a la sequía (Dommergues, 1978; Bethlenfalvay *et al.*, 1978; Faber *et al.*, 1991; Augé y Duan, 1991; Augé *et al.*, 1994; Aguirre-Medina *et al.*, 2005).

La diversidad de efectos y su inducción en el desarrollo de las plantas, establecen el concepto de biofertilizante.

Se denomina biofertilizante a un producto que contiene uno o varios microorganismos del suelo y puede ser aplicado a la semilla ó al suelo con el fin de incrementar su número, asociarse directa o indirectamente al sistema radical de las plantas, favorecer su interacción e incrementar el desarrollo vegetal y reproductivo de la planta huésped.

Los biofertilizantes más comercializados en la actualidad, son inocuos para el hombre y el ambiente, y la mayor respuesta agronómica se ha encontrado en

suelos de baja fertilidad. Son más económicos y de fácil transportación, en comparación con los fertilizantes de origen químico sintético que utilizan los productores.

Existen diversas presentaciones para su comercialización (Figura 3). Los más comunes son los que se aplican a la semilla y van impregnados en turba (materia orgánica de líquenes), pero también pueden distribuirse en suelo molido, medios de agar, caldos nutritivos, liofilizados, o en medios de aceite.

Los que se aplican al suelo pueden ser granulados o en polvo y generalmente se mezclan con algún material inerte o suelo de la misma parcela para facilitar su distribución en el terreno. En algunos casos se agregan en su formulación, otros aditivos, como nutrimentos y micronutrimentos.

Los microorganismos que se utilizan en la agricultura, como es el caso de las bacterias, pueden

impregnarse en los soportes elegidos y éstos pueden estar o no esterilizados. Los soportes esterilizados son más costosos pero mantienen la viabilidad de los microorganismos por mayor tiempo.

El soporte o transportador donde se impregnan las bacterias, además de mostrar uniformidad química y física y no ser tóxico, debe tener la capacidad de almacenar humedad, ser de fácil esterilización y biodegradable. Este componente representa la mayor porción en volumen o peso final del producto. Naturalmente un solo soporte o transportador no reúne todos estas características deseables, pero se debe



Figura 3. Presentación de los biofertilizantes

buscar el que presente la mayoría de ellas.

Además de las bacterias fijadoras de nitrógeno como *Azospirillum*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* y los hongos micorrízicos que transportan P, otros nutrientes y agua, también se utilizan como biofertilizantes los microorganismos *Azotobacter*, *Anabaena*, *Frankia*, *Bacillus* y *Pseudomonas*, entre otros.

Los primeros Biofertilizantes microbianos distribuidos en grandes cantidades en el campo mexicano fueron en el programa Alianza para el Campo-SAGARPA durante el ciclo agrícola de Primavera-Verano (PV) 1999, Otoño-Invierno (OI) 1999-2000 y PV 2000. Los microorganismos utilizados fueron *Azospirillum brasilense*, *Glomus intraradices* y *Rhizobium etli*. En total se distribuyeron para 1 882 263 ha en casi todo el país.

Desde el principio tuvieron amplia aceptación por los productores agropecuarios de México. Se han

utilizado en cultivos anuales y perennes con diferentes sistemas de manejo debido a sus importantes y múltiples funciones en la agricultura, como en la nutrición de los cultivos, especialmente con nitrógeno y fósforo (Aguirre-Medina, 2006).

El uso de estos productos ha mejorado la comprensión de la relación planta-microorganismo en su contribución a minimizar los riesgos de degradación de los suelos y a maximizar el regreso de energía a los sistemas de producción. Estas consideraciones han tomado importancia en las últimas tres décadas para establecer fronteras a la agricultura, no sólo desde el punto de vista de lograr una máxima producción sostenida, sino buscando la estabilización de los sistemas de producción a largo plazo. El incremento en la productividad a base de grandes cantidades de energía (como es el caso de la aplicación de fertilizantes químicos sintéticos) no puede ser mantenido indefinidamente, existe un límite en la capacidad de producción que va a estar regulada por

los costos externos de la energía que se introduce en los sistemas de producción.

III. Formas de aplicación y cantidades

Los biofertilizantes microbianos pueden aplicarse a la semilla, el suelo o al material vegetativo. En cultivos anuales los beneficios de la simbiosis se expresan en plazos muy breves, de 20-30 días después de la biofertilización, pero en cultivos perennes en vivero hasta después de tres meses, como en cacao y cafeto (Aguirre-Medina 2006). La forma más precisa de aplicarlos es mediante su adhesión a las semillas.

Los biofertilizantes que tiene como sustrato el suelo o la turba, vienen acompañados de un adherente, que en muchos casos es el carboximetil celulosa a una concentración de 0.5%.

Para aplicar el biofertilizante a la semilla se sugiere extenderla en un plástico y asperjar sobre ella el adherente y mezclar muy bien; es importante verificar que toda la semilla quede “pegajosa” e inmediatamente agregar el biofertilizante. Si no queda pegajosa, se puede mejorar la adhesividad agregando agua con azúcar. También puede hacerse como se presenta en la Figura 4, en una carretilla o en una revolvedora elaborada con un tambo.



Figura 4. Aplicación del adherente y forma de revolver la semilla

Los biofertilizantes que vienen en presentación de 1 kg para el caso de la micorriza y de 400 g para las bacterias, generalmente contienen la cantidad suficiente de microorganismos o progámulos para tratar

unos 20 ó 25 kg/ha de semilla de tamaño mediano de cultivos como maíz y frijol, requeridos para sembrar una hectárea. Con base en esta información se pueden hacer los cambios para otras semillas, como las semillas pequeñas de trigo, cebada y avena. En estos casos se recomienda utilizar tres bolsas de cada microorganismo por hectárea.

En semillas para viveros o semilleros, como jitomate, chile o cebolla, la cantidad de producto máxima es de medio kg de micorriza y 200 g de bacteria, y siempre se debe cuidar que la semilla quede cubierta con el adherente y el biofertilizante.

En otros cultivos que requieren etapas de vivero o semillero, como cacao, cafeto, mango o rambután, la cantidad de biofertilizante por aplicar es variable y depende del número y tamaño de semillas a biofertilizar. En todos los casos se debe cubrir la superficie de la semilla con el biofertilizante y al momento de depositar la semilla en la bolsa, agregar

en el fondo del hoyo hasta 5 g del biofertilizante, que puede ser de un microorganismo o la mezcla de dos ó más.

Como una recomendación general podemos considerar una proporción de biofertilizante correspondiente al 4 % del peso de la semilla.

En gramíneas forrajeras tropicales que se reproducen por estolones, como estrella de África *Cynodon plectostachyus* (K. Schum) Pilger, *Brachiaria spp* Griseb y *Digitaria spp* Haller, entre otros, el adherente se asperja sobre el material vegetativo y arriba de él, el biofertilizante. En este caso las cantidades de producto varían con la superficie a sembrar.

En condiciones especiales, como en el caso de suelos ácidos en el trópico, además del biofertilizante a la semilla, es posible adicionar algún mejorador del suelo, como puede ser el carbonato de calcio, que se

aplica para proteger a los microorganismos en la etapa inicial de colonización radical.

Una vez biofertilizada la semilla, sembrar lo más pronto posible.

IV. Resultados de Investigación y Validación

Se presentan resultados de maíz y frijol en diversos trabajos de investigación y validación de tecnología con los microorganismos *Glomus intraradices*, *Azospirillum brasilense* y *Rhizobium etli* desarrollados por investigadores del INIFAP a partir de 1999 y hasta la fecha, en varias regiones agroecológicas de México. Los trabajos de investigación son muy diversos y abarcan diferentes aspectos fisiológicos, morfológicos y nutrimentales.

4.1. Colonización micorrizica y contenido de P en frijol

Se estudió la infección radical por el hongo micorrízico *Glomus intraradices* y la dinámica de la colonización radical en frijol Michoacán 12A-3 en el Valle de México en condiciones de invernadero. La presencia del hongo en la planta, a través de la identificación de hifas, se observó a partir de los 10 días después de la siembra. Se identificó además, una relación entre la presencia de arbusculos y vesículas con los estados vegetativos del frijol. La región más rápidamente infectada fue la cercana a la corona radical (Aguirre-Medina y Kohashi, 2002).

En cuanto a las estructuras de la micorriza, los arbusculos fueron más abundantes durante el desarrollo vegetativo del frijol y hasta la floración (78%). Después de esta etapa, el porcentaje se redujo a 40% hasta la cosecha. La reducción de la infección coincidió con la aparición de los órganos reproductivos y el desarrollo de las vainas. Las vesículas tuvieron su

mayor aparición (55%) al final del ciclo del cultivo (Figura 5).

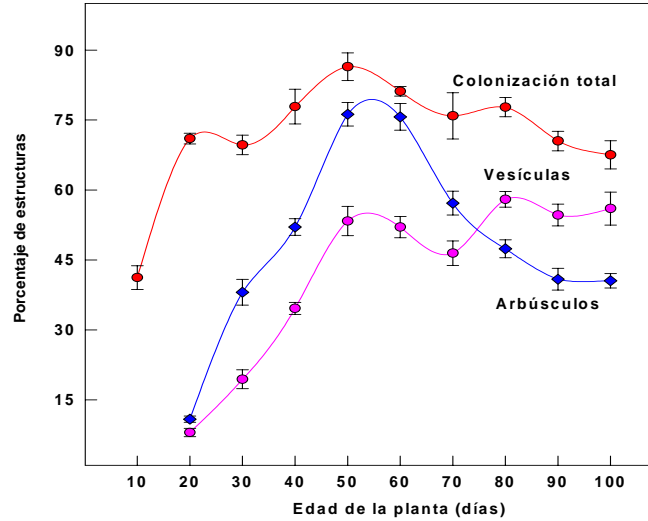


Figura 5. Dinámica de la colonización micorrízica en frijol Michoacán 12A-3 con *Glomus intraradices*. Los valores son promedios de 99 observaciones \pm el error estándar. (Aguirre-Medina y Kohashi, 2002)

Las plantas de frijol inoculadas con micorriza produjeron menor volumen y peso seco de la raíz, en comparación con el testigo (Figura 6).

Las plantas biofertilizadas mostraron mayor número de nudos del tallo principal y nudos totales a partir de los 20 días después de la siembra, así como un incremento en el número de flores a partir de los 60 días después de la siembra.

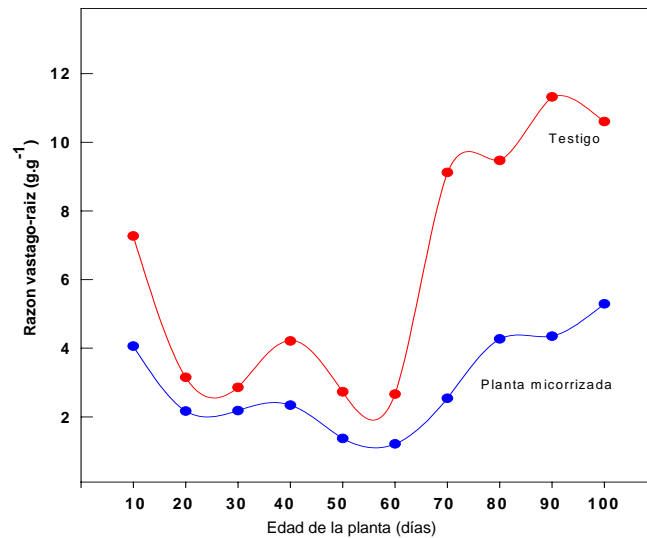


Figura 6. Razón raíz-vástago en frijol Michoacán 12A-3 con *Glomus intraradices*. (Aguirre-Medina y Kohashi, 2002).

La biofertilización del frijol con micorriza indujo mayor contenido de fósforo en el tejido vegetal en comparación con el testigo. La mayor diferencia entre

ambos tratamientos se observó a los 50 días de la siembra y coincidió con la etapa de floración del cultivo. La relación fue de 1:1.75 veces más fósforo en donde se biofertilizó con micorriza. El contenido de fósforo en el grano resultó similar entre tratamientos (Figura 7).

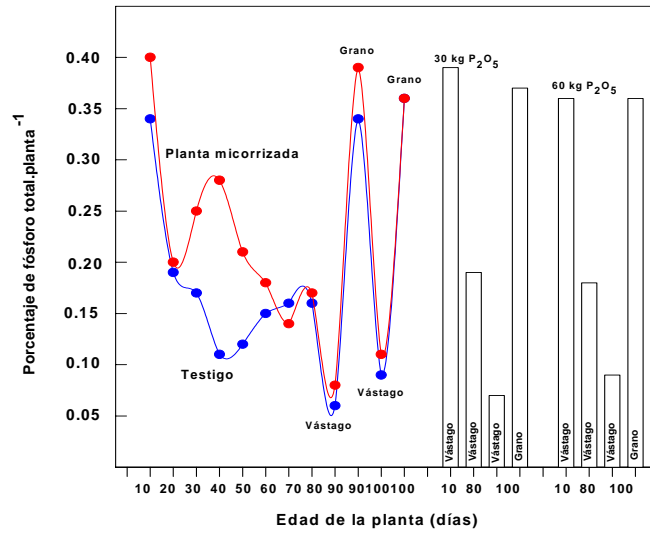


Figura 7. Contenido de fósforo en frijol Michoacán 12A-3 con y sin biofertilización micorrízica y dos dosis de fósforo al suelo en invernadero. (Aguirre-Medina y Kohashi, 2002).

4.2. Materia seca y tolerancia al estrés hídrico en frijol

En otro ensayo con frijol en cámaras de crecimiento se investigó el efecto de biofertilizar *Glomus intraradices*, *Rhizobium etli* y *Azospirillum brasilense* solos o combinados, en el intercambio de gases de *P. vulgaris* L. var. Pinto Villa y la asignación de materia seca en *P. vulgaris* L. var. Pinto Villa (tolerante) y Bayo Madero (susceptible), bajo riego y estrés hídrico.

Los resultados mostraron mayor acumulación de materia seca en las dos variedades de frijol tratadas con los microorganismos solos o combinados, en comparación con el testigo sin inocular.

Con *Azospirillum* se incrementó la biomasa del sistema radical y con *Glomus* se redujo, de la misma forma que sucedió con Michoacan 12A-3 (Aguirre-Medina y Kohashi, 2002). *Rhizobium*, *Azospirillum* y

Glomus interactuaron positivamente con el frijol al promover mayor acumulación de materia seca en la planta e inducir tolerancia al estrés hídrico cuyo nivel dependió de la interacción genotipo-microorganismo.

Cuadro 1. Asignación de materia seca ($\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) en dos variedades de frijol biofertilizadas con uno o dos microorganismos.

Tratamiento	Bayo Madero			Pinto Villa		
	Lámina foliar*	Raíz	Tallo	Lámina foliar	Raíz	Tallo
<i>Rhizobium etli</i>	0.78 ab	0.82 b	0.50 b	0.66 b	1.00 a	0.53 b
<i>Azospirillum brasilense</i>	0.71 bc	0.98 a	0.36 c	0.59 c	0.90 b	0.37 d
<i>Glomus intraradices</i>	0.80 a	0.70 b c	0.48 b	0.58 c	0.70 de	0.43 c
Testigo	0.54 e	0.63 cd	0.36 c	0.40 d	0.87 bc	0.30 e
<i>R. etli</i> + <i>G. intraradices</i>	0.76 ab	0.60 cd	0.68 a	0.75 a	0.55 f	0.66 a
<i>A. brasilense</i> + <i>G. intraradices</i>	0.64 cd	0.56 d	0.48 b	0.58 c	0.66 ef	0.39 d
<i>A. brasilense</i> + <i>R. etli</i>	0.60 de	0.70 bc	0.52 b	0.59 c	0.68 ef	0.33 e
<i>A. brasilense</i> + <i>G. intraradices</i> + <i>R. etli</i>	0.72 bc	0.62 cd	0.69 a	0.64 b	0.78 cd	0.37 d
C.V. %	5.02	6.93	7.54	3.0	5.61	3.01

*Promedios de cuatro plantas. Los valores con la misma letra, dentro de cada columna, son estadísticamente iguales ($p < 0.05$) (Aguirre-Medina *et al.*, 2005).

Los componentes del rendimiento modificados por la simbiosis fueron el sistema radical y la lámina foliar y la simbiosis micorrízica indujo menor crecimiento de la raíz mientras que *Azospirillum* la incrementó. La simbiosis micorrízica favoreció la conductancia estomática en Pinto Villa (Figura 8). Esta respuesta sugiere, que el sistema radical colonizado en 85% por el hongo micorrizico permitió seguramente, a través del micelio, explorar mayor volumen de suelo, y de esta manera abastecer de agua a la planta de frijol.

Al incluir la simbiosis doble con algunos de los microorganismos evaluados, la conductancia estomática fue más estable durante los primeros 4 a 5 días después de la suspensión del riego y posteriormente fue la menos contrastante entre el tratamiento regado y donde se suspendió el riego. De las combinaciones de microorganismos, la simbiosis *Rhizobium-Glomus* controló mejor la conductancia estomática en las variedades de frijol, con riego y cuando se suspendió el mismo (Figura 8).

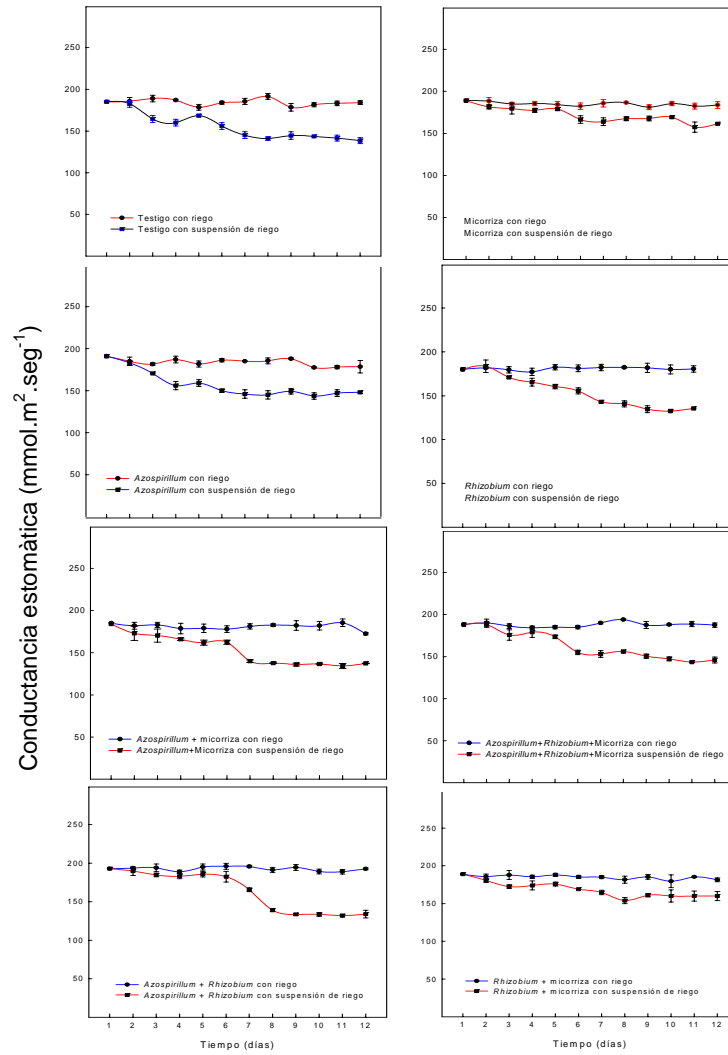


Figura 8. Conductancia estomática del frijol *Phaseolus vulgaris* L. var. Pinto Villa inoculado con diferentes microorganismos, solos o combinados bajo riego y con suspensión del riego. Los valores son promedios de cuatro repeticiones. (Aguirre-Medina *et al.*, 2005).

La tasa de asimilación de CO₂ en la var. Bayo Madero fue mayor con *G. intraradices* en comparación con los otros microorganismos y el testigo (Figura 9).

En el caso de la var. Pinto Villa (Figura 10), cuando se inocularon los microorganismos por separado, se observó una clara diferencia en la tasa de asimilación de CO₂ en comparación con el testigo. La mayor tasa de asimilación la presentó el tratamiento con *G. intraradices*, seguido por *Azospirillum* y *Rhizobium*.

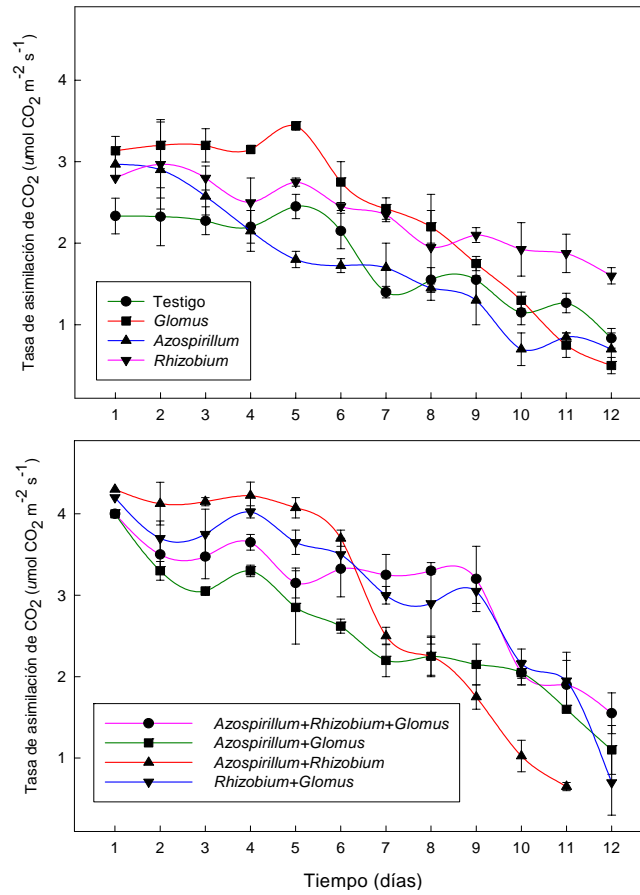


Figura. 9. Tasa de asimilación de CO₂ en frijol *Phaseolus vulgaris* L. var. Bayo Madero inoculado con uno o varios microorganismos. La línea vertical indica \pm el error estándar de cuatro repeticiones. (Aguirre-Medina *et al.*, 2005)

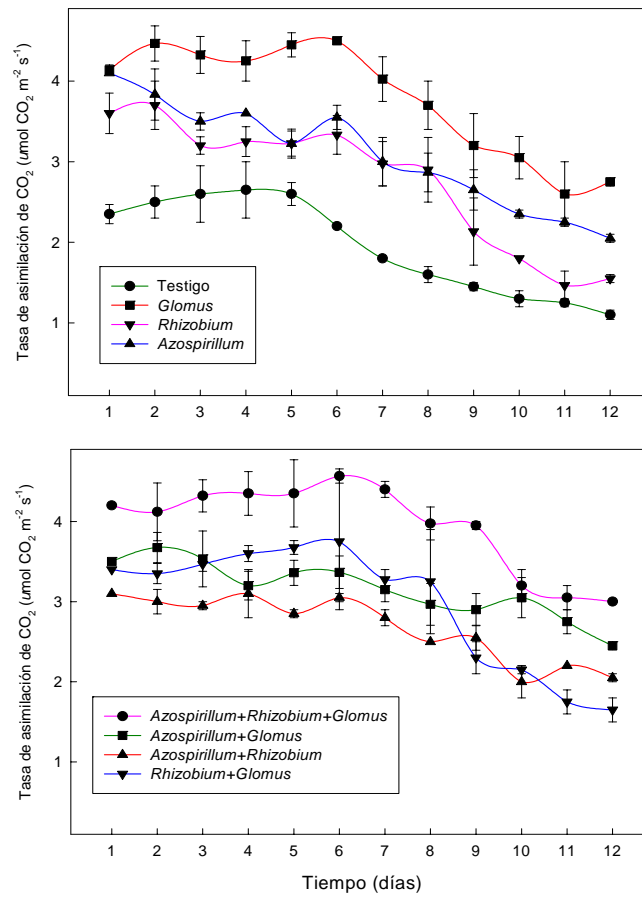


Figura. 10. Tasa de asimilación de CO₂ en frijol *Phaseolus vulgaris* L. var. Pinto Villa inoculado con uno o varios microorganismos. La línea vertical indica \pm el error estándar de cuatro repeticiones. (Aguirre-Medina *et al.*, 2005)

4.3. Rendimiento del frijol en terrenos de productores

Algunos resultados del proceso de inducción del uso de biofertilizantes generados por el INIFAP en parcelas de validación durante diferentes ciclos agrícolas de Primavera-Verano, se presentan a continuación.

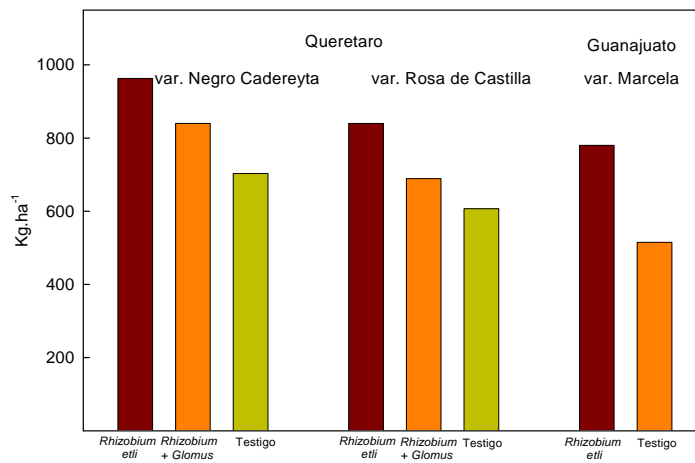


Figura 11. Rendimiento del frijol en parcelas de productores en el Centro de México. (López B., M. 1999 en Querétaro y Díaz de León. G. 1999 en Guanajuato)

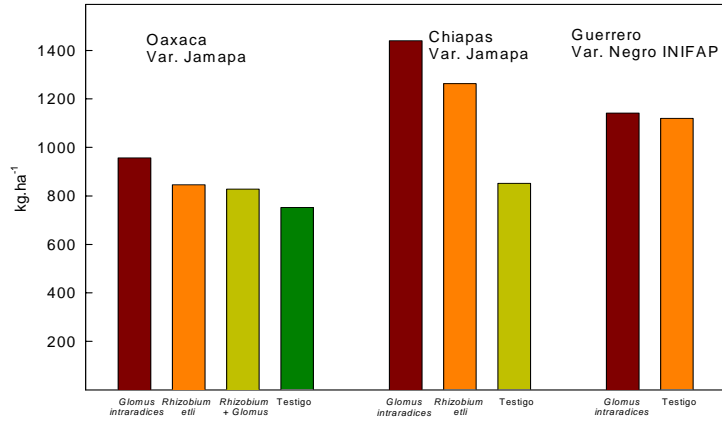


Figura 12. Rendimiento del frijol en parcelas de productores del Pacífico Sur de México. (En Oaxaca, Arredondo, C., 1999; Chiapas, Camas, G. R. 1999; Guerrero, Cruzaley, S. R. 1999.)

Cuadro 2. Rendimiento de diversas variedades de Frijol ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) con biofertilizantes microbianos.

Estado	Variedad	<i>Glomus intraradices</i>	<i>Rhizobium etli</i>	<i>Rhizobium + Glomus</i>	Testigo absoluto	Fuente
Yucatán	Jamapa	324			340	Uribe, V. G. 1999
Veracruz	Negro INIFAP			928	707	Durán, P. A. 2000
Veracruz	DOR 500			731	596	Durán, P. A. 2000
Veracruz	Negro Tacaná			1500	1281	Durán, P. A. 2007

Tamaulipas	Jamapa		562	525	Pérez, G. P. 2000
Chiapas	Rojo INIFAP	1020		723	Cruz- Chávez, 2007
Guanajuato (riego)	Frijol	3115		2884	Grajeda- Cabrera, O. 2007.
Guanajuato (punta de riego)	Frijol	1621		1435	Grajeda- Cabrera, O. 2007.

En todos los casos se incrementó el rendimiento del frijol con alguno de los microorganismos en comparación con el testigo, bien sea solos, o aplicados juntos a la semilla.

En la región centro del País los mejores rendimientos se encontraron cuando se biofertilizaron las diversas variedades con *Rhizobium etli* (Figura 11) en cambio, en el Pacífico Sur, los mejores incrementos en rendimiento se lograron con *Glomus intraradices* (Figura 12).

En otras regiones como el estado de Veracruz, los rendimientos más altos se encontraron con la

biofertilización de los dos microorganismos, el hongo micorrízico y la bacteria (Cuadro 2).

4.4. Componentes del rendimiento y contenido de NPK en maíz

Experiencias con Maíz en asignación de materia seca se obtuvieron en el Campo Experimental Valle de México (Irizar-Garza, 2000). En este caso también se modificó el sistema radical del maíz, pero a diferencia de una disminución cuando se biofertilizó el hongo micorrízico, la respuesta fue semejante a la biofertilización con *Azospirillum* (Figura 13). También se incrementa el área foliar (Figura 14).

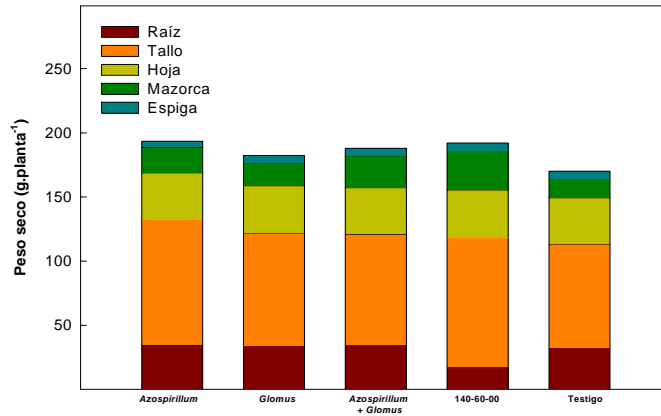


Figura. 13. Asignación de materia seca en componentes del rendimiento del maíz H-40 cuando se biofertiliza con *Azospirillum brasilense* y/o *Glomus intraradices* en condiciones de campo. Los valores son promedios de cuatro repeticiones de cinco plantas. (Irizar-Garza, 2000).

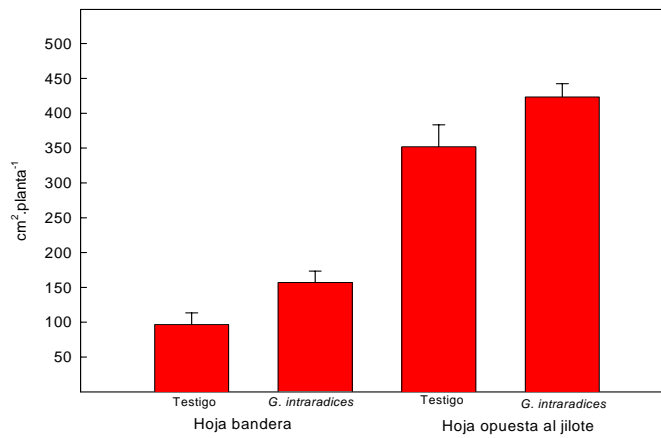


Figura 14. Área foliar del maíz cuando se aplica o no *Glomus intraradices*. Los parajes, Huejutla Hidalgo. La línea vertical indica \pm el error estándar de 10 repeticiones. (Irizar-Garza, 2007).

El contenido de N y P se estudió en el Maíz en Tabasco y Campeche (Figuras 15, 16 y 17). En todos los casos, el contenido de los mismos se incrementó con la biofertilización de los microorganismos en el tejido vegetal.

Los biofertilizantes microbianos a base de *Azospirillum*, *Rhizobium* y *Glomus* inducen un color verde intenso a la planta, incrementan el grosor del tallo, el área foliar y el rendimiento en maíz.

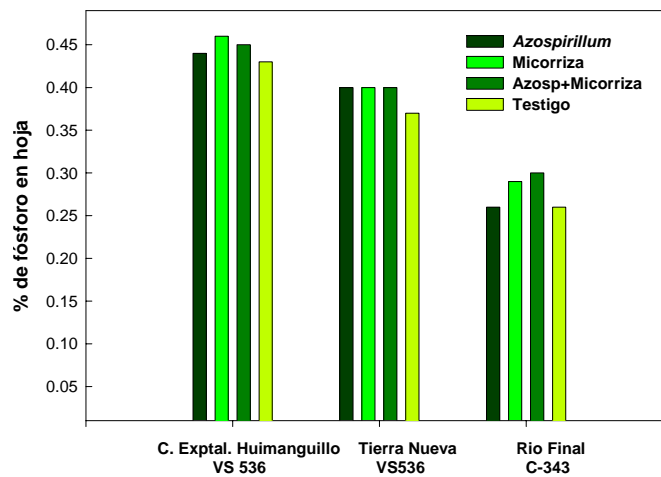


Figura 15. Contenido de fósforo en la lámina foliar de tres variedades de maíz biofertilizado con dos microorganismos en campo. (Pastrana-Aponte, 2000).

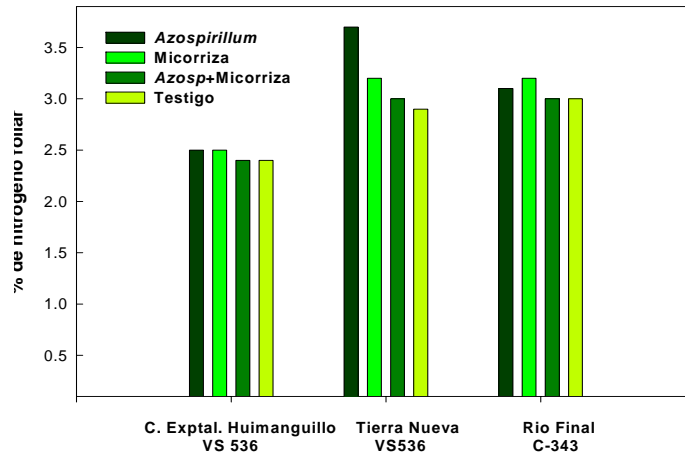


Figura 16. Contenido de nitrógeno en la lámina foliar de tres variedades de maíz biofertilizadas con dos microorganismos en campo. (Pastrana-Aponte, 2000).

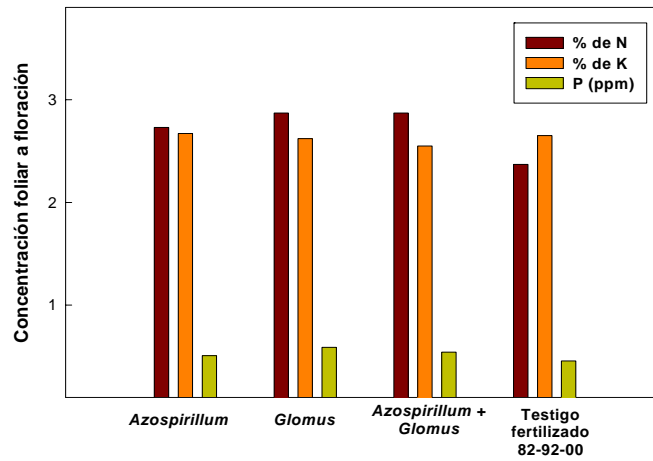


Figura 17. Contenido de NPK en la lámina foliar del maíz V-537 biofertilizado con dos microorganismos en Campeche. (De Alba, 2000).

4.5. Rendimiento del maíz en terrenos de productores

Los resultados de las parcelas de validación con algunos de los microorganismos, juntos o por separado, en comparación con el testigo sin biofertilizante ni fertilizante químico (testigo absoluto), mostraron mejores rendimientos con diferentes variedades y bajo diversos sistemas de manejo.

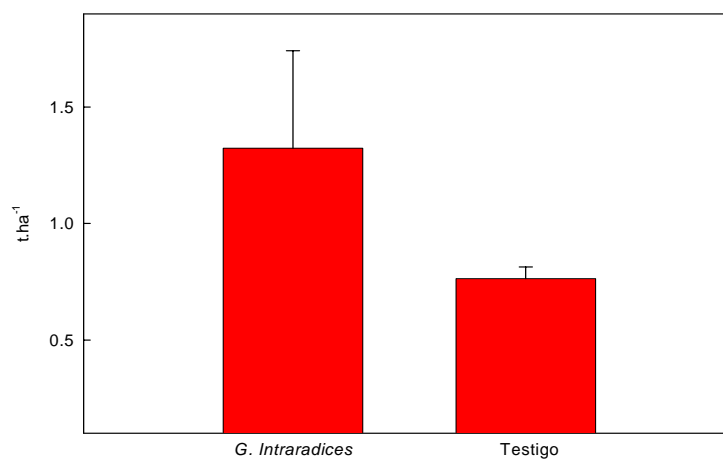


Figura 18. Rendimiento de grano de maíz criollo con y sin *Glomus intradices* en Coyotepec, Otumba, Edo. de México. Los valores son promedios de tres repeticiones \pm el error estándar. (Irizar-Garza, 2007).

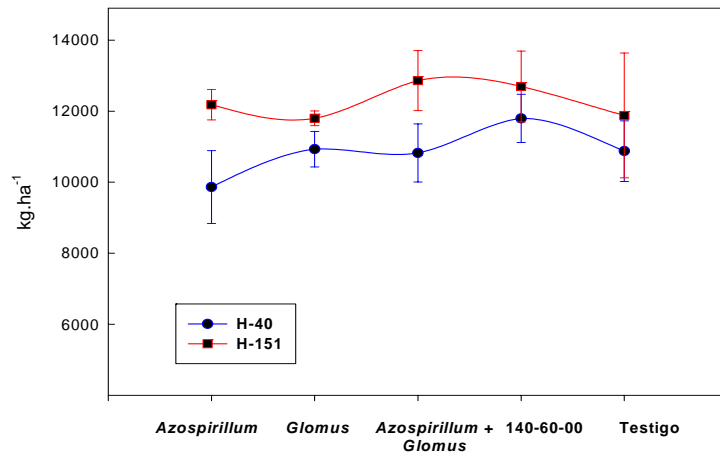


Figura 19. Rendimiento de dos híbridos de maíz en el Valle de México. (Irizar-Garza, 2000). La línea vertical indica \pm el error estándar de cuatro repeticiones.

Cuadro 3. Rendimiento del maíz (kg.ha⁻¹) bajo diversos sistemas de producción con biofertilizantes microbianos.

Estado	<i>Glomus intraradices</i>	Testigo Absoluto	% Incremento en rendimiento	Fuente
Guanajuato	10 069	9336	8	Grajeda-Cabrera, O. 2007.
	4209	3749	11	
	4420	3915	13	
	7967	8297	4	
Chiapas	4007	3370	15	Cruz-Chávez, F. 2007
	3285	2650	19	

Resultados de validación con diferentes niveles de fertilidad se presentan a continuación.

Cuadro 4. Rendimiento del Maíz (kg.ha⁻¹) bajo diversos sistemas de producción con biofertilizantes microbianos y fertilizante químico.

Estado	Material	<i>Azospirillum brasiliense</i> + Fertilización	<i>Glomus intraradices</i> Fertilización	<i>Azospirillum</i> + <i>Glomus</i> + Fertilización	Testigo Fertilizado	Fuente
Puebla	H-40 +140-60-00	3212	3017	3411		Barajas, C. R. 1999
Hidalgo	Tornado +46-23-00	2253			1623	Pérez, C. J. P. 1999
Morelos	H-515 +120-60-00	8332	8393	8435	8591	Trujillo, C. A. 1999
México	H-44 +100 de N	5566	4939	5296	6039	Irizar, M. 2000.
Chiapas	H-515 +160 de N	7055	6395	7448	6458	Camas, G. R. 1999.
Oaxaca	Criollo +40-40-00			1425	857	Arredondo V. C. 1999.
Oaxaca	Criollo +30-20-00			2973	2918	ArredondoV. C. 1999.
Guerrero	H515 +120-60-00	7700	8800	9100	7200	Cruzaley, S. R. 1999
Veracruz	H-512 +138-69-30	4003	3954	3882	4057	Vázquez, <i>et</i> <i>al.</i> 1999
Veracruz	H-512 +46-23-10	3722	3348	3543	3505	Vázquez, <i>et</i> <i>al.</i> 1999
Tabasco	VS-536 +100-100-50	3350	3700	3080	3450	Jiménez, Ch., J. A. 1999
Yucatán	VS-536 +30-80-00	1440	2902	2092	1128	Uribe, V. G. 1999
Yucatán	V-539 +30-80-00	1504	2597	1828	1400	Uribe, V. G. 1999

En todos los casos, con las distintas variedades e híbridos, se encontraron respuestas diferenciales en la interacción con los microorganismos, solos o combinados. Respuestas semejantes en rendimiento con la interacción de diversos factores ambientales y de manejo han sido ampliamente estudiadas por diversos autores (Mosse, 1973; Khan, 1972; Dommergues, 1978; Okon y Kapulnik, 1986; Caballero-Mellado, 1991) o su interacción con algunos microorganismos cuando se introducen por primera vez en un ambiente determinado, como *Rhizobium* (Aguirre-Medina *et al.*, 1988; Matuz *et al.*, 1990).

Los niveles de fertilización menores a 100 kg de N.ha⁻¹ aplicados a los cultivos junto con los microorganismos indujeron mejor respuesta en rendimiento en comparación con los niveles superiores que no presentaron diferencias con los tratamientos biofertilizados.

El efecto de los biofertilizantes en el rendimiento de diversos cultivos fertilizados con altas dosis de nitrógeno ha sido documentado por distintos autores (Schwenke *et al.*, 1997; Wani *et al.*, 1997). Cuando la disponibilidad de nitrógeno es alta en el suelo, los microorganismos no cumplen con su función de fijar el nitrógeno atmosférico y toman el disponible en el suelo, por lo tanto, el proceso simbiótico no se establece. En el caso del hongo micorrizógeno puede transportar este nutrimento al sistema radical de las plantas y hacer más eficiente la utilización de la fertilización química (Sutton, 1973; Barea y Azcón-Aguilar, 1983; Read, 1998; Selosse y Le Tacón 1998). Cuando se utilizan altos niveles de nitrógeno es más conveniente aplicar solamente el hongo micorrizíco, pero en suelos arenosos, donde los niveles de nutrimentos son bajos, es importante la aplicación de los fertilizantes químicos sintéticos en dosis aproximadas al 50% de la recomendada en la región más el hongo micorrizíco.

Con estos resultados se confirma el amplio potencial de utilizar los microorganismos del suelo en la agricultura como una alternativa para nutrir por medios biológicos los cultivos.

Son una alternativa de gran validez para los agricultores que no fertilizan o lo hacen con pequeñas cantidades, como el caso de los campesinos que siembran maíz, donde se puede reducir hasta el 50% de la formula de fertilización tradicional en muchas regiones del país y en el caso de las leguminosas como el frijol, con la práctica de biofertilización se logra reducir el 100% del fertilizante nitrogenado.

V. Recomendaciones para el manejo exitoso de los biofertilizantes

Antes de la siembra, verificar la fecha de caducidad de los productos.

Los biofertilizantes a base de *Azospirillum* y micorriza-arbuscular se deben almacenar en la sombra,

en un lugar fresco y seco. Si son productos que contienen *Rhizobium* o *Bradyrhizobium* deben mantenerse en el refrigerador a 4 °C. Nunca se deben exponer a los rayos directos del sol.

Al momento de la siembra

Se debe realizar la incorporación de los biofertilizantes a la semilla el mismo día de la siembra y bajo la sombra. Si es mucha la semilla por preparar, se puede hacer durante la noche anterior.

Evitar el contacto del biofertilizante con otros agroquímicos. Si la semilla está tratada con fungicidas, inocular primero la bacteria y después el hongo. Si tiene otro tipo de agroquímico, como insecticida, es conveniente duplicar la dosis de biofertilizante.

Si la siembra es mecanizada y la semilla se apelmaza y se atasca la sembradora, se debe extender la semilla en la sombra para quitar el exceso de

humedad y luego sembrar, o bien, agregar suelo seco a la semilla.

No exponer la semilla biofertilizada a los rayos directos del sol.

Es importante disponer de buena humedad en el suelo al momento de la siembra y estar dentro de la fecha recomendada, así como utilizar la variedad más rendidora en la región.

VI. Literatura citada

- Aguirre, M. J. F., M. Valdés y R. M. Silvester-Bradley. 1988. Simbiosis entre rizobios y cuatro leguminosas tropicales adaptadas en Chiapas, México. *Pasturas Tropicales*. Vol. 10 (3): 18-21.
- Aguirre-Medina, J. F. y M. Valdés. 1994. Efecto de la inoculación con *Rhizobium loti* sobre algunos componentes del rendimiento en *Leucaena leucocephala*. *Turrialba*. 42 (4). 7-10.
- Aguirre-Medina, J. F. y J. Kohashi-Shibata. 2002. Dinámica de la colonización micorrizica y su efecto sobre los componentes del rendimiento y el contenido de fósforo en frijol común. *Agricultura Técnica en México*. Vol 28 (1): 23-33.

- Aguirre-Medina, J. F., J. Kohashi-Shibata, C. Trejo-López, J. A. Acosta-Gallegos y J. Cadena-Iñiguez. 2005. La inoculación de *Phaseolus vulgaris* L. con tres microorganismos y su efecto en la tolerancia a la sequía. Agr. Téc. Méx. 31(2): 125-137.
- Aguirre-Medina, J. F. 2006. Biofertilizantes microbianos: Experiencias agronómicas del programa nacional del INIFAP en México. Libro Técnico Núm. 2. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigaciones Regionales Pacífico Sur. Campo Experimental Rosario Izapa. 201 p.
- Aguirre-Medina, J. F., A. Mendoza-López, J. Cadena-Iñiguez y Avendaño-Arrazate, C. 2007. La Biofertilización del cacao (*Theobroma cacao*) L. en vivero con (*Azospirillum brasilense*) Tarrand, Krieg et Döbereiner y (*Glomus intraradices*) Schenk et Smith. Interciencia. 32 (8): 1-6.
- Alexander, M. 1977. Introduction to soil microbiology. Second edition. John Wiley and Sons. U. S. A. p. 423-437.
- Andreeva, I. N., K. Mandkhan, T. V. Re'kina, E. N. Mishustin, and S. F. Izmailnov. 1992. Effect of *Azospirillum brasilense* on formation and nitrogen-fixing activity of bean and soybean nodules. Soviet Plant Physiology. 38(5): 646-651.

- Andreeva, I. N., T. V. Re'kina and S. F. Izmailnov. 1993. The involvement of indoleacetic acid in the stimulation of *Rhizobium*-legume symbiosis by *Azospirillum brasilense*. Russian J. Plant Physiol: 40(6): 780-784.
- Aparicio-Trejo, P.M y C. Arrese-Igor. 1993. Fijación de nitrógeno. In: Fisiología y Bioquímica Vegetal. Azcón-Bieto, J. Y M. Talón (eds). McGraw-Hill-Interamericana de España. Madrid. p.193-214.
- Arshad, M. and W.T. Frankenberger. 1991. Plant growth-regulating substances in the rhizosphere: Microbial production and functions. Advances in Agronomy. 62: 45-151.
- Arshad, M. and Frankenberger, W.T. 1998. Microbial production of plant hormones. Plant and soil 133: 1-8.
- Augé, R. M. and X. Duan. 1991. Mycorrhizal fungi and nonhydraulic root signals of soil drying. Plant physiol. 97: 821-824.
- Augé, R. M., X. Duan, R. C. Ebel and A. J. Stodola. 1994. Nonhydraulic signalling of soil drying in mycorrhizal maize. Planta. 193: 74-82.
- Augé, R. M., A. J. W. Stadola, J. E. Tims and M. Saxton. 2001. Moisture retention properties of a mycorrhizal soil. Plant and Soil. 230: 87-97.

- Arredondo, C. 1999. Parcelas de validación de maíz y frijol en los Valles centrales de Oaxaca. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigaciones Regionales del Pacífico Sur. Campo Experimental Valles Centrales de Oaxaca. 26 p.
- Balandreau, J. and R. Knowles. 1978. The rhizosphere. *In: Interactions between non-pathogenic soil microorganisms and plants*. Y. R. Dommergues and S.V. Krupa (eds). Elsevier. The Netherlands. p. 243-268.
- Barajas, C. R. 1999. Informe de labores sobre biofertilizantes en Puebla. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Pecuarias. Centro de Investigación Regional de Pacífico Centro. Dirección de Coordinación y Vinculación en Puebla. 25 p.
- Barea, J. M., and C. Azcón-Aguilar. 1983. Mycorrhiza and their significance on nodulating nitrogen fixing plants. *Advances in agronomy*. 36: 1-54.
- Bashan, Y., Holguin, G. y R. Ferrera-Cerrato. 1996. Interacciones entre plantas y microorganismos benéficos. I. *Azospirillum*. *Terra*. 14(2): 159-194.
- Bergensen, F. J. 1978. Physiology of legume symbiosis: Chapter 8B. *In: Interactions between non-pathogenic soil microorganisms and plants*. Y.R. Dommergues and S.V. Krupa (eds). Elsevier Scientific Publishing Company. Amsterdam The Netherlands. p. 305-326.

- Bethlenfalvay, G. S., M. S. Brown, K. L. Mihara and A. E. Stafford. 1978. *Glycine-Glomus-Rhizobium* symbiosis. V. Effect of mycorrhiza on nodule activity and transpiration in soybean under drought stress. *Plant physiology*. 85: 115-119.
- Bowen, G.D. and A.D. Rovira. 1999. The Rhizosphere and its management to improve plant growth. *Advances in agronomy*. 66: 1-102.
- Burdman, S., S. Sarig, J. Kigel and Y. Okon. 1996a. Field inoculation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and chick pea (*Cicer arietinum* L.) with *Azospirillum brasilense* strain Cd. *Symbiosis*. 21, 41-48.
- Burdman, S., H. Volpin, J. Kigel, Y. Kapulnik and Y. Okon. 1996b. Promotion of *nod* gene inducers and nodulation in common bean (*Phaseolus vulgaris*) roots inoculated with *Azospirillum brasilense* Cd. *Applied and Environmental Microbiology* 62, 3030-3033.
- Caballero-Mellado, J. and E. Martínez-Romero. 1999. Soil fertilization limits the genetic diversity of *Rhizobium* in bean nodules. *Symbiosis*, 26: 111-121.
- Caballero-Mellado, J. 1991. Experiencias de inoculación de maíz y trigo con *Azospirillum* a nivel intensivo y de investigación. En: Memorias del III congreso Nacional de la Fijación Biológica del Nitrógeno, efectuada del 2 al 5 de diciembre de 1991. Centro de Fijación Biológica del Nitrógeno. UNAM. Cuernavaca Morelos, Méx. p. 20-24.

- Camas, G. R. 1999. Programa de Validación de Biofertilizantes en Chiapas PV 1999 y Avances OI 99/2000. Informe anual PV 1999. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigaciones Regionales Pacífico Sur. Campo Experimental Centro de Chiapas. 10 p.
- Carrol, B. J. D. L. McNeill and P. M. Gresshoff. 1985. A supernodulation and nitrate-tolerant symbiotic (nts) soybean mutant. *Plant Physiology* 78, 646-650.
- Chatel, D. L. and C. A. Parker. 1973. Survival of field-grown rhizobia over the dry summer period in Western Australia. *Soil Biology and Biochemistry*. 5, 415-423.
- Crowley, D.E., Y. C. Wang, C. P. P. Reid and P. J. Szaniszlo. 1991. Mechanisms of iron acquisition from siderophores by microorganisms and plants. *Plant and soil* 130: 179-198.
- Cruz-Chávez, F. J. 2007. Transferencia de Tecnología en Biofertilizantes. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Pecuarias. Centro de Investigación Regional de Pacífico Sur. Campo Experimental Centro de Chiapas. 10 p.
- Cruzaley, S. R. 1999. Validación de biofertilizantes en cultivos básicos en el estado de Guerrero. Programa de biofertilización PV 1999 y Avances OI 99/2000. Informe anual PV 1999. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigaciones

- Regionales del Pacifico Sur. Campo Experimental Iguala. 3 p.
- Dart, P.J. 1977. Host-symbiont relationships in nodule development and nitrogen fixation. *In*; Biological Nitrogen Fixation in Farming Systems of the Tropics. A. Ayanaba and P.J. Dart (eds) John Wiley & Sons. London. p. 151-153.
- Davidson, R.L. 1978. Root systems. The forgotten component of pastures. *In*: Plant relations in pastures. J.R. Wilson (ed) CSIRO. Australia. p. 86-94.
- De Alba, R. 2000. Programa de Validación de Biofertilizantes en el CIRSE. Informe anual de labores PV 1999, OI 1999-2000. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Sureste. Campo Experimental Edzná. 10 pág.
- Díaz De León, G. 1999. Programa de validación de biofertilizantes. Informe resumen del Campo Experimental Celaya. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Centro. Campo Experimental Celaya. 15 p.
- Dommergues Y. R. 1978. Impact on soil management and plant growth. *In*: Interactions between non-pathogenic soil microorganisms and plants. Y.R. Dommergues and S.V. Krupa (eds). Elsevier. The Netherlands. p. 443-458.

- Döbereiner, J., A. Franco and I. Guzman. 1970. Estirpes de *Rhizobium* de excepcional eficiencia. *Pesq. Agropec. Bras.* 5, 155-162.
- Döbereiner, J. 1977. Present and Future opportunities to improve the nitrogen nutrition of crops through biological fixation. In: *Biological nitrogen fixation in farming systems of the tropics*. Ayanaba, A. y Dart, P. (eds) John Wiley and Sons. U.S.A. p. 3-12.
- Döbereiner, J., Urquiaga, S., Boddey, R.M. and Ahmad, N. 1995. Alternatives for nitrogen of crops in tropical agriculture. *Nitrogen economy in tropical soil. Fertilizer Research.* 42: 339-346.
- Durán, P. A. 2000. Validación de biofertilizantes en el cultivo de frijol de humedad residual. Informe de Avances y resultados del ciclo OI 1999-2000. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Golfo Centro. Campo Experimental Cotaxtla. 10 p.
- Durán, P. A. 2007. Transferencia de tecnología de biofertilizantes en los cultivos de maíz de temporal y frijol de humedad residual. Informe anual. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Golfo Centro. Campo Experimental Cotaxtla. 12 p.
- Estévez de Jensen, C., R. Meronuck and J. A. Percich. 2000. Efficacy of *Bacillus subtilis* and two *Rhizobium* strains for the management of bean

- root in Minnesota. Ann. Rep. Bean Improv. Coop. 43:33-34.
- Faber, B.A., R.J. Zasoski, D.W. Munns and K. Schackel. 1991. A method for measuring hyphal nutrient and water uptake in mycorrhizal plants. Canadian Journal of Botany. 69: 87-94.
- Font Quer, P. 1977. Diccionario de Botánica. 6a. reimpresión. Editorial Labor, S. A. Barcelona, España. 1244 p.
- Freire, J. J. R. 1975. Micorbiologia do solo. Departamento do solos. Faculdade de Agronomia de la Universidad Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil, 234 p.
- Freney, J.R. and A.H. Gibson. 1974. The nature of non protein nitrogen accumulation in *T. Subterraneum* root nodules. Soil Biology and Biochemistry. 6, 313-318.
- Gerdemann, J. W. 1968. Vesicular-Arbuscular mycorrhiza and Plant growth. Ann. Rev. Phytopath. 6: 397-418.
- Gerdemann, J. W. 1975. Vesicular arbuscular mycorrhizae. In: J. C. Torrey and D. T. Clarkson (eds) The Development and Function of Roots. Academy Press. London. p. 575-591.
- González, C. G., M. Montero y X. Ruiz. 1992. Densidad de cepas y eficiencia simbiótica de *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* en un suelo acrisol-órtico. In: XVI Reunión Latinoamericana de *Rhizobium* realizada en Santa Rosa

- Argentina del 8-13 de noviembre de 1992. p. 203.
- Graham, H. P. 1984. Plant factors affecting nodulation and symbiotic nitrogen fixation in legumes. *In*: M. Alexander (ed). Biological nitrogen fixation ecology technology and physiology. Plenum Press, New York. p. 75-95
- Grajeda-Cabrera.O. A., 1990. Cinética de la fijación de nitrógeno en frijol común *Phaseolus vulgaris* L. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Unidad Irapuato. 115 p.
- Grajeda-Cabrera, O. A. 2007. Transferencia de Tecnología en Biofertilizantes. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Centro. Campo Experimental Celaya. 12 pág.
- Gregory, P. J. 1994. Root growth and activity. *In*: K.J . Boote, J. M. Bennet, T. M. Sinclair, and G. M. Paulsen (eds). Physiological and determination of crop yield. Madison, Wisconsin, USA. p. 65-93.
- Guzmán, M., M. T. Castellanos y L. Suchini. 1990. Evaluación de la simbiosis entre cepas de *Rhizobium phaseoli* y dos variedades de frijol común bajo condiciones de invernadero en Chimaltenango Guatemala. Actas de un taller sobre la evaluación, selección y manejo agronómico realizado en el Centro Internacional

- de Agricultura Tropical (CIAT) del 30 de agosto al 5 de septiembre de 1987 en Cali, Colombia. Parte III. Documento de trabajo No. 64. p. 302-312.
- Hall, I. R. 1979. Soil pellets to introduce vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi into soil. *Soil Biol. Biochem.* 11: 85-86.
- Hardarson, G., F. A. Bliss, M. R. Cigales-Rivero, R. A. Henson, J. A. Kipe-Nolt, L. Longeri, A. Manrique, J. J. Peña-Cabriales, P. A. A. Pereira, C. A. Sanabria y S. M. Tsai. 1993. Genotypic variation in biological nitrogen fixation by common bean. *Plant and Soil.* 152: 59-70.
- Harley, J. L. and S. E. Smith. 1983. *Mycorrhizal Symbiosis.* Academic Press, London. p. 483.
- Havelka, V.D. and R.W.F. Hardy. 1976. Photosynthate as a major factor limiting nitrogen fixation by field grown legumes with emphasis on soybeans. *In: Nutman, P.S. (ed). Symbiotic nitrogen fixation in plants.* Cambridge University Press, Cambridge, U.K. p. 421-439.
- Irizar-Garza, M. B. G. 2000. Informe de labores del programa de biofertilizantes en el Valle de México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Centro. Campo Experimental Valle d México. 15 p.
- Irizar-Garza, M. B. G., P. Vargas-Vázquez, D. Garza-García, C. Tut y Couoh, I. Rojas-Martínez, A. Trujillo-Campos, R. García-Silva, D. Aguirre-

- Montoya, J. C. Martínez-González, S. Alvarado-Mendoza, O. Grajeda-Cabrera, J. Valero-Garza, y J. F. Aguirre-Medina. 2003. Respuesta de cultivos agrícolas a los biofertilizantes en la región central de México. *Agr. Téc. Méx.* 29(2): 213-225.
- Irizar, M. B. G. 2007. Proyecto de Validación de micorrizas. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Centro. Campo Experimental Valle de México. 12 p.
- Jiménez, Ch. J.A. 1999. Informe del programa de biofertilizantes en Tabasco. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Golfo Centro. Campo Experimental Huimanguillo. 16 p.
- Kapulnik, Y. and Y. Okon. 2002. Plant growth promotion by rhizosphere bacteria. *In*: Waisel, Y., A. Eshell and U. Kafafi (eds). *Plant roots. The hidden half.* Third edition revised and expanded. Marcel Dekker New York., p. 869-895.
- Khan, A. G. 1972. The effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal associations on growth of cereals and effect on maize growth. *New Phytologist.* 71 (4): 613-619.
- Kramer, P. J. 1983. *Water relations of plants.* Academic Press, Santa Clara, CA, USA. 489 p.
- Loredo O. C., S. Beltrán L. y A. Peña del Río. 2007. *Uso de biofertilizantes para la producción de maíz forrajero en condiciones de temporal.*

- crecimiento vegetal. Simposium de biofertilización. Río Bravo, Tamaulipas. P. 31-34.
- Okon, Y. and Y. Kapulnik. 1986. Development and function of *Azospirillum*-inoculated roots. *Plant and Soil*. 90, 3-16.
- Okon, Y. and R. Itzigsohn. 1995. The development of *Azospirillum* as a commercial inoculant for improving crop yields. *Biotechnology Advances* 13, 415-424.
- Pastrana- Aponte, L. 2000. Informe de biofertilizantes y brassinoesteroides. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigaciones Regionales del Golfo Centro. Campo Experimental Huimanguillo Tabasco., 18 p.
- Pérez, G. P. 2000. Evaluación de Biofertilizantes con la variedad negro jampa. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigaciones Regionales del Noreste. Campo Experimental Río Bravo Tamaulipas. 4 p.
- Pérez, C. J. R. 1999. Biofertilizantes. Informe del programa de biofertilizantes en Hidalgo. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigaciones Regionales del Centro. Pachuca, Hidalgo. 6 p.
- Plenchette, C. H. 1982. Les Endomycorrhiziens a vesicules et arbuscules (va): Un potentiel a exploiter en agriculture. *Phytoprotection* 63: 86-108.

- Remy, W., T. N. Taylor, H. Hass and Kerp. H. 1994. Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhiza. Proc. Natl. Acad. Sci., USA., Vol 91, p. 11841-11843.
- Read, D. 1998. Plants on the web. Nature. 396: 22-23.
- Saito, S.M.T y A.P. Ruschel. 1976. Capacidad competitiva e de sobrevivencia no solo de uma estirpe de *Rhizobium phaseoli* usada como inoculante. In: VIII. Reunión Latinoamericana de *Rhizobium* realizada en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) del 18-20 de octubre de 1976 en Cali Colombia. p. 26.
- Safir, G. R. 1980. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and crop productivity. In: The Biology of Crop Productivity. P. Carlson (Ed.) Academic Press, New York, USA. p. 231-249.
- Seifríz, W. 1938. The physiology of plants. John Wiley and Sons, Inc. New York, USA. p. 276-279.
- Selosse, M.A. and Le Tacon, F. 1998. The land flora: a phototroph-fungus partnership? Tree: 15-20.
- Schippers, B., Bakker, A.W. and Bakker, A.H. M. 1987. Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. Ann. Rev. Phytopathol. 25: 339-358.
- Schwenke, G.D., D.F. Herridge., R.D. Murison, W. Felton and H. Marcellos. 1997. Management of crop residues and nitrogen fertility for improved dryland cereal production can benefit soil organic fertility. In: Extending nitrogen fixation research to farmer s fields. Procc. Of a International

- Workshop on Managing Legume Nitrogen Fixation in the Cropping systems of Asia, 20-24 Aug 1996. ICRISAT, Asia Center. Rupela, O., Johansen, C and Herridge, D.F. (eds) Andhra Pradesh. India. p. 154-165.
- Sieverding, E. 1989. Ecology of VAM fungi in tropical agrosystems. *Agric. Ecosyst. Environ.* 29: 369 – 390.
- Solaiman, M. Z. and H. Hirata. 1995. Effects of Indigenous Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Rice Growth and N, P, K Nutrition under different water regimes. *Soil Sci. Plant Nutr.* 41(3):505-514.
- Sutton, C.J. 1973. Development of vesicular-arbuscular mycorrhizae in crop plant. *Canadian Journal of Botany* 51 (2): 2487-2493.
- Tilak, K.V.B.R. 1998. ICAR NEWS –A science and technology newsletter. 4(2): 19-20.
- Trappe, J. M. 1987. Phylogenetic and ecologic aspects of mycotrophy in the angiosperms from an evolutionary standpoint. *In: G. R. Safir (Ed.) Ecophysiology of VA Mycorrhizal Plants.* CRC Press. Boca Raton. p. 5-25.
- Trujillo, C. S. 1999. Informe de biofertilizantes en el estado de Morelos. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigaciones Regionales del Centro. Campo Experimental Zacatepec, Morelos. 5 p.
- Utkhede, R.S., C. A. Koch and J. G. Menzies. 1999. Rhizobacterial growth and yield promotion of

- cucumber plants inoculated with *Phytium aphanidermatum*. Can. J. Plant Pathol. 21: 265-271
- Uribe, L.L. y G. Hernández. 1990. Selección de cepas de *Rhizobium phaseoli* y su evaluación en fincas de agricultores en Costa Rica. *In*: La simbiosis leguminosa-rizobio: Actas de un taller sobre la evaluación, selección y manejo agronómico realizado en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) del 30 de agosto al 5 de septiembre de 1987 en Cali, Colombia. Parte III. Documento de trabajo No. 64. p. 273-279.
- Uribe, V. G. 1999. Parcelas de validación con biofertilizantes en el estado de Yucatán. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigaciones Regionales del Sureste. Campo Experimental Uxmal. 20 p.
- Vázquez, H. A., A. B. Vargas y V. O. López, G. 1999. simbiosis doble *Azospirillum*-micorriza arbuscular y uso de brassinoesteroides en maíz H-512 en un luvisol de la parte central de Veracruz. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigaciones Regionales del Golfo. Campo Experimental Cotaxtla. 7 p.
- Van Peer, R., G.J. Niemann, and B. Schippers. 1991. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of Fusarium wilt of a

- carnation by *Pseudomonas* sp. Strain WCS417r. *Phytopathology* 81: 728-734.
- Vest, G., D.F. Weber and C. Sloger. 1973. Soybean improvement production and uses.. *In*: B.E. Caldwell (ed.) *Agronomy Monograph* 16. American Society of Agronomy, Wisconsin. p. 353-390.
- Waisel, Y., A. Eshell and U. Kafkafi. 2002. *Plant roots. The hidden half. Third edition revised and expanded.* Marcel Dekker New York. 1120 p.
- Wani, S. P., O.P. Rupela and K.K. Lee. 1997. Soil mineral nitrogen concentration and its influence on biological nitrogen fixation of grain legumes. *In*: *Extending nitrogen fixation research to farmer s fields. Procc. Of a International Workshop on Managing Legume Nitrogen Fixation in the Cropping systems of Asia, 20-24 Aug 1996.* ICRISAT, Asia Center
- Wright, S.F. and A. Upadhyaya. 1998. A survey for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil.* 198: 97-107.

VII. Agradecimientos.

El programa de investigación, validación y producción de biofertilizantes microbianos del INIFAP, agradece a todos los investigadores, técnicos y funcionarios del sector, su participación en la evaluación y desarrollo de los biofertilizantes en México.