

INTERACCIÓN DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES Y UNA CEPA FOSFATO SOLUBILIZADORA EN *CANAVALIA ENSIFORMIS* (FABACEAE)

INTERACTION WITH ARBUSCULAR MYCORRHIZAL AND PHOSPHATE SOLUBILIZER FUNGI IN *CANAVALIA ENSIFORMIS* (FABACEAE)

✉ LEGNARA PADRÓN-RODRÍGUEZ¹, ✉ ROSA MARÍA ARIAS-MOTA^{2*}, ✉ ROSARIO MEDEL-ORTÍZ³,
✉ YADENEYRO DE LA CRUZ-ELIZONDO⁴

¹Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Veracruzana. Campus Xalapa, Ver. México

²Instituto Tecnológico Superior de Xalapa. Ver. México.

³Centro de Investigación en Micología Aplicada. Xalapa, Ver. México

⁴Facultad de Biología. Universidad Veracruzana. Campus Xalapa, Ver. México.

*Autor de correspondencia: rosa.arias@itsx.edu.mx

Resumen

Antecedentes: *Canavalia ensiformis* es una leguminosa forrajera de origen tropical ampliamente utilizada como abono verde. El uso de hongos micorrízicos y solubilizadores de fósforo es una alternativa agrónomicamente viable y sustentable aplicada en cultivos de importancia económica.

Hipótesis: La interacción de hongos micorrízicos arbusculares y solubilizadores de fósforo favorecerá la colonización micorrízica, la disponibilidad de fósforo y el crecimiento de las plantas de *C. ensiformis*.

Métodos: Este estudio se realizó de marzo 2018-agosto 2019 en un invernadero con la planta cobertera *C. ensiformis*, un inóculo micorrízico y *Penicillium brevicompactum*, todas las posibles combinaciones con tres repeticiones en tres ciclos. Se evaluó la altura, número de hojas y nódulos por planta. Se tomaron muestras de raíces y suelo para determinar colonización micorrízica y P soluble. Los datos fueron analizados mediante ANOVA Factorial y test de Tukey ($\alpha = 0.05$).

Resultados: En los tres ciclos, la micorrización fue significativamente mayor en las plantas inoculadas con la interacción HMA+HSF (Tukey < 0.05). Esta interacción favoreció un incremento de 3.07 mg/Kg de P soluble en el suelo. Los tratamientos de HSF y HMA+HSF incrementaron significativamente las variables de crecimiento de las plantas (altura y número de hojas) ($p < 0.05$). El número de nódulos osciló entre 46-76 y se detectó un efecto significativo del factor HMA ($p < 0.05$) y del HSF ($p < 0.05$).

Conclusiones: La aplicación de las interacciones de HMA y HSF aumentó la colonización micorrízica, la disponibilidad de fósforo en el suelo y el crecimiento de las plantas de *C. ensiformis*.

Palabras clave: Biofertilizantes, fósforo, microorganismos, nutrición.

Abstract

Background: *Canavalia ensiformis* is a forage legume of tropical origin widely used as green manure. The use of mycorrhizal fungi and phosphorus solubilizers is an agronomically viable and sustainable alternative applied in economic importance crops.

Hypothesis: The interaction of arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus solubilizers will favor mycorrhizal colonization, phosphorus availability and the growth of *C. ensiformis* plants.

Methods: It was carried out 2018 march to 2019 august in the greenhouse with the *C. ensiformis* cover plant, a mycorrhizal inoculum and *Penicillium brevicompactum*, all possible combinations with three repetitions for three cycles. Height, number of leaves and nodules per plant were measured. Root and soil samples were taken to determine mycorrhizal colonization and soluble P. Data were analyzed using Factorial ANOVA and Tukey test ($\alpha = 0.05$).

Results: In all three cycles, mycorrhization was significantly higher in the plants inoculated with AMF + PSF interaction (Tukey < 0.05). This interaction favored an increase of 3.07 mg/Kg of soluble P in the soil. PSF and AMF + PSF treatments increased plant growth variables (height and number of leaves) ($p < 0.05$). The number of nodules ranged from 46-76 and a significant effect of the AMF factor ($p < 0.05$) and PSF ($p < 0.05$) was detected.

Conclusions: The application of AMF and PSF interactions increased mycorrhizal colonization, the availability of phosphorus in the soil and the growth of *C. ensiformis* plants.

Keywords: Biofertilizers, microorganisms, nutrition, phosphorus.

Canavalia ensiformis (L.) DC es una leguminosa anual de origen tropical (Beyra-Matos *et al.* 2004), utilizada como productora de forraje principalmente por su alta eficiencia fotosintética y consecuente acumulación de biomasa en forma de forraje verde disponible (FVD), con alto valor proteico (Peters *et al.* 2003). Su utilización como cultivo de cobertura está tomando mayor importancia en una variedad de sistemas agrícolas, donde se aprovecha como abono verde durante temporadas de sequía. Los abonos verdes representan una alternativa de incremento y conservación de la fertilidad de los suelos (García *et al.* 2002). El valor del abonado verde consiste fundamentalmente en el aporte de nitrógeno de las leguminosas, que en simbiosis con bacterias del género *Rhizobium* y a través de la fijación biológica del nitrógeno (500 Kg N ha⁻¹) y posterior mineralización del elemento en el suelo reduce los requerimientos de fertilizantes nitrogenados de los cultivos (Oberson *et al.* 2013).

En el suelo existe una diversidad de interacciones reguladas por la presencia de microorganismos funcionales, como fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fosfatos, promotores del crecimiento vegetal, biocontroladores y especies patógenas, que compiten por espacio y por nutrientes (Reyes-Jaramillo 2011). Estas interrelaciones inciden en la interacción suelo-planta-microorganismos-ambiente y repercuten de forma directa, en el crecimiento y en el desarrollo de las especies vegetales.

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y hongos solubilizadores de fósforo (HSF) son microorganismos promotores del crecimiento vegetal conocidos como PGPM (Plant Growth-Promoting Microorganism), que dependen de factores bióticos y abióticos para expresar sus potenciales efectos beneficiosos; en la interacción de estos microorganismos, se pueden presentar efectos sinérgicos, que potencialicen los beneficios, efectos antagónicos o efectos neutros en el crecimiento y en el desarrollo de las plantas (Cano 2011). Los HMA facilitan la absorción del fósforo presente en el suelo, brindan protección frente al estrés abiótico, contra patógenos y mejoran la estructura del suelo (Li *et al.* 2006, Miransari *et al.* 2008). Los organismos solubilizadores de fósforo por otro lado, tienen la habilidad de transformar el P insoluble a soluble, al romper los enlaces que forma este elemento con iones metálicos (Fe, Ca y Al) (Restrepo-Correa *et al.* 2017).

Diversos estudios han evidenciado los efectos positivos de las co-inoculaciones de microorganismos solubilizadores de P y HMA en tomate (Velázquez *et al.* 2005), frijol (Zaidi & Khan 2006), trébol (Souchie *et al.* 2006), bambú (Babu & Reddy 2011), anacardo (Rodrigues-Cabral *et al.* 2012), chile (Castillo *et al.* 2013), aguacate (Serna 2013), frijol caupí (Ramírez-Gil *et al.* 2013), garbanzo (Saxena *et al.* 2015), lechuga (Velázquez *et al.* 2017); *Coffea arabica* (Perea-Rojas *et al.* 2019); jitomate (Arias *et al.* 2019). Sin

embargo, otros estudios han reportado efectos negativos (McAllister *et al.* 1995, Gryndler *et al.* 2002) o neutros (Edwards *et al.* 2010). A la fecha, no existen estudios que abordan el efecto de las co-inoculaciones de HMA y HSF en leguminosas. El presente estudio tiene por objetivo probar el efecto de las co-inoculaciones de HMA y HSF en plantas de *C. ensiformis*.

Materiales y métodos

El inóculo de HMA (Rizofermic), fue provisto por el Laboratorio de Organismos Benéficos de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Veracruzana. Este inóculo es un consorcio formado por 12 especies de HMA: *Acaulospora morrowiae*, *A. spinosa*, *A. scrobiculata*, *Gigaspora rosea*, *G. decipiens*, *Scutellospora pellucida*, *Glomus macrocarpum*, *G. aggregatum*, *Funneliformis mosseae*, *F. geosporus*, *Rhizophagus intraradices*, *Claroideoglomus etunicatum*.

Se empleó una cepa de hongo solubilizador de fosfato *Penicillium brevicompactum*, que se obtuvo del Laboratorio de Micromicetos del INECOL A. C. Este hongo fue aislado de suelo de cafetales del estado de Veracruz y fue seleccionada por su alta capacidad fosfato solubilizadora en estudios previos (Perea-Rojas 2013). La cepa del HSF se reactivó en medio de cultivo sólido Papa Dextrosa Agar (PDA), en placas de Petri de 90 × 110 mm y se incubó a 25 °C por 15 días en la oscuridad. Una vez activada se pasó a medio de cultivo Extracto de Malta Agar (EMA) para buscar una mayor esporulación. Transcurridos 15 días se obtuvo una suspensión de esporas que se llevó posteriormente a conteo en cámara de Neubauer bajo un microscopio compuesto (Nikon ECLIPSE 80i) para ajustarla a una concentración de 1 × 10⁸ UFC/mL, tal como lo propone (Souchie *et al.* 2010).

En cada ciclo se germinaron semillas de *C. ensiformis* en charolas plásticas con arena estéril durante 7 días. Las semillas de *C. ensiformis*, fueron proporcionadas por la empresa Leguminutres. Una vez germinadas las plántulas se trasladaron a macetas de 1,5 Kg con suelo estéril y tepezil (1:1 v/v). Al momento del trasplante se inocularon los HMA (10 gr/planta) directamente a la raíz. Luego de 10 días se inoculó el HSF a las raíces de las plantas a una concentración de 1 × 10⁸ UFC/mL (3 mL).

Posterior a la inoculación, las plantas permanecieron 30 días en el invernadero con riego manual cada tercer día, transcurrido el tiempo se cosecharon, pesaron y tomaron muestras de raíces. Se reincorporó la biomasa a las macetas y se dejaron 45 días manteniendo la humedad del sustrato para favorecer el proceso de mineralización. Esta metodología se repitió durante tres ciclos consecutivos; cada ciclo duró tres meses e incluyó la siembra, cosecha y el tiempo de descomposición de la biomasa; en total el ensayo duro 9 meses.

Evaluación de la colonización micorrízica. Para evaluar el porcentaje de micorrización, las raíces se tiñeron siguiendo la técnica de clareo y tinción de [Phillips & Hayman \(1970\)](#) y se estimó el porcentaje de colonización micorrízica, de acuerdo con el método de [Giovannetti & Mosse \(1980\)](#).

Determinación del fósforo soluble en el suelo. Una vez secas y tamizadas las muestras de suelo, se tomaron 2.5 g y se siguió la técnica de cuantificación de fósforo soluble de [Bray & Kurtz \(1945\)](#). Se midieron las reacciones colorimétricas en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 882 nm (Thermo Scientific GENESYS 10S UV-UVS).

Medición de variables de crecimiento (altura, número de hojas y número de nódulos). La altura de las plantas se midió con una regla métrica y se expresó en cm. Se realizó un conteo del número de hojas y número de nódulos por planta en el momento de la cosecha.

Diseño experimental y análisis estadístico. El ensayo se realizó bajo un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial 2×4 ; una planta cobertera: *C. ensiformis*; dos factores (tiempo; interacción entre HMA y HSF), y 4 tratamientos: 1) HMA; 2) HSF; 3) HMA + HSF; y 4) Control (sin hongos). Se realizaron tres repeticiones de cada tratamiento; el ensayo tuvo un tiempo de duración de 276 días. Dado que los datos cumplían con el supuesto de normalidad (Shapiro Wilk) y homogeneidad de varianza (Bartlett) se sometieron a un ANOVA Factorial ($\alpha = 0.05$; intervalo de confianza 95 %) y se les realizó una prueba post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$). Los análisis estadísticos se

realizaron con el programa STATISTICA versión 10 para Windows.

Resultados

Colonización micorrízica. El factor tiempo influyó de manera significativa sobre la colonización micorrízica (%) en los tres ciclos analizados (tiempo: ciclo 1, 2, 3) ($F = 144.3821$; $p < 0.05$); así mismo el efecto de la interacción de HMA y HSF influyó de manera significativa ($F = 59.5884$; $p < 0.05$). En relación con la colonización, se encontraron los siguientes rangos: 6.6-22.8 % en el primer ciclo, 52.3-89.1 % en el segundo y 64-85.7 % en el tercero. La micorrización en el segundo y tercer ciclo fue mayor con respecto al primero, mostrando diferencias significativas (Tukey < 0.05). Para los tres ciclos la micorrización fue significativamente mayor en las plantas inoculadas con el tratamiento HMA+HSF que en las inoculadas con el tratamiento de HMA (Tukey < 0.05) ([Figura 1](#)). El rango de colonización micorrízica en las plantas inoculadas con el tratamiento HMA osciló entre 6.6 % (primer ciclo) a 64 % (tercer ciclo) con el tratamiento HMA+HSF. La colonización micorrízica se detectó mediante la presencia de estructuras fúngicas tales como arbusculos y vesículas ([Figura 2](#)).

Fósforo soluble en el suelo. El factor tiempo mostró un efecto significativo sobre el contenido de fósforo soluble en el suelo ($F = 13.2947$; $p < 0.05$); el efecto de la interacción de HMA y HSF no influyó de manera significativa ($F = 0.7498$; $p = n.s$), pero sí influyeron significativamente el factor HMA ($F = 115.9084$; $p < 0.05$) y el factor HSF

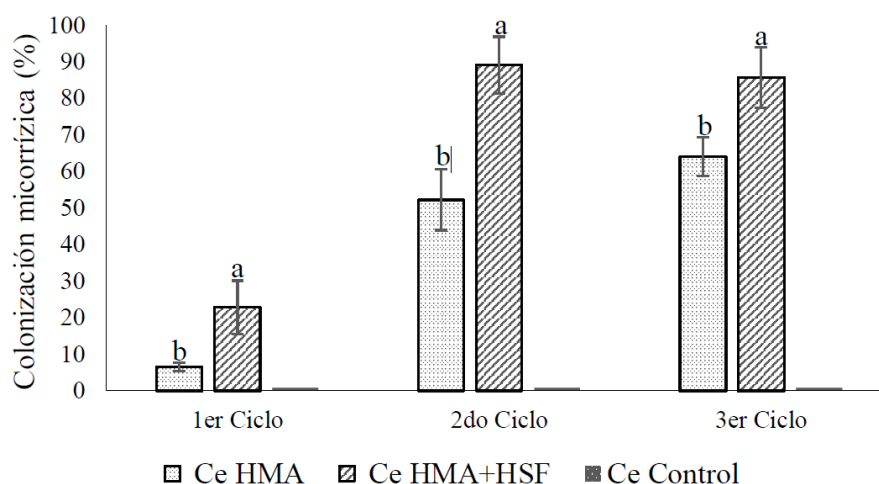


Figura 1. Colonización micorrízica (%) de las plantas de *Canavalia ensiformis* (Ce) inoculadas con los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), con hongos micorrízicos arbusculares y un hongo solubilizador de fósforo (HMA+HSF) y sin hongos (Control), en tres ciclos. Los datos corresponden al promedio de 3 repeticiones \pm desviación estándar. Letras idénticas entre las columnas indican que no existen diferencias significativas entre los tratamientos en cada ciclo (Tukey LSD, $p \leq 0.05$).

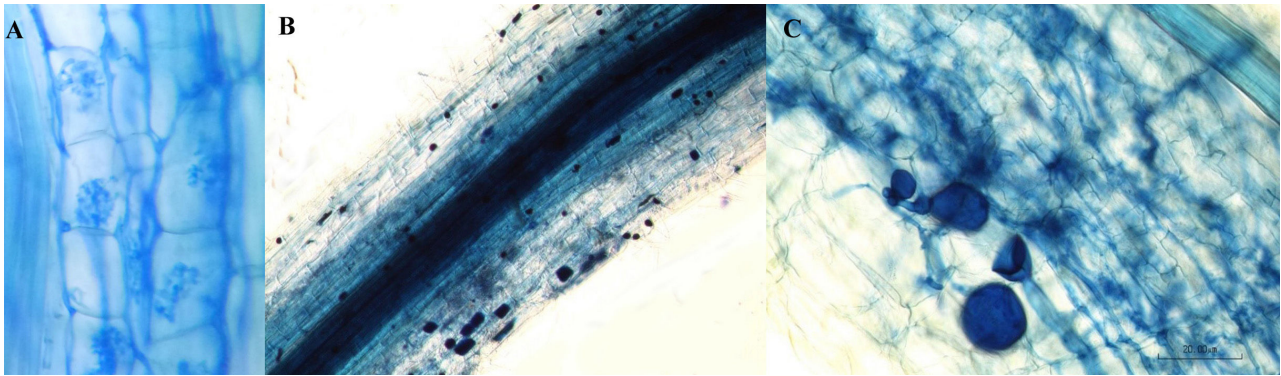


Figura 2. Estructuras fúngicas presentes en las raíces de *C. ensiformis*. A) arbusculos, B y C) vesículas.

($F = 135.5201$; $p < 0.05$). En el primer ciclo, no se detectaron diferencias significativas en el contenido de fósforo entre las plantas inoculadas con los tratamientos HMA, HSF, HMA+HSF (Tukey = n.s), sin embargo, los valores fueron significativamente mayores que en las plantas con el tratamiento Control (Tukey < 0.05). En el segundo y tercer ciclo las plantas inoculadas con el tratamiento HMA+HSF presentaron un mayor contenido de fósforo disponible (Tukey < 0.05) que con el tratamiento HMA, HSF y Control. En ambos ciclos, las diferencias entre las plantas inoculadas con los tratamientos HMA y HSF no fueron significativas (Tukey = n.s), sin embargo, sí lo fueron con respecto al Control (Tukey < 0.05) (Figura 3).

Variables de crecimiento de las plantas. Altura de las plantas: La altura de las plantas varió de manera significativa ante el factor tiempo ($F = 376.0556$; $p < 0.05$). Se detectó un efecto significativo de la interacción de HMA y HSF ($F = 210.8651$; $p < 0.05$); así mismo del factor HMA ($F = 112.3889$; $p < 0.05$) y el factor HSF ($F = 124.0079$; $p < 0.05$). En cada ciclo, se detectaron diferencias significativas entre las plantas inoculadas con los tratamientos HMA; HSF; HMA+HSF respecto al Control (Tukey < 0.05). El rango de altura osciló entre 15.7 cm (Control/primer ciclo) a 64 cm (HSF/segundo ciclo). En el primer y tercer ciclo las plantas con la mayor altura fueron las inoculadas con los tratamientos HMA y HMA+HSF sin existir diferencias significativas entre ellas (Tukey = n.s), pero sí con las plantas inoculadas con los tratamientos HSF y Control (Tukey < 0.05). En el segundo ciclo, la altura de las plantas inoculadas con el tratamiento HSF fue significativamente mayor que las inoculadas con los tratamientos HMA, HMA+HSF y el Control (Tukey < 0.05) (Figura 4).

Número de hojas.- Tanto el factor tiempo como la interacción de HMA y HSF influyeron de manera

significativa sobre el número de hojas en los tres ciclos analizados (tiempo: ciclo 1, 2, 3) (tiempo: $F = 26.8776$; $p < 0.05$; interacción: $F = 10.7959$; $p < 0.05$). Así mismo influyeron significativamente los factores HMA ($F = 4.5918$; $p < 0.05$) y HSF ($F = 10.7959$; $p < 0.05$). El número de hojas varió desde 6 (Control/primer ciclo) hasta 14 (HSF/segundo ciclo). En el primer ciclo no se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos (HMA; HSF; HMA+HSF; Control) (Tukey = n.s). En el segundo ciclo las plantas inoculadas con el tratamiento HSF mostraron mayor número de hojas que con el resto de los tratamientos (Tukey < 0.05). En el tercer ciclo, el número de hojas de las plantas inoculadas con los tratamientos HMA y HMA+HSF, fue significativamente mayor que con las inoculadas con los tratamientos HSF y Control (Tukey < 0.05) (Figura 5).

Número de nódulos: No se detectó un efecto significativo entre la interacción de HMA y HSF ($F = 0.6585$; $p = n.s$). Sin embargo, se detectó un efecto significativo del factor HMA ($F = 19.5203$; $p < 0.05$) y del factor HSF ($F = 139.5203$; $p < 0.05$). El rango del número de nódulos osciló entre 46 (HMA) y 76 (HSF). El número de nódulos fue significativamente mayor en las plantas inoculadas con los tratamientos HSF y HMA+HSF, respecto a las inoculadas con los tratamientos HMA y Control (Tukey < 0.05) (Figura 6).

Discusión

Existen pocos estudios sobre los beneficios que brinda la co-inoculación de HMA y HSF a las plantas (Velázquez *et al.* 2005, Zaidi & Khan 2006, Souchie *et al.* 2006, Babu & Reddy 2011, Rodrigues-Cabral *et al.* 2012, Castillo *et al.* 2013, Ramírez-Gil *et al.* 2013, Serna 2013, Saxena *et al.* 2015, Velázquez *et al.* 2017, Perea-Rojas *et al.* 2019). Específicamente para la planta cobertera *C. ensiformis*, no

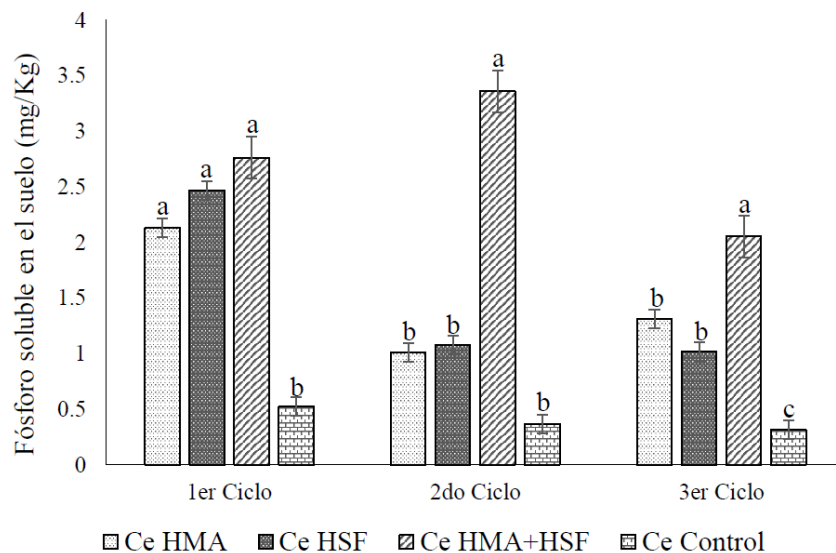


Figura 3. Fósforo soluble en el suelo (mg/Kg) de las plantas de *Canavalia ensiformis* (Ce) inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares (HMA), con un hongo solubilizador de fósforo (HSF), con hongos micorrízicos arbusculares y un hongo solubilizador de fósforo (HMA+HSF) y sin hongos (Control), en tres ciclos. Los datos corresponden al promedio de 3 repeticiones \pm error estándar. Letras idénticas entre las columnas indican que no existen diferencias significativas entre los tratamientos en cada ciclo (Tukey LSD, $p \leq 0.05$).

se encontraron trabajos relacionados con este tema de la coinoculación de HMA y HSF; de manera que este estudio representa el primer reporte a nivel mundial donde se evalúa el efecto de la interacción HMA y HSF sobre la colonización micorrízica, P soluble en el suelo, altura, número de hojas, número de nódulos en plantas de *C. ensiformis*.

De acuerdo a las categorías establecidas por [Kormanik & McGraw \(1982\)](#), donde se definen 5 grados de colonización micorrízica: nula (0 %), baja (1-25 %), moderada (26-50 %), alta (51-75 %) y muy alta (76-100 %), de acuerdo a esta escala en este trabajo la colonización micorrízica fue de baja a moderada para el primer ciclo y alta a muy alta en el segundo y tercer ciclo. Por lo que se puede inferir que la especie *C. ensiformis* es altamente micotrófica.

En comparación con otros estudios en los que se evaluó la colonización micorrízica en plantas de *C. ensiformis* inoculadas exclusivamente con HMA; los valores aquí expuestos resultaron superiores a los informados por [Martín *et al.* \(2007\)](#), quienes detectaron un 84.61 % de colonización micorrízica, [Martín *et al.* \(2009\)](#) 62.69-43.13 %, [Martín-Alonso *et al.* \(2012\)](#) 52.5-58.75 %, [Martín-Alonso *et al.* \(2013\)](#) 70 %, [García-Rubido *et al.* \(2017\)](#) 58.45 %. En otros trabajos de inoculaciones de HMA en otras especies de plantas coberteras señalan rangos inferiores ([Njeru *et al.* 2014](#) de 32.5-43.4 %) a los resultados aquí expuestos. Sin embargo, [Caldera *et al.* \(2013\)](#) presentaron valores de colonización similares en la especie *Vigna unguiculata* (82-85.25 %).

Durante el tiempo de evaluación del ensayo la colonización micorrízica fue mayor en las plantas inoculadas con la interacción de los hongos micorrízicos y el hongo solubilizador (HMA+HSF). Por lo que se puede aseverar que la cepa de hongo solubilizador *P. brevicompactum* utilizada en este trabajo incrementó un 36.8 % la colonización micorrízica en *C. ensiformis*, probablemente se estableció una interacción de sinergismo entre estos grupos de hongos que favoreció la micorrización. A la fecha existen pocos estudios de interacciones de HMA y HSF con efectos sinérgicos; [Velázquez *et al.* \(2017\)](#) en lechuga indicaron incrementos del 30 % con inoculación *Rhizophagus intraradices* y *Penicillium thomii*. [Velázquez *et al.* \(2005\)](#), en plantas de tomate informaron incrementos del 13 % al utilizar *Glomus mosseae* y *Aspergillus niger*. Resultados con efectos antagónicos fueron descritos en plantas de maíz y lechuga ([McAllister *et al.* 1995](#)), con efectos neutros en frijol caupí ([Ramírez-Gil *et al.* 2013](#)), en café ([Perea-Rojas *et al.* 2019](#)) y en jitomate ([Arias *et al.* 2019](#)). Cabe señalar que en estos últimos utilizaron el mismo consorcio de HMA y la cepa *P. brevicompactum*. La respuesta de las plantas a la inoculación depende de las compatibilidades funcionales en la fisiología y en la bioquímica de la interacción, entre los componentes microbianos; así arroja diferentes respuestas, dependiendo de la combinación de los microorganismos ([Vázquez *et al.* 2000](#)).

Los hongos micorrízicos arbusculares se caracterizan por la formación de arbusculos y con excepción de los géneros

Hongos micorrízicos y fósforo solubilizador en *Canavalia*

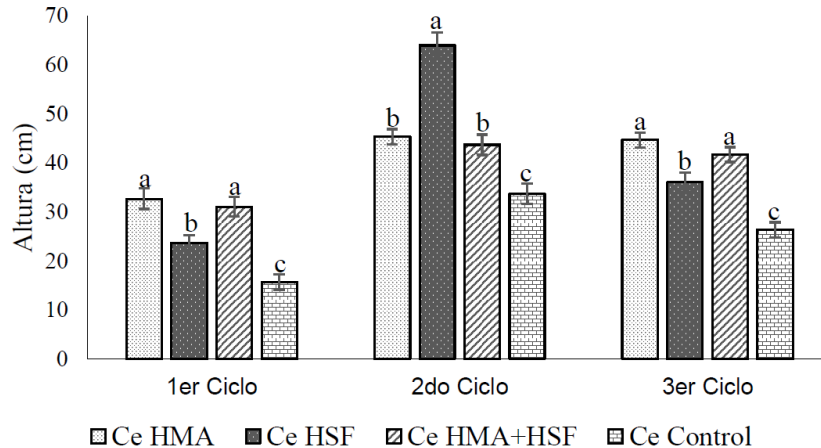


Figura 4. Altura (cm) de las plantas de *Canavalia ensiformis* (Ce) inoculadas con los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), con un hongo solubilizador de fósforo (HSF), con hongos micorrízicos arbusculares y un hongo solubilizador de fósforo (HMA+HSF) y sin hongos (Control), en tres ciclos. Los datos son el promedio de tres repeticiones. Los datos corresponden al promedio de 3 repeticiones \pm desviación estándar. Letras idénticas entre las columnas indican que no existen diferencias significativas entre los tratamientos en cada ciclo (Tukey LSD, $p \leq 0.05$).

Gigaspora y *Scutellospora* la formación de vesículas (Peterson *et al.* 2004). En los resultados de este trabajo, sólo en el primer ciclo fue evidente la presencia de arbusculos, mientras que en los tres ciclos se observaron vesículas. Esto corrobora lo planteado por Alarcón & Ferrera-Cerrato (2000), quienes mencionaron que a pesar de que los arbusculos son estructuras características de los HMA, estos no perduran en el tiempo y sólo se mantienen por unas 2 semanas. Después de este periodo, se observa la formación de un septo en la hifa del arbusculo y la estructura se colapsa, luego son degradados completamente y las células de la planta regresan a su fisiología normal (Camarena-Gutiérrez 2012). En cuanto a las vesículas, según Aguilera-Gómez *et al.* (2007), algunos géneros de estos hongos las forman, están compuestas principalmente por lípidos, siempre están presentes intercelularmente en la corteza de la raíz y son reservorios de nutrimentos para el hongo.

Para el establecimiento de este experimento se utilizó suelo deficiente en P soluble (0.28 mg/Kg); después de cuatro meses de inoculadas la plantas con los hongos, el contenido de P fue de 3.35 mg/Kg. Es decir, la interacción entre hongos micorrízicos y el solubilizador favoreció un incremento de 3.07 mg/Kg de P soluble en el suelo de las plantas. Por lo que los resultados son prometedores y la co-inoculación de estos dos grupos de hongos puede ser una alternativa para aumentar la disponibilidad de este elemento, que generalmente se encuentra atrapado por iones metálicos de Ca, Al y Fe.

Babu & Reddy (2011), presentaron incrementos similares (3.1 mg/Kg) en plantas de bambú inoculadas con *Aspergillus tubingensis* y un consorcio de HMA. El incremento de P soluble en el suelo en este trabajo fue

superior al obtenido por Perea-Rojas *et al.* (2019), en plantas de café (2.93 mg/Kg) con la inoculación del mismo consorcio de HMA y la misma cepa de *P. brevicompactum*, sin embargo, en ese estudio con la interacción de los HSF hubo un incremento de 4.9 mg/Kg. De manera similar a la colonización micorrízica, en esta variable existe una respuesta diferencial de las especies de plantas ante las interacciones de los microorganismos (Vázquez *et al.* 2000).

El beneficio que ofrece el uso del HSF solo y en interacción con HMA fue notorio en los resultados obtenidos para las variables de crecimiento de las plantas de *C. ensiformis* (altura y número de hojas). Debido a que no existen antecedentes de co-inoculaciones de HMA y HSF en *C. ensiformis*, sólo se pueden comparar con estudios de co-inoculaciones en otras especies de leguminosas. Jagandi *et al.* (2017), en plantas de chícharo inoculadas con una bacteria solubilizadora de fósforo (*Bacillus polymyxa*) y un HMA (*Rhizophagus fasciculatus*) indicaron incrementos en la altura de 33.4 cm. Ramírez-Gil *et al.* (2013), en plantas de frijol caupí inoculadas con un HSF (*Mortierella* sp.) y un HMA (*Glomus fasciculatum*) presentaron en sus resultados un aumento de 14 cm en la altura. En este trabajo se obtuvieron incrementos de altura de 29 cm en las plantas co-inoculadas con la interacción de HMA y HSF, además de 48.3 cm en las inoculadas con el hongo fósforo-solubilizador. Estos resultados son superiores a los de los estudios anteriormente referidos.

Existen estudios que evidencian que *C. ensiformis* tiene una alta capacidad para fijar nitrógeno atmosférico en asociación simbiótica con las bacterias de los géneros *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* (Quiroga-Madrigal *et al.* 2006). En este trabajo realizado a nivel de invernadero, la

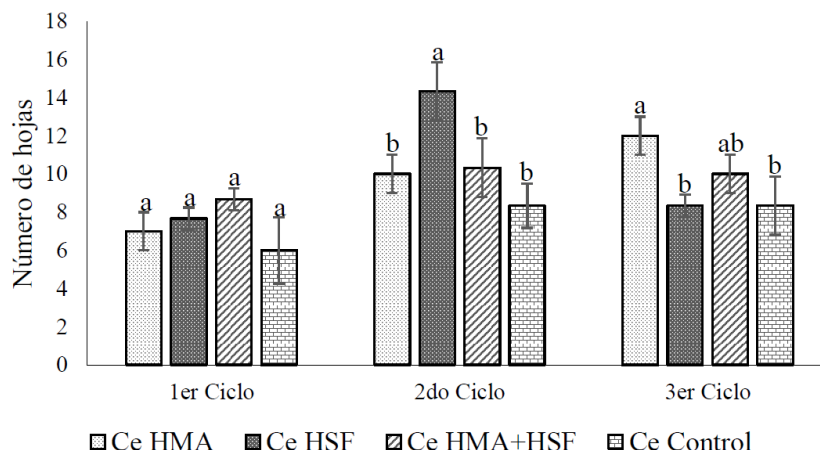


Figura 5. Número de hojas de las plantas de *Canavalia ensiformis* (Ce) inoculadas con los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), con un hongo solubilizador de fósforo (HSF), con hongos micorrízicos arbusculares y un hongo solubilizador de fósforo (HMA+HSF) y sin hongos (Control), en tres ciclos. Los datos corresponden al promedio de 3 repeticiones \pm desviación estándar. Letras idénticas entre las columnas indican que no existen diferencias significativas entre los tratamientos en cada ciclo (Tukey LSD, $p \leq 0.05$).

formación de nódulos se vio favorecida por la presencia de HSF (76/planta) y de la interacción de HMA y HSF (69/planta). Pommeresche & Hansen (2017), plantean que independientemente de la especie de leguminosa, si se encuentran aproximadamente 15 nódulos las bacterias fijadoras de nitrógeno están funcionando bien, si la cantidad de nódulos excede 100 por planta la nodulación es satisfactoria. Por lo que se puede inferir que en este estudio la nodulación tuvo un nivel satisfactorio; es probable que el alto contenido de P solubilizado por el hongo solubilizador favoreció la formación de nódulos. Pommeresche & Hansen (2017), afirman que los factores que obstaculizan la fotosíntesis en plantas, como el estrés hídrico y la falta de otros nutrientes, también reducirá la fijación biológica de nitrógeno.

En el suelo los microorganismos (bacterias, hongos y otros) establecen interacciones, lo que es esencial para garantizar los ciclos de los nutrientes y los procesos de descomposición de la materia orgánica en cualquier ecosistema terrestre debido a los procesos biológicos como la oxidación, la reducción y la mineralización (Vandenkoornhuysen *et al.* 2015). Tales interacciones han demostrado su contribución al crecimiento de las plantas y a la calidad de los suelos; por lo tanto, constituyen aspectos críticos que deberán ser considerados en el desarrollo de una agricultura sostenible y buen funcionamiento del ecosistema (Pedraza *et al.* 2010).

El uso de coberteras como *C. ensiformis* inoculada con HMA y un HSF, dado que es una especie altamente micotrófica y con un alto grado de especificidad con las

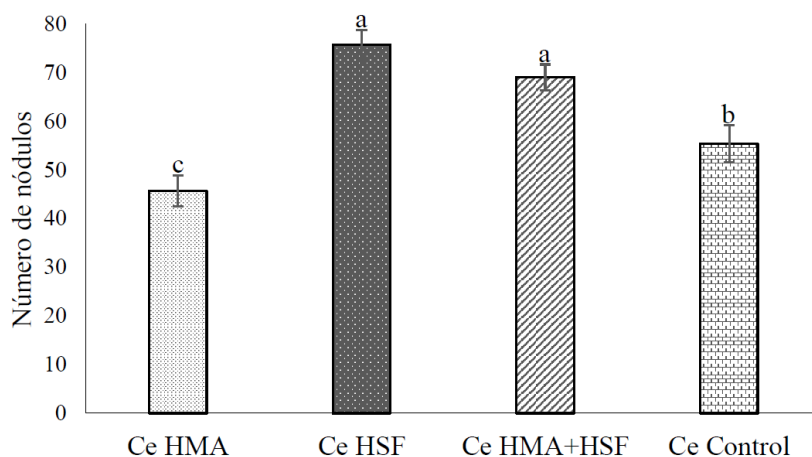


Figura 6. Número de nódulos de las plantas de *Canavalia ensiformis* (Ce) inoculadas con los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), con un hongo solubilizador de fósforo (HSF), con hongos micorrízicos arbusculares y un hongo solubilizador de fósforo (HMA+HSF) y sin hongos (Control), en tres ciclos. Los datos corresponden al promedio de 3 repeticiones \pm la desviación estándar. Letras idénticas entre las columnas indican que no existen diferencias significativas entre los tratamientos en cada ciclo (Tukey LSD, $p \leq 0.05$).

bacterias fijadoras de nitrógeno simbióticas tiene gran potencial para ser utilizada en agricultura actual, pues conlleva al mejoramiento de los suelos en cuanto al contenido nutricional aportando nitrógeno al suelo y cultivos acompañantes a través de la liberación directa de nitrógeno amoniacal, la senescencia de los nódulos y la descomposición de la planta al finalizar su ciclo de vida (Dubach & Ruselle, 1994). Se recomienda continuar estudiando el efecto de la interacción de estos grupos de hongos en esta especie y en otras leguminosas, que sean utilizadas como abonos verdes.

Agradecimientos

La primera autora agradece a CONACyT por la beca proporcionada para realizar la maestría en Ciencias Agropecuarias en la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Veracruzana. A Dora Trejo Aguilar del laboratorio de Organismos Benéficos de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Veracruzana por proporcionar el inóculo micorrízico Rizofermic y prestar el invernadero, a Wendy Sangabriel Conde por su asesoría, a Yajaira Baeza, Alejandro Quirino y Sandra Lizveth Enríquez por su apoyo en el procesamiento de las muestras de esta investigación.

Literatura citada

- Aguilera-Gómez LI, Olalde-Portugal V, Arriaga MR, Contreras-Alonso R. 2007. Micorrizas arbusculares. *Ciencia Ergo Sum* **14**: 300-306.
- Alarcón A, Ferrera-Cerrato R. 2000. *Ecología, fisiología y biotecnología de la micorriza arbuscular*. México, DF: Mundi-Prensa: Colegio de Postgraduados. ISBN 10: 968746223X; ISBN 13: 9789687462233
- Arias RM, Romero AJ, Bañuelos J, De La Cruz Y. 2019. Inoculación de hongos solubilizadores de fósforo y micorrizas arbusculares en plantas de jitomate. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* **10**: 1747-1755. DOI: <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i8.1558>
- Babu A, Reddy M. 2011. Dual inoculation of arbuscular mycorrhizal and phosphate solubilizing fungi contributes in sustainable maintenance of plant health in fly ash ponds. *Water Air & Soil Pollution* **219**: 3-10. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11270-010-0679-3>
- Beyra-Matos A, Reyes-Artiles G, Hernández-Valdés L, Herrera-Oliver P. 2004. Revisión Taxonómica del género Canavalia DC. (Leguminosae-Papilionoideae) en Cuba. *Revista Academia Colombiana de Ciencias Exactas* **28**: 157-175
- Bray RH, Kurtz LT. 1945. Determination of Total Organic and Available Forms of Phosphorus in Soils. *Soil Science* **59**: 39-45. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/00010694-194501000-00006>
- Caldera E, Acosta K, Garcés G, Petit B, Gutiérrez W, Pérez C. 2013. Respuesta del cultivo frijol (*Vigna unguiculata* L. Walp) variedad Catatumbo a la inoculación con micorrizas nativas y comerciales bajo condiciones controladas. *Redieluz* **3**: 157-164.
- Camarena-Gutiérrez G. 2012. Interacción planta-hongos micorrízicos arbusculares. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* **18**: 409-421. DOI: <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2011.11.093>
- Cano MA. 2011. Interacción de microorganismos benéficos en plantas: Micorrizas, *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* spp. Una revisión. *UDCA Actualidad y Divulgación Científica* **14**: 15-31.
- Castillo C, Morales A, Rubio R, Barea JM, Borie F. 2013. Interactions between native arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate solubilizing fungi and their effect to improve plant development and fruit production by *Capsicum annum* L. *African Journal of Microbiology Research* **7**: 3331-3340. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJMR2012.2363>
- Dubach M, Russelle MP. 1994. Forage legume roots and nodules and their role in nitrogen transfer. *Agronomy Journal* **86**: 259-266. DOI: <https://doi.org/10.2134/agronj1994.00021962008600020010x>
- Edwards AC, Walker RL, Maskell P, Watson CA, Rees RM, Stockdale EA, Knox OG. 2010. Improving Bioavailability of Phosphate Rock for Organic Farming. In: Lichtfouse E, ed. *Genetic Engineering, Biofertilisation, Soil Quality and Organic Farming*. Francia: Sustainable Agriculture Reviews. pp. 99-117. ISBN: 978-90-481-8740-9
- García M, Álvarez M, Treto E. 2002. Estudio comparativo de diferentes especies de abonos verdes y su influencia en el cultivo del maíz. *Cultivos Tropicales* **23**: 19-30.
- García-Rubido M, Rivera-Espinosa R, Cruz-Hernandez Y, Acosta-Aguilar Y, Cabrera JR. 2017. Respuesta de *Canavalia ensiformis* (L.) a la inoculación con diferentes cepas de hongo micorrízico arbuscular en un suelo Farl. *Cultivos Tropicales* **3**: 7-12.
- Giovannetti M, Mosse B. 1980. An evaluation of Techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist* **84**: 489-500. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x>
- Gryndler M, Vosátka M, Hršelová H, Catská V, Chvátalová I, Jansa J. 2002. Effect of dual inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria on growth and mineral nutrition of strawberry. *Journal of Plant Nutrition* **25**: 1341-1358. DOI: <https://doi.org/10.1081/PLN-120004393>

- Jangandi S, Negalur CB, Narayan, Lakshman HC. 2017. Synergistic effect between phosphate solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on growth and p uptake in *Cajanus cajana* L. (*Pigeon pea*). *International Journal of Bioassays* **6.01**: 5211-5213. DOI: <http://dx.doi.org/10.21746/ijbio.2017.01.005>
- Kormanik PP, McGraw AC. 1982. Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots. In: Schenck NC, ed. *Methods and Principles of Mycorrhizal Research*. Minnesota: American Phytopathological Society. pp. 37-45. ISBN-10: 0890540462; ISBN-13: 978-0890540466
- Li HY, Yang GD, Shu HR, Yang YT, Ye BX, Nishida I, Zheng CC. 2006. Colonization by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus versiforme* induces a defense response against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in the grapevine (*Vitis amurensis* Rupr.), which includes transcriptional activation of the class III chitinase gene VCH3. *Plant Cell Physiology* **47**: 154-163. DOI: <https://doi.org/10.1093/pcp/pci231>
- Martín GM, Costa-Rouws JR, Urquiaga S, Rivera RA. 2007. Rotación del abono verde *Canavalia ensiformis* con maíz y micorrizas arbusculares en un suelo nitroso ródico eútrico de Cuba. *Agronomía Tropical* **57**: 313-321.
- Martín GM, Rivera R, Arias L, Rentería M. 2009. Efecto de la *Canavalia ensiformis* y micorrizas arbusculares en el cultivo del maíz. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* **43**: 191-199.
- Martín-Alonso GM, Rivera-Espinosa R, Arias-Pérez L, Pérez-Díaz A. 2012. Respuesta de la *Canavalia ensiformis* A la inoculación micorrizica con *Glomus cubense* (CEPA INCAM-4), su efecto de permanencia en el cultivo del maíz. *Cultivos Tropicales* **33**: 20-28.
- Martín-Alonso GM, Rivera-Espinosa R, Pérez-Díaz A. 2013. Efecto de canavalia, inoculación micorrizica y dosis de fertilizante nitrogenado en el cultivo del maíz. *Cultivos Tropicales* **34**: 60-67.
- McAllister CB, García-Romera I, Martín J, Godeas A, Ocampo JA. 1995. Interaction between *Aspergillus niger* van Tiegh. and *Glomus mosseae*. (Nicol. & Gerd.) Gerd. & Trappe. *New Phytologist* **129**: 309-316. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1995.tb04301.x>
- Miransari M, Bahrami HA, Rejali F, Malakouti MJ. 2008. Using arbuscular mycorrhiza to alleviate the stress of soil compaction on wheat (*Triticum aestivum* L.) growth. *Soil biology and biochemistry* **40**: 1197-1206. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.12.014>
- Njeru E, Avio L, Sbrana C, Turrini A, Bocci G, Bärberi P, Giovannetti M. 2014. First evidence for a major cover crop effect on arbuscular mycorrhizal fungi and organic maize growth. *Agronomy Sustainable Development* **34**: 841-848. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13593-013-0197-y>
- Oberson A, Frossard E, Bühlmann C, Mayer J, Mäder P, Lüscher A. 2013. Nitrogen fixation and transfer in grass-clover leys under organic and conventional cropping systems. *Plant and Soil* **371**: 237-255. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11104-013-1666-4>
- Pedraza RO, Teixeira KRS, Fernández-Scavino A, García-de Salamone I, Baca BE, Azcón R, Baldani VLD, Bonilla R. 2010. Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas y la calidad de los suelos. Revisión. *Ciencia y Tecnología Agorpecuaria* **11**: 155-164. DOI: https://doi.org/10.21930/rcta.vol11_num_2_art:206
- Perea-Rojas YC. 2013. *Estudio preliminar del potencial solubilizador de fosfato tricálcico por micromicetos saprobios de suelos del Estado de Veracruz*. BSc. Thesis. Universidad Veracruzana, México.
- Perea-Rojas YC, Arias RM, Medel-Ortiz R, Trejo-Aguilar D, Heredia G, Rodríguez-Yon Y. 2019. Effects of native arbuscular mycorrhizal and phosphate-solubilizing fungi on coffee plants. *Agroforestry Systems* **93**: 961-972. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10457-018-0190-1>
- Peters M, Franco LO, Schmidt A, Hincapié B. 2003. *Especies forrajeras multipropósito opciones para productores del Trópico Americano*. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).
- Peterson RL, Massicote HB, Melville LH. 2004. *Mycorrhizas: Anatomy and cell Biology*. Ottawa: NRC Research Press. ISBN-13: 978-0851999012
- Phillips JM, Hayman DS. 1970. Improved Procedures for Clearing Roots and Staining Parasitic Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi for Rapid Assessment of Infection. *Transactions of the British Mycological Society* **55**: 158-161. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1536\(70\)80110-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3)
- Pommeresche R, Hansen S. 2017. Examen de la actividad de los nódulos en raíces de leguminosas. Noruega: FertilCrop Documento técnico.
- Quiroga-Madrigal RR, Ponce-Díaz P, Pinto-Ruiz R, Bran RAA, Velasco-Zebadúa ME, Zuart-Macías JL, Camas-Gómez R, Soto-Pinto ML, León-Martínez NS. 2006. *La asociación de cultivos maíz-canavalia: ventajas agroecológicas y económicas*. México: Fundación PRODUCE Chiapas. ISBN 970-9825-02-X
- Ramírez-Gil JG, Osorno-Bedoya L, Osorio-Vega NW, Morales-Osorio JG. 2013. Alternativas Microbiológicas para Mejorar el Crecimiento del Cauquí. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín* **66**: 7035-7044.
- Restrepo-Correa SP, Pineda-Meneses EC, Ríos-Osorio LA. 2017. Mecanismos de acción de hongos y bacterias empleados como biofertilizantes en suelos agrícolas: una

- revisión sistemática. *Ciencia Tecnología Agropecuaria* **18**: 335-351. DOI: http://dx.doi.org/10.21930/rcta.vol18_num2_art:635
- Reyes-Jaramillo I. 2011. La micorriza arbuscular (MA) centro de la rizósfera: comunidad dinámica del suelo. *Contactos* **81**: 17-23.
- Rodrigues-Cabral JS, Cristina-de Assis K, Guimarães-Silva F, Luiz-Souchie E, Carbone-Carneiro MA. 2012. Plántulas de anacardo del cerrado brasileño inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares y microorganismos solubilizadores de fosfato. *Agrociencia* **46**: 809-821.
- Saxena J, Saini A, Ravi I, Chandra S, Garg V. 2015. Consortium of Phosphate-solubilizing Bacteria and Fungi for Promotion of Growth and Yield of Chickpea (*Cicer arietinum*). *Journal of Crop Improvement* **29**: 353-369. DOI: <https://doi.org/10.1080/15427528.2015.1027979>
- Serna GLS. 2013. *Efecto de la inoculación conjunta con hongos micorrízicos y microorganismos solubilizadores de fósforo en plantas de aguacate*. PhD. Thesis. Universidad Nacional de Colombia.
- Souchie EL, Saggin-Júnior OJ, Silva EMR, Campello EFC, Azcón R, Barea JM. 2006. Communities of P-solubilizing bacteria, fungi and arbuscular mycorrhizal fungi in grass pasture and secondary forest of Paraty, RJ-Brazil. *Anais Academia Brasileira de Ciências* **78**: 1-11. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0001-37652006000100016>
- Souchie EL, Azcón R, Barea JM, Silva EMR, Saggin-Júnior OJ. 2010. Enhancement of clover growth by inoculation of P-solubilizing fungi and arbuscular mycorrhizal fungi. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* **82**: 771-777. DOI: <https://doi.org/10.1590/s0001-37652010000300023>
- Vandenkoornhuysse P, Quaiser A, Duhamel M, Le Van A, Dufresne A. 2015. The importance of the microbiome of the plant holobiont. *New Phytologist* **206**: 1196-206. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.13312>
- Vázquez MM, César S, Azcón R, Barea JM. 2000. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and other microbial inoculants (*Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*) and their effects on microbial population and enzyme activities in the rhizosphere of maize plants. *Applied Soil Ecology* **15**: 261-272. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(00\)00075-5](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(00)00075-5)
- Velázquez MS, Eliades L, Irrazabal G, Saparrat M, Cabello M. 2005. Micobización con *Glomus mosseae* y *Aspergillus niger* en plantas de *Lycopersicon esculentum*. *Journal of Agricultural Technology* **1**: 315-326.
- Velázquez MS, Cabello MN, Eliades LA, Russo ML, Allegrucci N, Schalamuk S. 2017. Combinación de hongos movilizados y solubilizadores de fósforo con rocas fosfóricas y materiales volcánicos para la promoción del crecimiento de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.). *Revista Argentina de Microbiología* **49**: 347-355. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ram.2016.07.005>
- Zaidi A, Khan MS. 2006. Co-inoculation effects of phosphate solubilizing microorganisms and *Glomus fasciculatum* on green gram-*Bradyrhizobium*. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* **30**: 223-230.

Editor de sección: Pablo Cuevas Reyes

Contribución de los autores: LPR, RMAM diseñaron el estudio, realizaron las inoculaciones, medición de variables, análisis estadísticos, interpretación de los resultados y escribieron el artículo. RMO y YCE contribuyeron a la interpretación de los resultados, la revisión y aprobación del manuscrito final.