# TERRA LATINOAMERICANA



# Inoculantes Experimentales y Selección de Microorganismos Nativos Eficientes en el Frijol "Negro Delgado" Experimental Inoculants and Selection of Efficient Native Microorganisms in Slender Black Beans

Eric Guillermo Echeverría-Pérez<sup>1</sup>, Ernesto Castañeda-Hidalgo<sup>1‡</sup>, Celerino Robles<sup>2</sup>, Gisela Margarita Santiago-Martínez<sup>1</sup>, Salvador Lozano-Trejo<sup>1</sup>, Gerardo Rodriguez-Ortíz<sup>1</sup> y Verónica Martinez-Gallegos<sup>2</sup>

### **RESUMEN**

El uso de biofertilizantes elaborados con microorganismos nativos del suelo, ha demostrado efectividad en la producción agrícola similares a las obtenidas con fertilización mineral. El objetivo de la investigación fue evaluar la efectividad de diferentes inóculos experimentales a base de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) y bacterias nativas fijadoras de nitrógeno, en el frijol "negro delgado" en invernadero. El experimento se estableció en abril de 2023 con material biológico extraído de suelos de riego y temporal destinados al cultivo de frijol "negro delgado" en Santa Cruz Lachixolana, Santo Domingo Tlaltinango y Santiago Suchilquitongo, Oaxaca. La evaluación se inició ocho días después de la germinación, durante ocho semanas. Para la evaluación de la efectividad de HMA, las variables de estudio fueron: índice RAS (relación biomasa seca aérea (g)/biomasa seca de raíz (g)), tasa relativa de crecimiento en altura (TRCA, cm semana<sup>-1</sup>), tasa relativa de crecimiento en diámetro (TRCD, mm semana<sup>-1</sup>), área foliar (AF, cm<sup>2</sup>) y colonización micorrícica (MIC, %). Para la evaluación de la efectividad de rizobios se agregó la variable nódulos por planta (NOD, número). Los datos se analizaron en el programa SAS versión 9.4°, mediante un análisis de varianza, pruebas de homogeneidad de Bartlett, separación de medias con prueba Tukey ( $P \le 0.05$ ). Las variables evaluadas en los inóculos de HMA registraron diferencias estadísticas altamente significativas entre tratamientos ( $P \le 0.01$ ), los inóculos de rizobios evaluados, mostraron diferencias altamente significativas ( $P \le 0.01$ ) para las variables NOD y AF. El empleo de inóculos elaborados con HMA nativos promueven el incremento de TRCA, TRCD, AF y MIC en 43, 29, 66 y 60%, respectivamente, con base al tratamiento testigo. El uso de inóculos de rizobios empleados como biofertilizantes incrementaron los valores de NOD de 7 a 43 nódulos/planta y de AF en 82%, ambos con respecto al tratamiento testigo.

Palabras clave: biofertilizantes, hongos micorrícicos, Phaseolus vulgaris, rizobios.

# **SUMMARY**

The use of biofertilizers made with native soil microorganisms has shown an effectiveness in agricultural production similar to that obtained with mineral fertilization. The objective of our research was to evaluate the effectiveness of different experimental inocula based on arbuscular mycorrhizal fungi (HMA) and native nitrogen-fixing bacteria on slender black beans in a greenhouse. The experiment was established in April 2023 with biological material extracted from irrigated and rainfed soils intended for the cultivation of slender black beans in Santa



# Cita recomendada:

Echeverría-Pérez, E. G., Castañeda-Hidalgo, E., Robles, C., Santiago-Martínez, G. M., Lozano-Trejo, S., Rodriguez-Ortíz, G., & Martinez-Gallegos, V. (2025). Inoculantes Experimentales y Selección de Microorganismos Nativos Eficientes en el Frijol "Negro Delgado". *Terra Latinoamericana*, 43, 1-13. e2072. https://doi.org/10.28940/terra.v43i.2072

Recibido: 27 de agosto de 2024. Aceptado: 8 de marzo de 2025. Artículo. Volumen 43. Junio de 2025.

Editor de Sección: Dra. María Cristina Nally

Editor Técnico: Dra. Elizabeth Hernández Acosta



**Copyright:** © 2025 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY NC ND) License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca, Programa de Doctorado en Ciencias en Productividad de Agroecosistemas. Carretera al ITAO s/n, Ex hacienda de Nazareno. 71233 Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México; (E.G.E.P.), (E.C.H.), (G.M.S.M.), (S.L.T.), (G.R.O.).

<sup>&</sup>lt;sup>‡</sup> Autor para correspondencia: casta\_h50@hotmail.com

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Instituto Politécnico Nacional, CIDIIR-Unidad Oaxaca. Av. Hornos No. 1003, Colonia Noche Buena. 71230 Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México; (C.R.), (V.M.G.).

Cruz Lachixolana, Santo Domingo Tlaltinango and Santiago Suchilquitongo, Oaxaca. The evaluation began eight days after germination, for eight weeks. For the evaluation of HMA effectiveness, the study variables were: RAS index (ratio dry aerial biomass (g)/dry root biomass (g)), relative height growth rate (TRCA, cm/week), rate relative growth in diameter (TRCD, mm/week), leaf area (AF, cm<sup>2</sup>) and mycorrhizal colonization (MIC, %). To evaluate the effectiveness of rhizobia, the variable nodules per plant (NOD, number) was added. The data were analyzed in the SAS version 9.4° software, using an analysis of variance, Bartlett's homogeneity tests, and separation of means with Tukey test ( $P \le 0.05$ ). The variables evaluated in the HMA inocula recorded highly significant statistical differences between treatments ( $P \le 0.01$ ), the rhizobia inocula evaluated showed highly significant differences ( $P \le 0.01$ ) for the NOD and AF variables. The use of inocula made with native HMA promotes an increase in TRCA, TRCD, AF and MIC by 43, 29, 66 and 60%, respectively, based on the control treatment. The use of rhizobia inocula used as biofertilizers increased the NOD values from 7 to 43 nodules/plant and AF by 82%, both with regards to the control treatment.

**Index words:** biofertilizers, mycorrhizal fungi, Phaseolus vulgaris, rhizobia.

# INTRODUCCIÓN

La generación de estrategias para minimizar los efectos al medio ambiente por el uso de fertilizantes sintéticos es de importancia para la producción agrícola (Arias-Mota, Romero, Bañuelos y Cruz, 2019). Una de ellas es la utilización de microorganismos rizosféricos que estimulan el crecimiento vegetal (Vargas-Martínez et al., 2023) que, al asociarse con las raíces de las plantas cultivadas promueven el crecimiento, producción de fitohormonas, sideróforos, fijación de N y la solubilización de P (Abdallah et al., 2019). Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) y las bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno (rizobios) forman parte de este grupo de microorganismos utilizados en la agricultura agroecológica (Delgado-Álvarez, Martín y Rivera, 2022).

Los HMA forman asociaciones simbióticas mutualistas con las raíces de aproximadamente el 80% de las plantas superiores de todos los hábitats de la tierra (Vargas-Martínez et al., 2023); cuya función es la liberación de ácidos orgánicos de bajo peso molecular, que se unen a los iones metálicos de Al³+, Ca²+, Cu²+, Fe³+, Mg²+, Mn²+ y Zn²+ en la solución del suelo; así como el P, que promueve la meteorización mineral y permite su absorción por las hifas y transporte a las raíces de las plantas (Kleinert et al., 2018).

Asimismo, aumentan la resistencia de las plantas al estrés abiótico o biótico (Isla, 2016), la promoción del crecimiento vegetal (Chen et al., 2017), la mejora de la estructura del suelo por la producción de micelio y sustancias adherentes (Lozano-Sánchez, Armbrecht y Montoya, 2015) y la reducción de los efectos de contaminación de suelos y agua (Domínguez-Arrieta, Uranga, Villarreal, Morales y Yáñez, 2021).

Las ventajas del uso de HMA son descritas por autores como Liriano-González, Núñez y Barceló (2012), quienes reportaron diferencias significativas en altura de planta, aumento del diámetro y área foliar (Calero-Hurtado, Pérez, Rodríguez y Rodríguez, 2022), conductancia estomática (Reyes-Tena, López y Quiñones, 2015), colonización micorrícica (Crespo-Flores, Ramírez, Vallejo y Méndez, 2021) y aumento del rendimiento (Alonso, Hidalgo y Mesa, 2018).

Korir, Mungai, Thuita, Hamba y Masso (2017) afirman que el uso de rizobios como inoculantes incrementa los rendimientos en frijol, al establecer una relación simbiótica con las plantas para la fijación del N atmosférico y su conversión en amoníaco (NH<sub>3</sub>), lo que enriquece los suelos y mejora el crecimiento de las plantas (Hidalgo-Rodríguez, Ramos, Lezama, Chuna y Chamán, 2019). El éxito de la simbiosis dependerá de la especificidad de las cepas bacterianas, del suelo y del número de rizobios efectivos (Ndungu et al., 2018).

El uso de rizobios en el cultivo de frijol enriquece a los suelos y mejora el crecimiento de las plantas (Cáceres-Acosta *et al.*, 2024) lo que repercute de manera positiva en el incremento de la biomasa (Delgado-Álvarez *et al.*, 2022) y el rendimiento (Cántaro-Segura, Huaringa y Zúñiga, 2019).

Las investigaciones actuales se orientan al empleo de biofertilizantes elaborados con cepas nativas, resultan más efectivas y con potencial similares a los obtenidos con fertilizantes sintéticos nitrogenados (Sánchez et al., 2014; Cántaro-Segura et al., 2019). De acuerdo con lo que reseña el CIATEJ (2024), el proceso recomendable para la obtención de inoculantes microbianos para uso en agricultura debe contemplar el aislamiento y los ensayos in vitro e in vivo en condiciones experimentales controladas (laboratorio, invernadero y campo), con la finalidad de seleccionar los mejores microorganismos que beneficien el crecimiento y productividad de las plantas cultivadas, así como la conservación y mejoramiento del recurso suelo.

El cultivo de frijol es idóneo para estas investigaciones, debido a su importancia alimenticia principalmente en el aporte de proteínas, vitaminas y minerales, compuestos fenólicos utilizados en la salud humana, superficie cultivada en ambientes diversos de Latinoamérica, volumen de producción, generación de empleos y como parte de los cultivos estratégicos en la seguridad alimentaria (Delgado-Alvarez et al., 2022; Castorena, Valencia, Ibarra, Rodríguez y Salcedo, 2021). El objetivo de la investigación fue evaluar la efectividad de diferentes inóculos experimentales a base de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) y bacterias nativas fijadoras de nitrógeno, en plantas de frijol "negro delgado" creciendo en condiciones controladas en invernadero, para seleccionar los mejores microorganismos que mejoren el crecimiento vegetal.

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

# Características del Área de Estudio

La investigación se realizó bajo condiciones controladas en un invernadero del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad (CIIDIR-IPN, Unidad Oaxaca), ubicado en el municipio de Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México. El clima es de tipo A(C)w, catalogado como semicálido subhúmedo con lluvias en verano seguido de una estación seca en invierno, con temperatura media anual de 14.8 a 22 °C, precipitación media anual de 600 a 1000 mm (SEMAEDESO, 2022). Se sitúa en las coordenadas geográficas de 16° 57′- 17° 04′ N y 96° 42′ - 96° 49′ O y con una altitud de 1523 m (INEGI, 2010).

### Muestreo de Sitios para Obtención de Suelo Rizosférico

Se realizó un muestreo en enero de 2023, en suelos agrícolas destinados al cultivo de frijol delgado, en condiciones de riego en planicie y bajo condiciones de temporal en ladera, en distintas parcelas de las localidades Santiago Suchilquitongo (17° 15′ 00″ N - 96° 53′ 00″ O), Santa Cruz Lachixolana (17° 22′ N - 96° 85′ O) y Santo Domingo Tlaltinango (17° 14′ 17″ N - 96° 50′ 48″ O), de acuerdo con la NOM-021-RECNAT-2000 (NOM-021-SEMARNAT-2000, 2002). El número de muestras compuestas fue de 27, 15 en sitios de riego y 12 en temporal.

#### Obtención de Inóculos Experimentales de HMA

Los inóculos se generaron a partir de las muestras de suelo obtenidas en las parcelas de cultivo de los sitios de estudio, mediante la técnica de propagación en "plantas trampa", en macetas con sorgo (*Sorghum bicolor* L.) y alfalfa (*Medicago sativa* L.) durante cinco meses (Aguilar-Ulloa, Arce, Galiano y Torres, 2015), finalizado este periodo, las plantas en desarrollo fueron inducidas a estrés hídrico por 15 días, se secaron y se cosechó el sustrato con raíces (inoculante), los cuales se mezclaron por separado de acuerdo al tratamiento y se resguardaron en un lugar fresco y seco. Estos inoculantes fueron considerados experimentales y se utilizaron para los ensayos con plantas en condiciones controladas.

Para la inoculación de las semillas de frijol se realizó una desinfección con alcohol de 96° durante un minuto y tres enjuagues con agua esterilizada. Se procedió a la siembra inmediata, depositando tres semillas y 20 g de inoculante en la parte media de las macetas de plástico de 1 kg de capacidad de los 27 tratamientos por triplicado, por último, se regaron todas las macetas con agua para favorecer la emergencia.

### Obtención de Inóculos Experimentales de Rizobios

Las bacterias se aislaron a partir de la colecta de nódulos radicales de 15 plantas de frijol por parcela mediante un muestreo aleatorio simple. Cada planta colectada se envolvió en papel de estraza y una bolsa plástica con rótulo de colecta, el traslado al laboratorio se realizó en un contenedor térmico comercial con capacidad de 40 L. Una vez ingresadas las muestras al laboratorio, fueron resguardadas en refrigeración para su posterior uso. Se extrajeron los nódulos de cada planta, fueron lavados y se corroboró su viabilidad al observar su tonalidad rosa con la ayuda de un microscopio electrónico (Figura 1).

Los nódulos fueron desinfectados con alcohol de 96° y se extirparon en el fondo de un tubo de ensaye estéril para obtener las colonias bacterianas que fueron sembradas en placa acorde a la metodología de Hernández, Cubillos y Milian (2012), con medio de cultivo YMA (levadura-manitol-agar) a base de 1.31 g de  $K_2HPO_4$ , 0.2 g de  $MgSO_4$ .7 $H_2O$ , 0.1 g de NaCl, 2.5 g de manitol, 7.5 g de sacarosa, 7.5 g de extracto de sacarosa, 0.5 g de extracto de levadura por L de medio de cultivo, suplementado con 10 mL de rojo Congo (Vincent, 1970). La incubación duró 15 días a 30±2 grados centígrados.

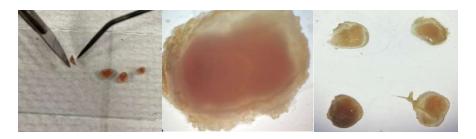


Figura 1. Observación microscópica de nódulos de *Rhizobium*. Figure 1. Microscopic observation of *Rhizobium* nodules.

Para el uso de inóculos experimentales se preparó un medio líquido YMA modificado sin agar, se sembraron las bacterias contenidas en placa mediante la técnica de asa bacteriológica, la incubación duró 12 días a 30±2 °C, con una densidad de 108 UFC mL<sup>-1</sup>. Estos inoculantes experimentales se utilizaron para los ensayos con plantas en condiciones controladas.

Para la inoculación de las semillas de frijol se realizó una desinfección con alcohol de 96° durante un minuto y tres enjuagues con agua esterilizada. Posteriormente se embebieron las semillas durante una hora en el medio líquido preparado para cada uno de los 15 inóculos (Arzola, 2017¹), por último, transcurrido el tiempo de la imbibición, se procedió a la siembra inmediata, depositando tres semillas en una maceta de plástico de 1 kg de capacidad de los 16 tratamientos por triplicado, por último, se regaron con agua para favorecer la emergencia.

#### Características del Sustrato

Las características físicas y químicas del suelo utilizado como sustrato fueron determinadas bajo la NOM-021-RECNAT-2000 (NOM-021-SEMARNAT-2000, 2002) que incluye: pH 7.6, conductividad eléctrica (CE) 0.24 dS m<sup>-1</sup>, contenido de materia orgánica (MO) 4.47%, fósforo aprovechable Olsen (P) 3.79 mg kg<sup>-1</sup>, potasio extraíble (K) 0.02 cmol(+) kg<sup>-1</sup>, nitrógeno total (N) 0.29% y calcio extraíble (Ca) 0.14 cmol(+) kg<sup>-1</sup>, con 15.24% arcilla, 19.44% limo, 65.32% de arena, clasificación textural franco-arenoso, densidad aparente (DA) de 1.41 gramos por centímetro cúbico.

### Diseño de los Experimentos

Se establecieron dos experimentos para la evaluación de los inóculos experimentales en un invernadero bajo condiciones controladas de temperatura, humedad relativa y radiación solar. El primero de ellos para la evaluación de HMA por 60 días, abril y mayo de 2023, mediante un diseño completamente al azar (DCA) con 27 tratamientos más un testigo, con tres repeticiones con un total de 84 unidades experimentales. Para la evaluación de los inóculos experimentales de rizobios, se utilizó también un DCA, con 15 tratamientos más un testigo, por triplicado; para un total de 48 unidades experimentales, la evaluación se hizo en el mismo periodo y duración que el primer experimento. Para los tratamientos testigos, las semillas se embebieron en agua común durante el mismo periodo que en los inóculos experimentales líquidos (Cuadro 1).

### Variables de Estudio y Análisis Estadísticos

Se evaluó la efectividad de HMA en el frijol a partir de las variables índice RAS (relación biomasa seca aérea (g)/biomasa seca de raíz (g)); tasa relativa de crecimiento en altura (TRCA, cm semana<sup>-1</sup>).

$$TRCA = \frac{A2 - A1}{T2 - T1} \tag{1}$$

Donde: A1 y A2 representan la altura inicial y final, T1y T2 el tiempo de medición respectivamente; tasa relativa de crecimiento en diámetro (TRCD, mm semana<sup>-1</sup>).

$$TRCD = \frac{D2 - D1}{T2 - T1} \tag{2}$$

Arzola, B. A. B. (2017). Efecto de la inoculación con Rhizobium spp. sobre la cosecha de granos del frijol Vigna unguiculata. Tesis para obtener grado de Maestro en Ciencias. Pontificia Universidad Católica de puerto rico. https://doi.org/10.13140/RG.2.2.11664.94726/1

Cuadro 1. Tratamientos y parajes seleccionados como fuente de inóculos con potencial para desarrollo de biofertilizantes con microorganismos nativos.

Table 1. Treatments and sites selected as a source of inocula with potential for the development of biofertilizers with native microorganisms.

Tratamientos (Fuente de inóculos de HMA por parajes)	Georrefere	Tratamientos (Fuente de inóculos de rizobios por parajes*)	
	LN	LO	<del></del>
T1. Tetiche	17° 15′ 56.4″	96° 53′ 05.4″	T1. Limas
T2. Limas	17° 15′ 34.6″	96° 52′ 35.9″	T2. San Miguel
T3. Tierra Blanca	17° 15′ 30.1″	96° 52′ 21.1″	T3. Barrio Nuevo
T4. Reforma	17° 15′ 09.6″	96° 52′ 21.1″	T4. Atoyac 2
T5. Manantial	17° 14′ 35.3″	96° 52′ 50.8″	T5. Paredón
T6. Mangal	17° 15′ 09.8″	96° 52′ 22″	T6. Rancho
T7. Atoyac	17° 14′ 51″	96° 51′ 53.5″	T7. Tlaltinango
T8. San Miguel	17° 14′ 52.6″	96° 51′ 44″	T8. Totondé
T9. Barrio Nuevo	17° 14′ 28″	96° 51′ 30.9″	T9. Puerta Coyote
T10. Atoyac 2	17° 15′ 30.1″	96° 52′ 21.1″	T10. Salina
T11. Serret	17° 15′ 23.4″	96° 52′ 47.7″	T11. Higo
T12. Lachixolana	17° 13′ 23.3″	96° 51′ 34.4″	T12. Chichicaxtle
T13. Paredón	17° 14′ 27.4″	96° 51′ 18.2″	T13. Presa
T14. Puerta Rancho	17° 14′ 08.5″	96° 51′ 30.8″	T14. Cajón
T15. Tlaltinango	17° 14′ 22.9″	96° 51′ 06.8″	T15. Pinos
T16. Teyacua	17° 15′ 53.1″	96° 53′ 27.5″	T16. Testigo (Sin inóculo)
T17. Totondé	17° 15′ 42.5″	96° 53′ 37.2″	
T18. Jícara	17° 16′ 19.7″	96° 51′ 44.5″	
T19. Puerta Coyote	17° 15′ 30.0″	96° 53′ 28.5″	
T20. Salina	17° 15′ 40.9″	96° 53′ 54.2″	
T21. Coyote	17° 15′ 23″	96° 52′ 46.5″	
T22. Higo	17° 13′ 57.6″	96° 53′ 55.9″	
T23. Chichicaxtle	17° 14′ 13.1″	96° 54′ 27.7″	
T24. Rodeo	17° 13′ 44″	96° 54′ 18.5″	
T25. Presa	17° 13′ 40″	96° 54′ 56.3″	
T26. Cajón	17° 14′ 00.3″	96° 54′ 21.5″	
T27. Pinos	17° 13′ 53.0″	96° 51′ 48.1″	
T28. Testigo (sin inóculo)			

<sup>\*</sup>Para los tratamientos de rizobios, los parajes tienen la misma georreferenciación que los tratamientos con inóculos de HMA.

Donde: D1 y D2 representan al diámetro inicial y final de la base del tallo, T1 y T2 el tiempo de medición respectivamente (Cardillo y Bernal, 2006); área foliar (AF, cm²) mediante el programa ImageJ\* y colonización micorrícica (MIC, %), a partir de la clasificación categórica de Nicholson y Schenck, (1979), cuya escala de colonización es: baja (0-20%), media (20.1-50%) y alta (>50%).

Para la evaluación de la efectividad de los rizobios asociados al frijol, las variables fueron índice RAS (relación biomasa seca aérea (g)/biomasa seca de raíz (g)), tasa relativa de crecimiento en altura (TRCA, cm semana<sup>-1</sup>), tasa relativa de crecimiento en diámetro (TRCD, cm semana<sup>-1</sup>), nódulos por planta (NOD, número) y área foliar (AF, cm<sup>2</sup>) utilizando las mismas fórmulas anteriores.

<sup>\*</sup>For rhizobia treatments, the sites have the same georeferencing as the treatments with HMA inocula.

Los datos se analizaron en el programa computacional SAS versión 9.4° (SAS Institute, 2018), mediante pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas ( $P \le 0.05$ ), análisis de varianza y separación de medias con la DSH de Tukey ( $P \le 0.05$ ).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### Efecto de Inóculos de HMA Nativos

Para todas las variables medidas se registraron diferencias estadísticas altamente significativas entre tratamientos ( $P \le 0.01$ ) (Cuadro 2).

En todos los tratamientos, para la variable RAS se obtuvieron valores superiores a 2.5. De acuerdo con los índices de calidad de planta reportados por Rodríguez-Ortiz et al. (2020), se trata de plantas de baja calidad en desarrollo radicular y aéreo. Solo los tratamientos con inóculos de los parajes Atoyac y Lachixolana se acercan a los valores propuestos en este índice de calidad, con valores de 2.8±0.1 y 3±0.03, respectivamente (Cuadro 3).

Para la variable TCRA, se obtuvieron 16 tratamientos con valores superiores al testigo (14.40±0.90 cm semana<sup>-1</sup>). Sobresalieron los inóculos provenientes de los parajes Jícara, Puerta del Coyote y Lachixolana (20.53±1.20, 18.73±1.70 y 18.60±0.30 cm semana<sup>-1</sup>), respectivamente.

Para la variable TCRD, 20 tratamientos lograron valores superiores al testigo (0.34±0.03 mm semana<sup>-1</sup>), sobresaliendo los tratamientos con inóculos de los parajes Mangal y Puerta del Coyote (0.44±0.01 y 0.42±0.01 mm semana<sup>-1</sup>, respectivamente). Para la variable AF, los tratamientos con inóculos de los parajes Puerta del Coyote y Jícara obtuvieron valores de 418.24±0.60 y 352.32±0.70 cm², superiores al testigo (252.01±0.60 cm²). En la variable MIC, 24 tratamientos registraron valores superiores al testigo (8.33±0.80%). Los inóculos con mayor porcentaje de colonización micorrícica fueron los obtenidos en los parajes Pinos (72.33±8.40%) y Puerta del Coyote (52.33±5.40%) (Figura 2).

De acuerdo con las categorías de colonización micorrícica propuesta por Nicholson y Schenck (1979), el 50% de los suelos, principalmente los de riego, registran una colonización baja; el 46% media, especialmente en los suelos de temporal, y el 4% en categoría alta, predomina el tratamiento con inóculos del paraje Pinos con el MIC de 72.3±8.4.

Esta colonización media (20.1-50%) y alta (>50%) que se observa en los sitios de temporal de los parajes Pinos, Puerta Coyote, Teyacua, Salina, Higo, Chichicaxtle, Jícara, Totondé y Presa se debe a que los HMA pertenecientes al Phylum Glomeromycota son capaces de formar asociaciones simbióticas mutualistas con el 72 % de las familias de plantas en los ecosistemas terrestres principalmente en selvas tropicales lluviosas y secas, desiertos, humedales, bosques mesófilos de montaña y bosques templados (Chávez-Hernández, Barrera, Téllez, Chimal y García, 2021).

# Efecto de inóculos bacterianos nativos fijadores de nitrógeno

La inoculación de las semillas de frijol delgado con los rizobios mostró efectos benéficos promovidos por este grupo de bacterias. En el análisis de varianza, los tratamientos no mostraron diferencias significativas para la variable RAS (Cuadro 4).

Todos los tratamientos presentaron valores de RAS superiores a 2.5 (P > 0.05), lo que significa que existe baja calidad de las plantas con relación a su desarrollo radicular y aéreo (Cuadro 5).

Cuadro 2. Resumen del análisis de varianza de los tratamientos con HMA en el cultivo de frijol delgado. Table 2. Summary of the analysis of variance of HMA treatments in the slender bean crop.

Variable	GL error	Cuadrados medios	RCME	CV (%)
RAS <sup>†</sup>	39	0.08**	0.1	10.87
TCRA‡		0.28**	0.33	8.45
TCRD		0.006**	0.04	12.38
MIC§		0.28**	0.27	22.31
AF		18229.35**	6.79	3.03

<sup>\*\*</sup> Altamente significativo ( $P \le 0.01$ ). Transformaciones: † RAS =  $\sqrt{\log X}$ ; ‡ TCRA =  $\sqrt{\log X}$ +1; § MIC =  $\log X$ .

<sup>\*\*</sup> Highly significant (P  $\leq$  0.01). Transformations: RAS =  $^{\dagger}$   $\sqrt{\log X}$ ;  $^{\ddagger}$  TCRA =  $\sqrt{\log X+1}$ ;  $^{\S}$  MIC:  $\log X$ .

Cuadro 3. Resumen de las medias de las variables analizadas en la evaluación de los inóculos de HMA obtenidos de los sitios de riego y temporal. Table 3. Summary of the means of the variables analyzed in the evaluation of AMF inocula obtained from irrigation and rainfed sites.

Tratamientos	RAS	TCRA	TCRD	AF
	_	cm semana <sup>-1</sup>	mm semana <sup>-1</sup>	cm²
T1. Tetiche	8.34±0.60 b	14.73±1.00 abc	0.22±0.02 c	272.14±0.60 def
T2. Limas	14.89±0.90 b	15.86±1.30 abc	0.35±0.01 abc	285.12±0.60 d
T3. Tierra Blanca	50.65±22.20 b	12.30±0.90 bc	0.32±0.02 abc	215.17±0.60 ij
T4. Reforma	11.51±4.60 b	14.96±0.20 abc	0.38±0.03 ab	106.13±0.60 ñ
T5. Manantial	8.03±3.30 b	12.10±0.30 bc	0.29±0.01 bc	207.12±0.60 jk
T6. Mangal	12.55±4.50 b	14.93±0.06 abc	0.44±0.01 a	170.2±0.60 klm
T7. Atoyac	2.80±0.10 b	14.53±0.6 abc	0.38±0.03 ab	143.24±0.60 n
T8. San Miguel	8.37±1.80 b	9.40±3.70 c	0.33±0.02 abc	170.22±0.60k lm
T9. Barrio Nuevo	11.73±2.30 b	13.80±0.40 abc	0.38±0.006 ab	212.12±0.60 j
T10. Atoyac2	10.87±1.40 b	12.60±1.10 bc	0.38±0.01 ab	66.29±0.60 o
T11. Serret	11.47±2.10 b	13.73±0.70 abc	0.36±0.02 abc	335.20±0.60 bc
T12. Lachixolana	3.09±0.030 b	18.60±0.30 ab	0.43±0.01 ab	222.23±0.60 ij
T13. Paredón	17.17±3.20 b	16.20±0.90 abc	0.35±0.01 abc	263.25±0.60 efg
T14. Rancho	4.90±1.80 b	15.00±0.90 abc	0.39±0.01 ab	260.04±20.50 efg
T15. Tlaltinango	15.73±2.20 b	13.96±0.30 abc	0.39±0.07 ab	280.78±0.90 de
T16. Teyacua	12.95±2.60 b	14.80±0.30 abc	0.36±0.02 ab	215.57±0.30 ij
T.17 Totondé	4.30±1.60 b	15.46±1.40 abc	0.37±0.01 ab	314.02±0.60 c
T18. Jícara	3.22±0.40 b	20.53±1.20 a	0.38±0.01 ab	352.32±0.70 b
T19. Puerta coyote	7.70±0.90 b	18.73±1.70 ab	0.42±0.01 ab	418.24±0.60 a
T20. Salina	11.89±2.20 b	10.06±2.80 c	0.32±0.03 abc	188.14±0.50 kl
T21. Coyote	12.30±3.30 b	13.93±1.70 abc	0.36±0.02 ab	180.04±0.60 kl
T22. Higo	7.10±1.60 b	14.60±1.20 abc	0.39±0.04 ab	246.22.2±0.60 gh
T23. Chichicaxtle	15.19±5.80 b	13.80±0.40 abc	0.30±0.01 abc	154.00±0.60 mn
T24. Rodeo	6.24±2.00 b	16.20±0.30 bcd	0.42±0.01 ab	235.18±0.60 hi
T25. Presa	7.91±1.30 b	14.66±0.80 abc	0.32±0.02 abc	224.22±0.60 ij
T26. Cajón	131.17±63.70 a	13.60±0.80 abc	0.34±0.01 abc	160.08±0.5l mn
T27. Pinos	12.26±3.20 b	14.46±0.90 abc	0.36±0.01 ab	114.32±0.70 s
T28. Testigo	19.63±3.70 b	14.40±0.90 abc	0.34±0.03 abc	252.01±0.60 fgh

RAS: relación = peso seco aéreo (g)/peso seco de raíz (g); TCRA = tasa relativa de crecimiento en altura; TCRD = tasa relativa de crecimiento en diámetro; AF = área foliar. Letras en la misma columna indican diferencias estadísticas (Tukey,  $P \le 0.05$ ). La media incluye  $\pm$  error estándar (n=3). RAS: ratio = aerial dry weight (g)/root dry weight (g); TCRA = relative aerial growth rate; TCRD = relative diameter growth rate; AF = leaf area. Letters in the same column indicate statistical differences (Tukey,  $P \le 0.05$ ). The mean includes  $\pm$  standard error (n=3).

Para las variables TCRA y TCRD no se registraron diferencias significativas entre tratamientos, pero numéricamente manifiestan el mayor crecimiento en altura y diámetro con los inóculos del paraje San Miguel,  $18.53\pm2.60$  y  $0.40\pm0.05$ , respectivamente; superiores al testigo ( $15.83\pm0.90$  y  $0.31\pm0.03$ ). En la variable AF se registraron diferencias altamente significativas entre tratamientos ( $P \le 0.01$ ), sobresalen cuatro inóculos, parajes Paredón, Presa, Tlaltinango y Cajón,  $368.03\pm0.50$ ,  $423.21\pm0.60$ ,  $380.27\pm0.60$  y  $441.15\pm0.60$  cm², respectivamente; superiores al testigo ( $364.21\pm0.60$  cm²). En la variable NOD se registraron diferencias altamente significativas entre tratamientos ( $P \le 0.01$ ), sobresale el inóculo del paraje Cajón ( $43.33\pm18.70$  nódulos/planta) (Figura 3).

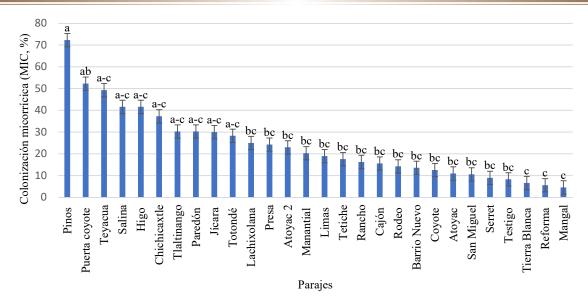


Figura 2. Colonización micorrícica (%) en los diferentes tratamientos evaluados. Las barras verticales en columnas indican la desviación estándar. Valores con la misma letra dentro de cada gráfica no son significativamente diferentes (Tukey,  $P \le 0.05$ ).

Figure 2. Mycorrhizal colonization (%) in the different treatments evaluated. Vertical bars in columns indicate standard deviation. Values with the same letter within each graph are not significantly different (Tukey,  $P \le 0.05$ ).

### Efectividad de HMA en el Frijol Negro Delgado

Los efectos benéficos de los HMA en la promoción del crecimiento de las plantas se deben principalmente al intercambio de nutrientes, lo que justifica la sustitución de hasta el 75% del fertilizante fosfórico (Mora-Quilismal, Águila, Revelo, Benavides y Balarezo, 2019). Estos microorganismos mejoran la absorción de fósforo por la planta debido al aumento en el transporte de elementos inorgánicos desde el suelo a las plantas (Adavi y Tadayoun, 2014), y el incremento de la biomasa de las plantas cultivadas (Parra-Zambrano, 2012²).

Los valores obtenidos de la RAS, superiores a 2.5, indican, de acuerdo con Rodríguez-Ortiz et al. (2020), que todos los tratamientos generan plantas de baja calidad, y se atribuye al limitado espacio del contenedor, lo que limitó el desarrollo radical y biomasa aérea, similar a lo reportado por Pérez-Moncada et al. (2019). Así mismo, existió una deficiente aireación y baja retención de agua debido al bajo volumen de sustrato en las macetas y su compactación, lo que provocó escaso crecimiento radical y baja germinación de esporas de HMA, resultados también reportados por Domínguez-Arrieta et al. (2021).

Callejas-Ruiz et al. (2009) reportan que la efectividad en la simbiosis depende de la cantidad de raíces emitidas por la planta y de las características fisicoquímicas del suelo, y su déficit puede afectar directamente la germinación de las esporas de los HMA, determinantes para su establecimiento.

Los resultados en la variable TCRA demuestran que los HMA promueven el crecimiento vegetal ( $P \le 0.01$ ), como se demuestra en los inóculos provenientes del paraje Lachixolana (18.6±0.03) y Jícara (20.5±1.20), similarmente reportado por Domínguez-Arrieta et al. (2021). González, Sosa y Díaz (2012) obtuvieron diferencias significativas en la altura de planta con la aplicación de HMA al cultivo de frijol (P. vulgaris) variedad CC-25-9 negro.

Por el contrario, las plantas con menor altura con respecto al testigo fueron influidas por factores bióticos, dado que los HMA se benefician de diferente manera según el cultivo hospedero principalmente por el aumento de la colonización micorrícica tal y como se demuestra en los parajes de Teyacua, Puerta del Coyote y los Pinos en donde el RAS presenta valores bajos con respecto al testigo, pero MIC presenta valores altos, otro factor influyente en la altura de la planta son los factores abióticos tales como el flujo no equilibrado de nutrimentos del suelo a la planta debido a condiciones ambientales como luz, temperatura y pH; lo cual también fue reportado por Grace, Cotsaftis, Tester, Smith y Smith (2009) y Ley-Rivas, Sánchez, Ricardo y Collazo (2015).

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Parra-Zambrano, C. T. (2012). Efecto de Rhizobium y micorrizas arbusculares en el desarrollo de Cajanuscajan en presencia de abonos verdes, en suelos naturales de la localidad de Espino, estado Guárico. Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias. Universidad Maracay. Venezuela. Disponible en: http://hdl.handle.net/10872/3686

Cuadro 4. Resumen del análisis de varianza de las variables analizadas en los tratamientos de rizobios en el cultivo de frijol delgado. Table 4. Summary of the analysis of variance of the variables analyzed in the rhizobia treatments in the slender bean crop.

Variable	GL error	Cuadrados medios	RCME	CV (%)
RAS†	32	7.48ns	2.80	41.20
TCRA		5.36ns	2.07	13.06
TCRD		0.01ns	0.08	30.09
$NOD^\dagger$		0.34**	0.32	30.90
AF		8826.16**	1.03	0.30

<sup>\*\*</sup> altamente significativo ( $P \le 0.01$ ), ns no significativo (P > 0.05). Transformaciones: †RAS y NOD= log X.

Para la TCRD se encontró un desarrollo homogéneo en todos los tratamientos, debido a las ventajas que proporciona la simbiosis micorrícica ( $P \le 0.01$ ); tal como lo reportan Domínguez-Arrieta et al. (2021) y Calero-Hurtado et al. (2022), quienes encontraron valores superiores de área foliar con la utilización de HMA en el cultivo de frijol.

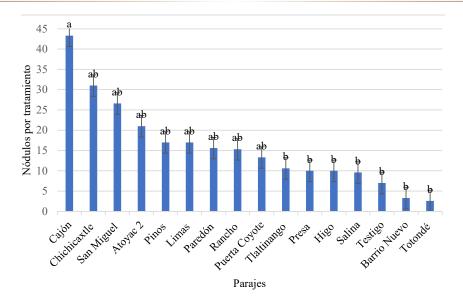
Los valores de MIC con micorrización media y alta procedieron en su mayoría de los inóculos provenientes de sitios de temporal ( $P \le 0.01$ ); lo que coincide con Espinosa-Cuéllar, Rivera, Ruiz y Lago (2018), quienes obtuvieron porcentajes mayores de microorganismos provenientes de suelos cultivados bajo temporal en épocas lluviosas, ya que bajo esas condiciones, Koch, Antunes, Maherali, Hart y Klironomos (2017) reportan que los HMA incrementan sus estructuras y la producción de esporas.

Cuadro 5. Resumen de medias de los inóculos de rizobios analizados provenientes de sitios de riego y temporal. Table 5. Summary of means of the rhizobia inocula analyzed from irrigation and rainfed sites.

Tratamientos	RAS	TCRA	TCRD	AF
		cm semana <sup>-1</sup>	mm semana <sup>-1</sup>	cm²
T1. Limas	9.46±2.40 a	14.28±1.40 a	0.28±0.01 a	354.23±0.60 g
T2. San Miguel	5.37±1.50 a	18.53±2.60 a	0.40±0.05 a	329.04±0.6 l
T3. Barrio Nuevo	5.55±0.90 a	16.12±0.30 a	0.32±0.08 a	249.20±0.60 ñ
T4. Atoyac 2	5.29±0.30 a	17.56±0.50 a	0.30±0.40 a	339.00±0.60 i
T5. Paredón	6.13±0.10 a	16.83±0.70 a	0.33±0.02 a	368.03±0.50 d
T6. Rancho	7.27±0.70 a	16.03±0.80 a	0.34±0.04 a	355.12±0.50 f
T7. Tlaltinango	7.32±20 a	14.70±0.80 a	0.28±0.10 a	380.27±0.60 c
T8. Totondé	8.38±0.90 a	16.38±0.30 a	0.25±0.03 a	234.01±0.50 o
T9. Puerta Coyote	5.57±1.90 a	15.53±10 a	0.19±0.04 a	352.09±0.60 h
T10. Salina	8.62±2.80 a	13.86±2.10 a	0.26±0.05 a	285.29±0.60 n
T11. Higo	8.10±1.70 a	15.56±0.90 a	0.23±0.06 a	312.06±0.60 m
T12. Chichicaxtle	8.75±1.20 a	17.93±0.70 a	0.18±0.04 a	333.02±0.50 k
T13. Presa	4.69±0.40 a	14.36±1.20 a	0.25±0.05 a	423.21±0.60 b
T14. Cajón	4.35±0.30 a	15.00±0.80 a	0.33±0.01 a	441.15±0.60 a
T15. Pinos	6.99±2.80 a	15.46±0.90 a	0.32±0.01 a	338.16±0.60 j
T16. Testigo	7.27±1.50 a	15.83±0.90 a	0.31±0.03 a	364.21±0.60 e

RAS: relación = peso seco aéreo (g)/peso seco de raíz (g); TCRA = tasa relativa de crecimiento en altura; TCRD = tasa relativa de crecimiento en diámetro; NOD = número de nódulos y AF = área foliar. Letras en la misma columna indican diferencias estadísticas (Tukey,  $P \le 0.05$ ). La media incluye  $\pm$  error estándar (n=3). RAS: ratio = aerial dry weight (g)/root dry weight (g); TCRA = relative growth rate in height; TCRD = relative growth rate in diameter; NOD = number of nodules and AF = leaf area. Letters in the same column indicate statistical differences (Tukey,  $P \le 0.05$ ). The mean includes  $\pm$  standard error (n=3).

<sup>\*\*</sup> highly significant (P  $\leq$  0.01), ns not significant (P > 0.05). Transformation: RAS and NOD = log X.



**Figura 3. Número de nódulos por tratamientos evaluados.** Las barras verticales en columnas indican la desviación estándar. Valores con la misma letra dentro de cada gráfica no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey ( $P \le 0.05$ ). **Figure 3. Number of nodules by treatments evaluated.** Vertical bars in columns indicate standard deviation. Values with the same letter within each graph are not significantly different according to the Tukey test ( $P \le 0.05$ ).

Crespo-Flores et al. (2021) indican que la eficiencia en la inoculación de HMA nativos depende de su capacidad para producir hifas externas, la velocidad de la hifa para colonizar las raíces y su habilidad para mantener niveles de colonización bajo condiciones competitivas, lo que González-Cañizares, Ramírez, Morgan, Rivera y Plana (2015) manifiestan que repercute positivamente en el aumento de la colonización micorrícica, biomasa y rendimiento.

### Efectividad de Rizobios en el Frijol Negro Delgado

El uso de cepas nativas de rizobios para la inoculación en semillas ofrece ventajas significativas en el crecimiento vegetal, al aumentar la disponibilidad de nutrientes limitantes como el P y N, principalmente (Uc-Ku et al., 2019). Respecto a la RAS, se encontraron valores >4.3 en todos los tratamientos (CV = 41.2%). De acuerdo con Rodríguez-Ortiz et al. (2020), son plantas con reducido desarrollo, posiblemente debido las bajas dimensiones del contenedor donde se sembraron. Aunque no se encontraron diferencias significativas, los valores obtenidos en el peso seco de raíces ( $P \le 0.01$ ) evidencian diferencias entre tratamientos y eficiencia de las cepas de rizobios comparados con el testigo. García et al. (2023) señalan que el uso de estos inóculos estimula la nodulación, crecimiento y rendimiento del cultivo. Di Benedetto et al. (2017) añaden que esta simbiosis influye directamente en el crecimiento y profundidad de las raíces, y permite al cultivo beneficiarse de los nutrimentos del suelo con mayor facilidad.

La capacidad de estos inóculos para la generación de biomasa y área foliar se manifestó en el peso seco aéreo  $(P \le 0.01)$ . Para Cuzcano y Dávila (2002), el estudio de estas variables en frijol común es de importancia para la generación y disponibilidad de fotosintatos. Lalande, Bigwanesa y Antoun (1990) y Hernández, Nápoles, Rosales, Baños y Ramírez (2013) indican que la biomasa aérea se utiliza como indicador de la eficiencia en la fijación de nitrógeno debido a su importancia en el crecimiento, desarrollo y fijación biológica del nitrógeno (FBN).

Aunque la TCRA y TCRD no mostraron diferencia significativa entre tratamientos (P > 0.05), numéricamente existen algunos de ellos que superan al testigo, debido a que las leguminosas tienen la capacidad de establecer simbiosis con los rizobios nativos del suelo (Madigan, Bender, Buckley, Sattley y Stahl, 2017); al fijar el N atmosférico para convertirlo a formas disponibles para las plantas y su uso en procesos metabólicos (Cántaro-Segura et al., 2019); que inciden directamente en el crecimiento y rendimiento (Granda-Mora, Alvarado y Torres, 2017).

Existe heterogeneidad en cuanto a NOD (CV=30.9%), sin embargo, el tratamiento con inóculos del paraje Cajón fue el que presentó 43.3 nódulos/planta, ubicados en las raíces laterales y zona media de crecimiento. Predominaron las formas esféricas y elípticas, que al observarse en microscopio muestran una coloración rosada; característica observada por Nap y Bisseling (1990) y Colás-Sánchez, Díaz, Rodríguez, Gatorno y Rodríguez (2018).

Mendoza-Labrador y Bonilla (2014) obtuvieron resultados significativos en biomasa aérea, radical y número de nódulos con la aplicación de rizobios en frijol Caupí bajo condiciones de invernadero. De acuerdo con Velázquez, García, Ramírez, Rivas y Molina (2017), esta afinidad repercute positivamente en una mayor colonización del sistema radicular y establecimiento de los bacteroides dentro de los nódulos.

A excepción del tratamiento 3 y 8, todos los tratamientos evaluados produjeron mayor número de nódulos que el testigo y mostraron gran afinidad a las plantas de frijol, similar a lo reportado por Cántaro-Segura et al. (2019), quienes mejoraron rendimientos con inóculos de rizobios en frijol. De acuerdo con Tajini y Drevon (2012) y Crespo-Flores et al. (2021), esto se debe a que la nodulación de las bacterias nitrofijadoras en las raíces de las plantas, abastecen de N y movilizan al P y otros nutrimentos desde el suelo hacia las raíces de las plantas.

#### **CONCLUSIONES**

El empleo de inóculos elaborados con HMA nativos promueven el incremento en las variables TRCA, TRCD, AF y MIC en un 43, 29, 66 y 60% respectivamente con base al tratamiento testigo, en las plantas de frijol "negro delgado" en invernadero; lo que permitió la selección de cuatro inóculos, dos provenientes de la zona de riego y dos de la de temporal (T12: Lachixolana, T13: Paredón, T18: Jícara y T19: Puerta Coyote).

El uso de inóculos de bacterias nativas fijadoras de nitrógeno empleadas como biofertilizantes en el frijol "negro delgado" en invernadero incrementaron los valores de NOD de 7 a 43 nódulos/planta y de AF en 82%, ambos con respecto al tratamiento testigo. Con base a los resultados obtenidos, se seleccionaron cuatro inóculos, dos de la zona de riego (T7: Tlaltinango y T5: Paredón) y dos de temporal (T13: Presa y T14: Cajón) para su evaluación posterior en campo en el cultivo de frijol "negro delgado".

# **DECLARACIÓN DE ÉTICA**

No aplicable

# **CONSENTIMIENTO PARA PUBLICACIÓN**

No aplicable

### **DISPONIBILIDAD DE DATOS**

Los datos utilizados o analizados durante el estudio actual están disponibles con el autor correspondiente a solicitud razonable.

# **CONFLICTO DE INTERESES**

Los autores declaran que no tienen intereses en competencia

#### **FINANCIACIÓN**

Los autores agradecen al Tecnológico Nacional de México (TecNM) por el financiamiento del proyecto con clave de registro 14937.22-P y al Instituto Politécnico Nacional, proyecto SIP20230604.

## **CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES**

Conceptualización y metodología: E.G.E.P., E.C.H. y C.R. Protocolos de laboratorio y supervisión: C.R. y V.M.G. Análisis estadísticos y revisión de resultados: G.R.O. y C. R. Escritura: E.G.E.P. Revisión y edición: E.C.H., C.R., G.M.S.M. y S.L.T.

#### **AGRADECIMIENTOS**

El primer autor agradece a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) la concesión de una beca para estudios de Doctorado con número de CVU: 21405.

#### LITERATURA CITADA

- Abdallah, Y., Yang, M., Zhang, M., Masum, M. M., Ogunyemi, S. O., Hossain, A., ... & Li, B. (2019). Plant growth promotion and suppression of bacterial leaf blight in rice by *Paenibacillus polymyxa* Sx3. *Letters in Applied Microbiology*, 68(5), 423-429. https://doi.org/10.1111/lam.13117
- Adavi, Z., & Tadayoun, M. R. (2014). Effect of mycorrhiza application on plant growth and yield in potato production under field condition. Iranian Journal of Plant Physiology, 4(3),1087-93.
- Aguilar-Ulloa, W., Arce-Acuña, P., Galiano-Murillo, F., & Torres-Cruz, T. J. (2016). Aislamiento de esporas y evaluación de métodos de inoculación en la producción de micorrizas en cultivos trampa. Revista Tecnología en Marcha, 29, 5-14. http://dx.doi.org/10.18845/tm.v29i7.2700
- Alonso, N. J. M., Hidalgo, Á. L., & Mesa, J. L. A. (2018). Influencia de los Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA), Abonos Orgánicos y Sacarosa en el cultivo del fríjol (*Phaseolus vulgaris* L). *Alternativas, 19*(2), 89-96.
- Arias-Mota, R. M., Romero-Fernández, A. J., Bañuelos-Trejo, J., & Cruz-Elizondo, Y. (2019). Inoculación de hongos solubilizadores de fósforo y micorrizas arbusculares en plantas de jitomate. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 10(8), 1747-1757. https://doi.org/10.29312/remexca.v10i8.1558
- Cáceres-Acosta, E. A., Aguirre-Flores, A. A., Castro-Brindis, R., Almaraz-Suárez, J. J., Colinas-León, M. T., Juárez-Hernández, M. de J., & Montes-Colmenares, R. O. (2024). Efecto de biofertilizantes en el recuento de rizobios e indicadores morfológicos del frijol ejotero (*Phaseolus vulgaris* L.), en Ecuador. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences*, 40(1), 66-80. https://dx.doi.org/10.29393/chjaas40-7eber70007
- Calero-Hurtado, A., Pérez-Díaz, Y., Rodríguez-Lorenzo, M., & Rodríguez-González, V. (2022). Aplicación conjunta del consorcio microorganismos benéficos y FitoMas-E\* incrementan los indicadores agronómicos del frijol. Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica, 25(1), 1-8. https://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.2252
- Callejas-Ruiz, B. A., Castillo-González, A. M., Colinas-León, M. T., González-Chávez, M. del C., Pineda-Pineda, J., & Valdez-Aguilar, L. A. (2009). Sustratos y hongos micorrízicos arbusculares en la producción de nochebuena. *Revista Chapingo. Serie horticultura, 15*(1), 57-66.
- Cántaro-Segura, H., Huaringa-Joaquín, A., & Zúñiga-Dávil, D. (2019). Efectividad simbiótica de dos cepas de *Rhizobium* sp. En cuatro variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en Perú. *Idesia (Arica), 37*(4), 73-81. https://doi.org/10.4067/S0718-34292019000400073
- Cardillo, E., & Bernal, C. J. (2006). Morphological response and growth of cork oak (*Quercus suber* L.) seedlings at different shade levels. Forest Ecology and Management, 222, 296-301. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2005.10.026
- Chávez-Hernández, C. G., Barrera-Aguilar, C. C., Téllez-Espinosa, G. J., Chimal-Sánchez, E., & García-Sánchez, R. (2021). Colonización micorrízica y comunidades de hongos micorrizógenos arbusculares en plantas medicinales del bosque templado "Agua Escondida", Taxco, Guerrero, México. *Scientia Fungorum*, e1325. https://doi.org/10.33885/sf.2021.51.1325
- Chen, M., Yang, G., Sheng, Y., Li, P., Qiu, H., Zhou, X., ... & Chao, Z. (2017). Glomus mosseae inoculation improves the root system architecture, photosynthetic efficiency and flavonoids accumulation of liquorice under nutrient stress. Frontiers in Plant Science, 8, 931. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00931
- CIATEJ (Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco). (2024). Bioinoculantes y encapsulación microbiana. Guadalajara, México: CIATEJ.
- Colás-Sánchez, A., Díaz-Pérez, B., Rodríguez-Urrutia, A., Gatorno-Muñoz, S., & Rodríguez-López, O. (2018). Effect of biofertilization in the morpho physiology and yield of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Centro Agrícola, 45(4), 34-42.
- Crespo-Flores, G., Ramírez-Tobías, H. M., Vallejo-Pérez, M. R., & Méndez-Cortés, H. (2021). Coinoculación con rizobios y hongos micorrízicos arbusculares en plántulas de *Prosopis laevigata*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 12(7), 1249-1262. https://doi.org/10.29312/remexca.v12i7.2910
- Cuzcano, G. M., & Dávila, D. Z. (2002). Comportamiento de cepas nativas de rizobios aisladas de la costa del Perú en dos cultivares de pallar (*Phaseolus lunatus* L.). *Ecología Aplicada*, 1(1), 19-24.
- Delgado-Álvarez, A., Martín-Alonso, G. M., & Rivera-Espinosa, R. A. (2022). Beneficios de la coinoculación de Hongos Micorrizógenos Arbusculares y rizobios en el cultivo del frijol. *Cultivos Tropicales*, 43(3), 1-13. https://cu-id.com/2050/v43n3e14
- Di Benedetto, N. A., Corbo, M. R., Campaniello, D., Cataldi, M. P., Bevilacqua, A., Sinigaglia, M., & Flagella, Z. (2017). The role of plant growth promoting bacteria in improving nitrogen use efficiency for sustainable crop production: a focus on wheat. *AIMS Microbiology, 3*(3), 413. https://doi.org/10.3934/microbiol.2017.3.413
- Domínguez-Arrieta, E., Uranga-Valencia, L. P., Villarreal-Ramírez, V. H., Morales-Morales, H. A., & Yáñez-Muñoz, R. M. (2021). Actividad micorrízica en frijol variedad Michigan en el estado de Veracruz. Revista Biológico Agropecuaria Tuxpan, 9(2), 1-19.
- Espinosa-Cuéllar, A., Rivera-Espinosa, R., Ruiz-Martínez, L., Espinosa-Cuéllar, E., & Lago-Gato, Y. (2018). Inoculación micorrízica de cultivos precedentes: vía para micorrizar eficientemente el boniato (*Ipomoea batatas* Lam.). *Cultivos Tropicales, 39*(2), 51-58.
- García, M. O., Rocafull, Y. R., Molina, L. Z., Aguilera, J. L., Garibay, R. O., & García, M. C. N. (2023). Identificación de rizobios promotores del crecimiento vegetal asociados a garbanzo (*Cicer arietinum* L.). *Agronomía Mesoamericana*, 1-10. 50929-50929.
- González-Cañizares, P. J., Ramírez-Pedroso, J. F., Morgan-Rosemond, O., Rivera-Espinosa, R., & Plana-Llerena, R. (2015). Contribución de la inoculación micorrízica arbuscular a la reducción de la fertilización fosfórica en *Brachiaria decumbens*. *Cultivos Tropicales*, 36(1), 135-142.
- González, R. L., Sosa, B. N., & Díaz, R. B. (2012). Efecto de la aplicación de *Rhizobium* y Mycorriza en el crecimiento del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad CC-25-9 negro. *Centro Agrícola*, 39(4), 17-20.
- Grace, E. J., Cotsaftis, O., Tester, M., Smith, F. A., & Smith, S. E. (2009). Arbuscular mycorrhizal inhibition of growth in barley cannot be attributed to extent of colonization, fungal phosphorus uptake or effects on expression of plant phosphate transporter genes. *New Phytologist*, 181(4), 938-949. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02720.x
- Granda-Mora, K. I., Alvarado-Capó, Y., & Torres-Gutiérrez, R. (2017). Efecto en campo de la cepa nativa COL6 de *Rhizobium leguminosarum* bv. viciae sobre frijol común cv. Percal en Ecuador. *Centro Agrícola*, 44(2), 5-13.
- Hernández, J., Cubillos, H., & Milian, P. (2012). Aislamiento de cepas de *Rhizobium* spp., asociados a dos leguminosas forrajeras en el Centro Biotecnológico del Caribe Isolation of *Rhizobium* spp., associated two forage leguminous in the Caribbean Biotechnological Center. *Revista Colombiana de Microbiología Tropical*, 2(2), 12-22.
- Hernández, I., Nápoles, M. C., Rosales, P. R., Baños, R., & Ramírez, J. F. (2013). Selección de aislados de rizobios provenientes de nódulos de la leguminosa forrajera *Pueraria phaseoloides* (kudzú tropical). *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 47(3), 311-318.
- Hidalgo-Rodríguez, J. E. M., Ramos-Otiniano, C. C., Lezama-Asencio, P. B., Chuna-Mogollón, P., & Chaman-Medina, M. E. (2019). Coinoculación de Rhizophagus irregularis y Rhizobium sp. en Phaseolus vulgaris L. var. canario (Fabaceae)" frijol canario. Arnaldoa, 26(3), 991-1006.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática). (2010). Compendio de información geográfica municipal 2010. Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México: INEGI.

- Isla, A. (2016). Arbuscular mycorrhizal fungal responses to abiotic stresses: A review. Phytochemistry, 123, 4-15.
- Kleinert, A., Benedito, V. A., Morcillo, R. J. L., Dames, J., Cornejo-Rivas, P., Zuñiga-Feest, A., ... & Muñoz, G. (2018). Morphological and symbiotic root modifications for mineral acquisition from nutrient-poor soils. En A. de la Peña & J. P. Davies (Eds.), *Root biology* (pp. 85-142). Springer. Cham, Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-3-319-75910-4\_4
- Koch, A. M., Antunes, P. M., Maherali, H., Hart, M. M., & Klironomos, J. N. (2017). Evolutionary asymmetry in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: conservatism in fungal morphology does not predict host plant growth. New Phytologist, 214(3), 1330-1337. https://doi.org/10.1111/nph.14465
- Korir, H., Mungai, N. W., Thuita, M., Hamba, Y., & Masso, C. (2017). Co-inoculation effect of rhizobia and plant growth promoting rhizobacteria on common bean growth in a low phosphorus soil. *Frontiers in Plant Science, 8,* 141.
- Lalande, R., Bigwanesa, P., & Antoun, H. (1990). Symbiotic effectiveness of strains of *Rhizobium leguminosarum* biovar phaseoli isolated from soils of Rwanda. *Plant Soil, 121*, 41-46. https://doi.org/10.1007/BF00013095
- Ley-Rivas, J. F., Sánchez, J. A., Ricardo, N. E., & Collazo, E. (2015). Effect of four species of arbuscular mycorrhizal fungi on the production of tomato fruits. *Agronomía Costarricense*, 39(1), 47-59.
- Liriano-González, R., Núñez-Sosa, D. B., & Barceló-Díaz, R. (2012). Efecto de la aplicación de *Rhizobium* y mycorriza en el crecimiento del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad CC-25-9 negro. *Centro Agrícola*, 39(4), 17-20.
- Lozano-Sánchez, J. D., Armbrecht, I., & Montoya-Lerma, J. (2015). Hongos formadores de micorrizas arbusculares y su efecto sobre la estructura de los suelos en fincas con manejos agroecológicos e intensivos. *Acta Agronómica*, 64(4), 289-296. https://doi.org/10.15446/acag.v64n4.46045 Madigan, M., Bender, K., Buckley, D., Sattley, W., & Stahl, D. (2017). *Brock biology of microorganisms* (15th ed.). Boston, MA, USA: Pearson.
- Mendoza-Labrador, J. A., & Bonilla-Buitrago, R. R. (2014). Infectividad y efectividad de rizobios aislados de suelos de la Costa Caribe colombiana en Vigna unguiculata. Revista Colombiana de Biotecnología, 16(2), 84-89. https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v16n2.47246
- Mora-Quilismal, S. R., Águila-Alcantara, E., Revelo-Ruales, V., Benavides-Rosales, H., & Balarezo-Urresta, L. (2019). Combinación de dos biofertilizantes y fertilización química en la producción de *Solanum tuberosum* cv. Superchola en Andisoles ecuatorianos. *Centro Agrícola*, 46(4), 44-52.
- Nap, J. P., & Bisselling, T. (1990). Developmental biology of a plant prokaryote symbiosis: The legume root nodule. *Science*, 250(4983), 948-954. https://doi.org/10.1126/science.250.4983.948
- Ndungu, S. M., Messmer, M. M., Ziegler, D., Thuita, M., Vanlauwe, B., Frossard, E., & Thonar, C. (2018). Evaluation of MALDI-TOF mass spectrometry for the competitiveness analysis of selected indigenous cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) Bradyrhizobium strains from Kenya. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(12), 5265-5278. https://doi.org/10.1007/s00253-018-9005-6
- Nicholson, T. N., & Schenck, N. C. (1979). Endogonaceus mycorrhizal endophytes in Florida. *Mycologia, 71*, 178-198. https://doi.org/10.1080/00275514.1979.12020997
- NOM-021-SEMARNAT-2000 (Norma Oficial Mexicana). (2002). Antes NOM-021-RECNAT- 2000. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudio, muestreo y análisis. Diario Oficial de la Federación. D. F.: SEGOB.
- Pérez-Moncada, U. A., Ramírez-Gómez, M., Serralde-Ordóñez, D. P., Peñaranda-Rolón, A. M., Wilches-Ortiz, W. A., Ramírez, L., & Rengifo-Estrada, G. A. (2019). Hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) como estrategia para reducir la absorción de cadmio en plantas de cacao (*Theobroma cacao*). *Terra Latinoamericana*, 37(2), 121-130. https://doi.org/10.28940/terra.v37i2.479
- Reyes-Tena, A., López-Pérez, L., Quiñones-Aguilar, E. E., & Rincón-Enríquez, G. (2015). Evaluación de consorcios micorrícicos arbusculares en el crecimiento vegetal de plantas de maíz, chile y frijol. *Biológicas*, 17(2), 35-42.
- Rodríguez-Ortiz, G., Aragón-Peralta, R. D., Enríquez-del Valle, J. R., Hernández-Hernández, A., Santiago-García, W., & Campos-Angeles, G. V. (2020). Calidad de plántula de progenies selectas de *Pinus pseudostrobus* Lindl. var. oaxacana del sur de México. *Interciencia*, 45(2), 96-101.
- SAS Institute. (2018). Statistical Analysis System SAS/STAT User's Guide. version 9.4. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc.
- Sánchez, A. C., Gutiérrez, R. T., Santana, R. C., Urrutia, A. R., Fauvart, M., Michiels, J., & Vanderleyden, J. (2014). Effects of co-inoculation of native *Rhizobium* and *Pseudomonas* strains on growth parameters and yield of two contrasting *Phaseolus* vulgaris L. genotypes under Cuban soil conditions. *European Journal of Soil Biology, 62*, 105-112. https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2014.03.004
- SEMAEDESO (Secretaría del Medio Ambiente, Energías y Desarrollo Sustentable del Estado de Oaxaca). (2022). IV. Caracterización. Oaxaca, México: Gobierno del Estado de Oaxaca.
- Tajini, F., & Drevon, J. J. (2012). Effect of arbuscular mycorrhizas on P use efficiency for growth and N<sub>2</sub> fixation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Scientific Research and Essays, 7(16), 1681-1689. https://doi.org/10.5897/SRE12.093
- Uc-Ku, A. G., Arreola-Enríquez, J., Carrillo-Avila, E., Osnaya-González, M. M., Alarcón, A., Ferrera-Cerrato, R., & Landeros-Sánchez, C. (2019). Inoculación de hongos micorrízicos arbusculares en el cultivo de *Helicona stricta*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(5), 1057-1069. https://doi.org/10.29312/remexca.v10i5.1608
- Vargas-Martínez, G., Betancourt-Galindo, R., Juárez-Maldonado, A., Sánchez-Vega, M., Sandoval-Rangel, A., & Méndez-López, A. (2023). Impact of NPsZnO and rhizospheric microorganisms on tomato growth and biomass. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 26(1), 1-12. http://doi.org/10.56369/tsaes.4332
- Velázquez, E., García-Fraile, P., Ramírez-Bahena, M. H., Rivas, R., & Martínez-Molina, E. (2017). Current status of the taxonomy of bacteria able to establish nitrogen-fixing legume symbiosis. En A. Zaidi, M. S. Khan, & J. Musarrat (Eds.), *Microbes for Legume Improvement* (pp. 1-43). Cham, Suiza: Springer International Publishing AG. https://doi.org/10.1007/978-3-319-59174-2\_1
- Villa-Castorena, M., Catalán-Valencia, E. A., Inzunza-Ibarra, M. A., Rodríguez, H. M., & Salcedo, M. R. J. (2021). Respuesta de frijol en estrés hídrico a la aplicación de osmoprotectores. *Agrofaz*, 3(2), 61-68.
- Vincent, J. M. (1970). A manual for the practical study of root-nodule bacteria (IBP Handbook No. 15). Oxford, Reino Unido: Blackwell Scientific Publishers.