



## Review [Revisión]

FACTORS AFFECTING THE NITROGEN FIXATION IN THE *Inga* spp.-RHIZOBIA SYSTEM IN SHADE COFFEE PLANTATIONS †[FACTORES QUE AFECTAN LA FIJACIÓN DE NITRÓGENO EN EL SISTEMA *Inga* spp. -RIZOBIOS EN CAFETALES DE SOMBRA]

Jorge Alejandro Velasco-Trejo<sup>1\*</sup>, Enrique Alarcón Gutiérrez<sup>1</sup>,  
José Antonio García-Pérez<sup>2</sup>, María del Rosario Pineda López<sup>1</sup>  
and Norma Flores Estévez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biotecnología y Ecología Aplicada, Universidad Veracruzana, Campus para la Cultura, las Artes y el Deporte, Cultura Veracruzana No. 101, Emiliano Zapata, 91090 Xalapa-Enríquez, Veracruz, México. Email: jorgealejandro.velasco@unach.mx\*, enalarcon@uv.mx, rpineda@uv.mx, nflores@uv.mx

<sup>2</sup>Facultad de Biología, Universidad Veracruzana, Circuito Gonzalo Aguirre Beltrán s/n, Zona Universitaria, C.P. 91090 Xalapa, Veracruz, México. Email: antoniogarcia01@uv.mx

\*Corresponding autor

## SUMMARY

**Background.** The results of a review on the factors that affect nitrogen fixation in the *Inga*-café system are presented. The nitrogen contribution that the *Inga* Miller tree genus provides to shade coffee plantations and the factors that affect its stability in biological nitrogen fixation are scarcely recognized. This work delves into the ecological factors and glyphosate herbicides that can affect the symbiosis of *Inga* spp. with diazotrophic bacteria in their roots (rhizobia), which form nodules and carry out biological nitrogen fixation. **Methodology.** Different information sources such as EBSCO, Scopus and Google Scholar were reviewed, with logical or Boolean data search. 183 papers were used to address the factors that affect the symbiosis between trees of the *Inga* genus and rhizobia. The findings were organized in: *Inga* Miller taxonomy, shade coffee plantations with *Inga* spp., symbiosis between *Inga* spp. and *Bradyrhizobium* spp., ecological factors that affect the functioning of the *Inga* spp.-rhizobia symbiosis and the agrochemical factor: glyphosate herbicide. **Results.** The genus *Inga* is recognized as a clade Mimosoideae nested in the subfamily Caesalpinioideae. Shade coffee plantations with *Inga* are established below 23° N and 30° S, up to 3,100 m.a.s.l. and the symbiont genus is predominantly *Bradyrhizobium* spp. whose ecological limits of *Inga* spp.-rhizobia were: altitude [988.7-1,381.5 m.a.s.l.], annual precipitation [2,048.4-2,064.36 mm], temperature [20.39-21.93 °C] and soil pH [4.88-5.42 pH]. Glyphosated herbicides, as an external stimulus, can reduce the benefit of biological nitrogen fixation and erode the soil by keeping it devoid of vegetation. Additionally, some *Bradyrhizobium* spp. (thiO gene), which oxidizes glyphosate to aminomethylphosphonic acid (AMPA), could be a potential glyphosate degrader in the soil. **Implications.** Shade coffee plantations with 205-250 trees per hectare of *Inga* spp. allow fixing around 45 kg of N ha<sup>-1</sup> year<sup>-1</sup>. This review may allow the adoption of new observational or experimental studies of the *Inga* spp.-rhizobia symbiosis, to approach the performance that favors the biological fixation of nitrogen in shade coffee plantations. **Conclusions.** The review indicates that there is a specific association between *Inga* spp. and *Bradyrhizobium* spp., that ecological factors, including the agronomic management with glyphosated herbicides can decrease nitrogen fixation performance during the symbiosis between *Inga* spp. and rhizobia. No systematic studies of the symbiosis-environment-agrochemical interaction in shade coffee plantations were found.

**Key words:** Fixation of nitrogen; diazotrophs; glyphosate; Ingeae.

## RESUMEN

**Antecedentes.** Se presentan los resultados de una revisión sobre los factores que afectan la fijación de nitrógeno en el sistema *Inga*-café. La aportación de nitrógeno que el género de árboles *Inga* Miller provee a cafetales de sombra y los factores que afectan su estabilidad en la fijación biológica de nitrógeno, son escasamente reconocidos. Este trabajo profundiza, en los factores ecológicos y herbicidas glifosados, que pueden afectar a la simbiosis de *Inga* spp. con bacterias diazotróficas en sus raíces (rizobios), que forman nódulos y realizan la fijación biológica

† Submitted April 5, 2022 – Accepted November 30, 2022. <http://doi.org/10.56369/tsaes.4317>



Copyright © the authors. Work licensed under a CC-BY 4.0 License. <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

ISSN: 1870-0462.

ORCID = J.A. Velasco-Trejo: <https://orcid.org/0000-0001-9729-2924>; E. Alarcón-Gutiérrez: <https://orcid.org/0000-0003-3686-820X>; J.A. García-Pérez: <https://orcid.org/0000-0002-9318-8799>; M.R. Pineda-López: <https://orcid.org/0000-0002-8306-2586>; N. Flores-Estévez: <https://orcid.org/0000-0003-0257-2806>

de nitrógeno. **Metodología.** Se revisaron diferentes fuentes de información como EBSCO, *Scopus* y *Google Scholar*, con búsqueda de datos lógicos o booleanos. Se utilizaron 183 trabajos para abordar los factores que afectan la simbiosis entre árboles del género *Inga* y rizobios. Los hallazgos se organizaron en: taxonomía de *Inga* Miller, cafetales de sombra con *Inga* spp., simbiosis entre *Inga* spp. y *Bradyrhizobium* spp., factores ecológicos que afectan el funcionamiento de la simbiosis *Inga* spp.-rizobios y el factor agroquímico: herbicida glifosato. **Resultados.** El género *Inga* es reconocido como clado Mimosoideae anidado en la subfamilia Caesalpinioideae. Los cafetales de sombra con *Inga* se establecen por debajo de los 23° N y 30° S, hasta los 3,100 m.s.n.m. y el género de simbionte preponderantemente es *Bradyrhizobium* spp. cuyos límites ecológicos de *Inga* spp.-rizobios fueron: altitud [988.7-1,381.5 m.s.n.m.], precipitación anual [2,048.4-2,064.36 mm], temperatura [20.39-21.93 °C] y pH del suelo [4.88-5.42 pH]. Los herbicidas glifosatos, como estímulo externo, pueden reducir el beneficio de fijación biológica del nitrógeno y erosionar el suelo al mantenerlo sin vegetación. Adicionalmente, se encontró que algunos *Bradyrhizobium* spp. (gen thiO), que oxida el glifosato a ácido aminometilfosfónico (AMPA), podrían ser un potencial degradador de glifosato en el suelo. **Implicaciones.** Los cafetales de sombra con 205-250 árboles por hectárea de *Inga* spp. permiten fijar alrededor de 45 kg de N ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>. Esta revisión podrá permitir adoptar nuevos estudios observacionales o experimentales de la simbiosis *Inga* spp.-rizobios, para acercarse al desempeño que favorezcan la fijación biológica de nitrógeno en cafetales de sombra. **Conclusiones.** La revisión orienta a que existe una asociación específica entre *Inga* spp. y *Bradyrhizobium* spp., que los factores ecológicos, incluyendo el manejo agronómico con herbicidas glifosatos pueden disminuir el desempeño en la fijación de nitrógeno durante la simbiosis entre *Inga* spp. y rizobios. No se encontraron estudios sistemáticos de la interacción simbiosis-ambiente-agroquímicos en cafetales de sombra.

**Palabras claves:** Fijación de nitrógeno; diazótrofos; glifosato; Ingeae.

## INTRODUCCIÓN

Se presentan los resultados de una revisión sistemática sobre los factores que afectan la fijación de nitrógeno en el sistema Inga-café. Para ellos se revisaron diferentes fuentes de información como EBSCO, *Scopus* y *Google Scholar*, con búsqueda de datos lógicos o booleanos.

En ecosistemas cafetaleros de América, es común el uso de *Inga* spp. como árboles de sombra (Brewbaker, 1987; Leblanc *et al.*, 2006; Staver *et al.*, 2020) los cuales son apreciados en las Antillas (Possette y Rodrigues, 2010), en México (Escamilla *et al.*, 1994; Soto-Pinto *et al.*, 2000; Romero-Alvarado *et al.*, 2002; Grossman *et al.*, 2006; López-Gómez *et al.*, 2008; Ávila Bello and Zamora Moreno, 2010; Ruiz-García *et al.*, 2020) y Centro América (Souza, 1993; Lawrence *et al.*, 1994; Blanco and Aguilar-Carrillo, 2015; Staver *et al.*, 2020). Una de las razones de preferir este árbol de la familia Leguminosae (Fabaceae), es la ventaja que confiere al cafetal la asociación simbiótica entre leguminosas y rizobios, ya que la evolución de algunos linajes de las angiospermas estableció la coevolución de la simbiosis mutualista entre leguminosas (Taiz y Zeiger, 2006) y bacterias que fijan nitrógeno (N) atmosférico (Fujita *et al.*, 1992) en estructuras que se desarrollan en las raíces denominadas nódulos (LPWG, 2017); lo que implica suministro de energía de un socio al otro (Smith *et al.*, 1969). La fijación biológica de nitrógeno (FBN) es realizada por organismos procaríóticos (diazótrofos), estas bacterias reducen el N a amoniaco (NH<sub>3</sub>) gracias a la enzima nitrogenasa (dos Santos *et al.*, 2012; Ormeño-Orrillo *et al.*, 2013). La FBN introduce, cada año, aproximadamente 40 millones de toneladas de N en suelos agrícolas (Herridge *et al.*, 2008). Así, la FBN puede ser utilizada en los cafetales de sombra y reducir la dependencia de la aplicación de fertilizantes

nitrogenados sintéticos para mejorar el rendimiento de estos. El beneficio de la FBN es valorado por los agricultores en términos de “mejorar el suelo”, sin comprenderse bien el mecanismo de fertilización nitrogenada natural a través de la hojarasca; se ha reportado que la aplicación de 145 kg ha<sup>-1</sup> de hojarasca de *I. edulis* aporta 50 kg N ha<sup>-1</sup> después de 20 semanas de descomposición (Leblanc *et al.*, 2006). Esto podría disminuir la fertilización nitrogenada sintética (Porto *et al.*, 2017) al cafetal, considerando que una tonelada de cereza de café remueve c.a. 30 kg N ha<sup>-1</sup> (Willson, 1985).

El género *Inga* Miller, pertenece al clado Mimosoideae, tribu: Ingeae, en la subfamilia Caesalpinioideae (Andrews and Andrews, 2017), son árboles tropicales cuyos principales simbioses son rizobios del género *Bradyrhizobium* spp. (Parker, 2015) y muestran preferencia por el suelo aluvial o el suelo residual menos fértil de origen volcánico (Oxisoles; (Palow *et al.*, 2012). Es un árbol inerme, hojas alternas, estipuladas, pinnadas y paripinadas; inflorescencia en fascículos o paniculadas con flores uniformes, en racimos con espigas o umbelas, sésiles, cáliz sin sépalos estambres monadelfos; fruto aplanado, tetragonal, curvado, glabra a pelosa; semillas carnosas y oblongas cubiertas de tejido endocarpio suculto, con cotiledones bien desarrollados y la germinación generalmente ocurre en el fruto (Sousa, 1993) y son usados preponderantemente como sombra en cafetales (Romero-Alvarado *et al.*, 2002) i.e. en Chiapas *Inga vera* e *I. oerstediana* con 73% (Peeters *et al.*, 2003), en Veracruz *I. vera* con 60% (Reyes *et al.*, 2020), en Oaxaca *I. jinicuil* Schltdl con 90% (Hernandez *et al.*, 2012), con algún tipo de control de arvenses, manual y/o químico (Nolasco *et al.*, 1985; Moguel y Toledo, 1999; Staver *et al.*, 2020). La mejora del proceso de fijación de N atmosférico (N<sub>2</sub>), mediante la simbiosis *Inga* spp.-rizobios, en cafetales de sombra, implica integrar un

entendimiento más claro sobre las condiciones ambientales y del uso de herbicidas glifosados que limitan la simbiosis (Ruiz-García *et al.*, 2020). Para esto, de enero 2021 a febrero del 2022, se realizó una revisión sistemática de acuerdo a Ferreira González *et al.*, (2011). La revisión uso 210 referencias, y la búsqueda explícita arrojó 183 estudios, 79 artículos se usaron para la construcción de tablas y figuras, se incluyó un metanálisis de 20 estudios en seis países con 5 especies de *Inga*, que estableció intervalos de confianza de factores ecológicos. La revisión expuso un marco teórico, para profundizar, en lo posible, en los factores ecológicos, particularmente del suelo (nutrientes), y herbicidas glifosados, que pueden afectar el desempeño funcional de los sistemas simbióticos entre *Inga* spp. y rizobios en cafetales de sombra.

## METODOLOGÍA

Se realizó una revisión sistemática (Ferreira González *et al.*, 2011), en cuatro momentos (Tabla 1): I) búsqueda estructurada y explícita, II) selección con base en criterios explícitos, III) evaluación de calidad de la información, (cualitativa y cuantitativa) y IV) inferencias con base en la evidencia.

### Clasificación taxonómica de *Inga* Miller

En la revisión realizada por Andrews y Andrews (2017), *Inga* Miller pertenece al clado Mimosoideae,

tribu: Ingeae, en la subfamilia Caesalpinioideae. Ellos establecen que Leguminosae (Fabácea, la familia leguminosa) se divide en tres subfamilias; la Caesalpinioideae, Mimosoideae y la Papilionoideae. Para Caesalpinioideae sus integrantes se agrupan en cuatro tribus; Caesalpinieae, Cassieae, Cercideae y Detarieae. La Mimosoideae agrupa a dos tribus, la Ingeae y Mimoseae. Mientras que la Papilionoideae agrupa 28 tribus. Sin embargo, en 2017 el Grupo de Trabajo de Filogenia de Leguminosae (LPWG, 2017) propone una nueva clasificación de subfamilias, cuya monofilia de la familia leguminosae está fuertemente respaldada en todos los análisis filogenéticos moleculares, independientemente del taxón o del muestreo genético, la familia refleja la estructura filogenética que se resuelve consistentemente y reconoce seis subfamilias en Leguminosae: Duparquetioideae, Cercidoideae, Detarioideae, Dialioideae, Caesalpinioideae (incl. Subfamilia (clado) Mimosoideae, 146/148 géneros, 937/ca. 4,400 especies) y Papilionoideae. La subfamilia Mimosoideae tradicionalmente reconocida, ahora es un clado distinto anidado dentro del Caesalpinioideae inscrito recircular, y se conoce informalmente como el clado (subfamilia) Mimosoideae en espera de una próxima clasificación tribal formal y/o basada en clados de la nueva Caesalpinioideae (Ardley y Sprent, 2021).

Tabla 1. Estrategia de búsqueda y descripción de los cuatro momentos de la revisión de literatura

Momento	Descripción
I) Búsqueda estructurada y explícita	En los cafetales con sombra de <i>Inga</i> spp. y aplicación de herbicidas glifosados, ¿Cuáles factores ecológicos pueden afectar la simbiosis entre <i>Inga</i> spp. con bacterias diazotróficas que forman nódulos en sus raíces?
II) Selección con base en criterios explícitos	<p><b>a. Tipos de documentos que incluidos:</b>            Informes de investigación, libros, artículos en revistas indexadas, memorias de tesis doctorales y de maestría relacionadas con la pregunta de investigación.</p> <p><b>b. Palabras clave y expresiones booleanas:</b>            A) "<i>inga</i>" AND ("<i>fixation</i>") AND (<i>nodule</i>) AND NOT (<i>mycorrhizal</i>)            B) "<i>coffee plantation</i>" AND (<i>inga</i>) AND NOT (<i>mycorrhizal</i>)            C) "<i>inga vera</i>" AND (<i>nitrogen</i>).</p> <p>La búsqueda se depuró manualmente para establecer que la palabra "Inga" siempre se refiriera a la especie arbórea, particularmente en el Continente Americano e islas del Caribe</p> <p><b>c. Fuentes de información:</b>            La búsqueda se realizó en la base de datos EBSCO (Biblioteca ORTON) mediante la cual se tuvo acceso a publicaciones de <i>Springer</i> y se complementó la búsqueda con <i>Scopus</i> y <i>Google Scholar</i>.</p> <p><b>d. El período en que se realizó la búsqueda:</b>            Enero 2021 – febrero 2022</p>
III) Evaluación de calidad de información (cualitativa y cuantitativa)	<p><b>Análisis cualitativo:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Grado de contribución del documento a la pregunta de investigación.</li> </ul> <p><b>Análisis cuantitativo:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Metaanálisis de variables ecológicas cuantitativas registrados en los artículos para obtener intervalos de confianza (altitud, temperatura, precipitación media anual y pH)</li> </ul>
IV) Inferencias con base en la evidencia	<p><b>Síntesis de evidencias</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Construcción de tablas que agruparon evidencias registradas en los artículos</li> <li>Transformaciones de datos a unidades similares.</li> </ul>

(Ferreira González *et al.*, 2011; Melgarejo *et al.*, 2020)

### Cafetales de sombra con *Inga* spp.

La distribución del uso de *Inga vera* en plantaciones agroforestales está por debajo de los 23° Norte y 30° Sur, aproximadamente y se han registrado al menos 33 especies del género *Inga* como árboles neotropicales de sombra en cafetales (Lawrence *et al.*, 1994).

Los cafetales de sombra han sido clasificados por: estructura, arreglo de especies, y actividades culturales (Nolasco *et al.*, 1985; Moguel y Toledo, 1999; Staver *et al.*, 2020), que involucran fertilización química o compostaje y control de arvenses con herramientas manuales o el uso de herbicidas (Bellamy, 2011; Staver *et al.*, 2020). Con base en la clasificación de Moguel y Toledo (1996), los cafetales de sombra que se categorizan dentro del *policultivo comercial* y del *monocultivo bajo sombra*, tienen alta representatividad en el centro de Veracruz y norte de Puebla. De acuerdo con estos autores, los sistemas del bosque original han sido removidos y la sombra ha sido sustituida por especies leñosas de leguminosas, principalmente del género *Inga*, que añaden nitrógeno al suelo.

En los cafetales de sombra, el manejo sin fertilizantes y pesticidas mejora las propiedades microbiológicas del suelo y alberga una comunidad microbiana más eficiente, en comparación con manejos que usan agroquímicos y pesticidas (Paolini Gomez, 2018). La mayor parte de las prácticas culturales en términos de fertilización, pesticidas, poda, control de sombra y arvenses, están destinadas al mantenimiento de los cafetos (*Coffea arabica*; Yépez *et al.*, 2002; Salgado *et al.*, 2004). Dos elementos frecuentes en los cafetales de sombra del centro de Veracruz, México son *Inga* spp. y plantas de plátano (*Musa* spp.; Figura 1). El plátano se integra, a veces, por el valor económico de sus frutos y hojas, ante el bajo precio del café (Manson, 2008; Gómez-Martínez *et al.*, 2018; Hernández-Sánchez y Nava-Tablada, 2018). Mientras que *Inga* spp. se establecen como monoestrato de los cafetales de sombra (Figura 2), quizás estos modifiquen algunas propiedades del suelo que favorezcan la asociación simbiótica entre leguminosas y rizobios, ventaja reconocida por agricultores como “mejora de suelo” (Lawrence *et al.*, 1994).

En los cafetales de sombra sobresale la especie *I. vera* por su crecimiento rápido, fácil poda, rebrote rápido en ramas horizontales después de poda, raíz abundante, buen impacto a la fertilidad del suelo, retención de suelo y humedad, además de su uso como leña (Cerdán *et al.*, 2012; Reyes *et al.*, 2020), con respecto a los cafetales expuestos a pleno sol (Tully *et al.*, 2012). Las especies de *Inga* se prefieren debido a su tolerancia a suelos poco drenados o ácidos (Franco y De Faria, 1997). En México el uso de *Inga* spp. fue promovido por el Instituto Mexicano del Café (IMECAFE) (Nolasco *et al.*, 1985), i.e. *Inga* spp. son utilizados permanentemente

en la Sierra Norte de Puebla (Moguel y Toledo, 1996), y en la zona centro del estado Veracruz (López-Gómez *et al.*, 2008), en esa zona la cobertura arbórea con *I. vera* en cafetales de Coatepec y Xico, fue del 37% (Gómez-Martínez *et al.*, 2018) y en Ixhuatlán del Café del 60% (Reyes *et al.*, 2020). Aunado a esto, en los sistemas agroforestales de café en América continental y el Caribe, la presente revisión registró 15 especies de *Inga* (Tabla 2). Así, se puede interpretar que los árboles de *Inga* spp. son preponderantes en la preferencia de los agricultores, porque se adaptan a las condiciones ecológicas (luz, humedad y temperatura) que requieren en el sistema de café de sombra, además de contribuir al ciclo del nitrógeno a través de la FBN.

### Simbiosis entre *Inga* spp. y *Bradyrhizobium* spp.

La asociación simbiótica en las raíces comienza a través de un intercambio de señales (flavonoides) entre el simbionte (rizobio) y el hospedero (*Inga* spp.) Los flavonoides funcionan como quimioatrayentes que el rizobio reconoce para determinar el punto de infección en la raíz (Downie, 2014; Gross & Bhattacharya, 2009; Peck *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2018). Los rizobios entonces sintetizan lipochitoooligosacáridos conocidos como Factores Nod (FacNod; Catoira *et al.*, 2000; Taiz y Zeiger, 2006). Esta etapa puede implicar la especificidad en el reconocimiento que hace la planta hospedera respecto del tipo de rizobio (Downie, 2014; Liu y Murray, 2016). Esto induce a la organogénesis del nódulo (Oldroyd y Downie, 2008) y los pelos radicales se doblan con las bacterias dentro de un bucle (Bianco, 2020). Con esto se inicia la formación de hilos de infección que guían a las bacterias, dando lugar a un nódulo emergente –nódulo joven sin actividad de fijación de N– (López y Mora, 2006; Downie, 2014). Los rizobios dentro del nódulo se diferencian en bacteroides, formando así el simbiosoma que será la unidad funcional fijadora de N<sub>2</sub> convirtiéndose en un nódulo maduro (López y Mora, 2006; Oldroyd y Downie, 2008). La nodulación efectiva y FBN se establece con la biosíntesis de la leghemoglobina (Du *et al.*, 2020) que le confiere un color rosa o rojizo al interior del nódulo (Cardoso *et al.*, 2020; Du *et al.*, 2020), la cual es sensible a la presencia de oxígeno y, por tanto, se produce bajo condiciones anaerobias (Vikman y Vessey, 1993). Una vez que el área infectada se vuelve verdosa-gris, sugiere la senescencia de la enzima (Tajima *et al.*, 2007; Dupont *et al.*, 2012). En etapas posteriores, las especies de leguminosas producen nódulos que se clasifican, por su hábito de crecimiento en determinados e indeterminados (Sprent *et al.*, 2013). El proceso de FBN, tal vez es más o menos sensible en alguna de las etapas, ante las condiciones de luz, humedad y temperatura, por lo que es pertinente indagar en mayor profundidad lo que sucede en los cafetales de sombra.



Los nódulos indeterminados presentan varios estados de desarrollo en un mismo nódulo, debido a que el tejido meristemático genera continuamente células nuevas que son colonizadas e infectadas otorgando una forma elongada al nódulo (Gage, 2004; Rodríguez-Haas *et al.*, 2013). En cambio, los nódulos determinados sólo tienen un meristemo transitorio, en el que el primordio se forma en la corteza externa de la raíz y la actividad mitótica cesa durante la actividad de fijación de  $N_2$ , y toman una forma esférica (Corby, 1988; Dupont *et al.*, 2012). En plantas perennes (árboles), los nódulos pueden durar meses y también pueden volverse lobulados, lo que indica que sus meristemos permanecen activos (Sprent y Sprent, 1990; Sprent, 1995; Sprent *et al.*, 2017).

La simbiosis entre *I. vera* y *Bradyrhizobium* spp. (Menna y Hungria, 2011; Rhem *et al.*, 2021) forma nódulos determinados (dos Santos, 2010; Caltran, 2012) e indeterminados (Caltran, 2012; Marchetti *et al.*, 2017). La expansión celular es la responsable del aumento del tamaño del nódulo y no la división celular, la cual se detiene cuando se inicia el proceso de fijación de  $N_2$  (Geurts y Franssen, 1996). Por ejemplo, para *Inga* spp. el tamaño de los nódulos en simbiosis con *Rhizobium* y *Burkholderia* fue de 2-4 mm diámetro (Góes *et al.*, 2015; Marchetti *et al.*, 2017). Para *I. oerstediana*, nódulos de diámetro menores a 5 mm (Corby, 1988), en *Inga sessilis* (Vell.) Mart., con *Bradyrhizobium* spp. y *R. tropici*, el tamaño de los nódulos fue de 2-4 mm y de 3-5

mm, respectivamente (Caltran, 2012). En *I. vera*, el tamaño los nódulos fue de 0.1-10 mm de largo, y entre 5-10 mm de ancho tanto para nódulos con *Bradyrhizobium* spp. y *Rhizobium tropici*, respectivamente (dos Santos, 2010).

En el nódulo maduro, las bacterias diferenciadas fijan  $N_2$  a través de la enzima nitrogenasa, que consiste en:  $N_2 + 8H^+ + 8e^- + 16ATP = \text{nitrogenasa} \rightarrow 2NH_3 + H_2 + 16ADP + 16P_i$ . La reducción de la molécula de  $N_2$  a dos moléculas de  $NH_3$  requiere de ocho protones de hidrógeno ( $H^+$ ) y electrones ( $e^-$ ), que liberan una molécula de hidrógeno ( $H_2$ ), como fuente de energía 16 moléculas de trifosfato de adenosina (ATP) que se convierten en 16 moléculas de adenosín difosfato (ADP) y de fosfato inorgánico ( $P_i$ ) (Taiz y Zeiger, 2006; Nygren *et al.*, 2012). Para el caso leguminosas tropicales como lo es *Inga* (Geurts y Franssen, 1996; Sprent, 2007), las dos moléculas de  $NH_3$ , son utilizadas por la planta en forma de ureidos o aminoácidos.

Para un cafetal de sombra mono estratificado de *Inga* spp. a una altitud de 1,225 m.s.n.m., se ha reportado que la simbiosis con rizobios puede aportar al sistema 23-45 kg N ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>, para *Inga jinicuil* Schltld (Kessel *et al.*, 1983). Mientras que en Costa Rica para *I. edulis* se registró un porte de 44 kg N ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> (Leblanc *et al.*, 2006).



**Figura 1.** Árboles de *I. vera*, cafetos de la especie *C. arabica* y plantas de plátano del género *Musa*. (Foto: autores)



**Figura 2.** Plantación de café bajo sombra de *I. vera* (Foto: autores)

Respecto al retorno de nutrientes, *Inga* spp. en Barro Colorado, Panamá, en bosques perturbados (actividades humanas) se registró un aporte de 180 kg N ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> y algunos claros de bosques maduros fue de 210 kg N ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>, pero en los suelos con alto contenido de N de los bosques maduros sin claros (que no han sido perturbados por actividades humanas ni huracanes) se registró un aporte de 10 kg N ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> (Barron *et al.*, 2011). En sistemas de cafetal de sombra (Tabla 2) se pueden observar valores de 54 a 145 kg N ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>, para el caso de seis especies de *Inga* (Leblanc *et al.*, 2006; Siles *et al.*, 2010; Mamani-Pati *et al.*, 2012; López-Rodríguez *et al.*, 2015). En Puerto Rico la tasa de mineralización de N de la hojarasca bajo cafetales de sombra de *Inga* spp. fue de 159 kg N ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> (Hobbie, 1992; López-Rodríguez *et al.*, 2015). En la hojarasca de *Inga adenophylla* Pittier e *I. oerstediana* registraron valores de 9, 1, 2, 7, 0.7 y 1.2 kg ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> de N, P, K, Ca, Mg, y S, respectivamente, y en cafetales de Bolivia con 76% de sombra, *I. adenophylla* e *I. oerstediana*, aportaron 3.2 y 2.6 t ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> de biomasa de hojarasca, respectivamente (Mamani-Pati *et al.*, 2012). Por lo que *Inga* spp., al incrementar la biomasa de hojarasca, mejora de alguna manera el ciclo de nutrientes, no solo del N, sino también de las propiedades físicas del suelo.

Algunos rizobios suelen ser específicos para la planta hospedera (Fernández-Pascual, 2002). Así, se le atribuye especificidad simbiótica a *Bradyrhizobium* spp. con *Inga* spp. por la magnitud del agrupamiento filogenético de 16/54 géneros de *Bradyrhizobium* spp. que corresponden a *Inga* spp. (Parker, 2015). También se han registrado especies del género *Burkholderia* con *Inga* spp. en Santa Catarina, Brasil (Marchetti *et al.*, 2017). Respecto a *Rhizobium* spp. y *Bradyrhizobium* spp. estas pertenecen al grupo de bacterias gram-negativas quimioorganótrofas (Michel *et al.*, 2017), son los géneros de bacterias fijadoras de nitrógeno que comprenden la mayoría de la población microbiana de los nódulos de leguminosas, tanto  $\alpha$ -*Rhizobia* (miembros de la *Alphaproteobacteria*, por ejemplo, *Rhizobium* y *Bradyrhizobium*) como  $\beta$ -*Rhizobia* (*Betaproteobacteria*, por ejemplo, *Cupriavidus* y *Burkholderia*), son las más conocidas y estudiadas formadoras de nódulos en leguminosas (Gyaneshwar *et al.*, 2011).

Martínez-Romero y Caballero-Mellado (1996) afirman que la especificidad de leguminosas rastreras sucede con mayor facilidad cuando la leguminosa es originaria del lugar de los mismos suelos donde se encuentran los rizobios. Estudios en humedales (Pereira-Gómez *et al.*, 2020), concluyeron que la planta hospedera, así como el ambiente, son factores clave que impulsan la especificidad en la asociación simbiótica entre leguminosas y rizobios en la naturaleza, y que cada especie de leguminosa alberga un género específico de rizobio. Así que *Inga* spp. tal vez se desarrollará

mejor si en los suelos existen rizobios específicos, lo que favorecerá un mejor desempeño de la simbiosis en la FBN.

El principal rizobio asociado con *Inga* spp. es *Bradyrhizobium* spp., i.e. *Inga edulis* Mart, *Inga marginata* Willd., *Inga thibaudiana* DC., *Inga samanensis* L. Uribe, *Inga laurina* Willd., *I. oerstediana* e *I. vera* (Andrews and Andrews, 2017; Faria and Silva, 2007; Grossman *et al.*, 2006; Leblanc *et al.*, 2005; Pereira-Gómez *et al.*, 2020; de Silva *et al.*, 2014). En el caso de *I. laurina*, en el Cerrado de la región Amazónica, se registró la especie *Bradyrhizobium* novedosa a la que se le denominó *B. ingae* sp. nov., y de la cual se registraron seis cepas (de Silva *et al.*, 2014). Los *Bradyrhizobium* son particularmente dominantes en el centro de Sudamérica, donde nodulan en leguminosas endémicas que crecen en los suelos ácidos y estacionalmente secos (Fonseca *et al.*, 2012). En otro estudio, *Bradyrhizobium ingae* extraída de nódulos de *I. laurina* exhibió una efectividad superior al 100% en la nodulación en experimentos con *I. edulis* (Porto *et al.*, 2017). Recientemente se registraron ocho especies de bacterias aisladas de nódulos de *I. vera* y todos pertenecían al género *Bradyrhizobium* (Pereira-Gómez *et al.*, 2020) concluyendo sobre una asociación específica entre *I. vera* y *Bradyrhizobium* spp. Por tanto, se indica que el factor planta hospedera es determinante en los rizobios para que se establezca la simbiosis.

El género *Bradyrhizobium* spp. es el principal tipo de simbionte aislado de leguminosas “basales”, nodulados de las Caesalpinioideae (Parker, 2015), esto es congruente con la nueva clasificación propuesta por *The Legume Phylogeny Working Group* (LPWG, 2017) que incluye a la subfamilia Mimosoideae (tribu: Ingeae, género: *Inga*) como clado anidado dentro del Caesalpinioideae. Andrews y Andrews (2017) concluyen que la transferencia lateral de genes de simbiosis específica, dentro de géneros de rizobios es un mecanismo que permite que las especies leguminosas mantengan la especificidad con especies de rizobios, debido a que los genes específicos de simbiosis permiten que leguminosas con cepas específicas puedan asociarse en hábitats particulares. Esta condición quizás permite que *Inga* spp. se adapte en distintos cafetales de sombra en América, ya que son manejadas sin o con uso de agroquímicos.

En Rhondonia, Brasil, se aislaron 40 rizobios de 10 especies de *Inga*, de los cuales dos *Bradyrhizobium* spp. fueron de *I. vera*, la cepa BRUESC450 y BRUESC441 (Rhem *et al.*, 2021). En Costa Rica, evaluaron rizobios aislados de *Inga edulis* con un 96% de similitud (BLAST) para verificar su nodulación con *B. japonicum* (Leblanc *et al.*, 2005). En la amazonia brasileña, registraron una nueva especie de rizobio, la nombraron *Bradyrhizobium forestalis* sp. nov. de *Inga* spp. (Martins da Costa *et*

al., 2018). En Cerrado, Brasil se registró *Bradyrhizobium ingae* sp. nov. presentada como una nueva especie en aislados de *Inga laurina* (de Silva et al., 2014). Ante esto cabría esperar que los rizobios que establecen simbiosis con *Inga* spp. en cafetales de sombra son distintos *Bradyrhizobium* spp.

A la luz de los estudios expuestos, para que la asociación simbiótica entre leguminosas y rizobios suceda (entre *Inga* spp. y *Bradyrhizobium* spp.) debe existir en el suelo al menos el rizobio que filogenéticamente corresponda a *Inga* spp., después las condiciones favorables de humedad (50%) y temperatura (20 °C), luego condiciones de suelo con bajo contenido o ausencia de N en forma de NO<sub>3</sub>, un mínimo de sombra, entre otros factores que se mencionan más adelante.

El simbiote de *Inga* spp. que se podría esperar en cafetales de sombra es *Bradyrhizobium* spp., aunque son requeridos estudios específicos que lo corroboren. Se espera que en los cafetales de sombra se favorezca la sinergia que propicie el mejor desempeño de la simbiosis y el consecuente beneficio del ciclo de nutrientes, principalmente el N.

#### **Factores ecológicos que afectan el funcionamiento de la simbiosis *Inga* spp.-rizobios**

Los estímulos externos que dañan o no a un sistema ecológico se debe a factores tensionantes (Barrera-Cataño and Valdés-López, 2007), estos factores son bióticos, abióticos y sus interacciones en un espacio y tiempo determinado (Fauth, 1997). Los cafetales de sombra se pueden tipificar como ecosistemas transformados a cultivo permanente con árboles (sistemas agroforestales), cuya función es de sustento productivo y equilibrio ecológico para el bienestar económico y disponibilidad de nutrientes, respectivamente (Castañeda Camacho, 2014). El sistema de cafetal de sombra con *Inga* spp. establece una relación mutualista con rizobios que implica un mutuo beneficio que proporciona un servicio ecosistémico esencial en el ciclo del N gracias a la simbiosis (Traveset, 2015). La interacción ecológica en los cafetales de sombra son numerosas, cuya resultante puede manifestarse de complementariedad (positiva), de competencia (negativa) o neutral (sin efectos) (Farfan-Valencia, 2014). Los factores ecológicos como la temperatura, luz y humedad, los edáficos como fertilidad del suelo y ciclo de nutrientes, tienen efecto directo en las interacciones del sistema cafetal de sombra i.e. la temperatura en latitudes de 15° N es de 20-30°C, y a los 30° N disminuye a 5-20°C (Tselioudis et al., 1992); la temperatura a 1,000 m.s.n.m. es de 20-25°C, y a los 2,000 m.s.n.m. disminuye a 15-20°C (Aigang et al., 2009). La relación entre el efecto de la latitud y altitud podría ser útil para comprender cómo los factores ecológicos de temperatura, luz y humedad afectan el funcionamiento de la simbiosis entre *Inga* spp.-rizobios, ante las distintas topografías

y tipos de suelo en los que se establecen los cafetales de sombra.

Estudiar los factores ecológicos que afectan el funcionamiento de la simbiosis entre *Inga* spp.-rizobios en cafetales de sombra es complejo. Los árboles de sombra en cafetales intervienen en los procesos directos en la regulación biológica como: a) incremento o decremento de microorganismos benéficos i.e. rizobios, b) efectos alelopáticos i.e. disminución de arvenses, c) reservorio de organismos dañinos a los cultivos como el café, y d) efecto sobre microclimas (Ratnadass et al., 2012) o indirectos en las plantas de café, principalmente al mejorar la nutrición del café i.e. ciclo del N (Sauvadet et al., 2019). La sola presencia de árboles leguminosas y rizobios no garantiza la FBN (Barron et al., 2011), y si la hubiera solo debería beneficiar al individuo que la gestiona hasta el punto de co-limitación (Hedin et al., 2009), aunque la hojarasca de árboles leguminosas en el cafetal impactan en la disponibilidad de nutrientes en el suelo (Sauvadet et al., 2019), los rizobios ajustan las tasas de fijación según el suministro de N (Faria et al., 1989, 2010; Justino et al., 2017).

Las condiciones tropicales y subtropicales determinan el ámbito de distribución de *Inga* spp. Los árboles de leguminosas son escasos en bosques de latitud mayor a 35° a nivel mundial (Adams et al., 2010; Menge et al., 2014). Estos límites latitudinales, sugieren la existencia de restricciones ecológicas que funcionan en escalas de tiempo evolutivas, inhibiendo la especiación o causando la extinción en latitudes superiores a 35° Norte o Sur, no así en las regiones tropicales (Menge y Crews, 2016). En el hemisferio sur, árboles del género *Inga* tienen como centro de diversidad a Brasil (Menna y Hungria, 2011). Las latitudes superiores a 35° presentan condiciones ambientales como la sequía, el aumento o disminución de la temperatura respecto a su ubicación geográfica, lo que lleva a suprimir el crecimiento y actividad de la simbiosis entre leguminosas y rizobios (Shrivastava et al., 2020).

Lo anterior parece tener relación con la temperatura del suelo, considerando que los rizobios y los bacteroides dentro de los nódulos son sensibles a temperaturas menores de 10°C (Weber y Miller, 1972) o mayores a 33°C al detener la fijación de N<sub>2</sub> con *Bradyrhizobium japonicum* (Hungria y Franco, 1993). También, se registra que la altitud limita el establecimiento de leguminosas a partir de los 3,100 m.s.n.m. (Ceroni Stuva, 2003). En Chemillén Perú, se establecieron zonas con un decremento del número de especies de *Inga* respecto a la altitud: 300-800 m.s.n.m. [31 especies]; 800-1,800 m.s.n.m. [24 especies] y en 1,800-2,500 m.s.n.m. [11 especies] (Vera y Lina, 2016). En cafetales de México, *Inga vera* Willd., se ubica a 900 m.s.n.m. en Chiapas (Ávila Bello y Zamora Moreno, 2010), en Costa Rica, *Inga oerstediana* Benth registró a 2,050 m.s.n.m. (Villalobos y Pennington, 2001) y en

Bolivia hasta los 3,500 m.s.n.m. (Mamani-Pati *et al.*, 2012). De modo que el género *Inga* tiene límites para su establecimiento tanto en latitud como altitud (Friis *et al.*, 2005). Por ejemplo, *I. vera* está restringida a climas tropicales y subtropicales (Rodríguez, 1990). Esta condición permite que *I. vera* se establezca también en bosques de baja altitud (Hedin *et al.*, 2009). Sin embargo, se desconoce si a esas altitudes la actividad simbiótica entre leguminosas y rizobios se mantiene o deja de funcionar la FBN.

La comprensión integrada de factores ecológicos, nutrientes minerales esenciales para la simbiosis leguminosa-rizobios en el rango de distribución de *Inga* spp. en cafetales de sombra, más la aplicación de fertilizantes nitrogenados y herbicidas (Tabla 2, 3, 4, 5 y 6), establecen un marco teórico que abre posibilidades a la intervención para procurar el mejor desempeño de la asociación simbiótica entre leguminosas y rizobios, en función del beneficio productivo y ecológico del sistema cafetal de sombra.

En el metaanálisis realizado, los árboles de *Inga* spp. en cafetales (Tabla 2) se ubicaron los intervalos de confianza ( $t_{0.05}$ ) para las siguientes variables ecológicas: altitud [988.7-1,381.5 m.s.n.m.], precipitación anual [2,048.4-2,064.36 mm], temperatura [20.39-21.93 °C] y pH del suelo [4.88-5.42 pH]. Respecto al pH, el óptimo para *Bradyrhizobium* spp. está en 4 a 6.5 y durante la simbiosis tolera condiciones de pH menores a 5 para formar nódulos y fijar N<sub>2</sub> (Tabla 3). Se podría afirmar que los valores de estas variables representan parte de las dimensiones óptimas para el establecimiento de la asociación simbiótica entre leguminosas y rizobios.

Los cafetales de sombra reciben estímulos externos que quizás disturban las condiciones para el desempeño de la asociación simbiótica entre leguminosas y rizobios, esto es lo que quizás se observó con *I. jinicuil*, cuando Roskosky y Kessel (1985) registraron que con precipitaciones de 325 y 410 mm, julio y octubre, la fijación de N<sub>2</sub> medida con el ensayo de reducción de acetileno fue de 3.9 y 4.9  $\mu\text{mol N}_2 \text{ g n\u00f3dulo}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , respectivamente (Tabla 2), quizás la mayor humedad favoreció la nodulación y fijación de N<sub>2</sub>, esto coincidió con Faria *et al.* (2010) quienes registraron incremento en la nodulación entre *I. vera*, *I. acuminata* Benth., *I. duckei* Huber, e *I. velutina* Willd. con *Bradyrhizobium* spp. en suelos inundados. Algo similar sucede con leguminosas rastreras o de ciclo anual que en suelos inundados o el incremento en la humedad, aumentó la biomasa y fijación de N<sub>2</sub> para *Medicago sativa*-*Sinorhizobium meliloti* (Tabla 3) en 41% (23→39 mg) y 100% (7.1→14.3  $\mu\text{mol N g Nod}^{-1} \text{ seco}$ ), respectivamente. Lo que quizás establece que la humedad es un factor que favorece el desempeño de la simbiosis entre *Inga* spp.-rizobios.

En la tabla 3, Myster (2011) concluye que la luminosidad de 50 a 100% (luz solar) incrementa la biomasa del nódulo de 0.01 a 0.8 g y la biomasa vegetal, de 9.8 a 11.2 g planta<sup>-1</sup> en *I. vera*, tal vez esto se explique porque *I. vera* fue capaz de capturar entre 50 y 55% de la radiación fotosintéticamente activa al extender su copa en áreas abiertas en respuesta al ambiente (de Almeida y Viani, 2019), dada su plasticidad morfológica (Van de Peer *et al.*, 2017). También en claros de luz del bosque primario se registró mejor crecimiento de brotes de *I. vera*, pero no bajo la condición de sombra (Myster, 2011). El factor luz es un componente en la regeneración vegetal (Kobe, 1999), e *Inga* spp. quizás sea eficaz al aprovechar la luz de los claros, ya que Porto *et al.*, (2005) registraron en *I. edulis* 200 nódulos por planta bajo invernadero a 28 °C, 50% luz y 100% de humedad, y Myster (2011) reportó 3 g más de biomasa vegetal a 100% de luz vs 20%; por lo que se podría esperar que de 50-100% de luz son condiciones ambientales que favorecen la nodulación y fijación de N<sub>2</sub> en *Inga* spp. semejantes a las condiciones de luz en las latitudes menores a 30° N y S, de los cafetales de sombra, siempre que el N sea un factor limitante en el suelo (Taylor y Menge, 2018). La resultante de estas interacciones está sujeta a condiciones dinámicas del clima, especie de leguminosa, ubicación espacial de los cafetales de sombra y época del año, lo que establecerá un momento para el desempeño de la simbiosis leguminosa-rizobios cuya valoración es compleja para determinar algún tipo de intervención, por lo que se requiere precisar causas ecológicas del sistema café de sombra con *Inga* spp., quizás entonces se favorezca el desempeño en la FBN.

Estudios en la tribu Ingeae son escasos respecto en sus parámetros ecológicos, sin embargo, la simbiosis registrada entre leguminosas de ciclo anual con *Rhizobium* spp. y *Bradyrhizobium* spp. (Tabla 4), establecieron su óptimo de temperatura en el rango 25-33°C y 25-30 °C, respectivamente. Los límites de temperatura para *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* que retrasen o inhiban la simbiosis fueron menores a 17 o mayores a 45°C. Adicionalmente si la textura del suelo es franco-arcillosa o arcillosa con un 4<pH<6.5, se incrementa la nodulación y fijación de N<sub>2</sub> de *Rhizobium* spp. y *Bradyrhizobium* spp. en leguminosas de ciclo anual (Tabla 3). Se aprecia que más de un factor son los que podrían tensionar la FBN en cafetales de sombra para *Inga* spp.-rizobios, i.e. el factor suelo podría condicionar el tipo de especie de rizobio con el que se asocie *Inga* spp. mientras que la reducción de humedad (13%) en suelos tropicales disminuye la comunidad y diversidad bacteriana, aunque pudieron recuperarse del factor tensionante de sequía (Sheldon, 2019) o el pH que es considerado por algunos autores el principal factor para cambios en la comunidad bacteriana (Bala *et al.*, 2003a).



**Tabla 2. Sistemas agroforestales de café-*Inga* spp. en América.**

<i>Inga</i> spp.	País/msnm	pH	Precipitación anual (mm)	media Temperatura °C	ARA (Ensayo de Reducción de Acetileno)	Fijación N2 Kg N ha <sup>-1</sup> año <sup>-1</sup> y rizobio	N hojarasca Kg N ha <sup>-1</sup> año <sup>-1</sup>	Referencia
<i>I. vera</i>	México 1,225	4.8	1,758 22		0.95-3.93 $\mu\text{mol N g}^{-1}\text{nodh}^{-1}$	40	----	Roskoski, 1982
<i>I. jinicuil</i>	México 1,225	4.8	1,758 19		2.36-4.5 $\mu\text{mol N g}^{-1}\text{nodh}^{-1}$	23.4-44.6	----	Roskoski y van Kessel, 1985
<i>I. pavoniana</i> G. Don.	México	5	2,000		----	----	----	Soto-Pinto <i>et al.</i> , 2000
<i>I. punctata</i> Willd.	600-1,100		22					
<i>I. latibracteata</i> Harms	México 1,180-1,270	5.2±0.4	1,350 22		----	----	----	Romero-Alvarado <i>et al.</i> , 2002
<i>I. edulis</i>	Costa Rica	5.1	3,464			16	145	Leblanc <i>et al.</i> , 2006
<i>I. samanensis</i> L. Uribe	950		25.1			<i>Bradyrhizobium</i> spp.		
<i>I. oerstediana</i>	México 2,000-2500	5.7	1,570 18-22		----	----	----	Grossman <i>et al.</i> , 2006
<i>I. edulis</i>	Costa Rica	4.5-4.7	3,464 25.1		---	100 <i>Bradyrhizobium</i> spp-	---	Leblanc <i>et al.</i> , 2007
<i>I. densiflora</i> Benth	Costa Rica 1,200	4.6±0.06	2,300 21		----	----	124.2	Siles <i>et al.</i> , 2010
<i>I. densiflora</i>	Costa Rica 1,200	5.8-6.3	2,500 21		----	----	----	Cannavo <i>et al.</i> , 2011
<i>I. adenophylla</i>	Bolivia	4.3	1,851		----	----	65.26	Mamani-Pati <i>et al.</i> , 2012
<i>I. oerstediana</i>	400-3500		17-23				54.12	
<i>I. densiflora</i>	Costa Rica 1,180	4.6	2,300		----	----	---	Hergoualc'h <i>et al.</i> , 2012
<i>I. jinicuil</i>	México 900-1,500	4-6.4	900 20		----	----	----	Hernandez <i>et al.</i> , 2012
<i>I. micheliana</i>	Guatemala 300-1,500	----	3,000 21		----	----	----	Haggar <i>et al.</i> , 2013
<i>I. vera</i>	México 450-1,000	4.2	1,182 20		----	----	----	Capitán <i>et al.</i> , 2014
<i>I. vera</i>	México	3.34-3.69	1,750 19		----	----	----	García-Pérez <i>et al.</i> , 2014
<i>I. oerstediana</i>	Nicaragua	5.5	2,770		----	----	----	Blanco y Aguilar-Carrillo, 2015
<i>I. punctata</i>	500-1200		20-25					
<i>I. paterna</i>								
<i>I. vera</i>	Puerto Rico	4.0-5.3	288-785		----	----	56	López-Rodríguez <i>et al.</i> , 2015
<i>I. laurina</i>	850 msnm		1,870-2,290					
<i>I. fagifolia</i> L. Willd.			23-26					
<i>I. vera</i>	México	5.5	1,990		----	----	----	Ruiz-García <i>et al.</i> , 2020
<i>I. spuria</i> Humb y Bonpl.	1,200-1,400		18.8					
<i>I. vera</i>	México	5	1,969		----	----	----	Garza-Lau <i>et al.</i> , 2020
	1,170							
<i>I. oerstediana</i>	Nicaragua 650-850	6.2	2,000-2,600 23		----	----	----	Durand-Bessart <i>et al.</i> , 2020

**Tabla 3. Efecto sobre la simbiosis entre Leguminosae y rizobios bajo los factores de precipitación, suelos inundados o en sequía con distintas temperaturas, temperatura-porcentaje de luz-humedad, tipo de sustrato y dos ejemplos de rizobios en condiciones *in vitro*.**

Leguminosae	Rizobio	Factor	Efecto registrado
<i>I. jinicuil</i>	Sin mención	325 mm precipitación 410 mm	3.9 $\mu\text{mol N}_2$ g nódulo <sup>-1</sup> ha <sup>-1</sup> (julio)* 4.9 $\mu\text{mol N}_2$ g nódulo <sup>-1</sup> ha <sup>-1</sup> (octubre)* (Roskoski y van Kessel, 1985)
<i>Sesbania spp.</i>	Sin especificar	Inundado (100%) Sequía	Nodulación eficaz y plantas crecen 1 m año <sup>-1</sup> (Izaguirre, 2005) Nodulación ↓ y plantas crecen menos (Izaguirre, 2005)
<i>I. vera</i>	<i>Bradyrhizobium spp.</i>	Inundado (bosque de humedales)	Nodulación abundante (Pereira-Gómez <i>et al.</i> , 2020)
<i>Inga acuminata</i> Benth	<i>Bradyrhizobium spp.</i>	Inundado	Frecuencia relativa de nodulación ↑
<i>Inga duckei</i>		Inundado	Frecuencia relativa de nodulación ↑
<i>Inga macrophylla</i> Humb. y Bonpl.		No inundado	Frecuencia relativa de nodulación ↓
<i>Inga umbratica</i> Poepp. y Endl.		No inundado	Frecuencia relativa de nodulación ↓
<i>Inga velutina</i> Willd.		Inundado	Frecuencia relativa de nodulación ↓ (Faria <i>et al.</i> , 2010, 1989)
<i>Medicago sativa</i> L. cv. Aragón	<i>Sinorhizobium meliloti</i>	Suelo inundado a 25 °C  Suelo seco 25 °C	Materia seca nódulos 39 mg Fijación N <sub>2</sub> (14.3 $\mu\text{mol N g Nod}^{-1}$ seco)** Materia seca nódulos 23 mg (p<0.05) Fijación N <sub>2</sub> (7.1 $\mu\text{mol N g Nod}^{-1}$ seco)** (p<0.05) (Aranjuelo <i>et al.</i> , 2007)
<i>Inga edulis</i> Sin especie ( <i>in vitro</i> )	<i>Bradyrhizobium ingae.</i> <i>R. meliloti</i>	28 °C, 50% luz, 100% humedad Sobrevivencia a humedad relativa (HR) <i>in vitro</i>	Nodulación 200 nódulos planta <sup>-1</sup> (Porto <i>et al.</i> , 2017) Sobreviven el 22-43% a 30 °C (Mary <i>et al.</i> , 1985)
Sin especie ( <i>in vitro</i> ) <i>Sesbania sesban</i> <i>calothyrsus</i> , <i>Leucaena leucocephala</i> <i>G. max</i> <i>Vigna unguiculata</i> L.	<i>Calliandra sepium</i> , <i>B. japonicum</i> Rizobios sin especificar	Suelo >0-50% arcilla	HR óptimo de sobrevivencia 43-67% (Boumahdi <i>et al.</i> , 1999) Población de rizobios ↑ (Bala <i>et al.</i> , 2003b)
<i>G. max</i> <i>Vigna unguiculata</i> L.	<i>B. japonicum</i> (532C) <i>Bradyrhizobium spp.</i>	Franco-arcilloso Franco-arcilloso	Nodulación efectiva ↑ (Miransari y Smith, 2008) Fijan N <sub>2</sub> ↑ en textura media > suelo de textura pesada > suelo de textura ligera (Al-Saedi <i>et al.</i> , 2016)
<i>G. max</i> <i>I. vera</i>	<i>B. japonicum</i> <i>Rhizobium spp.</i>	Composta corteza pH 4.5 Luz 100% Luz 50% Luz 20%	0.47-2.17 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4$ planta <sup>-1</sup> (Lawson <i>et al.</i> , 1995) 11.2 g biomasa vegetal y biomasa nódulo 0.8 g 9.8 g biomasa vegetal y biomasa nódulo 0.1 g 8.2 g biomasa vegetal y biomasa nódulo ca. 0.01 g (Myster, 2011)

\* se transformó C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>:N en su proporción molecular 1:3, \*\*se transformó a su valor molecular; ↓: disminuye, ↑: incrementa

**Tabla 4. Efecto sobre la simbiosis entre Leguminosae y rizobios bajo los factores de temperatura, temperatura-estrés hídrico, pH y pH-temperatura.**

Leguminosae	Rizobio	Factor	Efecto registrado
<i>G. max</i>	<i>R. japonicum</i>	30 °C y $\psi=8 \times 10^5$ Pa (estrés hídrico)	Fijación N <sub>2</sub> ↓ 5.6 a 1.6 nmol N mg <sup>-1</sup> nod fresco h-1 (Pankhurst y Sprent, 1976)*
<i>Sin especie</i>	<i>Bradyrhizobium</i> spp.	25 °C 30 °C 40 °C 45 °C	Multiplicación de colonias Multiplicación de colonias Multiplicación de colonias Detiene multiplicación colonias (Babiker <i>et al.</i> , 2005)
<i>P. vulgaris</i>	<i>Rhizobium phaseoli</i>	30 °C 17 °C	Leghemoglobina ↓ (Karanja y Wood, 1988) Nódulos crecen lento (Graham, 1992)
<i>G. max</i>	<i>B. japonicum</i> 532C	17-25 °C 15 °C	Retraso fijación N <sub>2</sub> No fijan N <sub>2</sub> (Zhang <i>et al.</i> , 1995)
<i>G. max</i>	<i>B. japonicum</i>	28-31 °C 15-17 °C 20-25 °C	Rango óptimo para fijación de N <sub>2</sub> (Zhang y Smith, 1997) Síntesis de FacNod ↓ (Zhang y Smith, 1997)
	<i>Bradyrhizobium</i> spp.	25-30 °C	FacNod ↑ (Zhang y Smith, 1997)
<i>G. max</i>	<i>Rhizobium japonicum</i>	25-33 °C 15-30 °C <10 °C >28 °C	Óptimo para formar nódulos (Pankhurst y Sprent, 1976) Enzima nitrogenasa ↑ (Pankhurst y Sprent, 1976) Actividad nitrogenasa ↓ (Pankhurst y Sprent, 1976) Enzima nitrogenasa ↓ (Hafeez <i>et al.</i> , 2000)
<i>Sin especie</i>	<i>R. tropici</i> <i>Bradyrhizobium</i> spp.	pH 4 pH 4.25	Crecimiento de colonias ↑ (Graham <i>et al.</i> , 1994)
Varias especies	<i>Bradyrhizobium</i> spp. <i>Rhizobium</i> spp.	pH <5	<i>Bradyrhizobium</i> spp. mejor en condiciones pH<5 que <i>Rhizobium</i> spp. Disrupción de señales entre rizobio y hospedera (Ferguson <i>et al.</i> , 2013)
<i>Sesbania sesban</i> <i>Calliandra calothyrsus</i> , <i>Gliricidia sepium</i> , <i>Leucaena leucocephala</i>	<i>Sin especificar</i>	pH 4-6.5	Población rizobial ↑ (Bala <i>et al.</i> , 2003b)
<i>G. max</i> <i>P. vulgaris</i>	<i>Rhizobium</i> spp.	pH 4.5 pH 5.8	Infección rizobio ↓ (Hungria y Stacey, 1997)
<i>Medicago sativa</i>	<i>R. meliloti</i> <i>R. trifoli</i>	pH 6 pH<4.6	Nodulación ↓ (Rice <i>et al.</i> , 1977)
<i>Calopogonium mucunoides</i> Desv. <i>Acacia mangium</i>	<i>Bradyrhizobium</i> spp. <i>Bradyrhizobium</i> spp.	pH 4 4<pH<10 y de 15 a 35 °C	Nodulación y Fijación N <sub>2</sub> ↑ (Ferreira <i>et al.</i> , 2016) Alta eficiencia simbiótica 27-46% (MS cepa/MS tratamiento con o sin N (Martins da Costa <i>et al.</i> , 2021)

\*Se transformó C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>:N en su proporción 1:3, ↓: disminuye, ↑: incrementa

**Tabla 5. Efecto sobre la simbiosis entre Leguminosae y rizobios bajo el factor de macronutrientes (N, P, K, Ca, S y Mg) en compuestos y dosis distintas.**

Leguminosae	Rizobio	Factor: N, P, K, Ca, S y Mg	Efecto registrado
<i>Inga edulis</i>	Referencia “Bacteria taken from 11 Amazonia Inga species” (Vincent, 1970)	5 $\mu\text{mol NO}_3$ 5 $\mu\text{mol NH}_4$	Peso seco nódulos $\downarrow$ 64% (0.137 mg nod g planta <sup>-1</sup> ) Número nódulos $\downarrow$ 50% (84.8 nod planta <sup>-1</sup> ) Peso seco nódulos $\uparrow$ 78% (0.690 mg nod g planta <sup>-1</sup> ) Número nódulos $\uparrow$ 13% (193.1 nod planta <sup>-1</sup> ) (Omena-Garcia <i>et al.</i> , 2011)
<i>Inga edulis</i>	Referencia “Bacteria taken from 11 Amazonia Inga species” (Vincent, 1970)	15 $\mu\text{mol NO}_3$ 15 $\mu\text{mol NH}_4$ <i>Rhizobium</i> spp.	Número y biomasa de nódulos $\downarrow$ No disminuye número, ni biomasa de nódulos Todos incrementan crecimiento planta hospedera (Justino <i>et al.</i> , 2017)
<i>Glicene max</i>	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	5 $\mu\text{mol NO}_3$	Nódulo detiene su crecimiento Peso seco nódulo $\downarrow$ 66% (0.04 mg) Fijación N <sub>2</sub> $\downarrow$ 73% (0.6 $\mu\text{mol N h}^{-1}$ planta <sup>-1</sup> ) (Ohyama <i>et al.</i> , 2011)
<i>Phaseolus vulgaris</i>	<i>Rhizobium japonicum</i>	6.4 $\mu\text{mol NO}_3$	Masa nódulos $\downarrow$ 70% Fijación N <sub>2</sub> $\downarrow$ 83% (0.56 $\mu\text{mol N h}^{-1}$ g nod fresco <sup>-1</sup> ) (Streeter, 1985)
<i>Glyricidia sepium</i>	<i>Rhizobium</i> spp.	10 $\mu\text{mol NO}_3$	Masa nódulo $\downarrow$ 48-51% Fijación de N <sub>2</sub> $\downarrow$ 49% (8.3 $\mu\text{mol N min}^{-1}$ g nod fresco <sup>-1</sup> ) (Thomas <i>et al.</i> , 2000)
<i>G. max</i>	<i>Bradyrhizobium diazoefficiens</i> USDA110	12.5 $\mu\text{mol NO}_3$	Inhibición de fijación N <sub>2</sub> (Nguyen <i>et al.</i> , 2020)
<i>P. vulgaris</i>	<i>Rhizobium</i> spp.	45-90 kg P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ha <sup>-1</sup>	Número y biomasa de nódulos $\uparrow$ planta <sup>-1</sup> Fijación N <sub>2</sub> $\uparrow$ planta -1 (Attar <i>et al.</i> , 2012)
<i>Cicer arietinum</i> L.	Sin mención	80 kg P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ha <sup>-1</sup>	Fijación de N <sub>2</sub> $\uparrow$ 83% respecto al testigo (Islam <i>et al.</i> , 2012)
<i>Vicia faba</i>	<i>Rhizobium</i> spp.	4.5 meq K L <sup>-1</sup>	Número y peso fresco de nódulos $\uparrow$
<i>Pisum arvense</i> L.W. weitor		10 meq K 800 L <sup>-1</sup>	Peso seco de nódulos $\uparrow$ y fijación de N <sub>2</sub> $\uparrow$ (Mengel y Viro, 1974)
<i>Penisetum arvense</i> L. W.	<i>Rhizobium</i> spp.	0.1 meq K 800 L <sup>-1</sup>	Número de nódulos $\uparrow$ (Abdel-Wahab, 1985)
<i>G. max</i>	<i>Bradyrhizobium</i> spp.	Deficiencia Ca <sub>2+</sub> inducida por Al	Nodulación $\downarrow$ (Mohammadi, 2012)
<i>G. max</i>	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	83-143 kg CaSO <sub>4</sub> 2·H <sub>2</sub> O ha <sup>-1</sup>	Fijación de N <sub>2</sub> $\uparrow$ (Hussain <i>et al.</i> , 2011)
<i>Cicer arietinum</i> L.	Sin mención	30 kg CaSO <sub>4</sub> 2·H <sub>2</sub> O ha <sup>-1</sup>	Fijación de N <sub>2</sub> $\uparrow$ 6.25% (Islam <i>et al.</i> , 2012)
<i>P. sativum</i>	<i>Rhizobium</i> spp.	1% Mg 100 g suelo	Número de nódulos y fijación de N <sub>2</sub> $\uparrow$ (Kiss <i>et al.</i> , 2004)

↓: disminuye, ↑: incrementa

**Tabla 6. Efecto sobre la simbiosis entre Leguminosae y rizobios bajo el factor de micronutrientes (Co, Cu, B, Mn, Mo, Zn y Fe) en compuestos y dosis distintas**

Leguminosae	Rizobio	Factor Co, Cu, B, Mn, Mo, Zn y Fe	Efecto registrado
<i>Acacia auriculaeformis</i>	<i>Rhizobium</i> AA9108	>0.5 $\mu\text{mol ZnSO}_4 \text{ L}^{-1}$	Fijación de $\text{N}_2$ ↓ (Zhang <i>et al.</i> , 1998)
<i>Cicer arietinum</i>	<i>Rhizobium</i> spp.	50 $\mu\text{mol Co}$	Número nódulo y peso seco ↑ Actividad nitrogenasa (↑ 63%) Concentración hemoglobina (↑ 37%)
		150-250 $\mu\text{mol Co}$	Actividad nitrogenasa (58%) Concentración hemoglobina (47%) (Ali <i>et al.</i> , 2010)
<i>G. max</i>	<i>Bradyrhizobium</i> spp.	1.8 ppm $\text{SO}_4\text{Cu}$	Inhiben desarrollo de nódulos (Tindwa <i>et al.</i> , 2014)
<i>V. faba</i>	<i>R. leguminosarum</i>	20 ppm Mo >20 ppm Co	Número nódulos (↑ 87%) y peso seco ↑ (Hala <i>et al.</i> , 2013) Número nódulos ↓ (Akeel y Jahan, 2020)
<i>G. max</i>	<i>Bradyrhizobium</i> spp.	1.8 ppm $\text{SO}_4\text{Cu}$	Inhibe nodulación (Tindwa <i>et al.</i> , 2014)
<i>P. sativum</i>	<i>R. leguminosarum</i>	0.1 g $\text{H}_3\text{BO}_3 \text{ L}^{-1}$	Tamaño de nódulo y actividad nitrogenasa ↓ (Bolanos <i>et al.</i> , 1996)
<i>G. max</i>	<i>B. japonicum</i>	15-180 mg B $\text{L}^{-1}$	Número de nódulos y *Fijación $\text{N}_2$ ↑ (8 $\mu\text{mol N}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g nod}^{-1}$ ) *Fijación $\text{N}_2$ ↓ 76% (1.3 $\mu\text{mol N}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g nod}^{-1}$ ) (Yamagishi y Yamamoto, 1994)
<i>G. max</i>		0	Fijación de $\text{N}_2$ ↓
<i>G. max</i>	<i>B. japonicum</i>	1.3 mg B $\text{L}^{-1}$	Fijación de $\text{N}_2$ ((↑ 111%) (Purcell <i>et al.</i> , 2000)
<i>V. villosa</i> Roth	<i>R. leguminosarum</i>	9 $\mu\text{mol MnCl}_2 0.5 \text{ L}^{-1}$ 0.63 MG Mo kg	Número de nódulos ↑ Masa de nódulos ↑ Actividad enzimática ↑ (Alam <i>et al.</i> , 2015)
<i>P. vulgaris</i>	<i>Rhizobium</i> SMIA4080	240 g $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O ha}^{-1}$	Número y peso fresco de nódulos ↑ Fijación de $\text{N}_2$ ↑ (da Silva <i>et al.</i> , 2017)
<i>P. vulgaris</i>	<i>R. tropezi</i>	0 $\mu\text{mol Fe}$ vs 45 $\mu\text{mol Fe}$	Fijación $\text{N}_2$ ↓ (0.5-1.2 $\mu\text{mol N}_2 \text{ Planta}^{-1}$ , 21-43%) (Krouma <i>et al.</i> , 2006)

\* se transformó  $\text{C}_2\text{H}_4:\text{N}$  en su proporción molecular 1:3 ↓: disminuye, ↑: incrementa



El éxito de *Inga* spp. quizás se debe a que son consideradas generalistas para establecer simbiosis con la amplia diversidad de rizobios específicos (Bala *et al.*, 2003), principalmente *Bradyrhizobium* spp., además se desarrollan en suelos aluviales o en suelos con pH ácidos (pH<5).

En la tabla 5, Omena-García *et al* (2011), registraron que entre *Inga edulis* y rizobios aislados de *Inga* spp., el nitrato (NO<sub>3</sub>) disminuye el número de nódulos (50%), así como el peso seco (64%), y el amonio (NH<sub>4</sub>) incrementa el número y el peso seco de nódulos, en 13 y 78%, respectivamente (Justino *et al.*, 2017). En leguminosas de ciclo anual se registró que los nódulos detienen el crecimiento, disminuyen la biomasa (48-73%), y fijación de N<sub>2</sub> (49-83%) con la adición de NO<sub>3</sub>. Respecto al fósforo (P) y potasio (K) la adición de estos nutrientes incrementa la nodulación y fijación de N<sub>2</sub>, lo mismo sucede con calcio (Ca), azufre (S) y magnesio (Mg), pero una deficiencia de Ca disminuye la nodulación entre *G. max-Bradyrhizobium* spp. El efecto latitud-temperatura registró que la relación N/P aumenta con la temperatura y hacia el ecuador, los autores explican que el P es un nutriente limitante en los suelos tropicales más antiguos y el N es el nutriente limitante principal en los suelos jóvenes de climas templados en latitudes altas (Reich and Oleksyn, 2004), además la humedad del suelo está altamente influenciada por el clima (Kemppinen *et al.*, 2018) y el ciclo del N es favorecido por la humedad que procuran los árboles leguminosas (Traveset, 2015). A la luz de lo anterior, no es pertinente agregar NO<sub>3</sub> al cafetal, ya que se deja de aprovechar la FBN, sin embargo, si se agrega P, K y Ca se esperaría un beneficio en el desempeño en la simbiosis leguminosa-rizobios.

Los estudios de micronutrientes en la asociación simbiótica entre *Inga* spp.-rizobios, no fueron encontrados en esta revisión. Pero si resultados de leguminosas rastreras o de ciclo anual y un caso del árbol con *Acacia auriculaeformis* que se presentan en la Tabla 6. Se registró que el incremento o decremento en  $\mu\text{mol}$  o ppm de los micronutrientes tienen efectos en la nodulación y fijación de N<sub>2</sub>, pero esta revisión no fue capaz de encontrar evidencias como estos micronutrientes interactúan con *Inga* spp.-rizobios en cafetales de sombra.

### Factor agroquímico: herbicidas glifosados

En los sistemas de café de sombra se involucran factores tensionantes (Barrera-Cataño y Valdés-López, 2007), desde la relación positiva de mayor número de árboles de *Inga* spp. (200-250 arb ha<sup>-1</sup>) y porcentaje de sombra (40-45% sombra) con el incremento de fertilidad de los suelos (Durand-Bessart *et al.*, 2020), mayor crecimiento y desarrollo de las plantas de café con sombra de *Inga* spp. (Grossman *et al.*, 2006), hasta la erosión en cafetales con sombra de *I. laurina* al

aplicar herbicidas glifosados para el control de arvenses (Staver *et al.*, 2020). Los herbicidas glifosados son un factor agronómico en cafetales, que a partir de la Revolución Verde son usados para disminuir el costo del control de arvenses comparado con el control manual (Bellamy, 2011), estos herbicidas glifosados son los más utilizados para el control de arvenses desde su introducción en 1974, y a partir de 1996, su uso fue dirigido a cultivos genéticamente modificados (Benbrook, 2016), pero también son utilizados ampliamente entre los árboles de huertos (Maqueda *et al.*, 2017). En América Latina, la eliminación de arvenses de forma manual por pequeños productores llega a ocupar el 50% del tiempo/labor en los cafetales de sombra (Bellamy, 2011), en México los cafetales de sombra son los principales agroecosistemas cafetaleros -del 83 al 90%- (Moguel and Toledo, 1999; Fonseca, 2006), pero en otros países de América Latina la superficie cultivada de café a pleno sol es i.e. Brasil (37%), Colombia (60%) y Costa Rica (40%) (Somarriba *et al.*, 2012), con aplicaciones mínimas de 6.3 L ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> (360 g i.a. L<sup>-1</sup>) de herbicidas glifosados (Bellamy, 2011). México carece de reportes precisos, pero se estima que el glifosato se usa al menos en cantidades de 11.94 L ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> (360 g i.a. L<sup>-1</sup>) en la agricultura industrial (Székács y Darvas, 2018) y en la última década se estimó que en México el 3% de la compra de herbicidas glifosados fue aplicado en cafetales (Alcantara-de la Cruz *et al.*, 2021). Se registró en cafetales de Colombia y Veracruz, México, la recomendación técnica de 2-3 L ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> (Menza y Salazar, 2007; INIFAP, 2017). Actualmente, el Gobierno de México determinó prohibir el glifosato a partir de enero/2024 (Alcantara-de la Cruz *et al.*, 2021), mientras tanto la Secretaría de Agricultura y Medio Ambiente (SEMARNAT) a través de la Dirección General de Gestión Integral de Materiales y Actividades Riesgosas (DGGIMAR) aplicó el principio precautorio y negó la autorización para importar mil toneladas de glifosato (SEMARNAT, 2019).

El glifosato (N-[fosfonometil] glicina) se degrada en ácido aminometil fosfónico (AMPA) el cual se reportó como tóxico para microorganismos del suelo (Banks *et al.*, 2014). Por ejemplo, los tratamientos con glifosato (aplicados en dosis recomendadas o menores) afectaron negativamente a especies fijadoras de N<sub>2</sub> en el suelo (Van Bruggen *et al.*, 2018). En contraste, se registró que *Rhizobium* sp. P44RR-XXIV metaboliza el 50% de glifosato en nueve días (Massot *et al.*, 2021), y especies o genotipos de *Bradyrhizobium* spp. podrían ser un potencial degradador de glifosato en el suelo, ya que el gen glicina oxidasa (thiO) involucrado en la oxidación del glifosato a AMPA tuvo una relación positiva entre la abundancia del gen thiO y el glifosato degradado en AMPA (Hernández *et al.*, 2021). Se tiene evidencia circunstancial y experimental de que la

aplicación repetida de glifosato en suelos de cafetales de sombra registró un pH de  $3.34 \pm 0.07$ , el cual fue menor respecto a sin glifosato con pH de  $3.69 \pm 0.12$  (García-Pérez *et al.*, 2014). Esto podría desplazar a condiciones subóptimas el valor del pH para el buen funcionamiento de *Bradyrhizobium* spp. que registró una fuerte correlación negativa con la disminución del pH (7.37 a 5.2) en suelos agrícolas (Zhalnina *et al.*, 2013). En otros suelos agrícolas con aplicación de herbicidas glifosatos durante 0, 5 y 10 años, el glifosato se degradó de  $15 \mu\text{M kg}^{-1}$  de suelo a casi cero a los 80 días (5 y 10 años), pero no así con el AMPA el cual se mantuvo constante con 5, 15 y  $20 \mu\text{M kg}^{-1}$  de suelo, respectivamente (Guijarro *et al.*, 2018).

Por otro lado, en cafetales con *I. laurina*, en Nicaragua, registraron que las parcelas que utilizaron herbicidas glifosatos para el control de arvenses ( $11 \text{ L ha}^{-1}$  -3.96 kg i.a.  $\text{ha}^{-1}$  - del año 2000 al 2003-), presentaron un suelo desnudo de vegetación significativamente más alto ( $79 \pm 7\%$ ), 20 veces mayor, que las parcelas sin herbicidas glifosatos que tuvieron niveles de suelo desnudo sin vegetación muy bajos ( $4.3 \pm 5.5\%$ ; Staver *et al.* 2020). Esto pudo contribuir a agudizar el problema de la erosión con la consecuente lixiviación de cationes para la acidificación del suelo en cafetales de sombra con aplicación de herbicidas glifosatos. Se reportaron evidencias que el uso de herbicidas glifosatos en cafetales dañan las plantas de café (Nelson, 2008) y aunque tiende a incrementar la cobertura de hojarasca en el suelo bajo sombra de *I.*

*laurina* en comparación con parcelas sin aplicación de herbicidas glifosatos, esto no significó necesariamente mayor producción de café o un aumento significativo de la materia orgánica (Staver *et al.* 2020) y quizás sólo muestra una acumulación de materia orgánica dada una disminución en la tasa de descomposición de la hojarasca debido a un daño de la fauna de invertebrados y microbiana del suelo.

Las evidencias del efecto de herbicidas glifosatos sobre la simbiosis se centran en leguminosas de ciclo anual, que en dosis de 0.2-1.6 kg i.a.  $\text{ha}^{-1}$ , disminuyen en los nódulos su número, biomasa, fijación de  $\text{N}_2$ , actividad de enzima nitrogenasa o longitud de la raíz (Tabla 7). Ante la escasa información existente sobre el efecto de herbicidas glifosatos en especies de leguminosas arbóreas tales como *Inga* spp, se abre la posibilidad de desarrollar una línea de investigación ambiental-biotecnológica que aborde a *Inga* spp en cafetales de sombra.

La relación positiva registrada entre las características del cafetal de sombra y las características de la asociación simbiótica entre leguminosas y rizobios quizás está relacionada con el hecho de que la calidad del suelo es mayor en las plantaciones de café con sombra de árboles leguminosas de *Inga* spp. Esto podría explicarse por la dinámica del ciclo del N, debido al aumento de la entrada de mantillo al sistema suelo, en particular con la caída de hojarasca i.e. *I. edulis* se vinculó a un incremento de actividad en

**Tabla 7. Efecto sobre la simbiosis entre Leguminosae y rizobios con glifosato con distintas dosis.**

Leguminosae	Rizobio	Dosis glifosato	Efecto registrado
<i>Vicia faba</i> L. <i>G. max</i> <i>P. sativum</i> <i>P. vulgaris</i>	<i>Rhizobium</i> spp.	0.7 kg i.a. $\text{ha}^{-1}$	Nodulación ( $\downarrow 87\%$ ) y fijación de $\text{N}_2$ ( $\downarrow 90\%$ ) (Weston y Putnam, 1985)
<i>Vigna radiata</i>	<i>Bradyrhizobium</i> spp.	0.2 kg i.a. $\text{ha}^{-1}$ *	$\downarrow$ Número de nódulos planta $^{-1}$ (50%) y MS nódulos ( $\downarrow 46\%$ ) $\downarrow$ longitud de raíz (51%) (Zaidi <i>et al.</i> , 2005)
<i>G. max</i> (BRS 242 GR)	<i>B. elkanii</i> (SEMIA587)	1.2 kg i.a. $\text{ha}^{-1}$	$\downarrow$ número de nódulos planta $^{-1}$ (62%) y MS nódulos (68%) (Zobiolo <i>et al.</i> , 2010)
<i>G. max</i>	<i>B. japonicum</i>	0.84 kg i.a. $\text{ha}^{-1}$ 1.68 kg i.a. $\text{ha}^{-1}$	$\downarrow$ número de nódulos planta $^{-1}$ (30%), peso nódulo (47%) $\downarrow$ contenido de hemoglobina (13%) (Zablotowicz y Reddy, 2004)
<i>Lupinus</i> spp.	<i>Bradyrhizobium</i> spp.	0.15 kg i.a. $\text{ha}^{-1}$ 0.6 kg i.a. $\text{ha}^{-1}$	$\downarrow$ Actividad nitrogenasa (33%) $\downarrow$ Actividad nitrogenasa (64%) (María de las Heras, 2006)
<i>Vicia palaestina</i>	<i>Rhizobium</i> spp. (cepa AUWR-3)	0.2 kg i.a. $\text{ha}^{-1}$ **	$\downarrow$ número nódulos por planta $^{-1}$ (83%) (Aynalem and Assefa, 2017)

\*Transformado:  $2 \mu\text{g i.a. kg}^{-1}$  suelo,  $2 \mu\text{g}=20 \text{ g i.a. L}^{-1}$  herbicida comercial  $100 \text{ L}^{-1}$  de agua aplicado al cultivo.

\*\*  $200 \mu\text{g i.a. L}^{-1}=0.2 \text{ kg herbicida comercial } 100 \text{ L}^{-1}$  de agua aplicado al cultivo.  $\downarrow$ : disminuye,  $\uparrow$ : incrementa

microorganismos (Kanmegne *et al.*, 2003), que favorece el intercambio de señales requeridos para establecer la correspondencia simbiótica para que se inicie la organogénesis del nódulo (Oldroyd y Downie, 2008). Además, los árboles en los cafetales amortiguan el cambio brusco de temperatura (Shrivastava *et al.*, 2020), incluso reducen la erosión hídrica gracias a su sistema radicular (Cerda *et al.*, 2017) y si son leguminosas como el caso de *Inga* spp. mejoran la fertilidad del suelo (Romero-Alvarado *et al.*, 2002).

La correlación negativa en el incremento de sombra de los árboles de sombra sobre las plantas de café, se registró en sombras mayores al 40%, quizás disminuye el crecimiento del café (Charbonnier *et al.*, 2017; Durand-Bessart *et al.*, 2020), esto tal vez se relaciona con la especie de árbol que decida el agricultor utilizar. En particular el uso de *Inga* spp. en cafetales es preponderante (entre el 37-90% depende de la localidad) y dependerá de la disponibilidad de semillas (Grossman *et al.*, 2006), y que existan en el suelo los rizobios específicos que establezcan simbiosis con la especie de *Inga* spp. (Capitán *et al.*, 2014), esta revisión encontró registros que indican que los rizobios que establecen simbiosis con *Inga* spp. son principalmente *Bradyrhizobium* spp. y en menor frecuencia especies del género *Rhizobium* y *Burkholderia*. Respecto a la variación en latitudes y altitudes, el análisis de metadatos que se realizó establece intervalos de confianza de temperatura, pH, humedad y tipo de suelo en los que podrían estar presentes, entonces se puede esperar que se desarrolle la simbiosis y favorezcan la FBN.

Se registró que un factor tensionante como la fertilización nitrogenada después de 22 años provocó cambios genéticos en *Rhizobium leguminosarum* disminuyendo beneficios a su hospedero (*Trifolium* spp.), con 17-30% menos biomasa, 10-28% menos hojas, los autores establecieron que quizás se observó un declive evolutivo de los beneficios del mutualismo (Klinger *et al.*, 2016). Las tensiones del entorno ecológico para la FBN, y evidencias donde los herbicidas glifosatos parecen afectar negativamente al rizobio (*Bradyrhizobium* spp.) cuando se aplican de manera continua para controlar arvenses (Zobiolo *et al.*, 2011) con daño a la planta hospedera (Moorman, 1989), tal vez los rizobios de cafetales con sombra de *Inga* spp. y aplicación de herbicidas glifosatos, registren cambios genéticos que disminuyan los beneficios a su hospedero (Innan and Kim, 2004); aunque estos cambios puedan ser reversibles (Prezeworski *et al.*, 2005) en caso se disminuya la aplicación de factores agroquímicos (Romero-Alvarado *et al.*, 2002; Barrera-Cataño and Valdés-López, 2007; Klinger *et al.*, 2016), pero ante la presencia de arvenses en cafetales resistentes al glifosato (Salazar y Hincapié, 2013), la disminución de herbicidas glifosatos ( $L\ ha^{-1}$ ) se valora pertinente

para beneficiar el desempeño de la simbiosis en los cafetales de sombra.

## CONCLUSIÓN

Apenas hasta el 2020 el género *Inga* era taxonómicamente reconocido en la subfamilia Leguminosae, pero ahora se considera como el clado Mimosoideae anidado dentro de la subfamilia Caesalpinioideae, la cual tiene como principal simbionte a *Bradyrhizobium* spp. en leguminosas “basales”. Esto podría reducir el ámbito de la investigación la cual podría centrarse casi exclusivamente en la relación entre *Inga* spp. y el género *Bradyrhizobium* spp. registrada en cafetales de sombra de México, Costa Rica y bosques de la amazonia brasileña.

Los cafetales de sombra suelen sustituir al bosque original con especies de *Inga* spp. porque “mejoran el suelo” a través de la hojarasca que añade N al suelo, porque contribuyen al ciclo del N a través de la FBN. Estos cafetales de sombra se establecen en latitudes tropicales menores a 23° N y S y altitudes hasta 3,100 m.s.n.m.

La simbiosis entre *Inga* spp. y *Bradyrhizobium* spp. está sujeta a los estímulos de los factores ecológicos que hacen posible que reconozcan su especificidad entre sí, pero esto no garantiza la fijación de  $N_2$ , ya que las interacciones ecológicas en el cafetal de sombra establecen los límites para el mejor desempeño de la simbiosis entre *Inga* spp. y rizobios; como los encontrados en esta revisión: altitud [988.7-1,381.5 m.s.n.m.], precipitación anual [2,048.4-2,064.36 mm], temperatura [20.39-21.93 °C] y pH del suelo [4.88-5.42 pH], lo que invita a indagar empíricamente en campo, si estas condiciones ecológicas son las mejores para la FBN y la productividad del cafetal bajo condiciones de sombra.

El propósito productivo que se pretende en los cafetales de sombra, cuando se aplican herbicidas glifosatos para reducir la competencia de las arvenses, cuya intervención puede reducir las propiedades microbiológicas del suelo, situación que es contraria al beneficio de mejorar el suelo con la presencia de *Inga* spp. Esta revisión encontró que algunos *Bradyrhizobium* spp. podrían ser un potencial degradador de glifosato en el suelo. Ante esto, es pertinente estudiar si la aplicación de herbicidas glifosatos en cafetales de sombra perturba directa o indirectamente la FBN.

El papel de factores tales como la materia orgánica, la humedad, la textura del suelo y los nutrientes necesitan explorarse con mayor especificidad al interior del sistema de cafetales de sombra. Más observaciones de campo, así como experimentos podrían arrojar luz no

sólo sobre los factores ecológicos y de manejo agrícola que afectan la funcionalidad simbiótica *Inga* spp.-rizobios, sino también su establecimiento y viabilidad en el sistema agroforestal de café.

En suma, la identificación de patrones ecológicos en estudios observacionales sería de suma importancia para diferenciar las fluctuaciones estacionales de los efectos antropogénicos y podrían guiar la prueba de hipótesis concretas en diseños experimentales cuidadosamente diseñados. A mediano y largo plazo, esto podría servir para estandarizar protocolos de gestión de los cafetales de sombra que favorezcan la fertilización biológica.

#### Agradecimientos

Al Instituto de Biotecnología y Ecología Aplicada (INBIOTECA) de la Universidad Veracruzana y al Comité Tutorial del primer autor, por la asesoría; al Centro Agronómico de Investigación y Enseñanza (CATIE), por facilitar el acceso a su base de datos (EBSCO-Biblioteca Orton); y a la Dra. Mónica Rosenblueth, por su revisión crítica para la elaboración de este manuscrito

**Funding.** Grant number: CONACYT 73648 and by the Autonomous University of Chiapas through a doctoral grant.

**Conflict of interests.** The authors declare that they have no conflict of interest.

**Compliance with ethical regulations.** The authors have nothing to declare, due to the nature of the work.

**Data availability.** Does not apply.

#### Author's contribution statement (CRediT): J.A.

**Velasco-Trejo:** conceptualization, data curation, formal analysis, research, methodology, project management, resources, writing—original draft. **E. Alarcón-Gutiérrez:** conceptualization, formal analysis, supervision, writing, research, resources, writing—review, correction and editing. **J. A. García-Pérez:** conceptualization, data curation, formal analysis, research, resources, supervision, writing – review, correction and editing. **M.R. Pineda-López:** formal analysis, writing – review and editing. **N. Flores-Estévez:** formal analysis.

#### REFERENCIAS

- Abdel-Wahab, S., 1985. Potassium nutrition and nitrogen fixation by nodulated legumes. *Fertilizer Research*, 8, pp. 9–20. <https://doi.org/10.1007/BF01048903>.
- Adams, M.A., Simon and J. and Pfautsch, S., 2010. Woody legumes: a (re)view from the South. *Tree Physiology*, 30, pp. 1072–1082. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpq061>.
- Aigang, L., Tianming, W., Shichang and K. and Deqian, P., 2009. On the Relationship between Latitude and Altitude Temperature Effects, in: 2009 International Conference on Environmental Science and Information Application Technology. Presented at the 2009 International Conference on Environmental Science and Information Application Technology, pp. 55–58. <https://doi.org/10.1109/ESIAT.2009.335>.
- Akeel, A. and Jahan, A., 2020. Role of Cobalt in Plants: Its Stress and Alleviation, in: Naeem, M., Ansari, A.A., Gill, S.S. (Eds.), *Contaminants in Agriculture: Sources, Impacts and Management*. Springer International Publishing, Cham, pp. 339–357. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-41552-5\\_17](https://doi.org/10.1007/978-3-030-41552-5_17).
- Alam, F., Kim, T.Y., Kim, S.Y., Alam, S.S., Pramanik, P., Kim, P.J. and Lee, Y.B., 2015. Effect of molybdenum on nodulation, plant yield and nitrogen uptake in hairy vetch (*Vicia villosa* Roth). *Soil Science and Plant Nutrition*, 61, pp. 664–675. <https://doi.org/10.1080/00380768.2015.1030690>.
- Alcantara-de la Cruz, R., Cruz-Hipolito, H., Domínguez-Valenzuela, J. and de Prado, R., 2021. Glyphosate ban in Mexico: potential impacts on agriculture and weed management. *Pest Management Science*, 77, pp. 3820–3831. <https://doi.org/10.1002/ps.6362>.
- Ali, B., Hayat, S., Hayat, Q. and Ahmad, A., 2010. Cobalt stress affects nitrogen metabolism, photosynthesis and antioxidant system in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Journal of Plant Interactions*, 5, pp. 223–231. <https://doi.org/10.1080/17429140903370584>.
- Al-Saedi, S. and Razaq, I., Ali, N., 2016. Effect of Soil Textural Classes on the Biological Nitrogen Fixation by Bradyrhizobium Measured by <sup>15</sup>N Dilution Analysis. *Baghdad Science Journal*, 13, 4, pp. 734–744. <https://doi.org/10.21123/bsj.2016.13.4.0734>.
- Andrews, M. and Andrews, M.E., 2017. Specificity in Legume-Rhizobia Symbioses. *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 705, pp. 1–39. <https://doi.org/10.3390/ijms18040705>.

- Aranjuelo, I., Irigoyen, J.J. and Sánchez-Díaz, M., 2007. Effect of elevated temperature and water availability on CO<sub>2</sub> exchange and nitrogen fixation of nodulated alfalfa plants. *Environmental and Experimental Botany* 59, pp. 99–108. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.10.008>.
- Ardley, J. and Sprent, J., 2021. Evolution and biogeography of actinorhizal plants and legumes: A comparison. *Journal of Ecology*, 109, pp. 1098–1121. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.13600>.
- Attar, H.A., Blavet, D., Selim, E.M., Abdelhamid, M.T. and Drevon, J.J., 2012. Relationship between phosphorus status and nitrogen fixation by common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) under drip irrigation. *International Journal Environment Science and Technology*, 9, pp. 1–13. <https://doi.org/10.1007/s13762-011-0001-y>.
- Ávila Bello, C.H. and Zamora Moreno, P., 2010. Producción de hojarasca y materia orgánica en agroecosistemas cafetaleros marginales de Ocotlán Chico, Veracruz, México. *Polibotánica*, pp. 69–87.
- Aynalem, B. and Assefa, F., 2017. Effect of Glyphosate and Mancozeb on the Rhizobia Isolated from Nodules of *Vicia faba* L. and on Their N Fixation, North Showa, Amhara Regional State, Ethiopia. *Advances in Biology*, 2017, pp. 1–7. <https://doi.org/10.1155/2017/5864598>.
- Babiker, N.N., Babiker, H.M. and Mukhtar, N.O., 2005. Effect of Temperature on in vitro Survival of some Bradyrhizobium Strains. *Gezira Journal of Agricultural Science*, 3, pp. 117–122.
- Bala, A., Murphy, P. and Giller, K.E., 2003a. Distribution and diversity of rhizobia nodulating agroforestry legumes in soils from three continents in the tropics. *Molecular Ecology*, 12, pp. 917–929. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2003.01754.x>.
- Bala, A., Murphy, P., Osunde, A.O. and Giller, K.E., 2003b. Nodulation of tree legumes and the ecology of their native rhizobial populations in tropical soils. *Applied Soil Ecology*, 22, pp. 211–223. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(02\)00157-9](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(02)00157-9).
- Banks, M.L., Kennedy, A.C., Kremer, R.J. and Eivazi, F., 2014. Soil microbial community response to surfactants and herbicides in two soils. *Applied Soil Ecology*, 74, pp. 12–20. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.08.018>.
- Barrera-Cataño, J.I. and Valdés-López, C., 2007. Herramientas para la restauración ecológica de áreas disturbadas en Colombia. *Universitas Scientiarum*, 12, 15, pp. 11–24.
- Barron, A.R., Purves, D.W. and Hedin, L.O., 2011. Facultative nitrogen fixation by canopy legumes in a lowland tropical forest. *Oecologia*, 165, pp. 511–520. <https://doi.org/10.1007/s00442-010-1838-3>.
- Bellamy, A.S., 2011. Weed control practices on Costa Rican coffee farms: is herbicide use necessary for small-scale producers? *Agriculture and Human Values*, 28, pp. 167–177. <https://doi.org/10.1007/s10460-010-9261-2>.
- Benbrook, C.M., 2016. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environmental Science Europe*, 28, pp. 2–15.
- Bianco, L., 2020. Principales aspectos de la nodulación y fijación biológica de nitrógeno en Fabáceas. *Idesia*, 38, pp. 21–29. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292020000200021>.
- Blanco, S.R. and Aguilar-Carrillo, A., 2015. Soil erosion and erosion thresholds in an agroforestry system of coffee (*Coffea arabica*) and mixed shade trees (Inga spp and Musa spp) in Northern Nicaragua. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 210, pp. 25–35. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2015.04.032>.
- Bolanos, L., Brewin, N.J. and Bonilla, I., 1996. Effects of Boron on Rhizobium-Legume Cell-Surface Interactions and Nodule Development. *Plant Physiology*, 110, pp. 1249–1256. <https://doi.org/10.1104/pp.110.4.1249>.
- Boumahdi, M., Mary, P. and Hornez, J.-P., 1999. Influence of growth phases and desiccation on the degrees of unsaturation of fatty acids and the survival rates of rhizobia. *Journal of Applied Microbiology*, 87, pp. 611–619. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1999.00860.x>.
- Brewbaker, J.L., 1987. Leucaena: a multipurpose tree genus for tropical agroforestry, in: Nair, P.K.R., Stepieler, H.A. (Eds.), *Agroforestry*, a



- Decade of Development. *International Council for Research in Agroforestry*, Nairobi, pp. 289–323.
- Caltran, M.E., 2012. Potencial de fixação de nitrogênio por leguminosas noduladas e cianobactérias terrestres na mata atlântica, sp. *Universidade Estadual de Campinas*, Campinas, Brasil. 85 p.
- Cannavo, P., Sansoulet, J., Harmand, J.-M., Siles, P., Dreyer, E. and Vaast, P., 2011. Agroforestry associating coffee and *Inga densiflora* results in complementarity for water uptake and decreases deep drainage in Costa Rica. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 140, pp. 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2010.11.005>
- Capitán, G.C., Ávila-Bello, C.H. and González, F.D.L., 2014. Structure and tree diversity in traditional Popoloca coffee agroecosystems in the los Tuxtlas Biosphere Reserve, Mexico. *Interciencia*, 39, 9, pp. 608-619.
- Cardoso, E.J.B.N., Gonçalves, J.L. de M., Balieiro, F. de C. and Franco, A.A. (Eds.), 2020. Mixed Plantations of Eucalyptus and Leguminous Trees: Soil, Microbiology and Ecosystem Services. *Springer International Publishing*, Cham. 269 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-32365-3>.
- Castañeda Camacho, A.C., 2014. Diseño de una metodología para evaluar el estado de los servicios ecosistémico. *Universidad Militar Nueva Granada: Especialización en Planeación ambiental y gestión Integral de los Recursos Naturales*, pp. 1-19.
- Catoira, R., Galera, C., de Billy, F., Penmetsa, R.V., Journet, E.-P., Maillat, F., Rosenberg, C., Cook, D., Gough, C. and Dénarié, J., 2000. Four Genes of *Medicago truncatula* Controlling Components of a Nod Factor Transduction Pathway. *The Plant Cell*, 12, pp. 1647–1665. <https://doi.org/10.1105/tpc.12.9.1647>
- Cerda, R., Allinne, C., Gary, C., Tixier, P., Harvey, C.A., Krolczyk, L., Mathiot, C., Clément, E., Aubertot, J.-N. and Avelino, J., 2017. Effects of shade, altitude and management on multiple ecosystem services in coffee agroecosystems. *European Journal of Agronomy*, 82, pp. 308–319. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2016.09.019>.
- Cerdán, C.R., Rebolledo, M.C., Soto, G., Rapidel, B. and Sinclair, F.L., 2012. Local knowledge of impacts of tree cover on ecosystem services in smallholder coffee production systems. *Agricultural Systems*, 110, pp. 119–130. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2012.03.014>.
- Ceroni Stuva, A., 2003. Distribución de las leguminosas de la parte alta de la cuenca La Gallega. Morropón. Piura. *Ecología Aplicada*, 2, pp. 9–13.
- Charbonnier, F., Roupsard, O., le Maire, G., Guillemot, J., Casanoves, F., Lacoite, A., Vaast, P., Allinne, C., Audebert, L., Cambou, A., Clément-Vidal, A., Defrenet, E., Duursma, R.A., Jarri, L., Jourdan, C., Khac, E., Leandro, P., Medlyn, B.E., Saint-André, L., Thaler, P., Van Den Meersche, K., Barquero Aguilar, A., Lehner, P. and Dreyer, E., 2017. Increased light-use efficiency sustains net primary productivity of shaded coffee plants in agroforestry system. *Plant, Cell & Environment* 40, pp. 1592–1608. <https://doi.org/10.1111/pce.12964>.
- Corby, H.D.L., 1988. Types of rhizobial nodules and their distribution among the leguminosae. *Kirkia*, 13, pp. 53–123. <http://www.jstor.org/stable/23502364>.
- da Silva, A., Franzini, V.I., Piccolla, C.D. and Muraoka, T., 2017. Molybdenum supply and biological fixation of nitrogen by two Brazilian common bean cultivars. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 21, pp. 100–105. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v21n2p100-105>.
- de Almeida, C. and Viani, R.A.G., 2019. Selection of shade trees in forest restoration plantings should not be based on crown tree architecture alone: Shade trees for tropical forest restoration. *Restoration Ecology*, 27, pp. 832–839. <https://doi.org/10.1111/rec.12930>.
- de Silva, K., De Meyer, S.E., Rouws, L.F.M., Farias, E.N.C., dos Santos, M.A.O., O'Hara, G., Ardley, J.K., Willems, A., Pitard, R.M. and Zilli, J.E., 2014. *Bradyrhizobium ingae* sp. nov., isolated from effective nodules of *Inga laurina* grown in Cerrado soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64, pp. 3395–3401. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.063727-0>.
- de Sousa, K., Zonneveld, M., Casanoves, F., Kindt and R., Ordóñez, J.C., 2017. Suitability of key

- Central American agroforestry species under future climates: an Atlas. ICRAF. 257 p.
- dos Santos, E.R.M., 2010. Diversidade de bactérias em nódulos de *Inga vera* willd. (leguminosae-mimosoideae) do sul da Bahia. (M.Sc.). UNIVERSIDA DE ESTADUAL DE SANTA CRUZ, Ilhéus, Bahía, Brasil. 269 p.
- dos Santos, P.C., Fang, Z., Mason, S.W., Setubal, J.C., Dixon, R., 2012. Distribution of nitrogen fixation and nitrogenase-like sequences amongst microbial genomes. *BMC Genomics*, 13, pp. 162. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-162>.
- Downie, J.A., 2014. Legume nodulation. *Current Biology*, 24, pp. 184–190. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.01.028>.
- Du, M., Gao, Z., Li, X., Liao, H., 2020. Excess nitrate induces nodule greening and reduces transcript and protein expression levels of soybean leghaemoglobins. *Annals of Botany*, pp. 1–12. <https://doi.org/10.1093/aob/mcaa002>.
- Dupont, L., Alloing, G., Pierre, O., El, S., Hopkins, J., Hrouart, D., Frendo, P., 2012. The Legume Root Nodule: From Symbiotic Nitrogen Fixation to Senescence, in: Nagata, T. (Ed.), *Senescence*. InTech. 850 p <https://doi.org/10.5772/34438>.
- Durand-Bessart, C., Tixier, P., Quinteros, A., Andreotti, F., Rapidel, B., Tauvel, C. and Allinne, C., 2020. Analysis of interactions amongst shade trees, coffee foliar diseases and coffee yield in multistrata agroforestry systems. *Crop Protection*, 133, pp.105137. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105137>
- Escamilla, P.E., Licona Vargas, A., Díaz Cardenas, S., Santoyo Cortés, H., Sosa, R. and Rodríguez Ramírez, L., 1994. Los Sistemas de Producción de Café en el Centro de Veracruz, México. Un Análisis Tecnológico. *Revista de Historia*, 30, pp. 41–67.
- Farfan-Valencia, F., 2014. Agroforestería y sistemas agroforestales con café. Manzales (Colombia). *Cenicafé*. 342 p. <https://biblioteca.cenicafe.org/handle/10778/4213>.
- Faria, S.M. de, Diedhiou, A., de Lima, H.C., Ribeiro, R.D., Galiana, A., Castilho and A.F. and Henriques, J.C., 2010. Evaluating the Nodulation Status of Leguminous Species from the Amazonian Forest of Brazil. *Journal of Experimental Botany*, 61, pp. 3119–3127. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq142>.
- Faria, S.M. de, Lewis, G.P., Sprent, J.I. and Sutherland, J.M., 1989. Occurrence of nodulation in the Leguminosae. *New Phytologist* 111, pp. 607–619. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1989.tb02354.x>.
- Faria, S.M. de and Silva, U.E. de, 2007. Indicação de estirpes de rizóbio eficientes na fixação biológica de nitrogênio para espécies de uso múltiplo, atualização ano base 2006. *Embrapa Agrobiologia* 228, pp. 10–16.
- Fauth, J.E., 1997. Working toward Operational Definitions in Ecology: Putting the System Back into Ecosystem. *Bulletin of the Ecological Society of America*, 78, pp. 295–297.
- Ferguson, B.J., Lin, M.-H. and Gresshoff, P.M., 2013. Regulation of legume nodulation by acidic growth conditions. *Plant Signaling & Behavior*, 8, pp. e23426-1-e23426-5. <https://doi.org/10.4161/psb.23426>.
- Fernández-Pascual, M., 2002. Fijación biológica de nitrógeno: factores limitantes. *Ciencia y Medio Ambiente*, pp. 195–202.
- Ferreira González, I., Urrútia, G. and Alonso-Coello, P., 2011. Revisión sistemática y meta-análisis: bases conceptuales e interpretación. *Revista Española de Cardiología*. 64, pp. 688–696. <https://doi.org/10.1016/j.recesp.2011.03.029>.
- Ferreira, T.C., Aguilar, J.V., Souza, L.A., Justino, G.C., Aguiar, L.F. and Camargos, L.S., 2016. pH effects on nodulation and biological nitrogen fixation in *Calopogonium mucunoides*. *Brazilian Journal and Botany* 39, 1015–1020. <https://doi.org/10.1007/s40415-016-0300-0>.
- Fonseca, M.B., Peix, A., Faria, S.M.D., Mateos, P.F., Rivera, L.P., Simões-araujo, J.L., Giovanni, M., Mary, R., Isaias, S., Cruz, C., Scotti, M.R., Sprent, J.I. and James, E.K., 2012. Nodulation in *Dimorphandra wilsonii* Rizz. (Caesalpinioideae), a Threatened Species Native to the Brazilian Cerrado. *Plos One*, 7, pp. e495 20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049520>.

- Fonseca, S.A., 2006. El café de sombra: un ejemplo de pago de servicios ambientales para proteger la biodiversidad. *Gaceta Ecológica*, pp. 19–31. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53908002>.
- Franco, A.A. and De Faria, S.M., 1997. The contribution of N<sub>2</sub>-fixing tree legumes to land reclamation and sustainability in the tropics. *Soil Biology and Biochemistry*, International Symposium - Sustainable Agriculture for the Tropics: *The Role of Biological Nitrogen Fixation*, 29, pp. 897–903. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(96\)00229-5](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(96)00229-5).
- Friis, I., Balslev, H. and Selskab, K.D. 2005. Plant Diversity and Complexity Patterns: Local, Regional and Global Dimensions: *Proceedings of an International Symposium Held at the Royal Danish Academy of Sciences and Letters in Copenhagen, Denmark, 25-28 May, 2003*. Kgl. Danske Videnskabernes Selskab. 622 p.
- Fujita, K., Ofosu-Budu, K.G. and Ogata, S., 1992. Biological nitrogen fixation in mixed legume-cereal cropping systems. *Plant Soil*, 141, pp. 155–175. <https://doi.org/10.1007/BF00011315>.
- Gage, D.J., 2004. Infection and Invasion of Roots by Symbiotic, Nitrogen-Fixing Rhizobia during Nodulation of Temperate Legumes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 68, pp. 280–300. <https://doi.org/10.1128/MMBR.68.2.280-300.2004>.
- García-Pérez, J.A., Alarcón-Gutiérrez, E., Perroni, Y. and Barois, I., 2014. Earthworm communities and soil properties in shaded coffee plantations with and without application of glyphosate. *Applied Soil Ecology* 83, pp. 230–237. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.09.006>.
- Garza-Lau, R., Maldonado-Torres, R., Álvarez-Sánchez, M.E. and Torres-Rivera, J.A., 2020. Caracterización de especies arbóreas asociadas al cultivo de café. *Remexca*, 11, pp. 25–32. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i1.2210>.
- Geurts, R. and Franssen, H., 1996. Signal Transduction in Rhizobium-Induced Nodule Formation. *Plant Physiology*, 112, pp. 447–453.
- Góes, G.S., Gross, E., Brito-Rocha, E. and Mielke, M.S., 2015. Efeitos da inoculação com bactérias diazotróficas e da adubação nitrogenada no crescimento e na qualidade de mudas de *Inga laurina* (SW.) Willd. (Fabaceae). *Revista Árvore*, 39, pp. 1031–1038. <https://doi.org/10.1590/0100-67622015000600005>.
- Gómez-Martínez, M.J., Diaz-Padilla, G., Charbonnier, F., Sánchez-Viveros, G. and Cerdán-Cabrera, C.R., 2018. Ensamblajes arbóreos en sistemas agroforestales cafetaleros con diferente intensidad de manejo en Veracruz, México. *Revista de Ciencias Ambientales*, 52, 16, pp. 16-38. <https://doi.org/10.15359/rca.52-2.2>.
- Graham, P.H., 1992. Stress tolerance in Rhizobium and Bradyrhizobium and nodulation under adverse soil conditions. *Canadian Journal of Microbiology*, 38, pp. 475–484. <https://doi.org/10.1139/m92-079>.
- Graham, P.H., Draeger, K.J., Ferrey, M.L., Conroy, M.J., Hammer, B.E., Martinez, E., Aarons, S.R. and Quinto, C., 1994. Acid pH tolerance in strains of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* and initial studies on the basis for acid tolerance of *Rhizobium tropici* UMR1899. *Canadian Journal of Microbiology*, 40, pp. 198–207. <https://doi.org/10.1139/m94-033>.
- Gross, J. and Bhattacharya, D., 2009. Mitochondrial and plastid evolution in eukaryotes: an outsiders' perspective. *Nature Reviews Genetics*, 10, pp. 495–505. <https://doi.org/10.1038/nrg2610>.
- Grossman, J.M., Sheaffer, C., Wyse, D., Bucciarelli, B., Vance, C. and Graham, P.H., 2006. An assessment of nodulation and nitrogen fixation in inoculated *Inga oerstediana*, a nitrogen-fixing tree shading organically grown coffee in Chiapas, Mexico. *Soil Biology and Biochemistry*, 38, pp. 769–784. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.07.009>.
- Guijarro, K.H., Aparicio, V., De Gerónimo, E., Castellote, M., Figuerola, E.L., Costa, J.L. and Erijman, L., 2018. Soil microbial communities and glyphosate decay in soils with different herbicide application history. *Science of The Total Environment*, 634, pp. 974–982. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.093>.

- Gyaneshwar, P., Hirsch, A.M., Moulin, L., Chen, W.-M., Elliott, G.N., Bontemps, C., Estrada-de los Santos, P., Gross, E., dos Reis, F.B., Sprent, J.I., Young, J.P.W. and James, E.K., 2011. Legume-Nodulating Betaproteobacteria: Diversity, Host Range and Future Prospects. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 24, pp. 1276–1288. <https://doi.org/10.1094/MPMI-06-11-0172>.
- Hafeez, F.Y., Shah, N.H. and Malik, K.A., 2000. Field evaluation of lentil cultivars inoculated with *Rhizobium leguminosarum* bv. viciae strains for nitrogen fixation using nitrogen-15 isotope dilution. *Biology and Fertility of Soils*, 31, pp. 65–69. <https://doi.org/10.1007/s003740050625>.
- Haggar, J., Medina, B., Aguilar, R.M. and Munoz, C., 2013. Land Use Change on Coffee Farms in Southern Guatemala and its Environmental Consequences. *Environmental Management*, 51, pp. 811–823. <https://doi.org/10.1007/s00267-013-0019-7>.
- Hala, K., Gad, N. and Abdelhamid, M., 2013. Effects of Different Rates of Phosphorus and Molybdenum Application on Two Varieties Common Bean of (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agriculture and Food Technology*, 3, pp. 8–16.
- Hedin, L.O., Brookshire, E.N.J., Menge, D.N.L. and Barron, A.R., 2009. The Nitrogen Paradox in Tropical Forest Ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 40, pp. 613–635. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.37.091305.110246>.
- Hergoualc'h, K., Blanchart, E., Skiba, U., Hénault, C. and Harmand, J.-M., 2012. Changes in carbon stock and greenhouse gas balance in a coffee (*Coffea arabica*) monoculture versus an agroforestry system with *Inga densiflora*, in Costa Rica. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 148, pp. 102–110. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2011.11.018>.
- Hernández, G., De Gerónimo, E. and Erijman, L., 2021. Glyphosate Biodegradation Potential in Soil Based on Glycine Oxidase Gene (thiO) from Bradyrhizobium. *Current Microbiology*, 78, pp. 1991–2000. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02467-z>.
- Hernandez, V.E., Campos, A.G., Enriquez, del V.J., Rodriguez-Ortiz, G. and Velasco, A., 2012. Captura de carbono por *Inga jinicuil* Schltdl. En un sistema agroforestal de café bajo sombra. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 3, pp. 11–21.
- Hernández-Sánchez, M.I. and Nava-Tablada, M.E., 2018. Cafeticultura en áreas naturales protegidas. el caso del sitio RAMSAR “Cascadas de Texolo y su entorno” en Veracruz, México. *Agro Productividad, Innovaciones Tecnológicas en la Producción de Planta de Café*, 11, pp. 3–8.
- Herridge, D.F., Peoples, M.B. and Boddey, R.M., 2008. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems. *Plant Soil*, 311, pp. 1–18. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9668-3>.
- Hobbie, S.E., 1992. Effects of plant species on nutrient cycling. *Trends in Ecology & Evolution* 7, pp. 336–339. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(92\)90126-V](https://doi.org/10.1016/0169-5347(92)90126-V).
- Hungria, M. and Franco, A.A., 1993. Effects of high temperature on nodulation and nitrogen fixation by *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Soil*, 149, pp. 95–102. <https://doi.org/10.1007/BF00010766>.
- Hungria, M. and Stacey, G., 1997. Molecular signals exchanged between host plants and rhizobia: Basic aspects and potential application in agriculture. *Soil Biology and Biochemistry, International Symposium - Sustainable Agriculture for the Tropics: The Role of Biological Nitrogen Fixation*, 29, pp. 819–830. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(96\)00239-8](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(96)00239-8).
- Hussain, K., Islam, M., Siddique, M.T., Hayat, R. and Mohsan, S., 2011. Soybean Growth and Nitrogen Fixation as Affected by Sulfur Fertilization and Inoculation under Rainfed Conditions in Pakistan. *International Journal of Agriculture & Biology*, 13, pp. 951–955.
- INIFAP, 2017. *Agenda Técnica Agrícola Veracruz*. INIFAP, Ciudad de México. 191 p.
- Innan, H. and Kim, Y., 2004. Pattern of polymorphism after strong artificial selection in a domestication event. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101, pp. 10667–10672. <https://doi.org/10.1073/pnas.0401720101>.
- Islam, M., Mohsan, S. and Ali, S., 2012. Effect of different phosphorus and sulfur levels on nitrogen fixation and uptake by chickpea



- (*Cicer arietinum* L.). *Agrociencia* 46, pp. 1–12.
- Izaguirre, M.L., 2005. Distribución geográfica, nodulación y comportamiento agronómico de tres especies de *Sesbania* nativas de zonas inundables en Venezuela. *Agronomía Tropical*, 55, 1, pp. 63-82. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0002-192X2005000100004&lng=es&nrm=iso&tln\\_g=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0002-192X2005000100004&lng=es&nrm=iso&tln_g=es)
- Justino, G., Omena-Garcia, R., dos Santos, A., de Camargos, L., Sodek, L. and Gonçalves, J., 2017. Nitrogen used strategies of nodulated amazonian legume: *Inga edulis*. *Journal of Tropical Forest Science* 29, pp. 1–9.
- Kanmegne, J., Bayomock, L.A., Degrande, A., Asaah, E. and Duguma, B., 2003. Establishment of *Inga edulis* and *Calliandra calothyrsus* in improved fallow systems in southern Cameroon. *Agroforestry Systems*, 58, pp. 119–124. <https://doi.org/10.1023/A:1026088303184>.
- Karanja, N.K. and Wood, M., 1988. Selecting *Rhizobium phaseoli* strains for use with beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in Kenya: Tolerance of high temperature and antibiotic resistance. *Plant Soil*, 112, pp. 15–22. <https://doi.org/10.1007/BF02181747>.
- Kemppinen, J., Niittynen, P., Riihimäki, H. and Luoto, M., 2018. Modelling soil moisture in a high-latitude landscape using LiDAR and soil data. *Earth Surface Processes and Landforms*, 43, pp. 1019–1031. <https://doi.org/10.1002/esp.430>.
- Kessel, C.V., Roskoski, J.P., Wood, T. and Montano, J., 1983.  $15N_2$  Fixation and  $H_2$  Evolution by Six Species of Tropical Leguminous Trees. *Plant Physiology*, 72, pp. 909–910.
- Kiss, S.A., Stefanovits-Bányai, E. and Takács-Hájos, M., 2004. Magnesium-Content of *Rhizobium* Nodules in Different Plants: The Importance of Magnesium in Nitrogen-Fixation of Nodules. *Journal of the American College of Nutrition*, 23, pp. 751S-753S. <https://doi.org/10.1080/07315724.2004.10719422>.
- Klinger, C.R., Lau, J.A. and Heath, K.D., 2016. Ecological genomics of mutualism decline in nitrogen-fixing bacteria. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283, pp. 20152563-1-20152563-9. <https://doi.org/10.1098/rspb.2015.2563>.
- Kobe, R., 1999. Light Gradient Partitioning among Tropical Tree Species through Differential Seedling Mortality and Growth. *Ecology*, 80, pp. 187–201. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(1999\)080\[0187:LGPATT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(1999)080[0187:LGPATT]2.0.CO;2).
- Krouma, A., Drevon, J.-J. and Abdelly, C., 2006. Genotypic variation of  $N_2$ -fixing common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in response to iron deficiency. *Journal of Plant Physiology* 163, pp. 1094–1100. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.08.013>.
- Lawrence, A., Pennington, T.D., Toby, D., Hands, M.R., Michel, R. and Zuñiga, A., 1994. *Inga*: high diversity in the neotropics; Nitrogen fixing trees for acid soils; proceedings. *Presented at the Workshop on Nitrogen Fixing Trees for Acid Soils*, Morrilton, Ark. (EUA). 1995., Turrialba, C.R., pp. 130-141.
- Lawson, I.Y.D., Muramatsu, K. and Nioh, I., 1995. Effect of organic matter on the growth, nodulation and nitrogen fixation of soybean grown under acid and saline conditions. *Soil Science and Plant Nutrition*, 41, pp. 721–728. <https://doi.org/10.1080/00380768.1995.10417022>.
- Leblanc, H.A., McGraw, R.L. and Nygren, P., 2007. Dinitrogen-fixation by three neotropical agroforestry tree species under semi-controlled field conditions. *Plant Soil*, 291, pp. 199–209. <https://doi.org/10.1007/s11104-006-9186-0>.
- Leblanc, H.A., McGraw, R.L., Nygren, P. and Roux, C.L., 2005. Neotropical Legume Tree *Inga edulis* Forms  $N_2$ -fixing Symbiosis with Fast-growing Bradyrhizobium Strains. *Plant Soil*, 275, pp. 123–133. <https://doi.org/10.1007/s11104-005-0808-8>.
- Leblanc, H.A., Nygren, P. and McGraw, R.L., 2006. Green mulch decomposition and nitrogen release from leaves of two *Inga* spp. in an organic alley-cropping practice in the humid tropics. *Soil Biology and Biochemistry*, 38, pp. 349–358. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.05.012>.
- Liu, C.-W. and Murray, J.D., 2016. The Role of Flavonoids in Nodulation Host-Range Specificity: An Update. *Plants*, 5, pp. 33. <https://doi.org/10.3390/plants5030033>.



- López, L.F.A. and Mora, J.M., 2006. Factores estructurales, bioquímicos y moleculares de la simbiosis Bradyrhizobium sp. (Lupinus)-Lupinus. *Anual de Revista Academica Nacional Farmaceutica*, 72, pp. 423–442.
- López-Gómez, A.M., Williams-Linera, G. and Manson, R.H., 2008. Tree species diversity and vegetation structure in shade coffee farms in Veracruz, Mexico. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 124, pp. 160–172.  
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2007.09.008>.
- López-Rodríguez, G., Sotomayor-Ramírez, D., Amador, J.A. and Schröder, E.C., 2015. Contribution of nitrogen from litter and soil mineralization to shade and sun coffee (*Coffea arabica* L.) agroecosystems. *Tropical Ecology*, 56, pp. 155–167.
- LPWG, 2017. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny – The Legume Phylogeny Working Group (LPWG). *Phylogeny and classification of the Leguminosae* 66, pp. 44–77.  
<https://doi.org/10.12705/661.3>.
- Mamani-Pati, F., Clay, D.E., Clay, S.A., Smeltekop, H. and Yujra-Callata, M.A., 2012. The Influence of Strata on the Nutrient Recycling within a Tropical Certified Organic Coffee Production System. *International Scholarly Research Network Agronomy*, 2012, pp. e389290-1-e389290-8.  
<https://doi.org/10.5402/2012/389290>.
- Manson, R.H., 2008. Agroecosistemas cafetaleros de Veracruz: biodiversidad, manejo y conservación. Instituto Nacional de Ecología. 349 p.
- Maqueda, C., Undabeytia, T., Villaverde, J. and Morillo, E., 2017. Behaviour of glyphosate in a reservoir and the surrounding agricultural soils. *Science of The Total Environment*, 593–594, pp. 787–795.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.202>.
- Marchetti, M.M., Pires Santos, J.C. and Baratto, C.M., 2017. Caracterização de bactérias em nódulos de leguminosas arbóreas de fragmentos da floresta ombrófila mista. *Scientia Agraria*, 18, pp. 50.  
<https://doi.org/10.5380/rsa.v18i4.51383>.
- María de las Heras, N. de, 2006. Efecto del glifosato sobre la simbiosis “lupinus albus-bradyrhizobium” SP. (“lupinus”). [Universidad Complutense], *Servicio de Publicaciones*, Madrid. 199 p.
- Martínez-Romero, E. and Caballero-Mellado, J., 1996. Rhizobium Phylogenies and Bacterial Genetic Diversity. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 15, pp. 113–140.  
<https://doi.org/10.1080/07352689.1996.10393183>.
- Martins da Costa, E., Azarias Guimarães, A., Soares de Carvalho, T., Louzada Rodrigues, T., de Almeida Ribeiro, P.R., Lebbe, L., Willems, A. and de Souza Moreira, F.M., 2018. Bradyrhizobium forestalis sp. nov., an efficient nitrogen-fixing bacterium isolated from nodules of forest legume species in the Amazon. *Archives of Microbiology*, 200, pp. 743–752.  
<https://doi.org/10.1007/s00203-018-1486-2>.
- Martins da Costa, E., de Lima, W., de Almeida Ribeiro, P.R. and de Souza Moreira, F.M., 2021. Acid and high-temperature tolerant Bradyrhizobium spp. strains from Brazilian soils are able to promote *Acacia mangium* and *Stizolobium aterrimum* growth. *Symbiosis*, 83, pp. 65–78.  
<https://doi.org/10.1007/s13199-020-00732-6>.
- Mary, P., Ochin, D. and Tailliez, R., 1985. Rates of Drying and Survival of Rhizobium meliloti Strains During Storage at Different Relative Humidities. *Applied and Environmental Microbiology*, 50, pp. 207–211.  
<https://doi.org/10.1128/AEM.50.2.207-211.1985>.
- Massot, F., Gkorezis, P., Van Hamme, J., Marino, D., Trifunovic, B.S., Vukovic, G., d’Haen, J., Pintelon, I., Giulietti, A.M., Merini, L., Vangronsveld, J. and Thijs, S., 2021. Isolation, Biochemical and Genomic Characterization of Glyphosate Tolerant Bacteria to Perform Microbe-Assisted Phytoremediation. *Frontiers in Microbiology* 11, pp. 598507-1-598507-19.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.598507>
- Melgarejo, V., Bautista, S. and Camargo, M., 2020. Challenges and trends in the valuation of ecosystem services in agro-ecosystems: a systematic revision. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 23, 3, pp. 1-32.

- Menge, D.N.L. and Crews, T.E., 2016. Can evolutionary constraints explain the rarity of nitrogen-fixing trees in high-latitude forests? *New Phytologist*, 211, pp. 1195–1201. <https://doi.org/10.1111/nph.14080>.
- Menge, D.N.L., Lichstein, J.W. and Ángeles-Pérez, G., 2014. Nitrogen fixation strategies can explain the latitudinal shift in nitrogen-fixing tree abundance. *Ecology*, 95, pp. 2236–2245. <https://doi.org/10.1890/13-2124.1>.
- Mengel, K. and Viro, M., 1974. Effect of Potassium Supply on the Transport of Photosynthates to the Fruits of Tomatoes (*Lycopersicon esculentum*). *Physiology Plant*, 30, pp. 295–300. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1974.tb03660.x>.
- Menna, P. and Hungria, M., 2011. Phylogeny of nodulation and nitrogen-fixation genes in Bradyrhizobium: supporting evidence for the theory of monophyletic origin and spread and maintenance by both horizontal and vertical transfer. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61, pp. 3052–3067. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.028803-0>.
- Menza, H.D. and Salazar, L.F., 2007. Alternativas de control químico para la prevención y manejo de la resistencia de arvenses al glifosato. *CENICAFÉ*, 58, pp. 91–98.
- Michel, D.C., Passos, S.R., Simões-Araujo, J.L., Baraúna, A.C., da Silva, K., Parma, M.M., Melo, I.S., De Meyer, S.E., O'Hara, G. and Zilli, J.E., 2017. *Bradyrhizobium centrolobii* and *Bradyrhizobium macuxiense* sp. nov. isolated from *Centrolobium paraense* grown in soil of Amazonia, Brazil. *Archives of Microbiology*, 199, pp. 657–664. <https://doi.org/10.1007/s00203-017-1340-y>.
- Miransari, M. and Smith, D., 2008. Using signal molecule genistein to alleviate the stress of suboptimal root zone temperature on soybean-Bradyrhizobium symbiosis under different soil textures. *Journal of Plant Interactions*, 3, pp. 287–295. <https://doi.org/10.1080/17429140802160136>.
- Moguel, P. and Toledo, V.M., 1999. Biodiversity Conservation in Traditional Coffee Systems of Mexico. *Conservation Biology* 13, pp. 11–21. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1999.97153.x>.
- Mohammadi, K., 2012. Effective factors on biological nitrogen fixation. *African Journal of Agricultural Research*, 7, 12, pp. 1782–1788. <https://doi.org/10.5897/AJARX11.034>.
- Moorman, T.B., 1989. A Review of Pesticide Effects on Microorganisms and Microbial Processes Related to Soil Fertility. *Journal of Production Agriculture*, 2, pp. 14–23. <https://doi.org/10.2134/jpa1989.0014>.
- Myster, R.W., 2011. Light and nutrient effects on growth and allocation of *Inga vera* (Leguminosae), a successional tree of Puerto Rico. *Canadian Journal of Forest Research*, 36, pp. 1121–1128. <https://doi.org/10.1139/x06-006>.
- Nelson, S., 2008. Glyphosate Herbicide Injury to Coffee. *Published by the College of Tropical Agriculture and Human Resources (CTAHR) and issued in furtherance of Cooperative Extension work, Acts of May 8 and June 30, 1914. Cooperative Extension Service/CTAHR, University of Hawai'i at Mānoa. Honolulu, Hawai'i*. 56, pp. 1-5.
- Nguyen, H.P., Miwa, H., Obirih-Opareh, J., Suzaki, T., Yasuda, M. and Okazaki, S., 2020. Novel rhizobia exhibit superior nodulation and biological nitrogen fixation even under high nitrate concentrations. *FEMS Microbiology Ecology*, 96, 2, pp. 1-13. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiz184>.
- Nolasco, M., Downing, T.E., Toledo, A. and Fuentes, R., 1985. *Café y sociedad en México, México, Centro de Ecodesarrollo*. ed. D.F. 273 p.
- Nygren, P., Fernández, M.P., Harmand, J.-M. and Leblanc, H.A., 2012. Symbiotic dinitrogen fixation by trees: an underestimated resource in agroforestry systems? *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 94, pp. 123–160. <https://doi.org/10.1007/s10705-012-9542-9>.
- Ohyama, T., Fujikake, H., Yashima, H., Tanabata, S., Ishikawa, S., Sato, T., Nishiwaky, T., Ohtake, N., Sueyoshi, K., Ishii, S. and Fujimaki, S., 2011. Effect of Nitrate on Nodulation and Nitrogen Fixation of Soybean, in: H. El-Shemy, ed. *Soybean Physiology and Biochemistry*, London: IntechOpen, pp. 333–364.
- Oldroyd, G.E.D. and Downie, J.A., 2008. Coordinating Nodule Morphogenesis with Rhizobial Infection in Legumes. *Annual Review of Plant Biology*, 59, pp. 519–546.

- <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092839>.
- Omena-García, R.P., Justino, G.C. and Sodek, L., 2011. Mineral nitrogen affects nodulation and amino acid xylem transport in the Amazonian legume *Inga edulis* Mart. *Plant Physiology and Biochemistry*, 3, pp. 215–218.
- Ormeño-Orrillo, E., Hungria, M. and Martínez-Romero, E., 2013. Dinitrogen-fixing prokaryotes. *The prokaryotes*, pp. 427–451. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-30141-4\\_72](https://doi.org/10.1007/978-3-642-30141-4_72).
- Palow, D.T., Nolting, K. and Kitajima, K., 2012. Functional trait divergence of juveniles and adults of nine *Inga* species with contrasting soil preference in a tropical rain forest. *Functional Ecology*, 26, pp. 1144–1152. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2012.02019.x>.
- Pankhurst, C.E. and Sprent, J.I., 1976. Effects of Temperature and Oxygen Tension on the Nitrogenase and Respiratory Activities of Turgid and Water-stressed Soybean and French Bean Root Nodules. *Journal of Experimental Botany*, 27, pp. 1–9. <https://doi.org/10.1093/jxb/27.1.1-a>.
- Paolini Gomez, J.E., 2018. Actividad microbiológica y biomasa microbiana en suelos cafetaleros de los Andes venezolanos. *Revista Terra Latinoamericana*, 36, pp. 13–22. <https://doi.org/10.28940/terra.v36i1.257>.
- Parker, M.A., 2015. The Spread of Bradyrhizobium Lineages Across Host Legume Clades: from Abarema to Zygia. *Microbial Ecology*, 69, pp. 630–640. <https://doi.org/10.1007/s00248-014-0503-5>.
- Peck, M.C., Fisher, R.F. and Long, S.R., 2006. Diverse Flavonoids Stimulate NodD1 Binding to nod Gene Promoters in *Sinorhizobium meliloti*. *Journal of Bacteriology*, 188, pp. 5417–5427. <https://doi.org/10.1128/JB.00376-06>.
- Peeters, L.Y.K., Soto-Pinto, L., Perales, H., Montoya, G. and Ishiki, M., 2003. Coffee production, timber and firewood in traditional and *Inga*-shaded plantations in Southern Mexico. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 95, pp. 481–493. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(02\)00204-9](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(02)00204-9).
- Pereira-Gómez, M., Ríos, C., Zabaleta, M., Lagurara, P., Galvalisi, U., Iccardi, P., Azziz, G., Battistoni, F., Platero, R. and Fabiano, E., 2020. Native legumes of the Farrapos protected area in Uruguay establish selective associations with rhizobia in their natural habitat. *Soil Biology and Biochemistry*, 148, pp. 107854. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107854>.
- Porto, D.S., Farias, E. do N.C., Chaves, J. da S., Souza, B.F., Medeiros, R.D. de, Zilli, J.É. and Silva, K. da, 2017. Symbiotic effectiveness of *Bradyrhizobium ingae* in promoting growth of *Inga edulis* Mart. seedlings. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 41, pp. e0160222-1- e0160222-15. <https://doi.org/10.1590/18069657rbcs20160222>.
- Possette, R.F. da S. and Rodrigues, W.A., 2010. O gênero *Inga* Mill. (Leguminosae - Mimosoideae) no estado do Paraná, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, 24, pp. 354–368. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062010000200006>.
- Prezeworski, M., Coop, G. and Wall, J.D., 2005. The Signature of Positive Selection on Standing Genetic Variation. *Evolution*, 59, pp. 2312–2323. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2005.tb00941.x>.
- Purcell, L.C., King, C.A. and Ball, R.A., 2000. Soybean Cultivar Differences in Ureides and the Relationship to Drought Tolerant Nitrogen Fixation and Manganese Nutrition. *Crop Science* 40, pp. 1062–1070. <https://doi.org/10.2135/cropsci2000.4041062x>.
- Ratnadass, A., Fernandes, P., Avelino, J. and Habib, R., 2012. Plant species diversity for sustainable management of crop pests and diseases in agroecosystems: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 32, pp. 273–303. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0022-4>.
- Reich, P.B. and Oleksyn, J., 2004. Global patterns of plant leaf N and P in relation to temperature and latitude. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101, pp. 11001–11006. <https://doi.org/10.1073/pnas.0403588101>.
- Reyes, S.R., Olvera, M.A.P., Palma, G.I., Rodríguez, J.A.C., Vibrans, H. and Sánchez, D.F., 2020. Diversidad y uso tradicional de árboles de sombra en cafetales agroecológicos. *Revista*

- de Geografía Agrícola*, pp. 259–273. <https://doi.org/10.5154/r.rga.2020.64.12>.
- Rhem, M.F.K., Silva, V.C., dos Santos, J.M.F., Zilli, J.É., James, E.K., Fragomeni Simon, M. and Gross, E., 2021. The large mimosoid genus *Inga* Mill. (tribe Ingeae, Caesalpinioideae) is nodulated by diverse Bradyrhizobium strains in its main centers of diversity in Brazil. *Systematic and Applied Microbiology*, 44, pp. 126268. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2021.126268>
- Rice, W.A., Penney, D.C. and Nyborg, M., 1977. Effects of soil acidity on rhizobia numbers, nodulation and nitrogen fixation by alfalfa and red clover. *Canadian Journal of Soil Science*, 57, pp. 197–203. <https://doi.org/10.4141/cjss77-024>.
- Rodríguez, C., 1990. *Inga vera* Willd. Guaba, in: Familia de las Leguminosas. Subfamilia Mimosas. *Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station.*, New Orleans, LA: U.S., pp. 288–291.
- Rodríguez-Haas, B., Finney, L., Vogt, S., González-Melendi, P., Imperial, J. and González-Guerrero, M., 2013. Iron distribution through the developmental stages of *Medicago truncatula* nodules. *Metallomics* 5, pp. 1247. <https://doi.org/10.1039/c3mt00060e>.
- Romero-Alvarado, Y., Soto-Pinto, L., García-Barrios, L. and Barrera-Gaytán, J.F., 2002. Coffee yields and soil nutrients under the shades of *Inga* sp. vs. multiple species in Chiapas, Mexico. *Agroforestry Systems* 54, pp. 215–224.
- Roskoski, J.P., 1982. Nitrogen fixation in a Mexican coffee plantation. *Plant and Soil*, 67, pp. 283–291.
- Roskoski, J.P. and van Kessel, C., 1985. Annual, Seasonal and Diel Variation in Nitrogen Fixing Activity by *Inga jinicuil*, a Tropical Leguminous Tree. *Oikos*, 44, pp. 306. <https://doi.org/10.2307/3544704>.
- Ruiz-García, P., Gómez-Díaz, J.D., Valdes-Velarde, E., Tinoco-Rueda, J.A., Flores-Ordoñez, M. and Monterroso-Rivas, A.I., 2020. Biophysical and structural composition characterization in agroforestry systems of organic coffee from Veracruz. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 23(37), pp. 1–17.
- Salazar G., L.F. and Hincapie G., E., 2013. Arvenses de mayor interferencia en los cafetales (Technical Report). *Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé)*, 5, pp 101–130. <https://biblioteca.cenicafe.org/handle/10778/406>.
- Salgado, B.G., Macedo, R.L.G., Venturin, N. and de Carvalho, V.L., 2004. Produtividade de cafeeiros arborizados com ingazeiro e com grevilea em Lavras-MG. *Agrossilvicultura*, 1, 8, pp. 155–162.
- Sauvadet, M., den Meersche, K.V., Allinne, C., Gay, F., de Melo Virginio Filho, E., Chauvat, M., Becquer, T., Tixier, P. and Harmand, J.-M., 2019. Shade trees have higher impact on soil nutrient availability and food web in organic than conventional coffee agroforestry. *Science of The Total Environment*, 649, pp. 1065–1074. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.291>.
- SEMARNAT, 2019. Niega Semarnat importación de mil toneladas de glifosato, bajo el principio precautorio para la prevención de riesgos [WWW Document]. Gobierno de México. URL <http://www.gob.mx/semarnat/prensa/niega-semarnat-importacion-de-mil-toneladas-de-glifosato-bajo-el-principio-precautorio-para-la-prevencion-de-riesgos> [accessed 9.15.20].
- Sheldon, K.S., 2019. Climate Change in the Tropics: Ecological and Evolutionary Responses at Low Latitudes. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 50, pp. 303–333. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110218-025005>.
- Shrivastava, N., Mahajan, S. and Varma, A. (Eds.), 2020. Symbiotic Soil Microorganisms: Biology and Applications, Soil Biology. *Springer International Publishing*, Cham. 482 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-51916-2>.
- Siles, P., Harmand, J.-M. and Vaast, P., 2010. Effects of *Inga densiflora* on the microclimate of coffee (*Coffea arabica* L.) and overall biomass under optimal growing conditions in Costa Rica | Kopernio. *Agroforestry Systems*, 78, pp. 269–286. <https://doi.org/10.1007/s10457-009-9241-y>.
- Smith, D., Muscatine, L. and Lewis, D., 1969. Carbohydrate movement from autotrophs to



- heterotrophs in parasitic and mutualistic symbiosis. *Biological Reviews*, 44, pp. 17–85. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1969.tb00821.x>
- Somarrriba, E., Beer, J., Alegre-Orihuela, J. Andrade, H.J., Cerda, R., DeClerck, F., Detlefsen, G., Escalante, M., Giraldo, L.A., Ibrahim, M., Krishnamurthy, L., Mena-Mosquera, V.E., Mora-Degado, J.R., Orozco, L., Scheelje, M. and Campos, J.J., 2012. Mainstreaming Agroforestry in Latin America, in: Nair, P.K.R., Garrity, D. (Eds.), *Agroforestry - The Future of Global Land Use*, *Advances in Agroforestry*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 429–453. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-4676-3\\_21](https://doi.org/10.1007/978-94-007-4676-3_21).
- Soto-Pinto, L., Perfecto, I., Castillo-Hernandez, J. and Caballero-Nieto, J., 2000. Shade effect on coffee production at the northern Tzeltal zone of the state of Chiapas, Mexico. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 80, pp. 61–69. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(00\)00134-1](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(00)00134-1).
- Sousa, M., 1993. El Genero Inga (Leguminosae: Mimosoideae) del Sur de México y Centroamérica, Estudio Previo Para la Flora Mesoamericana. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 80, pp. 223. <https://doi.org/10.2307/2399826>.
- Sprent, J.I., 2007. Evolving ideas of legume evolution and diversity: a taxonomic perspective on the occurrence of nodulation: *Tansley review*. *New Phytologist*, 174, pp. 11–25. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02015.x>.
- Sprent, J.I., 1995. Legume Trees and Shrubs in the Tropics: N<sub>2</sub> Fixation in Perspective. *Soil Biology and Biochemistry*, 27, pp. 401–407.
- Sprent, J.I., Ardley, J. and James, E.K., 2017. Biogeography of nodulated legumes and their nitrogen-fixing symbionts. *New Phytologist* 215, pp. 40–56. <https://doi.org/10.1111/nph.14474>.
- Sprent, J.I., Ardley, J.K. and James, E.K., 2013. From North to South: A latitudinal look at legume nodulation processes. *South African Journal of Botany*, 89, pp. 31–41. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.06.011>
- Sprent, J.I. and Sprent, P., 1990. Nitrogen fixing organisms: pure and applied aspects. London: Chapman and Hall, 256 p.
- Staver, C., Juventia, S., Navarrete, E., Navarrete, L., Sepulveda, N. and Barrios, M., 2020. Long-term response of groundcover components to organic and conventional weed control in shaded and open-sun coffee in Nicaragua. *Crop Protection*, 133, pp. 105150. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105150>
- Streeter, J.G., 1985. Nitrate Inhibition of Legume Nodule Growth and Activity. *Plant Physiology*, 77, pp. 321–324.
- Székács, A. and Darvas, B., 2018. Re-registration Challenges of Glyphosate in the European Union. *Frontiers in Environmental Science*, 6, pp. 78-1-78-35.
- Taiz, L. and Zeiger, E., 2006. Fisiología vegetal. Universitat Jaume I. 1338 p.
- Tajima, R., Lee, O.N., Abe, J., Lux, A. and Morita, S., 2007. Nitrogen-Fixing Activity of Root Nodules in Relation to Their Size in Peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Plant Production Science*, 10, pp. 423–429. <https://doi.org/10.1626/pp.s.10.423>.
- Taylor, B.N. and Menge, D.N.L., 2018. Light regulates tropical symbiotic nitrogen fixation more strongly than soil nitrogen. *Nature Plants*, 4, pp. 655–661. <https://doi.org/10.1038/s41477-018-0231-9>.
- Thomas, R.B., Bashkin, M.A. and Richter, D.D., 2000. Nitrogen inhibition of nodulation and N<sub>2</sub> fixation of a tropical N<sub>2</sub>-fixing tree (*Gliricidia sepium*) grown in elevated atmospheric CO<sub>2</sub>. *New Phytologist*, 145, pp. 233–243. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2000.00577.x>.
- Tindwa, H., Semu, E. and Msumali, G., 2014. Effects of elevated copper levels on biological nitrogen fixation and occurrence of rhizobia in a Tanzanian coffee-cropped soil. *Journal of Agricultural Science and Applications*, 3, pp. 13-19. <https://doi.org/10.14511/jasa.2014.030103>.
- Traveset, A., 2015. Impacto de especies no-nativas sobre las comunidades mediado por interacciones mutualistas. *Ecosistemas*, 24, pp. 67–75. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2015.24-1.11>.

- Tselioudis, G., Rossow, W.B. and Rind, D., 1992. Global Patterns of Cloud Optical Thickness Variation with Temperature. *Journal of Climate*, 5, pp. 1484–1495. [https://doi.org/10.1175/1520-0442\(1992\)005<1484:GPOCOT>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1175/1520-0442(1992)005<1484:GPOCOT>2.0.CO;2).
- Tully, K.L., Lawrence, D. and Scanlon, T.M., 2012. More trees less loss: Nitrogen leaching losses decrease with increasing biomass in coffee agroforests. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 161, pp. 137–144. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2012.08.002>.
- Van Bruggen, A.H.C., He, M.M., Shin, K., Mai, V., Jeong, K.C., Finckh, M.R. and Morris, J.G., 2018. Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. *Science of The Total Environment*, 616–617, pp. 255–268. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.309>.
- Van de Peer, T., Verheyen, K., Kint, V., Van Cleemput, E. and Muys, B., 2017. Plasticity of tree architecture through interspecific and intraspecific competition in a young experimental plantation. *Forest Ecology and Management*, 385, pp. 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2016.11.015>.
- Vera, D. and Lina, K., 2016. Taxonomía y distribución altitudinal de Inga Mill. (Leguminosae) en el parque nacional Yanachaga-Chemillén, Oxapampa-Pasco. *Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa*. Perú. 158 p.
- Vikman, P.-S. and Vessey, J.K., 1993. Ontogenetic Changes in Root Nodule Subpopulations of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) I. nitrogenase activity and respiration during pod-filling. *Journal of Experimental Botany*, 44, pp. 563–569. <https://doi.org/10.1093/jxb/44.3.563>.
- Villalobos, N.Z. and Pennington, T.D., 2001. Guabas y cuajiniquiles de Costa Rica (Inga spp.). *Editorial INBio*, 197 p.
- Vincent, J.M., 1970. A manual for the practical study of the root-nodule bacteria. A manual for the practical study of the root-nodule bacteria. Editorial: IBP Handbk 15 Oxford y Edimburgo: *Blackwell Scientific Publications*, 164 p.
- Wang, J., Andersen, S.U. and Ratet, P., 2018. Editorial: Molecular and Cellular Mechanisms of the Legume-Rhizobia Symbiosis. *Frontiers in Plant Science*, 9, pp. 1839-1-1839-3. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01839>.
- Weber, D.F. and Miller, V.L., 1972. Effect of Soil Temperature on *Rhizobium japonicum* Serogroup Distribution in Soybean Nodules I. *Agronomy Journal* 64, pp. 796–798. <https://doi.org/10.2134/agronj1972.00021962006400060027x>
- Weston, L.A. and Putnam, A.R., 1985. Inhibition of Growth, Nodulation and Nitrogen Fixation of Legumes by Quackgrass I. *Crop Science*, 25, pp. 561–565. <https://doi.org/10.2135/cropsci1985.0011183X002500030031x>.
- Willson, C., 1985. Mineral Nutrition and Fertiliser Needs, in: Clifford, M.N., Willson, K.C. (Eds.), *Coffee*. Springer US, Boston, MA, pp. 135–156. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-6657-1\\_6](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-6657-1_6)
- Yamagishi, M. and Yamamoto, Y., 1994. Effects of boron on nodule development and symbiotic nitrogen fixation in soybean plants. *Soil Science and Plant Nutrition* 40, pp. 265–274. <https://doi.org/10.1080/00380768.1994.10413300>
- Yépez, C., Muschler, R., Benjamín, T. and Musálem, M., 2002. Selección de especies para sombra en cafetales diversificados en Chiapas, México. *Agroforestería de las Américas, Avances de Investigación*, 9, pp. 35–36.
- Zablotowicz, R.M. and Reddy, K.N., 2004. Impact of Glyphosate on the *Bradyrhizobium japonicum* Symbiosis with Glyphosate-Resistant Transgenic Soybean: A Minireview. *Journal Environmental Quality*, 33, pp. 825-831.
- Zaidi, A., Saghir Khan, Md. and Qamar Rizvi, P., 2005. Effect of herbicides on growth, nodulation and nitrogen content of greengram. *Agronomy for Sustainable Development*, 25, pp. 497–504.
- Zhalnina, K., de Quadros, P., Gano, K., Davis-Richardson, A., Fagen, J., Brown, C., Giongo, A., Drew, J., Sayavedra-Soto, L., Arp, D., Camargo, F., Daroub, S., Clark, I., McGrath, S., Hirsch, P. and Triplett, E., 2013. Ca. Nitrososphaera and Bradyrhizobium are inversely correlated and related to agricultural practices in long-term field experiments. *Frontiers in Microbiology*, 4, pp. 104-4-104-

13.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00104>.
- Zhang, F., Lynch, D.H. and Smith, D.L., 1995. Impact of low root temperatures in soybean [*Glycine max.* (L.) Merr.] on nodulation and nitrogen fixation. *Environmental and Experimental Botany*, 35, pp. 279–285.  
[https://doi.org/10.1016/0098-8472\(95\)00017-7](https://doi.org/10.1016/0098-8472(95)00017-7).
- Zhang, F. and Smith, D.L., 1997. Application of genistein to inocula and soil to overcome low spring soil temperature inhibition of soybean nodulation and nitrogen fixation. *Plant and Soil*, 192, pp. 141–151.  
<https://doi.org/10.1023/A:1004284727885>.
- Zhang, Z.Q., Wong, M.H., Nie, X.P. and Lan, C.Y., 1998. Effects of zinc (zinc sulfate) on Rhizobia-earleaf acacia (Acacia auriculaeformis) symbiotic association. *Bioresource Technology*, 64, pp. 97–104.  
[https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(97\)00183-1](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(97)00183-1).
- Zobiolo, L.H.S., Kremer, R.J., Oliveira, R.S. and Constantin, J., 2011. Glyphosate affects micro-organisms in rhizospheres of glyphosate-resistant soybeans. *Journal of Applied Microbiology*, 110, pp. 118–127.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04864.x>.
- Zobiolo, L.H.S., Oliveira, R.S., Kremer, R.J., Constantin, J., Yamada, T., Castro, C., Oliveira, F.A. and Oliveira, A., 2010. Effect of glyphosate on symbiotic N<sub>2</sub> fixation and nickel concentration in glyphosate-resistant soybeans. *Applied Soil Ecology* 44, pp. 176–180.  
<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2009.12.003>.