



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL

**BIOINOCULANTES EN EL CRECIMIENTO DE
TRES ESPECIES HORTÍCOLAS CULTIVADAS
EN INVERNADERO**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN
CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**

P R E S E N T A:

M.C. YONGER TAMAYO AGUILAR

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Porfirio Juárez López



Cuernavaca, Morelos

Junio de 2023

BIOINOCULANTES EN EL CRECIMIENTO DE TRES ESPECIES HORTÍCOLAS CULTIVADAS EN INVERNADERO

Tesis realizada por **M.C. Yonger Tamayo Aguilar** bajo la dirección del Comité Revisor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL

COMITÉ REVISOR

Director: _____

Dr. Porfirio Juárez López

Revisor: _____

Dr. José Antonio Chávez García

Revisor: _____

Dr. Irán Alia Tejacal

Revisor: _____

Dr. Jesús Orlando Pérez González

Revisor: _____

Dra. María Claudia Rueda Barrientos

Revisor: _____

Dr. Víctor López Martínez

Revisor: _____

Dr. Manuel de Jesús Sainz Aispuro

Cuernavaca, Morelos, junio de 2023

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada para mis estudios de posgrado, con lo cual me permitió realizar este proyecto de investigación.

A la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM) y en especial a la Facultad de Ciencias Agropecuarias por permitirme ingresar a su excelente programa de Posgrado de Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural que contribuyó a mi formación a lo largo de estos cuatro años.

Mis agradecimientos especiales para el Dr. Porfirio Juárez López por confiar desde el primer momento en mí, darme la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo, por los conocimientos compartidos y el apoyo brindado durante todo el transcurso del estudio de Doctorado.

A los doctores José Antonio Chávez García, María Claudia Ruedas Barrientos y Jesús Orlando Pérez González por todo el acompañamiento y asesoramiento durante el trabajo de investigación.

A mis revisores, el Dr. Irán Alia Tejacal, el Dr. Víctor López Martínez, el Dr. Manuel de Jesús Sainz Aispuro y a los doctores anteriormente mencionados, quienes con sus acertadas observaciones y valiosas sugerencias enriquecieron este trabajo de tesis, asimismo, por la contribución de mi formación académica.

Agradezco a TODOS mis compañeros y amigos de posgrado que compartimos durante estos 4 años, a los profesores y técnicos de laboratorio de la Facultad de Ciencias Agropecuarias que de una forma u otra contribuyeron a mi formación académica y personal., ¡¡¡por lo cual MUCHAS GRACIAS y que el poder de la fuerza los acompañe siempre!!

DEDICATORIA

A mis familiares más queridos en especial a mi madre Marlenis Aguilar López, hermanos y amigos, que a lo largo de esta tarea me estrecharon sus manos atentamente hasta en las más difíciles circunstancias.

A mi esposa Darilin Olivares Mayor, por ser parte de este logro profesional, por permitirme estar lejos de ella y siempre confiar en mí.

ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
OBJETIVO GENERAL	3
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
HIPÓTESIS	4
HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	4
REFERENCIAS GENERALES	5
CAPITULO I	8
LOS MICROORGANISMOS BENÉFICOS MEJORAN EL CRECIMIENTO DE ALBAHACA (<i>Ocimum basilicum</i> L.) EN CONDICIONES DE INVERNADERO ..	8
RESUMEN	8
SUMMARY	9
INTRODUCCIÓN	10
MATERIALES Y MÉTODOS	12
Trasplante y aplicación de los microorganismos benéficos	12
Riego y nutrición mineral	13
Tratamientos y diseño experimental	13
Cosecha de albahaca y variables evaluadas	14
Análisis estadístico	15
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
Biomasa fresca y seca	15
Área foliar	18
Variables de crecimiento en albahaca	20
Concentración relativa clorofila	22

Extracción de macronutrientes en albahaca	24
CONCLUSIONES	27
REFERENCIAS.....	27
CAPITULO II	35
BIOFERTILIZANTES EN EL CRECIMIENTO DE ESTRAGÓN (<i>Artemisia dracunculus</i> L.) EN CONDICIONES DE INVERNADERO	35
RESUMEN	35
INTRODUCCIÓN	37
MATERIALES Y MÉTODOS.....	39
Trasplante y aplicación de los biofertilizantes	39
Riego y nutrición mineral.....	40
Diseño experimental y tratamientos	40
Cosecha de estragón y variables evaluadas.....	41
Análisis estadístico.....	42
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
Biomasa fresca y seca	43
Área foliar.....	45
Variables morfológicas.....	47
Concentración relativa de clorofila en estragón	49
Extracción de macronutrientes.....	51
CONCLUSIONES	53
REFERENCIAS.....	53
CAPITULO III	60
BIOINOCULANTES EN EL CRECIMIENTO DE LECHUGA (<i>Lactuca sativa</i> L.) EN CONDICIONES DE INVERNADERO	60
RESUMEN	60
SUMMARY	61
INTRODUCCIÓN	61

MATERIALES Y MÉTODOS	63
Siembra y aplicación de los bioinoculantes	63
Suministro del riego y nutrición mineral	64
Diseño experimental y tratamientos	64
Cosecha y variables evaluadas en lechuga	65
Análisis estadístico	67
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	67
Altura de planta	67
Variables de crecimiento y lectura SPAD	69
Volumen radical	72
Actividad microbiana en el rizoplano y rizosfera en plantas de lechuga	74
Frecuencia micorrícica en raíces de lechuga	76
Análisis de correlación de Pearson	78
CONCLUSIONES	82
REFERENCIAS	83
CAPITULO IV	93
CONCLUSIONES GENERALES	93
ANEXOS	95

ÍNDICE DE CUADROS

Capítulo I	12
Cuadro 1. Descripción de los tratamientos	14
Cuadro 2. Variables de crecimiento evaluadas en albahaca.....	20
Cuadro 3. Extracción de macronutrientes en albahaca	25
Capítulo II	35
Cuadro 1. Descripción de los tratamientos	41
Cuadro 2. Variables de morfológicas evaluadas en Estragón.....	47
Cuadro 3. Extracción de macronutrientes de estragón	51
Capítulo III	60
Cuadro 1. Descripción de los tratamientos.....	65
Cuadro 2. Variables de crecimiento y lecturas SPAD en lechuga.....	70
Cuadro 3. Poblaciones microbianas en el rizoplasma y rizosfera en plantas de lechuga.....	75
Cuadro 4. Matriz de correlaciones lineales (r) entre variables de crecimiento, lecturas SPAD, estructuras micorrízicas y población microbiana en la rizosfera en plantas de lechuga.....	80

ÍNDICE DE FIGURAS

Capítulo I	12
Figura 1. Biomasa fresca y seca de las plantas de albahaca	16
Figura 2. Área foliar de las plantas de albahaca	18
Figura 3. Lectura SPAD de las hojas de albahaca.....	23
Capítulo II	35
Figura 1. Biomasa fresca y seca de plantas de estragón.....	43
Figura 2. Área foliar de plantas de estragón	45
Figura 3. Contenido relativo de clorofila (Lectura SPAD) de las hojas de estragón.....	49
Capítulo III	60
Figura 1. Imágenes microscópicas que ilustran las estructuras micorrícicas observadas en los fragmentos teñidos de raíces de lechuga coinoculadas.....	66
Figura 2. Altura de planta en lechuga.....	68
Figura 3. Volumen radical en lechuga.....	73
Figura 4. Frecuencia micorrícica.....	77

INTRODUCCIÓN GENERAL

Actualmente, el desarrollo de las plantas aromáticas y medicinales se encuentra en pleno auge, gracias a sus numerosas propiedades y principios activos que les confieren a estas especies, permitiendo sus usos constantes en las industrias alimentarias, cosmética y farmacéutica (Abogmaza *et al.*, 2020). Se estima que 80% de la población mundial depende de remedios herbolarios tradicionales, lo que representa para muchos países fuentes de primeros auxilios para el cuidado y prevención de enfermedades, así como costumbres culinarias para la población (Dehelean *et al.*, 2021; Moharram *et al.*, 2021).

En este orden, los estudios de mercado han demostrado el impacto de la producción orgánica de estas especies dentro del sector agrícola, pues existen tendencias al incremento de los productos derivados de las aromáticas (Niazian *et al.*, 2019; Saha and Basak, 2020). De acuerdo con Zengin *et al.* (2018), de los 252 medicamentos básicos y esenciales considerados por la Organización Mundial de la Salud (OMS), el 11% son exclusivamente de origen de las hierbas aromáticas, importancia que le conceden a estas dentro de sector agrícola.

En México el uso de plantas medicinales y aromáticas constituyen el 8% de los productos orgánicos, y con tendencia aumentar en el comercio a nivel nacional e internacional se destaca la producción orgánica de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) y estragón (*Artemisia drancunculus* L.) (Chiquito-Contreras *et al.*, 2019; Tamayo-Aguilar *et al.*, 2021).

Por otra parte, se reporta incrementos en superficie, producción y comercio mundial de hortalizas, tanto en volumen como en valor, debido al aumento del consumo per cápita de algunas especies como es la lechuga (*Lactuca sativa* L.), siendo esta una de las principales hortalizas de hoja de mayor consumo que se cultivan en México durante todo el año. Debido a la gran diversidad ecológica, climática y de suelos, características que favorecen el incremento de 2.5% de la superficie cosechada en

especies hortícolas y de sus exportaciones con un valor de producción de 13.1% (Lara-Izaguirre *et al.*, 2019; Trujillo Murillo *et al.*, 2020; Bhatta, 2022).

Por otro lado, ante el aumento del calentamiento global y la actual crisis medioambiental asociada con el incremento de los precios de los insumos químicos que según (Chávez-Díaz *et al.*, 2020) aumentó 27.1% en América Latina y el Caribe en los últimos años. Es considerado dos millones de agricultores orgánicos aproximadamente, alrededor del 80% de ellos en países en desarrollo (Varia *et al.*, 2021). Se hace necesario desarrollar estrategias de manejo de la fertilidad del suelo sostenibles y asequibles que se centren en sistemas de cultivo de bajos insumos, lo cual es crucial para lograr la sostenibilidad agrícola y la seguridad alimentaria mundial; unas de las estrategias está vinculada a la sustitución de la fertilización mineral por la utilización de inoculantes microbianos (Bhatta, 2022).

En este sentido, la agricultura es una red compleja de interacciones de plantas con microorganismos benéficos, siendo estos demostrados por resultados positivos de las coinoculaciones de bioinoculantes como alternativas de nutrición y sus impactos económicos y ambientales que ellos originan en los sistemas productivos (Tamayo-Aguilar *et al.*, 2021; Bhatta, 2022). Es por ello, que las tendencias actuales están relacionadas con la creciente demanda de técnicas ecológicamente compatibles y respetuosas con el medio ambiente en la agricultura orgánica y ecológica, opciones que podrían proporcionar alimentos inocuos dentro de la seguridad alimentaria, a través de la mejora de la calidad y cantidad de productos agrícolas (Sarkar *et al.*, 2021).

Al respecto, las inoculaciones o aplicaciones de los microorganismos benéficos como (*Glomus cubense*, *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis*) que intervienen en la solubilización de fosfatos, fijación biológica de nitrógeno y otros elementos esenciales para las plantas forman un componente clave de la población microbiana del suelo (Ortiz and Sansinenea, 2022). Teniendo en cuenta los argumentos anteriormente mencionados, es meritorio investigar el impacto de los

bioinoculantes (*Glomus cubense*, *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis*) en el crecimiento de especies hortícolas cultivadas en invernadero.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de bioinoculantes en el crecimiento de tres especies hortícolas cultivadas en invernadero.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar el efecto de *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* y *Glomus cubense* en el crecimiento de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) cultivada en invernadero.
2. Evaluar el efecto de *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* y *Glomus cubense* en el crecimiento de estragón (*Artemisia dracunculus* L.) cultivado en invernadero.
3. Evaluar el efecto de *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* y *Glomus cubense* en el crecimiento de lechuga (*Lactuca sativa* L.) cultivada en invernadero.
4. Identificar el o las combinaciones de los bioinoculantes más idóneo para el crecimiento de albahaca (*Ocimum basilicum* L.), estragón (*Artemisia dracunculus* L.) y lechuga (*Lactuca sativa* L.) cultivadas en invernadero.

HIPÓTESIS

La aplicación de bioinoculantes, favorece el crecimiento de albahaca (*Ocimum basilicum* L.), estragón (*Artemisia dracunculus* L.) y lechuga (*Lactuca sativa* L.) cultivadas en invernadero.

HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

1. El empleo de *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* y *Glomus cubense* en albahaca (*Ocimum basilicum* L.) incrementará el crecimiento cultivada en invernadero.
2. El empleo de *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* y *Glomus cubense* en estragón (*Artemisia dracunculus* L.) incrementará el crecimiento cultivado en invernadero.
3. El empleo de *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* y *Glomus cubense* en lechuga (*Lactuca sativa* L.) incrementará el crecimiento cultivada en invernadero.
4. La aplicación de los bioinoculantes en albahaca (*Ocimum basilicum* L.), estragón (*Artemisia dracunculus* L.) y lechuga (*Lactuca sativa* L.), nos permitirá seleccionar el o las combinaciones idóneas para el crecimiento de estas especies cultivadas en invernadero.

REFERENCIAS GENERALES

- Bhatta, S. (2022). Influence of organic fertilizer on growth yield and quality of lettuce (*Lactuca sativa* L.): A review. *The Pharma Innovation Journal*, 11(6), 1073-1077.
- Chávez-Díaz, I. F., Zelaya Molina, L. X., Cruz Cárdenas, C. I., Rojas Anaya, E., Ruíz Ramírez., y Santos Villalobos, S. (2020). Consideraciones sobre el uso de biofertilizantes como alternativa agro-biotecnológica sostenible para la seguridad alimentaria en México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 11(6), 1423-1436. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i6.2492>
- Chiquito-Contreras, R. G., Solis-Palacios, R., Reyes-Pérez, J. J., Reyes, J., Murillo-Amador, B., Alexandre-Rosas, J., y Hernández-Montiel, L. G. (2019). Promoción del crecimiento de plantas de albahaca utilizando hongos micorrízicos arbusculares y una bacteria marina. *Acta Universitaria*, 28(6), 68-76. <https://doi.org/10.15174/au.2018.2086>
- Dehelean, C. A., Marcovici, I., Soica, C., Mioc, M., Coricovac, D., Iurciuc, S., Cretu, O. M., and Pinzaru, I. (2021). Plant-Derived Anticancer Compounds as New Perspectives in Drug Discovery and Alternative Therapy. *Molecules*, 26(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/molecules26041109>
- F Abogmaza, A., F Keer, K., A Takrizzah, A., & Bashir Yahya, E. (2020). A Review on the Medicinal and Aromatic Plants Growing in Libya and Their Therapeutic Properties. *International Research Journal of Science and Technology*, 327-334. <https://doi.org/10.46378/irjst.2020.020105>
- Lara-Izaguirre, A. Y., Rojas-Velázquez, A. N., Romero-Méndez, M. J., Cruz-Crespo, E., y Alcalá-Jáuregui, J. A. (2019). Crecimiento y acumulación de NO₃⁻ en lechuga hidropónica con relaciones nitrato/amonio en dos estaciones de cultivo. *Rev. Fitotec. Mex*, 42, 21-29.
- Moharram, F. A., Nagy, M. M., El Dib, R. A., el-Tantawy, M. M., El Hossary, G. G., and El-Hosari, D. G. (2021). Pharmacological activity and flavonoids constituents of *Artemisia judaica* L aerial parts. *Journal of Ethnopharmacology*, 270, 113777. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.113777>

- Niazian, M., Sadat-Noori, S. A., Tohidfar, M., Galuszka, P., and Mortazavian, S. M. M. (2019). *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of ajowan (*Trachyspermum ammi* (L.) Sprague): An important industrial medicinal plant. *Industrial Crops and Products*, 132, 29-40. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.02.005>
- Ortiz, A., and Sansinenea, E. (2022). The Role of Beneficial Microorganisms in Soil Quality and Plant Health. *Sustainability*, 14(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/su14095358>
- Saha, A., and Basak, B. B. (2020). Scope of value addition and utilization of residual biomass from medicinal and aromatic plants. *Industrial Crops and Products*, 145, 111979. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111979>
- Sarkar, D., Singh, S., Parihar, M., and Rakshit, A. (2021). Seed bio-priming with microbial inoculants: A tailored approach towards improved crop performance, nutritional security, and agricultural sustainability for smallholder farmers. *Current Research in Environmental Sustainability*, 3, 100093. <https://doi.org/10.1016/j.crsust.2021.100093>
- Tamayo-Aguilar, Y., Juarez-Lopez, P., Chavez-Garcia, J. A., Alia-Tejagal, I., Guillen-Sanchez, D., Perez-Gonzalez, J. O., Lopez-Martinez, V., Rueda-Barrientos, M. C., and Baque-Fuentes, O. (2021). Beneficial microorganisms enhance the growth of basil (*Ocimum basilicum* L.) under greenhouse conditions. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 49(4), Article 4. <https://doi.org/10.15835/nbha49412452>
- Trujillo Murillo, J., Hernández Ortiz, J., Martínez Damián, M. Á., Trujillo Murillo, J., Hernández Ortiz, J., and Martínez Damián, M. Á. (2020). Willingness to pay for organic products in Texcoco, State of Mexico. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(7), 1685-1691. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i7.926>
- Varia, F., Macaluso, D., Agosta, I., Spatafora, F., and Dara Guccione, G. (2021). Transitioning towards Organic Farming: Perspectives for the Future of the Italian Organic Wine Sector. *Sustainability*, 13(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/su13052815>

Zengin, G., Mollica, A., Aumeeruddy, M. Z., Rengasamy, K. R. R., and Mahomoodally, M. F. (2018). Phenolic profile and pharmacological propensities of *Gynandris sisyrinchium* through in vitro and in silico perspectives. *Industrial Crops and Products*, 121, 328-337. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.05.027>

CAPITULO I

LOS MICROORGANISMOS BENÉFICOS MEJORAN EL CRECIMIENTO DE ALBAHACA (*Ocimum basilicum* L.) EN CONDICIONES DE INVERNADERO

Beneficial microorganisms enhance the growth of basil (*Ocimum basilicum* L.) Under greenhouse conditions

RESUMEN

La integración de alternativas de manejo saludable sigue siendo un desafío en la producción orgánica de plantas aromáticas y medicinales, entre ellas la albahaca (*Ocimum basilicum* L.). El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de tres microorganismos benéficos (1) *Trichoderma harzianum* (TH), (2) *Bacillus subtilis* (BS), (3) *Glomus cubense* (GC) y sus combinaciones sobre el crecimiento de la albahaca. Se utilizó un diseño completamente al azar con un control y siete tratamientos con seis repeticiones. El control (1) fue sin inoculación de microorganismos y los siete tratamientos fueron inoculaciones con microorganismos individuales o combinados de la siguiente manera: (2) TH, (3) BS, (4) GC, (5) TH+BS, (6) TH+GC, (7) BS+GC y (8) TH+BS+GC. Se realizaron tres cosechas de biomasa fresca y se registraron una serie de variables de crecimiento: biomasa fresca y seca, área foliar, número de tallos comerciales, largo y grosor del tallo, largo y ancho de la hoja, concentración relativa de clorofila (lecturas SPAD) y los niveles de N, P, K, Ca y Mg. El crecimiento global aumentó un 58% con TH+GC en comparación con el control y un 55% en comparación con las inoculaciones únicas (TH, BS y GC) y con la inoculación triple (TH+BS+GC). Se obtuvo un incremento del crecimiento del 51% con BS+GC respecto al control y del 38% respecto a los demás tratamientos. Estos resultados indican que la coinoculación de TH+GC o de BS+GC son alternativas de manejo útiles para aumentar la producción de albahaca en invernadero.

Palabras clave: hongos micorrícicos arbusculares, plantas aromáticas, *Bacillus subtilis*, biofertilizantes, *Glomus cubense*, *Trichoderma harzianum*.

SUMMARY

The integration of healthy management alternatives continues to be a challenge in the organic production of aromatic and medicinal plants, including of basil (*Ocimum basilicum* L.). The objective of this work was to evaluate the effects of three beneficial microorganisms (1) *Trichoderma harzianum* (TH), (2) *Bacillus subtilis* (BS), (3) *Glomus cubense* (GC) and their combinations on the growth of basil. A completely randomised design was used with a control and seven treatments with six repetitions. The control (1) was with no microorganism inoculation and the seven treatments were inoculations with the single or the combined microorganisms as follows: (2) TH, (3) BS, (4) GC, (5) TH+BS, (6) TH+GC, (7) BS+GC and (8) TH+BS+GC. Three harvests of fresh biomass were made and a number of growth variables were recorded: fresh and dry biomass, leaf area, number of commercial stems, stem length and thickness, Leaf length and width, relative chlorophyll concentration (SPAD readings) and the levels of N, P, K, Ca and Mg. Overall growth increased by 58% with TH+GC compared with the control and by 55% compared with the single inoculations (TH, BS and GC) and with the triple inoculation (TH+BS+GC). A growth increase of 51% was obtained with BS+GC compared with the control and of 38% compared with the other treatments. These results indicate co-inoculation of TH+GC or of BS+GC are useful alternative managements to increase greenhouse production of basil.

Keywords: Arbuscular mycorrhizal fungi, aromatic plants, *Bacillus subtilis*, biofertilizers, *Glomus cubense*, *Trichoderma harzianum*

INTRODUCCIÓN

Por su percepción nutracéutica (relacionada con la salud) y sus beneficios organolépticos (aroma, sabor), el uso y consumo de plantas aromáticas y medicinales (MAP) se ha incrementado en el mundo. Este aumento ha contribuido al desarrollo económico en el sector agrícola de muchas naciones. El nuevo enfoque también ha generado importantes beneficios ambientales y sociales (Kala,2015; Salomé-abarca *et al.*, 2015).

Furnell *et al.* (2019) informaron que los tres principales países exportadores de MAP son México, Camerún y Sudáfrica, mientras que los cinco principales países importadores de MAP (77% del total de MAP consumo/utilización) son Francia (26 %), EE. UU. (16%), Japón (15%), Alemania (11 %) y España (7%). En México, MAP constituyen el 8% de la producción total de plantas orgánicas. De estos, la albahaca (*Ocimum basilicum* L.) es la principal especie producida para la exportación con un rendimiento promedio de biomasa fresca de 8.45 t ha¹ y una superficie sembrada de 417 ha, de las cuales 208 ha se producen bajo sistemas orgánicos, otras 5 ha se producen en invernaderos y el resto bajo condiciones convencionales (es decir, no orgánicos) (CONAGUA, 2018; Chiquito-Contreras *et al.*, 2018). Los principales estados productores en México son Baja California (invernadero), Morelos, Nayarit (convencional) y Baja California Sur (orgánico), siendo este último el mayor productor de albahaca (Sánchez-Verdugo y Avilés Quevedo, 2012; Ojeda-Silvera *et al.*, 2015).

Por otra parte, las plantas han desarrollado numerosas estrategias para hacer frente a diversos cambios bióticos y abióticos, desafíos que enfrentan en sus hábitats naturales. Una de ellas son las relaciones simbióticas que establecen con microorganismos benéficos (hongo y bacteria). Estos microorganismos al interactuar directamente con la planta huésped estimulan su tolerancia a estos desafíos y facilitan el acceso a los recursos subterráneos (agua y minerales). Al hacerlo, resultan en una estimulación de los procesos fisiológicos de la planta, y

estos se reflejan en aumentos del rendimiento. En un entorno comercial, estas simbiosis permiten reducir tasas de aplicación de fertilizantes químicos (López-Valenzuela *et al.*, 2019; Tamayo *et al.*, 2019).

Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) con sus atributos de asociación con especies cultivables, generan mejoras sustanciales en el crecimiento de las plantas, con efectos positivos en la nutrición, sobre la absorción de agua y nutrientes, la estabilidad del suelo y la resistencia sistémica a enfermedades fúngicas y otras plagas. Estos beneficios se consideran importantes alternativas amigables con el medio ambiente y económicamente viables a los métodos de cultivos convencionales (Baum *et al.*, 2015; Esquivel-Quispe, 2020). Se ha informado que *Trichoderma harzianum* es un hongo simbiote oportunista de plantas, capaces de producir elicitores que inducen las defensas de las plantas contra patógenos e insectos, solubilización de P, Mg, Fe, Mn ligados al suelo y promotores del crecimiento vegetal (Sharma *et al.*, 2017; Hernández *et al.*, 2019).

Sobre las bacterias, se ha informado que el género *Bacillus subtilis* estimula el crecimiento de las plantas a través de la síntesis de hormonas reguladoras del crecimiento vegetal como el ácido indol acético, también permite la fijación biológica de nitrógeno, solubilización de P y producción de sideróforos, (Corrales *et al.*, 2017; Leal-Almanza *et al.*, 2018).

La integración de ciertos microorganismos simbióticos (*Glomus cubense*, *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis*) dentro de los sistemas de manejo orgánico para el cultivo de albahaca, podría generar beneficios significativos sobre los métodos convencionales, reducir las enfermedades y aumentar el crecimiento, lo que puede resultar en una mayor producción por unidad de superficie y reducciones en el uso de fertilizantes sintéticos. El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, *Glomus cubense* y sus combinaciones sobre el crecimiento de albahaca bajo condiciones de invernadero.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en un invernadero túnel con cubiertas de plástico blanquecino encima (30% de sombra) y malla antiáfidos en las paredes laterales, ubicado en la Universidad Autónoma de Morelos, México (18 ° 58' 51" N, 99 ° 13' 55" E) a una altitud de 1.866 m. Durante el experimento, los datos climáticos fueron registrados en el invernadero con registrador de datos ambientales (Hobo® datalogger, modelo MX2301A, USA); el promedio de la temperatura fue de 22.4 °C y la humedad relativa media de 53.0%, respectivamente.

Trasplante y aplicación de los microorganismos benéficos

El trasplante se realizó 1 de marzo 2020 en macetas de plástico de 20.32 cm que contenían 2.8 kg de suelo agrícola. Se utilizaron plántulas de albahaca cv. 'Nufar' F1 producidas en charolas de unicel de 200 cavidades, de la empresa Fusión Mexicana Agropecuaria S.A. de C.V. ubicada en Jojutla de Juárez, Morelos. El suelo utilizado en el experimento se obtuvo a profundidad de 0 - 20 cm de la empresa antes mencionada, tenía textura arcillo limoso, con las siguientes características químicas: 6.32 de pH; CIC alta de 27.1 mEq 100 g⁻¹; contenidos normales de: MO 2.3%, CE 2.7 dS m⁻¹, nitrógeno total 0.6, fósforo disponible (Bray-Kurtz) 5.1 ppm; contenidos altos: 7.4, 107.0 y 14.7 cmol kg⁻¹ de K, Ca y Na; presencia baja de 9.0 cmol kg⁻¹ de Mg y normales: 0.03, 0.07, 0.04 y 0.39 cmol kg⁻¹ de Cu, Mn, Zn y B, respectivamente. El suelo fue esterilizado por solarización (Katan y Gamliel, 2012), para ello, se cubrió con plástico transparente y se expuso a la luz solar durante 30 días.

La inoculación de las plántulas de albahaca con las especies *T. harzianum* y *B. subtilis* obtenida en la Universidad Tecnológica del Sur del Estado de Morelos (UTSEM), se realizó en drench, previo a la inoculación se conservaron en medios de cultivos PDA y agar nutriente a una temperatura de 25±2 °C; la primera inoculación se realizó en el momento del trasplante y la segunda 15 días después,

a una concentración de 1×10^5 esporas por mL¹ y 1×10^5 bacterias por mL¹ preparada con agua destilada estéril en un vaso de precipitado de 1000 mL. Las inoculaciones se aplicaron con un spray modelo Batlle 730061UNID de 1000 mL que garantizó la uniformidad de la aplicación en todas las plantas. La especie *G. cubense* con 70 esporas por gramo de inoculante y 50% de colonización radical, no tóxico y libre de patógenos obtenidas a través del Consejo Estatal de Fertilizantes Orgánicos (CEFO) ubicado en el estado de Oaxaca, México, fue preparada en un recipiente plástico, en el cual se sumergieron las raíces en una pasta fluida del inoculante micorrízico con una dosis de 0.5 kg ha⁻¹ del producto por 800 mL de agua destilada en el momento del trasplante (Fernández *et al.*, 2000).

Riego y nutrición mineral

Cada dos días se suministró 1 L de la solución nutritiva de Steiner por maceta al 50% de concentración. La solución se preparó a partir de fertilizantes comerciales solubles: Ca(NO₃)₂, KNO₃, MgSO₄, K₂SO₄ y KH₂PO₄ (Steiner, 1984). El pH de la solución nutritiva se ajustó entre 5.5 y 5.7 con ácido sulfúrico al 95%. Como fuente de micronutrientes se utilizó ultrasol Micro Mix, SQM® a dosis de 20 g por cada 500 L de solución nutritiva.

Tratamientos y diseño experimental

Los tres microorganismos benéficos fueron: *Trichoderma harzianum* (TH), *Bacillus subtilis* (BS) y *Glomus cubense* (GC). Se utilizó un diseño completamente al azar con un control y 7 tratamientos con seis repeticiones. Los tratamientos fueron: 1) Control (sin inoculaciones de microorganismos), 2) *Trichoderma harzianum*, 3) *Bacillus subtilis*, 4) *Glomus cubense*, 5) *Trichoderma harzianum* + *Bacillus subtilis*, 6) *Trichoderma harzianum* + *Glomus cubense*, 7) *Bacillus subtilis* + *Glomus cubense*, 8) *Trichoderma harzianum* + *Bacillus subtilis* + *Glomus cubense* (Cuadro 1). La unidad experimental fue una maceta que contenía una planta de albahaca.

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos

Tratamiento	Concentración de los inóculos
Control	Sin inoculaciones
TH	1×10^5 UFC mL ⁻¹
BS	1×10^5 UFC mL ⁻¹
GC	70 esporas g ⁻¹ de suelo
TH +BS	1×10^5 UFC mL ⁻¹ + 1×10^5 UFC mL ⁻¹
TH + GC	1×10^5 UFC mL ⁻¹ + 70 esporas g ⁻¹ de suelo
BS+ GC	1×10^5 UFC mL ⁻¹ + 70 esporas g ⁻¹ de suelo
TH + BS + GC	1×10^5 UFC mL ⁻¹ + 1×10^5 UFC mL ⁻¹ + 70 esporas g ⁻¹ de suelo

UFC= Unidad de formación de colonias. TH=*Trichoderma harzianum*, BS=*Bacillus subtilis*, GC=*Glomus cubense*.

Cosecha de albahaca y variables evaluadas

Debido a que la albahaca es una planta herbácea anual se realizaron tres cosechas (cortes) de tallos frescos. La primera fue el 31 de marzo de 2020, es decir, 30 días después del trasplante; la segunda fue el 14 de abril y la tercera el 29, todas del mismo año. En cada corte se evaluaron las variables que a continuación se describen y se reporta el efecto acumulado de las tres cosechas: número de tallos comerciales; longitud del tallo: Este se midió desde la base del tallo hasta el ápice (regla de precisión de 0.01 cm); grosor del tallo se determinó 1 cm por arriba del corte del tallo comercial (vernier digital, Traceable® Modelo 97152-16, USA); largo y ancho de las hojas, se midieron por debajo del primer entrenudo de los tallos cortados con vernier digital; la concentración relativa de clorofila (lecturas SPAD) se determinó con un equipo portátil SPAD (Minolta® Modelo 502 Plus, Japón) en hojas maduras y extendidas; el área foliar se determinó al remover todas las hojas de la rama o tallo y fueron colocadas en un medidor de área foliar (LI-COR® Modelo LI-3100C, USA); el peso de biomasa fresca y seca en cada corte de los tallos comerciales separados por hojas y tallos, se obtuvo con una balanza digital (OHAUS® Modelo Scout Pro SP401, USA, sensibilidad de 0.01 g). Una vez obtenido el peso fresco, los órganos

se colocaron en bolsas de papel estraza en la estufa con circulación de aire forzado (Luzeren® Modelo DHG9070A, China) a 60 °C durante tres días para obtener el peso seco. La concentración de los macronutrientes N, P, K, Ca y Mg fueron determinados en cada órgano posteriormente. Para N se utilizó el método micro-Kjeldahl (Alcántar y Sandoval, 1999), mientras que el P, K, Ca y Mg se realizó digestión húmeda con una mezcla de ácido perclórico y nítrico en relación 2:1 (Alcántar y Sandoval, 1999). La extracción de macronutrientes se obtuvo a partir de la biomasa seca de cada órgano (hojas y tallos) y sus correspondientes concentraciones de cada macroelemento considerado (% N, P, K, Ca y Mg) por la siguiente fórmula:

Extracción de macronutrientes (kg ha^{-1}) = [MS parte aérea (g por planta) x concentración (%) del elemento en la MS de la parte aérea] x 10.

Análisis estadístico

Estos se realizaron con el software estadístico IBM SPSS® Statistics para Windows vs 25 (IBM Corp, Armonk, Nueva York, USA). Se verificó la normalidad y homogeneidad de varianza usando la prueba de Levene y Kolmogorov-Smirnov. Posteriormente, se realizó el análisis de varianza y a la prueba de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Biomasa fresca y seca

Se observaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos en biomasa fresca y seca de albahaca (Figura 1). La coinoculación de TH+GC incrementó la biomasa en 67% en comparación con el control, las inoculaciones individuales (TH, BS y GC) y los tres microorganismos combinados (TH+BS+GC). Asimismo, TH+GC incrementó la biomasa fresca en 63% en comparación con los mismos tratamientos

antes mencionados. De igual forma, la inoculación combinada (BS+GC) aumentó 45% la biomasa fresca y la biomasa seca en 55% con respecto al control, las inoculaciones únicas (TH, BS y GC) y los tres microorganismos combinados (TH+BS+GC).

Los resultados indican que la interacción directa de los microorganismos benéficos en el rizoplasma en plantas de albahaca, benefician la actividad fisiológica, factores bióticos y abióticos que pueden promover la biomasa vegetal. Los incrementos ascendentes de biomasa para TH+GC y BS+GC probablemente se deban a alguna especificidad diferente de las actividades simbióticas de estos microorganismos con plantas de albahaca, a medida que aparecen nuevos tallos entre las cosechas a lo largo del período experimental con un coeficiente de variación entre el 85.72 y 77.69% respectivamente. Argumentos que coinciden con lo informado por Chiquito-Contreras *et al.* (2019), donde inoculaciones mixtas entre micorrizas y bacterias del género *Stenotrophomonas rhizophila*, estimularon los procesos que intervienen en crecimiento de las plantas.

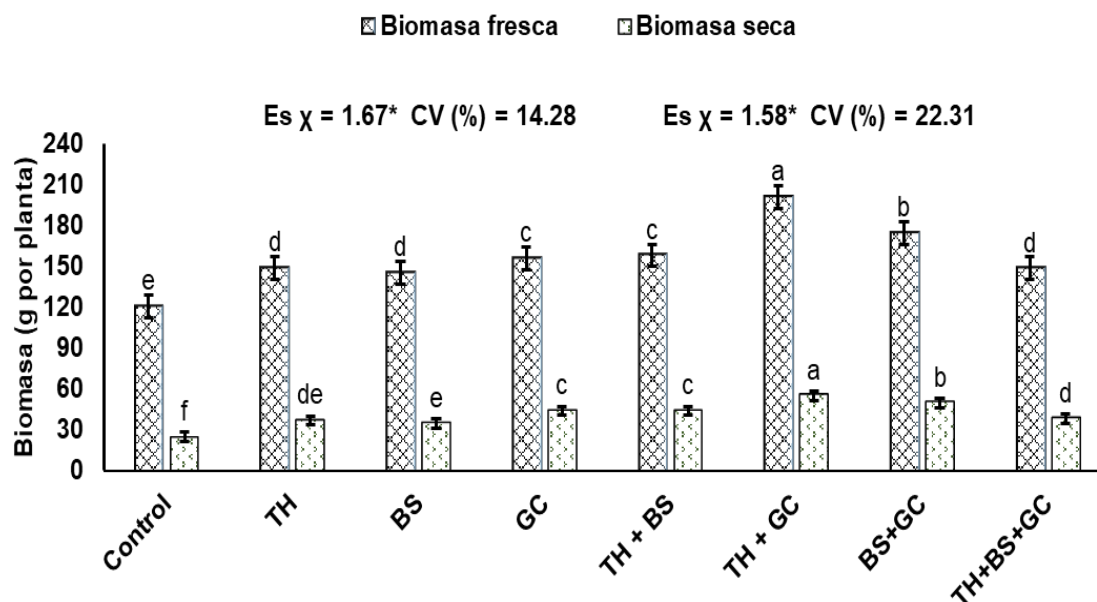


Figura 1. Biomasa fresca y seca de las plantas de albahaca

TH= *Trichoderma harzianum*; BS= *Bacillus subtilis*; GC = *Glomus cubense*; Es χ = error estándar de la media; CV= Coeficiente de variación. Las barras indican error estándar.

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas según prueba de rangos múltiples de Tukey ($p \leq 0.05$).

Álvarez *et al.* (2018) señalan que los inóculos microbianos coinoculados, fomentan el crecimiento de las plantas a través de la sinergia entre los múltiples beneficios que aporta cada uno de ellos en cuanto a metabolismo de planta. En contraste, Moncada *et al.* (2021) encontraron una disminución de la biomasa vegetal de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivadas en macetas inoculadas de *Bacillus spp* en comparación al control de solución Steiner al 100%. Estos autores plantearon la hipótesis de que la baja temperatura (15 °C) registrada durante el experimento pudo retrasar el crecimiento de las raíces y la actividad de PGPR, limitando así su interacción con el huésped y la mejora en la absorción de nutrientes.

Referente a lo anterior, Khalediyan *et al.* (2021) encontraron aumento significativo en el peso fresco y seco de la biomasa aérea y radical de *Ocimum basilicum* L. coinoculadas con *G. mosseae* y *B. subtilis* en comparación con el tratamiento control y plantas tratadas con fertilizante mineral. Estos autores atribuyeron sus resultados al aumento de la absorción de agua y nutrientes a la capacidad de las estructuras de los hongos y las bacterias que tienen de penetrar de forma intracelular en las plantas estimulando la actividad fisiológica.

Riahi *et al.* (2020) informaron que *Pseudomonas rhizophila* S211, *Halomonas desertis* G11 y *Oceanobacillus iheyensis* E9 aumentaron significativamente los parámetros relacionados con el crecimiento, la biomasa de hojas y raíces comparados con el control en plantas de *Pelargonium graveolens* L'Hér. También reportaron incrementos de 43.34% en el peso de la biomasa con la inoculación dual de los microorganismos sobre el control. Estos efectos se atribuyeron a la producción de sideróforos, solubilización de minerales que promueven el crecimiento directo de las plantas.

Hernández-Montiel *et al.* (2020) reportan incrementos de 19.29% de la biomasa vegetal en plantas de *Capsicum annuum* L. coinoculadas con rizobacterias con respecto control. Efectos inducidos por la capacidad metabólica de los inoculantes bacterianos para producir hormonas reguladoras del crecimiento, que estimulan la división celular y diferenciación de tejidos y por tanto la biomasa. También se ha demostrado, que los efectos benéficos de *T. harzianum* combinado con rizobacterias incrementan la supervivencia y la biomasa vegetal en plantas de porte bajo, sin embargo, los efectos son menores cuando se aplican por separado en diferentes sistemas agrícolas (Neelipally *et al.*, 2020).

Área foliar

Hubo diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en el área foliar entre los tratamientos evaluados (Figura 2). TH, BS y TH+BS+GC no mostraron diferencias entre ellos, pero si con el control. Se observó un efecto similar entre GC y TH+BS. Sin embargo, en comparación con el control, el área foliar mostró una tendencia ascendente de 55 y 45% con TH+GC y BS+GC, respectivamente. Esto podría deberse a sinergias entre los microorganismos benéficos que, a través de sus estructuras de micelios, hifas, vesículas y la producción de hormonas de crecimiento vegetal estimulan el sistema fisiológico de las plantas.

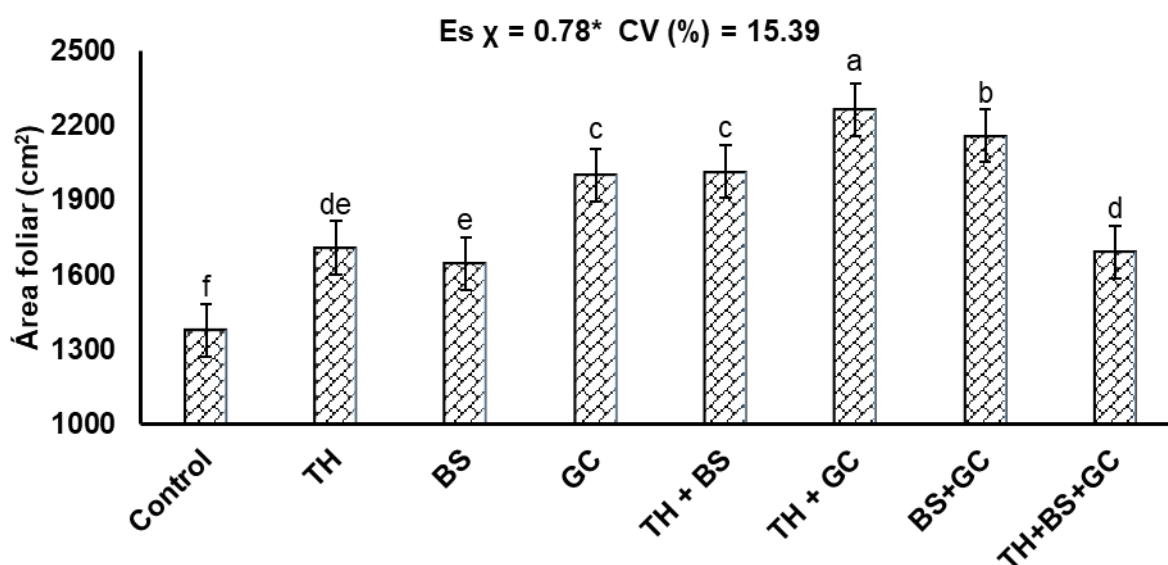


Figura 2. Área foliar de las plantas de albahaca

TH= *Trichoderma harzianum*; BS= *Bacillus subtilis*; GC = *Glomus cubense*; Es χ = error estándar de la media; CV= Coeficiente de variación. Las barras indican error estándar. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas según prueba de rangos múltiples de Tukey ($p \leq 0.05$).

Estos resultados sugieren que los efectos de la interacción planta-microbio, pueden estimular la absorción de agua, nutrimentos esenciales y la producción de metabolitos tales como enzimas, compuestos que promueven el crecimiento de las plantas. Bhat *et al.* (2020) mencionan que el aumento del área foliar en plantas inoculadas con microorganismos es producto de una gama amplia de mecanismos beneficiosos en la zona rizosférica que hacen que los nutrientes estén disponibles para las plantas. También, Rivera *et al.* (2020) coinciden que el área foliar de *Pennisetum purpureum* y *Nicotiana tabacum* L. aumentó gradualmente gracias a los beneficios de los inoculantes micorrícicos asociados a la rizosfera expuestos a diferentes condiciones edáficas y ambientales.

Pan *et al.* (2020) encontraron tendencias favorables en la acumulación de biomasa en los órganos aéreos de *Elaeagnus angustifolia* L. con aplicaciones de HMA y PGPR. La inoculación simple de *G. mosseae* aumentó la biomasa aérea en 64% en comparación con el control. Asimismo, reportan una respuesta similar con la adición simple de *Bacillus amyloliquefaciens*. Atribuyen estos resultados a la especificidad de la planta con la cepa de HMA, en lugar de la riqueza o diversidad microbiana encontrada en la rizosfera de la planta.

En relación con las respuestas contrastantes entre los tratamientos inoculados, podrían deberse a que los microorganismos benéficos no siempre tienen las mismas respuestas en plantas, debido a sus diferentes interacciones funcionales y ambientes edáficos. Sin embargo, cuando se aplican correctamente sus interacciones simbióticas con el huésped estimulan su crecimiento (Tian *et al.*, 2020).

Variables de crecimiento en albahaca

El análisis estadístico mostró diferencias estadísticas ($p \leq 0.05$) para las variables de crecimiento en albahaca inoculadas de forma individual y combinada (Cuadro 2). Hubo una tendencia gradual en todas las variables con la coinoculación de TH+GC seguido de BS+GC. En contraste GC y TH+BS mostraron respuestas similares en todas las variables de crecimiento. Igualmente, la aplicación de TH+BS+GC y las inoculaciones individuales (TH y BS) no fueron significativos entre ellos. Al respecto, la obtención de nuevos brotes dado al corte escalonado de los tallos en el período experimental y la relaciones con TH+GC y BS+GC, influyeron en el aumento del número y calidad comercial los tallos cosechados. En base a los resultados, se considera que las plantas asimilaron agua y minerales del suelo a través de las estructuras de los microorganismos asociados, mientras que este último pudo obtener compuestos carbonados del huésped, procesos que mejoran el desarrollo de la biomasa aérea (Arango *et al.*, 2013). También Abdollahi Arpanahi *et al.* (2020) encontraron que los parámetros morfológicos fueron significativos en las plantas tratadas con PGPR respecto al control. En contraste, la selección no adecuada de rizobacterias en un cultivo, puede inhibir el crecimiento, producto a la deficiencia o exceso de la concentración de fitohormonas, así ocurre con la especificidad entre los hongos benéficos, la planta y el suelo (Anguiano-Cabello *et al.*, 2019; Rivera *et al.*, 2020).

Cuadro 2. Variables de crecimiento evaluadas en albahaca

Tratamiento	Número de tallos comerciales	Longitud del tallo (cm)	Grosor del tallo (mm)	Largo de hojas mm	Ancho de hojas (mm)
Control	10.25 e	21.55 e	5.05 f	90.34 e	51.26 e
TH	12.50 d	23.45 d	5.77 d	94.09 d	53.99 d
BS	12.25 d	23.01 d	5.53 e	93.31 d	54.14 d
HMA	14.00 c	24.44 c	6.18 c	97.55 c	57.89 c

TH +BS	15.00 c	24.63 c	6.31 c	98.72 c	58.54 c
TH + HMA	19.00 a	27.15 a	7.24 a	106.17 a	64.93 a
BS+ HMA	16.75 b	26.02 b	6.84 b	102.65 b	61.46 b
TH + BS + HMA	12.25 d	23.25 d	5.68 de	94.21 d	54.23 d
Es χ	0.50*	0.27*	0.09*	0.79*	0.68*
CV (%)	19.71	7.13	11.36	5.24	7.70

TH= *Trichoderma harzianum*; BS= *Bacillus subtilis*; GC = *Glomus cubense*; Es χ = error estándar de la media; CV= Coeficiente de variación. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas según prueba de rangos múltiples de Tukey ($p \leq 0.05$).

Abdel-Rahman *et al.* (2011) encontraron una estimulación del crecimiento de tres variedades de *Ocimum basilicum* L. tratadas con *B. subtilis* y HMA. Asimismo, indican que la colonización micorrícica fue superior con respecto a la PGPR, y que la dualidad de los microorganismos proporcionó mayor respuesta en comparación con las inoculaciones únicas. En este contexto, Mohamed *et al.* (2019) en un ensayo realizado en condiciones de invernadero, demostraron el efecto de las inoculaciones únicas o combinadas de micorrizas, *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens* en *Phaesolus vulgaris* L. Estos autores refieren que los tratamientos combinados con los microorganismos resultaron significativos con respecto a los tratamientos individuales para las variables de crecimiento y de componentes del rendimiento. Otros estudios indican que el uso de *Trichoderma* como insumo biológico contribuye al equilibrio de hormonas como el ácido indol acético, giberélico, etileno entre otras que se reflejan en los aspectos de calidad e inocuidad para la comercialización de estas especies (Stewart y Hill, 2014; Peccatti *et al.*, 2019).

En relación, Makarov *et al.* (2020) indican que el crecimiento de plantas inoculadas con microorganismos aumenta gradualmente en comparación con los controles no inoculados, independientemente del sustrato que se establezcan; debido al aumento de la actividad de las exoenzimas de los microorganismos que estimulan el metabolismo vegetal. En este orden, Singh *et al.* (2021) reportan que las plantas han evolucionado en estrecha asociación con microorganismos benéficos que

intervienen en la vía fotosintéticas del metabolismo de las plantas. Además, tienen numerosas funciones secundarias en la supervivencia y el crecimiento de ellas. Precisamente la fisiología y la bioquímica de los cultivos inoculados en diferentes ecosistemas se ven reflejados en la pigmentación fotosintética de las hojas (carotenoides y clorofila), potencial antioxidante, volumen radical, mayor eficiencia en el uso de nutrientes entre otros, debido al uso correcto de los hongos endófitos y las rizobacterias (Malik *et al.*, 2021).

Concentración relativa clorofila

Se observó mediante lectura SPAD diferencias ($p \leq 0.05$) en hojas maduras y extendidas en plantas de albahaca inoculadas con TH, GC y BS (Figura 3). Las coinoculaciones de TH y BS+GC aumentaron la concentración de clorofila en 23 y 19%, respectivamente, en comparación con el control. Estas respuestas pueden estar atribuidas a la sinergia entre los inoculantes y las plantas, al promover la actividad fotosintética de las plantas con un coeficiente de variación de 6.17%. Al respecto, Sánchez *et al.* (2018) y Ajeng *et al.* (2020) indican que la mayor intensidad de pigmentación verde en hojas se debe entre otros factores a la mayor captación de N, P y K reflejados en la fotosíntesis.

Por otra parte, la intensidad del verdor encontrado en hojas de albahaca, pueden estar relacionados con los mecanismos involucrados de los consorcios de hongos y bacterias en el proceso de la elicitación que interactúa en las rutas bioquímicas de las plantas para producir metabolitos secundarios en grandes cantidades y de esta forma, mejorar la calidad de las plantas en términos de crecimiento, aroma, sabor y color (Aguirre-Becerra *et al.*, 2021).

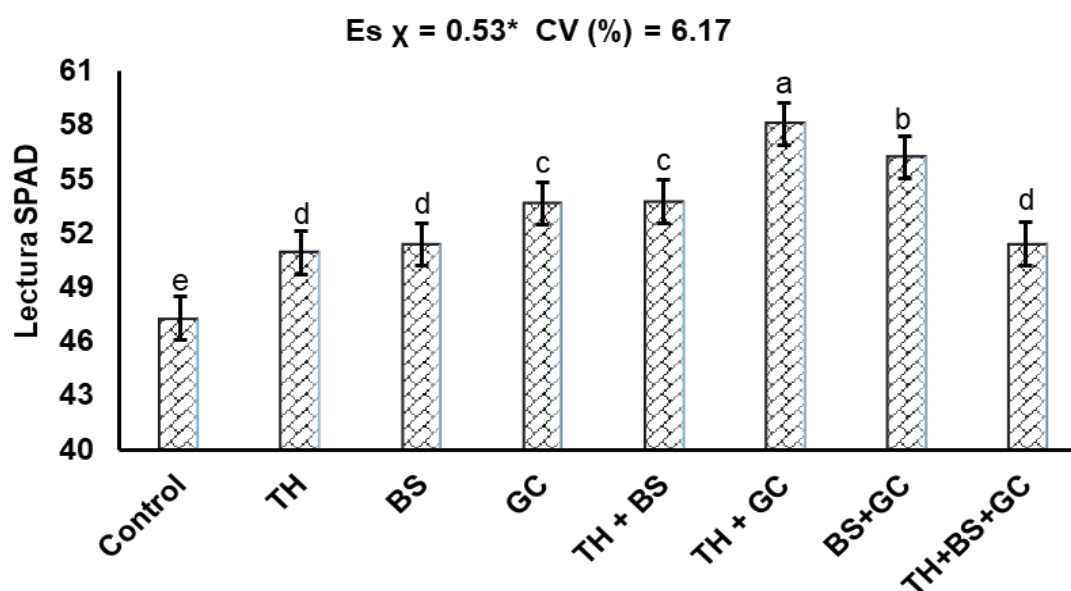


Figura 3. Lectura SPAD de las hojas de albahaca

TH= *Trichoderma harzianum*; BS= *Bacillus subtilis*; GC = *Glomus cubense*; Es χ = error estándar de la media; CV= Coeficiente de variación. Las barras indican error estándar. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas según prueba de rangos múltiples de Tukey ($p \leq 0.05$).

También, se ha informado tendencias favorables en el contenido de clorofila de las plantas de albahaca inoculadas con consorcios de HMA y combinadas con PGPR, dado a los mecanismos directos o indirectos de los microbios en la producción de antibióticos, metabolitos, producción de fitohormonas y compuestos orgánicos que inducen la asimilación de nutrientes y el crecimiento de las plantas (Anguiano-Cabello *et al.*, 2019; Chiquito-Contreras *et al.*, 2019).

En este orden, Emmanuel and Babalola (2020) y Suchitra *et al.* (2020) mencionan que los hongos micorrícicos aumentan la absorción de minerales y la protección de tensiones abióticas en plantas a cambios de productos fotosintéticos. Del mismo modo, los efectos de los microorganismos son mayores al ser combinados con los PGPR y que, al intervenir en la fisiología de las plantas, controlan los niveles de hormonas vegetales o indirectamente reduce los efectos inhibidores de los agentes patógenos.

Bordoloi y Shukla (2020) reportaron que la concentración de clorofila en plantas de *Piper mullesua* en condiciones de invernadero varió significativamente entre los aislados de hongos micorrícicos arbusculares. Asimismo, refieren que hubo una tendencia mayor ($p \leq 0.001$) en los tratamientos micorrizados en comparación con plantas no inoculadas en suelos esterilizados. Por su parte, Gómez-Bellot *et al.* (2020) en plantas de *Viburnum tinus* L. encontraron que la concentración de clorofila en hojas y la conductancia estomática foliar aumentaron con la inoculación de un complejo microbiano de HMA en comparación con la aplicación simple de micorrizas. Estos autores asociaron los efectos con la especificidad microbiota en la rizosfera de las plantas bajo diferentes condiciones riego.

En consideración a los beneficios de *T. harzianum* mixto con PGPR, Singh *et al.* (2020) demostraron en *Ocimum sanctum* L. cultivadas en invernadero, que el efecto combinado de estos mejoró la absorción de nutrientes y la eficiencia fotosintética generando mayor biomasa fresca (83.78%), en comparación con plantas controles no inoculadas.

Neelipally *et al.* (2020) demostraron que plantas de *Arachis hypogaea* L. inoculadas con *T. harzianum* + *Bradyrhizobium* spp en invernadero, generaron mayor concentración de biomasa seca y de clorofila ($p \leq 0.0001$) en comparación con aplicaciones simples y al tratamiento control. Sin embargo, encontraron que el índice de clorofila y la acumulación de nitrógeno en los tejidos vegetales era mayor con la inoculación de *Bradyrhizobium* con respecto a *T. harzianum*, debido a los efectos de interacción entre hongos endófitos y rizobacterias, así como las funciones particulares de cada uno en el crecimiento de las plantas.

Extracción de macronutrientes en albahaca

En comparación con el control, la absorción de macronutrientes aumentó un 80% en las plantas de albahaca tratadas con microorganismos benéficos (Cuadro 3), con diferencias ($p \leq 0.05$) debido a la inoculación con TH+GC y BS+GC que

mostraron incrementos de 82 y 71%, respectivamente. También se observó un efecto similar entre G.C y TH+BS para todos los macronutrientes. Las inoculaciones con TH, BS y con TH+BS+GC se comportaron de manera similar. Las respuestas encontradas en estas variables coincidieron con las descritas anteriormente, en relación con las plantas de albahaca que establecieron una relación directa entre las aplicaciones mixtas de los inoculantes (TH+BS y TH+GC) a diferencia de las inoculaciones simples con TH, BS y GC y con la triple inoculación TH+BS+GC.

Igualmente, se observó una tendencia de mayor absorción de N y K en (kg ha^{-1}) en comparación con los demás macronutrientes. De manera similar el P fue el elemento más absorbido por las plantas. Esto podría estar asociado a la participación de N, P y K en procesos de la fotosíntesis, la respiración, traslocación de fotosintatos, síntesis de proteínas y activación de enzimas claves para varias funciones bioquímicas en las plantas (Delgado-Ospina *et al.*, 2012). Además, de que los microorganismos también ejercen efectos sobre la absorción de los macronutrientes, lo cual coincide con lo reportado por Bordoloi y Shukla, (2020) quienes argumentan que los microorganismos participan en el suministro y extracción de nutrientes por las plantas.

Cuadro 3. Extracción de macronutrientes en albahaca

Tratamiento	N	P	K	Ca	Mg
	Kg ha^{-1}				
Control	1.66 e	1.66 e	5.15 e	0.56 e	0.54 e
TH	3.44 d	3.44 d	10.62 d	1.17 d	1.07 c
BS	3.03 d	3.03 d	9.35 d	1.03 d	0.80 d
HMA	6.80 c	6.80 c	20.48 c	2.26 c	1.09 c
TH +BS	6.48 c	6.48 c	20.98 c	2.31 c	1.15 c
TH + HMA	10.43 a	10.43 a	32.17 a	3.54 a	1.96 a
BS+ HMA	8.10 b	8.10 b	24.97 b	2.73 b	1.54 b
TH + BS + HMA	3.07 d	3.07 d	9.48 d	1.04 d	0.79 d
Es χ	0.15*	0.15*	0.48*	0.04*	0.03*

TH= *Trichoderma harzianum*; BS= *Bacillus subtilis*; GC= *Glomus cubense*; Es χ = error estándar de la media. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas según prueba de rangos múltiples de Tukey ($p \leq 0.05$).

Arango *et al.* (2012) reportaron un aumento significativo en los niveles de macronutrientes en plantas micorrizadas de *Menta piperita* L. cultivadas en invernadero, con relación directa entre la materia fresca, seca y el área foliar a los 60 días después del trasplante. Estudios realizados por Delgado-Ospina *et al.* (2012), indican que la extracción de nutrientes puede variar según las especies y a las fases fenológicas del cultivo. Refirieron al K como el elemento con mayor requerimiento de extracción foliar y al P y Mg con menor demanda en plantas de *Lippia organoides* H.B.K cultivadas en invernadero.

También, se ha reportado que el uso de *T. harzianum* como hongo biocontrolador de enfermedades y promotor del crecimiento en plantas aromáticas y medicinales asociados con otros microorganismos benéficos o fertilizantes inorgánicos, benefician la absorción de nutrientes esenciales, el crecimiento y el rendimiento de las plantas (Quiroga *et al.*, 2015).

Por otra parte, Sun *et al.* (2020) reportaron incrementos significativos de los contenidos de N, P, K, Ca y Mg en plantas de Té (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze micorrizadas con *Glomus etunicatum* en comparación a los demás tratamientos en condiciones de sombra. Al mismo tiempo, indican que los resultados podrían deberse a la participación de las micorrizas en la inducción de resistencia de las plantas a condiciones de estrés, aumento de la biomasa de la raíz, absorción de nutrientes y el contenido de fitohormonas presente en la raíz, regulando de forma activa la vía de transporte y biosíntesis.

Ortas *et al.* (2021) describen que la colonización micorrícica regula las expresiones de los genes de los cloroplastos en hojas y mejoran el estado hídrico de las plantas. Afirman, además que los nutrientes esenciales son absorbidos mediante las hifas extrarradicales y las diferencias en la adquisición de ellos, así como la transpiración

y la conductancia estomática están relacionadas con la eficiencia micorrícica de diferentes especies o la combinación con otros microorganismos, lo cual está relacionado con los resultados obtenidos en el presente estudio.

CONCLUSIONES

En comparación con el control, se obtuvo un aumento del crecimiento de albahaca del 58% con la coinoculación de *Trichoderma harzianum* + *Glomus cubense* y 55% con respecto a las inoculaciones simples de *Bacillus subtilis*, *Glomus cubense*, *Trichoderma harzianum* y con inoculación tripartita de estos microorganismos. En segundo lugar, se obtuvo un incremento de 51% en el crecimiento de esta hierba fina con la coinoculación de *Bacillus subtilis* + *Glomus cubense* respecto al control y del 38% con el resto de los tratamientos, respectivamente. Estas respuestas de crecimiento de las plantas se reflejan en aumentos en la producción tanto en la biomasa fresca y seca, área foliar, variables morfológicas, concentración relativa de clorofila y extracción de macronutrientes. En cambio, los efectos encontrados con la aplicación conjunta de los tres inoculantes y aplicaciones simples fueron inferiores en todas las variables evaluadas. Estos resultados sugieren que la inoculación dual de microorganismos benéficos (*Trichoderma harzianum* + *Glomus cubense* y *Bacillus subtilis* + *Glomus cubense*), pueden ser alternativas de manejo útil y más sustentables para el cultivo de albahaca cultivadas en invernadero.

REFERENCIAS

- Abdel-Rahman SSA, Abdel-Kader AAS, Khalil SE (2011). Response of Three Sweet Basil Cultivars to Inoculation with *Bacillus subtilis* and Arbuscular Mycorrhizal Fungi under Salt Stress Conditions. *Nature and Science* 9(6): 93-111.
- Abdollahi-Arpanahi A, Feizian M, Mehdipourian G (2020). Influence of drought stress and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) inoculation on morphological characteristics, essential oil yield and composition of *Thymus*

daenensis Clack. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research 36(3): 417-428. <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2020.342064.2731>

Aguirre-Becerra H, Vázquez-Hernández MC, Sáenz de la OD, Alvarado-Mariana A, Guevara-González RG, García-Trejo JF, Feregrino-Pérez AA (2021). Role of Stress and Defense in Plant Secondary Metabolites Production. En: Pal D, Nayak AK (Eds.), Bioactive Natural Products for Pharmaceutical Applications (pp. 151-195). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-54027-2_5

Ajeng A A, Abdullah R, Malek MA, Chew K W, Ho YC, Ling TC, Lau BF, Show PL (2020). The Effects of Biofertilizers on Growth, Soil Fertility, and Nutrients Uptake of Oil Palm (*Elaeis Guineensis*) under Greenhouse Conditions. Processes, 8(12): 1681. <https://doi.org/10.3390/pr8121681>

Alcántar GG, Sandoval VM (1999). Manual de Análisis Químico de Tejido Vegetal. Guía de Muestreo, Preparación, Análisis e Interpretación. Publicación especial Núm. 10. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A. C. Chapingo, México pp 155.

Álvarez M, Tucta F, Quispe E, Meza V (2018). Incidence of the inoculation of beneficial microorganisms in the strawberry (*Fragaria* sp.) crop. Scientia Agropecuaria 9(1): 33-42. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2018.01.04>

Anguiano-Cabello JC, Flores-Olivas A, Olalde-Portugal V, Arredondo-Valdés R, Laredo-Alcalá EI (2019). Evaluation of *Bacillus subtilis* as promoters of plant growth. Revista Bio Ciencias 6(e418): 1-13. <https://doi.org/10.15741/revbio.06.e418>

Arango MC, Ruscitti M, Betrano J (2013). Alternativa para aumentar la producción en plantas de *Mentha x piperita* L. Contacto Rural no. 3: 6-7.

Arango MC, Ruscitti MF, Ronco MG, Beltrano J (2012). Mycorrhizal fungi inoculation and phosphorus fertilizer on growth, essential oil production and nutrient uptake in peppermint (*Mentha piperita* L.). Revista Brasileira de Plantas

Medicinais 14(4): 692-699. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722012000400018>

Baum C, El-Tohamy W, Gruda N (2015). Increasing the productivity and product quality of vegetable crops using arbuscular mycorrhizal fungi: A review. Scientia Horticulture 187: 131-141. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.03.002>

Bhat MA, Kumar V, Bhat MA, Wani I A, Dar FL, Farooq I, ... Jan AT (2020). Mechanistic Insights of the Interaction of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) With Plant Roots Toward Enhancing Plant Productivity by Alleviating Salinity Stress. Frontiers in Microbiology 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01952>

Bordoloi A, Shukla AK (2020). Effect of Mycorrhizal Application on Plant Growth and Nutrient Uptake of *Piper mullesua* Plantlets under Sterilized, Unsterilized and Field Soil Condition. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 9(5): 2948-2960. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.905.338>

Cardona JO, Barrientos JC (2012). Producción, uso y comercialización de especies aromáticas en la región Sumapaz, Cundinamarca. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas 5(1): 114-129. <https://doi.org/10.17584/rcch.2011v5i1.1258>

Chiquito-Contreras RG, Solis-Palacios R, Reyes-Pérez JJ, Reyes J, Murillo-Amador B, Alejandro-Rosas J, Hernández-Montiel LG (2019). Promoción del crecimiento de plantas de albahaca utilizando hongos micorrícicos arbusculares y una bacteria marina. Acta Universitaria 28(6): 68-76. <https://doi.org/10.15174/au.2018.2086>

CONAGUA (2018). Estadísticas Agrícolas de las Unidades de Riego. Año agrícola 2016–2017. (Edición 2018; p. 925). Comisión Nacional del Agua. México. Consultado el 11 diciembre 2020 en: <https://files.conagua.gob.mx/conagua/publicaciones/Publicaciones/SGIH-3-18.pdf>

- Corrales LC, Caycedo-Lozano L, Gómez- Méndez MA, Ramos-Rojas SJ, Rodríguez-Torres JN (2017). *Bacillus* spp: Una alternativa para la promoción vegetal por dos caminos enzimáticos. Nova 15(27): 45. <https://doi.org/10.22490/24629448.1958>
- Delgado-Ospina J, Menjivar-Flores JC, Bonilla-Correa CR (2012). Effect of fertilization on dry matter production and extraction of nutrients in three accessions of *Lippia origanoides* H.B.K. Acta Agronómica 61(4): 302-308.
- Emmanuel OC, Babalola OO (2020). Productivity and quality of horticultural crops through co-inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting bacteria. Microbiological Research 239: 126569. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126569>
- Esquivel-Quispe R (2020). Propagación de hongos micorrizógenos arbusculares nativos y su influencia en la producción de maíz amiláceo en Paquecc – Ayacucho. Segunda parte: Hacia una agricultura sostenible. Journal of the Selva Andina Biosphere 8(1): 53-63.
- Fernández F, Gómez R, Vanegas LF, Martínez MA, de la Noval BM, Rivera R (2000). *Producto inoculante micorrizógeno*. (Patent N.º 22641). La Habana, Cuba.
- Furnell S, Timoshyna A, Harter D (2019). Voluntary certification standards and the implementation of CITES for trade in medicinal and aromatic plant species. Traffic Bulletin 31(2): 79-88.
- Gómez-Bellot MJ, Ortuño MF, Álvarez S, Sánchez-Blanco MJ (2020). Influence of mycorrhizal or microbial complex inoculation on laurustinus plants irrigated with reclaimed water. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology 95(5): 661-672. <https://doi.org/10.1080/14620316.2020.1727781>
- Hernández-Melchor DJ, Ferrera-Cerrato R, Alarcón A (2019). *Trichoderma*: Importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. *Chilean journal of agricultural*

y animal sciences 35(1):98-112. <https://doi.org/10.4067/S0719-38902019005000205>

- Hernández-Montiel LG, Murillo-Amador B, Chiquito-Contreras CJ, Zúñiga-Castañeda CE, Ruiz-Ramírez J, Chiquito-Contreras RG (2020). Respuesta morfo-productiva de plantas de pimiento morrón biofertilizadas con *Pseudomonas putida* y dosis reducida de fertilizantes sintéticos en invernadero. Revista terra latinoamericana 38(3): 583-596. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i3.651>
- Kala CP (2015). Medicinal and aromatic plants: Boon for enterprise development. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants 2(4): 134-139. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2015.05.002>
- Khalediyan N, Weisany W, Schenk PM (2021). Arbuscular mycorrhizae and rhizobacteria improve growth, nutritional status and essential oil production in *Ocimum basilicum* and *Satureja hortensis*. Industrial Crops and Products 160:113163. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113163>
- Leal-Almanza J, Gutiérrez-Coronado MA, Castro-Espinoza L, Lares-Villa F, Cortes-Jiménez JM, Santos-Villalobos S de los (2018). Microorganismos promotores de crecimiento vegetal con yeso agrícola en papa (*Solanum tuberosum* L.) bajo casa sombra. Agrociencia 52(8): 1149-1159.
- López-Valenzuela EB, Armenta-Bojorquez AD, Hernández-Verdugo S, Apodaca-Sánchez MA, Samaniego-Gaxiola JA, Valdez-Ortiz A. (2019). *Trichoderma* spp. And *Bacillus* spp. As growth promoters in maize (*Zea mays* L.). Phytion 88(1): 37-46. <https://doi.org/10.32604/phyton.2019.04621>
- Makarov MI, Malysheva TI, Kadulin MS, Verkhovtseva NV, Sabirova RV, Lifanova VO, ...Karpukhin MM (2020). The Effect of Ericoid Mycorrhizal and Ectomycorrhizal Plants on Soil Properties of Grass Meadow in Tundra of the Khibiny Mountains. Eurasian Soil Science 53(5): 569-579. <https://doi.org/10.1134/S1064229320050087>

- Malik A, Mor VS, Tokas J, Punia H, Malik S, Malik K, ... Karwasra A (2021). Biostimulant-Treated Seedlings under Sustainable Agriculture: A Global Perspective Facing Climate Change. *Agronomy* 11(1): 14. <https://doi.org/10.3390/agronomy11010014>
- Mohamed I, Eid KE, Abbas MHH, Salem AA, Ahmed N, Ali M, ... Fang C (2019). Use of plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR) and mycorrhizae to improve the growth and nutrient utilization of *common bean* in a soil infected with white rot fungi. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 171: 539-548. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.12.100>
- Moncada A, Miceli A, Vetrano F (2021). Use of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and organic fertilization for soilless cultivation of basil. *Scientia Horticulture* 275: 109733. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109733>
- Neelipally RTKR, Anoruo AO, Nelson S (2020). Effect of Co-Inoculation of *Bradyrhizobium* and *Trichoderma* on Growth, Development, and Yield of *Arachis hypogaea* L. (Peanut). *Agronomy* 10(9): 1415. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091415>
- Ojeda-Silvera CM, Murillo-Amador B, Nieto-Garibay A, Troyo-Diéguez E, Reynaldo-Escobar IM, Ruíz-Espinoza FH, García-Hernández JL (2015). Emergencia y crecimiento de plántulas de variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) sometidas a estrés hídrico. *Ecosistemas y recursos agropecuarios* 2(5): 151-161.
- Ortas I, Rafique M, Çekiç FÖ (2021). Do Mycorrhizal Fungi Enable Plants to Cope with Abiotic Stresses by Overcoming the Detrimental Effects of Salinity and Improving Drought Tolerance? En Shrivastava N, Mahajan S, Varma A (Eds.), *Symbiotic Soil Microorganisms* (Vol. 60, pp. 391-428). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-51916-2_23
- Pan J, Huang C, Peng F, Zhang W, Luo J, Ma S, Xue X (2020). Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) and Plant Growth-Promoting Bacteria (PGPR) Inoculations on *Elaeagnus angustifolia* L. in Saline Soil. *Applied Sciences* 10(3): 945. <https://doi.org/10.3390/app10030945>

- Peccatti A, Rovedder APM, Steffen GPK, Maldaner J, Missio EL, Witt CS, ... Dalcul LP (2019). Effect of *Trichoderma* spp. On the Propagation of *Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reissek. Journal of Agricultural Science 11(3): 435. <https://doi.org/10.5539/jas.v11n3p435>
- Quiroga M, Agüero D, Zapata R, Busilacchi H (2015). Activadores de crecimiento y biofertilizantes como alternativa al uso de fertilizantes químicos en cultivo de Chía (*Salvia hispanica* L.). Energías Renovables y Medio Ambiente 35: 33-40.
- Riahi L, Cherif H, Miladi S, Neifar M, Bejaoui B, Chouchane H, ... Cherif A (2020). Use of plant growth promoting bacteria as an efficient biotechnological tool to enhance the biomass and secondary metabolites production of the industrial crop *Pelargonium graveolens* L'Hér. Under semi-controlled conditions. Industrial Crops and Products 154 112721. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112721>
- Rivera RA, Martin GM, Simó JE, Pentón G, Garcia-Rubido M, Ramirez JF, ... Bustamante C (2020). Benefits of joint management of green manure and mycorrhizal inoculants in crop production. Tropical and Subtropical Agroecosystems 23(3) 3. <https://www.revista.ccba.uady.mx/ojs/index.php/TSA/article/view/3294>
- Salome-abarca LF, Cruz EC, Vásquez AL, Nava AD, Palemon FA, Castro EH, ... Cabañas JNS (2015). Biochemical Characterization, Antioxidant and Antibacterial Activity of Aromatic Plants from Guerrero, Mexico. Weber Medicinal Plant Research 1(2): 239-246.
- Sánchez E, Ruiz JM, Romero L, Preciado-Rangel P, Flores-Córdova MA, Márquez-Quiroz C, ... Márquez-Quiroz C (2018). ¿Son los pigmentos fotosintéticos buenos indicadores de la relación del nitrógeno, fósforo y potasio en frijol ejotero? Ecosistemas y recursos agropecuarios 5(15): 387-398. <https://doi.org/10.19136/era.a5n15.1757>
- Sánchez -Verdugo C, Avilés-Quevedo S (2012). Fuentes de financiamiento y apoyo para la realización de proyectos de investigación, desarrollo e innovación (IDTi). Proyecto SAGARPA-CONACyT 126183 (Ed). Centro de

Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, Baja California Sur, México pp 24. Consultado el 11 de diciembre 2020 en: <https://diplomadoinvestigacionites.files.wordpress.com/2014/08/fuentes-financiamiento-proyectos-investigacion-tecnologia.pdf>

Sharma V, Salwan R, Sharma PN (2017). The comparative mechanistic aspects of *Trichoderma* and Probiotics: Scope for future research. Physiological and Molecular Plant Pathology 100: 84-96. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2017.07.005>

Singh A, Chaubey R, Srivastava S, Kushwaha S, Pandey R (2021). Beneficial Root Microbiota: Transmogrifiers of Secondary Metabolism in Plants. En Singh KP, Jahagirdar S, Sarma BK (Eds.), Emerging Trends in Plant Pathology (pp. 343-365). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-15-6275-4_16

Singh S, Tripathi A, Chanotiya CS, Barnawal D, Singh P, Patel VK, Vajpayee P, Kalra A (2020). Cold stress alleviation using individual and combined inoculation of ACC deaminase producing microbes in *Ocimum sanctum*. Environmental Sustainability 3(3): 289-301. <https://doi.org/10.1007/s42398-020-00118-w>

Steiner A A (1984). The universal nutrient solution. In 6. International Congress on Soilless Culture, Lunteren (Netherlands), 29 Apr-5 May 1984. ISOSC.633-650 pp.

Stewart A, Hill R (2014). Chapter 31-Applications of *Trichoderma* in Plant Growth Promotion. En Gupta VK, Schmoll M, Herrera-Estrella A, Upadhyay RS, Druzhinina I, Tuohy MG (Eds.), Biotechnology and Biology of *Trichoderma* (pp. 415-428). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59576-8.00031-X>

Suchitra R, Rajaram K, Arunkumar N, Kumar DSS (2020). Contribution of Beneficial Fungi for Maintaining Sustainable Plant Growth and Soil Fertility. En Varma A, Tripathi S, Prasad R (Eds.), *Plant Microbe Symbiosis* (pp. 105-113). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-36248-5_6

Sun M, Yuan D, Hu X, Zhang D, Li Y (2020). Effects of mycorrhizal fungi on plant growth, nutrient absorption and phytohormones levels in tea under shading

condition. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca 48(4): 2006-2020. <https://doi.org/10.15835/nbha48412082>

Tamayo-Aguilar Y, Riera-Nelson MC, Terry-Alfonso E, Juárez-López P, Rodríguez-Matos Y (2019). Respuesta de *Vigna unguiculata* (L) Walp ante la aplicación de bioproductos en condiciones de huertos intensivos. Acta Agronómica 68(1). <https://doi.org/10.15446/acag.v68n1.72797>

Tian L, Lin X, Tian J, Ji L, Chen Y, Tran L, Tian C (2020). Research Advances of Beneficial Microbiota Associated with Crop Plants. International journal of molecular sciences 21(1792): 2-18. <https://doi.org/10.3390/ijms21051792>

CAPITULO II

BIOFERTILIZANTES EN EL CRECIMIENTO DE ESTRAGÓN (*Artemisia dracunculus* L.) EN CONDICIONES DE INVERNADERO

Biofertilizers in the growth of tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) under greenhouse conditions

RESUMEN

El estragón (*Artemisia drancunculus* L.) es una planta perenne y aromática con potencial de producción en México. El objetivo fue evaluar el efecto simple y combinado de *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* y *Glomus cubense* en el crecimiento de estragón en condiciones de invernadero. Se utilizó un diseño completamente al azar con seis repeticiones. Los tratamientos fueron: 1) Control (sin inoculaciones), 2) *Trichoderma harzianum*, 3) *Bacillus subtilis*, 4) *Glomus cubense*, 5) *Trichoderma harzianum* + *Bacillus subtilis*, 6) *Trichoderma harzianum* + *Glomus cubense*, 7) *Bacillus subtilis* + *Glomus cubense*, 8) *Trichoderma harzianum* + *Bacillus subtilis* + *Glomus cubense*. Se midió el efecto acumulado en el crecimiento de estragón, a través de tres cortes de tallos comerciales, en los que se evaluó: biomasa fresca y seca, área foliar, número de tallos comerciales, longitud y grosor

de los tallos, largo y ancho de las hojas, lecturas SPAD y la extracción de N, P, K, Ca y Mg. Las plantas de estragón coinoculadas con *T. harzianum* + *G. cubense* tuvieron un incremento de 66% en el crecimiento con respecto al control y de 53% en comparación con inoculaciones simples y el tratamiento con los tres microorganismos. Además, se obtuvo un incremento de 57% en el crecimiento de las plantas con la combinación de *T. harzianum* + *B. subtilis* respecto al control y un aumento de 33% con el resto de los tratamientos. Los biofertilizantes *T. harzianum* + *G. cubense* y *T. harzianum* + *B. subtilis*, pueden ser una alternativa para el manejo orgánico de estragón.

Palabras clave: *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, *Glomus cubense*, bioinoculantes, plantas aromáticas

SUMMARY

Tarragon (*Artemisia drancunculus* L.) is a perennial and aromatic plant with production potential in Mexico. The objective was to evaluate the simple and combined effect of *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* and *Glomus cubense* on the growth of tarragon under greenhouse conditions. A completely randomized design with six replications was used. The treatments were: 1) Control (without inoculations), 2) *Trichoderma harzianum*, 3) *Bacillus subtilis*, 4) *Glomus cubense*, 5) *Trichoderma harzianum* + *Bacillus subtilis*, 6) *Trichoderma harzianum* + *Glomus cubense*, 7) *Bacillus subtilis* + *Glomus cubense*, 8) *Trichoderma harzianum* + *Bacillus subtilis* + *Glomus cubense*. The cumulative effect on the growth of tarragon was measured through three cuts of commercial stems, in which it was evaluated: fresh and dry biomass, leaf area, number of commercial stems, length and thickness of the stems, length and width of the leaves, SPAD readings and the extraction of N, P, K, Ca and Mg. The tarragon plants co-inoculated with *T. harzianum* + *G. cubense* had an increase of 66% in growth with respect to the control and of 53% in comparison with simple inoculations and the treatment with the three microorganisms. In addition, a 57% increase in plant growth was obtained with the

combination of *T. harzianum* + *B. subtilis* compared to the control and a 33% increase with the rest of the treatments. The biofertilizers *T. harzianum* + *G. cubense* and *T. harzianum* + *B. subtilis*, can be an alternative for the organic management of tarragon.

KEYWORDS: *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, *Glomus cubense*, bioinoculants, aromatics plants.

INTRODUCCIÓN

Las hierbas aromáticas y medicinales (HAM's) dentro del sector agrícola tienen un rol importante en el bienestar social y económico de los productores. Estas especies se han destacado en las últimas décadas por sus aceites esenciales en la industria de la perfumería, por sus productos nutracéuticos en la farmacéutica y también con productos frescos y secos en la industria alimenticia; para muchos países son fuentes de prevención y primeros auxilios de enfermedades, además de ser utilizados en costumbres culinarias por la población (Juárez-Rosete *et al.*, 2013; Ramírez *et al.*, 2019).

Entre 60 y 80% de las personas en países en desarrollo, dependen de medicinas tradicionales o populares a base de HAM's para satisfacer sus necesidades de atención médica. India y China son los países con mayor uso en sus sistemas tradicionales de medicina y cocina oriental con alrededor de 7000 y 5000 especies, respectivamente (Farnsworth y Soejarto, 1991; Balick *et al.*, 1996). En los últimos años, los estudios de mercado han demostrado que existe una tendencia creciente en los productos derivados de las HAM's (Niazian *et al.*, 2019). De acuerdo con Zengin *et al.* (2018), de los 252 medicamentos básicos y esenciales considerados por la Organización Mundial de la Salud (OMS), 11% son exclusivamente de origen de las HAM's.

México cuenta con alto potencial para la producción de hierbas finas, entre las cuales está el estragón (*Artemisia drancunculus* L.) también conocido como tarragón o dragoncillo; es una especie aromática que se utiliza tanto en fresco como en seco en la cocina a nivel global (Espinoza *et al.*, 2013). De acuerdo con reportes de la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) los estados de Baja California y Baja California Sur son los más destacados en la producción de esta hierba fina con un rendimiento que oscila entre 2,8 y 3,16 t ha⁻¹ y un valor de la producción entre 60523 y 90950 pesos por tonelada, de exportación en fresco, congelada y deshidratada, esta última es la preferida por el mercado (CONAGUA, 2018 y 2019).

Por otra parte, las plantas han desarrollado numerosas estrategias para hacer frente a los diversos cambios bióticos y abióticos en su hábitat de crecimiento. Una de ellas son las relaciones simbióticas mutualistas benéficas que establecen con los biofertilizantes microbianos (Rivera *et al.*, 2020), que al interactuar con el hospedero estimulan los procesos fisiológicos de las plantas reflejados en el rendimiento por unidad de superficie, y que representan alternativas sustentables en la nutrición de los cultivos encaminada hacia una agricultura rentable y ecológica (Tamayo-Aguilar *et al.*, 2020).

Las interacciones simbióticas de los microorganismos rizosféricos al promover el volumen radical, permiten una mayor absorción y traslocación de agua y nutrientes esenciales, asimismo, actúan en la solubilización de magnesio, fósforo, hierro y manganeso, como promotores del crecimiento vegetal e inductores de resistencia contra factores bióticos y abióticos, entre otras funciones (Hernández-Melchor *et al.*, 2019a,b; Chiquito-Contreras *et al.*, 2020).

El uso de los microorganismos benéficos integrados por hongos micorrícicos arbusculares (HMA), *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* dentro del manejo orgánico en el cultivo del estragón, podría ser una alternativa viable para disminuir enfermedades e incrementar el crecimiento y la producción por unidad de superficie de esta hierba aromática reduciendo el uso de fertilizantes sintéticos. Por lo

anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto simple y combinado de *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* y *Glomus cubense* en el crecimiento de estragón en condiciones de invernadero.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en un invernadero tipo túnel con cubierta plástica de color blanquecino con 30% de sombreo y con mallas antiáfidos en las paredes laterales, ubicado en la Facultad de Ciencias Agropecuarias del Estado de Morelos, localizada en Cuernavaca, Morelos, México (18° 58' 51" LN, 99° 13' 55" LO) a una altitud de 1.866 m. Durante la etapa experimental, se registraron los datos climáticos con un registrador de datos ambientales (Hobo®, modelo MX2301A); la temperatura promedio fue de 22.41 °C y 52.98% de humedad relativa, respectivamente.

Trasplante y aplicación de los biofertilizantes

El trasplante se realizó el 1 de marzo 2020 en macetas de plástico de 20.32 cm que contenían 2.8 kg de suelo agrícola. Se utilizaron esquejes enraizados de estragón de 10 cm de altura producidas en bandejas de unicel de 200 cavidades, adquiridas en la empresa Fusión Mexicana Agropecuaria S.A. de C.V. ubicada en Jojutla de Juárez, Morelos. El suelo que se usó en el experimento se obtuvo a profundidad de 0-20 cm en la empresa antes mencionada, tenía textura arcillo limoso, con las siguientes características químicas: 6.32 de pH; CIC alta de 27.1 mEq 100 g⁻¹; contenidos normales de: MO 2.3%, CE 2.7 dS m⁻¹, nitrógeno total 0.6, fósforo disponible (Bray-Kurtz) 5.1 ppm; contenidos altos: 7.4, 107.0 y 14.7 cmol kg⁻¹ de K, Ca y Na; presencia baja de 9.0 cmol kg⁻¹ de Mg y normales: 0.03, 0.07, 0.04 y 0.39 cmol kg⁻¹ de Cu, Mn, Zn y B, respectivamente. El suelo se esterilizó por solarización (Katan y Gamliel, 2012), para esto, se cubrió con plástico transparente y se expuso a la luz solar durante 30 días. La inoculación de las plántulas de estragón con las especies *T. harzianum* y *B. subtilis* obtenida en la Universidad Tecnológica del Sur

del Estado de Morelos (UTSEM), se realizó alrededor del pie del tallo, las cuales previo a la inoculación se conservaron en medios de cultivos PDA y agar nutriente a una temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$; la primera inoculación se realizó en el momento del trasplante y 30 días después, a concentración de 1×10^5 esporas por mL^{-1} y 1×10^5 bacterias por mL^{-1} preparada con agua destilada estéril en un vaso de precipitado de 1000 mL, posteriormente aplicada con un spray modelo Batlle 730061UNID de 1000 mL que garantizó la uniformidad de la aplicación en todas las plantas. La especie *G. cubense* con 70 esporas por gramo de inoculante y 50 % de colonización radical, no tóxico y libre de patógenos obtenidas a través del Consejo Estatal de Fertilizantes Orgánicos (CEFO) ubicado en el estado de Oaxaca, México, se preparó en un recipiente plástico en el cual se sumergieron las raíces en una pasta fluida del inoculante micorrízico con una dosis de 0.5 kg ha^{-1} del producto por 800 mL de agua destilada en el momento del trasplante (Fernández *et al.*, 2000).

Riego y nutrición mineral

Se aplicó el riego a cada maceta con 1 L de solución nutritiva de Steiner al 50 % de concentración, cada dos días. La solución se preparó a partir de fertilizantes comerciales solubles: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, KNO_3 , MgSO_4 , K_2SO_4 y KH_2PO_4 (Steiner, 1984). El pH de la solución nutritiva se ajustó entre 5.5 y 5.7 con ácido sulfúrico al 95%. Como fuente de micronutrientes se utilizó el producto ultrasol Micro Mix, SQM® a dosis de 20 g por cada 500 L de solución nutritiva.

Diseño experimental y tratamientos

Se utilizó un diseño completamente al azar con seis repeticiones. Los tratamientos fueron: 1) Control (sin inoculaciones), 2) *Trichoderma harzianum*, 3) *Bacillus subtilis*, 4) *Glomus cubense*, 5) *Trichoderma harzianum* + *Bacillus subtilis*, 6) *Trichoderma harzianum* + *Glomus cubense*, 7) *Bacillus subtilis* + *Glomus cubense*, 8) *Trichoderma harzianum* + *Bacillus subtilis* + *Glomus cubense* (Cuadro 1). La unidad experimental fue una maceta que contenía una planta de estragón.

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos

Tratamiento	Concentración de los inóculos
Control	Sin inoculaciones
TH	1×10^5 UFC mL ⁻¹
BS	1×10^5 UFC mL ⁻¹
GC	70 esporas g ⁻¹ de suelo
TH +BS	1×10^5 UFC mL ⁻¹ + 1×10^5 UFC mL ⁻¹
TH + GC	1×10^5 UFC mL ⁻¹ + 70 esporas g ⁻¹ de suelo
BS+ GC	1×10^5 UFC mL ⁻¹ + 70 esporas g ⁻¹ de suelo
TH + BS + GC	1×10^5 UFC mL ⁻¹ + 1×10^5 UFC mL ⁻¹ + 70 esporas g ⁻¹ de suelo

UFC= Unidad de formación de colonias. TH=*Trichoderma harzianum*, BS=*Bacillus subtilis*, GC=*Glomus cubense*.

Cosecha de estragón y variables evaluadas

Debido a que el estragón es una planta herbácea perenne, se realizaron tres cortes de todos los tallos en el periodo experimental. El primer corte fue el 29 de abril de 2020, es decir, 60 días después del trasplante; el segundo corte fue el 24 de mayo y el tercer corte fue el 18 de junio del mismo año. Se seleccionaron con interés comercial, aquellos tallos que presentaron características de 18 a 35 cm de largo, buen vigor, hojas largas y de coloración verde oscura. En ellos, se midieron las variables descritas a continuación para evaluar el efecto acumulado de los tres cortes: número de tallos comerciales. La longitud del tallo se determinó con una regla de 0.01 cm de precisión, desde la base del tallo hasta el ápice. El grosor del tallo se determinó un cm por encima del corte del tallo comercial con un vernier digital (Traceable® Modelo 97152-16, USA). El largo y ancho de las hojas, se midieron por debajo del primer entrenudo de los tallos cortados con vernier digital.

La concentración relativa de clorofila (lecturas SPAD) se determinó con un equipo portátil SPAD (Minolta® Modelo 502 Plus, Japón) en hojas maduras y extendidas. El área foliar se determinó al quitar todas las hojas de la rama o tallo y fueron

colocadas en un medidor de área foliar (LI-COR® Modelo LI-3100C, USA). El peso de biomasa fresca y seca se obtuvieron con una balanza digital (OHAUS® Modelo Scout Pro SP401, USA), en cada corte de tallos comerciales, separando hojas y tallos. Una vez obtenido el peso fresco, los órganos antes mencionados se colocaron en bolsas de papel estraza, en una estufa con circulación de aire forzado (Luzeren® Modelo DHG9070A, China) a 60 °C, durante tres días, para obtener el peso seco. Posteriormente en cada órgano se determinó la concentración de los macronutrientes N, P, K, Ca y Mg. Para N se utilizó el método micro-Kjeldahl (Alcántar y Sandoval, 1999), mientras que el P, K, Ca y Mg se realizó mediante digestión húmeda con una mezcla de ácido perclórico y nítrico en relación 2:1 (Alcántar y Sandoval, 1999). El incremento (%) para las variables descritas anteriormente, se estimó con los datos obtenidos de los tratamientos con biofertilizantes y el control sin inoculaciones [(tratamientos biofertilizantes – tratamientos sin inoculaciones) / tratamientos sin inoculaciones]*100. La extracción de macronutrientes se obtuvo a partir de la biomasa seca de cada órgano (hojas y tallos) y sus correspondientes concentraciones de cada macroelemento considerado (% N, P, K, Ca y Mg) por la siguiente fórmula:

Extracción de macronutrientes (kg ha⁻¹) = [MS parte aérea (g por planta) x concentración (%) del elemento en la MS de la parte aérea] x 10.

Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron con el software estadístico IBM SPSS® Statistics para Windows vs 25 (IBM Corp, Armonk, Nueva York, USA). Se comprobó la normalidad y homogeneidad de varianza mediante la prueba de Levene y Kolmogorov-Smirnov. Posteriormente, se procedió al análisis de varianza y a la prueba de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Biomasa fresca y seca

En cuanto a la biomasa fresca y seca de estragón, hubo diferencias ($p \leq 0,05$) en los tratamientos evaluados (Figura 1). En la biomasa fresca hubo incremento del 55 y 46% en plantas coinoculadas con *T. harzianum* + *G. cubense* y *T. harzianum* + *B. subtilis* en comparación al control, respectivamente; asimismo, estas combinaciones presentaron aumento del 20% con respecto a los demás tratamientos. La biomasa seca presentó un incremento del 90 y 72% con las combinaciones anteriormente mencionadas con respecto al control, respectivamente.

Los resultados sugieren que los inoculantes incrementan las funciones metabólicas relacionadas con el crecimiento y desarrollo de las plantas, al interactuar directamente con la rizosfera y estimular la asimilación de algunos nutrientes esenciales para su crecimiento (Tamayo-Aguilar *et al.*, 2020).

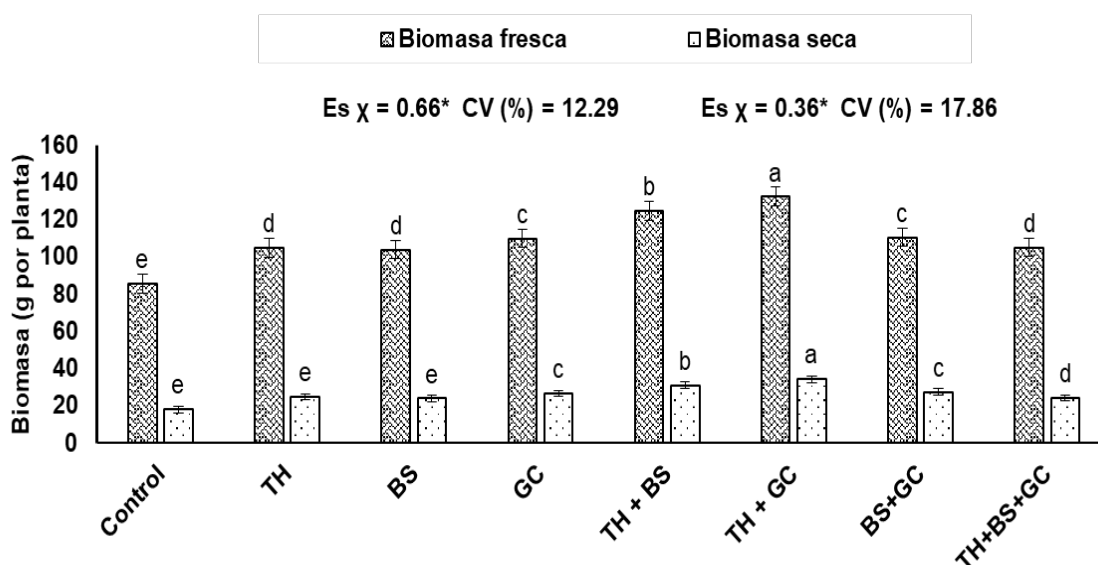


Figura 1. Biomasa fresca y seca de plantas de estragón. TH= *Trichoderma harzianum*; BS= *Bacillus subtilis*; GC= *Glomus cubense*; Es χ = error estándar de la media; CV= Coeficiente de variación. Las barras indican error estándar. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas según prueba de rangos múltiples de Tukey ($p \leq 0.05$).

Eke *et al.* (2016) plantearon que las aplicaciones de microorganismos en plantas se pueden realizar con una sola especie determinada, sin embargo, la aplicación de consorcios o la inoculación combinada de estos simbioses son más eficientes para la promoción del crecimiento, efectos antagonistas y productividad de las plantas. No obstante, consideran que la eficiencia de un consorcio o la coinoculación entre ellos depende de la interacción intraespecífica y simbiótica de los microorganismos y el huésped involucrado. Álvarez *et al.* (2018) indican que los inóculos microbianos coinoculados o aplicados en consorcios en plantas vegetales, favorece su crecimiento a través de los múltiples beneficios que les proporcionan; sin embargo, los efectos entre los inóculos son diferentes, acorde a la naturaleza de cada uno de ellos y la función que realiza en el metabolismo de las plantas.

Por otra parte, el resultado ascendente de la biomasa en los tratamientos coinoculados (*T. harzianum* + *G. cubense*; *T. harzianum* + *B. subtilis*) pudo deberse a la especificidad de los microorganismos en su acción simbiótica con las plantas de estragón, aunado con cortes de los tallos comerciales realizados escalonadamente durante la etapa experimental, con un coeficiente de variación entre el 87.71 y 82.14 % respectivamente. Estos argumentos coinciden con lo reportado por Chiquito-Contreras *et al.* (2019), quienes encontraron que la inoculación mixta entre micorrizas y la bacteria *Stenotrophomonas rhizophila* estimulan los procesos funcionales que intervienen en el crecimiento morfológico de las plantas.

Por su parte, Riahi *et al.* (2020) observaron que las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) mejoraron significativamente los parámetros relacionados con el crecimiento, la biomasa de hojas y raíces en comparación con

el control, en plantas de *Pelargonium graveolens* L'Hér. Además, reportaron un incremento en el peso de la biomasa con la inoculación dual de las rizobacterias en comparación al control, efectos atribuidos a la producción de sideróforos, solubilización de minerales y difusión de sustancias que promueven el crecimiento directo de las plantas.

Área foliar

En el área foliar de estragón hubo diferencias ($p \leq 0,05$) entre los tratamientos evaluados (Figura 2). Los tratamientos *T. harzianum*, *B. subtilis* y la combinación de los tres microorganismos no mostraron diferencias entre sí, de igual manera se comportó *G. cubense* y la coinoculación de *B. subtilis* + *G. cubense*. Sin embargo, se observó una tendencia ascendente del área foliar con la interacción sinérgica entre la coinoculación de *T. harzianum* + *G. cubense* y *T. harzianum* + *B. subtilis* del 83 y 74%, respectivamente, en comparación al control.

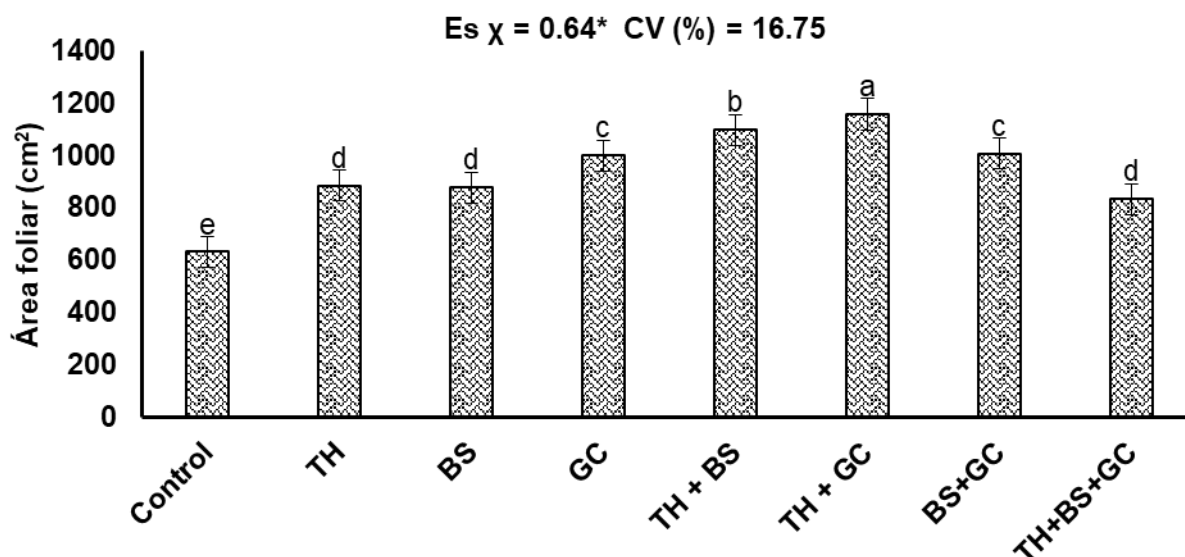


Figura 2. Área foliar de plantas de estragón. TH= *Trichoderma harzianum*; BS= *Bacillus subtilis*; GC= *Glomus cubense*; Es χ = error estándar de la media; CV= Coeficiente de

variación. Las barras indican error estándar. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas según prueba de rangos múltiples de Tukey ($p \leq 0.05$).

Estos resultados indican que se estableció la simbiosis tripartita entre el hongo-bacteria y hospedero, la cual podría influir en la capacidad de las plantas de absorber del suelo agua y macronutrientes como el nitrógeno, fósforo, potasio y microelementos, sumado a la producción de metabolitos que producen los microorganismos (enzimas, compuestos promotores del crecimiento vegetal, ácidos orgánicos, entre otros). En este sentido, Leal-Almanza *et al.* (2018) indican que *Trichoderma* spp y otras especies de hongos benéficos propios de la rizosfera, benefician el desarrollo radical, la producción de ácidos orgánicos y metabolitos secundarios que interactúan en la estimulación del crecimiento vegetal.

Esquivel-Quispe (2020), al evaluar el efecto de diferentes consorcios de hongos micorrícicos arbusculares en especies anuales y perennes, concluyó que el incremento de los indicadores evaluados se debió a los procesos microbiológicos y ecológicos que las micorrizas desarrollaron en el suelo, en simbiosis con la planta huésped, debido a las acciones que ejercen en la descomposición, reciclado y asimilación de nutrientes minerales. Asimismo, Rivera *et al.* (2020) indican que el área foliar de *Pennisetum purpureum* y *Nicotiana tabacum* L. aumentó gracias a los beneficios que los inoculantes micorrícicos ejercen en las plantas micorrizadas expuestas a diferentes condiciones edáficas y ambiente.

En relación a las respuestas contrastantes entre los tratamientos inoculados, pudo deberse a que los microorganismos benéficos no siempre tienen las mismas respuestas en plantas, debido a la funcionalidad y principios de cada uno de ellos con el hospedero y el medio edáfico; sin embargo, cuando son combinados correctamente, son más eficientes en el crecimiento de las plantas (Tian *et al.*, 2020).

Variables morfológicas

Se encontraron diferencias ($p \leq 0,05$) entre las variables morfológicas de las plantas de estragón inoculadas con microorganismos benéficos (Cuadro 2). Para todas las variables, el mejor tratamiento fue la coinoculación de *T. harzianum* + *G. cubense* con un incremento promedio de 25%, seguido de *T. harzianum* + *B. subtilis*, con un aumento de 17% en comparación con los demás tratamientos. *G. cubense* y la combinación de *B. subtilis* + *G. cubense* mostraron una respuesta similar en las variables evaluadas. La aplicación conjunta de los tres biofertilizantes (*T. harzianum*, *B. subtilis* y *G. cubense*) y los tratamientos de *T. harzianum* y *B. subtilis* fueron estadísticamente similares entre ellos. Al mismo tiempo, en todas las variables se reflejó que la aplicación de los microorganismos superó al tratamiento control. En este orden, la estimulación de brotes nuevos, debido a los tres cortes escalonados de tallos comerciales durante el desarrollo del experimento y los beneficios de *T. harzianum* + *G. cubense* y *T. harzianum* + *B. subtilis*, son combinaciones que permiten aumentar en número y calidad comercial los tallos de estragón.

Cuadro 2. Variables morfológicas evaluadas en estragón

Tratamiento	Número de tallos comerciales	Longitud del tallo (cm)	Grosor del tallo (mm)	Largo de hojas mm	Ancho de hojas (mm)
Control	15.88 e	23.27 e	3.69 e	52.85 f	6.39 e
TH	18.14 d	26.96 d	4.32 d	64.92 de	7.34 d
BS	18.20 d	26.48 d	4.21 d	62.43 e	7.26 d
GC	20.45 c	28.81 c	4.65 c	68.00 cd	7.58 c
TH + BS	23.74 b	33.08 b	5.09 b	77.32 b	8.07 b
TH + GC	25.98 a	32.27 a	5.63 a	82.20 a	8.52 a
BS+ GC	20.46 c	28.59 c	4.70 c	69.47 c	7.65 c
TH + BS + GC	18.20 d	26.35 d	4.37 d	63.21 e	7.35 d
Es χ	0.62*	0.47*	0.07*	1.14*	0.38*
CV (%)	15.95	13.05	12.38	13.00	7.92

TH= *Trichoderma harzianum*; BS= *Bacillus subtilis*; GC= *Glomus cubense*; Es χ = error estándar de la media; CV= Coeficiente de variación. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas según prueba de rangos múltiples de Tukey ($p \leq 0.05$).

Estos resultados coinciden con los parámetros ya descritos en las Figuras 1 y 2. La simbiosis que existió entre los inoculantes y el huésped, propiciaron el intercambio de sustancias entre ellos, donde las plantas absorben agua y minerales del suelo captados a través de las estructuras de los microorganismos, mientras que este último obtiene compuestos carbonados producto de la fotosíntesis de las plantas, lo que coincide con Arango *et al.* (2012) quienes indicaron que las plantas aromáticas son beneficiadas con las inoculaciones de los microorganismos benéficos (hongos y bacterias) al incrementar su rendimiento de biomasa aérea y el contenido de aceites esenciales, en comparación con plantas no inoculadas. En contraste, la selección no adecuada de rizobacterias en un cultivo, puede inhibir el crecimiento provocado por la deficiencia o exceso de la concentración de fitohormonas, comportamiento similar con la especificidad entre los hongos benéficos, la planta y el suelo (Rivera *et al.*, 2020).

Los resultados del presente estudio son similares a los reportados por Chiquito-Contreras *et al.* (2019) en plantas de *Ocimum basilicum* L. inoculadas con micorrizas y bacterias, donde encontraron un aumento de todas las variables morfológicas con la combinación de ambos microorganismos comparado con el tratamiento control.

En este contexto, Mohamed *et al.* (2019), en un ensayo realizado en condiciones de invernadero, demostraron el efecto de las inoculaciones únicas o combinadas de micorrizas, *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens* en *Phaesolus vulgaris* L. Estos autores refieren que los tratamientos combinados con los microorganismos resultaron significativos con respecto a los tratamientos individuales para las variables de crecimiento y de componentes del rendimiento; asimismo, la absorción de P y Fe fue estimulada en los tratamientos combinados.

Makarov *et al.* (2020) mencionan que el crecimiento de las plantas inoculadas con biofertilizantes aumenta exponencialmente con respecto a las plantas no inoculadas, independientemente del medio donde se establezcan, debido al aumento de la actividad de las exoenzimas de los microorganismos que estimulan el metabolismo vegetal.

Concentración relativa de clorofila en estragón

La concentración relativa de clorofila en hojas enteras y extendidas de estragón mediante lecturas SPAD (Figura 3) mostró diferencias ($p \leq 0,05$) entre los tratamientos, con un incremento acumulado del 89% en las plantas inoculadas comparada con el control. Se observó un incremento de 69 y 71% con las combinaciones de *T. harzianum* + *G. cubense* y *T. harzianum* + *B. subtilis*, respecto a las inoculaciones simples y la aplicación conjunta de los tres inoculantes. Esto indica la afinidad que existió entre el huésped y la interacción sinérgica entre los hongos benéficos y la bacteria promotora del crecimiento vegetal que al interactuar con *T. harzianum*, estimularon la captación de los macronutrientes esenciales como el nitrógeno y fósforo importantes en el proceso fotosintético de las plantas (Villarreal- Delgado *et al.*, 2018).

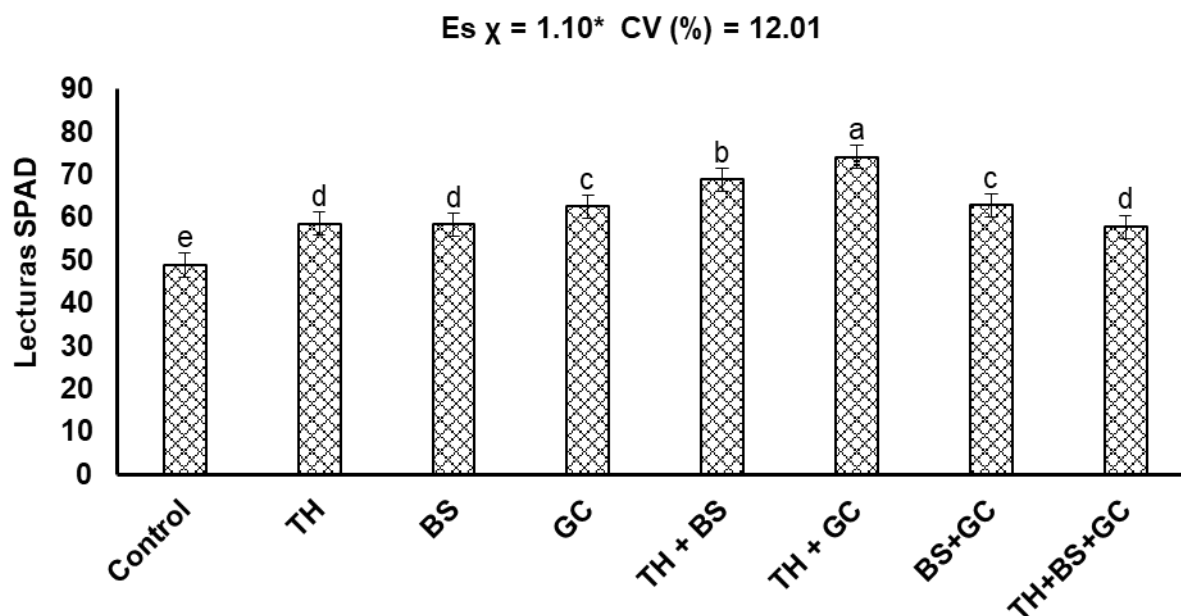


Figura 3. Contenido relativo de clorofila (Lectura SPAD) de las hojas de estragón. TH= *Trichoderma harzianum*; BS= *Bacillus subtilis*; GC= *Glomus cubense*; Es χ = error estándar de la media; CV= Coeficiente de variación. Las barras indican error estándar. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas según prueba de rangos múltiples de Tukey ($p \leq 0.05$).

Las lecturas SPAD en los tratamientos de *G. cubense* y *B. subtilis* + *G. cubense* fue similar entre ellos, pero superior a las inoculaciones simples. Es evidente que los beneficios de los inoculantes biológicos en las plantas de estragón se vieron reflejados en la concentración de clorofila. Estos resultados coinciden con lo reportado por Vafadar *et al.* (2014) quienes en plantas de *Stevia rebaudiana* Bertoni encontraron que la inoculación simple de hongos micorrícicos arbusculares y PGPR, fue superior en todas las variables estudiadas en comparación al control. Tales efectos aumentaron de manera significativa con la mezcla de inoculantes compatibles duales con estrecha sinergia entre ellos. Estos mismos autores descartaron el efecto positivo de las combinaciones triples de los inoculantes en comparación con las duales, debido a la competencia entre los microorganismos que pudo reducir sus efectividades simbióticas.

En relación a lo anterior, Chiquito-Contreras *et al.* (2019) reportaron diferencias significativas en la concentración de clorofila en plantas de albahaca inoculadas con consorcios de micorrizas y PGPR, es decir, esta variable aumenta debido al incremento de la biomasa vegetal promovida por los efectos positivos de la inoculación de hongos benéficos y las bacterias.

Choudhary *et al.* (2019) determinaron que la promoción del crecimiento de las plantas inoculadas con PGPR y HMA, se debe a la sinergia mutualista entre ellos. La síntesis de hormonas producidas por las PGPR, como el ácido indol acético (IAA), citoquinina y giberelinas intervienen en la división, extensión y diferenciación celular. Y, por otro lado, los mecanismos y estructuras de los hongos que penetran en el interior de las células corticales de las raíces actúan como mediadores del intercambio de metabolitos entre el hongo y el citoplasma del huésped.

Parihar *et al.* (2020) refirieron que la simbiosis micorrícica en plantas inoculadas inicia de forma asimbiótica en condiciones favorables como niveles adecuados de humedad del suelo, pH, fertilidad entre otros, sin el requerimiento de la planta huésped; después, se establece la fase presimbiótica entre las estructuras del hongo y las raíces de las plantas de forma sinérgica; y por último, las hifas del hongo penetran intra y extrarradicalmente en la célula epidérmica de la raíz e inicia el proceso simbiótico. En este sentido, las hifas intrarradicales comienzan a moverse en la célula cortical, mientras que el micelio extrarradical se mueve en la zona rizosférica. Estos argumentos explican a grandes rasgos las respuestas encontradas en el estragón sometidas a inoculaciones simples y combinadas con *G. cubense*.

Extracción de macronutrientes

Se observó que la coinoculación de *T. harzianum* + *G. cubense* en plantas de estragón mostraron valores superiores en la extracción de macronutrientes (Cuadro 3), con diferencias ($p \leq 0,05$), seguido por el tratamiento dual de *T. harzianum* + *B. subtilis*. La respuesta encontrada en esta variable coincidió con las descritas anteriormente, con relación a que las plantas de estragón establecieron una relación directa entre las aplicaciones mixtas de los inoculantes (*T. harzianum*, *B. subtilis* y *G. cubense*) a diferencia de las inoculaciones simples y de las combinaciones triples.

Cuadro 3. Extracción de macronutrientes de estragón

	N	P	K	Ca	Mg
Tratamiento	-----kg ha ⁻¹ -----				
	-				
Control	2.13 e	0.33 e	6.59 e	0.73 f	0.34 e
TH	3.79 d	0.59 d	11.71 d	1.31 e	0.57 d
BS	3.51 d	0.56 d	12.88 d	1.26 e	0.54 d
GC	5.51 c	1.13 c	20.97 c	1.90 d	0.56 d
TH +BS	7.44 b	1.25 b	27.27 b	2.91 b	0.87 b

TH + GC	11.69 a	1.91 a	35.40 a	3.82 a	1.05 a
BS+ GC	5.85 c	1.18 c	21.16 c	2.28 c	0.70 c
TH + BS + GC	5.14 c	1.13 c	21.92 c	2.38 c	0.73 c
Es χ	0.33*	0.01*	1.07*	0.05*	0.01*

TH= *Trichoderma harzianum*; BS= *Bacillus subtilis*; GC= *Glomus cubense*; Es χ = error estándar de la media. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas según prueba de rangos múltiples de Tukey ($p \leq 0,05$).

La extracción de N y K fueron superiores al resto de los macronutrientes, dado a que son partes de los elementos esenciales para las plantas y que se requieren en grandes cantidades para el crecimiento y desarrollo de las plantas. A su vez, se encontró que el elemento potasio fue el más extraído por la especie aromática, lo que pudo estar atribuido por su participación en procesos de la fotosíntesis, la respiración, traslocación de fotosintatos, síntesis de proteínas y activación de enzimas claves para varias funciones bioquímicas en las plantas (Delgado-Ospina *et al.*, 2012). También, los microorganismos a través de sus beneficios directos en las plantas, ejercieron efecto sobre las extracciones de los macronutrientes en estragón, lo que concuerda con criterios que los microorganismos también participan en el suministro y extracción de nutrientes por las plantas (Bordoloi y Shukla, 2020).

Estudios realizados por Delgado-Ospina *et al.* (2012), indican que la extracción de macronutrientes puede variar de acuerdo a las especies y a las fases fenológicas del cultivo. En este orden, reportaron el K como elemento de mayor requerimiento de extracción foliar y con menores demandas el P y Mg en plantas de *Lippia organoides* H.B.K cultivadas en invernadero.

En relación al uso de la solución Steiner al 50% en plantas aromáticas, se ha reportado incremento de la biomasa vegetal, así como en la concentración y extracción de nutrientes acumulados a través del tiempo en *Coriandrum sativum* L. y de *Organum vulgare* L. en la secuencia K>N>P (Cruz-Crespo *et al.*, 2017; Juárez-

Rosete *et al.*, 2019); estos aspectos están relacionados con los resultados obtenidos, independientemente de la acción de los bioinoculantes aplicados.

Borba *et al.* (2021) encontraron en plantas de *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extracciones de K y N superiores al resto de los macros y micronutrientes en el tejido foliar de las plantas, y atribuyen estos resultados a la disponibilidad en la solución del suelo y la capacidad de las plantas de absorber en mayor proporción estos elementos.

CONCLUSIONES

Se obtuvo un incremento de 66% en el crecimiento de las plantas de estragón con la coinoculación de *Trichoderma harzianum* + *Glomus cubense* comparado con el control y 53% con respecto a los demás tratamientos. Además, hubo un incremento de 57% en el crecimiento de las plantas con la combinación de *T. harzianum* + *B. subtilis* en comparación con el control y un aumento de 33% con el resto de los tratamientos. Todo lo anterior se ha reflejado en un incremento de biomasa fresca y seca, del área foliar, de los parámetros morfológicos, concentración relativa de clorofila y extracción de macronutrientes. El empleo de la coinoculación de microorganismos biológicos *T. harzianum* + *G. cubense* y *T. harzianum* + *B. subtilis* puede ser una alternativa para el manejo orgánico y sostenible en la producción de estragón cultivado en invernadero.

REFERENCIAS

Alcántar GG, Sandoval V M (1999). Manual de Análisis Químico de Tejido Vegetal. Guía de Muestreo, Preparación, Análisis e Interpretación. Publicación especial Núm. 10. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A. C. Chapingo, México. 155 pp.

- Álvarez M, Tucta F, Quispe E, Meza V (2018). Incidence of the inoculation of beneficial microorganisms in the strawberry (*Fragaria* sp.) crop. *Scientia Agropecuaria* 9(1): 33-42. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2018.01.04>
- Arango MC, Ruscitti M F, Ronco MG, Beltrano J (2012). Mycorrhizal fungi inoculation and phosphorus fertilizer on growth, essential oil production and nutrient uptake in peppermint (*Mentha piperita* L.). *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s 14(4): 692-699. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722012000400018>
- Balick MJ, Elisabetsky E, Laird SA (1996). *Medicinal Resources of the Tropical Forest: Biodiversity and Its Importance to Human Health*. Columbia University Press, NewYork. 440 pp.
- Borba ER de C, Mubárack TC, Luz TRSA, Silveira DPB, Silva AZ, Figueiredo P de MS, Monteiro O dos S, Fernandes YML, Paula ML, Vilanova CM, Coutinho DF (2021). Características nutricionais do solo e das folhas no cultivo de *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. *Research, Society and Development* 10(1): e30810111715. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i1.11715>
- Bordoloi A, Shukla AK (2020). Effect of Mycorrhizal Application on Plant Growth and Nutrient Uptake of *Piper mullesua* Plantlets under Sterilized, Unsterilized and Field Soil Condition. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 9(5): 2948-2960. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.905.338>
- Chiquito-Contreras RG, Solís-Palacios R, Reyes-Pérez JJ, Reyes J, Murillo-Amador B, Alejandro-Rosas J, Hernández-Montiel LG (2019). Promoción del crecimiento de plantas de albahaca utilizando hongos micorrícicos arbusculares y una bacteria marina. *Acta Universitaria* 28(6): 68-76. <https://doi.org/10.15174/au.2018.2086>
- Chiquito-Contreras RG, Reyes-Pérez JJ, Chiquito-Contreras CJ, Vidal-Hernández L, Hernández-Montiel LG (2020). Efecto de rizobacterias y dosis reducidas de fertilizantes sintéticos sobre la expresión morfo-productiva de tomate en

- invernadero. Información Técnica Económica Agraria 116(1): 19-29.
<https://doi.org/10.12706/itea.2019.015>
- Choudhary M, Meena, VS, Yadav RP, Parihar M, Pattanayak A, Panday SC, Mishra PK, Bisht JK, Yadav MR, Nogia M, Samal SK, Ghasal PC, Choudhary J, Choudhary M (2019). Does PGPR and Mycorrhizae Enhance Nutrient Use Efficiency and Efficacy in Relation to Crop Productivity? En D. K. Maheshwari y S. Dheeman (Eds.), Field Crops: Sustainable Management by PGPR (pp. 45-68). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-30926-8_3
- CONAGUA (2018). Estadísticas Agrícolas de las Unidades de Riego. Año agrícola 2016–2017. (Edición 2018; p. 925). Comisión Nacional del Agua. México. Disponible en: <https://files.conagua.gob.mx/conagua/publicaciones/Publicaciones/SGIH-3-18.pdf> (Consultado: 11 noviembre 2020).
- CONAGUA (2019). Estadísticas Agrícolas de las Unidades de Riego. Año agrícola 2017–2018. (N.º 2019; p. 902). Comisión Nacional del Agua. México. Disponible en: https://files.conagua.gob.mx/conagua/publicaciones/Publicaciones/EAUR_2017-2018.pdf (Consultado: 22 noviembre 2020).
- Cruz-Crespo E, Can Chulim Á, Loera Rosales LJ, Aguilar Benítez G, Pineda Pineda J, Bugarín Montoya R, Cruz Crespo E, Can Chulim Á, Loera Rosales LJ, Aguilar Benítez G, Pineda Pineda J, Bugarín Montoya R (2017). Extracción de N-P-K en *Coriandrum sativum* ‘Pakistan’ en hidroponia. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 8(2): 355-367.
<https://doi.org/10.29312/remexca.v8i2.56>
- Delgado-Ospina J, Menjivar-Flores JC, Bonilla-Correa CR (2012). Effect of fertilization on dry matter production and extraction of nutrients in three accessions of *Lippia origanoides* H.B.K. Acta Agronómica 61(4): 302-308.
- Eke P, Chatue Chatue G, Wakam LN, Kouipou RMT, Fokou PVT, Boyom, FF (2016). Mycorrhiza consortia suppress the fusarium root rot (*Fusarium solani*

- f. Sp. *Phaseoli*) in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Biological Control 103: 240-250. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.10.001>
- Espinoza JAV, Ruíz SEB, García MA (2013). Guía de cultivo de tarragón francés. Edit. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, Baja California sur, México. 30 p. Disponible en: <https://docplayer.es/storage/39/18991672/18991672.pdf> (Consultado: 18 octubre 2020).
- Esquivel-Quispe R (2020). Propagación de hongos micorrizógenos arbusculares nativos y su influencia en la producción de maíz amiláceo en Paquecc-Ayacucho. Segunda parte: Hacia una agricultura sostenible. J. Selva Andina Biosph 8(1): 53-63. <https://doi.org/doi.org/10.36610/j.jsab.2020.080100053>
- Farnsworth NR, Soejarto DD (1991). Global importance of medicinal plants. In: Akerele O, Heywood V, Syngé H. (Eds.), The Conservation of Medicinal Plants. Cambridge University Press, Cambridge, U.K. 25–51pp.
- Fernández F, Gómez R, Vanegas LF, Martínez MA, de la Noval BM, Rivera R (2000). Producto inoculante micorrizógeno. Oficina Nacional de Propiedad Industrial. (Patent N.º 22641). La Habana, Cuba.
- Hernández-Melchor DJ, Ferrera-Cerrato R, Alarcón A (2019a). Review *Trichoderma*: Agricultural and biotechnological importance. Agrociencia 35(1): 98-112. <https://doi.org/dx.doi.org/10.4067/S0719-3890201900500020>
- Hernández-Melchor DJ, Ferrera-Cerrato R, Alarcón, A (2019b). *Trichoderma*: Importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences 35(1): 98-112. <https://doi.org/10.4067/S0719-38902019005000205>
- Katan J, Gamliel A (2012). Soil solarization for the management of solborne pests: the challenges, historical perspective, and principles. In: Soil Solarización: Theory and Practice. Gamliel A, Katan J. The American Phytopathological Society. St Paul Minnesota. Chapter 5. USA, 45-52 pp.
- Juárez-Rosete C, Aguilar-Castillo J, Juárez-Rosete M, Bugarín-Montoya R, Juárez-López P, Ruz Crespo E (2013). Hierbas aromáticas y medicinales en México:

- Tradición e innovación. Revista Bio Ciencias 2(3): 119-129.
<https://doi.org/doi.org/10.15741/revbio.02.03.06>
- Juárez-Rosete C R, Aguilar-Castillo JA, Aburto-González CA, Alejo-Santiago G (2019). Biomass production, nutritional requirement of nitrogen, phosphorus and potassium, and concentration of the nutrient solution in oregano. Revista Chapingo. Serie Horticultura 25(1):17-28.
<https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2018.02.006>
- Leal-Almanza J, Gutiérrez-Coronado MA, Castro-Espinoza L, Lares-Villa F, Cortes-Jiménez, JM, Santos-Villalobos S (2018). Microorganismos promotores de crecimiento vegetal con yeso agrícola en papa (*Solanum tuberosum* L.) bajo casa sombra. Agrociencia: 52(8): 1149-1159.
- Makarov MI, Malysheva TI, Kadulin MS, Verkhovtseva NV, Sabirova RV, Lifanova VO, Zhuravleva AI, Karpukhin MM (2020). The Effect of Ericoid Mycorrhizal and Ectomycorrhizal Plants on Soil Properties of Grass Meadow in Tundra of the Khibiny Mountains. Eurasian Soil Science 53(5): 569-579.
<https://doi.org/10.1134/S1064229320050087>
- Mohamed I, Eid KE, Abbas MHH, Salem AA, Ahmed N, Ali M, Shah GM, Fang C (2019). Use of plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR) and mycorrhizae to improve the growth and nutrient utilization of common bean in a soil infected with white rot fungi. Ecotoxicology and Environmental Safety 171: 539-548. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.12.100>
- Niazian M, Sadat-Noori SA, Tohidfar M, Galuszka P, Mortazavian SMM (2019). *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of ajowan (*Trachyspermum ammi* L.) Sprague): An important industrial medicinal plant. Industrial Crops and Products 132: 29-40. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.02.005>
- Parihar M, Chitara M, Khatri P, Kumari A, Mishra PK, Rakshit A, Rana K, Meena VS, Singh AK, Choudhary M, Bisht JK, Ram H, Pattanayak A, Tiwari G, Jatav SS (2020). Arbuscular Mycorrhizal Fungi: Abundance, Interaction with Plants and Potential Biological Applications. En A. N. Yadav, A. A. Rastegari, N. Yadav, y D. Kour (Eds.), Advances in Plant Microbiome and Sustainable

- Agriculture: Diversity and Biotechnological Applications (pp. 105-143). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-15-3208-5_5
- Ramírez Monsalve M, Cortes Rodríguez M, Hincapié Llanos CA (2019). Optimization of the process of freeze-drying and comparison with convective drying of Russian tarragon (*Artemisia dracuncululus* L.). Acta Agronómica 68(3): 167-174. <https://doi.org/10.15446/acag.v68n3.75296>
- Riahi L, Cherif H, Miladi S, Neifar M, Bejaoui B, Chouchane H, Masmoudi AS, Cherif A (2020). Use of plant growth promoting bacteria as an efficient biotechnological tool to enhance the biomass and secondary metabolites production of the industrial crop *Pelargonium graveolens* L'Hér. Under semi-controlled conditions. Industrial Crops and Products 154: 112721. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112721>
- Rivera RA, Martin GM, Simó JE, Pentón G, Garcia-Rubido M, Ramirez JF, Gonzalez PJ, Joao JP, Ojeda L, Tamayo-Aguilar Y, Bustamante C (2020). Benefits of joint management of green manure and mycorrhizal inoculants in crop production. Tropical and Subtropical Agroecosystems 23(3): 1-18.
- Steiner A A (1984). The universal nutrient solution. In 6. International Congress on Soilless Culture, Lunteren (Netherlands), 29 Apr-5 May 1984. ISOSC.633-650 pp.
- Tamayo-Aguilar Y, Juarez-Lopez P, Capdevila-Bueno W, Lescaille-Acosta J, Terry-Alfonso E (2020). Bioproductos en el crecimiento y rendimiento de *Phaseolus vulgaris* L. var. Delicia 364. Revista Terra Latinoamericana 38(3): 667-678. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i3.672>
- Tian L, Lin X, Tian J, Ji L, Chen Y, Tran L, Tian C (2020). Research Advances of Beneficial Microbiota Associated with Crop Plants. International journal of molecular sciences 21(1792): 2-18. <https://doi.org/10.3390/ijms21051792>
- Vafadar F, Amooaghaie R, Otrushy M (2014). Effects of plant-growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungus on plant growth, stevioside, NPK, and chlorophyll content of *Stevia rebaudiana*. Journal of Plant Interactions 9(1): 128-136. <https://doi.org/10.1080/17429145.2013.779035>

- Villarreal-Delgado MF, Villa-Rodríguez ED, Cira-Chávez LA, Estrada-Alvarado MI, Parra-Cota FI, De los Santos-Villalobos S (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista Mexicana de Fitopatología* 36(1): 95–130. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1706-5>
- Zengin G, Mollica A, Aumeeruddy MZ, Rengasamy KRR, Mahomoodally MF (2018). Phenolic profile and pharmacological propensities of *Gynandris sisyrinchium* through in vitro and in silico perspectives. *Industrial Crops and Products* 121: 328-337. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.05.027>

CAPITULO III

BIOINOCULANTES EN EL CRECIMIENTO DE LECHUGA (*Lactuca sativa* L.) EN CONDICIONES DE INVERNADERO

Bioinoculants in the growth of Lettuce (*Lactuca sativa* L.) Under greenhouse conditions

RESUMEN

La lechuga (*Lactuca sativa* L.) es una de las principales hortalizas de hoja de mayor consumo que se cultivan en México durante todo el año. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de bioinoculantes (*Trichoderma harzianum*, *Glomus cubense* y *Bacillus subtilis*) en el crecimiento de lechuga en condiciones de invernadero. Se utilizó un diseño completamente al azar con 8 tratamientos y 6 repeticiones. Los tratamientos fueron: 1) Control (sin inoculaciones), 2) *Trichoderma harzianum*, 3) *Bacillus subtilis*, 4) *Glomus cubense*, 5) *Trichoderma harzianum* + *Bacillus subtilis*, 6) *Trichoderma harzianum* + *Glomus cubense*, 7) *Bacillus subtilis* + *Glomus cubense*, 8) *Trichoderma harzianum* + *Bacillus subtilis* + *Glomus cubense*. En el momento de la cosecha se evaluó: altura de planta, área foliar, biomasa fresca y seca de las hojas, lecturas SPAD, volumen radical, actividad microbiana y frecuencia micorrícica. Las plantas de lechuga tuvieron un aumento de 56 % en el crecimiento con la aplicación de bioinoculantes (*Trichoderma harzianum*, *Glomus cubense* y *Bacillus subtilis*) con respecto al control. De manera individual se obtuvo un incremento de 82% en el crecimiento con la combinación de *Trichoderma harzianum* + *Glomus cubense* comparado con el control y 18% con el resto de los tratamientos bioinoculados. En general, la aplicación de los bioinoculantes es una alternativa para mejorar el crecimiento de la lechuga en condiciones de invernadero.

Palabras clave: *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, *Glomus cubense*, bioinoculantes, hortalizas

SUMMARY

Lettuce (*Lactuca sativa* L.) is one of the most consumed leafy vegetables grown in Mexico throughout the year. The objective of this work was to evaluate the effect of bioinoculants (*Trichoderma harzianum*, *Glomus cubense* and *Bacillus subtilis*) on lettuce growth under greenhouse conditions. A completely randomized design with 8 treatments and 6 replicates was used. The treatments were: 1) Control (without inoculations), 2) *Trichoderma harzianum*, 3) *Bacillus subtilis*, 4) *Glomus cubense*, 5) *Trichoderma harzianum* + *Bacillus subtilis*, 6) *Trichoderma harzianum* + *Glomus cubense*, 7) *Bacillus subtilis* + *Glomus cubense*, 8) *Trichoderma harzianum* + *Bacillus subtilis* + *Glomus cubense*. At harvest, the following were evaluated: plant height, leaf area, fresh and dry leaf biomass, SPAD readings, root volume, microbial activity and mycorrhizal frequency. Lettuce plants had a 56% increase in growth with the application of bioinoculants (*Trichoderma harzianum*, *Glomus cubense* and *Bacillus subtilis*) with respect to the control. Individually, an increase of 82% in growth was obtained with the combination of *Trichoderma harzianum* + *Glomus cubense* compared to the control and 18% with the rest of the bioinoculated treatments. In general, the application of bioinoculants is an alternative to improve lettuce growth under greenhouse conditions.

KEYWORDS: *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, *Glomus cubense*, bioinoculants, vegetables.

INTRODUCCIÓN

En el sector hortícola se han reportado incrementos en superficie, producción y comercio mundial de hortalizas, tanto en volumen como en valor, debido al aumento del consumo per cápita de algunas especies. En los últimos años la superficie hortícola mundial ha registrado una tasa anual de crecimiento de 1.5%

con 62 millones de hectáreas y una producción de 1,206 millones de toneladas producidas en el mundo (Muñoz-Villagrán, 2020).

Los principales países productores de hortalizas son: China con 51.5% de la producción mundial y 14% de exportación, India con 10.7% y EE. UU, con una participación de 2.8% de la producción mundial, sin embargo, es el principal importador con 17%. En Latinoamérica, México ocupa el primer lugar con 10.29% de exportación y una tasa de crecimiento promedio anual de 6.5% (Muñoz-Villagrán, 2020; Sánchez-Gómez *et al.*, 2019).

En México existe una gran diversidad ecológica, climática y de suelos, características que favorecen el incremento de 2.5% de la superficie cosechada en especies hortícolas y de sus exportaciones con un valor de producción de 13.1% (Cedillo-Portugal y Anaya-Rosales, 2018).

La lechuga (*Lactuca sativa* L.) es una de las principales hortalizas de hoja de mayor consumo que se cultivan en México durante todo el año (Lara-Izaguirre *et al.*, 2019), con una superficie sembrada de 21,022.3 ha y una producción de 86,439.9 t, con un incremento en los últimos tres años de 11.7%, ubicándose en el noveno lugar con 486,440.0 t en el mercado internacional (SEDRSSA, 2020; SIAP, 2019).

Actualmente, se requieren de innovaciones tecnológicas que puedan garantizar una producción agrícola de calidad y basadas en las consideraciones de los factores bióticos y abióticos en el agroecosistema. En este sentido, una de las principales alternativas en el contexto agrícola, es el uso de los bioinoculantes, algunos de ellos son *Glomus cubense*, *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis*, que a través de sus interacciones simbióticas y sus efectos benéficos en la promoción del crecimiento vegetal, originan cambios sustanciales tanto en el crecimiento de las plantas como en el suelo, en algunos casos actúan de manera antagónica en la interacción planta-suelo-microbio (Leal-Almanza *et al.*, 2018; Esquivel-Quispe, 2020; Ali *et al.*, 2021).

Por tanto, la integración de *Glomus cubense*, *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* dentro el manejo orgánico de cultivos de exportación en México como la lechuga, podría ser una alternativa viable para incrementar el crecimiento y la producción por unidad de superficie. Con base a lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de bioinoculantes en el crecimiento de lechuga (*Lactuca sativa* L.) en condiciones de invernadero.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en un invernadero tipo túnel con cubierta plástica de color blanquecino con 30% de sombreo y con malla antiáfidos en las paredes laterales, ubicado en la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, en México (18° 58' 51" LN, 99° 13' 55" LO), a una altitud de 1,866 msnm. Durante la etapa experimental, se registraron los datos climáticos con un registrador de datos ambientales (Hobo®, modelo MX2301A); la temperatura promedio fue de 20.0 °C y 77.3% de humedad relativa, respectivamente.

Siembra y aplicación de los bioinoculantes

La siembra directa de lechuga romana cv. 'Tinajero' se realizó el 21 de mayo 2021, en macetas de plástico de 20.3 cm que contenían 2.8 kg de suelo agrícola y una capa superficial de 50 g de sustrato Sunshine Mix #3 esterilizado previamente en autoclave (AESAS® Modelo 250, México) para favorecer la germinación de las semillas. En el experimento se utilizó un suelo con textura franco arenoso, con las siguientes características químicas: 7.46 de pH; CIC baja de 6.2 mEq 100 g⁻¹; contenido normal de materia orgánica de 2.3%, CE de 0.7 dS m⁻¹, nitrógeno total 0.4%, fósforo disponible (Bray-Kurtz) 16.6 ppm; contenidos altos: 3.2, 44.8 y 11.2 cmol kg⁻¹ de K, Ca y Na; presencia baja de 12.8 cmol kg⁻¹ de Mg y normales: 0.01, 0.04, 0.03 y 0.39 cmol kg⁻¹ de Cu, Mn, Zn y B, respectivamente. El suelo se esterilizó mediante solarización (Katan and Gamliel, 2012), para esto, se cubrió con plástico transparente y se expuso a la luz solar durante 45 días.

En el momento de la siembra se aplicó de fondo 5 g por maceta del inoculante micorrízico *Glomus cubense* (Rivera *et al.*, 2020), con 70 esporas por g de inoculante y 50 % de colonización radical y libre de patógenos, obtenidas a través del Consejo Estatal de Fertilizantes Orgánicos (CEFO) ubicado en el estado de Oaxaca, México. La inoculación con las especies *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* donadas por la Universidad Tecnológica del Sur del Estado de Morelos (UTSEM), se realizó en drench, las cepas previo a la inoculación se conservaron en medios de cultivos PDA y agar nutriente a una temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$; se realizaron las aplicaciones 10 días después de la emergencia, a concentración de 1×10^5 esporas por mL y 1×10^5 bacterias por mL preparada en agua destilada estéril en un vaso de precipitado de 1000 mL, posteriormente se aplicó con un spray modelo Batlle 730061UNID de 1000 mL que garantizó la uniformidad de la aplicación en todas las plantas.

Suministro del riego y nutrición mineral

A cada maceta se suministró 1 L de la solución nutritiva de Steiner al 50 % de concentración, cada tres días. La solución se preparó a partir de fertilizantes comerciales solubles: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, KNO_3 , MgSO_4 , K_2SO_4 y KH_2PO_4 (Steiner, 1984). El pH de la solución nutritiva se ajustó entre 5.5 y 5.7 con ácido sulfúrico al 95%. Como fuente de micronutrientes se utilizó ultrasol Micro Mix, SQM® a dosis de 40 g por m^3 de solución nutritiva.

Diseño experimental y tratamientos

Se emplearon tres bioinoculantes: *Trichoderma harzianum* (TH), *Bacillus subtilis* (BS) y *Glomus cubense* (GC). Se utilizó un diseño completamente al azar con 8 tratamientos y seis repeticiones distribuidas como se muestra en el Cuadro 1. La unidad experimental fue una maceta que contenía una planta de lechuga.

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos

Tratamiento	Concentración de los inóculos
Control	Sin inoculaciones
TH	1×10^5 UFC mL ⁻¹
BS	1×10^5 UFC mL ⁻¹
GC	70 esporas g ⁻¹ de suelo
TH + BS	1×10^5 UFC mL ⁻¹ + 1×10^5 UFC mL ⁻¹
TH + GC	1×10^5 UFC mL ⁻¹ + 70 esporas g ⁻¹ de suelo
BS+ GC	1×10^5 UFC mL ⁻¹ + 70 esporas g ⁻¹ de suelo
TH + BS + GC	1×10^5 UFC mL ⁻¹ + 1×10^5 UFC mL ⁻¹ + 70 esporas g ⁻¹ de suelo

UFC= Unidad formadora de colonias. TH=*Trichoderma harzianum*, BS=*Bacillus subtilis*, GC=*Glomus cubense*.

Cosecha y variables evaluadas en lechuga

En el momento de la cosecha (50 días después de la siembra directa) se evaluaron las siguientes variables: La altura de las plantas se determinó con una regla graduada en mm, la medición se realizó desde la base de las hojas hasta el ápice. La concentración relativa de clorofila (lecturas SPAD) se determinó con un equipo portátil SPAD (Minolta® Modelo 502 Plus, Japón) en hojas maduras y extendidas. El área foliar se determinó en todas las hojas, siendo colocadas en un medidor de área foliar (LI-COR® Modelo LI-3100C, USA). El peso de biomasa fresca y seca de las hojas, se obtuvieron con una balanza digital (OHAUS® Modelo Scout Pro SP401, USA) con sensibilidad de ± 0.01 g de precisión. Una vez obtenido el peso fresco se colocaron las hojas en bolsas de papel estraza, en una estufa con circulación de aire forzado (Luzeren® Modelo DHG9070A, China) a 60 °C, durante tres días, para obtener el peso seco.

Al finalizar la cosecha se extrajeron las raíces de lechuga por maceta, se lavaron con agua corriente y luego con agua destilada hasta quedar libres de suelo. A continuación, se evaluó el volumen del sistema radical (cm³ planta⁻¹) por el método de desplazamiento

de agua, utilizando un vaso de precipitado de 1000 mL con una precisión de ± 1.0 mL (Quiñones-Aguilar *et al.*, 2012; Limede *et al.*, 2018).

Posteriormente de la extracción de las plantas de lechuga, se tomaron muestras compuestas en cada unidad experimental y en ellas se determinaron las unidades formadoras de colonias (UFC) de la población microbiana presentes de bacterias, hongos y actinomicetos mediante la técnica de aislamiento y recuento por diluciones cuantitativas (Novo Sordo, 2009; Madigan *et al.*, 2015).

Como variable respuesta de la micorrización de *G. cubense* en plantas de lechuga se consideró la frecuencia micorrícica (%) evaluada a partir de estructuras fúngicas (hifas, vesículas y arbuscúlos) observadas en las raíces (Figura 1), las cuales previamente fueron fijadas en FAA (formaldehído: ácido acético: etanol 2:1:10:7). Posteriormente, las raíces fueron clareadas y teñidas (Phillips y Hayman, 1970); después, se evaluó la frecuencia micorrícica en 30 segmentos de raíz de 1 cm de tamaño (McGonigle *et al.*, 1990; Muñoz-Márquez *et al.*, 2009).

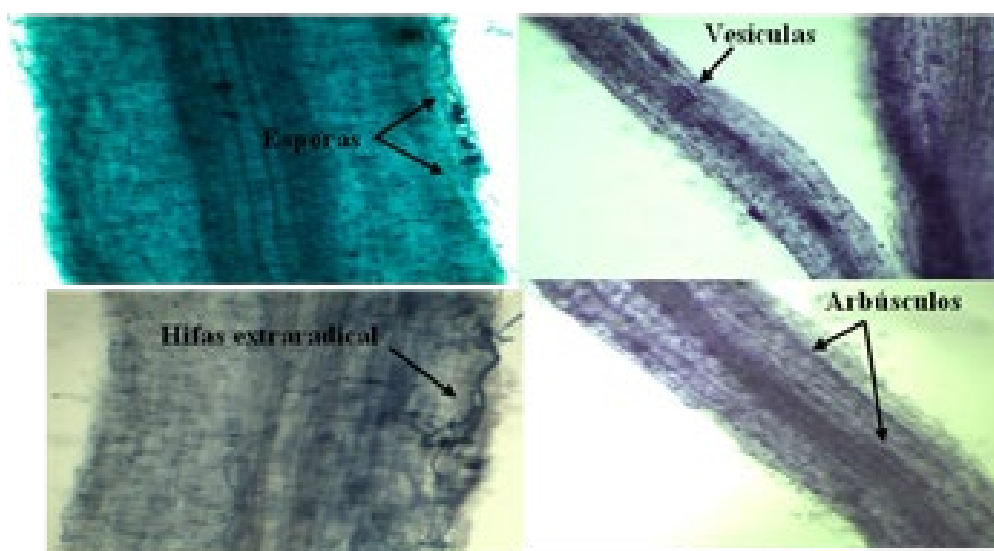


Figura 1. Imágenes microscópicas que ilustran las estructuras micorrícicas observadas en los fragmentos teñidos de raíces de lechuga coinoculadas.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de clasificación simple, y comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($p \leq 0.01$). Además, se realizó un análisis de correlación de Pearson para conocer si existió relación entre variables de crecimiento, lecturas SPAD, estructuras micorrícicas y población microbiana en la rizosfera en plantas de lechuga, reportando las correlaciones significativas ($P \leq 0.01$). En ambos análisis estadísticos se utilizó el software estadístico IBM SPSS® Statistics para Windows vs 25 (IBM Corp, Armonk, Nueva York, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Altura de planta

Se observaron diferencias significativas ($p \leq 0.01$) entre los tratamientos en altura de planta (Figura 2). La coinoculación TH+GC aumentó la altura de planta en 27% en comparación con el control, las inoculaciones individuales (TH, BS y GC) y los tres bioinoculantes combinados (TH+ BS+GC). Asimismo, las inoculaciones combinadas TH+BS y BS+GC aumentaron 30 y 29% la altura de planta en comparación con el control, sin embargo, no mostraron diferencias entre ellos. También, se comprobó un efecto similar entre los tratamientos GC y TH+BS+GC, pero sí difieren con las inoculaciones de TH y BS, respectivamente.

Se ha reportado que en condiciones de invernadero las combinaciones de los microorganismos benéficos a través de las asociaciones simbióticas producen diversos cambios y/o modificaciones a nivel fisiológico y morfológico reflejados en el crecimiento de las plantas (Del Aguila *et al.*, 2018; Tamayo-Aguilar *et al.*, 2021).

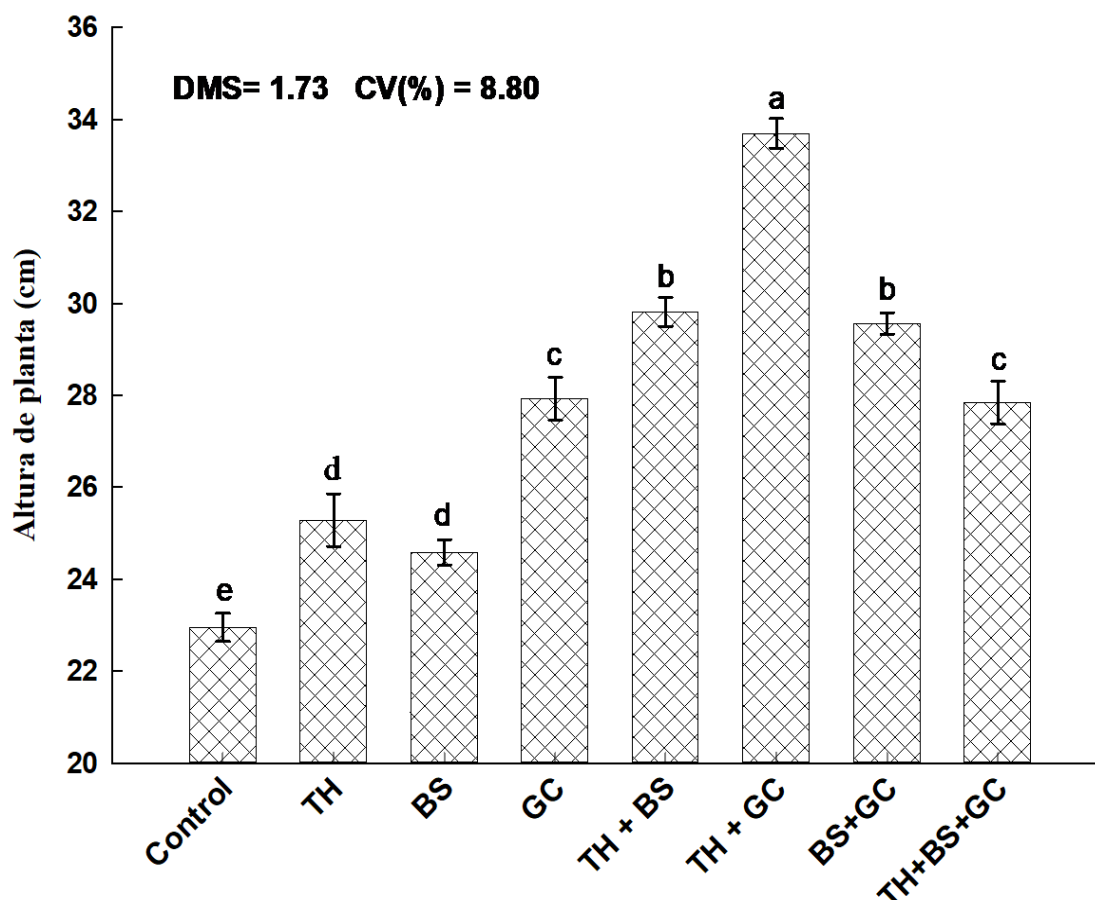


Figura 2. Altura de planta en lechuga. TH = *Trichoderma harzianum*; BS = *Bacillus subtilis*; GC = *Glomus cubense*; DMS= Diferencia mínima significativa; CV = Coeficiente de variación. Las barras indican error estándar. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas según prueba de rangos múltiples de Tukey ($p \leq 0.01$).

Los resultados obtenidos coinciden con los descritos por Kakabouki *et al.* (2021) quienes obtuvieron en *Cannabis sativa* L inoculadas con hongos micorrícicos arbúsculares (HMA) aumentos en altura, peso fresco y seco de la biomasa con aplicación de *Trichoderma harzianum* a los 10 y 30 días después de la siembra. Igualmente, la respuesta observada en los tratamientos con inoculaciones simples de BS y GC son similares a los obtenidos por Angulo-Castro *et al.* (2021) al encontrar diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las inoculaciones únicas de rizobacterias y HMA en *Capsicum annuum* L. con incrementos en altura de planta

(7.8%) y el número de hojas (14.2%), respectivamente en comparación con el tratamiento control.

Luziatelli *et al.* (2019) reportan efectos superiores en altura y biomasa de los brotes de lechuga bioinoculadas con bioproductos, además mencionan que estos inciden en el aumento del microbiota vegetal que actúan sinérgicamente con los compuestos orgánicos para mejorar el crecimiento y la productividad de las plantas. Lo anterior coincide con lo reportado por Vetrano *et al.* (2020) quienes observaron incremento en altura y acumulación de biomasa en lechuga inoculadas con bioestimulantes bacterianos.

Por otra parte, Ma *et al.* (2022) encontraron interacciones positivas de enmiendas de biocarbón con inoculantes microbianos, asociadas con efectos beneficiosos sobre el crecimiento de la lechuga y la actividad biológica del suelo en la rizosfera de las plantas. Otros estudios refieren que las plantas de lechuga pueden aumentar hasta el 18.87% en grosor del tallo y número de hojas con inoculaciones microbianas (Martínez-Cano *et al.*, 2022).

Variables de crecimiento y lectura SPAD

Hubo diferencias significativas ($p \leq 0.01$) entre los tratamientos en las variables evaluadas (Cuadro 2). Se evidencia una tendencia gradual en todas las variables de crecimiento y lecturas SPAD con la coinoculación de TH + GC con incremento de 42% con respecto al control. Por el contrario, TH+BS y BS+GC mostraron respuestas similares en todas las variables antes mencionadas. Asimismo, la aplicación de TH + BS + GC y GC no fueron significativamente diferentes. Por otra parte, se observaron diferencias entre las inoculaciones simples de TH y BS, con excepción de la biomasa seca. Al respecto, las variables de crecimiento y lecturas SPAD se vieron favorecidas tanto con las inoculaciones simples o combinadas de los bioinoculantes en comparación con el control. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Nikolaidou *et al.* (2021) quienes observaron que las plantas de

lechugas coinoculadas con *Rhizophagus irregularis* y *Bacillus subtilis* presentaron biomasa más alta que el control, mientras que las inoculaciones únicas de *B. subtilis* y *R. irregularis* también reflejaron un efecto superior en el crecimiento de las plantas en comparación con el control. En contraste, Miceli *et al.* (2021) reportaron aumento en el crecimiento de lechuga inoculadas con *B. subtilis* y con *G. cubense* en 15.7% y 21.9%, respectivamente en comparación con el control, siendo estos valores inferiores a los encontrados en la presente investigación.

Si bien se conoce, que las inoculaciones de microorganismos benéficos pueden alterar la estructura de la comunidad microbiana en el suelo para aumentar la resistencia a enfermedades en las plantas y la absorción de nutrientes específicos (Kumar and Dubey, 2020); entonces es probable que los resultados obtenidos pudieran estar relacionado con una interacción mutualista entre las plantas y los bioinoculantes aplicados que promovieron el crecimiento vegetal (Abdul Rahman *et al.*, 2021).

Cuadro 2. Variables de crecimiento y lecturas SPAD en lechuga

Tratamiento	Área foliar	Biomasa fresca	Biomasa seca	Lecturas SPAD
	(cm ²)	-----g planta ⁻¹ -----		
Control	756.67 f	55.26 f	2.98 e	34.46 e
TH	1097.1 d	79.1 d	4.26 d	42.75 c
BS	934.33 e	68.4 e	3.9 d	39.65 d
GC	1291.97 c	92.01 c	5.33 c	44.86 c
TH +BS	1450.96 b	107.5 b	6.2 b	47.25 b
TH + GC	1600.61 a	117.01a	7.63 a	50.0 a
BS+ GC	1418.98 b	107.55 b	6.41 b	47.83 b
TH + BS + GC	1275.76 c	92.51 c	5.78 bc	43.55 c
DMS	97.47	6.98	0.82	2.25
CV (%)	12.03	12.74	16.46	6.45

TH= *Trichoderma harzianum*; BS= *Bacillus subtilis*; GC = *Glomus cubense*; DMS= Diferencia mínima significativa; CV= Coeficiente de variación. Letras distintas en la misma

columna indican diferencias significativas según prueba de rangos múltiples de Tukey ($p \leq 0.01$).

Otros estudios refieren que la lechuga cultivada en ausencia de nitrógeno puede obtener peso fresco y seco de 67 y 16%, respectivamente cuando son inoculadas con microorganismos benéficos; igualmente, se registran valores más altos del índice SPAD con la combinación de bioinoculantes (Azarmi-Atajan and Sayyari-Zohan, 2020).

Al respecto, se puede considerar que la promoción obtenida de las variables de crecimiento y lecturas SPAD estén determinadas por las acciones benéficas de los microorganismos en la rizosfera de las plantas; lo que concuerda con Miceli *et al.* (2021) al demostrar que los bioestimulantes pueden modificar el crecimiento de las plántulas de lechugas aumentando la acumulación de biomasa fresca y seca, el número de hojas y el área foliar.

Sani and Yong (2022) refieren que las especies de *Trichoderma* estimulan la biosíntesis de varias hormonas que intervienen en el crecimiento de las plantas, lo que coincide con lo reportado por Lima *et al.* (2022) quienes obtuvieron incremento superiores de 44% en variables de crecimiento en lechuga inoculadas con especies de *Trichoderma*. De igual manera, Ma *et al.* (2022) observó a los 30 días después de la siembra de lechuga en macetas plásticas en condiciones de invernadero, un aumento de la biomasa seca en los tratamientos coinoculados con *Klebsiella* sp. BS13+*Talaromyces calidicanus* RS10bPP en comparación con las plantas no inoculadas. Sin embargo, Martínez-Cano *et al.* (2022) mencionan no haber encontrado diferencia significativas ($p \leq 0.05$) para el contenido de clorofila entre las plántulas de lechuga tratadas con *B. pumilus* y las plantas control.

Volumen radical

El volumen radical en plantas de lechuga presentó diferencias significativas ($p \leq 0.01$) entre los tratamientos (Figura 3). La aplicación combinada de TH + GC aumentó el volumen radical en 189%, en comparación con el control y un 55% con el resto de los tratamientos con bioinoculantes. Por otra parte, hubo una tendencia similar entre inoculación simple (GC) y las coinoculaciones (TH+BS, BS+GC y TH+BS+GC), respectivamente. Igualmente, TH y BS no difirieron entre ellas, pero sí con el control. En efecto el volumen radical siguió el mismo patrón de comportamiento descrito para las variables de crecimiento, con diferencias significativas ($p \leq 0.01$) entre los tratamientos inoculados y el control, presentando valores superiores en las plantas micorrizadas. Estos resultados indican que los bioinoculantes a través de sus estructuras (hifas, micelio y producción de biopelículas) pueden ser capaces de explorar mayor volumen de suelo, que permite establecer la señalización entre el simbiote y el hospedero. Este proceso conlleva a un incremento en la formación de las raíces; de esta manera se crea una simbiosis efectiva entre las raíces de la lechuga y los bioinoculantes; al respecto, Kumar and Dubey (2020) indican que se crea una interfaz entre la planta y el entorno del suelo, estableciendo así una enorme reserva de comunidad microbiana.

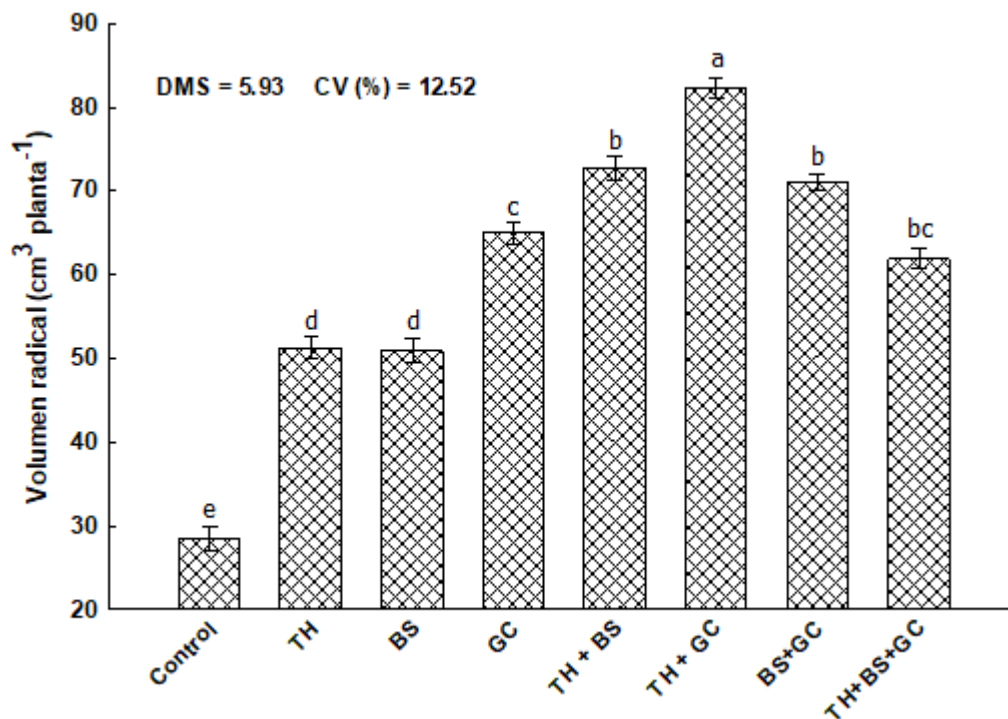


Figura 3. Volumen radical en lechuga. TH = *Trichoderma harzianum*; BS = *Bacillus subtilis*; GC = *Glomus cubense*; DMS= Diferencia mínima significativa; CV = Coeficiente de variación. Las barras indican error estándar. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas según prueba de rangos múltiples de Tukey ($p \leq 0.01$).

Por otra parte, los niveles medios de materia orgánica y de fósforo disponible presentes en el sustrato utilizado, pudieron influir en la efectividad de los bioinoculantes, pues se conoce que en condiciones de baja o media fertilidad se aumenta la absorción y traslocación de nutrientes por las estructuras de los microorganismos benéficos presentes en la rizosfera de las plantas (Falcón-Oconor *et al.*, 2013; Visconti *et al.*, 2022).

En relación con el efecto directo de los hongos endófitos en el crecimiento de las plantas, se ha reportado que el diámetro de las hifas de los hongos micorrícicos, al ser más pequeños que el de los pelos absorbentes de las raíces, permiten explorar volúmenes de suelo no accesibles por las plantas, y al mismo tiempo incrementar el volumen de absorción del sistema radical (Boilard *et al.*, 2019; Chen *et al.*, 2018; Smith *et al.*, 2011).

Resultados similares fueron encontrados por Kakabouki *et al.* (2021) al observar que la densidad radical en *Cannabis sativa* L. aumentó con diferentes dosis de aplicaciones de *T. harzianum* (2×10^{12} y 4×10^{12}) en comparación con el control, respectivamente. Asimismo, informan que la colonización del sistema radical por HMA fue estimulada después de la inoculación de *T. harzianum*. Al respecto, existen reportes donde se describe que diferentes especies de *Trichoderma* mejoran la señalización de la raíz al estimular la biosíntesis de varias hormonas de crecimiento (Sani and Yong, 2022).

Referente al efecto significativo entre *B. subtilis* y el control sobre el volumen radical, se ha reportado el correcto funcionamiento entre la inoculación con rizobacteria y aplicación de solución nutritiva Steiner al 50% de concentración en lechuga, reflejados en el crecimiento del cultivo (Shabani, 2022). Al mismo tiempo, existen evidencias que las combinaciones de PGPR y HMA mejoran el crecimiento de lechuga hasta el 68% con respecto a las plantas control (Tahiri *et al.*, 2022).

Actividad microbiana en el rizoplasma y rizosfera en plantas de lechuga

Se observaron diferencias significativas ($p \leq 0.01$) entre los tratamientos en la actividad microbiana en plantas de lechuga (Cuadro 3). La población microbiana expresada en UFC g^{-1} de suelo fue variable en todos los tratamientos para los distintos microorganismos endófitos (bacterias, hongos y actinomicetos) en el rizoplasma y la rizosfera. En el rizoplasma se observó un aumento de la población microbiana con la coinoculación de TH+BS (bacterias 1×10^9 , hongos 1×10^7 y actinomicetos 1×10^4), respectivamente. Se infiere que los exudados radicales (azúcares, aminoácidos, hormonas y vitaminas) en el rizoplasma, aumentó la población de los microorganismos endófitos. Asimismo, se observó en la rizosfera que los tratamientos BS, BS+GC y GC fueron diferentes estadísticamente en sus poblaciones microbianas en comparación con los demás tratamientos. Esto puede indicar que la colonización rizosférica de estos microorganismos estuvo influenciada por los compuestos orgánicos que desprenden las raíces de las plantas, los cuales

contienen alta concentraciones de aminoácidos, nucleótidos, ácidos grasos, azúcares y vitaminas que son utilizados por los microorganismos como fuente de nutrientes para su crecimiento y agentes de biocontrol (Luziatelli *et al.*, 2019).

Cuadro 3. Poblaciones microbianas en el rizoplasma y rizosfera en plantas de lechuga

Tratamiento	Bacterias	Hongos	Actinomicetos -	Bacterias	Hongos	Actinomicetos
	-----Rizoplasma-----			-----Rizosfera-----		
	1*10 ⁹	1*10 ⁷	1*10 ⁴	1*10 ⁹	1*10 ⁷	1*10 ⁴
	UFC g ⁻¹ de suelo			UFC g ⁻¹ de suelo		
Control	1.83 f	1.04 e	3.74 g	8.33 c	7.74 c	9.25 b
TH	4.36 c	2.16 e	8.43 c	7.27 d	3.34 e	1.92 f
BS	7.53 b	4.53 bcd	2.75 h	9.94 a	8.24 b	8.63 d
GC	1.7 f	7.5 ab	5.97 e	8.33 c	5.33 d	9.56 a
TH + BS	8.56 a	9.22 ab	9.22 a	4.20 f	2.74 f	1.16 g
TH + GC	3.45 d	1.74 de	6.62 d	3.07 g	1.61 h	8.76 c
BS+ GC	2.63 e	5.35 bc	4.76 f	8.68 b	9.52 a	2.91 e
TH + BS + GC	1.23 g	7.02 ab	8.43 c	4.46 e	2.33 g	9.24 b
DMS	0.16	2.24	0.10	0.08	0.05	0.02

TH= *Trichoderma harzianum*; BS= *Bacillus subtilis*; GC = *Glomus cubense*; DMS= Diferencia mínima significativa; CV= Coeficiente de variación. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas según prueba de rangos múltiples de Tukey ($p \leq 0.01$).

Estudios recientes de Rouphael *et al.* (2020) mostraron un incremento de 45% en el rendimiento fresco de lechuga inoculada con *T. harzianum* y un 67% cuando fue combinada con bioestimulantes. También observaron en la rizosfera del suelo rangos de 2×10^5 a 6.5×10^5 UFC g⁻¹ de suelo, en particular se percibieron aumento de las colonias fúngicas en condiciones subóptimas de 0 N (6.5×10^5), en comparación con cualquiera de las plantas no inoculadas en condiciones subóptimas, óptimas o condiciones supra-óptimas de N (2.5×10^5).

Si bien se conoce que la rizosfera es la zona del suelo que rodea las raíces de las plantas hasta una distancia de 0.2 mm del rizoplaneo en donde se desarrolla la vida microbiana (Liu *et al.*, 2021; Mehta and Sirari, 2021), mientras que el rizoplaneo, o la superficie del tejido de la raíz, desempeña un papel de activación selectiva en el ensamblaje del microbioma de la raíz del suelo (Knights *et al.*, 2021). Existen estudios previos que demuestran en estas zonas de la raíz grandes variaciones del microbioma, encontrándose comunidades específicas de bacterias, hongos y actinomicetos que difieren entre raíces en crecimiento activo y raíces en descomposición (Wu *et al.*, 2018; Korenblum *et al.*, 2020; Yuan *et al.*, 2021).

Por otro lado, Yuan *et al.* (2021) reportaron diferencias significativas entre las colonias de bacterias y hongos benéficos encontrados en la rizosfera de plantas de Avena. También mencionan que 12 semanas después de crecimiento de las plantas, los HMA formaron redes con mayor frecuencia con bacterias beneficiosas, mientras que los hongos no micorrícicos reflejaban redes más complejas con las bacterias.

Frecuencia micorrícica en raíces de lechuga

En la frecuencia micorrícica se observaron diferencias significativas ($p \leq 0.01$) entre los tratamientos (Figura 4). Las estructuras micorrícicas (hifas, vesículas y arbuscúlos) mostraron porcentajes de colonización de 96.0, 95.66 y 95.33% con la combinación de TH+GC, respectivamente, sin embargo, no hubo diferencias estadísticas ($p \leq 0.01$) entre las estructuras. Asimismo, la inoculación simple de GC y las combinadas (TH+BS, BS+GC y TH+BS+GC) evidenciaron una frecuencia micorrícica superior con respecto a las inoculaciones simples de TH y BS, respectivamente. Si bien los valores de frecuencia micorrícica dependen de las especies vegetales (van der Heijden *et al.*, 2015) y de la variabilidad intraespecífica (Toppo and Maiti, 2017), los valores de frecuencia de colonización entre 60 y 70% se asocian a un funcionamiento micorrícico efectivo (Simó *et al.*, 2020; Tamayo-

Aguilar *et al.*, 2021); en este caso, los resultados indican la efectividad simbiótica que pudo existir entre los bioinoculantes y la planta de lechuga.

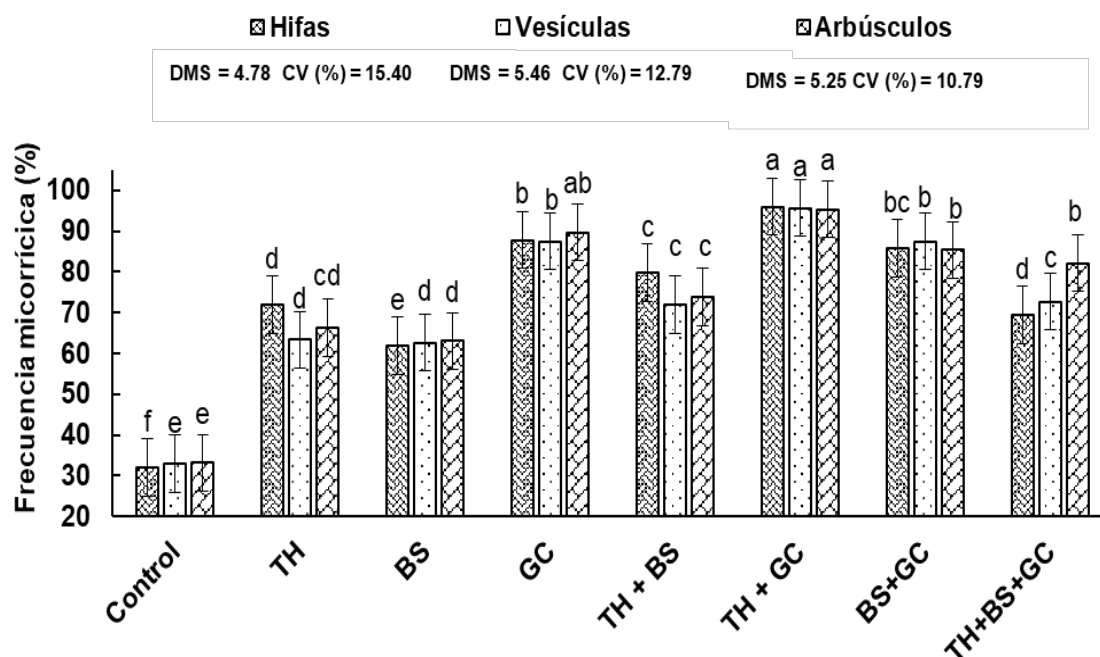


Figura 4. Frecuencia micorrízica. TH = *Trichoderma harzianum*; BS = *Bacillus subtilis*; GC = *Glomus cubense*; DMS= Diferencia mínima significativa; CV = Coeficiente de variación. Las barras indican error estándar. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas según prueba de rangos múltiples de Tukey ($p \leq 0.01$).

Los valores de frecuencia micorrízica encontrados en el tratamiento control pueden estar relacionados con la presencia de algunas estructuras fúngicas que persistieron tras el proceso de esterilización del suelo. Algunas investigaciones se han referido a la sobrevivencia de estructuras de HMA a temperaturas superiores a los 80 °C (Parada-Rojas *et al.*, 2016; Quiñones-Aguilar *et al.*, 2019), e incluso con la solarización del suelo (Ortaş, 2019; Funahashi *et al.*, 2022; Gullino *et al.*, 2022), al respecto, se observó que las estructuras micorrízicas autóctonas resultaron menos infecciosas que *G. cubense*.

En adición a lo anterior, Trejo *et al.* (2021) refieren que el crecimiento y la colonización micorrízica de la raíz en leguminosas, puede estar afectada por la esterilización del suelo y la procedencia de los HMA, mostrando variaciones en la

promoción del crecimiento y disminución en la eficiencia micorrícica. Igualmente, observaron que los HMA nativos presentaron los valores más inferiores en variables de crecimiento.

Por otra parte, existen reportes que indican que las inoculaciones dobles con bioinoculantes pueden favorecer la colonización radical entre 70 y 85% (Zulueta-Rodríguez *et al.*, 2020; Rasouli *et al.*, 2022); no obstante, se obtienen en nuestros resultados porcentajes de frecuencia micorrícica superior al 95% con la coinoculación de *T. harzianum* + *G. cubense*.

Análisis de correlación de Pearson

El análisis de correlación entre las variables de crecimiento, lecturas SPAD y estructuras micorrícicas (Cuadro 4), mostró correlaciones positivas y altamente significativas ($P \leq 0.001$) para variables del crecimiento, así como lecturas SPAD vs volumen radical, biomasa fresca vs área foliar; vesículas vs volumen radical y arbúsculos; arbúsculos vs volumen radical. Por otra parte, lecturas SPAD vs estructuras micorrícicas (hifas, vesículas y arbúsculos) mostraron correlaciones positivas significativas ($P \leq 0.01$) y en algunos de los casos con variables de crecimiento. Efecto similar se observó entre las estructuras micorrícicas ($P \leq 0.01$). Estos resultados indican, que el crecimiento estuvo asociado con el efecto de la simbiosis entre los microorganismos benéficos y las plantas, al promover la altura de planta, el área foliar y el resto de las variables como fue demostrado en los resultados previamente descritos.

Por otra parte, las poblaciones microbianas de hongos, bacterias y actinomicetos observadas en la rizosfera mostraron correlaciones negativas significativas ($P \leq 0.05$) con las estructuras micorrícicas, lo cual indica la relación indirecta entre las variables mencionadas. En contraste, no hubo relación lineal entre colonias de actinomicetos y las demás variables correlacionadas, salvo algunas excepciones que mostraron relación inversa.

En cuanto a las correlaciones positivas, se infiere que el aumento del sistema radical y de las estructuras micorrícicas a través de las aplicaciones de los bioinoculantes, pudieron estimular la asimilación de nutrientes, y como consecuencia, desencadenaron procesos fisiológicos y metabólicos que varían desde cambios hormonales, producción de compuestos volátiles o aumento de la tolerancia al estrés abiótico que se ven reflejados en el crecimiento de las plantas (Ruzzi and Aroca, 2015; Luziatelli *et al.*, 2019).

Cuadro 4. Matriz de correlaciones lineales (r) entre variables de crecimiento, lecturas SPAD, estructuras micorrícicas y población microbiana en la rizosfera en plantas de lechuga

Variables	AP	VR	BF	BS	AF	SPAD	Hifas	Vesículas	Arbúsculos	UFC g ⁻¹		
										HR	BR	AR
AP		0.91***	0.92***	0.93***	0.90***	0.88**	0.72**	0.83**	0.80**	0.88**	0.76**	- 0.13
VR			0.95***	0.92***	0.94***	0.92***	0.81**	0.90***	0.90***	0.89**	0.72**	- 0.17
BF				0.96***	0.96***	0.93***	0.74**	0.86**	0.85**	0.85**	0.77**	- 0.31*
BS					0.93***	0.88**	0.73**	0.84**	0.83**	0.86**	0.78**	- 0.16
AF						0.94***	0.78**	0.87**	0.87**	0.80**	0.75**	- 0.27
Lectura SPAD							0.77**	0.88**	0.87**	0.85**	0.86**	- 0.34*
Hifas								0.81**	0.87**	0.94**	- 0.57*	- 0.24
Vesículas									0.96***	0.92**	- 0.55*	- 0.07
Arbúsculos										0.98**	- 0.53*	
UFC g⁻¹ de suelo											- 0.43*	- 0.43*
HR												
UFC g⁻¹ de suelo												- 0.20
BR												
UFC g⁻¹ de suelo												- 0.49*
AR												

AP = Altura de planta; VR = volumen radical; BF = biomasa fresca; BS = biomasa seca; AF = área foliar; SPAD = lectura SPAD; UFC g⁻¹ = unidades formadoras de colonias; HR = hongos en la rizosfera; BR = bacterias en la rizosfera; AR = actinomicetos en la rizosfera. Nivel de significancia del coeficiente de correlación lineal de Pearson: * = (p ≤ 0.05); ** = (p ≤ 0.01); *** = (p ≤ 0.001).

Aini *et al.* (2019) observaron correlaciones positivas entre el peso fresco, el área foliar, absorción de nutrientes (N y P) y el grosor de las hojas de lechuga inoculadas con PGPR y HMA, mostrándose la relación lineal entre las variables evaluadas. Estos autores consideran que el aumento de absorción de nutrimentos y la síntesis de hormonas vegetales, que originaron las inoculaciones de PGPR+HMA, influyeron en el crecimiento de las plantas.

Con base en el resultado de las correlaciones obtenidas entre las poblaciones microbianas y estructuras micorrícicas en la rizosfera, se han reportado variaciones de 1% de las comunidades microbianas autóctonas y 0.25% de poblaciones de microorganismos benéficos aplicados en tomate en condiciones de invernadero (Nuzzo *et al.*, 2020). Mientras tanto, otros estudios mencionan estabilidad de la comunidad fúngica, y por otro lado cambios en la comunidad bacteriana en la rizosfera del maíz e incluso disminución de la densidad de bacterias nativas en la rizosfera de lechuga con inoculaciones de consorcios de PGPR y HMA. Lo anterior puede indicar el efecto antagónico de cada inoculante o consorcios contra bacterias autóctonas en la rizosfera, tanto patógenas y no patógenas (Aini *et al.*, 2019; Yu *et al.*, 2021).

Por otro lado, Ali *et al.* (2021) manifiestan que el análisis de correlación realizado entre la comunidad microbiana y variables de ambiente edáfico demostró que el pH del suelo y actividades enzimáticas de los microorganismos fueron determinantes para la actividad microbiana; asimismo, plantean que las combinaciones de hongos micorrícicos arbúsculares y sustratos orgánicos, pueden regular el ambiente edáfico o inducir cambios en la composición microbiana de la rizosfera en el cultivo de pepino.

Al respecto, los análisis de correlaciones realizados en los estudios de Xu *et al.* (2022) mostraron que el crecimiento de lechuga fue promovido por la inoculación microbiana, y que además indican que no solo pueden promover el crecimiento,

sino también estimular los microorganismos benéficos e inhibir la proliferación de los patógenos de las plantas.

CONCLUSIONES

El crecimiento en plantas de lechuga bioinoculadas con *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* y *Glomus cubense* tuvo un aumento de 56% en comparación con el control, expresado en las variables de crecimiento, lecturas SPAD, actividad microbiana y frecuencia de la colonización micorrícica. La combinación de *Trichoderma harzianum* + *Glomus cubense* mostró ser la coinoculación más efectiva para el crecimiento de lechuga con un incremento de 82% respecto al control y 18% con el resto de los tratamientos bioinoculados. El análisis de correlación mostró la asociación positiva y significativa entre las variables de crecimiento, lecturas SPAD y estructuras micorrícicas, y a su vez la relación inversa entre las estructuras micorrícicas y las poblaciones microbianas. En general, la aplicación de los bioinoculantes es una alternativa para mejorar el crecimiento de la lechuga en condiciones de invernadero.

REFERENCIAS

- Abdul Rahman, N. S. N., Abdul Hamid, N. W., & Nadarajah, K. (2021). Effects of Abiotic Stress on Soil Microbiome. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(16), 9036. <https://doi.org/10.3390/ijms22169036>
- Aini, N., Yamika, W. S. D., & Ulum, B. (2019). Effect of Nutrient Concentration, PGPR and AMF on Plant Growth, Yield, and Nutrient Uptake of Hydroponic Lettuce. *International journal of agriculture & biology*, 21(1), 175-183. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.0879>
- Ali, A., Ghani, M. I., Ding, H., Iqbal, M., Cheng, Z., & Cai, Z. (2021). Arbuscular mycorrhizal inoculum coupled with organic substrate induces synergistic effects for soil quality changes, and rhizosphere microbiome structure in long-term monocropped cucumber planted soil. *Rhizosphere*, 20, 100428. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100428>
- Angulo-Castro, A., Ferrera-Cerrato, R., Alarcón, A., Almaraz-Suárez, J. J., Delgadillo-Martínez, J., Jiménez-Fernández, M., García-Barradas, O., Angulo-Castro, A., Ferrera-Cerrato, R., Alarcón, A., Almaraz-Suárez, J. J., Delgadillo-Martínez, J., Jiménez-Fernández, M., & García-Barradas, O. (2021). Improved growth of bell pepper (*Capsicum annuum*) plants by inoculating arbuscular mycorrhizal fungi and beneficial rhizobacteria. *Scientia Fungorum*, 51. <https://doi.org/10.33885/sf.2021.51.1299>
- Azarmi-Atajan, F., & Sayyari-Zohan, M. H. (2020). Alleviation of salt stress in lettuce (*Lactuca sativa* L.) by plant growth-promoting rhizobacteria. *Journal of Horticulture and Postharvest Research*, 3(Special Issue-Abiotic and Biotic Stresses), 67-78. <https://doi.org/10.22077/jhpr.2020.3013.1114>
- Boilard, G., Bradley, R. L., Paterson, E., Sim, A., Brown, L. K., George, T. S., Bainard, L., & Carubba, A. (2019). Interaction between root hairs and soil phosphorus on rhizosphere priming of soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry*, 135, 264-266. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.05.013>

- Cedillo-Portugal, E., & Anaya-Rosales, S. (2018). Implicaciones socioeconómicas por la implementación de programas de sanidad, calidad e inocuidad alimentaria en el sector productivo de frutas y hortalizas en México. *Agroproductividad*, 11(2), 140-146.
- Chen, W., Eissenstat, D. M., & Koide, R. T. (2018). Root diameter predicts the extramatrical hyphal exploration distance of the ectomycorrhizal fungal community. *Ecosphere*, 9(4), e02202. <https://doi.org/10.1002/ecs2.2202>
- Del Aguila, K. M., Vallejos-Torres, G., Arévalo, L. A., Becerra, A. G., Del Aguila, K. M., Vallejos-Torres, G., Arévalo, L. A., & Becerra, A. G. (2018). Inoculation Effect of Arbuscular Mycorrhizal Consortiums in *Coffea arabica*, Caturra Variety in the San Martín Region. *Información tecnológica*, 29(1), 137-146. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642018000100137>
- Esquivel-Quispe, R. (2020). Propagación de hongos micorrizógenos arbusculares nativos y su influencia en la producción de maíz amiláceo en Paquecc-Ayacucho. Segunda parte: Hacia una agricultura sostenible. J. *Selva Andina Biosph*, 8(1), 53-63. <https://doi.org/doi.org/10.36610/j.jsab.2020.080100053>
- Falcón- Oconor, E., Riera Nelson, M. C., & Rodríguez Leyva, O. (2013). Effect of the inoculation of mycorrhizal fungi on forest production postures in two types of soils. *Cultivos Tropicales*, 34(3), 32-39.
- Funahashi, F., Myrold, D. D., & Parke, J. L. (2022). The effects of soil solarization and application of a *Trichoderma* biocontrol agent on soil fungal and prokaryotic communities. *Soil Science Society of America Journal*, 86(2), 369-383. <https://doi.org/10.1002/saj2.20361>
- Gullino, M. L., Garibaldi, A., Gamliel, A., & Katan, J. (2022). Soil Disinfestation: From Soil Treatment to Soil and Plant Health. *Plant Disease*, PDIS-09-21-2023-FE. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-21-2023-FE>
- Kakabouki, I., Tataridas, A., Mavroeidis, A., Kousta, A., Karydogianni, S., Zisi, C., Kouneli, V., Konstantinou, A., Folina, A., Konstantas, A., & Papastylianou, P. (2021). Effect of Colonization of *Trichoderma harzianum* on Growth

- Development and CBD Content of Hemp (*Cannabis sativa* L.). *Microorganisms*, 9(3), 518. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9030518>
- Katan J, Gamliel A (2012). Soil solarization for the management of solborne pests: the challenges, historical perspective, and principles. In: Soil Solarización: Theory and Practice. Gamliel A, Katan J. *The American Phytopathological Society*. St Paul Minnesota. Chapter 5. USA, 45-52 pp.
- Knights, H. E., Jorin, B., Haskett, T. L., & Poole, P. S. (2021). Deciphering bacterial mechanisms of root colonization. *Environmental Microbiology Reports*, 13(4), 428-444. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12934>
- Korenblum, E., Dong, Y., Szymanski, J., Panda, S., Jozwiak, A., Massalha, H., Meir, S., Rogachov, I., & Aharoni, A. (2020). Rhizosphere microbiome mediates systemic root metabolite exudation by root-to-root signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(7), 3874-3883. <https://doi.org/10.1073/pnas.1912130117>
- Kumar, A., & Dubey, A. (2020). Rhizosphere microbiome: Engineering bacterial competitiveness for enhancing crop production. *Journal of Advanced Research*, 24, 337-352. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.04.014>
- Lara-Izaguirre, A. Y., Rojas-Velázquez, A. N., Romero-Méndez, M. J., Cruz-Crespo, E., & Alcalá-Jáuregui, J. A. (2019). Crecimiento y acumulación de NO₃⁻ en lechuga hidropónica con relaciones nitrato/amonio en dos estaciones de cultivo. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 42, 21-29.
- Leal-Almanza, J., Gutiérrez-Coronado, M. A., Castro-Espinoza, L., Lares-Villa, F., Cortes-Jiménez, J. M., Santos-Villalobos, S. de los, Leal-Almanza, J., Gutiérrez-Coronado, M. A., Castro-Espinoza, L., Lares-Villa, F., Cortes-Jiménez, J. M., & Santos-Villalobos, S. de los. (2018). Microorganismos promotores de crecimiento vegetal con yeso agrícola en papa (*Solanum tuberosum* L.) bajo casa sombra. *Agrociencia*, 52(8), 1149-1159.
- Lima, R. B., Cabral, C. S., Silva, L. R. da, Melo, L. A. M. P. de, Muniz, P. H. P. C., & Mello, S. C. M. de. (2022). Response of Lettuce Cultivars to Inoculation

- with *Trichoderma* spp. *Journal of Scientific Research and Reports*, 7-14.
<https://doi.org/10.9734/jsrr/2022/v28i230496>
- Limede, A. C., Oliveira, C. E. da S., Zoz, A., Zuffo, A. M., Steiner, F., & Zoz, T. (2018). Effects of seed size and sowing depth in the emergence and morphophysiological development of soybean cultivated in sandy texture soil. *Australian Journal of Crop Science*, 12(1), 93-98.
<https://doi.org/10.21475/ajcs.18.12.01.pne765>
- Liu, Y., Patko, D., Engelhardt, I., George, T. S., Stanley-Wall, N. R., Lamiral, V., Ameduri, B., Daniell, T. J., Holden, N., MacDonald, M. P., & Dupuy, L. X. (2021). Plant–environment microscopy tracks interactions of *Bacillus subtilis* with plant roots across the entire rhizosphere. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(48), e2109176118.
<https://doi.org/10.1073/pnas.2109176118>
- Luziatelli, F., Ficca, A. G., Colla, G., Baldassarre Švecová, E., & Ruzzi, M. (2019). Foliar Application of Vegetal-Derived Bioactive Compounds Stimulates the Growth of Beneficial Bacteria and Enhances Microbiome Biodiversity in Lettuce. *Frontiers in Plant Science*, 10, 60.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00060>
- Ma, H., Shurigin, V., Jabborova, D., dela Cruz, J. A., dela Cruz, T. E., Wirth, S., Bellingrath-Kimura, S. D., & Egamberdieva, D. (2022). The Integrated Effect of Microbial Inoculants and Biochar Types on Soil Biological Properties, and Plant Growth of Lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Plants*, 11(3), 423.
<https://doi.org/10.3390/plants11030423>
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., & STAHL, D. A. (2015). Brock Biología de los Microorganismos. 14ª Edición, 1132 p. *Pearson Educación*, S.A. España. [https://booksmedicos.org/brock-biologia-de-los-microorganismos-14ª-edicion/#more-136236](https://booksmedicos.org/brock-biologia-de-los-microorganismos-14a-edicion/#more-136236)
- Martínez-Cano, B., García-Trejo, J. F., Sánchez-Gutiérrez, A. E., Toledano-Ayala, M., & Soto-Zarazúa, G. M. (2022). Isolation and Characterization of Plant Growth-Promoting Compost Bacteria That Improved Physiological

- Characteristics in Tomato and Lettuce Seedlings. *Agriculture*, 12(1), 3. <https://doi.org/10.3390/agriculture12010003>
- McGONIGLE, T. P., Miller, M. H., Evans, D. G., Fairchild, G. L., & Swan, J. A. (1990). A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-Arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 115(3), 495-501. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1990.tb00476.x>
- Mehta, C. M., & Sirari, K. (2021). Significance of Belowground Microbial-Rhizosphere Interactions. En M. Nath, D. Bhatt, P. Bhargava, & D. K. Choudhary (Eds.), *Microbial Metatranscriptomics Belowground* (pp. 295-310). *Springer*. https://doi.org/10.1007/978-981-15-9758-9_14
- Miceli, A., Moncada, A., & Vetrano, F. (2021). Use of Microbial Biostimulants to Increase the Salinity Tolerance of Vegetable Transplants. *Agronomy*, 11(6), 1143. <https://doi.org/10.3390/agronomy11061143>
- Muñoz-Villagrán, M. (2020). Hortalizas Vaivén de precios. Estudios y Políticas Agrarias-ODEPA. Ministerio de Agricultura. Chile. 28 p. Consultado el 11 de junio de 2021 en: https://www.agroatiende.odepa.gov.cl/bitstream/handle/20.500.12650/70559/Hortalizas_Vaiven_de_precios.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Muñoz-Márquez, E., Macías-López, C., Franco-Ramírez, A., Sánchez-Chávez, E., Jiménez-Castro, J., & González-García, J. (2009). Identificación y colonización natural de hongos micorrízicos arbusculares en nogal. *Terra Latinoamericana*, 27(4), 355-361.
- Nikolaidou, C., Monokrousos, N., Kapagianni, P. D., Orfanoudakis, M., Dermitzoglou, T., & Papatheodorou, E. M. (2021). The Effect of *Rhizophagus irregularis*, *Bacillus subtilis* and Water Regime on the Plant–Microbial Soil System: The Case of *Lactuca sativa*. *Agronomy*, 11(11), 2183. <https://doi.org/10.3390/agronomy11112183>
- Novo Sordo, R. (2009). Microbiología Agrícola. Generaliades ejercicios prácticos | ISBN 978-959-07-1202-9—Libro. Félix Varela.

<https://isbn.cloud/9789590712029/microbiologia-agricola-generalidades-ejercicios-practicos/>

- Nuzzo, A., Satpute, A., Albrecht, U., & Strauss, S. L. (2020). Impact of Soil Microbial Amendments on Tomato Rhizosphere Microbiome and Plant Growth in Field Soil. *Microbial Ecology*, 80(2), 398-409. <https://doi.org/10.1007/s00248-020-01497-7>
- Ortaş, I. (2019). Chapter 6—Role of Microorganisms (Mycorrhizae) in Organic Farming. En S. Chandran, M. R. Unni, & S. Thomas (Eds.), *Organic Farming* (pp. 181-211). *Woodhead Publishing*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813272-2.00006-9>
- Parada-Rojas, C., Rueda-Díaz, S., Carrero-Becerra, C., Quintero-Pacheco, N., & Cárdenas-Caro, D. (2016). Efecto de la quema en cultivos de hortalizas en Villa del Rosario, Norte de Santander, Colombia, sobre las micorrizas y propiedades del suelo. *Bioagro*, 28(3), 171-180.
- Phillips, J. M., & Hayman, D. S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55(1), 158-161.
- Quiñones-Aguilar, E. E., Hernández Cuevas, L. V., López Pérez, L., Rincón Enríquez, G., Quiñones-Aguilar, E. E., Hernández Cuevas, L. V., López Pérez, L., & Rincón Enríquez, G. (2019). Efectividad de hongos micorrízicos arbusculares nativos de rizósfera de Agave como promotores de crecimiento de papaya. *Terra Latinoamericana*, 37(2), 163-174. <https://doi.org/10.28940/terra.v37i2.397>
- Quiñones-Aguilar, E. E., Hernández-Acosta, E., Rincón-Enríquez, G., Ferrera-Cerrato, R. (2012). Interacción de hongos micorrízicos arbusculares y fertilización fosfatada en papaya. *Terra Latinoamericana*, 30(2), 165-176.
- Rasouli, F., Amini, T., Asadi, M., Hassanpouraghdam, M. B., Aazami, M. A., Ercisli, S., Skrovankova, S., & Mlcek, J. (2022). Growth and Antioxidant Responses

- of Lettuce (*Lactuca sativa* L.) to Arbuscular Mycorrhiza Inoculation and Seaweed Extract Foliar Application. *Agronomy*, 12(2), 401. <https://doi.org/10.3390/agronomy12020401>
- Rouphael, Y., Carillo, P., Colla, G., Fiorentino, N., Sabatino, L., El-Nakhel, C., Giordano, M., Pannico, A., Cirillo, V., Shabani, E., Cozzolino, E., Lombardi, N., Napolitano, M., & Woo, S. L. (2020). Appraisal of Combined Applications of *Trichoderma virens* and a Biopolymer-Based Biostimulant on Lettuce Agronomical, Physiological, and Qualitative Properties under Variable N Regimes. *Agronomy*, 10(2), 196. <https://doi.org/10.3390/agronomy10020196>
- Ruzzi, M., & Aroca, R. (2015). Plant growth-promoting rhizobacteria act as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 124-134. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.08.042>
- Sánchez-Gómez, C., Caamal-Cauich, I., & del Valle-Sánchez, M. (2019). Exportación hortofrutícola de México hacia los Estados Unidos de América. Estudios Sociales. *Revista de Alimentación Contemporánea y Desarrollo Regional*, 29(54). <https://doi.org/10.24836/es.v29i54.766>
- Sani, M. N. H., & Yong, J. W. H. (2022). Harnessing Synergistic Biostimulatory Processes: A Plausible Approach for Enhanced Crop Growth and Resilience in Organic Farming. *Biology*, 11(1), 41. <https://doi.org/10.3390/biology11010041>
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2019). Panorama Agroalimentario 2019. Primera Edición 2019. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Ciudad de México. Consultado el 11 de junio de 2021 en: <https://www.inforural.com.mx/wp-content/uploads/2019/06/Panorama-Agroalimentario-Tomate-rojo-2019.pdf>
- SEDRSSA, Centro de estudios para el desarrollo rural sustentable y la soberanía alimentaria. (2020). Análisis de la producción y consumo de hortalizas. 43 p. México. Consultado el 11 de junio de 2021 en: http://www.cedrssa.gob.mx/files/b/13/88Ana%CC%81lisis_produccion%CC%81n_consumo_hortalizas.pdf

- Shabani, E. (2022). Improving the growth, P uptake and quality characteristics of 'Lollo Rosso' lettuce in the nutrient solution by *Bacillus subtilis* in different phosphorus concentrations. *Journal of Plant Nutrition*, 0(0), 1-13. <https://doi.org/10.1080/01904167.2022.2072738>
- Simó, J., Espinosa, R. R., Martínez, L. R., & Alonso, G. M. (2020). The integration of amf inoculants, green manure and organo-mineral fertilization, in banana plantations on calcic haplic phaeozems. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 23(#08), 15.
- Smith, S. E., Jakobsen, I., Grønlund, M., & Smith, F. A. (2011). Roles of Arbuscular Mycorrhizas in Plant Phosphorus Nutrition: Interactions between Pathways of Phosphorus Uptake in Arbuscular Mycorrhizal Roots Have Important Implications for Understanding and Manipulating Plant Phosphorus Acquisition. *Plant Physiology*, 156(3), 1050-1057. <https://doi.org/10.1104/pp.111.174581>
- Steiner, A. A. (Centrum voor A. O. (1984). The universal nutrient solution. 633-650. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=%20XE8581917>
- Tahiri, A., Raklami, A., Bechtaoui, N., Anli, M., Boutasknit, A., Oufdou, K., & Meddich, A. (2022). Beneficial Effects of Plant Growth Promoting Rhizobacteria, Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Compost on Lettuce (*Lactuca sativa*) Growth Under Field Conditions. *Gesunde Pflanzen*, 74(1), 219-235. <https://doi.org/10.1007/s10343-021-00604-z>
- Tamayo-Aguilar, Y., Juarez-Lopez, P., Chávez-García, J. A., Alia-Tejagal, I., Guillén-Sánchez, D., Pérez-González, J. O., López-Martínez, V., & Rueda-Barrientos, M. C. (2021). Biofertilizantes en el crecimiento de estragón (*Artemisia dracunculus* L.) en condiciones de invernadero. *Informacion Tecnica Economica Agraria*. <https://doi.org/10.12706/itea.2021.027>
- Toppo, N. N., & Maiti, D. (2017). Capturing Plant Genetic Potential of Upland Rice for Exploiting Arbuscular Mycorrhiza Responsiveness to Improve Rice Variety for Higher Phosphorus (P) Acquisition Under P Limiting Environments. En A. Varma, R. Prasad, & N. Tuteja (Eds.), *Mycorrhiza*

- Nutrient Uptake, Biocontrol, Ecorestoration (pp. 45-73). *Springer International Publishing*. https://doi.org/10.1007/978-3-319-68867-1_3
- Trejo, D., Hernández-Acosta, E., Baeza-Guzmán, Y., Pérez-Toledo, G., Morgado-Viveros, E., & Bañuelos, J. (2021). Efectividad de los hongos micorrízicos arbusculares introducidos y nativos en seis leguminosas coberteras. *Scientia Fungorum*, 51, e1320. <https://doi.org/10.33885/sf.2021.51.1320>
- Van der Heijden, M. G. A., Martin, F. M., Selosse, M.-A., & Sanders, I. R. (2015). Mycorrhizal ecology and evolution: The past, the present, and the future. *New Phytologist*, 205(4), 1406-1423. <https://doi.org/10.1111/nph.13288>
- Vetrano, F., Miceli, C., Angileri, V., Frangipane, B., Moncada, A., & Miceli, A. (2020). Effect of Bacterial Inoculum and Fertigation Management on Nursery and Field Production of Lettuce Plants. *Agronomy*, 10(10), 1477. <https://doi.org/10.3390/agronomy10101477>
- Visconti, D., Ventrino, V., Fagnano, M., Woo, S. L., Pepe, O., Adamo, P., Caporale, A. G., Carrino, L., & Fiorentino, N. (2022). Compost and microbial biostimulant applications improve plant growth and soil biological fertility of a grass-based phytostabilization system. *Environmental Geochemistry and Health*. <https://doi.org/10.1007/s10653-022-01235-7>
- Wu, L., Chen, J., Xiao, Z., Zhu, X., Wang, J., Wu, H., Wu, Y., Zhang, Z., & Lin, W. (2018). Barcoded Pyrosequencing Reveals a Shift in the Bacterial Community in the Rhizosphere and Rhizoplane of *Rehmannia glutinosa* under Consecutive Monoculture. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(3), 850. <https://doi.org/10.3390/ijms19030850>
- Xu, S.-Y., Wei, J.-K., Xue, F.-Y., Li, W.-C., Guan, T.-K., Hu, B.-Y., Chen, Q.-J., Han, Y., Liu, C., & Zhang, G.-Q. (2022). Microbial inoculation influences microbial communities and physicochemical properties during lettuce seedling using composted spent mushroom substrate. *Applied Soil Ecology*, 174, 104418. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2022.104418>

- Yu, P., He, X., Baer, M., Beirinckx, S., Tian, T., Moya, Y. A. T., Zhang, X., Deichmann, M., Frey, F. P., Bresgen, V., Li, C., Razavi, B. S., Schaaf, G., von Wirén, N., Su, Z., Bucher, M., Tsuda, K., Goormachtig, S., Chen, X., & Hochholdinger, F. (2021). Plant flavones enrich rhizosphere Oxalobacteraceae to improve maize performance under nitrogen deprivation. *Nature Plants*, 7(4), 481-499. <https://doi.org/10.1038/s41477-021-00897-y>
- Yuan, M. M., Kakouridis, A., Starr, E., Nguyen, N., Shi, S., Pett-Ridge, J., Nuccio, E., Zhou, J., & Firestone, M. (2021). Fungal-Bacterial Cooccurrence Patterns Differ between Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Nonmycorrhizal Fungi across Soil Niches. *mBio*, 12(2), e03509-20. <https://doi.org/10.1128/mBio.03509-20>
- Zulueta-Rodríguez, R., Gómez-Merino, F. C., Alemán-Chávez, I., Núñez-Camargo, M. del C., & Lara-Capistrán, L. (2020). Respuesta del cultivo de maíz a la bio-inoculación y fertilización química reducida en campo. *Revista Terra Latinoamericana*, 38(3), 597-612. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i3.656>

CAPITULO IV

CONCLUSIONES GENERALES

En comparación con el control, se obtuvo un aumento del crecimiento de albahaca del 58% con la coinoculación de *Trichoderma harzianum* + *Glomus cubense* y 55% con respecto a las inoculaciones simples de *Bacillus subtilis*, *Glomus cubense*, *Trichoderma harzianum* y con inoculación tripartita de estos microorganismos. En segundo lugar, se obtuvo un incremento de 51% en el crecimiento de esta hierba fina con la coinoculación de *Bacillus subtilis* + *Glomus cubense* respecto al control y del 38% con el resto de los tratamientos, respectivamente. Estas respuestas de crecimiento de las plantas se reflejan en aumentos en la producción tanto en la biomasa fresca y seca, área foliar, variables morfológicas, concentración relativa de clorofila y extracción de macronutrientes. En cambio, los efectos encontrados con la aplicación conjunta de los tres inoculantes y aplicaciones simples fueron inferiores en todas las variables evaluadas. Estos resultados sugieren que la inoculación dual de microorganismos benéficos (*Trichoderma harzianum* + *Glomus cubense* y *Bacillus subtilis* + *Glomus cubense*), pueden ser alternativas de manejo útil y más sustentables para el cultivo de albahaca cultivadas en invernadero.

Se obtuvo un incremento de 66% en el crecimiento de las plantas de estragón con la coinoculación de *Trichoderma harzianum* + *Glomus cubense* comparado con el control y 53% con respecto a los demás tratamientos. Además, hubo un incremento de 57% en el crecimiento de las plantas con la combinación de *T. harzianum* + *B. subtilis* en comparación con el control y un aumento de 33% con el resto de los tratamientos. Todo lo anterior, fue se reflejado en el incremento de biomasa fresca y seca, del área foliar, de los parámetros morfológicos, concentración relativa de clorofila y extracción de macronutrientes. El empleo de la coinoculación de microorganismos biológicos *T. harzianum* + *G. cubense* y *T. harzianum* + *B. subtilis* puede ser una alternativa para el manejo orgánico y sostenible en la producción de estragón cultivado en invernadero.

El crecimiento en plantas de lechuga bioinoculadas con *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* y *Glomus cubense* tuvo un aumento de 56% en comparación con el control, expresado en las variables de crecimiento, lecturas SPAD, actividad microbiana y frecuencia de la colonización micorrícica. La combinación de *Trichoderma harzianum* + *Glomus cubense* mostró ser la coinoculación más efectiva para el crecimiento de lechuga con un incremento de 82% respecto al control y 18% con el resto de los tratamientos bioinoculados. El análisis de correlación mostró la asociación positiva y significativa entre las variables de crecimiento, lecturas SPAD y estructuras micorrícicas, y a su vez la relación inversa entre las estructuras micorrícicas y las poblaciones microbianas. En general, la aplicación de los bioinoculantes es una alternativa para mejorar el crecimiento de la lechuga en condiciones de invernadero.

ANEXO



Tamayo-Aguilar Y et al. (2021)
Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca
Volume 49, Issue 4, Article number 12452
DOI:10.15835/nbha49412452

Research Article



Beneficial microorganisms enhance the growth of basil (*Ocimum basilicum* L.) under greenhouse conditions

Yonger TAMAYO-AGUILAR¹, Porfirio JUAREZ-LOPEZ^{1*},
Jose A. CHAVEZ-GARCIA¹, Iran ALIA-TEJACAL¹,
Dagoberto GUILLEN-SANCHEZ^{1†}, Jesus O. PEREZ-GONZALEZ²,
Victor LOPEZ-MARTINEZ¹, Maria C. RUEDA-BARRIENTOS¹,
Odira BAQUE-FUENTES³

¹Autonomous University of the State of Morelos, Graduate Program in Agricultural Sciences and Rural Development, Faculty of Agricultural Sciences, Av. Universidad 1001, 62210 Cuernavaca, Morelos, Mexico; yongertamayo@gmail.com; porfirio.juarez@uaem.mx (*corresponding author); jose.chavez@uaem.mx; iran.alia@uaem.mx; dagoguillen@yahoo.com; victor.lopez@uaem.mx; claudia.rueda@uaem.mx

²Technological University of the South of Morelos State, Carretera Puente de Ixtla, km 2.35, Colonia 24 de febrero, 62665 Mazatepec, Morelos, Mexico; jopgonzalez1998@gmail.com

³University of Guantanamo, Faculty of Humanistic Sciences, Av. Che Guevara, km 1.5, Carretera a Jamaica, 95100, Guantánamo, Cuba; odirabf@cugco.cu

[†]Deceased – August 13, 2021

Abstract

The integration of healthy management alternatives continues to be a challenge in the organic production of aromatic and medicinal plants, including of basil (*Ocimum basilicum* L.). The objective of this work was to evaluate the effects of three beneficial microorganisms (1) *Trichoderma harzianum* (TH), (2) *Bacillus subtilis* (BS), (3) *Glomus cubense* (GC) and their combinations on the growth of basil. A completely randomised design was used with a control and seven treatments with six repetitions. The control (1) was with no microorganism inoculation and the seven treatments were inoculations with the single or the combined microorganisms as follows: (2) TH, (3) BS, (4) GC, (5) TH+BS, (6) TH+GC, (7) BS+GC and (8) TH+BS+GC. Three harvests of fresh biomass were made and a number of growth variables were recorded: fresh and dry biomass, leaf area, number of commercial stems, stem length and thickness, Leaf length and width, relative chlorophyll concentration (SPAD readings) and the levels of N, P, K, Ca and Mg. Overall growth increased by 58% with TH+GC compared with the control and by 55% compared with the single inoculations (TH, BS and GC) and with the triple inoculation (TH+BS+GC). A growth increase of 51% was obtained with BS+GC compared with the control and of 38% compared with the other treatments. These results indicate co-inoculation of TH+GC or of BS+GC are useful alternative managements to increase greenhouse production of basil.

Keywords: arbuscular mycorrhizal fungi; aromatic plants; *Bacillus subtilis*; biofertilisers; *Glomus cubense*; *Trichoderma harzianum*

Received: 27 Jul 2021. Received in revised form: 09 Oct 2021. Accepted: 13 Oct 2021. Published online: 02 Nov 2021.

From Volume 49, Issue 1, 2021, Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca journal uses article numbers in place of the traditional method of continuous pagination through the volume. The journal will continue to appear quarterly, as before, with four annual numbers.

Biofertilizantes en el crecimiento de estragón (*Artemisia dracunculus* L.) en condiciones de invernadero

Yonger Tamayo-Aguilar¹, Porfirio Juárez-López^{1,*}, José Antonio Chávez-García¹, Irán Alia-Tejagal, Dagoberto Guillén-Sánchez¹, Jesús Orlando Pérez-González², Víctor López-Martínez¹ y María Claudia Rueda-Barrientos¹

¹ Posgrado en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Avenida Universidad 1001, Cuernavaca, Morelos, México. CP. 62210

² Universidad Tecnológica del Sur del Estado de Morelos. Carretera Puente de Ixtla- Mazatepec, km 2.35, Col, 24 de febrero, Morelos, México. CP. 62665

Resumen

El estragón (*Artemisia dracunculus* L.) es una planta perenne y aromática con potencial de producción en México. El objetivo fue evaluar el efecto simple y combinado de *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* y *Glomus cubense* en el crecimiento de estragón en condiciones de invernadero. Se utilizó un diseño completamente al azar con seis repeticiones. Los tratamientos fueron: 1) Testigo (sin inoculaciones), 2) *Trichoderma harzianum*, 3) *Bacillus subtilis*, 4) *Glomus cubense*, 5) *Trichoderma harzianum* + *Bacillus subtilis*, 6) *Trichoderma harzianum* + *Glomus cubense*, 7) *Bacillus subtilis* + *Glomus cubense*, 8) *Trichoderma harzianum* + *Bacillus subtilis* + *Glomus cubense*. Se midió el efecto acumulado en el crecimiento de estragón, a través de tres cortes de tallos comerciales, en los que se evaluó: biomasa fresca y seca, área foliar, número de tallos comerciales, longitud y grosor de los tallos, largo y ancho de las hojas, lecturas SPAD y la extracción de N, P, K, Ca y Mg. Las plantas de estragón coinoculadas con *T. harzianum* + *G. cubense* tuvieron un incremento de 66 % en el crecimiento con respecto al testigo y de 53 % en comparación con inoculaciones simples y el tratamiento con los tres microorganismos. Además, se obtuvo un incremento de 57 % en el crecimiento de las plantas con la combinación de *T. harzianum* + *B. subtilis* respecto al testigo y un aumento de 33 % con el resto de los tratamientos. Los biofertilizantes *T. harzianum* + *G. cubense* y *T. harzianum* + *B. subtilis*, pueden ser una alternativa para el manejo orgánico de estragón.

Palabras clave: *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, *Glomus cubense*, bioinoculantes, planta aromática.

Biofertilizers in the growth of tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) under greenhouse conditions

Abstract

Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) is a perennial and aromatic plant with production potential in Mexico. The objective was to evaluate the simple and combined effect of *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* and *Glomus cubense* on the growth of tarragon under greenhouse conditions. A completely ran-

* Autor para correspondencia: porfirio.juarez@uaem.mx

Cita del artículo: Tamayo-Aguilar Y, Juárez-López P, Chávez-García JA, Alia-Tejagal I, Guillén-Sánchez D, Pérez-González JO, López-Martínez V, Rueda-Barrientos MC (2022). Biofertilizantes en el crecimiento de estragón (*Artemisia dracunculus* L.) en condiciones de invernadero. ITEA-Información Técnica Económica Agraria 118(2): 198-212. <https://doi.org/10.12706/itea.2021.027>



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Dirección

Jefatura de Programas de Estudios de Posgrado

Cuernavaca, Morelos, 29 de junio de 2023

Asunto: Voto Aprobación de Tesis.

MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESENDIZ
TITULAR DE LA DIRECCIÓN DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E.

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **BIOINOCULANTES EN EL CRECIMIENTO DE TRES ESPECIES HORTÍCOLAS CULTIVADAS EN INVERNADERO**, que presenta el **M. C. YONGER TAMAYO AGUILAR**, mismo que fue desarrollado bajo mi dirección, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Doctor en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 7046. fagropecuarias@uaem.mx



Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

PORFIRIO JUAREZ LOPEZ | Fecha:2023-06-30 12:11:41 | Firmante

N4uP5XH4IQ8uYNJqSqT4ns7NCE+N+r+suXVgTrTwDgw/jH+KDDsasUL/xck/pfZZMYRIXOtrW4hdh4GYXTGwfl3y2ap9w52vq1uXc1WpU95cYKfZD1CiRsnQfOd3f3geqXIjwi/lXbHJZmRomKVj0z7UrCqPhhkxOY4Tk0LpPZO+UNTwooE0G8d7ZF94DGWWqOKbV0+DNC1yEHqvzRP6g4uON/6k+Appq7G2XVIK9kJBQJeq0/sjGy7olrZ5Yv6Tp/IVmkCo7vSZlcfTT56jNdFb8oxF6z1aKoKBfUyyIq4WP2Sim2ojdUfywZJIHMTEOCYeWrHqiajHIE8vaqVA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



pFurUqQy7

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/P6tuLUkjQtMw/U10T69zHh1wd8hVh90>



Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Dirección

Jefatura de Programas de Estudios de Posgrado

Cuernavaca, Morelos, 29 de junio de 2023

Asunto: Voto Aprobación de Tesis.

MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESENDIZ
TITULAR DE LA DIRECCIÓN DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E.

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **BIOINOCULANTES EN EL CRECIMIENTO DE TRES ESPECIES HORTÍCOLAS CULTIVADAS EN INVERNADERO**, que presenta el **M. C. YONGER TAMAYO AGUILAR**, mismo que fue desarrollado bajo la dirección del **DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Doctor en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

DR. JOSÉ ANTONIO CHÁVEZ GARCÍA
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 7046. fagropecuarias@uaem.mx



Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

JOSE ANTONIO CHAVEZ GARCIA | Fecha:2023-06-30 12:17:29 | Firmante

pvjWDvMZKrijNJJUWseYBVUJdbQOMDWVXxe6PLkTWkcqUKaTWEvNnzfnCkiJNwiCuYQBtj+IB/GutBANWtqJc3BU3/1qmbM84vyyj0bhSZTLzcbfrJNCwYONxPKOV9vX470J804KQfz2W+V3N8P824A7Mo1VsdZewVdXhqi86UtahstUCjt+56xOaSQ3ELG3rU1xUxPcLZPvjhZX3tYlbvg8aExrfxnRZW0YXNDcTBHjKEhiVZDX0aFjYxm60qBwDlcD6wTvi7ERkMxY1+i3jwk1J+kLIT/jT6Jr0LCwn5SjRaMmpKkubPQRnyiUyjQ49vs2hEdxhA+YWriKZY9WAKg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



7hKQSMnHF

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/cNZXeh9SxwKUoz5T1MUWk1FF6k1Um3Zk>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Dirección

Jefatura de Programas de Estudios de Posgrado

Cuernavaca, Morelos, 29 de junio de 2023

Asunto: Voto Aprobación de Tesis.

MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESENDIZ
TITULAR DE LA DIRECCIÓN DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E.

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **BIOINOCULANTES EN EL CRECIMIENTO DE TRES ESPECIES HORTÍCOLAS CULTIVADAS EN INVERNADERO**, que presenta el **M. C. YONGER TAMAYO AGUILAR**, mismo que fue desarrollado bajo la dirección del **DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Doctor en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

DR. IRAN ALIA TEJACAL
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 7046. fagropecuarias@uaem.mx



Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

IRAN ALIA TEJACAL | Fecha:2023-06-30 12:29:17 | Firmante

PRx9DXiinUzDXGxqU8D82uf3AS/WhVdY81bEUR93ce7mPfP+dbbshTznb5S5OkxLBj6WUrARwEILahJYz4bRZYaJ7Hm7Nscuqiu2bnWgNo9tb26S8u45vXgVYyUJCTE9B/zV3Hb
i1NsWYHXnsSZ+eQMABw9zXl0q5eU9ReNEIXYmzqQ/NGFxiFv6z5ULKkLq1x+i3QAu0KtHX5bVI7NKNTIpOi09UH/KIHr6l1Zw3Q/ADyXablG10YWM7gOnXScD373lcsp9Bc3C
QYxqntNQaqSsKEXBdhvcZexzuUlfRAiS69hvt27md9+NECWt1kHyeKcTWhomRslygmWMJQW0Og==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



bXTPyOzrl

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/HNkxPAHVpxs9HPSUGMTyUOgkde7IGNIW>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Dirección

Jefatura de Programas de Estudios de Posgrado

Cuernavaca, Morelos, 29 de junio de 2023

Asunto: Voto Aprobación de Tesis.

MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESENDIZ
TITULAR DE LA DIRECCIÓN DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E.

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **BIOINOCULANTES EN EL CRECIMIENTO DE TRES ESPECIES HORTÍCOLAS CULTIVADAS EN INVERNADERO**, que presenta el **M. C. YONGER TAMAYO AGUILAR**, mismo que fue desarrollado bajo la dirección del **DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Doctor en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

DR. JESÚS ORLANDO PÉREZ GONZÁLEZ
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 7046. fagropecuarias@uaem.mx



Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

JESÚS ORLANDO PÉREZ GONZÁLEZ | Fecha:2023-06-30 12:35:06 | Firmante

NN1pC4eRSK4r7hhHgY7smnuWb6rW5WQpYDe4JiotXHEvRwBu3ebB1lthXVlIF5aPkPe6+b35+hLh1OA0Bi2A9wrtloR/gSwOSydwKfJn5GG+JqziodrD5XgBMmDjqBGjUuO5XY3wXJ4ISvHAlsm3PdmjzKYISE+rShynOgCfotcUY7Xf1qmEjlTqXbrTZvGnsVkhKeBxOFWBijOLxdsOqspo8dF9gQbm0F0QqIX/HHsTAqUB/8cc1n4VH0EQ55kv/pRWIA2kPeFI+s7ZiU5zyNAY+XnCsnoVwd7+2jxMkgfIV/alcB4yolxl+UX9x6gO0Btgd2Ww+XPN2YKI8GfA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



UZxdvCu2Q

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/jGtsMAfX9iTSVrrFaUnx9aWVg753JwuH>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



Jefatura de Programas de Estudios de Posgrado

Cuernavaca, Morelos, 29 de junio de 2023

Asunto: Voto Aprobación de Tesis.

MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESENDIZ
TITULAR DE LA DIRECCIÓN DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E.

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **BIOINOCULANTES EN EL CRECIMIENTO DE TRES ESPECIES HORTÍCOLAS CULTIVADAS EN INVERNADERO**, que presenta el **M. C. YONGER TAMAYO AGUILAR**, mismo que fue desarrollado bajo la dirección del **DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Doctor en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

DR. VÍCTOR LÓPEZ MARTÍNEZ
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

VICTOR LOPEZ MARTINEZ | Fecha:2023-06-30 12:40:40 | Firmante

b5X8U8uj5qRrQNftuAWY/XqJWo5ILNkvTtifRQgsaVnzucThqI5UU2fP3ie5GGDkzCayjVOmXhZcjrS0knq8zG+I9RWj6K2P8/ZWbEG+JExsMTOjR3FTTiWl2T6bFb17oufwxVYR3nqahudhuPuVw0tw8gWwOjFa4G2Yh6wpR1BbRAxqGJbcLUZAXTxGmGExqUKltce+qZq95uPkjplvIo+2LiVUHxXtWG4koa5CrTxbyi1m66ZYVGYhTg4WXnc6WLPDmhdcN4TwCRsJyPon21oFT61qMviUBVdY4UahNXIsoYbYZm9Ugn0WqR+0fduvZaGk4P/zbqGW6o+v6xvA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



SXk1as5Tc

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/a0ePVLz4hpnDSOsPSK3TIqDIQ0a6a4aV>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Dirección

Jefatura de Programas de Estudios de Posgrado

Cuernavaca, Morelos, 29 de junio de 2023

Asunto: Voto Aprobación de Tesis.

MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESENDIZ
TITULAR DE LA DIRECCIÓN DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E.

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **BIOINOCULANTES EN EL CRECIMIENTO DE TRES ESPECIES HORTÍCOLAS CULTIVADAS EN INVERNADERO**, que presenta el **M. C. YONGER TAMAYO AGUILAR**, mismo que fue desarrollado bajo la dirección del **DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Doctor en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

DRA. MARÍA CLAUDIA RUEDA BARRIENTOS
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 7046. fagropecuarias@uaem.mx



Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

MARIA CLAUDIA RUEDA BARRIENTOS | Fecha:2023-06-30 22:07:43 | Firmante

k2W8wSjBZmN+mtw4TzSlmsF59eq4ZATUatFqXJLnJLQnLXWsa2a7wtu2HsKAEaYEFjLtGUCNU4ivmJA+W4SIqW+rh9tFeIZMuMNRPKtDCaNPt4o3aBIW70sTGxCsR1doqkKp
J/BqpmNRbJRKCFPrHY7znEnnBAuVSGAsCoYLehFuW7GjB/zfiptkzIYipReJnWTEVFRKV/cc/rF7flzAkt7oR967aRZB8Ak8in04LRNLN6KhpHLSe40rAQ9i6q1oyuFYHtMXPuaeH
pbb082e1rY25SVInbXeE/zcmCGU5qdsM2pQ0JeugXsK+HRaudNcx+8MsGJu1UI7MTOLmi/Q==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



60QzdwARo

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/IUae3fjAfelsubbfSguUAShzkQMzEGD8>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Dirección

Jefatura de Programas de Estudios de Posgrado

Cuernavaca, Morelos, 29 de junio de 2023

Asunto: Voto Aprobación de Tesis.

MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESENDIZ
TITULAR DE LA DIRECCIÓN DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E.

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **BIOINOCULANTES EN EL CRECIMIENTO DE TRES ESPECIES HORTÍCOLAS CULTIVADAS EN INVERNADERO**, que presenta el **M. C. YONGER TAMAYO AGUILAR**, mismo que fue desarrollado bajo la dirección del **DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Doctor en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

DR. MANUEL DE JESÚS SAINZ AISPURO
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 7046. fagropecuarias@uaem.mx



Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

MANUEL DE JESUS SAINZ AISPURO | Fecha:2023-06-30 13:34:48 | Firmante

IAdb/vpCEZiMnH600kxnWYEHpPKzcG5cKz6/xwumBX7xawGPUUUCletEAY9qHvU9gWJTcC28KS9bn+YD206ny3pHf9h8LfnpGJ8rIKXNvGGI72GxqNxj3Qewk0PSeFOTnG6Z9
PUruAxWqV45luchq1/ZEvvcwD4CLPBHcfWwGVge+QEkPM0QIZPn3KskAxMOTZfyJZ1KrEcIXXpsOSf/Mz+77XOE7vm2uiXWly8xNE8xQBPFJfwQMMFwTlpTGotkxRY9TLAJu
GovobSLOJwq2v3I6HrbvIRD2yGiZyeQBYBnTRcAsgkxrKVWCefqhiRg2LRvImtEGc8Mhr1v/47YYw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



ajCkxMy3o

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/mFWH0JVtmmyEb88aDUFImppaQkUTEn4>

