



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**NUTRICIÓN MINERAL Y MICROORGANISMOS  
BENÉFICOS EN EL CRECIMIENTO DE  
LECHUGA, ALBAHACA Y ARÚGULA  
CULTIVADAS EN SUSTRATO**

**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 :**

**HOMERO GONZÁLEZ GÓMEZ**

**DIRECTOR DE TESIS**

Dr. Porfirio Juárez López

**CODIRECTORA**

Dra. Evangelina Esmeralda Quiñones Aguilar



FACULTAD DE CIENCIAS  
AGROPECUARIAS

Cuernavaca, Morelos,

Abril de 2023

**NUTRICIÓN MINERAL Y MICROORGANISMOS BENÉFICOS EN EL  
CRECIMIENTO DE LECHUGA, ALBAHACA Y ARÚGULA CULTIVADAS  
EN SUSTRATO**

Tesis realizada por **Homero González Gómez** bajo la Dirección de Comité Revisor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**

---

Codirector: Dr. Porfirio Juárez López

---

Codirectora: Dra. Evangelina Esmeralda Quiñones Aguilar

---

Revisor: Dr. Irán Alía Tejacal

---

Revisor: Dr. Víctor López Martínez

---

Revisor: Dr. Oscar Gabriel Villegas Torres

---

Revisor: Dr. J. Augusto Ramírez Trujillo

---

Revisor: Dr. Cid Aguilar Carpio

---

Revisor: Dr. Gabriel Rincón Enríquez

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, 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 por brindarme la oportunidad de continuar con mi formación académica.

Al Dr. Porfirio Juárez López y a la Dra. Evangelina Esmeralda Quiñones Aguilar por darme la oportunidad de participar en esta investigación científica, por los conocimientos compartidos y el apoyo brindado durante todo el transcurso del estudio de Doctorado.

A mis sinodales, Dr. Irán Alía Tejacal, Dr. Gabriel Rincón Enríquez, Dr. Víctor López Martínez, Dr. José Augusto Ramírez Trujillo, Dr. Oscar Gabriel Villegas Torres, Dr. Cid Aguilar Carpio. Por su tiempo y disposición.

Al Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. por brindarme la oportunidad de capacitarme en sus instalaciones y ponerme a mi disposición todas las herramientas que necesite durante mi estancia.

## ÍNDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE DE CUADROS .....	8
ÍNDICE DE FIGURAS .....	9
INTRODUCCIÓN GENERAL .....	11
OBJETIVO GENERAL.....	15
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	13
HIPÓTESIS GENERAL .....	14
HIPÓTESIS ESPECÍFICAS.....	14
LITERATURA CITADA.....	8
CAPÍTULO I .....	17
Crecimiento de albahaca ( <i>Ocimum basilicum</i> L.) 'Sweet Nufar' inoculada con hongos micorrícicos arbusculares y <i>Azospirillum brasilense</i> .....	17
Resumen .....	17
Introducción.....	18
Materiales y métodos .....	21
Localización del experimento .....	21
Diseño experimental y tratamientos .....	21
Material vegetal, microbiológico y siembra de las plantas de albahaca .....	22
Inoculación de las plantas de albahaca con los HMA .....	22
Inoculación de las plantas de albahaca con <i>A. brasilense</i> .....	23
Variables de crecimiento vegetal.....	23

Disminución de crecimiento en albahaca por efecto de la reducción en la concentración de nutrientes de la solución nutritiva de Steiner.....	23
Concentración de macronutrientes.....	24
Colonización micorrízica y número de esporas de los HMA.....	24
Análisis estadístico.....	25
Resultados y discusión.....	25
Crecimiento de albahaca inoculada con HMA y <i>A. brasilense</i> .....	25
Disminución de crecimiento en albahaca por efecto de la reducción en la concentración de la solución nutritiva de Steiner .....	27
Concentración de macronutrientes.....	28
Colonización micorrízica (PCM) y número de esporas de HMA.....	29
Conclusiones.....	32
Literatura citada.....	33
CAPÍTULO II .....	38
Crecimiento de lechuga inoculada con microorganismos benéficos e irrigada con concentraciones reducidas de solución nutritiva de Steiner .....	38
Resumen .....	38
Introducción.....	40
Materiales y métodos .....	41
Localización del experimento y material vegetal. ....	41
Tratamientos .....	41
Material vegetal y trasplante.....	42
Inoculación con los HMA .....	42
Inoculación con <i>Azospirillum brasiliense</i> .....	42
Variables evaluadas .....	43
Variables de crecimiento .....	43

Concentración de macro y micronutrientes .....	43
Porcentaje de colonización micorrízica y número de esporas de los HMA ...	43
Disminución de crecimiento en lechuga por efecto de la reducción en la solución nutritiva de Steiner .....	44
Análisis estadístico .....	44
Resultados y discusión.....	45
Variables de crecimiento .....	45
Efecto de distintos niveles de solución .....	45
Efecto de microorganismos benéficos.....	45
Efecto de solución nutritiva de Steiner x microorganismos .....	45
Concentración de nutrientes.....	46
Microorganismos benéficos .....	47
Disminución de crecimiento en lechuga por efecto de la reducción en la solución nutritiva de Steiner .....	48
Combinación de tratamientos (solución nutritiva de Steiner y microorganismos) .....	50
Concentración de macro y micronutrientes .....	52
Porcentaje de colonización micorrízica .....	53
Conclusiones .....	55
Literatura citada.....	56
CAPÍTULO III .....	59
Microorganismos benéficos en el crecimiento de arúgula ( <i>Eruca sativa</i> Mill.) cultivada en sustrato y con concentraciones reducidas de solución nutritiva de Steiner .....	59
Resumen .....	59
Introducción.....	60

Materiales y métodos .....	62
Localización del experimento .....	62
Tratamientos evaluados .....	62
Unidad y diseño experimental .....	63
Material vegetal, microbiológico y siembra de las plantas de arúgula .....	63
Inoculación de las plantas de arúgula con los hongos micorrícicos arbúsculares.....	64
Inoculación de las plantas de arúgula con <i>A. brasilense</i> .....	64
Variables evaluadas .....	64
Variables de crecimiento vegetal.....	64
Crecimiento arúgula por efecto de la reducción en la concentración de nutrientes de la solución nutritiva de Steiner .....	64
Colonización micorrícica y número de esporas .....	65
Análisis estadístico .....	65
Resultados y discusión.....	66
Crecimiento de arúgula inoculada con HMA y <i>A. brasilense</i> .....	66
Crecimiento en arúgula por efecto de la reducción en la concentración de la solución nutritiva de Steiner .....	67
Colonización micorrícica y número de esporas de HMA .....	68
Análisis de los espacios intergénicos ribosomales de aislamientos bacterianos.....	
Conclusiones.....	72
Literatura citada.....	73
CAPÍTULO IV.....	76
Conclusiones generales.....	76

## ÍNDICE DE CUADROS

### Capítulo I

Página

Cuadro 1. Crecimiento de plantas de albahaca 'Sweet Nufar' inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares y *A. brasilense* en condiciones de invernadero. ....26

Cuadro 2. Efecto de la inoculación de microorganismos benéficos en la concentración de macronutrientes en albahaca 'Sweet Nufar' cultivada en tezontle y en condiciones de invernadero. ....29

### Capítulo II

Página

Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza factorial para siete caracteres evaluados lechuga inoculada con microorganismos benéficos ...46

Cuadro 2. Comparación de medias de niveles factorial para variables de crecimiento en lechuga inoculada con microorganismos benéficos. ....48

Cuadro 3. Comparación de medias de combinaciones de dos niveles de solución nutritiva de Steiner y microorganismos benéficos para siete caracteres evaluados en lechuga .....51

Cuadro 4. Efecto del uso de microorganismos benéficos en la concentración de macro y micronutrientes en lechuga.....52

### Capítulo III

Página

Cuadro 1. Tratamientos.....62

Cuadro 2. Comparación de medias de combinaciones de tres niveles de solución nutritiva de Steiner y microorganismos benéficos para siete caracteres evaluados en arúgula. ....66

## ÍNDICE DE FIGURAS

### Capítulo I

Página

- Figura 1. Disminución de crecimiento en albahaca 'Sweet Nufar' cultivada con solución nutritiva de Steiner al 50 %, en comparación al tratamiento de solución nutritiva de Steiner a concentración de 100 %, a los 50 días después del trasplante. *R.+ A.*: *R. intraradices* + *A. brasilense*. Letras distintas para cada variable de respuesta indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). .....28
- Figura 2. Observaciones de la colonización de los hongos micorrízicos arbusculares *Rhizopagus intraradices* (B), *Funneliformis mosseae* (C) y consorcio de HMA Cerro del Metate (D), secciones longitudinales de raíces de albahaca 'Sweet Nufar': en A (testigo), se muestra el cilindro vascular (cv); en E, hifas intrarradicales (hi); en F, vesículas (v); en G, arbusculos (a) y la base del arbusculo (ba). .....30
- Figura 3. Colonización micorrízica en raíces de albahaca 'Sweet Nufar' inoculada con HMA a 50 días después del trasplante. *R.+A.*: *Rizhophagus intraradices* + *Azospirillum brasilense*. Letras distintas indican diferencias significativas, según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). .....31

### Capítulo II

Página

- Figura 1. Disminución de crecimiento en lechuga con la utilización de microorganismos benéficos y 25 % de concentración de solución nutritiva de Steiner en altura de la planta, número de hojas y peso de biomasa fresca aérea de lechuga en comparación al tratamiento de solución nutritiva de Steiner al 100 % sin inoculación, a los 50 días después del trasplante. Letras distintas para cada variable de respuesta indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). .....49
- Figura 2. Disminución de crecimiento en lechuga con la utilización de microorganismos benéficos y 50 % de concentración de solución nutritiva de Steiner en altura de la planta, número de hojas y peso de biomasa fresca aérea de lechuga en comparación al tratamiento de solución nutritiva de Steiner al 100 % sin inoculación, a los 50 días después del trasplante. Letras distintas para cada variable de respuesta indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). .....50
- Figura 3. Colonización por hongos micorrízicos arbusculares en raíces de lechuga a 50 días después del trasplante que crecieron en condiciones de

hidroponía, las letras distintas indican diferencias estadísticas según la prueba de comparación de medias Tukey ( $P \leq 0.05$ ). .....54

Figura 4. Fotomicrografías de colonización estructural de HMA en raíces de lechuga (A) arbusculos (AR) 400x. (B) micelio (MH) vesículas (V) 400x. (C) hifa intrarradical (IH) esporas (SP). 400x. ....55

### Capítulo III

Página

Figura 1. Cálculos de pérdidas con la utilización de microorganismos benéficos y tres concentraciones de solución nutritiva de Steiner longitud de hoja (LH), peso de biomasa fresca aérea (PBFA) y área foliar (AF) de arúgula en comparación al tratamiento de solución nutritiva de Steiner 100 % sin inoculación, a los 35 días después del trasplante. Letras distintas para cada variable de respuesta indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). .....68

Figura 2. Fotomicrografías de la colonización de HMA en raíces de arúgula (V) vesículas (Hi) hifas (E) esporas y (A) arbusculos, tomadas con objetivo de 10X. ....69

Figura 3. Colonización por hongos micorrízicos arbusculares en raíces arúgula a 40 días después del trasplante que crecieron en condiciones de hidroponía, las letras distintas indican diferencias estadísticas según la prueba de comparación de medias Tukey ( $P \leq 0.05$ ). .....70

Figura 4. Análisis de los espacios intergénicos ribosomales (ITS) en bacterias aisladas del experimento inoculado con hongos micorrízicos arbusculares y con *Azospirillum brasilense*. (línea 1) Marcador molecular 1 Kb Plus DNA Lader (Invitrogen™); (línea 2) ITS de la cepa CD de *Azospirillum brasilense*; (línea 3) ITS de la cepa bacteriana aislada del tratamiento T5 del experimento con arúgula. (línea 4) ITS de la cepa bacteriana aislada del tratamiento T6 del experimento con arúgula. (línea 5) reacción de la PCR sin ADN (control negativo) .....71

## INTRODUCCIÓN GENERAL

Durante años se ha hecho un desmedido e inconsciente uso de fertilizantes minerales que ha traído consigo un importante daño al medio ambiente y a la salud de los humanos. Esta situación conlleva la búsqueda de alternativas para modificar y mejorar las condiciones del suelo, como el uso de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) que proporcionan una mayor área de exploración del suelo y hacen a las plantas más resistentes a condiciones de estrés, además favorecen la captación de nutrimentos para un mejor desarrollo vegetal (Beltrán -Pineda & Bernal-Figueroa, 2022).

Las micorrizas son las estructuras resultantes de la asociación simbiótica entre el micelio de un hongo y las raíces de las plantas. Esta simbiosis es obligatoria para ambos organismos y fundamental, por lo tanto, para su desarrollo y establecimiento en los ecosistemas (Aggarwa *et al.*, 2012).

Dada la importancia funcional de los HMA, es fundamental conocer su funcionalidad en diferentes condiciones de cultivo y en distintas especies de importancia agrícola. este tipo de HMA son microorganismos rizosféricos, cosmopolitas encontrados en la mayoría de las plantas terrestres, capaces de colonizar el sistema radical y establecer una asociación mutualista o simbiosis con las plantas (Miransari, 2011). La más común es la micorriza arbuscular, que ocurre en un 80 % de las especies vegetales (Brundrett, 2002). El término arbuscular se refiere a los arbusculos que forman dentro de las células de la raíz de las plantas. Por consiguiente, una micorriza arbuscular se define como una simbiosis mutualista con capacidad para producir arbusculos dentro de las células de plantas compatibles. Las micorrizas arbusculares, son endomicorrizas, en donde las hifas se introducen inicialmente entre las células de la raíz, pero luego penetran en el interior de estas, formando vesículas alimenticias y arbusculos. Un HMA tiene tres componentes principales: raíz, las estructuras dentro de las células de la raíz y el micelio extraradical en el suelo (Smith & Smith, 2011).

La planta recibe del hongo principalmente nutrientes minerales y agua (Cuevas *et al.*, 2023) y el hongo obtiene de la planta carbohidratos y vitaminas que él por sí mismo es incapaz de sintetizar, mientras que la planta las obtiene gracias a la fotosíntesis y otras reacciones internas (Vásquez, 2021).

Alvarado *et al.*, (2014) evaluaron la productividad en plantas de tomate saladette inoculadas con el HMA *Rhizophagus intraradices*. Estos autores encontraron que las plantas inoculadas incrementaron significativamente el contenido de clorofila y altura de planta, comparado con plantas no inoculadas. Igualmente, reportaron incrementos significativos en el largo, diámetro y peso de fruto, además, aumentó el rendimiento de fruto por corte y el rendimiento acumulado en 30 %. El empleo de estas técnicas agroecológicas constituye alternativas para la nutrición de las plantas (Martín Alonso *et al.*, 2014) y así lograr una agricultura más sustentable (Le Mire *et al.*, 2016).

Los microorganismos fijadores de nitrógeno y solubilizadores de fósforo son otro grupo fundamental en el campo de los biofertilizantes utilizados actualmente como base para la fabricación de bioestimulantes, los cuales son insumos biológicos de gran importancia en la agricultura ecológica debido a que promueven la circulación de nutrientes requeridos por las plantas y reducen la necesidad de aplicar fertilizantes químicos. Estos insumos tienen la habilidad de convertir elementos nutricionalmente importantes para las plantas desde su forma no disponible a su forma disponible (Pedrero, 2023).

Un ejemplo claro son las bacterias benéficas, tales como *Azospirillum* que es capaz de inducir cambios significativos en varios parámetros de crecimiento, tales como la aceleración de la germinación, aumento de la biomasa aérea de la planta y del peso seco de raíz, incremento en la

velocidad de respiración de la raíz, desarrollo del sistema radical como las raíces laterales, pelos radicales y diámetro de la raíz (Lima *et al.*, 2023).

La mayoría de las investigaciones con hongos micorrízicos arbusculares y rizobacterias benéficas, se han realizado en condiciones de suelo y a campo abierto, pero no se ha explorado su uso con plantas cultivadas en sustratos tales como el tezontle, el cual es una roca volcánica inerte, pero que con la granulometría adecuada proporciona condiciones de retención de humedad y aireación óptimas para el crecimiento de los cultivos.

La presente investigación plantea la hipótesis de que es posible reducir las concentraciones de solución nutritiva de Steiner e incrementar el rendimiento en albahaca, lechuga y arúgula inoculadas con micorrizas arbusculares cultivadas en sustrato y en condiciones de invernadero. Esta reducción será en el uso de fertilizantes y favorecería el uso racional.

### **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el crecimiento y desarrollo de albahaca, lechuga y arúgula inoculadas con micorrizas arbusculares y rizobacterias benéficas cultivadas en sustrato e hidroponía en condiciones de invernadero.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Evaluar el crecimiento vegetal y la extracción nutrimental de macronutrientes en albahaca, lechuga y arúgula en función de la inoculación con la micorriza arbuscular *Rhizophagus intraradices*, *Funeliformes mosseae*, el consorcio micorrízico Cerro del Metate, así el efecto de las rizobacterias benéficas *Azospirillum brasilense* en el crecimiento y rendimiento de albahaca, lechuga y arúgula.

## **HIPÓTESIS GENERAL**

Al menos un hongo micorrízico arbuscular o la rizobacteria benéfica favorecerán el crecimiento y rendimiento de albahaca, lechuga y arúgula cultivadas en sustrato e hidroponía en condiciones de invernadero.

## **HIPÓTESIS ESPECÍFICAS**

El crecimiento de las plantas de albahaca, lechuga y arúgula será mejor al inocular con los hongos micorrízicos arbusculares *Rhizophagus intraradices*, *Funeliformes mosseae*, el consorcio micorrízico Cerro del Metate, así como con *Azospirillum brasilense*.

Al menos un macronutriente será favorecido en su absorción en plantas de albahaca, lechuga y arúgula inoculadas con el hongo micorrízico arbuscular *Rhizophagus intraradices*, *Funeliformes mosseae*, el consorcio micorrízico Cerro del Metate, así como con *Azospirillum brasilense*.

## LITERATURA CITADA

- Aggarwal, A.; Kadian, N.; Neetu, K.; Tanwar, A. y Gupta, K. K. (2012) "Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of salinity stress". *Journal of Applied and Natural Science*, vol. 4, no. 1, pp. 144–155, ISSN 0974-9411
- Alvarado-Carrillo, M., Diaz- Franco, A., & Peña del Río, M. A. (2014). Tomato productivity by arbuscular mycorrhizal in protected agricultura *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* Vol.5 Núm.3
- Beltrán-Pineda, M. E. & Bernal-Figueroa, A. A. (2022). Biofertilizantes: alternativa biotecnológica para los agroecosistemas. *Mutis*, 12(1).  
<https://doi.org/10.21789/22561498.1771>
- Brundrett, M. C. (2002). Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants, *New Phytologist* 154: 275–304
- Cuevas-Suárez, C., Osorio, A. A., Martínez-Maldonado, C. E., & Ortiz-Rodríguez, L. (2023). Evaluación del porcentaje de micorrización en *pinus pseudostrobus lindl* establecido en áreas degradadas adicionando carbón vegetal. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(1), 9687-9401.  
[https://doi.org/10.37811/cl\\_rcm.v7i1.5065](https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i1.5065)
- Lima-Tenório, M. K., Furmam-Cherobim, F., Karas, P. R., Hyeda, D., Takahashi, W. Y., Junior, A. S. P., ... & Etto, R. M. (2023). *Azospirillum brasilense* AbV5/6 encapsulation in dual-crosslinked beads based on cationic starch. *Carbohydrate Polymers*, 308, 120631.
- Martín Alonso, G. M., González Cañizarez, P. J., Rivera Espinosa, R., Arzola Batista, J., & Pérez Díaz, A. (2014). Efecto de la aplicación de **estiércol** vacuno e inoculación micorrizica sobre el crecimiento y producción de semillas de *Canavalia ensiformis* en suelos ferralíticos rojos lixiviados. *Cultivos Tropicales*, 35(1), 86–91.  
<https://ediciones.inca.edu.cu/index.php/ediciones/article/view/814>
- Miransari, M. (2011). Arbuscular mycorrhizal fungi and nitrogen uptake, *Arch Microbiol* 193:77–81 Doi: DOI 10.1007/s00203-010-0657-6
- Smith- Sally, E., Smith- Andrew, F. (2011). Roles of Arbuscular Mycorrhizas in Plant Nutrition and Growth: New Paradigms from Cellular to Ecosystem Scales, *Plant Biol.* 62:227–50
- Vásquez Chui, S. A. (2021). Efecto de consorcios de hongos micorrízicos arbusculares sobre el rendimiento de (*Plukenetia volubilis* L.), bajo condiciones de campo en la provincia de San Martín. Universidad Nacional de San Martín.

<http://repositorio.unsm.edu.pe/handle/11458/4136>

Pedrero Huerta, G. (2023). Desarrollo de plantas comestibles por efecto de su rizósfera como abono microbiológico para zonas de tierra poco fértil. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(1), 7226-7234.

[https://doi.org/10.37811/cl\\_rcm.v7i1.4955](https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i1.4955)

## CAPÍTULO I

### Crecimiento de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) 'Sweet Nufar' inoculada con hongos micorrícicos arbusculares y *Azospirillum brasilense*

#### Resumen

El uso de microorganismos benéficos en la agricultura puede incrementar la productividad de los cultivos agrícolas; sin embargo, existen pocos estudios que consideran a las plantas aromáticas, como la albahaca (*Ocimum basilicum* L.). El objetivo del presente estudio fue evaluar el crecimiento de albahaca 'Sweet Nufar' inoculada con hongos micorrícicos arbusculares (HMA) y *Azospirillum brasilense*. Los tratamientos ensayados fueron: 1) sin microorganismos (testigo), 2) *Rizhophagus intraradices*, 3) *Funneliformis mosseae*, 4) consorcio de HMA denominado CM, 5) *Azospirillum brasilense*, 6) *R. intraradices* + *A. brasilense* y 7) sin microorganismos e irrigados con solución nutritiva de Steiner al 100 %. Los tratamientos del 1 al 6 se irrigaron con la misma solución nutritiva de Steiner, pero al 50 %. Cincuenta días después del trasplante se midieron variables de crecimiento, concentración mineral, porcentaje de colonización micorrízica y número de esporas de HMA. Los HMA y la bacteria *A. brasilense* incrementaron el peso de biomasa fresca y el área foliar de albahaca 'Nufar', lo cual se asoció con la mayor concentración de nitrógeno y potasio en el tejido vegetal. Lo anterior implica que los microorganismos evaluados aumentan el desarrollo y el crecimiento de albahaca cultivada con niveles de nutrición mineral reducido, lo que representa una alternativa sustentable en el manejo agronómico de este cultivo en condiciones de invernadero.

**Palabras clave:** hongos micorrícicos arbusculares, bacterias promotoras de crecimiento, nutrición de cultivos, sustrato inerte.

## **Growth of basil (*Ocimum basilicum* L.) 'Sweet Nufar' inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and *Azospirillum brasilense***

### **Abstract**

The use of beneficial microorganisms in agriculture can increase the productivity of agricultural crops; however, there are few studies that consider aromatic plants, such as basil (*Ocimum basilicum* L.). The objective of the present study was to evaluate the growth of 'Sweet Nufar' basil inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and *Azospirillum brasilense*. The treatments tested were: 1) without microorganisms (control), 2) *Rizhophagus intraradices*, 3) *Funneliformis mosseae*, 4) Cerro del Metate AMF consortium, 5) *Azospirillum brasilense*, 6) *R. intraradices* + *A. brasilense*, 7) without microorganisms and irrigated with Steiner nutrient solution at 100% concentration. Treatments 1 to 6 were irrigated with the same nutrient solution, but with 50 % concentration. Fifty days after transplanting, the following variables were measured: growth variables, mineral concentration, percentage of colonization and number of AMF spores. The arbuscular mycorrhizal fungi and the bacterium *A. brasilense* increased the weight of fresh biomass and leaf area of basil 'Nufar', associated with the higher concentration of nitrogen and potassium in the plant tissue. This implies that the microorganisms evaluated increased the development and growth of basil cultivated at a reduced level of mineral nutrition, which represents a sustainable alternative in the agronomic management of this crop under greenhouse conditions.

**Keywords:** arbuscular mycorrhizal fungi, growth promoting bacteria, crop nutrition, inert substrate.

## Introducción

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son microorganismos rizosféricos cosmopolitas que se encuentran en hasta 80% de las especies vegetales terrestres, cuya característica principal es la capacidad de colonizar el sistema radical y establecer una asociación mutualista o de simbiosis con las plantas (Brundrett & Tedersoo, 2018). El término arbuscular se refiere a las estructuras fúngicas denominados arbusculos que se forman dentro de las células de la raíz de las plantas; por consiguiente, una micorriza arbuscular se define como una simbiosis mutualista con capacidad para producir arbusculos dentro de las células de plantas compatibles (Köhl *et al.*, 2016).

Las micorrizas arbusculares son endomicorrizas, en las que las hifas se introducen inicialmente entre las células de la raíz para luego penetrar en el interior de estas, formando vesículas alimenticias y arbusculos. Una micorriza arbuscular tiene tres componentes principales: la raíz, las estructuras dentro de las células de la raíz y el micelio extraradical en el suelo (Smith & Smith, 2011). La planta recibe nutrientes y agua de la micorriza (Camarena-Gutiérrez, 2012), y el hongo obtiene de la planta carbohidratos y vitaminas que por sí mismo es incapaz de sintetizar, esta simbiosis le permite a la micorriza obtener hasta el 20 por ciento del carbono total al que acceden las plantas el cual utilizan para proliferar en condiciones desfavorables. (Thioub *et al.*, 2019).

Otros beneficios de importancia que aporta a la planta esta simbiosis hospedante son: la promoción del crecimiento y la mayor absorción de minerales (Díaz *et al.*, 2018), así como la tolerancia a patógenos del suelo (Tahat *et al.*, 2010). Se ha identificado que algunos tipos de micorrizas como *Funneliformis mosseae* modifican la anatomía de las raíces tanto en longitud y volumen como el área de exploración, lo que hace a las plantas inoculadas más eficaces en la absorción de elementos como nitrato del suelo (Huang *et al.*, 2019). Las micorrizas incrementan la absorción de iones minerales poco móviles o inmóviles del suelo. Las hifas de los HMA crecen más allá de la

rizosfera, lo que incrementa la superficie absorbente de las raíces. La actividad del micelio del HMA resulta en un incremento en la eficiencia de la absorción de nutrientes al explorar un mayor volumen de suelo, en contraste con las raíces sin inoculación (Vallejos *et al.*, 2021).

Por otro lado, las bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR, por sus siglas en inglés) son un grupo de microorganismos que pueden incrementar el crecimiento y la productividad de cultivos; los géneros más conocidos y utilizados en la agricultura son: *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, entre otros. Se ha encontrado que tienen beneficios para las plantas, tales como son la fijación de nitrógeno atmosférico, la solubilización de fósforo y la producción de fitohormonas que contribuyen al desarrollo de las plantas (Berendsen *et al.*, 2012). Se ha reportado que la inoculación de plantas con *Azospirillum brasilense* induce cambios en el crecimiento vegetal tales como aceleración de la germinación, aumento de la biomasa aérea de la planta, de la biomasa seca de raíz, de la velocidad de respiración de la raíz, del desarrollo del sistema radical, de los pelos radicales y del diámetro de la raíz (Canto *et al.*, 2004).

Las investigaciones que evalúan la interacción entre HMA y *A. brasilense* en albahaca (*Ocimum basilicum*) son escasas, sin embargo, se conoce que la interacción entre diferentes microorganismos puede ser positiva para mejorar la absorción de nutrientes como nitrógeno y fósforo, elementos que son importantes para el crecimiento y desarrollo de las plantas (García-Gutiérrez *et al.*, 2012). Por otra parte, la albahaca, es una planta aromática de importancia comercial que se usa como alimento y también en la industria cosmética y farmacéutica (Juárez-Rosete *et al.*, 2013). En México, la albahaca fresca generalmente se destina al mercado de exportación y en el año 2019 se produjeron 3103.4 t que generó un valor de producción de casi 50 millones de pesos (SIAP, 2020). En este contexto, se han reportado efectos positivos con el uso de hongos micorrízicos arbusculares o rizobacterias benéficas en el crecimiento y rendimiento en hortalizas de fruto (Chiquito-Contreras *et al.*,

2020), pero son pocas las investigaciones en albahaca. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto en el crecimiento de albahaca inoculada con hongos micorrízicos arbusculares y *A. brasilense*.

## **Materiales y métodos**

### **Localización del experimento**

El experimento se realizó en un invernadero tipo túnel con cubierta plástica de color blanco que proporcionó sombreado de 30% y con malla antiáfidos en las paredes laterales, perteneciente a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, localizado en Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México; a 18° 58' 51" LN, 99° 13' 55" LO y altitud de 1866 m.

### **Diseño experimental y tratamientos**

Se utilizó un diseño completamente al azar, con siete tratamientos y seis repeticiones. Las condiciones ambientales en el invernadero se monitorearon con un *datalogger* modelo U12 (Hobo®, Massachusetts, EUA): temperatura promedio de 25 °C, humedad relativa promedio de 55 % y la media de la radiación solar de 514  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . La unidad experimental fue una maceta que contenía una planta de albahaca. Los tratamientos fueron: 1) sin inocular microorganismo (testigo), 2) *Rhizophagus intraradices*, 3) *Funneliformis mosseae*, 4) consorcio de HMA Cerro del Metate, 5) *Azospirillum brasilense*, 6) *R. intraradices* + *A. brasilense*, 7) sin inocular microorganismo y regado con solución nutritiva de Steiner al 100% de concentración. El tratamiento 7 solo se usó para determinar el efecto en el crecimiento en comparación con los tratamientos irrigados con la solución nutritiva de Steiner al 50 % y con inoculaciones de los microorganismos. Los tratamientos del 1 al 6 se regaron todos los días de forma manual con 0.5 L de solución nutritiva de Steiner al 50

% (Steiner, 1984) durante las primeras tres semanas y con 1.5 L de solución nutritiva de Steiner durante el periodo restante del estudio, es decir, hasta los 50 días después del trasplante (ddt), momento en que se realizó la cosecha de las plantas.

### **Material vegetal, microbiológico y siembra de las plantas de albahaca**

El cultivar de albahaca que se utilizó fue 'Sweet Nufar' (SunLine AG Inc; California, EUA). Las semillas se sembraron el 29 de marzo de 2019 en bandejas de poliestireno de 200 cavidades con sustrato de germinación Sunshine® Mix 3, previamente esterilizado con autoclave AESA modelo cv 300, durante 15 min a 120 °C (0.98 a 1.05 kg cm<sup>-2</sup> de presión de vapor), de acuerdo a la metodología descrita por Zulueta-Rodríguez, *et al.* (2016). La cepa Cd de *Azospirillum brasilense* fue proporcionada por el Centro de Biotecnología de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos y los hongos micorrízicos arbusculares por el Laboratorio de Fitopatología del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ). El inóculo de *Funneliformis mosseae* se aisló del consorcio Cerro del Metate, la cepa de *Rizhophagus intraradices* se aisló del producto Micorriza INIFAP y el consorcio Cerro del Metate fue aislado de la montaña Cerro del Metate, ubicada en Michoacán, a partir de la rizosfera de *Agave cupreata* (Trinidad-Cruz *et al.*, 2017).

### **Inoculación de las plantas de albahaca con los HMA**

El trasplante se realizó el 4 de mayo de 2019 (38 días después de la siembra). Las plántulas de albahaca se colocaron en macetas de plástico con capacidad de 5 L, las cuales contenían tezontle con granulometría de 1 a 5 mm de diámetro, previamente esterilizado en autoclave durante 15 min a 120 °C (0.98 a 1.05 kg cm<sup>-2</sup> de presión de vapor). Los tratamientos se establecieron al

momento del trasplante, los HMA se aplicaron en dosis de 150 esporas por planta, las cuales se encontraban en arena de río como medio de inoculación y se aplicaron directamente a raíz desnuda en las plántulas de albahaca.

### **Inoculación de las plantas de albahaca con *A. brasilense***

Las plantas de albahaca fueron inoculadas con la cepa Cd de *A. brasilense* a una concentración de  $1.04 \times 10^9$  unidades formadoras de colonias (UFC) por g de sustrato seco (Bashan, 1986). El conteo de las UFC se efectuó mediante la metodología descrita en Peña-Cortés *et al.* (2011); las macetas tuvieron 3 kg de tezontle y las inoculaciones se realizaron cada 2 semanas a partir del 14 de mayo de 2019 hasta la cosecha a los 50 ddt.

### **Variables de crecimiento vegetal**

La cosecha se realizó a los 50 ddt y se determinaron las siguientes variables: altura de planta (cm); diámetro del tallo (mm); peso de biomasa aérea fresca y seca (g) y área foliar (cm<sup>2</sup>).

### **Disminución de crecimiento en albahaca por efecto de la reducción en la concentración de nutrientes de la solución nutritiva de Steiner**

Con la finalidad de conocer el efecto de la disminución de la solución nutritiva de Steiner en el cultivo de albahaca sobre las variables de altura de planta, peso de biomasa fresca y área foliar, se realizó una comparación entre las diferencias porcentuales de dichas variables, el cual fue calculado al restar la media del tratamiento de la solución nutritiva de Steiner al 100 % (tratamiento 7) de concentración de cada una de las observaciones de los tratamientos que fueron regados con la solución nutritiva de Steiner al 50 % de concentración. El cálculo se realizó con la siguiente expresión:

$$\text{Disminución de crecimiento vegetal} = ((\bar{X}_7 - Y_{ij}) / \bar{X}_7) * 100.$$

Donde:

$\bar{X}_7$ = Media del tratamiento siete (100 % de concentración de solución nutritiva de Steiner).

$Y_{ij}$ = Observación de i-ésimo tratamiento en la j-ésima repetición (50 % de concentración de solución nutritiva de Steiner).

### **Concentración de macronutrientes**

La biomasa seca aérea (hojas y tallos) de las seis repeticiones de cada tratamiento se molió con un molino eléctrico (Osterizer, Modelo 004108-013-000, EUA). Posteriormente, se determinó la concentración de N, por el método microkjeldahl; P por colorimetría, K por flamometría, Ca y Mg por espectrofotometría de absorción atómica (Cruz-Álvarez, *et al.*, 2020).

### **Colonización micorrízica y número de esporas de los HMA**

Como un indicador de la eficiencia y funcionalidad de los inóculos de los HMA en las plantas de albahaca, se determinó el porcentaje de la colonización micorrízica (PCM) por estructura fúngica a los 50 ddt. Se recolectaron raíces de cada una de las repeticiones al finalizar el experimento, las cuales fueron fijadas en FAA (formaldehído: ácido acético: etanol 2:1:10:7); posteriormente, las raíces fueron clareadas y teñidas (Phillips & Hayman, 1970). El porcentaje de colonización micorrízica se evaluó en 30 segmentos de raíz de 1 cm, mediante el método descrito por Mcgonigle *et al.* (1990), y con un microscopio Zeiss modelo k7 (Alemania) se determinó el PCM.

El número de esporas en 100 g de suelo seco (DE) se determinó con la extracción realizada por el método de tamizado húmedo y decantación (Gerdemann & Nicolson, 1963); el conteo de esporas se realizó de manera visual y con un contador manual, con un estéreo-microscopio (VE-S5C, VelabMR) se observó el tamizado con agua en una caja de Petri (90 mm) cuadrículada y se registró el número de esporas.

## **Análisis estadístico**

Para asegurar la normalidad, los datos expresados en porcentaje se transformaron con la raíz cuadrada del arcoseno. 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 ( $P \leq 0.05$ ), mediante el programa *Statistical Analysis System* versión 9.1 SAS (SAS Institute Inc., 2004).

## **Resultados y discusión**

### **Crecimiento de albahaca inoculada con HMA y *A. brasilense***

En general, tanto los HMA como *A. brasilense* favorecieron el crecimiento de albahaca 'Sweet Nufar' ( $P \leq 0.05$ ) (Cuadro 1). La aplicación de *A. brasilense* favoreció el mayor crecimiento de la planta en comparación con el testigo, pero no hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos de HMA ni con la combinación entre *R. intraradices* + *A. brasilense*. La inoculación con *A. brasilense* incrementó 15 % la altura de planta, 18 % en diámetro de tallo, 28 % de peso de biomasa fresca, 27 % de peso de biomasa seca y 24 % en área foliar en comparación al testigo (Cuadro 1). Estos resultados coinciden con Cruz-Romero *et al.* (2016), quienes evaluaron el crecimiento de plántulas de brócoli, lechuga y tomate inoculadas con *A. brasilense* y reportaron incremento de 11% en diámetro de tallo, 38% en área foliar y 29% en biomasa seca aérea.

Se ha documentado que *A. brasilense* incrementa la asimilación de nitrógeno en especies como maíz y trigo (Mariani-Zeffa *et al.*, 2019; Shintate-Galindo *et al.*, 2020) lo cual mejora el desarrollo de las plantas incluso cuando los niveles de fertilización son limitados, lo que coincide con los resultados del presente estudio, ya que se obtuvo 15 % más de nitrógeno en las plantas con el uso de *A. brasilense* en comparación con el testigo (Cuadro 2). Al respecto, Pereira-

Coelho *et al.* (2021) mencionan que *A. brasilense* forma simbiosis con las plantas e incrementa su capacidad de asimilación de agua y nutrientes, lo que mejora el crecimiento y rendimiento de los cultivos agrícolas.

La inoculación de *R. intraradices* mejoró 7% el peso de biomasa fresca aérea, 22% área foliar; *F. mosseae* incrementó el diámetro 12% de tallo y 17% área foliar, en comparación con el testigo (Cuadro 1). Estos efectos positivos en el crecimiento también se han reportado con el uso de HMA en tomate (Bona *et al.* 2017) y en haba (Abd-Alla *et al.*, 2014).

Cuadro 1. Crecimiento de plantas de albahaca 'Sweet Nufar' inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares y *A. brasilense* en condiciones de invernadero.

Tratamiento	AP (cm)	DT (mm)	PBF (g)	PBS (g)	AF (cm <sup>2</sup> )
Testigo (sin microorganismos)	35.2 b <sup>z</sup>	6.6 b	99.4 c	10.6 b	2026.6 b
<i>Rizhophagus intraradices</i>	37.8 ab	7.2 ab	118.7 ab	12.1 ab	2492.5 a
<i>Funneliformis mosseae</i>	37.7 ab	7.4 a	112.9 abc	12.2 ab	2373.8 a
Consortio Cerro del Metate	39.0 ab	7.3 ab	111.4 bc	11.6 ab	2302.4 ab
<i>Azospirillum brasilense</i>	40.6 a	7.8 a	127.5 a	13.5 a	2518.2 a
<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	36.5 ab	7.3 ab	123.0 ab	12.1 ab	2516.3 a
CV (%)	7.54	6.61	7.33	10.34	7.12
DMSH	5.00	0.78	14.87	2.18	296.57

AP: altura de planta; DT: diámetro de tallo; PBF: peso de biomasa fresca; PBS: biomasa seca; AF: área foliar. CV: Coeficiente de variación; DMSH: diferencia mínima significativa honesta de Tukey. <sup>z</sup>Valores con la misma letra dentro de las mismas columnas son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

La combinación entre *R. intraradices* + *A. brasilense* incrementó 24% el peso

de biomasa fresca aérea y 24% área foliar en comparación con el testigo, lo cual coincide con lo descrito por Mujica-Pérez *et al.* (2017), quienes reportaron que la inoculación de bacterias promotoras de crecimiento en combinación con hongos micorrízicos arbusculares genera un efecto sinérgico que se refleja en un mejor desarrollo de las plantas.

### **Disminución de crecimiento en albahaca por efecto de la reducción en la concentración de la solución nutritiva de Steiner**

Con la inoculación de *A. brasilense* se obtuvo la menor disminución de crecimiento ( $P \leq 0.05$ ) en albahaca por efecto de la reducción de la solución nutritiva de Steiner al 50 %, en las variables: altura de planta, peso de biomasa fresca y área foliar, pero fue similar a la disminución en el crecimiento con la inoculación de HMA y la combinación de *R. intraradices* + *A. brasilense*, en comparación con el tratamiento con solución nutritiva de Steiner a concentración de 100 % (Figura 1). Se observó que las mayores disminuciones ocurrieron cuando no se inoculó algún microorganismo benéfico; así, las plantas testigo tuvieron disminución de 15.6 % en altura de planta, 49.9 % en peso fresco y 46.6 % en área foliar. Al respecto, Chiquito-Contreras *et al.* (2018) reportaron que la inoculación con rizobacterias promotoras de crecimiento, tienen la capacidad de mejorar el desarrollo de plantas de albahaca e incrementar favorablemente variables como altura de planta y peso de biomasa fresca, las cuales son determinantes en el crecimiento de este cultivo.

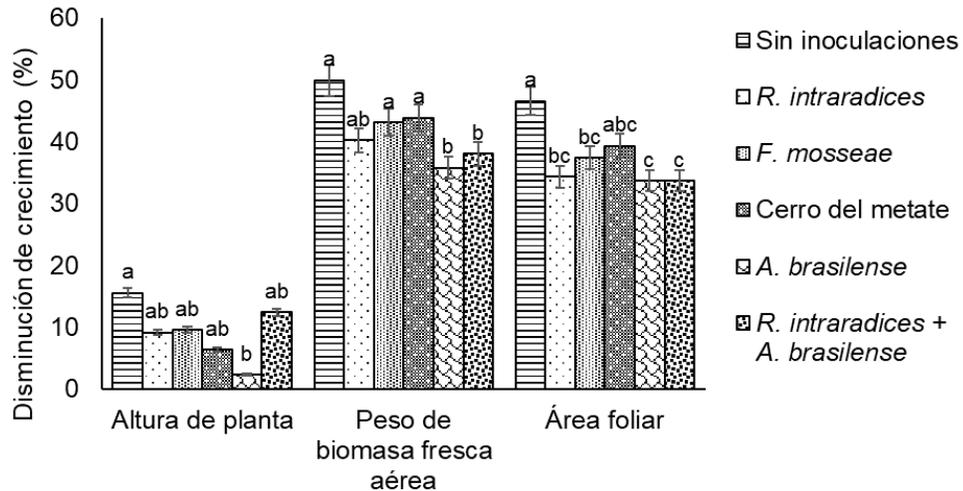


Figura 1. Disminución de crecimiento en albahaca 'Sweet Nufar' cultivada con solución nutritiva de Steiner al 50 %, en comparación al tratamiento de solución nutritiva de Steiner a concentración de 100 %, a los 50 días después del trasplante. Letras distintas para cada variable de respuesta indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

### Concentración de macronutrientes

Con el uso de microorganismos benéficos, mejoró la concentración de nutrientes en las plantas de albahaca, principalmente N y K ( $P \leq 0.05$ ) respecto al testigo (Cuadro 2). La concentración de N en las plantas donde se inoculó con *R. intraradices* incrementó 17 %, seguido por las plantas donde se aplicó *A. brasilense* con aumento de 16 % y también en las plantas donde hubo inoculación de ambos microorganismos, aumentó 15 % la concentración de este elemento. Para el P el mejor tratamiento fue la inoculación de *A. brasilense*, ya que se incrementó la concentración en 11%; el mayor incremento de K se obtuvo con el consorcio Cerro del Metate, con 20% más que el testigo; para el caso de Mg, las mayores concentraciones se obtuvieron con la inoculación *R. intraradices* + *F. mosseae*, con incremento de entre 18 y 20% respectivamente, en comparación con el testigo. Se ha reportado que la utilización de microorganismos benéficos como rizobacterias y HMA permiten a las plantas absorber cantidades mayores de nutrientes esenciales (Díaz-Hernández *et al.*, 2018). Para el caso de Ca, con excepción de *A. brasilense*, no hubo diferencias

significativas ( $P \leq 0.05$ ).

Cuadro 2. Efecto de la inoculación de microorganismos benéficos en la concentración de macronutrientes en albahaca 'Sweet Nufar' cultivada en tezontle y en condiciones de invernadero.

Tratamiento	N	P	K	Ca	Mg
	------(%)-----				
Testigo (sin microorganismos)	2.99 b <sup>z</sup>	0.44b	2.53 c	2.02 a	1.06 bc
<i>Rizhophagus intraradices</i>	3.49 a	0.47 ab	2.71 bc	1.93 a	1.28 a
<i>Funneliformis mosseae</i>	3.22 ab	0.47 ab	2.95 ab	2.02 a	1.25 a
Consortio Cerro del Metate	3.12 ab	0.44 b	3.04 a	2.10 a	1.07 bc
<i>Azospirillum brasilense</i>	3.46 a	0.49 a	2.86 ab	1.26 b	1.20 ab
<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	3.44 a	0.46 b	2.93 ab	1.79 a	1.01 bc
CV (%)	4.67	2.69	3.19	8.66	4.41
DMSH	0.42	0.03	0.24	0.47	0.14

<sup>z</sup>Medias con distintas letras en la misma columna son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). CV: coeficiente de variación, DMSH: diferencia mínima significativa honesta de Tukey.

### Colonización micorrízica (PCM) y número de esporas de HMA

En la Figura 2A se muestra un corte longitudinal de raíz del testigo, donde de acuerdo con lo esperado, no se observó ninguna estructura de los HMA. En la colonización de los hongos micorrízicos *R. intraradices* (Figura 2B), *F. mosseae* (Figura 2C) y consorcio Cerro del Metate (Figura 2D) en raíces de albahaca, se observó la presencia de algunas de las estructuras características de los HMA, esto es, la presencia de hifas intrarradicales, vesículas y arbusculos (Figuras 2E, 2F y 2G). La funcionalidad de las micorrizas sobre la nutrición de la planta está dada por el grado de madurez de la micorriza, además de las condiciones en las que ésta se desarrolle (Lara-Pérez *et al.*, 2014).

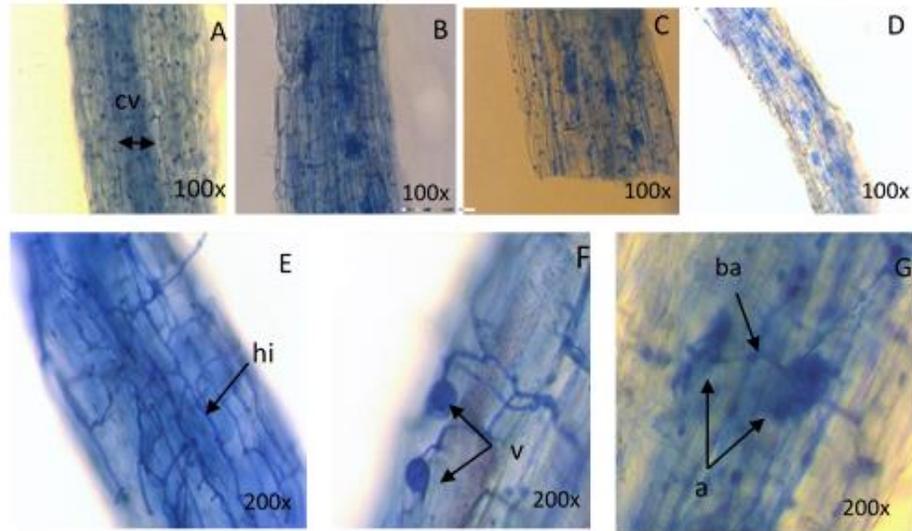


Figura 2. Observaciones de la colonización de los hongos micorrízicos arbusculares *Rhizopagus intraradices* (B), *Funneliformis mosseae* (C) y consorcio de HMA Cerro del Metate (D), secciones longitudinales de raíces de albahaca 'Sweet Nufar': en A (testigo), se muestra el cilindro vascular (cv); en E, hifas intrarradicales (hi); en F, vesículas (v); en G, arbusculos (a) y la base del arbusculo (ba).

Los inóculos de HMA colonizaron las raíces de las plantas, ya que se encontró que los PCM por hifas fueron los más altos (35.9 - 37.7%), seguidos por los arbusculos (13.0 - 14.8 %); sin embargo, no hubo diferencias entre ellos ( $P \leq 0.05$ ) (Figura 3). En cuanto a las vesículas, el intervalo fue de 4 a 8 %, y se encontraron diferencias ( $P \leq 0.05$ ) entre *R. intraradices* y el resto de los HMA. Estos resultados difieren con los reportados por Elhindi, El-Din, & Elgorban (2017) quienes en albahaca 'Nano Compatt' encontraron PCM de 60.6 a 71.1 %; por su parte, Zulueta *et al.* (2016) reportaron PCM de entre 75 y 87 % en albahaca 'Nufar'. Estas diferencias pueden deberse, además de las condiciones de cultivo, al uso de diferentes sustratos, los HMA inoculados y a las condiciones del tiempo de exposición de las plantas al inóculo, ya que en esos estudios la duración de los experimentos fue entre 70 y 120 días, respectivamente.

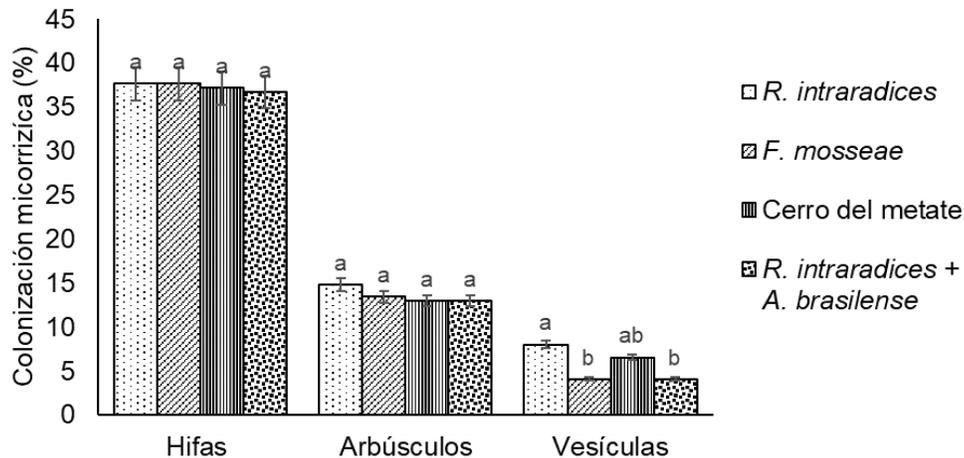


Figura 3. Colonización micorrízica en raíces de albahaca (*Ocimum basilicum*) inoculada con HMA a 50 días después del trasplante en condiciones de invernadero. Letras distintas indican diferencias significativas, según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

Con la coinoculación de *R. intraradices* + *A. brasilense*, no hubo un efecto positivo sobre el PCM del HMA, lo cual contrasta con lo reportado por Meng *et al.* (2015) en maíz y soya, quienes indican que la interacción de HMA y bacterias promotoras de crecimiento tienden a incrementar la población de ambos individuos en la rizosfera, en consecuencia, se pueden presentar valores más altos de PCM. También se confirmó que en el testigo y en *A. brasilense* presentaron 0 % de colonización, ya que estos tratamientos no contuvieron HMA.

Otro indicador para determinar la eficiencia micorrízica fue el número de esporas presentes en el sustrato donde se desarrollaron las plantas. A los 50 ddt, no se encontraron diferencias ( $P \leq 0.05$ ) en el número de esporas. Los valores oscilaron de 240 a 272 esporas por cada 100 g de sustrato. Estos valores se consideran bajos comparados con los reportados por Quiñones-Aguilar *et al.* (2014), quienes en el cultivo de papaya encontraron de 1000 a 4500 esporas después de 120 días de inoculación en sustratos orgánicos. Resulta importante señalar que la esporulación de los HMA es un mecanismo

de supervivencia (Johnson, 1984), que podría ser influenciada por el tipo de sustrato. Corbera *et al.* (2008) indican que las propiedades físicas y biológicas del sustrato son determinantes en el buen desarrollo de los HMA, así como la edad de la planta (Agüero-Fernández *et al.*, 2016). En el presente estudio se utilizó tezontle como medio de crecimiento, y debido a que es un sustrato inerte, pudo haber interferido en el proceso de esporulación; no obstante, esa misma característica inerte garantizó que los resultados obtenidos se deben al efecto de los microorganismos y a la interacción de los mismos con las plantas de albahaca.

### **Conclusiones**

Los hongos micorrízicos arbusculares *Rizhophagus intraradices*, *Funneliformis mosseae*, el consorcio micorrízico Cerro del Metate, así como la bacteria *Azospirillum brasilense* mejoraron el crecimiento de albahaca 'Sweet Nufar', expresado en incremento del peso de biomasa fresca y del área foliar; este aumento de crecimiento estuvo asociado a una mayor concentración de nitrógeno y potasio en el tejido vegetal. Los microorganismos evaluados en el crecimiento de albahaca cultivada con nivel reducido de nutrición mineral pueden servir de alternativa sustentable en el manejo agronómico de este cultivo en condiciones de invernadero.

## Literatura citada

- Abd-Alla, M. H., El-Enany, A., Nafady, N., Khalaf, D., & Morsy, F. (2014). Synergistic interaction of *Rhizobium leguminosarum* bv. viciae and arbuscular mycorrhizal fungi as a plant growth promoting biofertilizers for faba bean (*Vicia faba* L.) in alkaline soil. *Microbiological Research*, 169(1): 49-58. doi: [10.1016/j.micres.2013.07.007](https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.07.007)
- Agüero-Fernández, Y. M., Hernández-Montiel, L. G., Nieto-Garibay, A., Troyo-Diéguez, E., Zulueta-Rodríguez, R., Murillo-Amador, B. (2016). Arbuscular mycorrhizal fungi as agents of NaCl mitigators in basil seedlings. *Nova Scientia*, 8(2): 60-86. 387. doi: 10.1128/aem.51.5.1067-1071.1986
- Bashan Y. (1986). Enhancement of wheat root colonization and plant development by *Azospirillum brasilense* Cd. Following temporary depression of rhizosphere microflora. *Applied and Environmental Microbiology*, 51(5): 1067-1071. doi: [10.1128/aem.51.5.1067-1071.1986](https://doi.org/10.1128/aem.51.5.1067-1071.1986)
- Berendsen, R., Pieterse, C., M., & Bakker, P. (2012). The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Science*, 17(8): 478-486. doi: [10.1016/j.tplants.2012.04.001](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.001)
- Bona, E., Cantamessa, S., Massa, N., Manassero, P., Marsano, F., Copetta A., ...Berta G. (2017). Arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting pseudomonads improve yield, quality and nutritional value of tomato: a field study. *Mycorrhiza*, 27(1): 1-11. doi: [10.1007/s00572-016-0727-y](https://doi.org/10.1007/s00572-016-0727-y)
- Brundrett, M., & Tedersoo, L. (2018). Evolutionary history of mycorrhizal symbioses and global host plant diversity. *New Phytologist*, 220(4): 1108-1115. doi: [10.1111/nph.14976](https://doi.org/10.1111/nph.14976)
- Camarena-Gutiérrez, G. (2012). Interacción planta-hongos micorrízicos arbusculares, *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales*, 18(3): 409-421. doi: [10.5154/r.rchscfa.2011.11.093](https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2011.11.093)
- Canto-Martín, J., Medina-Peralta, S., & Morales-Avelino, D. (2004). Effect of *Azospirillum* sp. Inoculation in habanero chile plants (*Capsicum chinense* Jacquin). *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 4: 21-27. Retrieved from <https://www.redalyc.org/pdf/939/93940104.pdf>
- Chiquito-Contreras, R. G., Solís-Palacios, R., Reyes-Pérez, J. J., Murillo-Amador, B., Alejandro-Rosas, J., & Hernández-Montiel, L. G. (2018). Growth promotion of sweet basil by arbuscular mycorrhizal fungi and a marine bacterium. *Acta Universitaria*, 28(6): 68-76. doi: [10.15174/au.2018.2086](https://doi.org/10.15174/au.2018.2086)
- Chiquito-Contreras, R., Reyes-Pérez, J., Chiquito-Contreras, J., Vidal-Hernández, L., & Hernández-Montiel, L. (2020). Efecto de rizobacterias y

- dosis reducidas de fertilizantes sintéticos sobre la expresión morfo-productiva de tomate en invernadero. *ITEA-Información Técnica Económica Agraria*, 116(1): 19-29. doi: [10.12706/itea.2019.015](https://doi.org/10.12706/itea.2019.015)
- Corbera, C. J., Paneque, V. M., Calaña, J. M., & Morales, C. (2008). Evaluación de sustratos y aplicación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en el cultivo de *Anthurium andreanum* en etapa de vivero. *Cultivos Tropicales*, 29(4): 50-62. Retrieved from [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-59362008000400004](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362008000400004)
- Cruz-Álvarez, O., Hernández-Rodríguez, O. A. Jacobo-Cuellar, J. L., Ávila-Quezada, G., Morales-Maldonado, E., Parra-Quezada, R. A, ... Ojeda-Barrios, D. L. (2020). Nitrogen fertilization in pecan and its effect on leaf nutrient concentration, yield and nut quality. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 26(3), 163-173. doi: [10.5154/r.rchsh.2019.10.021](https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2019.10.021)
- Cruz-Romero, W., Barrios-Díaz, J. M., Rodríguez-Mendoza, M. N., & Espinoza-Victoria, D., Tirado-Torres, J. L. (2016). Producción de plántulas de hortalizas con *Azospirillum sp.* y aspersión foliar de miel de abeja. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7: 59-70. Retrieved from <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=263144153005>
- Díaz-Hernández, B. G., Aguirre-Medina, J. F., & Díaz-Fuentes V. H. (2018). Rendimiento de *Jatropha curcas* L. inoculada con micorriza y aplicación de composta de caña. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 4, 599-610. doi: 10.29312/remexca.v4i4.1192.
- Elhindi, K. M., El-Din, A. S., & Elgorban, A. M. (2017). The impact of arbuscular mycorrhizal fungi in mitigating salt-induced adverse effects in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(1): 170-179. doi: [10.1016/j.sjbs.2016.02.010](https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.02.010)
- García-Gutiérrez, L., Romero, D., Zerriouh, H., Cazorla, F. M., Torés, J. A., ...& Pérez-García, A. (2012). Isolation and selection of plant growth-promoting rhizobacteria as inducers of systemic resistance in melon. *Plant Soil*, 358, 201-212. doi: 10.1007/s11104-012-1173-z
- Gerdemann, J. W., & Nicolson, T. H. (1963). Spores of Mycorrhizal Endogone Species Extracted from Soil by Wet Sieving and Decanting. *Transactions of the British Mycological Society*. 46, 235-244. doi: 10.1016/S0007-1536(63)80079-0
- Huang, L., Chen, D., Zhang, H., Song, Y., Chen, & Tang, M. (2019). *Funneliformis mosseae* Enhances root development and Pb phytostabilization in *Robinia pseudoacacia* in Pb-contaminated soil. *Frontiers in Microbiology*, 12: 2591. doi: [10.3389/fmicb.2019.02591](https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02591)
- Johnson C. R. (1984). Phosphorus nutrition on mycorrhizal colonization, photosynthesis, growth and nutrient composition of *Citrus aurantium*. *Plant*

- and Soil*, 80(1): 35-42. doi: [10.1007/BF02232937](https://doi.org/10.1007/BF02232937)
- Juárez-Rosete, C., Aguilar-Castillo, J., Juárez-Rosete, M., Bugarin-Montoya, R., Juárez-López, P., & Cruz-crespo, E. (2013). *Hierbas aromáticas y medicinales en México: tradición e innovación*. *Revista Bio Ciencias*, 2(3): 119-129. doi: 10.15741/revbio.02.03.06
- Köhl, L., Lukasiwicz, C. E., & van der Heijden, M. G. A. (2016). Establishment and Effectiveness of Inoculated Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Agricultural Soils. *Plant, Cell and Environment*, 39: 136-146. doi: [10.1111/pce.12600](https://doi.org/10.1111/pce.12600)
- Lara-Pérez, L. A., Noa-Carrazana, J. C., Landa-López, Á., Hernández-González, S., Oros-Ortega, I., & Andrade-Torres, A. (2014). Colonization and structure of arbuscular mycorrhizal fungi community in *Alsophila firma* (Cyatheales: Cyatheaceae) from a tropical montane cloud forest in Veracruz, México. *Revista de Biología Tropical*, 62(4): 1609-1623. doi: [10.15517/rbt.v62i4.13324](https://doi.org/10.15517/rbt.v62i4.13324)
- Mariani-Zeffa, D., Junior-Perini, L., Barbosa-Silva, M., Vieira de Sousa, N., Scapim, C. A., Martinez de Oliveira, A. L. ...Azeredo-Gonçalves, L. S. (2019). *Azospirillum brasilense* promotes increases in growth and nitrogen use efficiency of maize genotypes. *PLoS One*, 14(4): 1-19. doi: [10.1371/journal.pone.0215332](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215332)
- 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: 495-501. doi: 10.1111/j.1469-8137.1990.tb00476.x
- Meng, L., Zhang, A., Wang, F., Han, X., Wang, D., & Li, S. (2015). Arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobium facilitate nitrogen uptake and transfer in soybean/maize intercropping system. *Frontiers in Plant Science*. 6:339. doi: [10.3389/fpls.2015.00339](https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00339)
- Mujica-Pérez, Y., Medina-Carmona, A., & Rodríguez-Guerra, E. (2017). Inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting bacteria in peanut crop (*Arachis hypogaea* L.). *Cultivos Tropicales*, 38(2), 15-21. Retrieved from <http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v38n2/ctr02217.pdf>
- Peña-Cortés, C. A., Peña-Cortés L. C., & Gonzalo-Moreno, C. (2011). Sistema de visión artificial para el reconocimiento y el conteo de unidades formadoras de colonia (UFC). *Revista Colombiana de Tecnologías de Avanzada*, 1(17): 9-15. Retrieved from [https://www.researchgate.net/publication/272180468\\_Sistema\\_de\\_Vision\\_Artificial\\_para\\_el\\_Reconocimiento\\_y\\_el\\_Conteo\\_de\\_Unidades\\_Formadoras\\_de\\_Colonias\\_UFC](https://www.researchgate.net/publication/272180468_Sistema_de_Vision_Artificial_para_el_Reconocimiento_y_el_Conteo_de_Unidades_Formadoras_de_Colonias_UFC)
- Pereira-Coelho, S., Cardoso-Galvão, J. C., Giehl, J., Vicente-de Jesus, É., Ferreira-Mendonça, B., de-Almeida Campos, S.,...Megumi-Kasuya, M. C. (2021). *Azospirillum brasilense* increases corn growth and yield in

- conventional low input cropping systems. *Renewable Agriculture and Food Systems*, 36(3): 225-233. doi: [10.1017/S1742170520000241](https://doi.org/10.1017/S1742170520000241)
- Philips, J.M., & Hayman, D. S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55: 158-160. doi: [10.1016/S0007-1536\(70\)80110-3](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3)
- Quiñones-Aguilar, E. E., López-Pérez, L., Hernández-Acosta, E., Ferrera-Cerrato, R., & Rincón-Enríquez, G. (2014). Simbiosis micorrízica arbuscular y fuentes de materia orgánica en el crecimiento de *Carica papaya* L. *Interciencia*, 39(3): 198-204. Retrieved from <https://www.interciencia.net/wp-content/uploads/2017/10/198-c-RINCON-ENRIQUEZ-7.pdf>
- SAS Institute Inc. (2004). *Statistical Analysis System: User's guide*, Release 9.1. Cary, N.C., USA.
- Shintate-Galindo, F., Buzetti, S., Lima-Rodrigues, W., Marcandally-Boleta, E. H., Martins-Silva, V., Rimoldi-Tavanti, R. F., ...Teixeira-Filo, M. C. M. (2020). Inoculation of *Azospirillum brasilense* associated with silicon as a liming source to improve nitrogen fertilization in wheat crops. *Scientific Reports*, 10(1): 1-18. doi: [10.1038/s41598-020-63095-4](https://doi.org/10.1038/s41598-020-63095-4)
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2020). México. Infografía agroalimentaria 2019. México: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera.
- Smith, S. E, & Smith, F. A. (2011). Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: New paradigms from cellular to ecosystem scales. *Annual Review of Plant Biology*, 62: 227–250. doi: [10.1146/annurev-arplant-042110-103846](https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042110-103846)
- Steiner A.A. (1984). The universal nutrient solution. In: Sixth International Congress on Soilless Culture. *Proceedings International Society for Soilless Culture*. Lunteren, The Netherlands. pp. 633-650.
- Tahat, M., Kamaruzaman, S., & Othman, R. (2010). Mycorrhizal fungi as a biological control agent. *Plant Pathology Journal*, 9(4): 198–207. doi: [10.3923/ppj.2010.198.207](https://doi.org/10.3923/ppj.2010.198.207)
- Thioub, M., E., Ewusi-Mensah, N., Sarkodie-Addo, J., & Adjei-Gyapong, T. (2019). Arbuscular mycorrhizal fungi inoculation enhances phosphorus use efficiency and soybean productivity on a Haplic Acrisol. *Soil and Tillage Research*, 192: 174-186. doi: [10.1016/j.still.2019.05.001](https://doi.org/10.1016/j.still.2019.05.001)
- Trinidad-Cruz, J. R., Quiñones-Aguilar, E. E., Hernández-Cuevas, L. V., López-Pérez, L., & Rincón-Enríquez, G. (2017). Arbuscular mycorrhizal fungi associated in the rhizosphere of *Agave cupreata* in mezcal regions from Michoacán, Mexico. *Scientia Fungorum*, 45: 13-25. Retrieved from

<https://www.redalyc.org/pdf/883/88352759003.pdf>

- Vallejos-Torres, G., Saboya-Pisco, A., & Arevalo-Lopez, L. A. (2021). Efecto bioprotector de micorrizas arbusculares en la reducción de roya (*Hemileia vastatrix*) en la región San Martín. *Revista Agrotecnológica Amazónica*, 1(1): 34-44. doi: [10.51252/raa.v1i1.122](https://doi.org/10.51252/raa.v1i1.122)
- Zulueta-Rodríguez, R., Hernández-Montiel, L. G., Reyes-Pérez, J. J., González-Morales, G. Y., & Lara-Capistrán, L. (2020). Effects of co-inoculation of *Bacillus subtilis* and *Rhizoglyphus intraradices* in tomato production (*Solanum lycopersicum* L.) in a semi-hydroponic system. *Revista Bio Ciencias*, 7: e671. doi: [10.15741/revbio.07.e671](https://doi.org/10.15741/revbio.07.e671)
- Zulueta-Rodríguez, R., Valerio-Landa, S. D., Murillo-Amador, B., Lara-Capistrán, L., Reyes-Pérez, J. J., & Hernández-Montiel, L. G. (2016). Influencia de micorrizas arbusculares en el crecimiento y cambios fisiológicos de la albahaca dulce bajo invernadero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 17: 3557-3568. Retrieved from <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=263149506014>

## CAPÍTULO II

### **Crecimiento de lechuga inoculada con microorganismos benéficos e irrigada con concentraciones reducidas de solución nutritiva de Steiner**

#### **Resumen**

Los hongos micorrícicos y bacterias promotoras de crecimiento han sido estudiadas ampliamente en diversos cultivos de importancia económica y bajo distintas condiciones con buenos resultados, con esto se contribuye a hacer un uso racional de los recursos económicos y naturales, ya que es posible disminuir las cantidades de insumos necesarios, el trabajo desarrollado se enfocó en disminuir las cantidades de fertilizantes minerales aplicados en forma de solución nutritiva de Steiner en combinación de diferentes cepas de hongos micorrícicos arbusculares y también con el uso de la bacteria fijadora de nitrógeno *Azospirillum brasilense* cepa Cd. Evaluar el efecto en el crecimiento del cultivo de lechuga inoculada con microorganismos benéficos y cultivada en sustrato. Se evaluaron 13 tratamientos con seis repeticiones, la unidad experimental constó de una maceta que contuvo una planta de lechuga. Los tratamientos fueron: 1) 25 % solución + sin inocular, 2) 25 % solución + *Rizhophagus intraradices*, 3) 25% solución + *Funeliformes mosseae*, 4) 25% solución + consorcio cerro del metate, 5) 25% solución + *Azospirillum brasilense* cepa Cd., 6) 25% solución + *R. intraradices* + *A. brasilense* cepa cd. 7) 50% solución + sin inocular (testigo 1), 8) 50 % solución + *Rizhophagus intraradices*, 9) 50% solución + *Funeliformes mosseae*, 10) 50% solución + consorcio cerro del metate, 11) 50% solución + *Azospirillum brasilense* cepa cd., 12) 50 % solución + *R. intraradice* + *A. brasilense* cepa cd., 13) 100 % solución + sin inocular. Cincuenta días después del trasplante se midieron variables de crecimiento, concentración mineral, porcentaje de colonización y número de esporas de HMA. De forma adicional se manejó un tratamiento de referencia, el cual consistió en aplicar el riego con solución nutritiva de Steiner al 100 %, pero sin inoculación, con la finalidad de estimar las pérdidas en el crecimiento por el

uso de microorganismos benéficos y la reducción en la concentración de la solución nutritiva. El tratamiento *A. brasilense* al 50% de solución fue el más sobresaliente para las variables de crecimiento evaluadas, seguidos por los tratamientos con hongos micorrízicos arbusculares este comportamiento se observó en los dos niveles de solución utilizados. El uso de hongos micorrízicos arbusculares y *A. brasilense* pueden permitir la reducción de fertilizante en el cultivo de lechuga. Se encontró que las tres cepas de hongos micorrízicos arbusculares y la bacteria *A. brasilense* promovieron un mejor desarrollo de las plantas de lechuga a pesar de que se redujo el suministro de fertilizante en la solución nutritiva de Steiner y además se comprobó la proliferación de los HMA en las raíces de planta en la que fueron inoculadas, este trabajo plantea promover el uso de microorganismos benéficos como una alternativa ecológica y sustentable para el cultivo de lechuga.

**Palabras clave:** *Rizhophagus intraradices*, *Funeliformes mosseae*, consorcio cerro del metate, *Azospirillum brasilense*.

## Introducción

La lechuga (*Lactuca sativa* L.) es una hortaliza de gran importancia en México, ya que su demanda y producción ha ido en aumento en la última década (SIAP, 2019). En la actualidad se busca que la producción de alimentos sea más amigable con el medio ambiente y que a la vez se reduzcan parte de los costos de producción que se destinan en la aplicación de fertilizantes, una alternativa es el uso de microorganismos benéficos como HMA o bacterias promotoras de crecimiento, estos microorganismos forman relaciones simbióticas con las plantas huésped dichas relaciones dan a ambos individuos beneficios, por una parte, la planta incrementa su capacidad de absorber nutrientes y agua lo que se traduce en un mejor desarrollo y por otra los microorganismos reciben azúcares producidos en la planta a través del proceso de fotosíntesis (Callejas–Ruiz *et al.*, 2009).

Los hongos micorrícicos arbusculares incrementan el área de absorción mediante las hifas producidas por las micorrizas y que son más eficiente en absorber agua y minerales que las raíces comunes (Riopedre-Galán *et al.*, 2021) Esto repercute en gran medida a disminuir insumos y menor impacto en el ambiente (Silva *et al.* 2021). Las plantas micorrizadas, generalmente, incrementan su peso, altura, diámetro y número de brotes en comparación con las de plantas no micorrizadas (Ley-Rivas *et al.*, 2016).

Las bacterias promotoras de crecimiento como *A. brasilense* y un gran número de cultivos son capaces de establecer relaciones positivas que favorecen el estado de salud y el crecimiento de las plantas (Pii *et al.*, 2015) este grupo de microorganismos favorecen el crecimiento de raíces lo que aumenta la zona de exploración y permite al cultivo aumentar su capacidad para absorber nutrientes y agua (Adesemoye *et al.*, 2009). Pii *et al.* (2019) reportó en maíz un incremento de hasta el 100 % en comparación al control sin inocular, lo que favoreció la absorción de nitrógeno.

En lechuga son escasos los estudios que se refieran a la producción de esta hortaliza cultivada en tezontle y en combinación de microorganismos como HMA o bacterias promotoras de crecimiento y su repercusión en el desarrollo y el crecimiento de la planta, es por ello que la presente investigación plantea la hipótesis de que es posible reducir las concentraciones de solución nutritiva de Steiner e incrementar el rendimiento lechuga inoculada con micorrizas arbusculares o con una bacteria benéfica cultivados en sustrato y en condiciones de invernadero. Esta reducción en el uso de fertilizantes puede representar una alternativa más ecológica y amigable con el medio ambiente. Por lo anterior, el objetivo de este experimento fue evaluar el efecto de microorganismos benéficos en el crecimiento de lechuga cultivada en sustrato.

## **Materiales y métodos**

### **Localización del experimento y material vegetal.**

El trabajo experimental se realizó en un invernadero tipo túnel con cubierta plástica de color blanquecino y con malla antiáfidos en las paredes laterales, perteneciente a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, localizado en Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México; a 18° 58' 51" LN, 99° 13' 55" LO y altura de 1866 m.

### **Tratamientos**

Se utilizó un diseño completamente al azar con distribución factorial AxB; el factor A se refiere a dos concentraciones de solución nutritiva de Steiner al 25 y 50 % y el factor B a seis inóculos de microorganismos benéficos, incluyendo un testigo dando como resultado 12 tratamientos y un testigo absoluto con seis repeticiones, la unidad experimental constó de una maceta que contenía una planta de lechuga. Los tratamientos fueron: 1) 25 % sin inocular microorganismo (testigo 1), 2) 25 % *Rizhophagus intraradices*, 3) 25% *Funeliformes mosseae*, 4) 25% consorcio cerro del metate, 5) 25%*Azospirillum brasilense* cepa cd., 6) 25%

*R. intraradice* + *A. brasilense* cepa cd. 7) 50% sin inocular microorganismo (testigo 2), 8) 50 % *Rizhophagus intraradices*, 9) 50% *Funeliformes mosseae*, 10) 50% consorcio cerro del metate, 11) 50%*Azospirillum brasilense* cepa cd., 12) 50% *R. intraradice* + *A. brasilense* cepa CD.

De forma adicional se estableció un tratamiento de referencia el cual consistió en aplicar el riego con solución nutritiva de Steiner al 100 %, pero sin inoculación, con la finalidad de estimar el porcentaje compensatorio por el uso de microorganismos benéficos en las variables de altura de planta (AP), número de hojas (NH) y peso de biomasa aérea fresca aérea (PBFA).

### **Material vegetal y trasplante**

Las plantas de lechuga se adquirieron en la empresa plántulas de tetela ubicada en la ciudad de Cuernavaca, el trasplante se realizó el 12 de junio de 2020 en macetas de plástico con capacidad de 5 L llenadas con una mezcla de tezontle y perlita en una proporción de 10:1, la mezcla fue previamente esterilizada de acuerdo a la metodología descrita por Zulueta-Rodríguez *et al.* (2016).

### **Inoculación con los HMA**

Se utilizaron cuatro fuentes de inóculos de micorrizas proporcionadas por el laboratorio de fitopatología de la unidad de biotecnología vegetal del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), las plántulas fueron inoculadas en una sola ocasión al momento del trasplante, la dosis fue de 150 esporas por planta.

### **Inoculación con *Azospirillum brasiliense***

Él inóculo fue proporcionado por el Centro de Investigación en Biotecnología

(CEIB) de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, se aplicaron  $1.04 \times 10^9$  UFC por g de sustrato seco cada dos semanas iniciando el 16 de junio y se realizaron un total de 3 aplicaciones.

## **Variables evaluadas**

### **Variables de crecimiento**

A los 50 días se determinaron las variables de respuesta: altura de planta (AP), desde la base hasta el ápice de la planta con una regla graduada en cm; diámetro del tallo (DT), medido en mm con un vernier digital en la base del tallo; peso de biomasa fresca aérea (PBFA) y radicular (PBR), se cuantificó el peso de la biomasa (tallos y hojas, raíz) en una báscula OHAUS® con aproximación de 0.01 g; número de hojas (NH); peso de biomasa seca aérea (PBSA) y raíz (PBSR) en g, previo secado en una estufa Luzeren® Modelo Pro1002498 a 67 °C durante tres días con aire forzado; posteriormente se determinó el peso con una báscula OHAUS® con aproximación de 0.01 g.

### **Concentración de macro y micronutrientes**

A partir de la biomasa seca aérea (hojas y tallos) de las seis repeticiones de cada tratamiento se molió con un molino eléctrico 208 (004108-013-000, Osterizer®, EUA). Posteriormente, se determinó la concentración de N (por el método microkjeldahl), P (por colorimetría), K (por flamometría), Ca y Mg (ambos por espectrofotometría de absorción atómica) (Cruz-Álvarez *et al.*, 2020).

### **Porcentaje de colonización micorrízica y número de esporas de los HMA**

Se recolectaron raíces 50 días posteriores al trasplante, las cuales fueron fijadas

en FAA (formaldehído: ácido acético: etanol 2:1:10:7) posteriormente las raíces fueron clareadas y teñidas (Phillips y Hayman, 1970); el porcentaje de colonización micorrícica se evaluó en 30 segmentos de raíz de 1 cm, aplicando el método descrito por McGonigle *et al.* (1990) y con ayuda de un microscopio Zeiss se determinó el porcentaje de colonización micorrícica (PCM).

### **Disminución de crecimiento en lechuga por efecto de la reducción en la solución nutritiva de Steiner**

Con la finalidad de conocer el efecto de la disminución de la concentración de nutrientes estimo la disminución de variables de crecimiento en el cultivo de lechuga: altura de planta, número de hojas y peso de biomasa fresca aérea, se realizó una comparación de la media del testigo absoluto (tratamiento 13) con cada una de las observaciones de los tratamientos que fueron regados con las dos distintas concentraciones 25 y 50% de solución nutritiva de Steiner, el cálculo se realizó con la siguiente expresión:

$$\text{Diferencias porcentuales} = (Y_{ij} - \bar{X}_7 / \bar{X}_7) * 100$$

Donde:

$\bar{X}_7$  = Media del tratamiento 13

$Y_{ij}$  = Observación de i-ésimo tratamiento en la j-ésima repetición

### **Análisis estadístico**

Para asegurar la normalidad, los datos expresados en porcentaje se transformaron con la raíz cuadrada del arcoseno. 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 ( $p \leq 0.05$ ), mediante el programa IBM SPSS Statistics versión 25 (IBM SPSS, 2017).

## **Resultados y discusión**

### **Variables de crecimiento**

#### **Efecto de distintos niveles de solución nutritiva de Steiner**

Se encontraron diferencias estadísticas significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre las dos distintas concentraciones nutritivas Steiner para altura de planta, diámetro de tallo, peso de biomasa fresca aérea; número de hojas, peso de biomasa seca aérea, peso de biomasa fresca radicular y peso de biomasa seca de raíz (Cuadro1).

#### **Efecto de microorganismos benéficos**

El estudio de análisis de varianza para los diferentes tratamientos con microorganismos benéficos mostró diferencias significativas para las variables para las siete variables de respuesta evaluadas en lechuga a los 50 días después del trasplante.

#### **Interacción entre solución nutritiva de Steiner x microorganismos**

La interacción entre las concentraciones de 25 Y 50 % de solución nutritiva y los microorganismos benéficos repercutió en la respuesta de las variables de altura de planta, diámetro de tallo, peso de biomasa fresca aérea; número de hojas, peso de biomasa seca aérea, peso de biomasa fresca radicular y peso de biomasa seca de raíz (Cuadro 1).

Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza factorial para siete caracteres evaluados lechuga inoculada con microorganismos benéficos.

F.V.	G.L.	AP (cm <sup>2</sup> )	DT (mm <sup>2</sup> )	PBFA (g <sup>2</sup> )	NH	PBSA (g <sup>2</sup> )	PBFR (g <sup>2</sup> )	PBSR (g <sup>2</sup> )
<b>Modelo</b>	11	42.92	5.677	6994.75	45.29	59.80	1113.89	6.62
<b>Solución</b>	1	203.34*	37.55*	50350.22*	162.00*	437.58*	6922.722*	20.26*
<b>Microor</b>	5	45.84*	3.75*	4470.75*	61.22*	37.81*	984.10*	2.37*
<b>S*M</b>	5	7.914*	1.22*	847.65*	6.03*	6.23*	81.92*	3.749**
<b>Error</b>	60	3.39	0.522	82.66	2.37	1.59	42.54	0.96
<b>CV (%)</b>	--	12.47	10.50	31.30	12.98	46.67	38.59	37.15
<b>Media</b>	--	24.74	10.94	108.53	23.14	6.98	37.42	3.33

F.V.: fuentes de variación; Solución: 25 y 50 %; Microor: Microorganismos; S\*M: interacción entre niveles de solución nutritiva de Steiner y microorganismos benéficos; CV(%): coeficiente de variación; Media: media general del experimento; G.L.: grados de libertad; AP: altura de planta; DT: diámetro de tallo (mm); PBFA: peso de biomasa fresca aérea; AF: área foliar; PBSA: peso de biomasa seca aérea; PBFR: peso de biomasa fresca de raíz; PBSR: peso de biomasa seca de raíz. \*significativo ( $p \leq 0.05$ ), \*\* altamente significativo ( $p \leq 0.01$ ); ns: no significativo.

### Concentración de nutrientes

La solución nutritiva de Steiner al 50% superó estadísticamente a la concentración de 25 % en las siete variables de crecimiento evaluadas en lechuga

a los 50 días después del trasplante (Cuadro 2), la concentración de nutrientes es un factor importante en el buen desarrollo del cultivo de lechuga baja disponibilidad de macro y micronutrientes; dan como consecuencia un bajo rendimiento, ya que cada elemento ejerce influencia directa en los procesos fisiológicos y bioquímicos de la planta (Martínez *et al.*, 2010).

## **Microorganismos benéficos**

La comparación de medias mostró que los microorganismos benéficos mejoraron el desarrollo de lechuga cultivada en sustrato, ya que en comparación con el tratamiento que no fue inoculado, las plantas mejoraron su respuesta en altura de planta, diámetro de tallo, peso fresco aéreo, número de hojas, peso seco aéreo y peso fresco radicular, solo el peso seco radicular no mostró tener una influencia con el uso de microorganismos benéficos (Cuadro 2). Cabello *et al.* (2005) enfatiza que las micorrizas contribuyen a mejorar la nutrición mineral de la planta, incrementan la tolerancia a condiciones de estrés hídrico y salinidad, influyen en la fotosíntesis de la planta hospedera y participan en la producción de hormonas estimulantes o reguladoras del crecimiento vegetal, estos resultados son consistentes con los reportados por Velasco *et al.* (2016) quien reporto un efecto positivo en el crecimiento de lechuga var. Crespa, entre otros beneficios. De igual forma *A. brasiliense* influyó significativamente en la respuesta de altura de planta, diámetro de tallo, peso de biomasa fresca aérea y radicular, número de hojas y peso de biomasa seca aérea, lo cual puede estar asociado a la capacidad de *A. brasiliense* de promover el crecimiento en plantas mediante la producción de auxinas, citocininas y giberelinas (Masciarelli *et al.*, 2013).

Cuadro 2. Comparación de medias de niveles factorial para variables de crecimiento en lechuga inoculada con microorganismos benéficos.

FACTOR DE ESTUDIO	AP (cm)	DT (mm)	PBFA (g)	NH	PBSA (g)	PBFR (g)	PBSR (g)
<b>Solución</b>							
25%	23.05 b	10.22 b	82.08 b	21.63 b	4.51 b	27.61 b	5.03 b
50%	26.41 a	11.66 a	134.97 a	24.63 a	9.44 a	47.22 a	13.27 a
<b>Microorganismos</b>							
Sin inocular	21.33 c	9.91 b	75.41 d	18.66 b	3.58 b	22.08 d	2.66 a
<i>R. intraradices</i>	25.33 ab	11.08 a	111.25 b	23.91 a	6.79 b	32.91 c	3.12 a
<i>F. mosseae</i>	25.08 ab	10.83 a	118.00 ab	24.66 a	7.16 ab	39.91 bc	3.10 a
Consorcio CM	23.91 bc	11.08 a	97.00 c	23.16 a	7.66 ab	40.91 b	3.50 a
<i>A. brasilense</i>	27.08 a	11.58 a	127.00 a	24.58 a	8.41 a	48.83 a	3.75 a
<i>R. + A.</i>	25.60 ab	11.60 a	122.50 a	23.82 a	8.25 ab	39.83 bc	3.83 a

AP: altura de planta; DT: diámetro de tallo (mm); PBFA: peso de biomasa fresca aérea; AF: área foliar; PBSA: peso de biomasa seca aérea; PBFR: peso de biomasa fresca de raíz; PBSR: peso de biomasa seca de raíz. *R. + A.*: *R. intraradices* + *A. brasilense*. Valores con la misma letra dentro de columnas, son estadísticamente iguales con base a la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

### Disminución de crecimiento en lechuga por efecto de la reducción en la solución nutritiva de Steiner

Al comparar el efecto entre las concentraciones 25 y 50% la disminución para las variables altura de planta, número de hojas y peso fresco (Figura 1 y 2), fueron menores cuando se incrementó la concentración de la solución nutritiva de Steiner de 25 al 50% (Figura 2), ya que al utilizar la solución nutritiva de Steiner al 25 % las pérdidas promedio para altura de planta fue de -19.10%, número de hojas de 13.44 % y para el peso fresco se registró una pérdida del 40.90% las cuales son más altas en comparación cuando se incrementó la concentración al 50% se registró una pérdida promedio para altura de planta de 7.30% número de hojas de 1. 50% y 3.13% para peso de biomasa fresca aérea.

El tratamiento número 11 que correspondió a *A. brasilense* y una concentración

de la solución nutritiva de Steiner al 50 % (Figura 2) superó al testigo absoluto (solución nutritiva de Steiner a concentración de 100 %), en la altura de planta con un 2.34 % número de hojas en 8% y el peso fresco mejoró en 14.95 %. Entre los tratamientos con HMA, el inóculo de *Funeliformes mosseae* combinado con solución nutritiva de Steiner al 50% tuvo pérdida en altura de planta en 1.17 % y superó al tratamiento de referencia en número de hojas con 5.33% y el peso fresco mejoró en 9.21 %. (Figura 2). Se ha documentado que microorganismos como HMA y rizobacterias promotoras de crecimiento de cultivos como arroz y chícharo y las cuales representan una excelente alternativa ecológica (González y Fuentes., 2017) esto indica que la inoculación con microorganismos benéficos tiene la capacidad de mejorar el desarrollo de plantas de lechuga e incrementar variables como peso de biomasa y área foliar que son determinantes en el crecimiento de dicho cultivo.

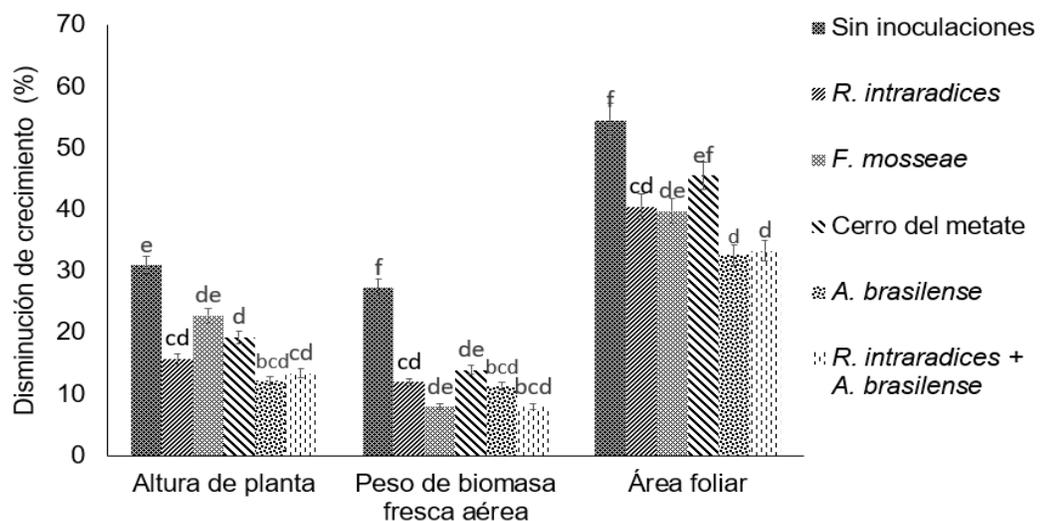


Figura 1. Disminución de crecimiento en lechuga con la utilización de microorganismos benéficos y 25 % de concentración de solución nutritiva de Steiner en altura de la planta, número de hojas y peso de biomasa fresca aérea de lechuga en comparación al tratamiento de solución nutritiva de Steiner al 100 % sin inoculación, a los 50 días después del trasplante. Letras distintas para cada variable de respuesta indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

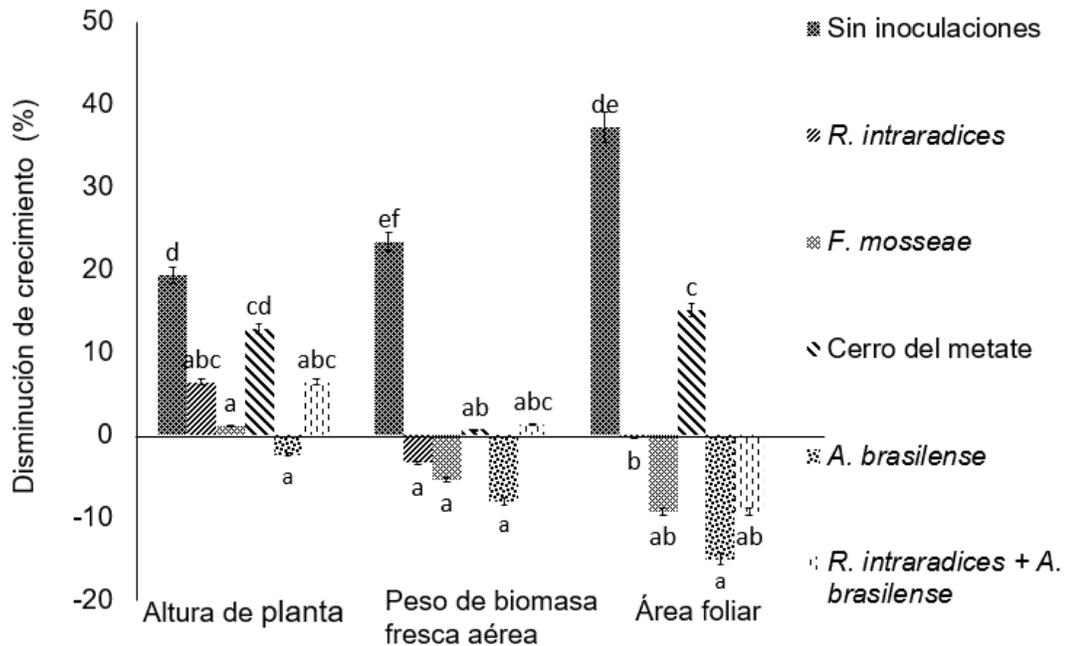


Figura 2. Disminución de crecimiento en lechuga con la utilización de microorganismos benéficos y 50 % de concentración de solución nutritiva de Steiner en altura de la planta, número de hojas y peso de biomasa fresca aérea de lechuga en comparación al tratamiento de solución nutritiva de Steiner al 100 % sin inoculación, a los 50 días después del trasplante. Letras distintas para cada variable de respuesta indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

### Combinación de tratamientos (solución nutritiva de Steiner y microorganismos)

El tratamiento 11 que resulta de la combinación entre la solución nutritiva de Steiner al 50 % con *A. brasilense* fue estadísticamente diferente para diámetro de tallo (11.83 mm) y se encontró entre los mejores tres mejores tratamientos para las variables de altura de planta (29.16 cm), número de hojas (27) y peso de biomasa fresca aérea y radicular (160.16 y 55.16 g) (Cuadro 3), seguido por los tratamientos 12, 9, 8 y 10 en los cuales la concentración de solución nutritiva de Steiner fue de 50 % y en combinación de HMA, todos los tratamientos al 50 % de solución nutritiva de Steiner combinado con algún microorganismo benéfico superaron al tratamiento 7 que fue tratado con solución nutritiva de Steiner a la misma concentración, pero sin inocular excepto para peso de biomasa seca radicular donde no se encontró una diferencia estadística

significativa entre estos tratamientos.

Los menores resultados se obtuvieron cuando las plantas fueron regadas al 25% de solución nutritiva de Steiner, pero también se observó que existió un efecto favorable al combinarlo con algún tipo de microorganismo benéfico, ya que se en general los tratamientos 2, 3, 4, 5 o 6 superaron estadísticamente al tratamiento 1 en altura de planta, diámetro de tallo, número de hojas, peso de biomasa fresca aérea, peso de biomasa seca aérea y peso de biomasa fresca solo no se encontró diferencias para la variable peso seco de raíz. (Cuadro 3).

Cuadro 3. Comparación de medias de combinaciones de dos niveles de solución nutritiva de Steiner y microorganismos benéficos para siete caracteres evaluados en lechuga.

Tratamientos		AP (cm)	DT (mm)	PBFA (g)	NH	PBSA (g)	PBFR (g)	PBSR (g)
<b>25%</b>								
1	Sin inocular	19.66 e	9.33 d	63.33 g	18.16 e	2.00 e	12.66 f	1.50 d
2	<i>R. intraradices</i>	24.00 d	10.66 c	82.83 ef	22.00 d	3.25 d	22.00 e	1.91 cd
3	<i>F. mosseae</i>	22.00 e	10.00 c	83.80 ef	23.00 d	4.66 c	27.66 de	2.55 bc
4	Consorcio CM	23.00 de	10.66 c	75.83 f	21.50 d	4.83 c	33.66 d	3.66 ab
5	<i>A. brasilense</i>	25.00 cd	10.33 c	93.82 d	22.16 d	5.83 bc	42.50 c	3.50 ab
6	<i>R. + A.</i>	24.66 cd	10.33 c	92.83 d	23.00 d	6.50 b	27.66de	3.66 ab
<b>50 %</b>								
7	Sin inocular	23.00 de	10.50 c	87.50 de	19.16 e	5.16 c	31.50 d	3.83 a
8	<i>R. intraradices</i>	26.66bc	11.50 b	139.66 b	25.83 abc	10.33 a	43.16 c	4.33 a
9	<i>F. mosseae</i>	28.16 ab	11.66 b	152.16 a	26.33 ab	9.66 a	52.50 ab	3.66 ab
10	Consorcio CM	24.83 cd	11,50 b	118.16 c	24.80 cd	10.50 a	48.16 bc	3.33 ab
11	<i>A. brasilense</i>	29.16 a	11.83 a	160.16 a	27.00 a	11.00 a	55.16 a	4.00 a
12	<i>R. + A.</i>	26.66 bc	12.00 b	152.16 a	24.66 c	10.00 a	52.50 ab	4.00 a

AP: altura de planta; DT: diámetro de tallo (mm); PBFA: peso de biomasa fresca aérea; AF: área foliar; PBSA: peso de biomasa seca aérea; PBFR: peso de biomasa fresca de raíz; PBSR: peso de biomasa seca de raíz. *R. + A.*: *R. intraradices + A. brasilense*. } Valores con la misma letra dentro de columnas, son estadísticamente iguales con base a la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

## Concentración de macro y micronutrientes

Se encontró que la aplicación de *Azospirillum brasilense* mejoró la absorción de N, Ca y Mg en las plantas de lechuga cuando estas fueron regadas con una concentración nutrimental del 25 %, sin embargo, no se encontró este mismo efecto en las plantas que fueron regadas a un 50 % de solución nutritiva de Steiner, ya que solo mejoró la concentración del fósforo, por otro lado, también se identificó que este microorganismo en combinación con el HMA *R. intraradices* incrementaron la absorción de microelementos como Fe y Mn en las plantas regadas al 50% de solución nutritiva de Steiner. En el caso de los hongos micorrícicos se detectó que el Consorcio CM mejoró la concentración de Mn y B cuando las plantas de lechuga se regaron a una concentración nutrimental del 50%.

Cuadro 4. Efecto del uso de microorganismos benéficos en la concentración de macro y micronutrientes en lechuga.

Tratamientos	N	P	K	Ca	Fe	Mn	Zn	B
<b>25%</b>								
1 Sin inocular	2.75 d	0.36 ab	5.01 d	0.97 de	104.33 l	85.66 g	33.66 f	26.66 j
2 <i>R. intraradices</i>	2.83 c	0.35 d	5.33 c	1.07 bc	108.66 k	89.33 fg	34.66 f	29.33 i
3 <i>F. mosseae</i>	2.84 c	0.35 d	5.37 c	1.04 cd	144.33 j	91.00 f	35.33 f	32.00 h
4 Consorcio CM	3.02 b	0.33 e	5.87 b	1.13 ab	173.66 i	101.66 e	45.00 e	34.00 gh
5 <i>A. brasilense</i>	3.21	0.39 e	6.48 a	1.18 a	185.00 h	120.00 d	46.33 e	34.33 g
6 <i>R. + A.</i>	2.33 h	0.33 e	3.72 h	0.83 g	201.66 g	116.00 d	47.00 e	41.00 f
<b>50 %</b>								
7 Sin inocular	2.64 e	0.37 bc	4.64 e	0.95 h	221.66 d	118.66 d	46.66 e	43.33 e
8 <i>R. intraradices</i>	1.95 j	0.29 g	2.55 i	0.66 h	221.66 d	127.00 c	49.00 de	40.00 f
9 <i>F. mosseae</i>	1.47 l	0.22 h	1.06 k	0.51 i	254.00 b	132.33 b	52.66 cd	48.33 c
10 Consorcio CM	2.00 i	0.30 f	2.55 i	0.69 h	209.00 f	138.00 a	52.00 d	51.66 b
11 <i>A. brasilense</i>	2.57 f	0.38 a	4.39 f	0.88 fg	235.66 c	132.66 b	67.33 a	50.00 cd
12 <i>R. + A.</i>	2.42 g	0.36 cd	3.96 g	0.84 g	265.66 a	139.00 a	58.00 b	56.66 b
13 <b>Steiner 100%</b>	1.85 k	0.28 g	2.17 j	0.67 h	213.33 e	137.33 a	56.66 bc	59.00 a

Medias con distintas literales son estadísticamente diferentes (Tukey  $P \leq 0.05$ ).

### **Porcentaje de colonización micorrízica**

Para determinar la funcionalidad de los inóculos en las plantas de lechuga se determinó el porcentaje de la colonización micorrízica (PCM) por estructura fúngica a los 50 días después del trasplante (Figura 3). Se observó que los inóculos de HMA colonizaron las raíces de las plantas, ya que se encontró que los PCM por hifas fueron los más altos, seguidos por los arbusculos y finalmente las vesículas; también se confirmó en los tratamientos 1, 5, 7, 11 y 13 mostraron 0 % de colonización, ya que en ellos no se inocularon HMA.

Se encontró que la concentración mineral de 25 % y 50% mostraron distintitos PCM es decir que cuando la solución nutritiva de Steiner aumenta el porcentaje de colonización de las distintas estructuras disminuye, lo cual es congruente por lo descrito en Quiñones-Aguilar *et al.* (2012) quienes describen que los HMA son microorganismos que se asocian a las raíces de las plantas mayormente en condiciones desfavorables; como baja disponibilidad de nutrientes; ya que su función primordial es de mejorar la absorción mineral cuando esta se ve reducida. También es importante mencionar que el porcentaje de colonización es una variable muy frecuentemente analizada, sin embargo, altos valores de colonización no siempre aseguran un incremento en el crecimiento de las plantas (Aguirre-Medina *et al.*, 2011).

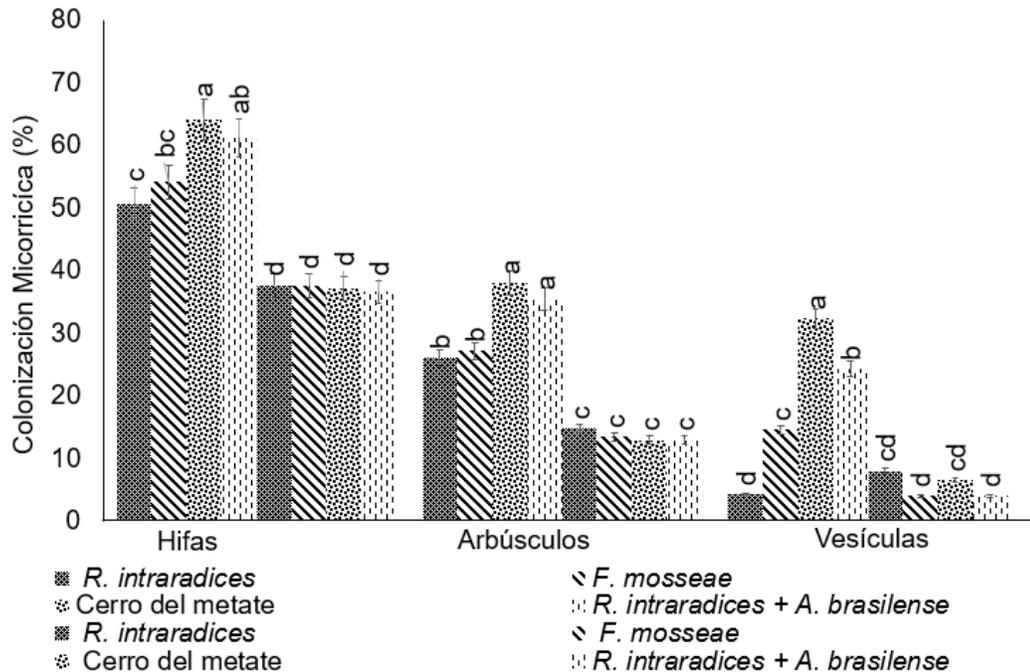


Figura 3. Colonización por hongos micorrizicos arbusculares en raíces de lechuga a 50 días después del trasplante que crecieron en condiciones de hidroponía, las letras distintas indican diferencias estadísticas según la prueba de comparación de medias Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

La colonización de los hongos HMA *Rhizopagus intraradices* (B), *Funneliformis mosseae* (C) y consorcio Cerro del Metate (A), en las raíces de lechuga se observó la presencia de algunas de las estructuras características de los hongos micorrizicos arbusculares, se apreció la presencia de hifas intrarradicales, vesículas, arbúsculos y esporas (Figuras 4).

La funcionalidad de las micorrizas sobre la nutrición de la planta está dada por el grado de madurez de la micorriza, además de las condiciones en las que esta se desarrolle (Lara-Pérez *et al.*, 2017).

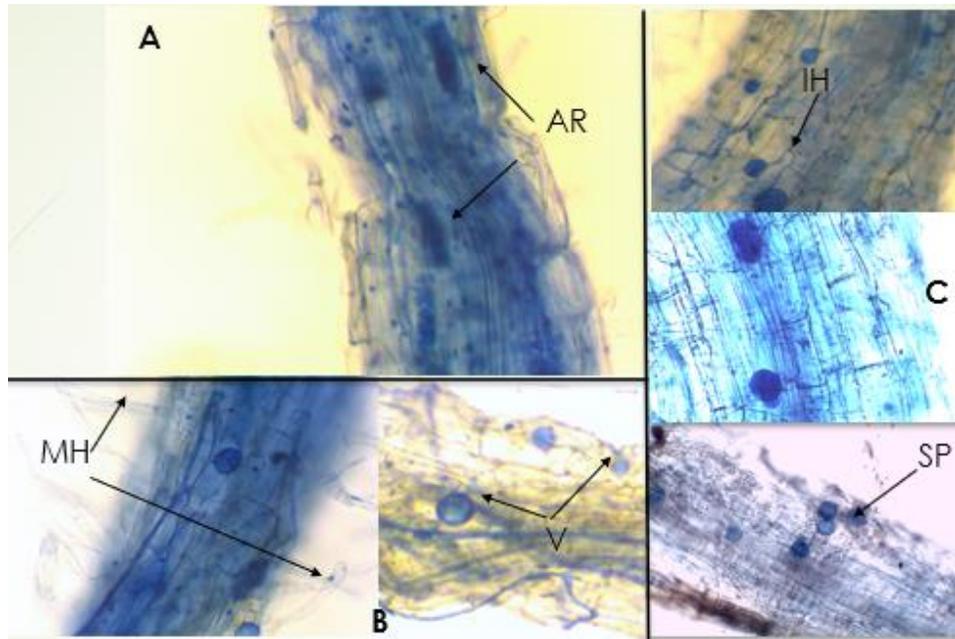


Figura 4. Fotomicrografías de colonización estructural de HMA en raíces de lechuga (A) arbusculos (AR) 400x. (B) micelio (MH) vesículas (V) 400x. (C) hifa intraradical (IH) esporas (SP). 400x.

### Conclusiones

Las tres diferentes cepas de hongos micorrízicos arbusculares: *Rizhophagus intraradices*, *Funneliformis mosseae* y el consorcio micorrízico Cerro del Metate (CM), mostraron un efecto favorable en el crecimiento de lechuga en los dos niveles de solución nutritiva de Steiner, en las cuales fueron evaluados, así como también la bacteria *Azospirillum brasilense* mejoró el crecimiento del cultivo; estas mejoras fueron expresadas en términos de peso de biomasa fresca y del área foliar; asimismo, este aumento de crecimiento estuvo asociado a una mayor concentración de nitrógeno y potasio en el tejido vegetal, también se confirmó la asociación de los hongos micorrízicos con las raíces de lechuga y se encontró que el nivel de concentración en la solución nutrimental influyo en el porcentaje de colonización en hifas y arbusculos pero no para vesículas. De esta manera, los microorganismos evaluados en el crecimiento de lechuga cultivada con nivel reducido de nutrición mineral pueden ser una alternativa sustentable en el manejo agronómico de este cultivo.

## Literatura citada

- Adesemoye AO, Torbert HA, Kloepper JW. 2009. Plant growth-promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizer. *Microbial Ecology* 58, 921–929.
- Aguirre-Medina, J. F., Moroyoqui-Ovilla, D. M., Mendoza-López, A., Cadena-Iñiguez, J., Avendaño-Arrazate, C. H., & Aguirre-Cadena, J. F. (2011). Hongo endomicorrízico y bacteria fijadora de nitrógeno inoculadas a *Coffea arabica* en vivero. *agronomía mesoamericana*, 22(1), 71-80.
- Cabello M, Irrazabal G, Bucsinszky AM, Saparrat M, Schalamuk S. (2005) Effect of an arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus mosseae*, and a rock-phosphate-solubilizing fungus, *Penicillium thomii*, on *Mentha piperita* growth in a soilless medium. *J Basic Microbiol.* ;45(3):182-9. doi: 10.1002/jobm.200410409. PMID: 15900540.
- Callejas-Ruiz, B. A., Castillo-González, A. M., Colinas-León, M. T., González-Chávez, M. del C., Pineda-Pineda, J., & Valdez-Aguilar, L. A. (2009). Sustratos y hongos micorrízicos arbusculares en la producción de nochebuena. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 15(1), 57-66.
- Cruz-Álvarez, O., Hernández-Rodríguez, O. A. Jacobo-Cuellar, J. L., Ávila-Quezada, G., Morales-Maldonado, E., Parra-Quezada, R. A, ... Ojeda-Barrios, D. L. (2020). Nitrogen fertilization in pecan and its effect on leaf nutrient concentration, yield and nut quality. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 26(3), 163-173. doi: [10.5154/r.rchsh.2019.10.021](https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2019.10.021)
- González F., H., & Fuentes M., N. (2017). Action mechanism of five microorganism promoters of plan growth. *Revista De Ciencias Agrícolas*, 34(1), 17-31. <https://doi.org/10.22267/rcia.173401.60IBM>
- Corp. Released 2017. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- IBM Corp. Release 2017. Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp
- Lara-Pérez, L. A., Zulueta-Rodríguez, R., & Andrade-Torres, A. (2017). Micorriza

arbuscular, Mucoromycotina y hongos septados oscuros en helechos y licófitas con distribución en México: una revisión global. *Revista de Biología Tropical*, 65(3), 1062-1081.

Ley-Rivas J., Ricardo-Nápoles N., Sánchez-Rendon-Gomez J., Furrázola E., y Gómez-Ricardo O. (2016). Effectiveness in lettuce cultivation of four strains of arbuscular mycorrhizal fungi. *Acta Botánica Cubana*, Vol. 215, No. 3, pp. 345-351

Martínez M., F., & Garcés V., G. (2010). Crecimiento y producción de lechuga (*Lactuca sativa* L. var. romana) bajo diferentes niveles de potasio. *Revista Colombiana De Ciencias Hortícolas*, 4(2), 175-184. <https://doi.org/10.17584/rcch.2010v4i2.1239>

Masciarelli, O., Urbani, L., Reinoso, H. (2013). Alternative mechanism for the evaluation of indole-3-acetic acid (IAA) production by *Azospirillum brasilense* strains and its effects on the germination and growth of maize seedlings. *J Microbiol.* 51, 590–597 <https://doi.org/10.1007/s12275-013-3136-3>

McGonigle T., D. Miller y G. Evans. 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 115: 495-501.

Philips J. y D. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55: 158-160.

Pii Y, Aldrighetti A, Valentinuzzi F, Mimmo T, Cesco S. 2019. *Azospirillum brasilense* inoculation counteracts the induction of nitrate uptake in maize plants. *J Exp Bot.* Feb 20;70(4):1313-1324. doi: 10.1093/jxb/ery433. PMID: 30715422

Pii Y, Mimmo T, Tomasi N, Terzano R, Cesco S, Crecchio C. 2015. Microbial interactions in the rhizosphere: beneficial influences of plant growth-promoting rhizobacteria on nutrient acquisition process. A review. *Biology*

*and Fertility of Soils* 51, 403–415.

Quiñones-Aguilar, E. E., Hernández-Acosta E., Rincón-Enríquez G. y Ferrera-Cerrato R. 2012. Interacción de hongos micorrícicos arbusculares y fertilización fosfatada en papaya. *Terra Latinoamericana* 30: 165-176.

Riopedre-Galán, Thaylin, Delgado-Álvarez, Anicel, Cabrera-Rodríguez, Juan Adriano, & Cartaya-Rubio, Omar E.. (2021). Relación entre los metales pesados y los hongos formadores de micorrizas arbusculares. *Cultivos Tropicales*, 42(4), e14. Epub 30 de diciembre de 2021. Recuperado en 25 de febrero de 2022, de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-59362021000400014&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362021000400014&lng=es&tlng=es).

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2019). México. Infografía agroalimentaria 2019. México: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera.

Silva, P. H. S., do Nascimento, I. S. A., Coelho, C. B., da Silva, P. B., & de Aguiar Lima, R. L. F. (2021). Micorrizas arbusculares em hortaliças das famílias Asteraceae, Aliaceae, Apiaceae, Amaranthaceae e Brassicaceae, cultivadas sob manejo orgânico. *Brazilian Journal of Development*, 7(2), 17143-17155.

Velasco, José, Aguirre, Gino, & Ortuño, Noel. (2016). Humus líquido y microorganismos para favorecer la producción de lechuga (*Lactuca sativa* var. Crespa) en cultivo de hidroponía. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 4(2), 71-83

Zulueta-Rodríguez, Ramón, Valerio-Landa, Sergio D., Murillo-Amador, Bernardo, Lara-Capistrán, Liliana, Reyes-Pérez, Juan J. y Hernández-Montiel, Luis G. (2016) Influencia de micorrizas arbusculares en el crecimiento y cambios fisiológicos de la albahaca dulce bajo invernadero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*; (17):3557-3568.

## CAPÍTULO III

### **Microorganismos benéficos en el crecimiento de arúgula (*Eruca sativa* Mill.) cultivada en sustrato y con concentraciones reducidas de solución nutritiva de Steiner**

#### **Resumen**

El uso de microorganismos benéficos en la agricultura puede incrementar la productividad de los cultivos agrícolas; sin embargo, existen escasos estudios que consideran a las hierbas finas como es el caso de la arúgula (*Eruca sativa* Mill.). El objetivo del presente estudio fue evaluar el crecimiento de arúgula inoculada con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y *Azospirillum brasilense* cultivada en sustrato y con concentraciones reducidas de solución nutritiva de Steiner. Se evaluaron 19 tratamientos con seis repeticiones, la unidad experimental constó de una maceta que contuvo una planta de arúgula. Los tratamientos fueron: 1) 25 % solución + sin inocular, 2) 25 % solución + *Rizhophagus intraradices*, 3) 25% solución + *Funeliformes mosseae*, 4) 25% solución + consorcio cerro del metate, 5) 25% solución + *Azospirillum brasilense* cepa cd., 6) 25% solución + *R. intraradices* + *A. brasilense* cepa cd. 7) 50% solución + sin inocular (testigo 1), 8) 50 % solución + *Rizhophagus intraradices*, 9) 50% solución + *Funeliformes mosseae*, 10) 50% solución + consorcio cerro del metate, 11) 50% solución + *Azospirillum brasilense* cepa cd., 12) 50% solución + *R. intraradice* + *A. brasilense* cepa cd. 13) 75% solución + sin inocular 14) 75 % solución + *Rizhophagus intraradices*, 15) 75% solución + *Funeliformes mosseae*, 16) 75% solución + consorcio cerro del metate, 17) 75% solución + *Azospirillum brasilense* cepa cd, 18) 75% solución + *R. intraradice* + *A. brasilense* cepa cd. De forma adicional se manejó un tratamiento de referencia (18) el cual consistió en aplicar el riego con solución nutritiva de Steiner al 100 %, pero sin inoculación, con la finalidad de estimar la reducción en el crecimiento por el uso de microorganismos benéficos y la reducción en la concentración de la solución nutrimental. El mejor resultado en el crecimiento de arúgula se observó al combinar *Rizhophagus intraradices* y la bacteria

*Azospirillum brasilense*. También se encontró un efecto positivo en las variables evaluadas al utilizar las cepas de *F. mosseae* y el consorcio cerro del metate en comparación al testigo sin inocular, esto indica que estos microorganismos evaluados en el crecimiento de arúgula cultivada, con un nivel reducido de nutrición mineral pueden servir de alternativa sustentable en el manejo agronómico de este cultivo en condiciones de invernadero.

**Palabras clave:** *Rizhophagus intraradices*, *Funeliformes mosseae*, consorcio cerro del metate, *Azospirillum brasilense*.

## Introducción

El consumo de hortalizas en ensaladas a base de hojas tiernas de hortalizas que se consumen en fresco ha mostrado un crecimiento continuo en los últimos años (Branimir *et al.*, 2017). Debido a la tendencia mundial de consumir alimentos sanos y de fácil preparación (Gutiérrez, 2017). La arúgula (*Eruca sativa*) es una hortaliza relativamente nueva en México, pero con potencial para incrementar su superficie de producción. Las porciones comestibles de la planta en fresco son las hojas jóvenes, pero también se pueden consumir cocinados (Elsadek *et al.*, 2021).

La producción de hortalizas debe responder a las actuales tendencias de consumo, pero también, se debe de buscar la posibilidad que esta producción sea amigable con el medio ambiente, es por ello por lo que en la actualidad se buscan diferentes herramientas que coadyuven a conseguir esa meta (Motta *et al.* 2022).

Una de las estrategias para mejorar las características de los cultivos y su producción de forma amigable con los recursos naturales, es la aplicación de hongos micorrícicos arbusculares (Hernández *et al.*, 2012 y Ramos *et al.*, 2013). organismos que poseen efectos benéficos directos e indirectos sobre las

estructuras morfológicas de las plantas, entre los fenómenos más destacado es que estos microorganismos inducen la proliferación de los tejidos meristemáticos aéreos y radiculares. Este último factor permite una mejor absorción de agua y nutrientes, queda como resultados de que las plantas tenga una óptima actividad fisiológica.

Dado este interés creciente en la reducción del uso de productos agroquímicos y también por la agricultura ecológica, las bacterias promotoras del crecimiento vegetal constituyen otra alternativa al uso de fertilizantes y agroquímicos, ya que, se ha documentado que son capaces de aumentar el crecimiento de las plantas aun en condiciones de reducidas de fertilización. (Ahemad y Kibret, 2014; de-Bashan *et al.*, 2012)

Son escasos los estudios que se refieran a la producción de arúgula cultivada en tezontle y en combinación de microorganismos como HMA o bacterias promotoras de crecimiento y su repercusión en el desarrollo y el crecimiento de la planta, es por ello que la presente investigación plantea la hipótesis de que es posible reducir las concentraciones de solución nutritiva de Steiner e incrementar el rendimiento arúgula inoculada con micorrizas arbusculares o con una bacteria benéfica, cultivados en sustrato y en condiciones de invernadero. Esta reducción en el uso de fertilizantes puede representar una alternativa más ecológica y amigable con el medio ambiente. Por lo anterior, el objetivo de este experimento fue evaluar el efecto de microorganismos benéficos en el crecimiento de arúgula cultivada en sustrato e hidroponía en condiciones de invernadero.

## Materiales y métodos

### Localización del experimento

El trabajo experimental se realizó en un invernadero tipo túnel con cubierta plástica de color blanco con sombreado de 30 % y con malla antiáfidos en las paredes laterales, perteneciente a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, localizado en Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México; a 18° 58' 51" LN, 99° 13' 55" LO y altura de 1,866 m.

### Tratamientos evaluados

Se evaluaron 18 tratamientos con 6 repeticiones, la unidad experimental fue una maceta que tuvo una planta de arúgula Cuadro 1. De forma adicional se manejó un tratamiento de referencia, el cual consistió en aplicar el riego con solución nutritiva de Steiner al 100 %, pero sin inoculación (tratamiento 19), con la finalidad de estimar el porcentaje compensatorio por el uso de microorganismos benéficos en las variables de longitud de hoja, peso de biomasa aérea fresca aérea y área foliar de arúgula.

Cuadro 1. Porcentajes evaluados de la solución nutritiva de Steiner en combinación con distintos microorganismos benéficos

Tratamiento	Concentración Steiner e Inóculo
1	25 % sin inocular
2	25 % <i>Rizhophagus intraradices</i>
3	25 % <i>Funeliformes mosseae</i>
4	25 % consorcio cerro del metate
5	25 % <i>Azospirillum brasilense</i> cepa cd
6	50 % <i>R. intraradice</i> + <i>A. brasilense</i> cepa cd
7	50 % sin inocular

---

8	50 % <i>Rizhophagus intraradices</i>
9	50 % <i>Funeliformes mosseae</i>
10	50 % consorcio cerro del metate
11	50 % <i>Azospirillum brasilense</i> cepa cd
12	50 % <i>R. intraradice</i> + <i>A. brasilense</i> cepa cd
13	75 % sin inocular
14	75 % <i>Rizhophagus intraradices</i>
15	75 % <i>Funeliformes mosseae</i>
16	75 % consorcio cerro del metate
17	75 % <i>Azospirillum brasilense</i> cepa cd
18	75 % <i>R. intraradice</i> + <i>A. brasilense</i> cepa cd
19	100 % sin inoculación

---

### **Unidad y diseño experimental**

La unidad experimental fue una maceta que contuvo una planta de arúgula. Se utilizó un diseño completamente al azar con distribución factorial AxB, el factor A se refiere a tres concentraciones de solución nutritiva de Steiner al 25, 50 y 75 %; el factor B a seis inóculos de microorganismos benéficos incluyendo un testigo dando como resultado 18 tratamientos con seis repeticiones.

### **Material vegetal, microbiológico y siembra de las plantas de arúgula**

Las plantas de arúgula se sembraron en charolas de poliestireno de 200 cavidades el 10 de marzo de 2021 y se trasplantaron el 5 de abril del año 2021 en macetas de plástico con capacidad de 5 L, llenadas con una mezcla de tezontle y perlita en una proporción de 10:1, la mezcla fue previamente esterilizada por solarización (Katan y Gamliel, 2012).

## **Inoculación de las plantas de arúgula con los hongos micorrícicos arbúsculares**

Se utilizaron tres fuentes de inóculos de micorrizas proporcionadas por el laboratorio fitopatología de la unidad de biotecnología vegetal del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), las plántulas fueron inoculadas en una sola ocasión al momento del trasplante, la dosis fue de 150 esporas por planta.

## **Inoculación de las plantas de arúgula con *A. brasilense***

El inóculo fue proporcionado por el Centro de Investigación en Biotecnología (CEIB) de la universidad Autónoma del Estado de Morelos, se aplicaron  $1.04 \times 10^9$  UFC por g de sustrato seco cada dos semanas iniciando el 16 de junio y se realizaron un total de tres aplicaciones.

## **Variables evaluadas**

### **Variables de crecimiento vegetal**

La cosecha se realizó a los 35 ddt y se determinaron las siguientes variables: longitud de hoja (cm), peso de biomasa aérea fresca (g), área foliar (cm<sup>2</sup>), peso de biomasa aérea seca (g), volumen radical (cm<sup>3</sup>) y unidades SPAD.

### **Crecimiento arúgula por efecto de la reducción en la concentración de nutrientes de la solución nutritiva de Steiner**

Con la finalidad de conocer el efecto de la disminución de concentración de la solución nutritiva de Steiner en el cultivo de arúgula sobre las variables de longitud de hoja, área folia y peso biomasa fresca aérea, se realizó una comparación múltiple de medias Tukey ( $\alpha \leq 0.05$ ) entre las diferencias porcentuales de dichas variables, el cual fue calculado restando la media del testigo absoluto tratamiento 19 a cada una de las observaciones de los

tratamientos que fueron regados con las tres concentraciones 25, 50 y 75 % de solución nutritiva de Steiner, el cálculo se realizó con la siguiente expresión:

$$\text{Diferencias porcentuales} = (Y_{ij} - \bar{X}_7 / \bar{X}_7) * 100$$

Donde:

$\bar{X}_7$  = Media del tratamiento 19

$Y_{ij}$  = Observación de i-ésimo tratamiento en la j-ésima repetición

### **Colonización micorrícica y número de esporas**

Como indicador de eficiencia y funcionalidad de los inóculos en las plantas de arúgula, se determinó el porcentaje de colonización micorrícica (PCM) por estructura fúngica a los 35 ddt. Para ello, se recolectaron raíces de cada repetición al finalizar el experimento, las cuales se fijaron en FAA (formaldehído: ácido acético: etanol, 2:1:10:7); posteriormente, las raíces se clarearon y tiñeron (Phillips & Hayman, 1970). El porcentaje de colonización micorrícica se evaluó en segmentos de raíz de 1 cm, de acuerdo con el método descrito por McGonigle *et al.*, (1990), y con un microscopio (modelo k7, Zeiss, Alemania) se determinó el PCM. El número de esporas en 100 g de suelo seco (DE) se determinó a partir de la extracción realizada por el método de tamizado húmedo y decantación (Gerdemann & Nicolson, 1963). El conteo de esporas se realizó de manera visual con un microscopio estereoscópico (VE-S5C, Velab™). El tamizado húmedo se observó en una caja de Petri cuadrículada (90 mm) y se registró el número de esporas.

### **Análisis estadístico**

Los datos se analizaron en el paquete IBM SPSS Statistics (SPSS) versión 25, para determinar las diferencias estadísticas entre los tratamientos se efectuó un análisis de varianza y una prueba comparación de medias Tukey ( $\alpha \leq 0.05$ ).

## Resultados y discusión

### Crecimiento de arúgula inoculada con HMA y *A. brasilense*

Al comparar los tratamientos con las diferentes concentraciones nutrimentales se encontró que el tratamiento 18 que resulta de la combinación entre la solución nutritiva de Steiner al 75 % con *A. brasilense* fue estadísticamente diferente para longitud de hoja, peso de biomasa fresca, área foliar y peso de biomasa fresca aérea (Cuadro 2), seguido por los tratamientos 17 y 16 en los cuales la concentración de solución nutritiva de Steiner fue de 75 % y en combinación de HMA. Los valores más bajos para las variables evaluadas se obtuvieron cuando las plantas fueron regadas al 25 % de solución nutritiva de Steiner, pero también se observó que existió un efecto favorable al combinarlo con algún tipo de microorganismo.

Cuadro 2. Comparación de medias de combinaciones de tres niveles de solución nutritiva de Steiner y microorganismos benéficos para siete caracteres evaluados en arúgula.

Tratamientos	LH (cm)	PBF (g)	AF (cm <sup>2</sup> )	PBSA (g)	VR (cm <sup>3</sup> )	SPAD
<b>25%</b>						
1 Sin inocular	29.07fg	62.00g	953.80g	7.39j	29.50c	46.37e
2 <i>R. intraradices</i>	29.65d-g	72.00fg	1068.87fg	8.27h-j	30.50c	48.22de
3 <i>F. mosseae</i>	28.60g	64.00g	959.37g	7.95ij	40.00a-c	51.57b-e
4 CCM	29.70d-g	78.50fg	1111.02e-g	8.72g-j	31.75c	48.62c-e
5 <i>A. brasilense</i>	30.40c-g	87.50d-g	1270.85b-g	11.25e-h	45.00a-c	48.87c-e
6 <i>R. + A.</i>	29.45e-g	81.50e-g	1098.02e-g	10.59e-i	34.25bc	50.27b-e
<b>50 %</b>						
7 Sin inocular	31.17b-f	94.00d-f	1241.47c-g	9.83f-j	28.75c	49.80b-e
8 <i>R. intraradices</i>	32.58a-c	116.00cd	1254.66c-g	12.67c-f	43.00a-c	51.16b-e
9 <i>F. mosseae</i>	31.95b-d	115.00cd	1202.25d-g	12.39c-f	42.5abc	52.80a-d
10 CCM	30.02d-g	109.50c-e	1026.42g	11.45d-g	50.00ab	53.80a-d
11 <i>A. brasilense</i>	31.27b-f	134.00bc	1438.82a-e	14.32a-d	40.00a-c	53.22a-d
12 <i>R. + A.</i>	31.97b-d	147.00ab	1510.55ab-d	15.96ab	42.50 <sup>a</sup> -c	52.82a-d
<b>75 %</b>						
13 Sin inocular	33.27ab	146.00bc	1607.72ab	13.09b-e	37bc	54.80a-c
14 <i>R. intraradices</i>	32.82a-c	137.00bc	1469.70a-d	13.57a-e	45.00a	53.22a-c
15 <i>F. mosseae</i>	32.87ab	134.00bc	1385.95b-f	13.58a-e	40.00a	56.00ab
16 CCM	31.62b-e	149.50ab	1539.25a-d	14.96a-c	45.00ab	58.75a
17 <i>A. brasilense</i>	31.00b-g	153.50ab	1580.20a-c	15.12a-c	55.00a	58.77a
18 <i>R. + A.</i>	34.66a	166.00a	1759.90a	16.56a	55.00a	53.80a-c

---

LH: Longitud de hoja;(cm); PBFA: peso de biomasa fresca aérea; AF: área foliar; PBSA: peso de biomasa seca aérea; VR: Volumen radicular; SPAD: Lecturas SPAD.

Serna-Mata (2016) reportó efectos similares sobre el crecimiento al inocular plantas de lechuga tipo Iceberg (bola) con HMA y diferentes niveles de concentración mineral en los tres diferentes ensayos que realizó encontró un efecto positivo en el crecimiento de la plantas en variables como peso fresco área foliar incluso la concentración de clorofila se vio favorecida por el uso de HMA, por otra parte se ha documentado que existe un efecto positivo en el crecimiento de las plantas al combinar más de microorganismo benéfico como lo ha reportado Chiquito-Contreras *et al.* ( 2018) quienes encontraron un efecto positivo al utilizar una bacteria marina *S. rhizophila* cepa RK2 y dos consorcios micorrícicos CIB01 y ORECIB01. El primero conformado por las especies *Funneliformis mosseae*, *Clareidoglomus etunicatum*, *Acaulospora morrowiae*, *Gigaspora sp.* y *Glomus sp.* y el segundo por las especies *C. etunicatum*, *F. mosseae*, *Gigaspora sp.* y *Glomus clarum* (Valerio-Landa, 2014) en el crecimiento de albahaca donde este tratamiento superó al testigo en variables como longitud de tallo, área foliar y peso de biomasa fresca resultados que son muy similares a los obtenidos en este ensayo.

### **Crecimiento en arúgula por efecto de la reducción en la concentración de la solución nutritiva de Steiner**

Al comparar el efecto de la concentración nutritiva (100, 75, 50 y 25 %) en el desarrollo del cultivo para las variables longitud de hoja, peso fresco y área (Figura 1), fue menor cuando se incrementó la concentración de la solución nutritiva de Steiner al 75 % en comparación de las concentraciones de 25 y 50 % las pérdidas más altas se encontraron en el bloque de tratamientos del 25 % de solución nutritiva de Steiner.

El tratamiento número 18 que correspondió a *A. brasilense* y la concentración de la solución nutritiva de Steiner al 75 % tuvo una diferencia estadísticamente significativa respecto al tratamiento testigo absoluto (solución nutritiva de Steiner a concentración de 100 %), para las variables de longitud de Hoja y área foliar 6.7 %.

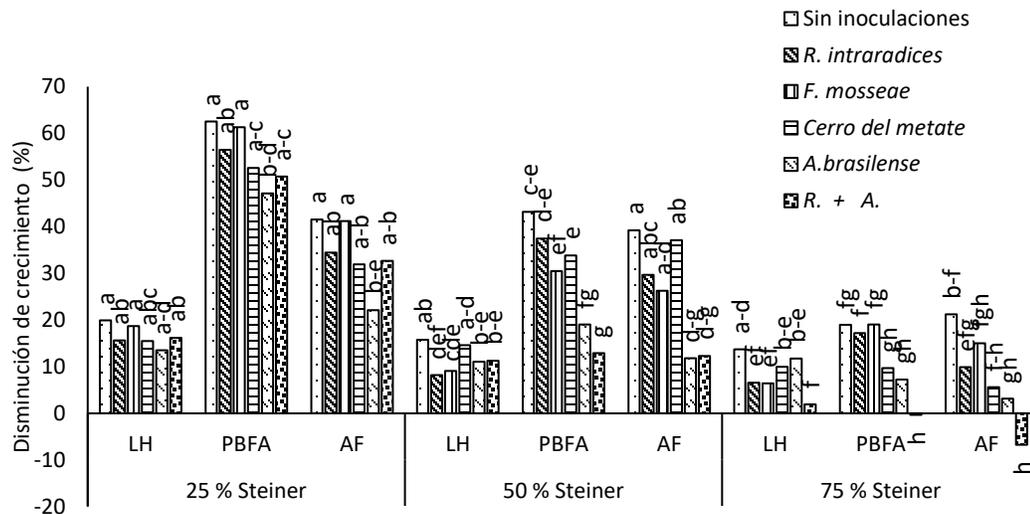


Figura 1. Cálculos de pérdidas con la utilización de microorganismos benéficos y tres concentraciones de solución nutritiva de Steiner longitud de hoja (LH), peso de biomasa fresca aérea (PBFA) y área foliar (AF) de arúgula en comparación al tratamiento de solución nutritiva de Steiner 100 % sin inoculación, a los 35 días después del trasplante. Letras distintas para cada variable de respuesta indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

### Colonización micorrícica y número de esporas de HMA

En la Figura 2. Se muestra un corte longitudinal de raíz arúgula de los diferentes tratamientos, donde se observan estructuras de los HMA. En la colonización de los hongos micorrícicos, se observó la presencia de algunas estructuras características de los HMA, como hifas intrarradicales (Hi), vesículas y arbuscúlos (V y A) así como estructuras reproductivas como son esporas (E).

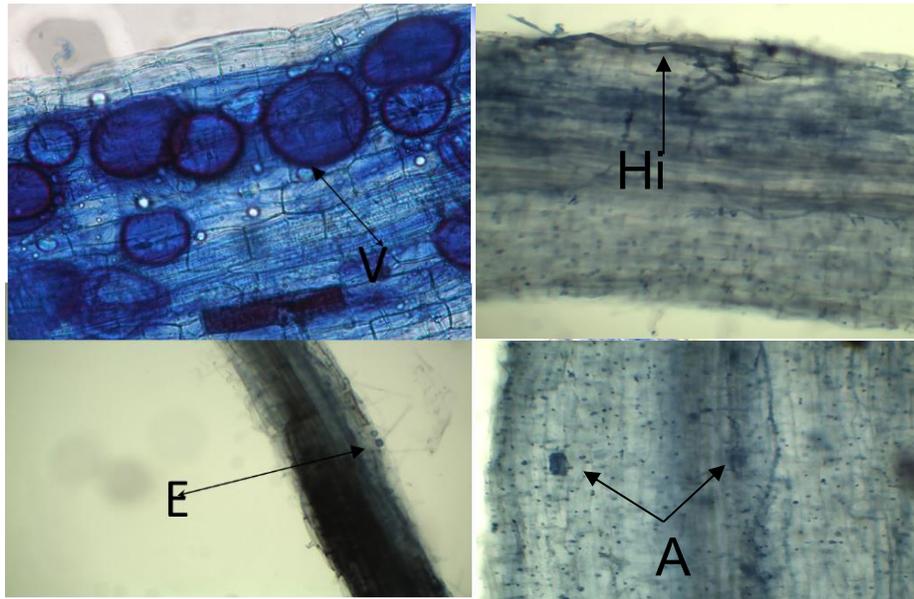


Figura 2. Fotomicrografías de la colonización de HMA en raíces de arúgula (V) vesículas (Hi) hifas (E) esporas y (A) arbúsculos, tomadas con objetivo de 10X.

Los inóculos de HMA colonizaron las raíces de las plantas, se encontró que el porcentaje de colonización micorrícica fue influenciado por los diferentes niveles de concentración de la solución nutritiva de Steiner. se encontró diferencia estadística en el número de arbúsculos en los tratamientos al 25 % en comparación con 50 y 75 % de solución nutritiva de Steiner, sin embargo, no hubo diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) para las estructuras de hifas y vesículas entre los tres niveles de concentración nutricional que fueron evaluados (Figura 2). Estos resultados difieren con los reportados por Ley-Rivas *et al.* (2016), quienes encontraron un PCM entre 77 y 95 % en lechuga, estas diferencias se pueden atribuir a las condiciones de cultivo, al uso de diferentes sustratos, a los HMA inoculados y al tiempo de exposición de las plantas al inóculo, ya que en el presente estudio la duración de los experimentos fue de 10 semanas.

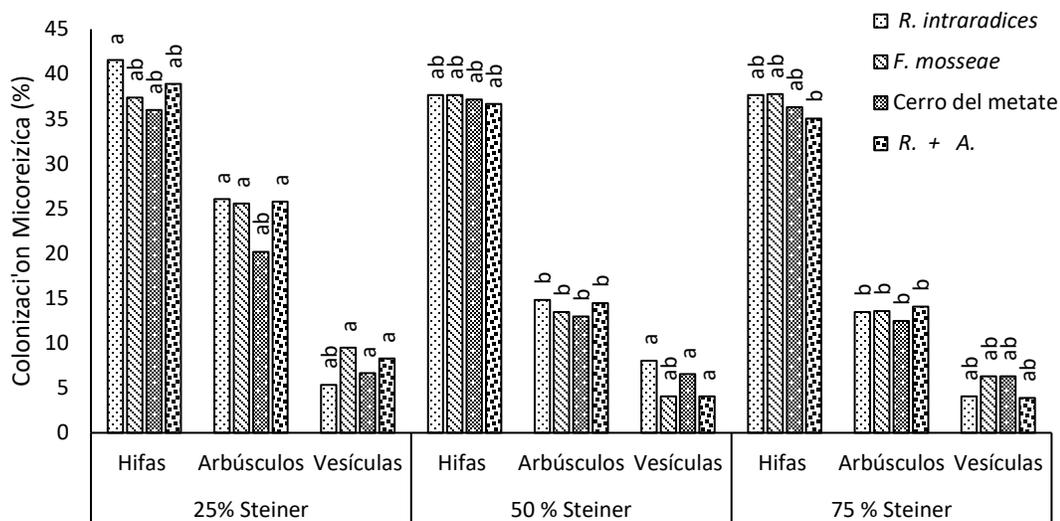


Figura 3. Colonización por hongos micorrícicos arbúsculares en raíces arúgula a 40 días después del trasplante que crecieron en condiciones de hidroponía, las letras distintas indican diferencias estadísticas según la prueba de comparación de medias Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

Es común determinar la eficiencia micorrícica mediante el conteo del número de esporas presentes en el sustrato donde se desarrollaron las plantas. Sin embargo, no se encontraron diferencias ( $P \leq 0.05$ ) en el número de esporas, donde los valores oscilaron entre 300 y 400 esporas por cada 100 g de sustrato. Estos valores se consideran bajos comparados con los reportados por Quiñones-Aguilar *et al.* (2014), quienes en el cultivo de papaya encontraron de 1000 a 4500 esporas después de días de inoculación en sustratos orgánicos.

### **Análisis de los espacios intergénicos ribosomales de aislamientos bacterianos**

Con la finalidad de corroborar la permanencia de *A. brasilense* en las muestras de suelo donde se desarrollaron las plantas de arúgula, se realizó un aislamiento de las colonias bacterianas obtenidas mediante un lavado del sustrato, para posteriormente realizar una identificación molecular de las colonias obtenidas, esto mediante la técnica de análisis de los espacios intergénicos ribosomales, es importante destacar que esta técnica consiste en hacer una amplificación de la región del genoma bacteriano conocida como ITS

mediante PCR, y una posterior comparación de los pares de bases obtenidos en los geles mediante electroforesis (Garbeva *et al.*, 2001, Sessitsch *et al.*, 2002, Laçava *et al.*, 2006). (Figura 4), se descartó la permanencia de la bacteria de *A. brasilense* en las muestras que fueron analizadas, sin embargo, esto no descarta la efectividad de la bacteria en los resultados de crecimiento obtenidos en el estudio, ya que es necesario tomar en cuenta que el estudio de identificación molecular se realizó tres meses después del levantamiento del experimento y tanto el tiempo como las condiciones en las que se almacenaron las muestras fueron factores cruciales en la pérdida de *A. brasilense* de las muestras. (Kirt *et al.*, 2004)

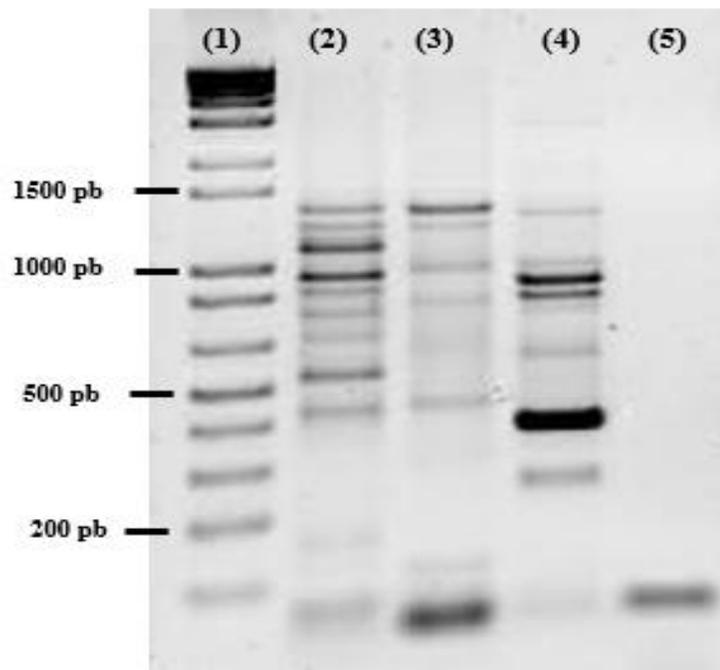


Figura 4. Análisis de los espacios intergénicos ribosomales (ITS) en bacterias aisladas del experimento inoculado con hongos micorrízicos arbusculares y con *Azospirillum brasilense*. (línea 1) Marcador molecular 1 Kb Plus DNA Lader (Invitrogen™); (línea 2) ITS de la cepa CD de *Azospirillum brasilense*; (línea 3) ITS de la cepa bacteriana aislada del tratamiento T5 del experimento con arúgula. (línea 4) ITS de la cepa bacteriana aislada del tratamiento T6 del experimento con arúgula. (línea 5) reacción de la PCR sin ADN (control negativo).

## Conclusiones

El hongo micorrícico arbuscular *Rizhophagus intraradices* y la bacteria *Azospirillum brasilense* mostraron el mejor resultado en el crecimiento arúgula (*Eruca sativa*), el cual, se expresó en el incremento de longitud de hoja peso de biomasa fresca y del área foliar. También se encontró un efecto positivo en las variables evaluadas al utilizar las cepas de *Funeliformes mosseae* y el consorcio cerro del metate en comparación al testigo sin inocular, esto indica que estos microorganismos evaluados en el crecimiento de arúgula cultivada con un nivel reducido de nutrición mineral, lo cual, pueden servir de alternativa sustentable en el manejo agronómico de este cultivo en condiciones de invernadero.

## Literatura citada

- Ahemad M, Kibret M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *J. King Saud Univ. Sci.* 26(1):1–20
- Branimir, U., Dumičić, G., Romić, M., y Goreta Ban, S. 2017. The effect of N and NaCl on growth, yield, and nitrate content of salad rocket (*Eruca sativa* Mill.). *Journal of plant nutrition* 40(18):2611–18
- Chiquito-Contreras, R. G., Solís-Palacios, R., Reyes-Pérez, J. J., Murillo-Amador, B., AlejandroRosas, J., & Hernández-Montiel, L. G. (2018). Growth promotion of sweet basil by arbuscular mycorrhizal fungi and a marine bacterium. *Acta Universitaria*, 28(6), 68-76. doi: 439 10.15174/au.2018.2086
- de-Bashan L E, Hernandez. J P, Bashan Y. (2012) The potential contribution of plant growth-promoting bacteria to reduce environmental degradation – A comprehensive evaluation. *Appl. Soil Ecol.* 61: 171-189.
- Elsadek, M.F., El-Din, M.E., y Ahmed, B.M. 2021. Evaluation of anticarcinogenic and antioxidant properties of *Eruca sativa* extracts versus ehrlich ascites carcinoma in mice, *Journal of King Saud University – Science.* 33(4).
- Garbeva, P.; VAN O.; Van, V., Van E. 2001. Análisis of endophytic bacterial communities of potato by planning and denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) of 16s rDNA based fragment. *Microbiology Ecology.* V 41, 362-383.
- Gerdemann, J. W., & Nicolson, T. H. (1963). Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*, 20 6(2), 235-244. doi: 10.1016/S0007-1536(63)80079-0
- Gutiérrez, D. R., Laura-Lemos, M., y Rodríguez., S. C. 2017. Efecto combinado de uv-c y envasado con atmósfera modificada pasiva en la conservación de rúcula (*Eruca sativa*) cortada IV gama. *Revista Iberoamericana tecnología postcosecha.* 18:145–52
- Hernández, R., García, A., Portuondo, L., Muñiz, S., Berbara, R., & Izquierdo, F. (2012). Protección antioxidativa de los ácidos húmicos extraídos de vermicompost en arroz (*Oriza sativa* L.) var. IACuba30. *Revista Protección Vegetal*, 27(2), 102-110.
- IBM Corp. Release 2017. *Statistics for Windows*, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- Katan J, Gamliel A (2012). Chapter 5. Soil solarization for the management of solborne pests: the challenges, historical perspective, and principles. En:

- Soil Solarization: Theory and Practice (Ed. Gamliel A, Katan J), pp. 45-52. The American Phytopathological Society. St Paul Minnesota. USA. <https://doi.org/10.1094/9780890544198.007>.
- Kirk, J.; Beaudette, L.; Hart, M.; Moutoglou, P.; Klironomos, J.; Lee, H.; Trevors, J. (2004) Methods of studying soil microbial diversity. *Journal of Microbiological Methods*, v. 58, p. 169-188.
- LAcava, T. P.; Dini, A. F.; Araujo, W.; Azevedo, J. 2006. Caracterização da comunidade de bactérias endofíticas de cítricos por isolamento, PCR específica e DGGE. *Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília*, v. 41, p. 637- 542.
- Ley-Rivas, Juan Francisco & Ricardo-Nápoles, Nancy & Sánchez Rendón, Jorge & Furrázola Gómez, Eduardo & Ricardo, Osbel. (2016). Efectividad en el cultivo de lechuga de cuatro cepas de hongos micorrizógenos arbusculares. *Acta Botánica Cubana* ISSN: 0138-6824. Vol. 215. 345-351.
- 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. doi: 10.1111/j.1469- 8137.1990.tb00476.x
- Motta, S., Salazar, L. D. & Sánchez, L. C. (2022). *Perspectiva del uso de Pseudomonas spp. como biocontrol de fitopatógenos en cultivos de hortalizas en Colombia: una revisión sistemática*. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/20.500.12010/26874>.
- Philips J. y D. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55: 158-160.
- Quiñones-Aguilar, E. E., López-Pérez, L., Hernández-Acosta, E., Ferrera-Cerrato, R., & Rincón Enríquez, G. (2014). Simbiosis micorrízica arbuscular y fuentes de materia orgánica en el crecimiento de *Carica papaya* L. *Interciencia*, 39(3), 198-204. Retrieved from <https://www.interciencia.net/wp-content/uploads/2017/10/198-c-RINCON-ENRIQUEZ 7.pdf>
- Ramos-Hernández, L., Reyna-García, Y., Lescaille-Acosta, J., Telo-Crespo, L., Arozarena-Daza, N. J., Ramírez-Peña, M., & Martín-Alonso, G. M. (2013). Hongos micorrízicos arbusculares, *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus megatherium* y *FitoMas-E*: Una alternativa eficaz para la reducción del consumo de fertilizantes minerales en *Psidium guajava*, L var. Enana Roja cubana. *Cultivos Tropicales*, 34(1), 5-10.
- Riopedre-Galán, Thaylin, Delgado-Álvarez, Anicel, Cabrera-Rodríguez, Juan

- Adriano, & Cartaya-Rubio, Omar E.. (2021). Relación entre los metales pesados y los hongos formadores de micorrizas arbusculares. *Cultivos Tropicales*, 42(4), e14. Epub 30 de diciembre de 2021. Recuperado en 25 de febrero de 2022, de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-59362021000400014&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362021000400014&lng=es&tlng=es).
- Serna- Mata, E. (2016). Efecto de la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.) Bajo diferentes concentraciones de nitrógeno. Tesis de Maestría, Universidad Michoacana de San Nicolas.
- Sessitsch A., Reiter B., Pfeifer U., Wilhelm E. 2002. Cultivation-independent population analysis of bacterial endophytes in three potato varieties based on eubacterial and Actinomycetes-specific PCR of 16S rRNA genes. *FEMS Microbiology Ecology*. V. 39 , p. 23-32.
- Valerio-Landa, S. (2014). Respuesta morfo-fisiológica de plantas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares. Tesis. México: Universidad Veracruzana.
- Zapata, E. (2020). Revisión de microorganismos capaces de degradar cianuro presente en aguas residuales industriales. *Agricolae & Habitat*, 3(1). <https://doi.org/10.22490/26653176.3885>

## CAPÍTULO IV

### Conclusiones generales

Los hongos micorrízicos arbusculares *Rizhophagus intraradices*, *Funneliformis mosseae*, el consorcio micorrízico Cerro del Metate, así como la bacteria *Azospirillum brasilense* mejoraron el crecimiento de albahaca 'Sweet Nufar', expresado en incremento del peso de biomasa fresca y del área foliar; este aumento de crecimiento estuvo asociado a una mayor concentración de nitrógeno y potasio en el tejido vegetal. Los microorganismos evaluados en el crecimiento de albahaca cultivada con nivel reducido de nutrición mineral pueden servir de alternativa sustentable en el manejo agronómico de este cultivo en condiciones de invernadero.

Las tres diferentes cepas de hongos micorrízicos arbusculares: *Rizhophagus intraradices*, *Funneliformis mosseae* y el consorcio micorrízico Cerro del Metate (CM), mostraron un efecto favorable en el crecimiento de lechuga en los dos niveles de solución nutritiva de Steiner, en las cuales fueron evaluados, así como también la bacteria *Azospirillum brasilense* mejoró el crecimiento del cultivo; estas mejoras fueron expresadas en términos de peso de biomasa fresca y del área foliar; asimismo, este aumento de crecimiento estuvo asociado a una mayor concentración de nitrógeno y potasio en el tejido vegetal, también se confirmó la asociación de los hongos micorrízicos con las raíces de lechuga y se encontró que el nivel de concentración en la solución nutritiva influyó en el porcentaje de colonización en hifas y arbusculos pero no para vesículas. De esta manera, los microorganismos evaluados en el crecimiento de lechuga cultivada con nivel reducido de nutrición mineral pueden ser una alternativa sustentable en el manejo agronómico de este cultivo.

El hongo micorrízico arbuscular *Rizhophagus intraradices* y la bacteria *Azospirillum brasilense* mostraron el mejor resultado en el crecimiento arúgula (*Eruca sativa*), el cual, se expresó en el incremento de longitud de hoja peso

de biomasa fresca y del área foliar. También se encontró un efecto positivo en las variables evaluadas al utilizar las cepas de *Funeliformes mosseae* y el consorcio cerro del metate en comparación al testigo sin inocular, esto indica que estos microorganismos evaluados en el crecimiento de arúgula cultivada con un nivel reducido de nutrición mineral, lo cual, pueden servir de alternativa sustentable en el manejo agronómico de este cultivo en condiciones de invernadero.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Dirección

Jefatura de Programas de Estudios de Posgrado

Cuernavaca, Morelos, 20 de marzo 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: **“NUTRICIÓN MINERAL Y MICROORGANISMOS BENÉFICOS EN EL CRECIMIENTO DE LECHUGA, ALBAHACA Y ARÚGULA CULTIVADAS EN SUSTRATO”** que presenta el **M.C. HOMERO GONZALEZ GOMEZ**, mismo que fue desarrollado bajo mi dirección y la codirección de la **DRA. EVANGELINA ESMERALDA QUIÑONES AGUILAR**, 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:2023-03-20 17:19:00 | Firmante

NNhNbC5uPSZKekijz7p4lz77NoUcApqelFcbItRh0gxLzsvABZCK+HWHI0VUn/yAKjc+vxQXmbTwQZwQBalk6jOkH1PhAqKKVr6582u6lC1G8myM/IsCjF06LfvTdza7Pd3jz1g6TEjOSf2cdYu6J39SYm0+AuuswlE5bBNIUUIUL/OsA7/fKxqOnPLdncrimpJZcGsCeitqCUAZzC4X9M+httosHRQ8U7FccXQmAWoxCxIR+vaKw0CYhLFebKv+6Nn0e4Vc4t5qKof6UmLrB6oaCkNChmzTbxDHGOgbEpVD8l2bXg0KRG/duPPkNTRNhgU8zr4eXaDln6fdxQwg==

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



[xK20e8bMt](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/InXIM0yTeAftkFbp4SCDOaOmTZS92CQF>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Dirección

Jefatura de Programas de Estudios de Posgrado

Cuernavaca, Morelos, 20 de marzo 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: **NUTRICIÓN MINERAL Y MICROORGANISMOS BENÉFICOS EN EL CRECIMIENTO DE LECHUGA, ALBAHACA Y ARÚGULA CULTIVADAS EN SUSTRATO** que presenta el **M.C. HOMERO GONZALEZ GOMEZ**, mismo que fue desarrollado bajo la dirección del **DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ** y la codirección de la **DRA. EVANGELINA ESMERALDA QUIÑONES AGUILAR**, 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:2023-03-20 20:48:59 | Firmante

1qOZLilJ8QaPqRFXWcRG1j3EurimA3oGmPNnj1FBHQmV85hK0w3k0AP+tJwaOtxqALnalnKjhrManT4BXeZJDtqVRF9FXDzDetl78rCBQIInYAkT7Xnm/UQLGkh03AcuVaSirOgUATmNoxkartGqtrFb5MQ6d3mNT+jTBzusUHIDrJWdNa6c9dyFUbdGI8Xg4XIE25L8dbAgQmm5YSivLx531GfKMNEgcQaomKWfnHmow7Wc3YOcBRnG2qTiq2G8MP6iinoM pK/+kWtOTvg/mrjzaixkBB06ghVks9lqjFYb/p0XxVoE9WroGp3GdzRxv941+TENCfgeUxwDuVw==

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



[ITtJ6FqmQ](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/LhPC5pkvL4pZYLCSLwaPbZRVJWd2fjJ>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Dirección

Jefatura de Programas de Estudios de Posgrado

Cuernavaca, Morelos, 20 de marzo 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: **NUTRICIÓN MINERAL Y MICROORGANISMOS BENÉFICOS EN EL CRECIMIENTO DE LECHUGA, ALBAHACA Y ARÚGULA CULTIVADAS EN SUSTRATO** que presenta el **M.C. HOMERO GONZALEZ GOMEZ**, mismo que fue desarrollado bajo la dirección del **DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ** y la codirección de la **DRA. EVANGELINA ESMERALDA QUIÑONES AGUILAR**, 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

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

**VICTOR LOPEZ MARTINEZ** | Fecha:2023-03-20 23:11:57 | Firmante

gLQB7RYoU1rtXmq/7xFlXb7c/sfBW2il8CP5fAy54BGDcYh1jnkr+76mP/KaNrQ3rVS1gZjd97e/EYWpE/bLOKoy8KmdPeGKqKedVNZgEMGLPtheq5lxtNjflEJRKm7VL0AJS23d+UFmvpR/g6e1pV5RMzvOauQQZ5Y+6CLTFSgeqArpQuGIRYK4o7vP1KWlZ3oK2ahKFjLEAANhE2H8kTFzc5+rEQzFm5iCXq7pvi8qmEAGHxqNKNkSUVOAawTM3vM4d4ZNEwQne+cupVwlltlkXDXQFOOzhNn5D/3uEoE3yuRgYyLyjHpd5WiyDn/A5h453LQ2DP1o/4tBXoM6w==

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



[i60dYftQX](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/zSdn4xJhZtUgsNGCxzN2fl6qm7WoA0Ln>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Dirección

Jefatura de Programas de Estudios de Posgrado

Cuernavaca, Morelos, 20 de marzo 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: **NUTRICIÓN MINERAL Y MICROORGANISMOS BENÉFICOS EN EL CRECIMIENTO DE LECHUGA, ALBAHACA Y ARÚGULA CULTIVADAS EN SUSTRATO** que presenta el **M.C. HOMERO GONZALEZ GOMEZ**, mismo que fue desarrollado bajo la dirección del **DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ** y la codirección de la **DRA. EVANGELINA ESMERALDA QUIÑONES AGUILAR**, 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. OSCAR GABRIEL VILLEGAS TORRES**  
**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 AUGUSTO RAMIREZ TRUJILLO | Fecha:2023-03-21 16:40:34 | Firmante

OXkYuZyACIXUzlb5thPA2evnV0YJQjnSPO2fQVGXmDpEOYv+5ecQRYS6CXBx1RG4khPP3+7JFDbStzNGPm7RUPEzhc5x5/YemkwJFBmg/pZecSm3VWKZUWObbjg1/3xkhF  
ac9vnH3eSnlrMP6bf6JfoFPe98xH5ZNdV/G2SK891slN4ot7E3V98ghY/ByrvdN85HSSo5KpnjthpKyI0Z9ITbY13gJUJXMSKgiNBBeg2leS6OIIIFGKmFGYtchQxqlBr4Cf+GpdEkIFZaz  
sKyZ6tULB1hxaWlvFJS+3mtWhI5nfO8oEduEY6Lnn3q0S8xGJZWgCNxMfLby8ecCnKZUpQ==

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



[blydC4A6S](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/MBU4OXcmfSRWW0CBnlaPoty9VrUtaDkh>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Dirección

Jefatura de Programas de Estudios de Posgrado

Cuernavaca, Morelos, 20 de marzo 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: **NUTRICIÓN MINERAL Y MICROORGANISMOS BENÉFICOS EN EL CRECIMIENTO DE LECHUGA, ALBAHACA Y ARÚGULA CULTIVADAS EN SUSTRATO** que presenta el **M.C. HOMERO GONZALEZ GOMEZ**, mismo que fue desarrollado bajo la dirección del **DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ** y la codirección de la **DRA. EVANGELINA ESMERALDA QUIÑONES AGUILAR**, 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 AUGUSTO RAMÍREZ TRUJILLO**  
**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

**OSCAR GABRIEL VILLEGAS TORRES** | Fecha:2023-03-21 14:27:00 | Firmante

XQZVh0ldNzW82o8mF/WILGLs7Vv4mEAv+gjdkbqW3t7dFDbMo9PI5LrgkNuXc8fZ+c8rgbHufad79SBYDPipNSI8FjJcNwoR+QJnto6GjDM2XZZgvCa9IE5n4a9HGK2d0YJr63wUK  
Og/49jyituDh5wOFKn6TvoSBZwFQRBSUkJ78eo/IDK2m8EP69vhcqRski/c1nz3JGn1apHYLmsYjEdpRitTaPaltOfpmaXVO9AmSnSDZd5LJbQdb59UFqv7wleNZoLgUc1t2d1okGp  
OhcebrYkft/O0rIGVoSQoXDyH5EMak05mqPRjjbr6uSEIUZuxb3Lz2MWxAKNd/wrSpTg==

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



[orSFaR7ZI](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/pGGqe71a50oBOD4SW4Jxk6aefBM1PnvR>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Dirección

Jefatura de Programas de Estudios de Posgrado

Cuernavaca, Morelos, 20 de marzo 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: **NUTRICIÓN MINERAL Y MICROORGANISMOS BENÉFICOS EN EL CRECIMIENTO DE LECHUGA, ALBAHACA Y ARÚGULA CULTIVADAS EN SUSTRATO** que presenta el **M.C. HOMERO GONZALEZ GOMEZ**, mismo que fue desarrollado bajo la dirección del **DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ** y la codirección de la **DRA. EVANGELINA ESMERALDA QUIÑONES AGUILAR**, 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. CID AGUILAR CARPIO**  
**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

**CID AGUILAR CARPIO | Fecha:2023-03-21 09:26:33 | Firmante**

drSJHFAxikNyav+EFsxJuFU983GEQmdNAe5EELP5AEfASIDrj4fMedM+J2TLIV1ZsBevqQ94Bu1pejo9N1+IVLcFvCuXHwUp15Xa+k6qszyzmzPPiydtXi5n4D8rmJvrnUImDrA702v  
xQHVLZDPBe9dv41aPvtokfgkdVEICP5/0OrZJIPfTXof0d1u+zHiBW7trVGVeIS2aw/SWJnPmUyPvqXK9wyjTg5g307m7Tqgn4wuSuqwwJEVOziGuYLv2iLHICHiMeDgPjzNJZSY  
K65kok1LcoGi0+Ze/BFIJ5Z+frLLFXRH4t7L6o9e+a0S/UmvVzLQpHUkfwUTMLEALQ==

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



**bWPH6tSe4**

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/AvBWpGfsyFMv9x98dOt0kje1TKpeTOf4>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Dirección

Jefatura de Programas de Estudios de Posgrado

Cuernavaca, Morelos, 20 de marzo 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: **NUTRICIÓN MINERAL Y MICROORGANISMOS BENÉFICOS EN EL CRECIMIENTO DE LECHUGA, ALBAHACA Y ARÚGULA CULTIVADAS EN SUSTRATO** que presenta el **M.C. HOMERO GONZALEZ GOMEZ**, mismo que fue desarrollado bajo la dirección del **DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ** y la codirección de la **DRA. EVANGELINA ESMERALDA QUIÑONES AGUILAR**, 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. GABRIEL RINCÓN ENRÍQUEZ**  
**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

**GABRIEL RINCON ENRIQUEZ** | Fecha:2023-03-30 20:42:37 | Firmante

FNsPghZ0uCoa8e0zkB8f2cnfR7/d5kQS5H7DuxGrGb8Y8JYBq/ks/hZ1sAEyveSYUB24b3kbAZ0uwwajD3bOk6CASJkDdD2oozbTmkICVlebqo5mGnsxD8+dln2dqNeo09VoWimjmxFrgLvMH818alpYxsg4FirresoXa1+cSN6z3DJiBSe9PNHUhN56nW/cVeimziF2LFkQitZsXoNXHEY+U4iFjZCdLdvqEUB+orSulGS8Vwia383Rjtm1ooXAyeTooqPVE8w4e7UGOXbCEnlAecTZ25hRQ4xYBcNvnfrSkSCbwCYKHjXK4SQLeT2saYxNzASvTTM2k9b5mLdng==

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



[llmdC3xBg](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/WVJlxjVmnsIN80Y5DUzkEP8tbsg4KC1>

