

Promoción del crecimiento de plantas de albahaca utilizando hongos micorrízicos arbusculares y una bacteria marina

Growth promotion of sweet basil by arbuscular mycorrhizal fungi and a marine bacterium

Recibido: 20 de septiembre del 2017

Aceptado: 13 de junio del 2018

Publicado:

Roberto Gregorio Chiquito-Contreras*, Rocío Solís-Palacios**, Juan José Reyes-Pérez***, Bernardo Murillo-Amador****, Jorge Alejandro-Rosas**, Luis Guillermo Hernández-Montiel*****

Cómo citar:

Chiquito-Contreras, R. G., Solís-Palacios, R., Reyes-Pérez, J. J., Murillo-Amador, B., Alejandro-Rosas, J., Hernández-Montiel, L. G. (2018). Promoción del crecimiento de plantas de albahaca utilizando hongos micorrízicos arbusculares y una bacteria marina *Acta Universitaria*, 28(Online First), 1-9. doi: 10.15174/au.2018.2086

* Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Veracruzana.

** Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Veracruzana.

*** Campus Ingeniero Manuel Agustín Haz Álvarez, Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

**** Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. Calle Instituto Politécnico Nacional No. 195, Col. Playa Palo de Santa Rita Sur, La Paz, Baja California Sur, México, C.P. 23096. Tel.: (612)1238484. Correo electrónico: lhernandez@cibnor.mx

° Autor de correspondencia.

Palabras Clave:

Consortios de HMA; *Stenotrophomonas rhizophila*; parámetros morfológicos; clorofila; colonización microbiana.

Keywords:

AMF consortium; *Stenotrophomonas rhizophila*; morphological parameters; chlorophyll; microbial colonization.

RESUMEN

La fertilización con microorganismos benéficos es una alternativa para aumentar el crecimiento y la productividad de los cultivos como la albahaca (*Ocimum basilicum* L.). El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y la bacteria marina *Stenotrophomonas rhizophila* sobre el crecimiento de albahaca var. Nufar. Adicionalmente, se determinó en la bacteria la actividad de la enzima desaminasa del ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) y fijación biológica de nitrógeno (FBN). Posteriormente, plantas de albahaca fueron inoculadas con dos consorcios de HMA (ORECIB01 y SALCIB01) y la bacteria marina. Se cuantificó altura, longitud de tallo y raíz, área foliar, biomasa, clorofila, colonización micorrízica y población bacteriana. Los resultados muestran que la inoculación simultánea de ORECIB01 y bacteria promovieron significativamente todos los parámetros morfológicos y de clorofila en las plantas. La interacción HMA-bacteria incrementó la micorrización y la población bacteriana. La fertilización biológica de plantas de albahaca puede ser una opción viable en el manejo orgánico y sustentable del cultivo.

ABSTRACT

The beneficial soil microorganisms is an alternative to increase the growth and productivity of crops such as sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). The objective of this study was to determine the effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and *Stenotrophomonas rhizophila* on the growth of sweet basil var. Nufar plants. In addition, the enzyme 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase activity and biological nitrogen fixation (BNF) were determined in the bacterium. Sweet basil plants were inoculated with two AMF consortia (ORECIB01 and SALCIB01) and marine bacteria. Height, stem length and root length, leaf area, biomass, chlorophyll, mycorrhizal colonization and bacterial population were quantified. The results show that the simultaneous inoculation of ORECIB01 and bacteria significantly promoted all the morphological parameters and chlorophyll in the plants. The AMF-bacteria interaction increased mycorrhization and bacterial population. The biological fertilization of sweet basil plants can be a viable option in the organic and sustainable management of the crop.

INTRODUCCIÓN

En las últimas dos décadas, la agricultura ha tenido como uno de sus principales objetivos la reducción del uso de agroquímicos debido a que su aplicación de manera constante ocasiona daños a la salud humana, animal y medio ambiente (Giang *et al.*, 2015). Una alternativa al uso de los agroquímicos es la fertilización biológica, la cual proporciona a las plantas sus requerimientos nutricionales a través de las diversas funciones que presentan algunos microorganismos como hongos y bacterias. Estos microorganismos han demostrado tener la capacidad de promover de manera directa e indirecta el crecimiento vegetal (Abd-Alla, El-Enany, Nafady, Khalaf & Morsy, 2014; Bellone & Carrizo de Bellone, 2012), la mayoría de ellos forman una asociación simbiótica con las raíces de las plantas (Hodge & Storer, 2015).

Entre los microorganismos destacan los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), los cuales establecen una simbiosis denominada micorrízica con las raíces de aproximadamente el 80% de las plantas vasculares (Baum, El-Tohamy & Gruda, 2015). Los HMA requieren de la planta hospedera debido al aporte de hidratos de carbono que le proporcionan (Troeh & Loynachan, 2003), a cambio, los HMA le proveen un mayor flujo de nutrientes como el nitrógeno, fósforo, hierro, calcio, potasio, cobre, zinc y agua (Bago, Pfeiffer & Shachar-Hill, 2000). La aplicación de HMA en plantas puede realizarse con una sola especie de este simbionte, sin embargo, la inoculación con consorcios de HMA es más eficiente en la promoción del crecimiento, control biológico y productividad de las plantas (Eke *et al.*, 2016). En relación con las bacterias, existen numerosas especies que estimulan el crecimiento de las plantas a través de la síntesis de hormonas reguladoras del crecimiento, fijación de nitrógeno, solubilización de fósforo, producción de sideróforos, entre otros (Vejan, Abdullah, Khadiran, Ismail & Nasrulhaq, 2016). La bacteria *Stenotrophomonas rhizophila* tiene un gran potencial para promover el crecimiento de las plantas como la soya (Egamberdieva, Jabbo-rova & Berg, 2016), algodón, tomate y chile (Schmidt, Alavi, Cardinale, Müller & Berg, 2012), entre otros. Sin embargo, no existen estudios sobre su aplicación con otros microorganismos en plantas aromáticas; además, solo han sido estudiadas cepas provenientes de raíces de plantas y no de otros ambientes.

La interacción entre HMA y bacterias incrementa las poblaciones de ambos microorganismos en la rizósfera de las plantas, estimulando un incremento en el volumen de raíces que permite una mayor absorción de agua y nutrientes, además de aumentar la solubilización de fósforo, fijación de nitrógeno, inducción de resistencia, se mejora

la tolerancia a factores abióticos, entre otros (García-Gutiérrez *et al.*, 2012; Meng *et al.*, 2015). Cuando la inoculación de manera simultánea de HMA y bacterias se realiza en las plantas, existen numerosos reportes sobre la estimulación significativa del crecimiento de garbanzo (Oliveira *et al.*, 2017), maíz (Selvakumar, Kim, Shagol, Joe & Sa, 2017), jitomate (Lira-Saldivar *et al.*, 2014), entre otros. A pesar de que la mayoría de los estudios reportan el uso de HMA y bacterias en cultivos tradicionales, poca es la información generada sobre su aplicación en plantas aromáticas (Singh *et al.*, 2012; Singh, Soni & Kalra, 2013), ya sea de manera individual o en conjunto que permitan mejorar su crecimiento y producción (Wang, Pan, Chen, Yan & Liao, 2011).

La albahaca (*Ocimum basilicum* L.) es una planta aromática originaria de la India que se produce en climas áridos y semiáridos de todo el mundo. Sus hojas contienen diversas propiedades químicas que permite usarlas en la industria farmacéutica, culinaria, cosmética, de perfumes, entre otros (Lu, Gao, Chen, Charles & Yu, 2014). La superficie sembrada de albahaca en México es de más de 400 ha, de las cuales 208 ha son destinadas para la producción orgánica, 5 ha en invernadero y el resto es bajo el régimen convencional (Juárez-Rosete *et al.*, 2013). En Baja California Sur, se encuentran localizadas el 98% de las has destinadas a la producción de albahaca orgánica, destacando este estado de la República Mexicana debido a que exporta casi la totalidad de la producción, principalmente a Estados Unidos e Italia (Ojeda-Silvera *et al.*, 2015).

Dentro del manejo orgánico de la albahaca está el uso de fertilizantes biológicos, sin embargo, pocos son los estudios enfocados a la aplicación de HMA y bacterias como una alternativa para incrementar la producción de esta hierba aromática (Agüero-Fernández *et al.*, 2016; Singh *et al.*, 2013). El objetivo del presente estudio fue cuantificar el efecto de hongos micorrízicos arbusculares y la bacteria marina *Stenotrophomonas rhizophila* sobre el crecimiento de plantas de albahaca var. Nufar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El experimento se realizó en una estructura con malla anti-áfidos ubicada en el campo experimental El Comitán del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. (Cibnor), localizado en La Paz, Baja California Sur, México a 24° 08' 10" latitud norte y 110°25' 35" longitud oeste, a 7 m s.n.m.

Material microbiológico

Se utilizaron dos consorcios de HMA denominados SALCIB01 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), ambos consorcios pertenecen al laboratorio de Fitopatología del Cibnor. La bacteria marina *S. rhizophila* cepa RK2 fue previamente aislada de la Salina de Guerrero Negro en Baja California Sur y pertenece a la colección de microorganismos del laboratorio de Fitopatología del Cibnor.

Actividad de ACC desaminasa

La bacteria marina *S. rhizophila* se estrió en cajas de Petri con medio mínimo Dworkin y Foster (DF) (Penrose & Glick, 2003), el cual contenía 0.3 g/L de 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) como única fuente de nitrógeno. Las cajas de Petri fueron incubadas por 72 h a 30 °C. Se determinó la actividad de ACC desaminasa como positiva, si la bacteria fue capaz de crecer en el medio DF (Sgroy et al., 2009).

Fijación biológica de nitrógeno

Para determinar de manera indirecta la fijación biológica de nitrógeno (FBN), la bacteria marina fue sembrada por punción en cajas de Petri conteniendo el medio semisólido FBN libre de nitrógeno. La FBN es positiva si la bacteria es capaz de crecer en ausencia de nitrógeno mineral (Naher, Radziah, Shamsuddin, Halimi & Razi, 2009).

Semilla

Se utilizaron semillas de albahaca de la var. Nufar (Vis Seed Company®, Arcadia, California, USA).

Sustrato

El sustrato consistió en una mezcla de suelo y un sustrato comercial denominado Cosmopeat en una proporción de 2:3 (v/v), la cual fue previamente esterilizada en autoclave a 121 °C con 14 lb/pulg² - 15 lb/pulg² de presión de vapor por 15 min y aireada durante dos días consecutivos. Antes del experimento, al sustrato se le determinó su contenido mineral en el laboratorio de Edafología del Cibnor, conteniendo 5.6% de materia orgánica (método AS-07 de la NOM-021-REC/NAT-2000, Diario Oficial de la Federación [DOF], 2002), 11.4 mg/kg de calcio (Jackson, 1958), 2.8 mg/kg de magnesio (Jackson, 1958), 18.3 mg/kg de fósforo (Jackson, 1976), 4.7 mg/kg de nitrógeno (Solorzano, 1969) y 9.2 mg/kg de azufre (Chesnin & Yien, 1950).

Producción de plántulas

Se llenaron con sustrato estéril bandejas con 200 cavidades, depositando una semilla en cada cavidad. A los 20 días después de la siembra, y una vez que las plántulas presentaron su segundo par de hojas, fueron trasplantadas en macetas de 2 L que contienen 1.8 kg del sustrato estéril. La temperatura media durante el periodo de experimentación fue de 25.1 °C ± 5.6 °C y una humedad relativa del 61% ± 11.7% (datos obtenidos a través de una estación meteorológica portátil, Vantage Pro2 © Davis Instruments, USA).

Inoculación de plántulas

Cada planta de albahaca se inoculó con 10 g de cada consorcio de HMA que contenía 180 esporas de SALCIB01 y 196 esporas de ORECIB01. Para los tratamientos que incluían a la bacteria, previamente se cultivó *S. rhizophila* en medio CST a 27 °C por 12 h a 100 rpm. Posteriormente, se ajustó su concentración a 108 células/ml utilizando un espectrofotómetro UV (Spectrophotometer visible 1104 RS) a 660 nm y absorbancia de 1. Se inoculó 1 mL directo a las raíces de cada plántula de albahaca.

Trasplante e inoculación de microorganismos

Al momento del trasplante, cada plántula de albahaca fue inoculada con cada consorcio de HMA, la bacteria marina *S. rhizophila* y HMA+bacteria. El tratamiento control consistió de un lote de plantas sin microorganismos. Todas las plantas se regaron con agua destilada estéril cada tercer día. Las macetas fueron colocadas al azar dentro de una estructura con malla anti-áfidos en un invernadero a 30 °C ± 3 °C. A los 60 días después de inoculadas las plantas con los microorganismos, se determinó la altura de planta (cm), longitud de tallo y raíz (mm), área foliar (cm²), biomasa fresca y seca (g), clorofila a, b (mg/cm²) y total (mg/mL). Se realizaron cinco repeticiones por tratamiento y cada repetición contenía dos unidades experimentales.

Colonización de HMA

Al final del experimento, se evaluó el porcentaje de colonización de HMA y el número de esporas de cada planta. Para la determinación de la colonización, se tomaron y lavaron 2 g de raíces de cada planta y se procedió a su clareo y tinción mediante la metodología propuesta por Phillips & Hayman (1970) modificado por Koske & Gemma (1989). Posteriormente, se determinó el porcentaje de colonización, siguiendo el método de intersección de la cuadrícula de línea descrita por Giovannetti & Mosse (1980). Para el número de esporas se tomó de cada planta una muestra de 10 g de suelo homogeneizado y se realizó la extracción

de esporas mediante el método de gradiente de sacarosa determinando el número de esporas/g de suelo (*International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi* [Invam], 2014).

Población de *S. rhizophila*

Se tomaron 10 g de raíz de cada planta, se maceraron y se realizaron diluciones seriadas que fueron estriadas en cajas de Petri conteniendo medio AST. Las cajas de Petri fueron incubadas a 27 °C por 12 h. La población de la bacteria fue expresada en Unidades Formadoras de Colonias (UFC).

Análisis estadístico

Se empleó un diseño completamente al azar y los datos fueron procesados por un análisis de varianza (Anova) de una vía. Se utilizó el paquete estadístico Statistica® v. 10.0 para Windows (StatSoft) y para la comparación de medias se utilizó la prueba LSD de Fisher ($p < 0.05$).

RESULTADOS

Caracterización de *S. rhizophila* como promotora del crecimiento vegetal

El crecimiento de la bacteria marina *S. rhizophila* en el medio DF determinó de manera positiva (+) la actividad de ACC desaminasa. En cambio, no se observó presencia celular de *S. rhizophila* en el medio FBN, por lo que la actividad de la fijación biológica de nitrógeno fue negativa (-).

Parámetros morfométricos de plantas de albahaca inoculada con microorganismos

Se encontraron diferencias significativas entre las variables morfológicas de las plantas de albahaca inoculadas con los consorcios de HMA y la bacteria marina *S. rhizophila* (cepa RK2) (tabla 1). Para altura, el mejor tratamiento fue la co-inoculación con ORECIB01 y la bacteria, seguido del tratamiento SALCIB01 más la bacteria con un incremento del 29% y 25%, respectivamente, en comparación con el tratamiento control. La inoculación de la albahaca solo con HMA o bacteria, superaron en altura al tratamiento sin microorganismos (figura 1). En longitud de tallo, todos los tratamientos con HMA y bacteria respondieron igual; sin embargo, superaron a las plantas control. Con relación a la variable longitud de raíz, las plantas inoculadas con los consorcios ORECIB01 y SALCIB01 más la bacteria incrementaron un 19% y 17%, respectivamente, en comparación al tratamiento control. Para la biomasa fresca y seca, la co-inoculación ORECIB01 más la bacteria incrementó un 9% y 48%, respectivamente. Finalmente, las plantas co-inoculadas con ambos consorcios de HMA más bacteria, incrementaron su área foliar en un 19% con ORECIB01 y un 17% con SALCIB01, en comparación a las plantas control.

Contenido de clorofila en hojas de albahaca

La inoculación de los consorcios ORECIB01 y SALCIB01 y la bacteria marina *S. rhizophila* (cepa RK2) en las plantas de albahaca provocaron diferencias significativas en el contenido de clorofila a, b y total (tabla 2). La co-inoculación de ORECIB01 más bacteria y de SALCIB01 más bacteria incrementaron el contenido de clorofila a en un 37% y 31%, respectivamente, la clorofila b en un 61% y 56% respectivamente, y la clorofila total en un 47% y 42%, respectivamente.

Tabla 1 Variables morfológicas evaluadas en plantas de albahaca inoculadas con HMA y una bacteria marina.

Tratamiento	Altura (cm)	Longitud de tallo (cm)	Longitud de raíz (cm)	Biomasa fresca (g)	Biomasa seca (g)	Área foliar (cm ²)
ORECIB01 [§]	39.4 ± 0.47bc [¶]	32.5 ± 0.37a	40.5 ± 0.52c	91.06 ± 0.6c	13.81 ± 0.3bc	1198.6 ± 0.4d
SALCIB01 [¶]	38.2 ± 0.45c	32.1 ± 0.41a	40.1 ± 0.55c	91.96 ± 0.44c	13.63 ± 0.6c	1121.4 ± 0.63e
RK2 [¶]	38.3 ± 0.51c	32.7 ± 0.52a	38.5 ± 0.4d	90.74 ± 0.5d	12.58 ± 0.5d	1228.3 ± 0.41c
ORECIB01+RK2	41.7 ± 0.43a	32.2 ± 0.6a	42.2 ± 0.61a	94.78 ± 0.39a	15.06 ± 0.37a	1284.4 ± 0.52a
SALCIB01+RK2	40.4 ± 0.38ab	32.5 ± 0.5a	41.5 ± 0.5ab	93.51 ± 0.5b	14.54 ± 0.3ab	1261.7 ± 0.48b
Control	32.2 ± 0.61d	30.9 ± 0.57b	35.3 ± 0.53e	86.32 ± 0.48e	10.15 ± 0.5e	1071.4 ± 0.51f

[§] Consorcio de HMA conformado por las especies *C. etunicatum*, *F. mosseae*, *Gigaspora* sp. y *G. clarum*.

[¶] Consorcio de HMA conformado por las especies *F. mosseae*, *C. etunicatum*, *A. morrowiae*, *Gigaspora* sp. y *Glomus* sp.

[¶] Cepa de la bacteria marina *S. rhizophila*.

[¶] Todos los valores están expresados como la media ± DE (n = 10). Columnas con diferentes letras fueron significativamente diferentes por la prueba LSD de Fisher ($p < 0.05$). Fuente: Elaboración propia.



Figura 1

Plantas de albahaca inoculadas con consorcios de HMA y una bacteria marina. (1) Control, (2) RK2, (3) ORECIBO1, (4) ORECIBO1+RK2, (5) SALCIBO1 y (6) SALCIBO1+RK2. Fuente: Elaboración propia.

Tratamiento	Clorofila a (mg/cm ²)	Clorofila b (mg/cm ²)	Clorofila total (mg/mL)
ORECIBO1 ^b	3.94 ± 0.34b ^e	1.19 ± 0.47b	4.93 ± 0.42b
SALCIBO1 ^e	3.91 ± 0.53b	1.07 ± 0.5b	4.58 ± 0.4b
RK2 ^a	3.95 ± 0.6b	1.03 ± 0.5b	4.98 ± 0.39b
ORECIBO1+RK2	4.42 ± 0.61a	2.93 ± 0.39a	6.36 ± 0.59a
SALCIBO1+RK2	4.22 ± 0.49a	2.87 ± 0.43a	6.15 ± 0.66a
Control	3.21 ± 0.58bc	1.12 ± 0.61b	4.32 ± 0.39bc

^eTodos los valores están expresados como la media ± DE (n = 10). Columnas con diferentes letras fueron significativamente diferente por la prueba LSD de Fisher (p < 0.05). Fuente: Elaboración propia.

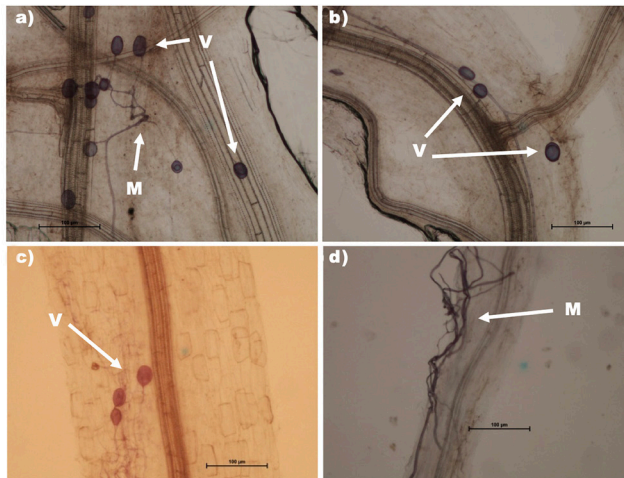


Figura 2

Colonización de HMA sobre la raíz de plantas de albahaca después de 60 días de la inoculación. a) Vesículas (V) y micelio (M) en el tratamiento de co-inoculación con ORECIBO1+RK2; b) Vesículas (V) en el tratamiento de co-inoculación con SALCIBO1+RK2; c) Vesículas (V) en el tratamiento solo con ORECIBO1 y d) Micelio (M) en el tratamiento ORECIBO1. Fuente: Elaboración propia.

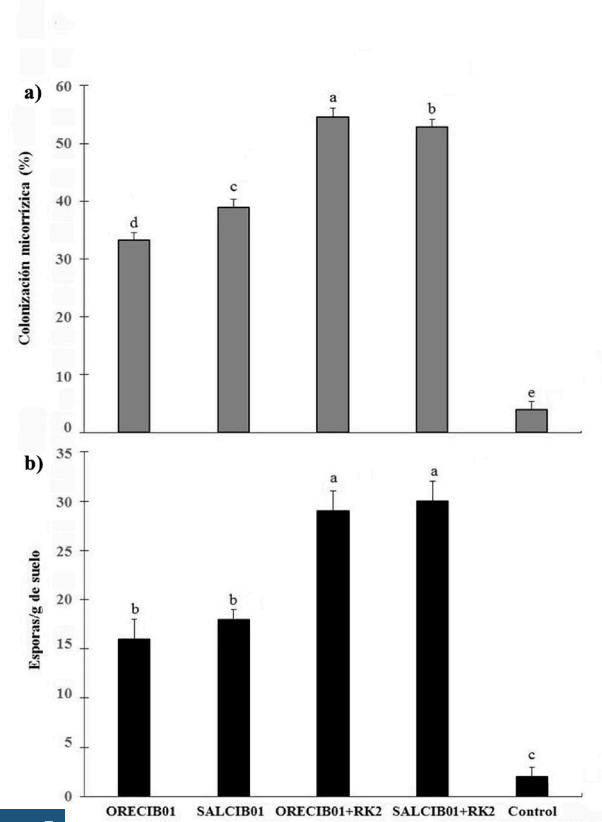


Figura 3

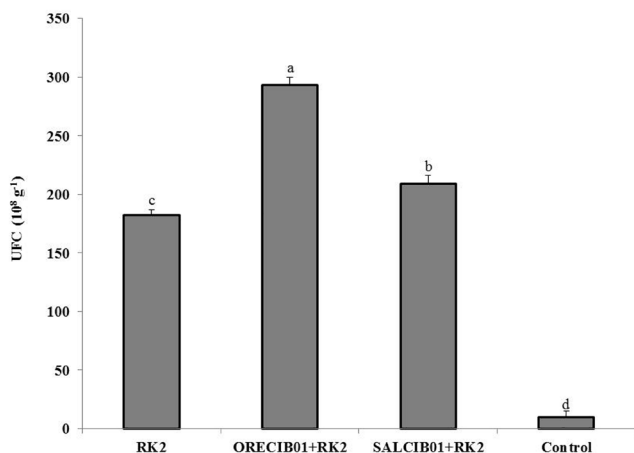
Colonización micorrízica en plantas de albahaca co-inoculadas con *S. rhizophila*. Porcentaje de colonización micorrízica (a) y esporas/g de suelo (b) en plantas inoculadas con ORECIBO1 y SALCIBO1 = Consorcios de HMA, RK2 = Bacteria marina *S. rhizophila* y Control = Plantas sin microorganismo. Las barras de los errores indican la desviación estándar (DE) de n = 10. Columnas con diferentes letras fueron significativamente diferente por la prueba LSD de Fisher (p < 0.05). Fuente: Elaboración propia.

Colonización micorrízica arbuscular

Existieron diferencias significativas en el porcentaje de colonización micorrízica (figura 2) y el número de esporas de los consorcios ORECIBO1 y SALCIBO1 co-inoculados con la bacteria marina *S. rhizophila* en las plantas de albahaca (figura 2a, 2b). Las plantas co-inoculadas con ORECIBO1 más la bacteria marina (RK2) aumentaron un 64% el porcentaje de colonización y un 81% el número de esporas/g de suelo en comparación al tratamiento de plantas inoculadas solo con el consorcio de HMA. Las plantas co-inoculadas con SALCIBO1 más la bacteria aumentaron un 35% el porcentaje de colonización y un 66% el número de esporas (figura 3).

Población bacteriana

Hubo diferencias significativas en la población de *S. rhizophila* (RK2) cuando fue co-inoculada con los consorcios ORECIBO1 y SALCIBO1 en las plantas de albahaca (figura 4). Las plantas co-inoculadas con RK2 más ORECIBO1 aumentaron un 60% su población bacteriana en comparación al tratamiento de plantas inoculadas solo con la bacteria marina.


Figura 4

Población de *S. rhizophila* en raíz de plantas de albahaca después de 56 días de la inoculación. Plantas inoculadas solo con la bacteria marina (RK2), con HMA más bacteria (ORECIB01+RK2 y SALCIB01+RK2) y plantas sin microorganismos (control). Las barras de los errores indican la desviación estándar (DE) de $n = 10$. Columnas con diferentes letras fueron significativamente diferente por la prueba LSD de Fisher ($p < 0.05$).

Fuente: Elaboración propia.

DISCUSIÓN

Las bacterias promueven el crecimiento de las plantas por diferentes mecanismos (Glick, 2012), sin embargo, la característica clave de las bacterias que promocionan el crecimiento vegetal es la capacidad de producir la enzima desaminasa del ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) (Glick, 2014). Esta enzima es responsable de degradar el ACC, precursor del etileno en α -cetobutirato y amonio (Glick, 2005). Al disminuir los niveles de ACC desaminasa en las plantas se estimula el crecimiento vegetal; además, con la generación de amonio, las plantas disponen de una fuente extra de nitrógeno (Glick, Cheng, Czarny & Duan, 2007). Entre las bacterias productoras de ACC desaminasa destacan *Pseudomonas putida*, *P. fluorescens* (Etesami, Hosseini, Alikhani & Mohammadi, 2014), *Rhizobium leguminosarum* (Kumar, Dubey, Maheshwari & Bajpai, 2016), *P. aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* y *Bacillus subtilis* (Patil, Suryawanshi, Koli & Patil, 2016), entre otras. Este es el primer reporte de una cepa marina de *S. rhizophila* productora de ACC desaminasa.

La co-inoculación de los consorcios ORECIB01 y SALCIB01 de HMA y la bacteria *S. rhizophila* en las plantas de albahaca promovieron significativamente una mayor altura, longitud de tallo y raíz, biomasa y área foliar. Este incremento en el crecimiento de la albahaca es el resultado de la simbiosis mutualista tripartita entre HMA-bacteria-hospedero, la cual aumenta particularmente

la capacidad de las plantas para absorber del suelo más agua y nutrientes como el nitrógeno, fósforo, potasio y micro-elementos (Abd-Alla *et al.*, 2014; Bona *et al.*, 2017). Los resultados obtenidos coinciden con el estudio realizado por Hemavathi, Shivakumar, Suresh & Earanna (2006), quienes reportaron un aumento en el crecimiento y rendimiento de la biomasa de albahaca co-inoculada con el HMA *Glomus fasciculatum* y las bacterias *B. megaterium* y *P. fluorescens*. Por su parte Abdel-Rahman, Abdel-Kader & Khalil (2011) encontraron que el efecto de la co-inoculación de *G. irradicans* y *B. subtilis* incrementó la altura y el número de ramas de tres variedades de albahaca, superando a los tratamientos donde solo se inoculó cada microorganismo.

En relación al contenido de clorofila en albahaca, Vafadar, Amooghaie & Otroshy (2014) mencionan que esta variable se acrecenta en las plantas debido al aumento de biomasa vegetal promovida por la inoculación con HMA y bacterias. Los resultados en área foliar, biomasa fresca y seca y contenido de clorofila, en este trabajo, resultan importantes si consideramos que dentro de las características que se buscan en la albahaca para su comercialización en fresco son hojas que visualmente tengan una apariencia de fresca, una uniformidad de tamaño, color verde, hojas grandes, entre otros, que permiten alcanzar los mejores precios en el mercado internacional (Bekhradi *et al.*, 2015).

Diversos estudios han mostrado que comunidades de diversas bacterias asociadas a HMA potencian la micorrización y el crecimiento de las plantas (Agnolucci, Battini, Cristani & Giovannetti, 2015; Singh *et al.*, 2013). Esta interacción entre HMA-bacteria incrementa la colonización de ambos microorganismos en el hospedero debido a que, por una parte, se aumenta la germinación y crecimiento de las hifas de los endofitos y, por otra, se acrecenta la población de bacterias en la rizósfera de las plantas en presencia de los HMA (Fernández *et al.* 2016; Long, Lin, Yao & Zhu, 2017). En este estudio, el aumento de la población de HMA y *S. rhizophila* después de las co-inoculaciones de albahaca, en comparación con las inoculaciones simples, probablemente contribuyeron a mejorar el crecimiento y contenido de clorofila en las plantas; por consiguiente, la bacteria marina *S. rhizophila* podría ser designada como bacteria ayudante de la micorrización (termino conocido como mycorrhiza helper bacteria, MHB) (Kataoka & Futai, 2009).

CONCLUSIÓN

La co-inoculación de HMA y la bacteria marina *S. rhizophila* en plantas de albahaca promovieron el mayor crecimiento y contenido de clorofila, en comparación con las inoculaciones individuales de ambos microorganismos. Las plantas co-inoculadas con HMA y bacteria tuvieron

una mayor área foliar, biomasa fresca y seca y contenido de clorofila, características importantes que son determinantes para su venta en el mercado internacional. La fertilización biológica con HMA y *S. rhizophila* en plantas de albahaca puede ser una opción viable en el manejo orgánico y sustentable del cultivo.

REFERENCIAS

- Abd-Alla, M. H., El-Enany, A. W. E., Nafady, N. A., Khalaf, D. M., & Morisy, F. M. (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: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.07.007>
- Abdel-Rahman, S. S., Abdel-Kader, A. A., & Khalil, S. E. (2011). Response of three sweet basil cultivars to inoculation with *Bacillus subtilis* and arbuscular mycorrhizal fungi under salt stress conditions. *Nature and Science*, 9(6), 93-111.
- Agnolucci, M., Battini, F., Cristani, C., & Giovannetti, M. (2015). Diverse bacterial communities are recruited on spores of different arbuscular mycorrhizal fungal isolates. *Biology and Fertility of Soils*, 51(3), 379-389. doi: <https://doi.org/10.1007/s00374-014-0989-5>
- Agüero-Fernández, Y., Hernández-Montiel, L. G., Nieto-Garibay, A., Troyo-Diéguez, E., Zulueta-Rodríguez, R., & Murillo-Amador, B. (2016). Hongos micorrízicos arbusculares como agentes mitigadores del estrés salino por NaCl en plántulas de albahaca. *Nova Scientia*, 8(17), 60-86.
- Bago, B., Pfeffer, P. E., & Shachar-Hill, Y. (2000). Carbon metabolism and transport in arbuscular mycorrhizas. *Plant Physiology*, 124, 949-958. doi: <https://doi.org/10.1104/pp.124.3.949>
- Baum, C., El-Tohamy, W., & Gruda, N. (2015). Increasing the productivity and product quality of vegetable crops using arbuscular mycorrhizal fungi: a review. *Scientia Horticulturae*, 187, 131-141. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.03.002>
- Bekhradi, F., Luna, M. C., Delshad, M., Jordan, M. J., Sotomayor, J. A., Martínez-Conesa, C., & Gil, M. I. (2015). Effect of deficit irrigation on the postharvest quality of different genotypes of basil including purple and green Iranian cultivars and a Genovese variety. *Postharvest Biology and Technology*, 100, 127-135. doi: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.09.017>
- Bellone, C., & Carrizo de Bellone, S. (2012). Interaction of *Azospirillum brasilense* and *Glomus intrarradix* in sugar cane roots. *Indian Journal of Microbiology*, 52(1), 70-75. doi: <https://doi.org/10.1007/s12088-011-0208-0>
- Bona, E., Cantamessa, S., Massa, N., Manassero, P., Marsano, F., Copetta, A., Lingua, G., D'Agostino, G., Gamalero, E., & 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: <https://doi.org/10.1007/s00572-016-0727-y>
- Chesnin, L., & Yien, C. H. (1950). Turbidimetric determination of available sulphates. *Soil Science Society of America*, 5, 149-151. doi: <https://doi.org/10.2136/sssaj1951.036159950015000C0032x>
- Diario Oficial de la Federación (DOF) (31 de diciembre de 2002). Norma Oficial Mexicana 021 (NOM-021-REC/NAT). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- Egamberdieva, D., Jabbarova, D., & Berg, G. (2016). Synergistic interactions between *Bradyrhizobium japonicum* and the endophyte *Stenotrophomonas rhizophila* and their effects on growth, and nodulation of soybean under salt stress. *Plant and Soil*, 405(1-2), 35-45. doi: <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2661-8>
- Eke, P., Chatue, G. C., Wakam, L. N., Kouipou, R. M. T., Fokou, P. V. T., & Boyom, F. F. (2016). Mycorrhiza consortia suppress the fusarium root rot (*Fusarium solani* f. sp. *Phaseoli*) in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Biological Control*, 103, 240-250. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.10.001>
- Etesami, H., Hosseini, H. M., Alikhani, H. A., & Mohammadi, L. (2014). Bacterial biosynthesis of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase and indole-3-acetic acid (IAA) as endophytic preferential selection traits by rice plant seedlings. *Journal of Plant Growth Regulation*, 33(3), 654-670. doi: <https://doi.org/10.1007/s00344-014-9415-3>
- Fernández, B. L., Colombo, R., Bompadre, J., Benavides, M., Scorza, V., Silvani, V., Pergola, M., & Godeas, A. (2016). Cultivable bacteria associated with infective propagules of arbuscular mycorrhizal fungi. Implications for mycorrhizal activity. *Applied Soil Ecology*, 105, 86-90. doi: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.04.013>
- García-Gutiérrez, L., Romero, D., Zerriouh, H., Cazorra, F., 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: <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1173-z>
- Giang, P., Harada, H., Fujii, S., Lien, N., Hai, H., Anh, P., & Tanaka, S. (2015). Transition of fertilizer application and agricultural pollution loads: a case study in the Nhue-Day River basin. *Water Science and Technology*, 72(7), 1072-1081. doi: <https://doi.org/10.2166/wst.2015.312>
- Giovannetti, M., & Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *The New Phytologist*, 84(3), 489-500.
- Glick, B. R. (2005). Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase. *FEMS Microbiology Letters*, 251(1), 1-7. doi: <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.07.030>
- Glick, B. (2012). Plant growth-promoting bacteria: Mechanisms and applications. *Hindawi Publishing Corporation, Scientifica*, 2012, 1-15. doi: <https://doi.org/10.6064/2012/963401>
- Glick, B. R. (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research*, 169(1), 30-39. doi: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.009>

- Glick, B. R., Cheng, Z., Czarny, J., & Duan, J. (2007). Promotion of plant growth by ACC deaminase-containing soil bacteria. *European Journal of Plant Pathology*, 119, 329-339. doi: 10.1007/s10658-007-9162-4
- Hemavathi, V. N., Shivakumar, B. S., Suresh, C. K., & Earanna, N. (2006). Effect of *Glomus fasciculatum* and plant-growth-promoting rhizobacteria on growth and yield of *Ocimum basilicum*. *Karnataka Journal of Agricultural Sciences*, 19(1), 17-20.
- Hodge, A., & Storer, K. (2015). Arbuscular mycorrhiza and nitrogen: implications for individual plants through to ecosystems. *Plant and Soil*, 386(1-2), 1-19.
- International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi (Invam). (2014). *Staining of mycorrhizal roots*. Recuperado de <http://invam.wvu.edu/methods/mycorrhizae/staining-roots>
- Jackson, M. L. (1958). *Soil chemical analysis*. United States of America: Prentice-Hall, Inc.
- Jackson, M. L. (1976). *Análisis químico de suelos*. Barcelona, España: Ediciones Omega, S.A.
- Juárez-Rosete, C. R., Aguilar-Castillo, J. A., Juárez-Rosete, M. E., Bugarrín-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.
- Kataoka, R., & Futai, K. (2009). A new mycorrhizal helper bacterium, *Ralstonia* species, in the ectomycorrhizal symbiosis between *Pinus thunbergii* and *Suillus granulatus*. *Biology and Fertility of Soils*, 45(3), 315-320. doi: <https://doi.org/10.1007/s00374-008-0340-0>
- Koske, R. E., & Gemma, J. N. (1989). A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycological Research*, 92(4), 486-488. doi: [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(89\)80195-9](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(89)80195-9)
- Kumar, P., Dubey, R. C., Maheshwari, D. K., & Bajpai, V. (2016). ACC deaminase producing *Rhizobium leguminosarum* rpn5 isolated from root nodules of *Phaseolus vulgaris* L. *Bangladesh Journal of Botany*, 45(3), 477-484.
- Lira-Saldivar, R. H., Hernandez, A., Valdez, L. A., Cárdenas, A., Ibarra, L., Hernández, M., & Ruiz, N. (2014). *Azospirillum brasilense* and *Glomus intraradices* co-inoculation stimulates growth and yield of cherry tomato under shadehouse conditions. *Phyton-International Journal of Experimental Botany*, 83, 133-138.
- Long, L., Lin, Q., Yao, Q., & Zhu, H. (2017). Population and function analysis of cultivable bacteria associated with spores of arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita*. *3 Biotech*, 7(1), 8. doi: <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0612-1>
- Lu, Y., Gao, B., Chen, P., Charles, D., & Yu, L. L. (2014). Characterization of organic and conventional sweet basil leaves using chromatographic and flow-injection mass spectrometric (FIMS) fingerprints combined with principal component analysis. *Food Chemistry*, 154, 262-268. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.009>
- 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, 1-10. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00339>
- Naher, U. A., Radziah, O., Shamsuddin, Z. H., Halimi, M. S., & Razi, M. (2009). Isolation of diazotrophs from different soils of Tanjung Karang rice growing area in Malaysia. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11(5), 547-552.
- Ojeda-Silvera, C. M., Murillo-Amador, B., Nieto-Garibay, A., Troyo-Diéguez, E., Reynaldo-Escobar, M. I., Ruíz-Espinoza, F. H., & García-Hernández, J. L. (2015). Emergencia y crecimiento de plántulas de variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) sometidas a estrés hídrico. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 2(5), 151-160.
- Oliveira, R. S., Carvalho, P., Marques, G., Ferreira, L., Nunes, M., Rocha, I., Ying, M., Carvalho, M., Vosátka, M., & Freitas, H. (2017). Increased protein content of chickpea (*Cicer arietinum* L.) inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and nitrogen-fixing bacteria under water deficit conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, doi: <https://doi.org/10.1002/jsfa.8201>
- Patil, C., Suryawanshi, R., Koli, S., & Patil, S. (2016). Improved method for effective screening of ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylate) deaminase producing microorganisms. *Journal of Microbiological Methods*, 131, 102-104. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2016.10.009>
- Penrose, D. M., & Glick, B. R. (2003). Methods for isolating and characterizing ACC deaminase containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiologia Plantarum*, 118(1), 10-15. doi: <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2003.00086.x>
- Phillips, J. M., & Hayman, D. S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55(1), 158-161. doi: 10.1016/S0007-1536(70)80110-3
- Schmidt, C. S., Alavi, M., Cardinale, M., Müller, H., & Berg, G. (2012). *Stenotrophomonas rhizophila* DSM14405T promotes plant growth probably by altering fungal communities in the rhizosphere. *Biology and Fertility of Soils*, 48(8), 947-960. doi: <https://doi.org/10.1007/s00374-012-0688-z>
- Selvakumar, G., Kim, K., Shagol, C. C., Joe, M. M., & Sa, T. (2017). Spore associated bacteria of arbuscular mycorrhizal fungi improve maize tolerance to salinity by reducing ethylene stress level. *Plant Growth Regulation*, 81(1), 159-165. doi: <https://doi.org/10.1007/s10725-016-0184-9>
- Sgroj, V., Cassán, F., Masciarelli, O., Del Papa, M. F., Lagares, A., & Luna, V. (2009). Isolation and characterization of endophytic plant growth-promoting (PGPB) or stress homeostasis-regulating (PSHB) bacteria associated to the halophyte *Prosopis strombulifera*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(2), 371-381. doi: <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2116-3>
- Singh, R., Kalra, A., Ravish, B., Divya, S., Parameswaran, T., Srinivas, K., & Bagyaraj, D. (2012). Effect of potential bioinoculants and organic manures on root-rot and wilt, growth, yield and quality of organically grown *Coleus forskohlii* in a semi-arid tropical region of Bangalore (India). *Plant Pathology*, 61(4), 700-708. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2011.02567.x>
- Singh, R., Soni, S., & Kalra, A. (2013). Synergy between *Glomus fasciculatum* and a beneficial *Pseudomonas* in reducing root diseases and improving yield and forskolin content in *Coleus forskohlii* Briq. under organic field conditions. *Mycorrhiza*, 23(1), 35-44. doi: <https://doi.org/10.1007/s00572-012-0447-x>

- Solorzano, L. (1969). Determination of ammonia in natural waters by phenylhypochlorite medium. *Limnology and Oceanography*, 14(5), 799-801. doi: <https://doi.org/10.4319/lo.1969.14.5.0799>
- Troeh, Z. I., & Loynachan, T. E. (2003). Endomycorrhizal fungal survival in continuous corn, soybean and fallow. *Agronomy Journal Abstracts*, 95(1), 224-230. doi: <https://doi.org/10.2134/agronj2003.2240>
- Vafadar, F., Amooaghaie, R., & Otroshy, M. (2014). Effects of plant-growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungus on plant growth, stevioside, NPK, and chlorophyll content of *Stevia rebaudiana*. *Journal of Plant Interactions*, 9(1), 128-136. doi: <https://doi.org/10.1080/17429145.2013.779035>
- Valerio-Landa, S. (2014). *Respuesta morfo-fisiológica de plantas de albahaca (Ocimum basilicum L.) inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares*. Tesis. México: Universidad Veracruzana.
- Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S., & Nasrulhaq Boyce, A. (2016). Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability-a review. *Molecules*, 21(5), 573. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules21050573>
- Wang, X., Pan, Q., Chen, F., Yan, X., & Liao, H. (2011). Effects of co-inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia on soybean growth as related to root architecture and availability of N and P. *Mycorrhiza*, 21(3), 173-181. doi: <https://doi.org/10.1007/s00572-010-0319-1>