

Consortios nativos de hongos micorrícicos arbusculares y biochar en la promoción del crecimiento de plantas de girasol

Luis López Pérez¹, Santiago Rubio Marcos² y Alfredo Reyes Tena^{1*}

¹Laboratorio de Ecofisiología Vegetal, Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

²Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

*Autor de correspondencia: alfredo.reyes@umich.mx

Resumen

Palabras clave:

biocarbón, colonización micorrícica, *Helianthus annuus*, micorriza arbuscular

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de dos consorcios micorrícicos arbusculares nativos de la rizosfera de agave de suelos agrícolas de Michoacán y un biochar producido a partir de bagazo de agave mezcalero, en el crecimiento de plantas de girasol bajo condiciones de invernadero. Durante el desarrollo del experimento se registraron distintas variables de crecimiento y a los 60 días después del trasplante se determinó el crecimiento de las plantas y el número de esporas y colonización micorrícica. Los resultados mostraron un incremento en los valores de crecimiento en plantas micorrizadas. La inoculación de consorcios micorrícicos en combinación con el biochar registró mayor número de esporas con respecto a los tratamientos sin biochar. En contraste, los tratamientos sin la adición de biochar registraron un porcentaje superior de colonización micorrícica. Estos resultados sugieren un efecto de inhibición de la colonización micorrícica por parte del biochar y reducción de sus efectos sobre las plantas.

Introducción

La degradación del suelo superficial, que abarca desde el aumento de la erosión, la salinización, acidificación, compactación y la escasez de agua, compromete el papel esencial que el suelo desempeña en la agricultura y la seguridad alimentaria (Gomiero, 2016). La degradación del suelo reduce la capacidad de los suelos para sustentar la vida vegetal y animal, así como su capacidad para regular los servicios ecosistémicos esenciales como la regulación del agua y el ciclo de nutrientes (Pereira *et al.*, 2018). En los úl-

Enfoques Transdisciplinarios:
Ciencia y Sociedad, 2(2),
215-230. ISSN: 3061-709X.
<https://doi.org/10.5281/zenodo.12774150>

Recibido: 28 abril 2024
Revisado: 22 mayo 2024
Aceptado: 1 julio 2024
Publicado: 18 de julio 2024



Este artículo es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos y condiciones de la licencia CC BY-NC-SA 4.0. Para ver una copia de esta licencia visite <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>



timos años la investigación en agricultura ha puesto un énfasis particular en el uso de técnicas que promuevan la salud del suelo y mejoren la absorción de nutrientes por parte de las plantas (Martínez-Camacho *et al.*, 2022). El objetivo principal de las prácticas agrícolas sostenibles reside en preservar la salud del suelo y garantizar la productividad de los cultivos (Wezel *et al.*, 2014). Dentro del empleo de prácticas agronómicas de bajo impacto ambiental se encuentra el uso de inoculantes microbianos que promueven el crecimiento vegetal y mejoran la salud, estructura del suelo y su microbiota en general (Sammauria *et al.*, 2020). En este sentido, el empleo de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) en la productividad agrícola ha sido extensamente estudiado (Manoharan *et al.*, 2017). Se ha demostrado que la micorrización estimula el crecimiento de varias especies vegetales de importancia agrícola bajo condiciones de invernadero y campo, incluyendo el chile (Alonso-Contreras *et al.*, 2013), la papaya (Quiñones-Aguilar *et al.*, 2019), el café (Hernández-Acosta *et al.*, 2018), el maíz, frijol (Reyes-Tena *et al.*, 2015) y el guayabo (Quiñones-Aguilar *et al.*, 2020). Por otro lado, producción de glomalina por los HMA mejora la estructura del suelo, favoreciendo la formación de agregados de suelo, mejorando la retención de agua y la aireación en beneficio para las plantas (Rillig, 2014).

Por otra parte, también se ha explorado el uso de mejoradores del suelo que incrementan la capacidad de retención de agua y nutrientes, favoreciendo el crecimiento vegetal y el establecimiento de microorganismos benéficos. Uno de los mejoradores de suelo que recientemente ha sido estudiado es el biochar o biocarbón, el cual es un tipo de carbón obtenido mediante pirólisis, que implica la descomposición térmica de biomasa en ausencia de oxígeno (Elad *et al.*, 2011). Entre los beneficios directos asociados al uso del biochar se encuentran que sirve como un reservorio de carbono, favorece la porosidad y estructura del suelo, así como la infiltración del agua (Escalante-Rebolledo *et al.*, 2016). Sin embargo, el uso de biochar también se ha reportado que puede llegar a tener efectos negativos en el crecimiento vegetal, provocando fitotoxicidad (Manya *et al.*, 2012). Por este motivo, es necesario evaluar este mejorador de suelo en distintas especies vegetales y a distintas concentraciones (Khan *et al.*, 2018).

El empleo de HMA y biochar ha sido evaluado de forma individual; sin embargo, poco se ha explorado sobre su aplicación conjunta, compatibilidad y los potenciales efectos benéficos o tóxicos que podrían proporcionar a las plantas (Gujre *et al.*, 2021), principalmente bajo el contexto actual en el que hay escasez de agua y periodos prolongados de sequía en diversas zonas del planeta (Kamatchi *et al.*, 2024). Por tal motivo, es necesario realizar trabajos de investigación que permitan conocer estos beneficios, así como las limitantes del uso de los HMA y biochar en diferentes cultivos. En un estudio realizado por Sun *et al.* (2022), se investigaron los efectos del biochar y los HMA en el crecimiento del maíz. Los resultados revelaron



que la aplicación individual de HMA o biochar mejoró el crecimiento del maíz y aumentó los niveles de minerales en las raíces y los brotes, incluyendo nutrientes esenciales como fósforo, potasio, calcio y otros. Además, se observó un aumento en los pigmentos fotosintéticos en las hojas de plantas tratadas con HMA. Sin embargo, la combinación de HMA y biochar no mostró efectos sinérgicos en las variables evaluadas. También, la aplicación de biochar redujo la colonización de HMA en las raíces y disminuyó la dependencia del maíz a la micorrización. Por otro lado, existen reportes de que la inoculación de HMA y biochar fue positiva al incrementar el crecimiento de plantas de cebollín (*Allium fistulosum*), reflejado en una mayor altura de la planta, peso fresco y el diámetro de la raíz (Ji *et al.*, 2023). Con base en lo anterior, en este trabajo de investigación se evaluaron los efectos de consorcios de HMA nativos de suelos agrícolas de Michoacán en combinación con biochar en el crecimiento y desarrollo de plantas de girasol (*Helianthus annuus* L.), en condiciones de invernadero. El empleo de girasol en esta investigación, al ser una especie con cierta tolerancia a la sequía, representa una de las principales alternativas de cultivos en zonas con problemas de escasez de agua y degradación de suelos, por lo tanto, podría ser una especie modelo para la evaluación de la respuesta del uso de HMA y biochar como promotores del crecimiento vegetal y mejoradores del suelo. Debido a lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la inoculación de consorcios micorrícicos arbusculares y la adición de biochar en el crecimiento de plantas de girasol bajo condiciones de invernadero.

Materiales y Métodos

La presente investigación se desarrolló en un invernadero tipo cenital de plástico, del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo ubicado en las coordenadas 19° 45' 95" N, 101° 09' 16" O, a 1900 msnm.

Material vegetal

Las plantas utilizadas se obtuvieron a partir de la germinación de semillas comerciales de *Helianthus annuus* var. Belleza de otoño. Las semillas se hidrataron en agua desionizada por 72 horas para favorecer la germinación. Posteriormente, las semillas se colocaron en charolas de germinación con vermiculita esterilizada. Se realizaron riegos por aspersión cada 24 horas durante dos semanas. Las plántulas se trasplantaron cuando tuvieron una altura promedio de 6 cm a macetas de plástico termoformadas de 1210 mL de volumen (Matec® de 6") con 500 g de suelo agrícola esterilizado en un esterilizador eléctrico (190 °C/96 h). El suelo fue un vertisol obtenido de una parcela agrícola localizada en Copándaro, Michoacán, con coordenadas 19°53'19.30"N y 101°12'21.90"O; este suelo presentó una conducti-



vidad eléctrica (C.E.) 1.68 Ds/m, pH de 7.53, densidad aparente (Dap) de 1.06 g/cm³, capacidad de campo (C.C.) de 37.40% y 116.57 ppm de P (muy alto). No se realizaron fertilizaciones durante el desarrollo del experimento. El riego se realizó cada 48 - 72 h a capacidad de campo, se colocó una charola debajo de cada maceta individual para capturar el agua de escurrimiento y conservar la humedad.

Material biológico

Se utilizaron los consorcios micorrícicos denominados “El Huizachal” (EH) y “El Limón” (EL), conformados por especies de HMA asociadas a la rizosfera de *Agave cupreata* de suelos agrícolas de Michoacán. Estos consorcios fueron proporcionados por el laboratorio de Ecofisiología vegetal y las especies que los conforman fueron previamente descritas por Trinidad-Cruz *et al.* (2017). EH contenía HMA pertenecientes a los géneros *Archaeospora*, *Acaulospora*, *Claroideoglossum*, *Diversispora*, *Entrophospora*, *Funneliformis*, *Septoglossum*, *Rhizophagus* y *Scutellospora*; mientras que el consorcio EL, esporas de los géneros *Archaeospora*, *Acaulospora*, *Claroideoglossum*, *Entrophospora*, *Funneliformis* y *Glomus*. Se inocularon 80 esporas de cada consorcio al momento del trasplante, cubriendo todo el sistema radical de la planta.

Biochar

El biochar se obtuvo a partir de la biomasa vegetal proveniente de los restos de agave mezcalero que se originan del proceso de producción de mezcal artesanal, de tal forma que se aprovecha como un subproducto mejorador del suelo. Este biochar registró las siguientes propiedades fisicoquímicas: pH de 8.5, 1.92 dSm⁻¹, de Conductividad eléctrica, 0.16, 0.64 y 16.7 meL⁻¹, de Nitrógeno total, fosfatos y potasio respectivamente, 0.67 meL⁻¹, de micronutrientes y 75.8% de materia orgánica. Se utilizó un contenido de biochar del 5% con respecto al volumen de sustrato de las macetas, de tal forma que se colocaron 50 g por maceta/planta directamente en el orificio de trasplante.

VARIABLES DE RESPUESTA

Las siguientes variables de respuesta se registraron desde el inicio del experimento, con mediciones cada siete días. Al final del experimento, (60 días después del trasplante), momento en el cual las plantas manifestaron estrés debido a la falta de nutrientes, por lo que no completaron su ciclo completo (120 – 140 días), se determinaron las variables de peso seco total, volumen de la raíz, y las variables microbiológicas de número de esporas de HMA y el porcentaje de colonización micorrícica en la raíz.

Altura de planta: para obtener la dimensión vertical del desarrollo de las plantas se llevó a cabo la medición de su altura en centímetros. Este procedimiento se realizó con un flexómetro, que se posicionó desde la base del tallo hasta el ápice de la última hoja totalmente formada.



Diámetro del tallo: la determinación del diámetro del tallo se realizó empleando un vernier digital, el cual se colocó a la altura de la base del tallo, el valor obtenido se registró en milímetros.

Número de hojas: se registró el número de hojas formadas de cada planta durante la fase de crecimiento y hasta el final del experimento.

Peso seco: al final del experimento se realizó un muestreo destructivo de todas las plantas, las cuales se sometieron a un proceso de secado en un horno a una temperatura constante de 60 °C durante cuatro días. Posteriormente se registró del peso seco de la parte aérea y radical de cada planta en una balanza analítica.

Volumen de raíz: Para calcular el volumen de las raíces de las plantas se empleó la técnica de volumen desplazado de agua en una probeta graduada de 100 mL, partiendo como base 50 mL y posterior registro del volumen desplazado después de sumergir por completo la raíz.

Conteo de esporas de HMA: se empleó la técnica de tamizado húmedo y decantación de Gerdemann y Nicolson (1963) con ligeras modificaciones. Se cuantificó el número de esporas en 50 gramos de suelo seco, que fueron colocados en un vaso de precipitados de 1 litro de capacidad. Luego se incorporó agua desionizada y se sometió a una agitación mecánica durante tres minutos. Posteriormente, se permitió un período de reposo de tres minutos y se procedió a separar el sobrenadante mediante una serie de tamices de graduaciones decrecientes: 600 μm , 150 μm , 75 μm y 45 μm . El contenido retenido en el tamiz de 45 μm fue recogido utilizando una piseta con agua desionizada. El material recuperado se depositó sobre papel filtro, que a su vez se dispuso en una caja de Petri. Para proceder al análisis se utilizó un microscopio estereoscópico, mediante el cual se efectuó el conteo minucioso de las esporas presentes.

Porcentaje de colonización micorrízica: Se empleó la técnica de clareo y tinción de raíces de Phillips y Hayman (1970), con modificaciones y el método de estimación de colonización micorrízica bajo microscopio óptico descrito por Hernández-Cuevas *et al.* (2012). Para el clareo de las raíces se tomaron muestras de raíz de cada planta (10 g aproximadamente) y se colocaron en cassettes de inclusión. Después, se colocaron en un vaso de precipitado de 1 L. Los cassettes se sumergieron en una solución de KOH al 10%, y luego se sometieron a calentamiento hasta alcanzar el punto de ebullición. Las raíces se mantuvieron en esta solución durante 2 min y 30 segundos, seguidos por un lavado con agua destilada para retirar los restos de la solución de KOH. Después, las raíces se sumergieron en una solución de HCl 1N durante 15 min, seguido de un proceso de lavado para eliminar cualquier residuo de la solución ácida. Finalmente, las raíces fueron transferidas y sumergidas en una solución de agua oxigenada al 30%, manteniendo esta inmersión durante un período de 5 min. La tinción se realizó utilizando azul de tripano al 0.05%, los



cassettes se sumergieron en la solución al punto de ebullición durante 35 segundos. Posteriormente, se lavaron con agua corriente y montaron 30 transectos de 1 cm en un portaobjetos para su observación. El porcentaje de colonización micorrícica se determinó mediante el registro de estructuras típicas de HMA, como micelio, vesículas, arbusculos y esporas. Se contabilizó el número de transectos colonizados, dividido entre el número total de transectos observados, el resultado se multiplicó por 100.

Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental bifactorial con las unidades experimentales distribuidas completamente al azar. El primer factor fueron los HMA con cuatro niveles: dos consorcios nativos de suelos agrícolas de Michoacán (“El Huizachal” (EH) y “El Limón” (EL)), un biofertilizante comercial Hiper-Glom (HG) a base del HMA *Rhizophagus intraradices* y un testigo sin inóculo micorrícico. El segundo factor fue el biochar con dos niveles correspondientes a dos proporciones de biochar adicionados al sustrato (0 y 5% P/P); generándose así ocho tratamientos con diez repeticiones para un total de 80 unidades experimentales. La unidad experimental fue una maceta con una planta de girasol. Los datos registrados se sometieron a análisis de varianza y pruebas de comparación de medias de Tukey con un nivel de confianza del 95%.

Resultados y discusión

Las variables de crecimiento acumulativo (altura de planta, diámetro del tallo y número de hojas) mostraron variabilidad en los resultados (Figura 1). Por un lado, en la altura de planta se observó que los tratamientos inoculados con los consorcios micorrícicos sin biochar registraron un mayor tamaño al final del experimento, lo cual se reflejó en diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$). El control donde no se inoculó HMA ni biochar resultó ser el tratamiento que menor altura en promedio registró (Figura 1a). Vital-Vilchis *et al.* reportaron resultados similares en la misma variedad. (2020), donde la micorrización incrementó ligeramente la altura de las plantas; por otro lado, Langeroodia *et al.* (2022) reportó un incremento en la altura de plantas de girasol de un 5% al inocularlas con HMA y biochar e manera conjunta. Los resultados para el diámetro del tallo al momento de la cosecha de las plantas mostraron diferencias estadísticas significativas, donde el tratamiento de control con biochar (CONT-B) registró el mayor diámetro, y el consorcio EH sin biochar (EH-0) presentó el menor (Figura 1b). Para esta variable se observó que las plantas donde se aplicó biochar incrementaron su diámetro independientemente de la inoculación con HMA. Finalmente, la variable de número de hojas no mostró diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos. En promedio, la pro-

ducción de hojas se mantuvo constante entre tratamientos durante el experimento y al final todas las plantas tuvieron 14 hojas de promedio (Figura 1c). Lo anterior puede ser por efecto de cierto nivel de estrés de las plantas al final del experimento al estar en un sustrato con poco volumen de suelo, o bien a que llegaron a floración. El número de hojas es un parámetro que está regulado a nivel genético en plantas de girasol pertenecientes a la misma variedad (Yeremenko *et al.*, 2017). En este sentido, el área foliar es un parámetro que permite una mayor resolución del crecimiento e incremento en biomasa de esta especie vegetal (Domaratskyi, 2021); sin embargo, la presencia de defoliación y el enrollamiento de las hojas dificultó su estimación.

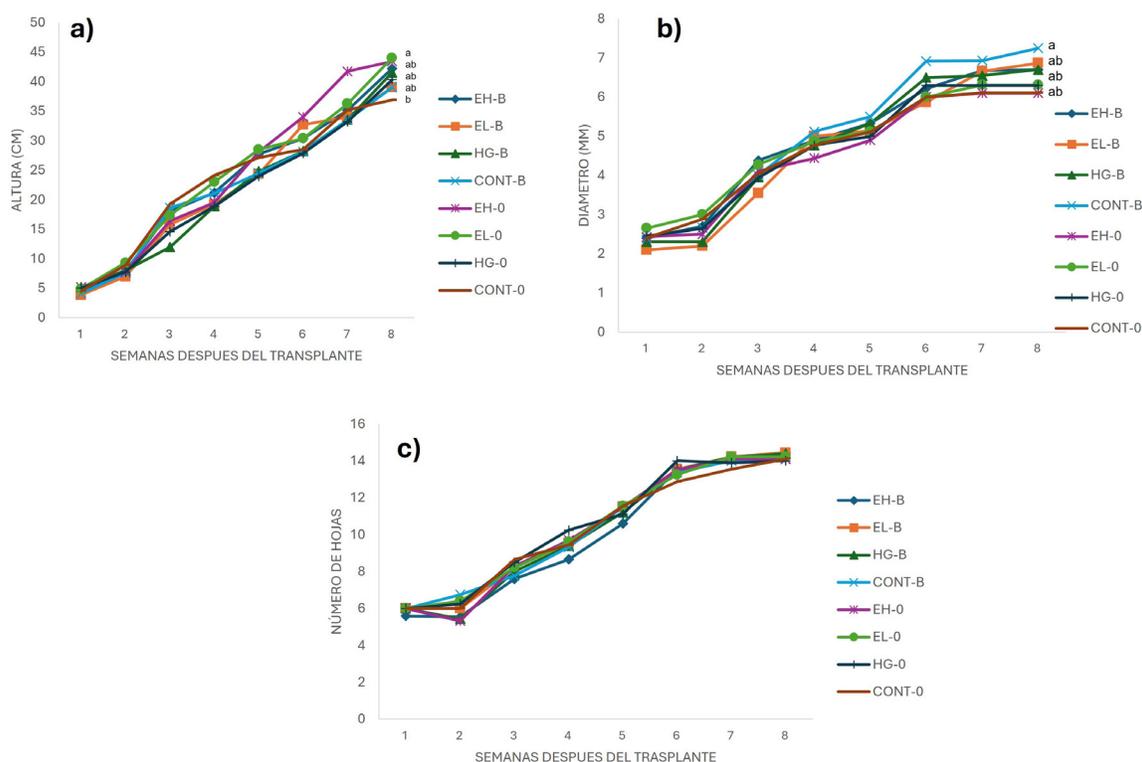


Figura 1. Variables de crecimiento registradas durante el desarrollo del experimento; : a) altura de planta; b) diámetro del tallo; c) número de hojas. Letras diferentes al final de las líneas indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos. EH: El Huizachal, EL: El Limón, HG: Hiperglomus, B: Biochar, CONT: control sin inóculo y sin biochar

Los resultados del análisis de la varianza del diseño factorial de las variables evaluadas en el muestreo destructivo al final del experimento (Tabla 1) indicaron que las variables microbiológicas (colonización y número de esporas) indicaron mejor los efectos de los factores estudiados (biochar e inóculo). En este caso, las variables agronómicas evaluadas relacionadas con el crecimiento vegetativo no reflejaron cambios significativos por efecto de los factores. Sin embargo, cuando ambos factores interactúan, las plantas de girasol mostraron cambios significativos en todas las variables evaluadas con excepción del peso seco de la parte aérea.

**Tabla 1.** Análisis de varianza de las variables de respuesta evaluadas al final del experimento

| Factor | Variable Respuesta | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Cuadrado Medio | Valor de F | Significancia |
|---------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------|-------------------|----------------------|
| Biochar (B) | VR | 38.05 | 1 | 38.05 | 2.84 | 0.09 |
| | PSR | 1.09 | 1 | 1.09 | 6.66 | 0.01 |
| | PSPA | 0.32 | 1 | 0.32 | 0.47 | 0.49 |
| | PSTOT | 2.61 | 1 | 2.61 | 3.50 | 0.68 |
| | Colonización | 238.46 | 1 | 238.46 | 118.86 | 0.00 |
| | No. Esporas | 982.55 | 1 | 982.55 | 84.45 | 0.00 |
| Inóculo micorrícico | VR | 28.15 | 3 | 9.38 | 0.70 | 0.55 |
| | PSR | 0.29 | 3 | 0.09 | 0.59 | 0.62 |
| | PSPA | 4.00 | 3 | 1.33 | 1.92 | 0.14 |
| | PSTOT | 4.57 | 3 | 1.52 | 2.04 | 0.12 |
| | Colonización | 1169.97 | 3 | 389.99 | 194.39 | 0.00 |
| | No. Esporas | 35977.7 | 3 | 11992.5 | 1030.84 | 0.00 |
| B X I | VR | 457.51 | 3 | 152.50 | 11.38 | 0.00 |
| | PSR | 2.99 | 3 | 0.99 | 6.09 | 0.01 |
| | PSPA | 2.27 | 3 | 0.75 | 1.09 | 0.33 |
| | PSTOT | 4.94 | 3 | 1.64 | 2.20 | 0.01 |
| | Colonización | 300.69 | 3 | 100.23 | 49.96 | 0.00 |
| | No. Esporas | 1094.52 | 3 | 364.84 | 31.36 | 0.00 |

VR: volumen de raíz; PSR: peso seco de la raíz; PSPA: peso seco de la parte aérea; PSTOT: peso seco total.

En la Figura 2 se muestran los resultados de las variables microbiológicas de colonización micorrícica y número de esporas por efecto del factor biochar (a y b) y el factor HMA (c y d). Se observó que cuando se aplicó biochar disminuyó significativamente ($P < 0.05$) la colonización micorrícica hasta en 50%. Para la producción de esporas en el sustrato se encontró un resultado contrario al de la colonización: cuando el sustrato de crecimiento tuvo biochar la producción de esporas aumentó un 16%. Cuando se analizaron las variables microbiológicas por el factor inóculo micorrícico se encontró que para la variable de colonización micorrícica el consorcio EH alcanzó el mayor porcentaje (14%), siendo estadísticamente superior a los otros tratamientos. En la producción de esporas se registró más en los consorcios de HMA, obteniéndose en promedio 66 esporas en 50 g de sustrato, casi 17 veces más de lo inicialmente inoculado en el volumen total del sustrato. Los resultados anteriores reflejan que la adición de biochar al sustrato provocó un efecto de toxicidad en los HMA. Se ha reportado en diversos estudios que cuando los HMA están en situación de estrés disminuye la colonización micorrícica e incrementa la producción de esporas como un mecanismo de supervivencia (Verzeaux *et al.*, 2017; Peraza *et al.*, 2019). Por otro lado, la mayor colonización micorrícica y producción de esporas en los consorcios micorrícicos puede estar relacionada a que los consorcios al estar conformados por un mayor número de especies de HMA, es posible que

presenten distintas tasas de crecimiento y en sumatoria representen un incremento superior a la inoculación de una sola especie en el sustrato (Carballar-Hernández *et al.*, 2018; El Maaloum *et al.*, 2020). Sin embargo, estos resultados contrastan con lo reportado por Aggangan *et al.* (2019), quienes reportaron que la adición de biochar al sustrato de crecimiento incrementó la colonización micorrícica del 79 al 83% en plantas de cacao y de Figueiredo *et al.* (2019), quienes reportaron un incremento de la colonización micorrícica en plantas de maíz con la adición de enmiendas a base de biochar elaborado con diferentes temperaturas de pirólisis.

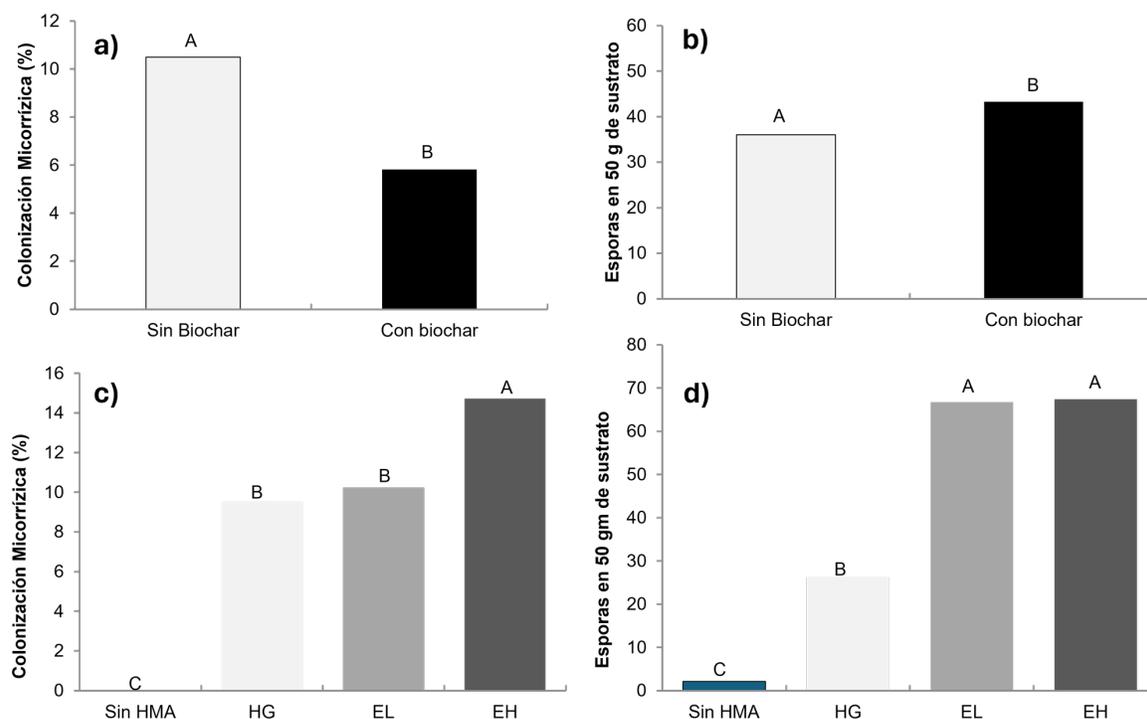


Figura 2. Variables microbiológicas registradas al final del experimento, Colonización micorrícica por efecto del factor biochar e inóculo micorrícico: a) y c); número de esporas en 50 gramos de suelo seco por efecto del factor biochar e inóculo micorrícico: b) y d)..); Letras diferentes arriba de las barras indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos. EH: El Huizachal, EL: El Limón, HG: Hiperglomerus.

Los resultados de las variables de biomasa vegetal determinadas al final del experimento se muestran en la Tabla 2. De manera general se observó un incremento de las variables registradas en los tratamientos donde se inocularon HMA sin biochar y una reducción de estos valores al adicionar biochar al sustrato. Lo anterior podría reflejar un efecto negativo en el crecimiento vegetal al adicionar biochar, el cual se podría relacionar con el posible efecto tóxico del mismo sobre los HMA. El efecto negativo encontrado en este trabajo por la adición del biochar pudo deberse a varios factores: uno de estos pudo ser la dosis aplicada (5%), que para la especie utilizada en esta investigación resultara tóxica. Por otro lado, se tienen reportes de que las propiedades fisicoquímicas del biochar dependen de la biomasa donde se obtiene y las condiciones de pirólisis en su elaboración (Woolf *et al.*, 2010, Mukome *et al.*, 2013; de Figueiredo *et al.*, 2019; Tomczyk



et al., 2020). De acuerdo con la caracterización del biochar usado en este trabajo, su CE y pH pudieron haber afectado el desarrollo de la planta. Yuan y Xu (2010) mencionan que después de haber aplicado biochar al suelo el pH de este se incrementó de 0.5 a 1.05 unidades. Otra causa del efecto nocivo del biochar pudo deberse al método de aplicación, el cual fue localizado justo en la zona radicular. En varios trabajos del efecto benéfico del biochar en los cultivos la aplicación se realiza mezclando el biochar con el volumen total de suelo que se utiliza (Aggangan *et al.*, 2019; Li & Cai, 2021).

Tabla 2. Variables de biomasa vegetal registradas el final del experimento

| Tratamiento | VR (ml) | PSR (g) | PSPA (g) | PSTOT (g) |
|-------------|------------|-----------|----------|-----------|
| EH-B | 10.25 cd | 1.2613 b | 4.8975 a | 6.1588 ab |
| EL-B | 10.25 cd | 1.2063 b | 5.1775 a | 5.3414 b |
| HG-B | 12.25 bcd | 1.5444 b | 4.4333 a | 6.316 ab |
| CONT-B | 17 ab | 1.4529 b | 3.7783 a | 6.13 ab |
| EH-0 | 18.6667 a | 2.2422 a | 4.563 a | 6.7088 ab |
| EL-0 | 14.25 abcd | 1.6413 ab | 4.8475 a | 7.4813 a |
| HG-0 | 16.4 abc | 1.5444 b | 4.1675 a | 6.5525 ab |
| CONT-0 | 8.75 d | 1.3167 b | 4.3113 a | 5.6863 b |

VR: Volumen de la raíz, PSR: Peso seco de la raíz, PSPA: Peso seco de parte aérea, PSTOT: Peso seco total, PCM: Porcentaje de colonización micorrízica, ESP: Número de esporas.

En la Tabla 3 se muestra un análisis de correlación entre las variables de biomasa registradas al final del experimento, el biochar, la inoculación de HMA (micorrización) y el peso seco total. En todas las variables se encontró correlación significativa, con excepción del peso seco de la parte aérea con el factor biochar y del peso seco total con el factor micorrización. La correlación del biochar con las variables de respuesta resultó negativa para las variables VR, PSR, PSTOT y COL, lo cual indica que cuando se adicionó biochar al medio de crecimiento hubo una disminución en los valores de estas variables, es decir, hay una disminución en el crecimiento. Respecto a las variables microbiológicas, la correlación significativa negativa con la colonización micorrízica indica que el biochar afectó la simbiosis hongo-raíz. Las condiciones químicas del biochar probablemente afectaron el desarrollo de la micorrización. Esto puede indicar también que la producción de esporas tenga correlación positiva con el biochar indicando que cuando hay biochar la producción de esporas se incrementa, lo cual es una condición del hongo cuando se encuentra en situaciones de estrés. Para la inoculación de HMA en las plantas, con las variables evaluadas se encontró una correlación significativa con la mayoría de estas, excepto el peso seco total. Lo que indica que cuando no se inoculan las plantas el crecimiento se reduce, y se corrobora con la correlación positiva entre el peso seco total de las plantas y la colonización, indicando que cuando las plantas se inoculan aumenta su tamaño.

Los beneficios de la aplicación del biochar en el crecimiento y desarrollo vegetal están relacionados con la mejora de las propiedades físicas y químicas del suelo como un mayor almacenamiento de agua, mejora de la estructura del suelo, aportación de minerales, hábitat para el desarrollo de microorganismos, entre otros (Joseph *et al.*, 2021). De esta manera se esperaría que la aplicación conjunta de HMA y Biochar tuvieran un efecto sinérgico en el crecimiento y desarrollo vegetal. Lo anterior lo han mencionado Solaiman *et al.* (2020), quienes mencionan que la aplicación conjunta de biochar con gallinaza y fertilización química incrementó el contenido nutrimental de las plantas, el porcentaje de colonización micorrícica en raíces y en consecuencia el crecimiento de plantas de pepino. En el presente trabajo aquellas plantas que fueron inoculadas (independientemente si el medio donde crecieron tenía biochar) incrementaron su biomasa total un 10% más respecto a las no inoculadas. Aunque este incremento no resultó significativo, sí demuestra un efecto positivo en el crecimiento por la aplicación de los HMA. Esta falta de significancia probablemente se debió al efecto negativo que ocasionó el biochar cuando se aplicó al sustrato de crecimiento, lo cual indicó el análisis de correlación donde se encontró una correlación negativa significativa entre la aplicación de biochar al sustrato de crecimiento y las variables de crecimiento evaluadas en este trabajo. Una alternativa para contrarrestar el posible efecto tóxico del biochar es cambiar la materia prima de la cual se elaboró (Manrique & Sánchez, 2020). El biochar utilizado en esta investigación fue proveniente de restos de bagazo de agave mezcalero, quizás esto pudo afectar en alguna medida las propiedades del biochar, como el caso de la CE y el pH (Yuan & Xu, 2010). Algunas otras fuentes para la elaboración de biochar que son abundantes en Michoacán son: las ramas de aguacate que se desechan durante las podas de sanidad (Viteri *et al.*, 2021), el rastrojo y olotes de maíz, productos de desechos muy comunes en los centros de acopio de granos (Vallejos-Mihotek, 2018). Estas alternativas deben evaluarse previamente en experimentos como el presente, para que cuando se lleve este tipo de tecnología a campo pueda validarse para beneficio de los productores (Amaro-Rosales & Gortari-Rabiela, 2016).

Tabla 3. Matriz de correlaciones entre los factores estudiados y variables de biomasa vegetal y microbiológicas a los 60 días después del trasplante

| Variable | | VR | PSR | PSPA | PSTOT | COL | ESP |
|----------------------|---------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Biochar | r | -0.250 | -0.307 | 0.70 | -0.249 | -0.366 | 0.128 |
| | Significancia | 0.04 | 0.01 | 0.58 | 0.04 | 0.001 | 0.05 |
| Micorrización | r | -0.109 | -0.236 | -0.275 | -0.151 | -0.802 | -0.926 |
| | Significancia | 0.03 | 0.05 | 0.02 | 0.23 | 0.000 | 0.00 |
| PSTOT | r | .231 | 0.394 | 0.696 | - | 0.298 | 0.053 |
| | Significancia | .084 | 0.00 | 0.00 | - | 0.019 | 0.681 |



Conclusiones

De acuerdo con los resultados y el análisis de la discusión de los mismos, se obtuvieron las siguientes conclusiones: 1) Los HMA promovieron el crecimiento vegetal en ausencia de biochar; 2) El biochar utilizado resultó ser negativo para los valores de crecimiento vegetal y de colonización micorrícica; 3) La aplicación de biochar se sugiere no se realice directamente en la zona de las raíces de las plantas, si no como mezcla en todo el volumen del sustrato de crecimiento; 4) Se deben explorar otras fuentes de biochar de tal forma que se refleje en beneficios para las plantas de girasol y el establecimiento de la simbiosis micorrícica; 5) Incluir consorcios de HMA nativos de cultivos agrícolas de girasol podría favorecer una mayor colonización micorrícica.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que la investigación se realizó en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera interpretarse como un potencial conflicto de interés.

Financiamiento

El presente trabajo fue financiado por los proyectos: “Uso de bioefectores en el crecimiento y desarrollo de especies vegetales de interés agrícola del estado de Michoacán” y “Evaluación de microorganismos rizosféricos en el desarrollo y sanidad de plantas de importancia comercial”. Del fondo de proyectos de investigación de la Coordinación de la Investigación Científica 2023 y 2024 de la UMSNH y los proyectos FCCHTI23_ME-4.1.-0011. Mantenimiento de equipo de laboratorio del Cuerpo Académico consolidado 069-Ecofisiología vegetal, para investigación y docencia y “Mantenimiento de sistemas de purificación de agua para experimentación en ecofisiología vegetal” del programa de Mantenimiento de equipo científico y/o tecnológico (2023), del Instituto de Ciencia, Tecnología e Innovación (ICTI), del estado de Michoacán.

Referencias

- Aggangan, N. S., Cortes, A. D., Opulencia, R. B., Jomao-as, J. G., & Yecyec, R. P. (2019). Effects of mycorrhizal fungi and bamboo biochar on the rhizosphere bacterial population and nutrient uptake of cacao (*Theobroma cacao* L.) Seedlings. *Philippine Journal of Crop Science (PJCS)*, 44(1), 1-9.
- Alonso-Contreras, R., Aguilera-Gómez, L. I., Rubí-Arriaga, M., González-Huerta, A., Olalde-Potugal, V., & Rivas-Manzano, I. V. (2013). Influencia de hongos micorrícicos arbusculares en el crecimiento y desarrollo de *Capsicum annuum* L. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 4(1), 77-88.



- Amaro-Rosales, M., & Gortari-Rabiela, R. D. (2016). Políticas de transferencia tecnológica e innovación en el sector agrícola mexicano. *Agricultura, sociedad y desarrollo*, 13(3), 449-471.
- Carballar-Hernández, S., Hernández-Cuevas, L. V., Montaña, N. M., Ferrera-Cerrato, R., & Alarcón, A. (2018). Species composition of native arbuscular mycorrhizal fungal consortia influences growth and nutrition of poblano pepper plants (*Capsicum annuum* L.). *Applied Soil Ecology*, 130, 50-58.
- de Figueiredo, C. C., Farias, W. M., Coser, T. R., de Paula, A. M., Da Silva, M. R. S., & Paz-Ferreiro, J. (2019). Sewage sludge biochar alters root colonization of mycorrhizal fungi in a soil cultivated with corn. *European Journal of Soil Biology*, 93, 103092.
- Domaratskyi, Y. (2021). Leaf area formation and photosynthetic activity of sunflower plants depending on fertilizers and growth regulators. *Journal of Ecological Engineering*, 22(6).
- El Maaloum, S., Elabed, A., Alaoui-Talibi, Z. E., Meddich, A., Filali-Maltouf, A., Douira, A., ... & El Modafar, C. (2020). Effect of arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing bacteria consortia associated with phospho-compost on phosphorus solubilization and growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.). *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 51(5), 622-634.
- Elad, Y., Cytryn, E., Harel, Y. M., Lew, B., & Graber, E. R. (2011). The biochar effect: plant resistance to biotic stresses. *Phytopathologia Mediterranea*, 50(3), 335-349.
- Escalante Rebolledo, A., Pérez López, G., Hidalgo Moreno, C., López Collado, J., Campo Alves, J., Valtierra Pacheco, E., & Etchevers Barra, J. D. (2016). Bio-carbón (biochar) I: Naturaleza, historia, fabricación y uso en el suelo. *Terra Latinoamericana*, 34(3), 367-382.
- 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(2), 235-244.
- Gomiero, T. (2016). Soil degradation, land scarcity and food security: Reviewing a complex challenge. *Sustainability*, 8(3), 281.
- Gujre, N., Soni, A., Rangan, L., Tsang, D. C., & Mitra, S. (2021). Sustainable improvement of soil health utilizing biochar and arbuscular mycorrhizal fungi: A review. *Environmental Pollution*, 268, 115549.
- Hernández-Acosta, E., Trejo-Aguilar, D., Ferrera-Cerrato, R., Rivera-Fernández, A., & González-Chávez, M. C. Trejo-Aguilar, D. (2018). Hongos micorrízicos arbusculares en el crecimiento de café (*Coffea arabica* L.) variedades garnica, catimor, caturra y catuaí. *Agro Productividad*, 11(4).
- Hernández-Cuevas, L. V., P. Guadarrama-Chavez, I. SánchezGallen y J. Ramos-Zapata. (2012). Micorriza arbuscular, colonización intrarradical y extracción



- de esporas de suelo. En F. J. Álvarez S. y A. Monroy A. (Comps.), *Técnicas de estudio de las asociaciones micorrízicas y sus implicaciones en la restauración* (pp. 1-6). UNAM Fac. de Ciencias. ISBN: 978-607-02-3493-4.
- Ji, C., Li, Y., Xiao, Q., Li, Z., Wang, B., Geng, X., Lin, K., Zhang, Q., Jin, Y., Zhai, Y., Li, X., & Chen, J. (2023). Combined application effects of arbuscular mycorrhizal fungi and biochar on the rhizosphere fungal community of *Allium fistulosum* L. *Journal of microbiology and biotechnology*, 33(8), 1013–1022.
- Joseph, S., Cowie, A. L., Van Zwieten, L., Bolan, N., Budai, A., Buss, W., ... & Lehmann, J. (2021). How biochar works, and when it doesn't: A review of mechanisms controlling soil and plant responses to biochar. *Gcb Bioenergy*, 13(11), 1731-1764.
- Kamatchi, K. M., Anitha, K., Kumar, K. A., Senthil, A., Kalarani, M. K., & Djanaguiraman, M. (2024). Impacts of combined drought and high-temperature stress on growth, physiology, and yield of crops. *Plant Physiology Reports*, 29(1), 28-36.
- Khan, T. F., Salma, M. U., & Hossain, S. A. (2018). Impacts of different sources of biochar on plant growth characteristics. *American Journal of Plant Sciences*, 9(9), 1922-1934.
- Langeroodia, A. S., Tedeschi, P., Allevato, E., Stazi, S. R., Aadil, R. M., Mancinelli, R., & Radicetti, E. (2022). Agronomic response of sunflower subjected to biochar and arbuscular mycorrhizal fungi application under drought conditions. *Italian Journal of Agronomy*, 17(3).
- Li, M., & Cai, L. (2021). Biochar and arbuscular mycorrhizal fungi play different roles in enabling maize to uptake phosphorus. *Sustainability*, 13(6), 3244.
- Manoharan, L., Rosenstock, N. P., Williams, A., & Hedlund, K. (2017). Agricultural management practices influence AMF diversity and community composition with cascading effects on plant productivity. *Applied Soil Ecology*, 115, 53-59.
- Manrique H. J. A., & Sanchez G. J. C. (2020). *Revisión bibliográfica de los procesos y metodologías para elaborar biochar a partir de residuos agrícolas y lodos de depura* [Tesis de grado de bachiller, Universidad Católica San Pablo]. Repositorio institucional Universidad Católica San Pablo. <https://hdl.handle.net/20.500.12590/16356>
- Manyà, J. J. (2012). Pyrolysis for biochar purposes: a review to establish current knowledge gaps and research needs. *Environmental science & technology*, 46(15), 7939-7954.
- Martínez-Camacho, Y. D., Negrete-Yankelevich, S., Maldonado-Mendoza, I. E., Núñez-de la Mora, A., & Amescua-Villela, G. (2022). Agroecological management with intra-and interspecific diversification as an alternative to conventional soil nutrient management in family maize farming. *Agroecology and Sustainable Food Systems*, 46(3), 364-391.
- Mukome, F. N., Zhang, X., Silva, L. C., Six, J., & Parikh, S. J. (2013). Use of chemical and physical characteristics to investigate trends in biochar feedstocks. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(9), 2196-2204.

- Peraza, R. A. H., Bever, J., Gómez, E. F. F., Sánchez, R. L. F., & Oliver, P. P. H. (2019). Estrategias funcionales de la diversidad HMA: importancia del análisis del número de esporas o de los biovolúmenes/Functional strategies of AMF diversity: significance of analyzing spores numbers or biovolumes. *Acta Botánica Cubana*, 218(2).
- Pereira, P., Bogunovic, I., Muñoz-Rojas, M., & Brevik, E. C. (2018). Soil ecosystem services, sustainability, valuation and management. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 5, 7-13.
- 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-IN18.
- Quiñones-Aguilar, E. E., Hernández Cuevas, L. V., López Pérez, L., & Rincón Enríquez, G. (2019). Efectividad de hongos micorrízicos arbusculares nativos de rizosfera de Agave como promotores de crecimiento de papaya. *Terra Latinoamericana*, 37(2), 163-174.
- Quiñones-Aguilar, E. E., Rincón-Enríquez, G., & López-Pérez, L. (2020). Hongos micorrízicos nativos como promotores de crecimiento en plantas de guayaba (*Psidium guajava* L.). *Terra Latinoamericana*, 38(3), 541-554.
- Reyes-Tena, A., López-Pérez, L., Quiñones-Aguilar, E. E., & Rincón-Enríquez, G. (2015). Evaluación de consorcios micorrízicos arbusculares en el crecimiento vegetal de plantas de maíz, chile y frijol. *Biológicas*, 17(2), 35-42.
- Rillig, M. C. (2004). Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. *Canadian Journal of Soil Science*, 84(4), 355-363.
- Sammauria, R., Kumawat, S., Kumawat, P., Singh, J., & Jatwa, T. K. (2020). Microbial inoculants: potential tool for sustainability of agricultural production systems. *Archives of microbiology*, 202(4), 677-693.
- Solaiman, Z. M., Shafi, M. I., Beamont, E., & Anawar, H. M. (2020). Poultry litter biochar increases mycorrhizal colonisation, soil fertility and cucumber yield in a fertigation system on sandy soil. *Agriculture*, 10(10), 480.
- Sun, J., Jia, Q., Li, Y., Zhang, T., Chen, J., Ren, Y., Dong, K., Xu, S., Shi, N. N., & Fu, S. (2022). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and biochar on growth, nutrient absorption, and physiological properties of maize (*Zea mays* L.). *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*, 8(12), 1275.
- Tomczyk, A., Sokołowska, Z., & Boguta, P. (2020). Biochar physicochemical properties: pyrolysis temperature and feedstock kind effects. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 19, 191-215.
- Trinidad-Cruz, J. R., Quiñones-Aguilar, E. E., Hernández-Cuevas, L. V., López-Pérez, L., & Rincón-Enríquez, G. (2017). Hongos micorrízicos arbusculares



- asociados a la rizosfera de *Agave cupreata* en regiones mezcaleras del estado de Michoacán, México. *Revista mexicana de micología*, 45, 13-25.
- Vallejos Mihotek, C. A. (2018). *Selección de materias primas para la elaboración de un mejorador de suelos (biocarbón) en una localidad del centro de Veracruz* [Tesis de maestría, Colegio de Postgraduados]. Repositorio institucional COLPOS. <http://hdl.handle.net/10521/3029>
- Verzeaux, J., Nivelles, E., Roger, D., Hirel, B., Dubois, F., & Tetu, T. (2017). Spore density of arbuscular mycorrhizal fungi is fostered by six years of a no-till system and is correlated with environmental parameters in a silty loam soil. *Agronomy*, 7(2), 38.
- Vital-Vilchis, I., Quiñones-Aguilar, E. E., Hernández-Cuevas, L. V., & Rincón-Enríquez, G. (2020). Growth of ornamental sunflower in pot at field level by effect of arbuscular mycorrhizal fungi. *Terra Latinoamericana*, 38(3), 679-692.
- Wezel, A., Casagrande, M., Celette, F., Vian, J. F., Ferrer, A., & Peigné, J. (2014). Agroecological practices for sustainable agriculture. A review. *Agronomy for sustainable development*, 34(1), 1-20.
- Woolf, D., Amonette, J. E., Street-Perrott, F. A., Lehmann, J., & Joseph, S. (2010). Sustainable biochar to mitigate global climate change. *Nature communications*, 1, 56. <https://doi.org/10.1038/ncomms1053>
- Yeremenko, O., Kalenska, S., Kiurchev, S., Rud, A., Chynchyk, O., & Semenov, O. (2017). Sunflower (*Helianthus annuus* L.) productivity under the effect of plant growth regulator in the conditions of insufficient moisture. *Agricultural Sciences and Practice*, 2(1), 196-217. <https://doi.org/10.15407/agrisp4.01.011>
- Yuan, J.H., Xu, R.K., (2010). The amelioration effects of low temperature biochar generated from nine crop residues on an acidic Ultisol. *Soil Use Manage*, 27(1), 110-115.