



BENÉMERITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA



INSTITUTO DE CIENCIAS (ICUAP)

CENTRO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS
MICROBIOLÓGICAS

Tesis presentada para obtener el grado de Maestría en Ciencias
(Microbiología)

Formulación de un fertilizante órgano-mineral inoculado con bacterias
promotoras del crecimiento vegetal.

ALUMNA:

Melissa Nuñez Valdés

Director:

Dr. Antonino Báez Rogelio

Co-director:

Dr. Jesús Muñoz Rojas

Septiembre 2025, Heroica Puebla de Zaragoza, Pue.

Dedico esta tesis a:

Dios, por darme la fortaleza y la luz en cada paso de este camino.
A mis padres Ismael Nuñez Mateos y María de los Ángeles Valdés Barroso, por su apoyo constante, su confianza en mí, y los sacrificios que me han llevado hasta aquí. Y a mi hermano José Miguel Nuñez Valdés por ser inspiración y darme motivación constante.

Agradecimientos

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), anteriormente conocida como CONAHCyT, por el otorgamiento de la beca N° 57395 que hizo posible la realización de mis estudios de maestría.

A la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP) y al Instituto de Ciencias por brindarme la oportunidad de formar parte del Posgrado en Ciencias Microbiológicas y de continuar explorando el mundo de la ciencia bajo la guía de destacados docentes. Asimismo, agradezco a la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado (VIEP) por el apoyo otorgado para asistir al XXXIV Congreso Nacional de Bioquímica de la Sociedad Mexicana de Bioquímica.

Al Dr. Antonino Baez Rogelio por aceptarme en su grupo de trabajo y guiar este proyecto con paciencia y dedicación, mostrándome caminos en un ámbito que me era poco conocido. Guardaré siempre un profundo agradecimiento por los valiosos conocimientos y enseñanzas recibidas a su lado.

A los doctores que conforman mi comité tutorial: al Dr. Luis Ernesto Fuentes Ramírez, por su apoyo, guía y valiosos conocimientos compartidos en los tutorales; a la Dra. Vianey Marín Cevada, por su disposición para brindarme ayuda y orientación en este escrito, así como por su calidez con mi persona y por el conocimiento transmitido durante los tutorales; al Dr. Jesús Muñoz Rojas por sus enseñanzas, orientación, ayuda y apoyo en la ausencia temporal del doctor Antonino; y, finalmente, al Dr. Joel Pineda Pineda por abrirme las puertas de su laboratorio en la Universidad Autónoma de Chapingo para la realización de algunos experimentos de este proyecto.

Al contador A. Atala y al químico Efrén por las facilidades proporcionadas para mi aprendizaje a lo largo del proyecto.

A mis padres y hermano por confiar en mí, por impulsarme a seguir creciendo y preparándome, por sus consejos y apoyo en todo momento.

A mis amigos Frida, Erika, Leonardo, Alexa y Diego, porque sin ellos esta experiencia habría sido completamente distinta. El disfrute de esta etapa se lo debo en gran medida a su compañía y apoyo incondicional, especialmente en la realización de mis experimentos de campo, donde su ayuda fue fundamental. Más allá del trabajo, valoro profundamente la hermosa convivencia y fraternidad que construimos durante estos dos años, fueron una red de apoyo imprescindible para mí, y los llevaré siempre en el corazón.

A mi prometido y futuro compañero de vida, José Manuel Martínez Medina, por toda la paciencia, el amor y el apoyo recibidos de su persona, por cuidarme y acompañarme en mis días de estrés y noches de desvelo; y por su valiosa ayuda en mis experimentos de campo y en los cálculos de madrugada. No podría hacer mejor equipo en la vida que con él.



Puebla, Pue. a 12 de septiembre 2025.

**A LA ACADEMIA DEL POSGRADO
EN MICROBIOLOGÍA
CICM-ICUAP
P R E S E N T E.**

Por este conducto los abajo firmantes, integrantes del Comité revisor de tesis de Maestría de la alumna **Melissa Nuñez Valdés**, les informamos que hemos revisado el escrito titulado:

“Formulación de un fertilizante órgano-mineral inoculado con bacterias promotoras del crecimiento vegetal”

A nuestro juicio, la alumna **Melissa Nuñez Valdés** puede proceder a la digitalización de la tesis y a la presentación del examen de grado correspondiente.

Sin más que agregar, nos despedimos afectuosamente de ustedes.

Atentamente.
“Pensar Bien Para Vivir Mejor”


D.C. Luis Ernesto Fuentes Ramírez


D.C. Joel Pineda Pineda


D.C. Vianey Marín Cevada


D.C. Verónica Quintero Hernández

Posgrado en Ciencias Microbiológicas
Instituto de Ciencias (ICUAP)

Edificio IC11,
Ciudad Universitaria
Col. San Manuel, Puebla, Pue. C.P. 72570
01 (222) 229 55 00 Ext. 2522
posgrado.microbiologia@correo.buap.mx

Contenido

Índice de figuras.....	7
Índice de tablas	8
RESUMEN	10
ABSTRACT.....	11
Introducción	12
Antecedentes	13
Nutrición de las plantas y fertilizantes químicos	14
Fertilizantes órgano-minerales (OMF).....	16
Bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB).....	19
Consortio bacteriano utilizado como inoculante en este estudio.....	20
Fertilizantes órgano-minerales inoculados con microorganismos	21
Cultivo de lechuga	23
Hipótesis	26
Objetivo general.....	26
Objetivos específicos	26
Metodología	27
Experimento 1	27
Monitoreo de la supervivencia y carga bacteriana	27
Evaluación del fertilizante órgano-mineral-inoculado en plantas de lechugas crecidas en macetas ..	29
Experimento 2	32
Monitoreo de la supervivencia y carga bacteriana	32
Evaluación del fertilizante órgano-mineral inoculado en cultivo en macetas.....	33
Experimento 3	35
Monitoreo de la supervivencia y carga bacteriana	35
Evaluación en macetas del fertilizante órgano-mineral inoculado.....	36
Experimento 4	39
Monitoreo de la supervivencia y carga bacteriana	39
Evaluación en macetas del fertilizante órgano-mineral inoculado.....	40
Resultados y discusión	43
Experimento 1	43
Integración y supervivencia del consorcio bacteriano en un fertilizante órgano-mineral (25% composta, 25% zeolita, 50% DAP) inoculando a diferentes dosis	43

Evaluación del peso seco de las plantas del experimento en macetas del fertilizante órgano-mineral (25% composta, 25% zeolita, 50% DAP) inoculado	45
Experimento 2	47
Integración y supervivencia del consorcio bacteriano en un fertilizante órgano-mineral (composta, zeolita, roca fosfórica) inoculando a carga media (inoculante diluido 1:100)	47
Evaluación del peso seco de las plantas crecidas en macetas con el fertilizante órgano-mineral (composta, zeolita, roca fosfórica) sin inocular	49
Evaluación del peso seco del experimento en macetas del fertilizante órgano-mineral (composta, zeolita, roca fosfórica) inoculando a carga media (inoculante diluido 1:100)	52
Experimento 3	54
Integración y supervivencia del consorcio bacteriano en un fertilizante órgano-mineral (40% composta, 40% zeolita, 20% roca fosfórica) inoculando a carga media (inoculante diluido 1:100) ..	54
Evaluación del peso seco de las plantas crecidas en macetas con el fertilizante órgano-mineral (40% composta, 40% zeolita, 20% roca fosfórica) inoculado a dosis media (inoculante diluido 1:100)	56
Experimento 4	61
Integración y supervivencia del consorcio bacteriano en un fertilizante órgano-mineral (40% composta, 40% zeolita, 20% roca fosfórica) inoculado con carga media	61
Evaluación del peso seco de las plantas crecidas en macetas con el fertilizante órgano-mineral (40% composta, 40% zeolita, 20% roca fosfórica) inoculado a dosis media (inoculante diluido 1:100)	63
Conclusiones	67
Perspectivas	68
Referencias	69

Índice de figuras

Figura 1. Granulador de disco.....	19
Figura 2. Área foliar y radicular de la lechuga en su periodo vegetativo.	24
Figura 3. Mapa de localización del sitio experimental en macetas.	29
Figura 4. Diseño experimental de bloques completamente al azar para el experimento de lechugas en macetas.....	30
Figura 5. Diseño experimental completamente al azar (DCA) para el experimento de lechugas en macetas.	33
Figura 6. Diseño experimental de bloques completamente al azar (DBCA) para el experimento de lechugas en macetas de 4 tratamientos con 25 repeticiones montadas en 10 bloques.	37
Figura 7. Diseño experimental de bloques completamente al azar (DBCA) para el experimento de lechugas en macetas de 4 tratamientos con 20 repeticiones distribuidas en 10 bloques.....	41
Figura 8. Promedio del peso seco de follaje por planta de lechuga (g) bajo seis tratamientos con diferentes formulaciones de fertilizante.....	45
Figura 9. Promedio del peso seco de raíz por planta de lechuga (g) bajo seis tratamientos con diferentes formulaciones de fertilizante.....	46
Figura 10. Promedio del peso seco (g) de follaje por planta de lechuga bajo cuatro mezclas de fertilizante órgano-mineral sin inocular y un control.....	49
Figura 11. Promedio del peso seco (g) de raíz por planta de lechuga bajo cuatro mezclas de fertilizante órgano-mineral sin inocular y un control.....	51
Figura 12. Promedio del peso seco (g) de follaje por planta de lechuga bajo cuatro mezclas de fertilizante órgano-mineral inoculadas y un control.....	52
Figura 13. Promedio del peso seco (g) de raíz por planta de lechuga bajo cuatro mezclas de fertilizante órgano-mineral inoculadas y un control.....	54
Figura 14. Promedio del peso seco de follaje por planta de lechuga (g) bajo cuatro tratamientos con diferentes fertilizaciones.	57

Figura 15. Promedio del peso seco de raíz por planta de lechuga (g) bajo cuatro tratamientos con diferentes fertilizaciones.....	59
--	----

Figura 16. Promedio del peso seco de follaje por planta de lechuga (g) bajo cuatro tratamientos con diferentes fertilizaciones..	63
--	----

Figura 17. Promedio del peso seco de raíz por planta de lechuga (g) bajo cuatro tratamientos con diferentes fertilizaciones.....	65
--	----

Índice de tablas

Tabla 1. Principales nutrientes necesarios para el crecimiento sano de una planta.	14
---	----

Tabla 2. Grupos de cultivares de lechuga y sus principales características..	24
--	----

Tabla 3. Medios selectivos para cada microorganismo que compone el consorcio de PGPB.	28
--	----

Tabla 4. Fertilización correspondiente a cada tratamiento del experimento en maceta.....	31
--	----

Tabla 5. Diferentes composiciones de las mezclas utilizadas como fertilizante órgano-mineral.	32
--	----

Tabla 6. Fertilización en lechugas correspondiente a las mezclas sin inocular.	34
---	----

Tabla 7. Fertilización en lechugas correspondiente a las mezclas inoculadas.	34
---	----

Tabla 8. Dosis de fertilización correspondiente a cada tratamiento aplicada a cada lechuga en el experimento en maceta.	38
--	----

Tabla 9. Dosis de fertilización correspondiente a cada tratamiento aplicada a cada lechuga en el experimento en maceta.	42
--	----

Tabla 10. Detección de las seis cepas del INOCREP en el fertilizante órgano-mineral (25% composta, 25% zeolita, 50% DAP) a los 3 días de su elaboración.....	43
--	----

Tabla 11. Detección de las seis cepas del INOCREP en el fertilizante órgano-mineral (25% composta, 25% zeolita, 50% DAP) a los 24 días de su elaboración.....	44
Tabla 12. Unidades formadoras de colonia por gramo (UFC/g) obtenidas a los cinco días posteriores a la elaboración de las cuatro formulaciones del fertilizante con las seis cepas integrantes del consorcio INOCREP.	48
Tabla 13. Seguimiento y monitoreo de UFC/g obtenidas a los días 6, 34, 97, 172 y 218 posteriores a la elaboración del fertilizante inoculado.	55
Tabla 14. Valores de P (fósforo), K (potasio), Ca (calcio), Mg (magnesio) y N (nitrógeno) total del suelo utilizado para el experimento en maceta.....	60
Tabla 15. Seguimiento y monitoreo de UFC/g obtenidas a los días 3, 15, 27 y 38 posteriores a la elaboración del fertilizante inoculado.....	62
Tabla 16. Valores en porcentaje de N (Nitrógeno), P (Fósforo), K (Potasio), Ca (Calcio) y Mg (Magnesio) correspondientes al análisis del follaje de lechuga de los cuatro tratamientos	66

RESUMEN

El uso excesivo de fertilizantes químicos en la agricultura ha generado problemas ambientales como la contaminación de suelos, cuerpos de agua, y la disminución de la fertilidad del suelo a largo plazo. Recientemente, se ha estudiado a nivel laboratorio la incorporación de las bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPB) a fertilizantes órgano-minerales, representando una estrategia prometedora para optimizar el rendimiento agrícola, reducir la dependencia de insumos sintéticos y favorecer la sostenibilidad de los sistemas de producción. En este trabajo se diseñó una formulación órgano-mineral combinada con PGPB y, en cuatro experimentos en macetas, se evaluó su efecto promotor en plantas de lechuga. Los resultados del primer y segundo experimento revelaron las proporciones adecuadas de los componentes del fertilizante órgano-mineral, así como la carga bacteriana óptima a la cual debía ser inoculado dicho fertilizante, siendo estas 40% composta, 40% zeolita y 20% roca fosfórica asperjadas con una carga bacteriana media (esto es diluyendo el inoculante 1:100 antes de aplicarlo al fertilizante). El tercer experimento mostró un aumento significativo en el peso seco del follaje y raíz de las lechugas fertilizadas con la carga y composición seleccionada en los experimentos previos. En el cuarto experimento, se utilizó un sustrato “pobre” en nutrientes para contrastar las plantas fertilizadas y las no fertilizadas, sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas entre tratamientos. En este último experimento la concentración de bacterias en el inoculante fue menor a los anteriores experimentos, lo cual resaltó la importancia de la calidad del inoculante y de la dosis aplicada. En conjunto, los resultados sugieren que un fertilizante órgano-mineral inoculado con bacterias promotoras de crecimiento vegetal puede ser una alternativa valiosa para la agricultura sustentable, siempre que se estandaricen dosis y carga microbiana.

ABSTRACT

The intensive use of chemical fertilizers has caused environmental problems such as soil and water pollution, as well as long-term soil fertility decline. Recently, the incorporation of plant growth-promoting bacteria (PGPB) into organo-mineral fertilizers has been studied at the laboratory level, representing a promising strategy to optimize crop yields, reduce dependence on synthetic inputs, and enhance the sustainability of production systems. In this work, an organo-mineral formulation combined with PGPB was designed and evaluated through four pot experiments to assess its growth-promoting effect on lettuce plants. Results from the first and second experiments indicated the appropriate proportions of the organo-mineral fertilizer components, as well as the optimal bacterial load for inoculation, consisting of 40% compost, 40% zeolite, and 20% rock phosphate sprayed with a medium bacterial load (achieved by diluting the inoculant 1:100 before applying it to the fertilizer). The third experiment showed a significant increase in shoot and root dry weight of lettuce plants fertilized with the selected load and composition from the previous experiments. In the fourth experiment, carried out with a nutrient-limited substrate to contrast fertilized plants and the control, no significant differences were observed between treatments. This highlighted the importance of inoculant quality and applied dosage. Overall, the results suggest that an organo-mineral fertilizer inoculated with plant growth-promoting bacteria could be a valuable alternative for sustainable agriculture, provided that dosage and microbial load are standardized.

Introducción

Se estima que el 95% de nuestros alimentos se produce directa o indirectamente en nuestros suelos. Los suelos sanos suministran nutrientes esenciales, agua, oxígeno y el soporte que las raíces de las plantas necesitan para crecer y desarrollarse.

De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés), se estima que la población mundial superará los 9 000 millones de personas en el año 2050. Nuestra seguridad alimentaria actual y futura depende de nuestra capacidad para aumentar los rendimientos y calidad de los cultivos utilizando de manera sustentable la misma cantidad de suelos que ya están en producción hoy en día. En los últimos años, los avances en la tecnología agrícola han mejorado la producción de alimentos y garantizado, en lo general, la seguridad alimentaria mundial. Sin embargo, en muchos países, la producción agrícola intensiva ha empobrecido el suelo, poniendo en peligro la capacidad para mantener la producción agrícola en estas áreas (FAO, 2015).

Cuando el suelo no proporciona los nutrientes suficientes para lograr un rendimiento satisfactorio de los cultivos, es necesario suplementar las deficiencias de nutrientes por medio de fertilizantes químicos (Graetz, 2020). Sin embargo, parte de los fertilizantes químicos tiende a perderse debido a la deficiente absorción por parte de los cultivos, lo que contribuye a la lixiviación de nitratos, la contaminación de las aguas subterráneas, la acidificación del suelo, la contaminación por metales pesados, la eutrofización de los cuerpos de agua dulce (Lawrencia et al., 2021), producción de NOx, lluvia ácida y demás efectos perjudiciales sobre la capa de ozono (Baez-Rogelio et al., 2017).

Esta problemática está impulsando un cambio hacia una agricultura más sostenible. Para mitigar el problema de la degradación de suelos, es necesario desarrollar fertilizantes que garanticen la productividad agrícola y la conservación del suelo (Anušauskas et al., 2023).

Bouhia et al., (2022), aseguran que un enfoque prometedor es combinar insumos orgánicos y minerales. Ambos recursos son en teoría compatibles, y posiblemente sean la mejor solución para maximizar la eficiencia agronómica y la productividad de los cultivos sin descuidar la salud y fertilidad del suelo. Este concepto ha llevado al desarrollo de una nueva categoría de productos fertilizantes, denominado, fertilizantes órgano-minerales (OMF).

En este proyecto se formuló un fertilizante órgano-mineral, que además contenía bacterias promotoras del crecimiento vegetal del inoculante multiespecies INOCREP, con la finalidad de mejorar la disponibilidad de los nutrientes, realizando una evaluación comparativa con distintas formulaciones, cultivares de lechuga y tipos de sustrato. Con esta estrategia se pretendió aumentar la productividad de las plantas, y a su vez disminuir el impacto ambiental que los fertilizantes químicos tienen en los suelos.

Antecedentes

Con el fin de comprender la relevancia del enfoque propuesto, es necesario partir de una revisión de los fundamentos de la nutrición vegetal y de los procesos fisiológicos que determinan la absorción y asimilación de nutrientes. Asimismo, resulta pertinente analizar las estrategias de fertilización, desde el uso de fertilizantes sintéticos hasta las formulaciones órgano-minerales inoculadas con bacterias benéficas, lo que permite dimensionar los avances alcanzados y los retos actuales en la búsqueda de prácticas agrícolas más eficientes y sostenibles.

Nutrición de las plantas y fertilizantes químicos

Para mantener un crecimiento sano de la planta, es necesario que el suelo posea, en la cantidad adecuada, una variedad de nutrientes. Es importante que estos nutrientes se mantengan balanceados en el suelo, para satisfacer las necesidades individuales de los cultivos (Fageria & Baligar, 2005).

Los nutrientes del suelo se clasifican en macroelementos, macroelementos secundarios y microelementos, de acuerdo con las cantidades que las plantas necesitan para su desarrollo (Graetz, 2020).

Tabla 1. Principales nutrientes necesarios para el crecimiento sano de una planta. Tabla adaptada de Graetz, (2020).

Macroelementos	Macroelementos secundarios	Microelementos
Nitrógeno (N)	Calcio (Ca)	Manganeso (Mn)
Fósforo (P)	Magnesio (Mg)	Cobre (Cu)
Potasio (K)	Azufre (S)	Zinc (Zn)
		Hierro (Fe)
		Molibdeno (Mo)
		Boro (B)

Las plantas pueden absorber los nutrientes a través de las raíces, los tallos y las hojas. Sin embargo, la absorción más intensa de nutrientes se realiza por las raíces a través de los pelos radiculares (CANNA España, 2015).

Las deficiencias de nutrientes pueden ocurrir debido a que el suelo carezca de ellos, o porque tales nutrientes se encuentren formando complejos con otros compuestos químicos, de tal modo que resultan poco disponibles para las plantas. La deficiencia de uno o más de los nutrientes puede

ocurrir en cualquier momento durante el ciclo vegetativo de la planta. En tales casos, aparecen signos característicos en los cultivos afectados (Graetz, 2020).

Cuando un suelo presenta deficiencia de nutrientes los agricultores normalmente emplean fertilizantes químicos como nutrimentos en sus cultivos. Estos fertilizantes sintéticos altamente solubles contienen sólo uno, dos o máximo tres elementos químicos, mayoritariamente N, P y K, en algunas ocasiones contienen elementos como S, Ca y Mg, y con mucho menos frecuencia, Fe, Mn, Zn, Cu, B. De modo que el uso continuo de estos fertilizantes sintéticos en cada ciclo de cultivo continúa empobreciendo el suelo ya que las plantas continúan extrayendo del suelo hasta 90 elementos diferentes (Welch & Graham, 2012).

Los principales tipos de fertilizantes químicos disponibles en el mercado son los fertilizantes nitrogenados, fertilizantes fosfatados y fertilizantes de potasio (Sembralia, 2021).

En los fertilizantes nitrogenados, el nitrógeno está presente en forma de nitrógeno amoniacal, tal como cloruro de amonio (NH_4Cl), sulfato de amonio $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$; nitrógeno de amida, tal como urea $[\text{CO}(\text{NH}_2)_2]$; nitrógeno-nitrato, tal como nitrato cálcico $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2]$ y amónico $[\text{NH}_4\text{NO}_3]$ en el que están presentes tanto nitrógeno amoniacal como nitrato. Este fertilizante se utiliza para cubrir la deficiencia de nitrógeno del terreno. Este es el fertilizante más beneficioso para la planta. Aporta nutrientes tanto a las plantas como al suelo (Pahalvi et al., 2021).

De acuerdo con la empresa mexicana líder en capacitación agrícola Intagri (Instituto para la Innovación Tecnológica en Agricultura) los principales fertilizantes comerciales nitrogenados usados en la agricultura son: urea, sulfato de amonio, nitrato de amonio, fosfato monoamónico (MAP) y fosfato diamónico (DAP) (Intagri, 2023).

En los fertilizantes fosfatados, el fósforo está presente como fosfato disponible (PO_4^{3-}). Su requerimiento es menor en comparación con el fertilizante nitrogenado (Pahalvi et al., 2021).

Según el Instituto Internacional de nutrición vegetal (IPNI, por sus siglas en inglés), el DAP es el fertilizante fosfatado más utilizado en el mundo. Entre otros fertilizantes fosfatados comerciales está el MAP, el superfosfato de calcio triple, el fosfato monopotásico (MKP) y el fosfato dipotásico (DKP) (International Plant Nutrition Institute, 2016).

El requerimiento de potasio se puede cubrir con los fertilizantes cloruro de potasio (KCl) también denominado muriato de potasio (MOP) y sulfato de potasa. El sulfato de potasio (K_2SO_4) es necesario para el crecimiento saludable de las plantas. La formación de carbohidratos en las plantas es posible con la ayuda del potasio (Pahalvi et al., 2021).

Sin embargo, el uso excesivo de estas sustancias químicas ha dado lugar a su lixiviación en cuerpos de agua, lo que posteriormente da paso a la eutrofización, contribuyendo así a la contaminación del suelo y del agua (Sharma et al., 2022).

La agricultura orgánica tiene como objetivo reducir el impacto ambiental de la producción agrícola convencional evitando el uso de compuestos químicos sintéticos, fertilizantes y pesticidas, y promoviendo prácticas como la diversificación de cultivos y el uso de fertilizantes orgánicos y bioinsumos (Anušauskas et al., 2023).

Fertilizantes órgano-minerales (OMF)

Los fertilizantes órgano-minerales (OMF, por sus siglas en inglés) son un nuevo concepto que toma materias primas orgánicas como biosólidos, estiércol animal, residuos de cultivos o desperdicios de alimentos y los combina con fertilizantes minerales, lo que resulta en un producto

fertilizante equilibrado produciendo un contenido de nutrientes más deseable. Luego, la mezcla se seca y se granula para que sea fácilmente almacenable y transportable (Sakrabani, 2024).

Singh & Ryan, (2015) sugirieron que los abonos orgánicos accesibles y otros materiales orgánicos deberían combinarse con fertilizantes minerales para formar un complejo órgano-mineral que facilite el suministro óptimo de nutrientes sin descuidar la salud del suelo.

De esta manera, los OMF pueden utilizarse como insumo agrícola sostenible para la producción de cultivos al suministrar nutrientes esenciales para las plantas y materia orgánica al suelo. Los resultados de diferentes experimentos indicaron que los OMF son más efectivos que la aplicación exclusiva de fertilizantes químicos y orgánicos. Los fertilizantes órgano-minerales mejoran las propiedades del suelo, como el pH, la conductividad eléctrica (CE), la disponibilidad de nutrientes y la actividad enzimática (Uddin et al., 2025).

Deeks et al., (2013) fueron pioneros en el uso de OMF utilizando biosólidos como materia prima. Señalan que una evidente ventaja de la combinación de estos recursos, que resulta como fertilizantes órgano-minerales, es que los componentes minerales están protegidos por la unión y absorción de componentes orgánicos, lo que deriva en una liberación más gradual de nutrientes al suelo y la reducción de pérdidas de nutrientes al medio ambiente.

Actualmente, diversas empresas a nivel internacional han desarrollado líneas comerciales de fertilizantes órgano-minerales. En países como España, Rusia y Brasil, estos insumos se han posicionado como alternativas sostenibles frente al uso exclusivo de fertilizantes químicos convencionales, por ejemplo, Organia en España, es una empresa dedicada al diseño, producción y comercialización de fertilizantes de origen orgánico desde 1986, siendo pioneros en el empleo de este tipo de materias primas para la elaboración de fertilizantes, transformando estas en

productos de alto valor agronómico, cuenta con productos como Humibio y Humifertak los cuales son fertilizantes órgano-minerales NPK ecológicos incorporando materia orgánica obtenida a partir de un sistema de compostaje exclusivo que garantiza la máxima asimilación del fertilizante, la mejora de los parámetros de fertilidad de los suelos y el suministro de otros nutrientes por mineralización de la materia orgánica (Organia Fertilizantes, s.f.). Por su parte, Terraplant en Brasil, lanzaron un fertilizante órgano-mineral llamado Miner Oxi+, que combina materia orgánica, fertilizante mineral y óxidos, diseñado para corregir acidez y mejorar la disponibilidad de nutrientes (Terraplant Fertilizantes, s.f.). Y, en Rusia, la empresa BIOstrategy ha desarrollado una tecnología innovadora para producir fertilizantes órgano-minerales a partir de estiércol de aves y ganado. La singularidad de esta tecnología reside en preservar las valiosas propiedades del fertilizante y evitar que el nitrógeno se convierta en amoníaco, lo que aumenta significativamente su eficacia (BIOstrategy, s.f.).

Algunas empresas mexicanas mezclan minerales de zeolita (clinoptilolita) y fosforita con fertilizantes químicos en forma de pellet para controlar la liberación gradual de los nutrientes. Entre las empresas destacan ZEOMEX, Zeolitech, Grupo Fertinal y Nutre y Fortalece MX. A continuación, se describe brevemente el proceso que emplean:

En un granulador de disco (Figura 1) con capacidad de 300-500 kg y un ángulo de inclinación de aproximadamente 45°, se mezclan el fertilizante químico (Urea, DAP o Potasa) con la zeolita y roca fosfórica como fuentes minerales, en diferentes concentraciones de manera manual utilizando una pala. Mientras el granulador se encuentra en girando, se asperja agua con el objetivo de obtener un producto granulado. Posteriormente, el material es transportado mediante bandas a un horno, donde se seca hasta tener una humedad de aproximadamente 0.5 y 0.9 %.



Figura 1. Granulador de disco.

Bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB)

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB, por sus siglas en inglés) son bacterias de vida libre en el suelo que ejercen un efecto positivo sobre el crecimiento o desarrollo de las plantas. El efecto positivo de estas bacterias se ha atribuido a su capacidad para incrementar la disponibilidad de nutrientes (nitrógeno y fósforo) y para sintetizar hormonas vegetales (ácido indolacético, giberelinas, etc.). Los principales miembros están asociados a los filos Firmicutes y Proteobacteria; en el filo Firmicutes, por ejemplo, el género *Bacillus* cuenta con algunas especies con actividad promotora del crecimiento vegetal. En el filo Proteobacteria, clase Gammaproteobacteria, los géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Serratia*, *Pantoea*, *Psychrobacter*, *Enterobacter* y *Rahnella* han mostrado tener potencial, al igual que los géneros *Burkholderia* y *Achromobacter*, de la clase Betaproteobacteria (Pardo Díaz et al., 2021).

Las PGPR contribuyen al bienestar general de las plantas asociadas, ya sea de manera directa o indirecta. En los mecanismos directos, las PGPR estimulan el crecimiento de las plantas fijando el nitrógeno atmosférico, solubilizando los fosfatos insolubles del suelo y el potasio, poniendo el hierro a disposición de la planta huésped y, finalmente, produciendo diferentes fitohormonas para apoyar el crecimiento de las plantas. El mecanismo indirecto de las PGPR implica la protección de las plantas contra el estrés biótico y abiótico. Los principales mecanismos indirectos ejercidos por las PGPR son la producción de enzimas hidrolíticas, la producción de exopolisacáridos, la

biorremediación de metales pesados y la estimulación de la resistencia sistémica inducida (ISR) (Bhattacharyya et al., 2020).

A pesar de la gran cantidad de informes que muestran las ventajas del uso de PGPB en los cultivos, la aplicación de estos microorganismos en los campos aún está poco explorada en comparación con la cantidad total de tierras agrícolas disponibles en el mundo (Baez-Rogelio et al., 2017).

Consorcio bacteriano utilizado como inoculante en este estudio

El grupo de Ecología Molecular Microbiana del Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas de la BUAP ha desarrollado inoculantes multiespecies entre los que destaca INOCREP, un inoculante de segunda generación constituido por seis géneros bacterianos. *Gluconacetobacter diazotrophicus* PA1^{5T}, *Bradyrhizobium* sp. MS22, *Azospirillum brasilense* Sp7, *Pseudomonas putida* KT2440, *Paraburkholderia unamae* MTI-641^T y *Sphingomonas* sp. OF178. Todos ellos compatibles entre sí, aunque pueden producir sustancias inhibitorias contra otras especies (incluyendo patógenos de plantas) no se antagonizan entre ellos, y además hacen sinergia en la promoción del crecimiento y rendimiento del maíz (Morales-García, 2013). La efectividad del inoculante INOCREP ha sido demostrada en condiciones de laboratorio, invernadero y de campo. Los experimentos de laboratorio que han culminado en tesis, reportes y/o publicaciones incluye plantas de papa, frijol y cacahuete. La tesis de Hernández-Tenorio (2014) y de Santiago-Saenz (2014) demostraron que INOCREP aumenta la supervivencia de brotes de papa *Solanum tuberosum* cv. Atlantic en un 20% y 40% comparado con los controles no inoculados, así como el peso fresco y seco de las plantas y el rendimiento en tubérculos. La tesis de Juárez-Hernández (2013) mostró el aumento del sistema radicular de plantas de frijol inoculadas con INOCREP en comparación con los controles. El artículo de de Jesús-Ramos et al., (2020) mostró que la inoculación de semillas de cacahuete criollo Huaquechula con INOCREP redujo la

germinación en un 25% pero las plantas inoculadas mostraron un mayor peso y tamaño de raíces a los 20 días después de la inoculación. Además, observaron que la inoculación con INOCREP disminuyó la infección por hongos fitopatógenos durante la germinación del cacahuete.

En el caso de invernaderos, se evaluó el efecto promotor de INOCREP en la producción de pepino (*Cucumis sativus*) y jitomate (*Solanum lycopersicum*); ambos con resultados muy favorables (Morales-García et al., 2022).

En trabajos de campo, INOCREP fue evaluado por productores de maíces nativos en diferentes municipios del Estado de Puebla durante los ciclos de siembra 2021 y 2022 con el acompañamiento de los Ingenieros Agrónomos extensionistas de la SDR (Secretaría de Desarrollo Rural) y financiamiento del Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Puebla (CONCYTEP) mediante los convenios 314/2021 y 470/2022. Los rendimientos de granos en los municipios de San Juan Atenco y San José La Capilla aumentaron en 30-100%, dependiendo del manejo del cultivo (Informe Final Convenio 470-2022 CONCYTEP). En el trabajo de Molina-Romero et al., (2021) se observó que la fertilización de maíz amarillo “criollo” con urea al 50% + Consorcio microbiano produjo 5.35 ± 0.15 toneladas de grano por hectárea. Mientras que la fertilización con urea al 100% (6 bultos de urea de 50 kg/hectárea) produjo 4.91 ± 0.25 toneladas de grano por hectárea, esto sugirió que con la aplicación de un consorcio microbiano se puede reducir la fertilización química a la mitad sin perder productividad.

Fertilizantes órgano-minerales inoculados con microorganismos

En la revisión bibliográfica realizada se identificaron algunas patentes relacionadas con fertilizantes minerales y órgano-minerales inoculados con microorganismos benéficos, lo que refleja el creciente interés por desarrollar formulaciones que integren la disponibilidad inmediata de nutrientes minerales con los beneficios biológicos aportados por inoculantes microbianos, por

ejemplo, en la patente WO 2019066745 A3, publicada en 2019 y desarrollada por KILINÇ ARSLAN, (2019) se describe un fertilizante órgano-mineral granulado inoculado con microorganismos, esta formulación combina nutrientes minerales esenciales con materia orgánica y microorganismos benéficos, con la finalidad de mejorar la fertilidad del suelo, estimular la actividad microbiana sin alterar el pH y aumentar la eficiencia en la absorción de nutrientes por parte de los cultivos.

Por otra parte, Ahmad et al., (2017) llevaron a cabo un estudio en maceta que consistía en la impregnación de *Bacillus* en fertilizantes minerales en combinación con materia orgánica; los fertilizantes minerales que utilizaron fueron DAP y urea, la materia orgánica fue composta y ácidos húmicos que fueron mezclados por separado con la PGPB (*Bacillus* sp. cepa KAP6). Se realizaron mezclas de los fertilizantes con cada tipo de materia orgánica inoculada (composta - *Bacillus* sp. cepa KAP6 y ácidos húmicos - *Bacillus* sp. cepa KAP6) a diferentes concentraciones (0.1, 0.5, 1.0 y 2.0 g de materia orgánica por cada 100 g de fertilizante). Como control utilizaron urea y DAP no impregnados con bacterias. Cada maceta contenía 10 kg de suelo tamizado y tres plantas de trigo. Al momento de la siembra se aplicaron el fósforo y el nitrógeno debajo de la semilla, ya sea como DAP y urea no impregnados o DAP y urea impregnados. En el estado de maduración, se registraron los datos de crecimiento, rendimiento, parámetros fisiológicos y nutrientes. Los resultados del estudio revelaron que la impregnación del fosfato diamónico (DAP) y la urea con PGPB fue útil para mejorar el crecimiento, el rendimiento, la tasa fotosintética, la eficiencia en el uso de nitrógeno (NUE) y la eficiencia en el uso de fósforo (PUE) del trigo. Los resultados más exitosos fueron con el DAP y urea impregnados con la materia orgánica inoculada en una tasa de 2.0 g por cada 100 g de fertilizante.

En este trabajo se pretende realizar un fertilizante órgano-mineral inoculado con un consorcio bacteriano INOCREP. Como fertilizante mineral se utilizará DAP o roca fosfórica, y como materia orgánica se utilizará composta de bovino. Al combinar estos recursos, es posible que el fertilizante órgano-mineral impregnado del inoculante INOCREP propiciará un mayor desarrollo en las plantas. Las PGPB, en conjunto con la materia orgánica, aumentarán la biodisponibilidad de los nutrientes para las plantas, generando un efecto positivo en su crecimiento y desarrollo. Además, esta combinación ofrecerá beneficios ambientales al ser un insumo menos contaminante.

Cultivo de lechuga

El modelo experimental utilizado durante este proyecto fue la lechuga (*Lactuca sativa*) perteneciente a la familia Asteraceae. Hay varios tipos de lechuga (Tabla 2) y todos comparten el nombre científico *Lactuca sativa* L (Boros et al., 2023). Tiene un ciclo de vida relativamente corto que puede variar entre los 35 días y los 3 meses, tiene una alta tasa de autopolinización natural, es posible realizar una gran cantidad de cruces en una planta y las plantas individuales requieren solo una cantidad moderada de espacio. La planta desarrolla un tallo corto, habitualmente tiene un crecimiento en roseta, sin embargo, también es susceptible al espigado el cual se refiere al desarrollo del tallo floral, que no es deseado para la comercialización de lechuga como cultivo de hoja. La susceptibilidad al espigado depende de la variedad, pero las altas temperaturas, las largas horas de luz y la aridez pueden desencadenar este proceso.

Las etapas de crecimiento de la lechuga se dividen en 5 fases: emergencia, crecimiento vegetativo (3 hojas verdaderas), inicio de la formación de la cabeza o cogollo, tamaño de la mitad de la cabeza, y etapa de madurez y cosecha (Boros et al., 2023).

De acuerdo con la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (2023) en el cultivo de lechuga la raíz no llega nunca a sobrepasar los 25 cm de profundidad, es pivotante, corta y con ramificaciones,

de tallo cilíndrico y ramificado. Durante la fase de crecimiento del cultivo se requieren temperaturas entre 14 °C a 18 °C por el día y 5 °C a 8 °C por la noche, pues la lechuga exige que haya diferencia de temperaturas entre el día y la noche, siendo una temperatura óptima de germinación entre 18-20 °C. El sistema radicular de la lechuga es muy reducido en comparación con la parte aérea (Figura 2), por lo que es muy sensible a la falta de humedad y no soporta un periodo de sequía, aunque éste sea muy breve.



Figura 2. Área foliar y radicular de la lechuga en su periodo vegetativo. Nota: tomado de “Cultivo de lechuga: pasos de la siembra a la cosecha” por Cherlinka, (2025). <https://eos.com/es/blog/cultivo-de-lechuga/>.

Los suelos preferidos por la lechuga son los ligeros, arenosos/limosos, con buen drenaje, situando el pH óptimo entre 6.7 y 7.4 (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2023).

Tabla 2. Grupos de cultivares de lechuga y sus principales características. Tabla adaptada de Boros et al., (2023).

Cultivar de lechuga	Sinónimos	Características
Leaf type (<i>L. sativa</i> var. <i>crispa</i>).	Lechuga de hoja suelta, escarola, hoja de roble, lollo rosso laitue à couper.	Hojas agrupadas de forma suelta.
Lechuga romana/Cos (<i>L. sativa</i> var. <i>longifolia</i> , <i>L. sativa</i> var. <i>romana</i>).	Römischer salat, laitue romaine.	Cabeza larga y erguida, mayor contenido de nutrientes y tolerancia al calor.

Iceberg/crisphead (<i>L. sativa</i> var. <i>capitata</i> <i>L. nidus</i> <i>jäggeri</i>).	Eissalat.	Sensible al calor.
Mantecosa/Butterhead (<i>L. sativa</i> var. <i>capitata</i> <i>L. nidus</i> <i>tenerrima</i>).	<i>Boston</i> , <i>lechuga bibb</i> , <i>kopfsalat</i> , laitue pommée.	Lechuga de cabeza con hojas sueltas, sabor dulce, textura suave, variedades de color verde intenso y rojo.
Summercrisp	Batavia, French crisp.	Intermedio entre los tipos de hoja y de cabeza crujiente, cabeza más grande, resistente al espigado, buen sabor.
Celtuce/tallo (<i>L. sativa</i> var. <i>asparagina</i>)	De tallo (Espárragos), <i>stengelsalat</i> , laitue-tige, lechuga china	Cultivada por su tallo floral; hojas maduras amargas y hojas jóvenes utilizadas para cocinar.
Lechuga oleaginosa/ Oilseed lettuce		Cultivada por sus semillas, hojas amargas, semillas más grandes y espigado rápido.
Lechuga de hoja roja (<i>L. serriola</i> o <i>L. sativa</i>)		Tipos de hojas rojas.

El crecimiento y rendimiento del cultivo de lechuga dependen en gran medida del suministro adecuado de macronutrientes, en particular nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K), elementos esenciales para el desarrollo foliar, la acumulación de biomasa y la calidad del cultivo. Hong et al., (2022) encontraron que las dosis óptimas de aplicación de N, P y K para lechuga fueron 315 kg N ha⁻¹, 210 kg P₂O₃ ha⁻¹ y 285 kg K₂O₃ ha⁻¹, respectivamente.

La fertilización excesiva puede provocar pérdidas de rendimiento y una disminución de la calidad del producto, por ello es importante identificar la gestión óptima de fertilizantes y hacer un uso eficiente de los nutrientes. Se ha observado una gran variabilidad en la producción de biomasa, los rasgos morfológicos y la absorción de nutrientes por diferentes variedades de lechuga. Por ejemplo, los tipos de lechuga romana y lechuga crujiente tienden a acumular mayores cantidades de nutrientes que otros, ya que generalmente producen considerablemente más biomasa. Típicamente el cultivo de lechuga responde bien a los fertilizantes, sin embargo, la aplicación excesiva de nutrientes puede inhibir el rendimiento de la lechuga (Albornoz & Heinrich Lieth, 2015). Poorter et al., (2012) concluyeron que las plantas reducen la distribución de recursos hacia las raíces cuando crecen con alta disponibilidad de nutrientes.

Hipótesis

La inoculación del consorcio bacteriano constituido por *Gluconacetobacter diazotrophicus* PA1^{5T}, *Paraburkholderia unamae* MT1-641^T, *Azospirillum brasilense* Sp7, *Bradyrhizobium* sp. MS22, *Pseudomonas putida* KT2440 y *Sphingomonas* sp. OF178, en un fertilizante órgano-mineral, promoverá un mayor crecimiento de plantas de lechuga.

Objetivo general

Formular un fertilizante órgano-mineral inoculado con un consorcio bacteriano para promover el crecimiento de plantas de lechuga.

Objetivos específicos

1. Integrar las bacterias del inoculante INOCREP en el fertilizante órgano-mineral a baja, media y alta carga microbiana, monitoreando la supervivencia bacteriana cada mes durante 6 meses.

2. Evaluar el efecto promotor del fertilizante órgano-mineral inoculado con alta, media y baja carga de PGPB en plantas de lechugas en macetas.

Metodología

Experimento 1

Monitoreo de la supervivencia y carga bacteriana

Se elaboró el consorcio bacteriano (INOCREP) en un biorreactor Applikon Biotechnology de 5 L de volumen de trabajo controlando la temperatura a 30 °C y la agitación en 300 rpm con un flujo de aire de 2 L/min. Se inoculó *Pseudomonas putida* KT2440, *Sphingomonas* sp. OF178 y *Azospirillum brasilense* Sp7, cada una en 50 mL de medio de producción ajustado a pH 7, al juntar las tres bacterias se obtuvo un volumen final de 150 mL que sirvió de inóculo para el biorreactor. Después de 72 horas de cultivo en biorreactor se realizó la cosecha de esta triada. Posteriormente a la cosecha se realizaron diluciones seriadas hasta la dilución (10^{-8}) y se sembraron por método de goteo en placa (Muñoz-Rojas et al., 2016) en las placas de medios selectivos (Tabla 3). El medio de producción pH 7 tenía por litro: Extracto de levadura 10 g, Sacarosa 20 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.4 g, K_2HPO_4 0.846 g y KH_2PO_4 0.022 g.

Después de cosechar este lote, se montó nuevamente el biorreactor con 5 L de volumen de trabajo operado con las mismas condiciones anteriormente descritas, esta vez con la triada *Gluconacetobacter diazotrophicus* PA1^{5T}, *Paraburkholderia unamae* MT1-641^T y *Bradyrhizobium* sp. MS22. Estas tres cepas fueron crecidas cada una en 50 mL de medio de producción ajustando el pH en 5.5; para ello la concentración de los fosfatos fue de 0.1 g/L para K_2HPO_4 y de 0.8 g/L para KH_2PO_4 , el resto de los componentes tenía la concentración. Después de 72 horas de cultivo,

se cosechó y se realizaron diluciones seriadas hasta la dilución (10^{-8}) y se sembraron por método de goteo en placa en los medios selectivos.

Una vez elaborados estos dos lotes de 5 L se juntaron, se mezclaron y se tomó una alícuota de 20 mL en un tubo falcón. A partir de este tubo falcón se prepararon tres tratamientos con diferentes cargas bacterianas. La carga “alta” correspondió al inoculante sin diluir, la “media” fue el inoculante diluido 1:100 y la “baja” el inoculante diluido 1:1000.

Diez mL de cada una de estas suspensiones bacterianas fueron utilizados para asperjar 100 g de un fertilizante órgano-mineral compuesto por 25% composta, 25% zeolita y 50% DAP. Obteniendo así tres formulaciones: fertilizante órgano-mineral con carga microbiana alta, media y baja.

Por otra parte, para confirmar que las seis bacterias del INOCREP habían sido integradas en el fertilizante órgano-mineral, a los seis días después de su elaboración se pesó 1 g del fertilizante órgano-mineral inoculado a alta carga microbiana, posteriormente se trituró en un mortero. Se diluyó el triturado en 9 mL de agua estéril. Se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-4} , se sembraron 20 μ L de cada dilución en medios selectivos (Tabla 3), mediante técnica de goteo en placa. Se incubaron las placas por 24 h – 72 h a 30 °C y se realizó el conteo de UFC. Pasados 21 días se repitió este procedimiento para verificar que aún seguían presentes las seis bacterias en el fertilizante órgano-mineral.

Tabla 3. Medios selectivos para cada microorganismo que compone el consorcio de PGPB. Tabla adaptada de Morales-García, (2013).

Microorganismo	Medio Selectivo
<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> PAI ^{5T}	LGI (Caz ³⁰)
<i>Paraburkholderia unamae</i> MTI-641 ^T	BAC (Cro ³⁰ , Caz ³⁰)
<i>Azospirillum brasilense</i> Sp7	Rojo Congo (CRO ³⁰)
<i>Bradyrhizobium</i> sp. MS22	LB+Azul de bromotimol (Te ³⁰ , AK ³⁰ , Ge ¹⁰)

<i>Pseudomonas putida</i> KT2440	LB (Cm ⁵⁰)
<i>Sphingomonas</i> sp. OF 178	LB 5% (Cm ³⁰ , CTX ³⁰)

Evaluación del fertilizante órgano-mineral-inoculado en plantas de lechugas crecidas en macetas

El experimento en macetas se llevó a cabo a finales de la estación invernal (Febrero/Marzo 2024) en un terreno ubicado en Calle 63 D Ote. Laguna de Chapala #20, Granjas Laguleña, 72580, Heroica Puebla de Zaragoza, Puebla (coordenadas aproximadas: 19.00525° N, -98.21400° O) (Figura 3) a 2114 msnm, las condiciones ambientales registradas en el sitio mostraron temperaturas diarias con mínimas entre 10 y 15 °C y máximas entre 25 y 30 °C. La humedad relativa alcanzó valores cercanos al 70 – 90% durante la madrugada y descendió a 20 – 40% en las horas de mayor insolación. En cuanto a la precipitación, únicamente se detectaron eventos aislados hacia finales de marzo, mientras que el resto del periodo se mantuvo mayormente seco (Open-Meteo, 2025). El fotoperiodo en la localidad del ensayo osciló entre aproximadamente 11 h 40 min y 12 h 30 min de acuerdo con los cálculos de amanecer y atardecer reportados por *timeanddate.com* (2025).



Figura 3. Mapa de localización del sitio experimental en macetas.

Se realizó un diseño de bloques completamente al azar (DBCA) con seis tratamientos y cinco repeticiones, obteniendo un total de 30 unidades experimentales tal como se muestra en la Figura 4. Las macetas fueron montadas con suelo cernido del mismo terreno.

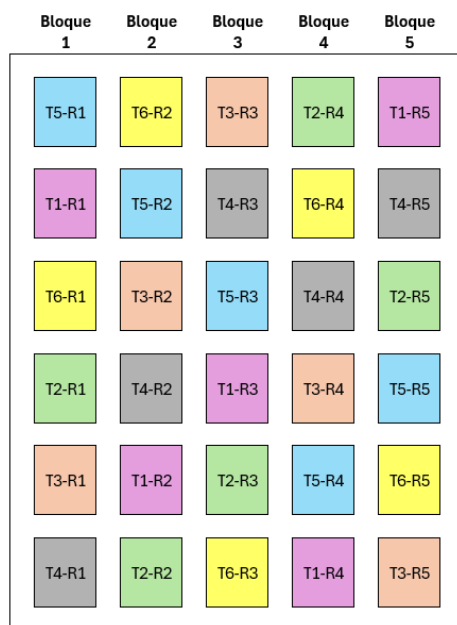


Figura 4. Diseño experimental de bloques completamente al azar para el experimento de lechugas en macetas.
 *T= Tratamiento *R= Repetición

La lechuga para todos los experimentos se cultivó a partir de plántulas. Las plántulas de este experimento fueron proporcionadas por la empresa Leonali, S. de R.L. de C.V. ubicada en la localidad de El León, 74360, Atlixco, Puebla, y la cual se dedica a la siembra, procesamiento y comercialización de vegetales y hortalizas. La variedad proporcionada fue lechuga Romana Tuolumne (*L. sativa* var. *Romaine Tuolumne*).

Pasados 3 días desde el trasplante en las macetas, se llevó a cabo la primera fertilización la cual se realizó tal como se describe en la Tabla 4, así mismo la segunda fertilización fue llevada a cabo 12 días después del trasplante y la tercer fertilización 26 días después del trasplante. Todas las

fertilizaciones se realizaron con la misma dosis indicada en la tabla 4. El riego de las lechugas durante todo el periodo se realizaba una vez al día por la mañana o por la tarde.

Tabla 4. Fertilización correspondiente a cada tratamiento del experimento en maceta.

Tratamiento	Dosis de fertilización
T1	Sin fertilización
T2	2.5 g de DAP
T3	5 g de fertilizante órgano-mineral (25% composta, 25% zeolita, 50% DAP)
T4	5 g de fertilizante órgano-mineral inoculado a baja concentración de microorganismos
T5	5 g de fertilizante órgano-mineral inoculado a media concentración de microorganismos
T6	5 g de fertilizante órgano-mineral inoculado a alta concentración de microorganismos

Pasados 43 días desde el trasplante y 17 días desde la última fertilización, las lechugas fueron cosechadas. El suelo de las macetas fue removido cuidadosamente para poder arrancar las lechugas con sus raíces con el menor daño posible. Mientras se iban cosechando las lechugas se iban enjuagando en agua potable para remover el exceso de suelo que pudiera quedar adherido a las raíces.

Las raíces fueron separadas del follaje y ambas partes se metieron en bolsas de papel previamente rotuladas para meterlas a secar en la estufa del laboratorio a 69 °C hasta llegar a peso constante.

Finalmente se pesaron raíz y follaje de todas las lechugas de los diferentes tratamientos y se realizó el análisis estadístico, el cual consistía en un análisis de varianza (ANOVA) seguido de una *t* de Student pareada.

Experimento 2

Monitoreo de la supervivencia y carga bacteriana

Se elaboró el inoculante INOCREP, esta vez por el método de lavado de placa. Las cepas fueron sembradas masivamente en su respectivo medio selectivo (Tabla 3) y se dejaron incubando por 96 horas, posteriormente cada placa fue “lavada” con 6 mL de agua destilada estéril para levantar las colonias. Se recolectaron los 36 mL totales de las seis placas en un vaso de precipitado estéril y se agregaron 14 mL de agua para obtener un volumen final de 50 mL. Se vació el contenido a un frasco con tapa estéril y se mezcló perfectamente.

De esta solución se tomó 1 mL y se diluyó en 99 mL de agua destilada estéril para elaborar el INOCREP con carga media (diluido 1:100).

Para este segundo y el resto de los experimentos se sustituyó el fertilizante DAP de la formulación órgano-mineral por roca fosfórica, porque al parecer no todas las bacterias toleraron el DAP en el primer experimento. El colaborador nos proporcionó 4 mezclas de fertilizante órgano-mineral que tenían diferente composición (Tabla 5), se tomaron 100 g de cada mezcla y éstas fueron asperjadas con 10 mL del INOCREP diluido 1:100.

Tabla 5. Diferentes composiciones de las mezclas utilizadas como fertilizante órgano-mineral.

	Composta	Zeolita	Roca fosfórica
Mezcla 1	50%	50%	-
Mezcla 2	40%	40%	20%
Mezcla 3	20%	80%	-
Mezcla 4	20%	-	80%

Después de cinco días de la inoculación de las mezclas descritas en la Tabla 5, se pesó 1 g de cada mezcla y se disolvió en 9 mL de agua estéril. Se empleó la técnica de goteo en placa realizando las diluciones seriadas hasta 10^{-4} , se sembraron gotas por triplicado de 20 μ L de cada dilución en los medios selectivos (Tabla 3). Se incubaron las placas por 24 h – 72 h a 30 °C y se realizó el conteo de UFC.

Evaluación del fertilizante órgano-mineral inoculado en cultivo en macetas

El experimento se llevó a cabo en el mes de mayo 2024, en la azotea del edificio multilaboratorios EMA6 de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP) (coordenadas aproximadas 18.99790° N, -98.20234° O) a 2128 msnm. Las condiciones ambientales se caracterizaron por temperaturas mínimas cercanas a 12 °C y máximas de hasta 28 °C. La humedad relativa mostró un patrón diario con valores altos durante la madrugada (70 – 90%) y descensos durante el día (20 – 40%). En este periodo se registraron eventos de precipitación con acumulados de ligeros a moderados (<1 a 2.5 mm) (Open-Meteo, 2025). El fotoperiodo osciló entre aproximadamente 12 h 50 min y 13 h 08 min de acuerdo con los registros de Time and Date AS, (2025). Se realizó un diseño completamente al azar (DCA), con diez tratamientos y cuatro repeticiones (Figura 5). Como sustrato se utilizó una mezcla 50:50 V:V de vermiculita con agrolita previamente esterilizada y la mezcla fue enriquecida con 5% lombricomposta. En cada maceta se trasplantaron cuatro plántulas de lechuga. El riego de las lechugas se realizó una vez al día diario o cada tercer día, dependiendo de las condiciones climatológicas.

Mezcla 3		Mezcla 1		Mezcla 2		Mezcla 1+ INOCREP		Mezcla 4		Mezcla 2+ INOCREP		Mezcla 3+ INOCREP		Mezcla 4+ INOCREP		Control Negativo		Control Negativo	
R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3

Figura 5. Diseño experimental completamente al azar (DCA) para el experimento de lechugas en macetas.
*R= Repetición.

Las plántulas de lechuga romana Tuolumne fueron proporcionadas por el colaborador que también proporcionó las mezclas de los fertilizantes órgano-minerales.

El mismo día del trasplante, las lechugas correspondientes a los tratamientos con el fertilizante no inoculado se fertilizaron con 20 g. Pasados trece días desde el trasplante, se fertilizó con 20 g las lechugas correspondientes a los tratamientos con el fertilizante inoculado, tal como se indica en la tabla 6 y tabla 7.

Tabla 6. Fertilización en lechugas correspondiente a las mezclas sin inocular.

Tratamiento (Mezcla)	Dosis de fertilización
Mezcla 1	20 g de mezcla 1 (50% composta + 50% zeolita)
Mezcla 2	20 g de mezcla 2 (40% composta + 40% zeolita + 20% roca fosfórica)
Mezcla 3	20 g de mezcla 3 (20% composta + 80% zeolita)
Mezcla 4	20 g de mezcla 4 (20% composta + 80% roca fosfórica)
Control	Sin fertilización química (sustrato vermiculita + agrolita + 5% lombricomposta)

Tabla 7. Fertilización en lechugas correspondiente a las mezclas inoculadas.

Tratamiento (Mezcla)	Dosis de fertilización
Mezcla 1 + INOCREP	20 g de mezcla 1 (50% composta + 50% zeolita) inoculada
Mezcla 2 + INOCREP	20 g de mezcla 2 (40% composta + 40% zeolita + 20% roca fosfórica) inoculada
Mezcla 3 + INOCREP	20 g de mezcla 3 (20% composta + 80% zeolita) inoculada
Mezcla 4 + INOCREP	20 g de mezcla 4 (20% composta + 80% roca fosfórica) inoculada

Control	Sin fertilización química (sustrato vermiculita + agrolita + 5% lombricomposta)
----------------	---

Pasados 24 días desde el trasplante y la fertilización de las lechugas con las mezclas sin inocular, y 11 días desde la fertilización con las mezclas inoculadas, las lechugas fueron cosechadas. Mientras se iban removiendo las lechugas del sustrato se iban enjuagando en agua potable para eliminar cuidadosamente el sustrato pegado en las raíces.

Las raíces fueron separadas del follaje y ambas partes se metieron en bolsas de papel previamente rotuladas para meterlas a secar en la estufa del laboratorio a 69 °C hasta llegar a peso constante.

Finalmente se pesaron raíz y follaje de todas las lechugas de los diferentes tratamientos y se realizó el análisis estadístico, el cual consistía en un análisis de varianza (ANOVA) seguido de una *t* de Student pareada.

Experimento 3

Monitoreo de la supervivencia y carga bacteriana

El inoculante INOCREP se elaboró por el método de lavado de placa como se describió en el experimento No. 2. Con los resultados obtenidos en los experimentos 1 y 2, se decidió realizar este tercer experimento con el inoculante diluido 1:100 (carga media) y con la mezcla 2 (40% composta + 40% zeolita + 20% roca fosfórica). Se prepararon 500 mL de INOCREP carga media (5 mL del stock diluidos en 495 mL de agua), se tomaron 600 g de la mezcla 2 y se asperjaron con 60 mL del INOCREP diluido 1:100. Estas preparaciones fueron utilizadas para dos fertilizaciones. Para la tercera fertilización se prepararon 2000 g de la mezcla 2 inoculada. Para esto, se asperjaron 2000 g de esta mezcla con 200 mL del INOCREP 1:100.

Seis días posteriores a la inoculación del fertilizante, se tomó 1 g de este y se trituró en un mortero, se diluyó en 9 mL de agua estéril y se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-4} , se sembró una gota de 20 μ L de cada dilución por triplicado en medios selectivos (Tabla 3), mediante la técnica de goteo en placa. Las placas se incubaron por 24 h – 72 h a 30 °C y se realizó el conteo de UFC. Este procedimiento de conteo de UFC, con el mismo lote de fertilizante órgano-mineral inoculado, se repitió los días 34, 97, 172 y 218 con la intención de monitorear la supervivencia bacteriana a largo plazo.

Evaluación en macetas del fertilizante órgano-mineral inoculado

Este tercer experimento en plantas crecidas en macetas se llevó a cabo durante la estación de verano (Julio/Agosto 2024) en el mismo terreno donde se realizó el primer experimento, Calle 63 D Ote. Laguna de Chapala #20, Granjas Laguleña, 72580, Heroica Puebla de Zaragoza, Puebla (coordenadas aproximadas: 19.00525° N, -98.21400° O) a 2114 msnm. Las condiciones ambientales correspondieron al periodo de lluvias en la región. La temperatura mostró un rango relativamente estable, con mínimas cercanas a 12 °C y máximas de hasta 24 °C. La humedad relativa se mantuvo elevada durante la mayor parte del periodo, oscilando entre 60 y 95 %. Asimismo, se registraron precipitaciones frecuentes e intermitentes, con varios eventos de intensidad moderada a fuerte (hasta 12 – 15 mm) (Open-Meteo, 2025). Estas condiciones favorecieron una disponibilidad hídrica constante, por ende, las lechugas en este experimento fueron regadas únicamente los días en los que no se presentaban precipitaciones. Las condiciones de luminosidad natural se caracterizaron por un fotoperiodo que osciló entre aproximadamente 13 h 15 min y 12 h 50 min, según los registros de *timeanddate.com* (2025). Se realizó un DBCA de cuatro tratamientos con veinticinco repeticiones, esto es 100 unidades repartidas en 10 bloques (Figura 6).

Bloque 1	Bloque 2	Bloque 3	Bloque 4	Bloque 5	Bloque 6	Bloque 7	Bloque 8	Bloque 9	Bloque 10
T3-R1	T2-R3	T1-R6	T4-R8	T3-R11	T2-R14	T1-R16	T4-R18	T3-R21	T2-R23
T2-R1	T1-R3	T4-R6	T3-R8	T2-R11	T1-R13	T4-R15	T3-R18	T1-R21	T4-R23
T4-R1	T1-R4	T2-R6	T3-R9	T4-R11	T1-R14	T2-R17	T3-R19	T4-R21	T1-R24
T1-R1	T2-R4	T3-R6	T4-R9	T1-R11	T2-R15	T3-R16	T4-R19	T1-R22	T2-R24
T4-R2	T3-R4	T2-R7	T1-R9	T2-R12	T3-R14	T4-R16	T1-R19	T2-R21	T3-R24
T3-R2	T4-R4	T1-R7	T2-R9	T3-R12	T4-R13	T1-R17	T2-R19	T3-R22	T4-R24
T1-R2	T4-R5	T3-R7	T2-R10	T1-R12	T4-R14	T3-R17	T2-R20	T1-R23	T4-R25
T4-R3	T3-R5	T2-R8	T1-R10	T4-R12	T3-R15	T2-R18	T1-R20	T4-R22	T3-R25
T3-R3	T2-R5	T1-R8	T4-R10	T3-R13	T2-R16	T1-R18	T4-R20	T3-R23	T2-R25
T2-R2	T1-R5	T4-R7	T3-R10	T2-R13	T1-R15	T4-R17	T3-R20	T2-R22	T1-R25

Figura 6. Diseño experimental de bloques completamente al azar (DBCA) para el experimento de lechugas en macetas de 4 tratamientos con 25 repeticiones montadas en 10 bloques.

Las plántulas de lechuga utilizadas en este experimento fueron de la variedad Sangría (*L. sativa* var. *crispa*).

Se prepararon las macetas con suelo cernido del mismo terreno, se tomó una muestra de este suelo para posteriormente enviarla al departamento de investigación de ciencias agrícolas (DICA) para su respectivo análisis de N, P, K, Ca y Mg.

Transcurridos dos días desde el trasplante, se llevó a cabo la primera fertilización, se fertilizó por segunda ocasión a los 14 días desde el trasplante y la tercera y última fertilización se realizó al día 21 desde el trasplante con la dosis de fertilización que se indica en la Tabla 8.

Tabla 8. Dosis de fertilización correspondiente a cada tratamiento aplicada a cada lechuga en el experimento en maceta.

Tratamiento	Dosis de fertilización		
	1er Fertilización	2da Fertilización	3er Fertilización
T1	Sin fertilización	Sin fertilización	Sin fertilización
T2	10 g de fertilizante (mezcla 2) sin inocular	10 g de fertilizante (mezcla 2) sin inocular	67 g fertilizante (mezcla 2) sin inocular
T3	10 g de fertilizante (mezcla 2) inoculado	10 g de fertilizante (mezcla 2) inoculado	67 g de fertilizante (mezcla 2) inoculado
T4	1 mL de INOCREP diluido 1:100	1 mL de INOCREP diluido 1:100	5 mL de INOCREP diluido 1:100

La cosecha de las lechugas se realizó transcurridos 39 días desde el trasplante, el experimento se decidió detener en este punto debido a la presencia de plaga de gusano verde (*Spodoptera exigua*).

El suelo de las macetas se removió con cuidado para extraer las plantas de lechuga completas, procurando minimizar la pérdida de raíces. A medida que se realizó la cosecha, las plantas se enjuagaron con agua potable para eliminar los restos de suelo adheridos a las raíces. Posteriormente, se separaron las raíces del follaje y ambas partes se colocaron en bolsas de papel previamente etiquetadas para ser secadas en la estufa de laboratorio a 69 °C hasta alcanzar peso constante.

Finalmente, se registraron los pesos secos de raíz y follaje de todas las lechugas y se aplicó un análisis estadístico que incluyó un análisis de varianza (ANOVA) seguido de una prueba *t* de Student pareada.

Experimento 4

Monitoreo de la supervivencia y carga bacteriana

Para confirmar los resultados del tercer experimento, se realizó un cuarto ensayo empleando nuevamente la mezcla 2 (40% composta, 40% zeolita, 20% roca fosfórica) inoculada con INOCREP diluido 1:100. La única diferencia con el experimento tres fue que en este experimento No. 4, en lugar de suelo cernido se utilizó un sustrato de vermiculita-arena, con el fin de tener una condición baja en nutrientes y así atribuir los efectos observados a los nutrientes del fertilizante órgano-mineral y no al suelo. Se elaboró nuevamente el INOCREP por el método de lavado de placa. Las seis cepas fueron sembradas en masivo en su respectivo medio selectivo (Tabla 3) y se dejaron incubando por 96 horas, posteriormente las placas fueron lavadas con 6 mL de agua destilada estéril. Se recolectaron los 36 mL totales de las seis placas en un vaso de precipitado estéril y se agregaron 14 mL de agua para obtener un volumen final de 50 mL. Se vació el contenido a un frasco con tapa estéril y se mezcló perfectamente. Se tomó 1 mL de este “stock” y se diluyó en 99 mL de agua destilada estéril.

Se pesaron 800 g de la mezcla 2 y se asperjó con 80 mL del inoculante diluido 1:100. Pasados tres días desde la inoculación del fertilizante, se monitoreó la carga bacteriana. Para ello se pesó 1 g de esta mezcla y se disolvió en 9 mL de agua estéril. Se aplicó la técnica de goteo en placa tras preparar las diluciones seriadas hasta 10^{-4} , se sembraron gotas por triplicado de 20 μ L de cada dilución en los medios selectivos y posteriormente se incubaron las placas por 24 h – 72 h a 30 °C y se realizó el conteo de UFC. Este procedimiento se repitió a los días 15, 27 y 38 posteriores a la inoculación del fertilizante.

Evaluación en macetas del fertilizante órgano-mineral inoculado

Este cuarto experimento en macetas se llevó a cabo durante el mes de Marzo/Mayo 2025, en el mismo terreno donde se realizaron el primer y tercer experimento, Calle 63 D Ote. Laguna de Chapala #20, Granjas Laguleña, 72580, Heroica Puebla de Zaragoza, Puebla (coordenadas aproximadas: 19.00525° N, -98.21400° O) a 2114 msnm. Las condiciones ambientales se caracterizaron por temperaturas relativamente elevadas, con máximas frecuentes entre 27 y 30 °C y mínimas cercanas a los 10 – 15 °C. La humedad relativa mostró fluctuaciones amplias, con descensos durante el día (30 – 40 %) y recuperaciones hacia la noche (80 – 100 %), en cuanto a las precipitaciones, se registraron muy pocos eventos incrementando ligeramente su frecuencia a inicios de mayo (Open-Meteo, 2025), es decir, en todo el periodo la precipitación fue escasa y aislada, por ello el riego de las lechugas en este periodo fue diario una vez al día. De acuerdo con los datos obtenidos de Time and Date AS, (2025) el fotoperiodo presentó variaciones entre 12 h 12 min a finales de marzo y 13 h 05 min a mediados de mayo. Se realizó un DBCA de cuatro tratamientos con veinte repeticiones, el volumen experimental total fue de 80 unidades ordenadas en 10 bloques (Figura 7).

Bloque 1	Bloque 2	Bloque 3	Bloque 4	Bloque 5	Bloque 6	Bloque 7	Bloque 8	Bloque 9	Bloque 10
T2-R1	T1-R3	T3-R5	T4-R7	T2-R9	T3-R11	T4-R13	T1-R15	T2-R17	T3-R19
T1-R1	T3-R3	T4-R5	T2-R7	T1-R9	T4-R11	T2-R13	T3-R15	T1-R17	T4-R19
T3-R1	T4-R3	T2-R5	T1-R7	T3-R9	T1-R11	T4-R14	T2-R15	T3-R17	T1-R19
T4-R1	T3-R4	T1-R5	T3-R7	T4-R9	T2-R11	T1-R13	T3-R16	T4-R17	T2-R19
T2-R2	T1-R4	T4-R6	T2-R8	T1-R10	T3-R12	T2-R14	T4-R15	T1-R18	T3-R20
T4-R2	T2-R3	T3-R6	T1-R8	T2-R10	T4-R12	T3-R13	T1-R16	T2-R18	T4-R20
T1-R2	T4-R4	T2-R6	T3-R8	T4-R10	T1-R12	T3-R14	T2-R16	T4-R18	T1-R20
T3-R2	T2-R4	T1-R6	T4-R8	T3-R10	T2-R12	T1-R14	T4-R16	T3-R18	T2-R20

Figura 7. Diseño experimental de bloques completamente al azar (DBCA) para el experimento de lechugas en macetas de 4 tratamientos con 20 repeticiones distribuidas en 10 bloques.

Las plántulas de lechuga utilizadas en este experimento fueron de la variedad Lollo bionda (*L. sativa* var. *crispa*).

Como sustrato se utilizó una mezcla 50:50 V:V de vermiculita y arena, se tomó una muestra de esta mezcla para posteriormente enviarla al departamento de investigación de ciencias agrícolas (DICA) para su respectivo análisis de N, P y K.

Transcurridos tres días desde el trasplante, se llevó a cabo la primera fertilización, la segunda fertilización se realizó 15 días posteriores al trasplante y la tercera y última fertilización se realizó al día 25 desde el trasplante, en cada ocasión con la dosis de fertilización que se indica en la tabla 9.

Tabla 9. Dosis de fertilización correspondiente a cada tratamiento aplicada a cada lechuga en el experimento en maceta.

Tratamiento	Dosis de fertilización
T1	Sin fertilización
T2	10 g de fertilizante (mezcla 2) sin inocular
T3	10 g de fertilizante (mezcla 2) inoculado
T4	1 mL de INOCREP diluido 1:100

Las lechugas fueron cosechadas transcurridos 56 días desde el trasplante, el sustrato de las macetas se aflojó y removió con cuidado para extraer las plantas de lechuga completas, procurando reducir la pérdida de raíces. Conforme se realizó la cosecha, las plantas se enjuagaron con agua potable para eliminar los restos de suelo adheridos a las raíces. Posteriormente, como en los experimentos anteriores, se separaron las raíces del follaje y ambas partes se colocaron en bolsas de papel previamente etiquetadas para ser secadas en la estufa de laboratorio a 69 °C hasta alcanzar peso constante.

Finalmente, se registraron los pesos secos de raíz y follaje de todas las lechugas y se aplicó un análisis estadístico que incluyó un análisis de varianza (ANOVA) seguido de una prueba *t* de Student pareada.

Se seleccionaron 4 plantas (sólo el follaje) de cada tratamiento, se trituraron finamente y se llevaron al departamento de fisiología vegetal de la Universidad Autónoma de Chapingo para su análisis de N, P, K, Ca y Mg. Se realizó el análisis estadístico de estos resultados incluyendo un análisis de varianza de un factor (ANOVA), *t* de Student y prueba de Tukey en Microsoft Excel, versión 2508 (compilación 19127.20192) de Microsoft 365 para empresas.

Resultados y discusión

Experimento 1

Integración y supervivencia del consorcio bacteriano en un fertilizante órgano-mineral (25% composta, 25% zeolita, 50% DAP) inoculando a diferentes dosis

Las cepas que pudimos detectar por el método de drop-plate después de tres días de la elaboración del fertilizante órgano-mineral inoculado con carga microbiana “alta”, fueron *Pseudomonas putida* KT2440, *Sphingomonas* sp. OF178, *Azospirillum brasilense* Sp7 y *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAI^{5T} (Tabla 10). *Bradyrhizobium* sp. MS22 y *Paraburkholderia unamae* MTI-641^T no se detectaron. Esto podría deberse a una posible competencia por nutrientes, espacio y oxígeno dentro de los gránulos del fertilizante, ya que es bien conocido que algunas cepas de los géneros *Pseudomonas* y *Azospirillum* son más eficientes colonizando ambientes limitados debido a su versatilidad metabólica y ecológica (Bashan & de-Bashan, 2010; Lugtenberg & Kamilova, 2009) y esto pudo provocar el desplazamiento de las cepas menos competitivas como *Bradyrhizobium* y *Paraburkholderia*.

Tabla 10. Detección de las seis cepas del INOCREP en el fertilizante órgano-mineral (25% composta, 25% zeolita, 50% DAP) a los 3 días de su elaboración.

Contenido de las cepas del INOCREP en el fertilizante órgano-mineral a los 3 días de su elaboración

<i>Pseudomonas putida</i> KT2440	5.69 log (UFC/g)
<i>Sphingomonas</i> sp. OF178	4.69 log (UFC/g)
<i>Azospirillum brasilense</i> Sp7	3.69 log (UFC/g)
<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> PAI ^{5T}	5.69 log (UFC/g)
<i>Bradyrhizobium</i> sp. MS22	No detectado (N/D)
<i>Paraburkholderia unamae</i> MTI-641 ^T	No detectado (N/D)

Transcurridos 24 días desde la elaboración del fertilizante órgano-mineral únicamente pudieron ser detectadas tres de seis cepas del inoculante (Tabla 11). Lo que señala que no todas las especies lograron mantener su viabilidad en esta matriz sólida a lo largo del tiempo y refuerza la teoría de que se generó un microambiente hostil para ciertas bacterias que son más sensibles. Sin embargo, también cabe la posibilidad de que *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAI^{5T}, *Bradyrhizobium* sp. MS22 y *Paraburkholderia unamae* MTI-641^T pudieron haber entrado en un estado viable pero no cultivable (VPNC), es decir que podrían seguir vivas y metabólicamente activas sin embargo fueron incapaces de crecer en medios de cultivos convencionales, como se ha descrito para diversas bacterias de vida libre y endófitas bajo condiciones de estrés (Pazos-Rojas et al., 2023), no obstante, no se contó con herramientas moleculares para confirmar este estado VBNC, por lo que sólo se puede inferir su posible presencia a partir de la literatura y las condiciones del experimento.

Ahora bien, también se debe considerar que el fertilizante órgano-mineral usado en este primer experimento contenía el 50% de fosfato diamónico (DAP), lo cual pudo causar un ambiente salino y hostil para algunas bacterias, sobre todo aquellas que normalmente están asociadas con tejidos vegetales y ambientes líquidos ricos en azúcares como *Gluconacetobacter diazotrophicus* (Cavalcante & Dobereiner, 1988), por ende, estas bacterias difícilmente podrán sobrevivir en un ambiente seco, salino y mineralizado.

Tabla 11. Detección de las seis cepas del INOCREP en el fertilizante órgano-mineral (25% composta, 25% zeolita, 50% DAP) a los 24 días de su elaboración.

Contenido de cepas del INOCREP en el fertilizante órgano-mineral a los 24 días de su elaboración

<i>Pseudomonas putida</i> KT2440	6 log (UFC/g)
<i>Sphingomonas</i> sp. OF178	4.69 log (UFC/g)

<i>Azospirillum brasilense</i> Sp7	5 log (UFC/g)
<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> PAI ^{5T}	No detectado (N/D)
<i>Bradyrhizobium</i> sp. MS22	No detectado (N/D)
<i>Paraburkholderia unamae</i> MTI-641 ^T	No detectado (N/D)

Evaluación del peso seco de las plantas del experimento en macetas del fertilizante órgano-mineral (25% composta, 25% zeolita, 50% DAP) inoculado

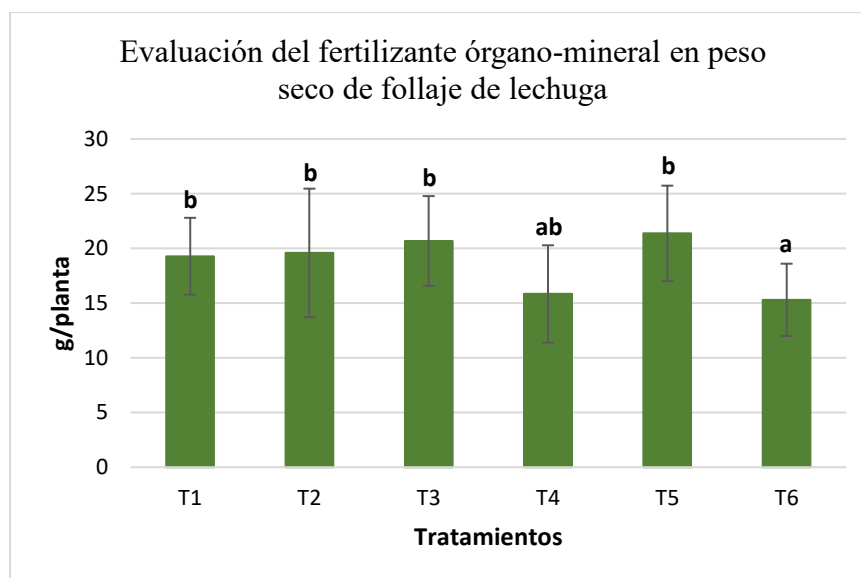


Figura 8. Promedio del peso seco de follaje por planta de lechuga (g) bajo seis tratamientos con diferentes formulaciones de fertilizante. T1: Suelo sin fertilizar; T2: Suelo + DAP; T3: Suelo + fertilizante órgano-mineral sin inocular; T4: Suelo + fertilizante órgano-mineral inoculado con baja concentración de microorganismos; T5: Suelo + fertilizante órgano-mineral inoculado con concentración media; T6: Suelo + fertilizante órgano-mineral inoculado con alta concentración. Las barras indican la desviación estándar. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas (t de Student $p < 0.05$).

Los resultados presentados en la Figura 8 muestran que el peso seco de follaje por planta de lechuga varió entre tratamientos. Pese a ello, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la mayoría de ellos, con excepción del tratamiento 6 (T6) el cual presentó el menor valor promedio y fue significativamente diferente de T1, T2, T3 y T5.

El tratamiento 5 (T5) mostró el promedio más alto de peso seco, aunque estadísticamente no difirió de T1, T2 o T3. Esto indica que la inoculación del fertilizante órgano-mineral con una dosis intermedia del consorcio microbiano (esto es diluido 100 veces), podría ser más adecuada que la dosis alta. Resultados similares han sido reportados en nuestro grupo de trabajo, incluso por otros autores, quienes han observado que la sobredosis de microorganismos puede generar competencia entre cepas o con la planta hospedera, disminuyendo el efecto benéfico (Bashan et al., 2014). El tratamiento 6 (T6) presentó un valor significativamente menor que la mayoría de los demás tratamientos. Este fenómeno podría estar asociado a una sobreinoculación, que a su vez pudo generar un desequilibrio en la rizósfera o incluso efectos adversos por acumulación de metabolitos.

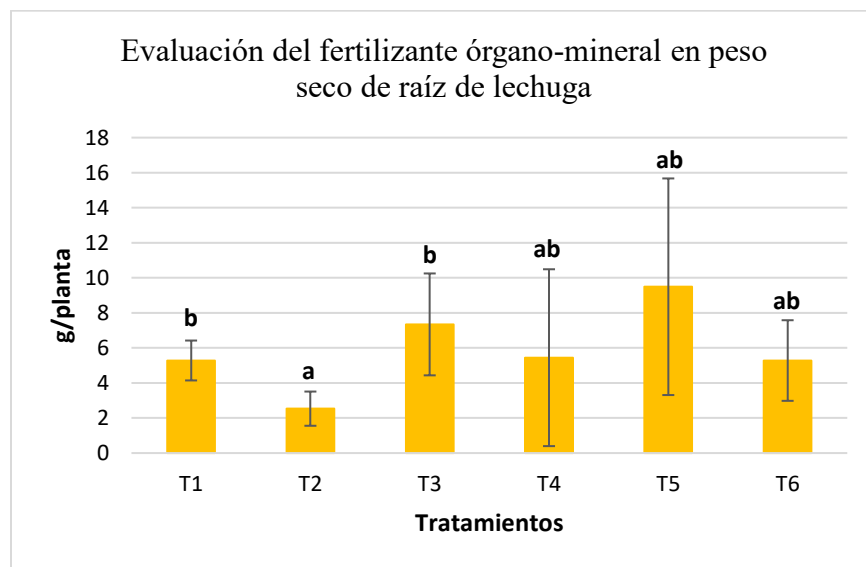


Figura 9. Promedio del peso seco de raíz por planta de lechuga (g) bajo seis tratamientos con diferentes formulaciones de fertilizante. T1: Suelo; T2: Suelo + DAP; T3: Suelo + Fertilizante órgano-mineral sin inocular; T4-T6: Suelo + Fertilizante órgano-mineral inoculado con microorganismos a baja, media y alta concentración, respectivamente. Las barras indican la desviación estándar. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas (t de Student $p < 0.05$).

El peso seco de raíz por planta de lechuga (Figura 9) varió entre tratamientos, aunque con diferencias menos claras en comparación con el follaje. El tratamiento 2 (T2) presentó el menor valor promedio y fue significativamente diferente de T1 y T3, lo que apunta a que la aplicación

del fertilizante químico, DAP, no favoreció el desarrollo radicular de las lechugas, lo cual no es común, casi siempre el fósforo favorece el desarrollo radicular. En cambio, los tratamientos que incluyeron fertilizante órgano-mineral, ya fuese con o sin inoculación, mostraron una tendencia hacia mayores valores de peso seco de raíz. T3 tuvo un valor significativamente mayor que T2, lo que pone de manifiesto que la base orgánica-mineral de este fertilizante podría mejorar la estructura del suelo o la retención de humedad favoreciendo de esta manera el desarrollo del sistema radical.

El T5 alcanzó el mayor promedio de peso seco, aunque sin diferencia estadísticamente significativa frente a T3, T4 o T6. Este comportamiento coincide con el observado en la parte foliar, sugiriendo así que, una concentración intermedia del consorcio microbiano podría ser la más adecuada para un desarrollo equilibrado en la planta.

Es importante mencionar que, las barras de desviación estándar son grandes, especialmente en T5 y T4, esto podría deberse a la variación en la recolección de raíces, ya que esta fue realizada por diferentes colaboradores, circunstancia que probablemente impactó en los resultados.

Experimento 2

Integración y supervivencia del consorcio bacteriano en un fertilizante órgano-mineral (composta, zeolita, roca fosfórica) inoculando a carga media (inoculante diluido 1:100)

En este segundo experimento, se logró detectar en las cuatro mezclas de fertilizante órgano-mineral, a las seis cepas que conforman el consorcio bacteriano cinco días después de su elaboración (Tabla 12). Este resultado fue diferente al primer experimento en el que sólo se detectaron cuatro cepas a los tres días y únicamente tres a los 24 días.

Observando estos resultados, podríamos atribuir esta diferencia en la supervivencia microbiana a la composición de las mezclas utilizadas como fertilizante, ya que en esta ocasión no se utilizó DAP como fuente de fósforo, sino un material más estable, menos salino y de liberación lenta como lo es la roca fosfórica. A diferencia del DAP, que puede generar ambientes con alta concentración de amonio provocando estrés osmótico y químico en algunos microorganismos, la roca fosfórica presenta baja solubilidad y libera fósforo de forma gradual (Valenzuela et al., 2002) lo que podría reducir el riesgo de toxicidad para las bacterias. La zeolita, por su alta capacidad de intercambio catiónico, y la composta, como fuente de carbono y mejoradora de la estructura física del fertilizante, podrían haber contribuido a generar un microambiente más adecuado para la supervivencia de las bacterias. Tal como lo señalan Malusá et al., (2012), las matrices con alta porosidad y contenido orgánico promueven la formación de entornos favorables para la colonización microbiana, al brindar protección contra el estrés ambiental, mejorar la retención de humedad, reducir las fluctuaciones de temperatura y aumentar la disponibilidad de carbono orgánico. Estas condiciones posiblemente habrían facilitado la persistencia y el establecimiento de las seis cepas del consorcio bacteriano.

Tabla 12. Unidades formadoras de colonia por gramo (UFC/g) obtenidas a los cinco días posteriores a la elaboración de las cuatro formulaciones del fertilizante con las seis cepas integrantes del consorcio INOCREP. $\pm$ Desviación estándar.

	Mezcla 1 inoculada [Log (UFC/g)]	Mezcla 2 inoculada [Log (UFC/g)]	Mezcla 3 inoculada [Log (UFC/g)]	Mezcla 4 inoculada [Log (UFC/g)]
KT2440	4.29 $\pm$ 3.71	6.03 $\pm$ 0.35	5.9 $\pm$ 0.06	5.29 $\pm$ 0.11
OF178	5.51 $\pm$ 0.19	5.31 $\pm$ 0.53	5.29 $\pm$ 0.11	5.18 $\pm$ 0.43
MS22	3.33 $\pm$ 2.88	2.78 $\pm$ 2.41	3.23 $\pm$ 2.8	4.44 $\pm$ 0.12
PAI^{5T}	2.66 $\pm$ 2.32	1.23 $\pm$ 2.13	3.85 $\pm$ 0.27	1.66 $\pm$ 2.88

MTI-641^T	4.8 ± 0.08	4.49 ± 0.1	4.79 ± 0.17	4.58 ± 0.03
Sp7	3 ± 2.6	4.27 ± 0.17	4.26 ± 0.22	4.33 ± 0.05

Evaluación del peso seco de las plantas crecidas en macetas con el fertilizante órgano-mineral (composta, zeolita, roca fosfórica) sin inocular

Los resultados observados en la Figura 10 muestran que las cuatro mezclas sin inocular (M1 a M4) promovieron una mayor producción de biomasa aérea o follaje en lechuga en comparación con el control, el cual no recibió fertilización. Particularmente la mezcla 2 (M2) compuesta por 40% composta, 40% zeolita y 20% roca fosfórica, mostró el mayor promedio de peso seco en follaje por planta, aunque sin diferencias estadísticamente significativas respecto a las otras mezclas (M1, M3 y M4). No obstante, la mezcla M2 sí presentó diferencias significativas frente al control (sin fertilizante), lo que podría reflejar que la fertilización con componentes orgánicos y minerales sí tuvo un efecto positivo sobre el crecimiento vegetal.

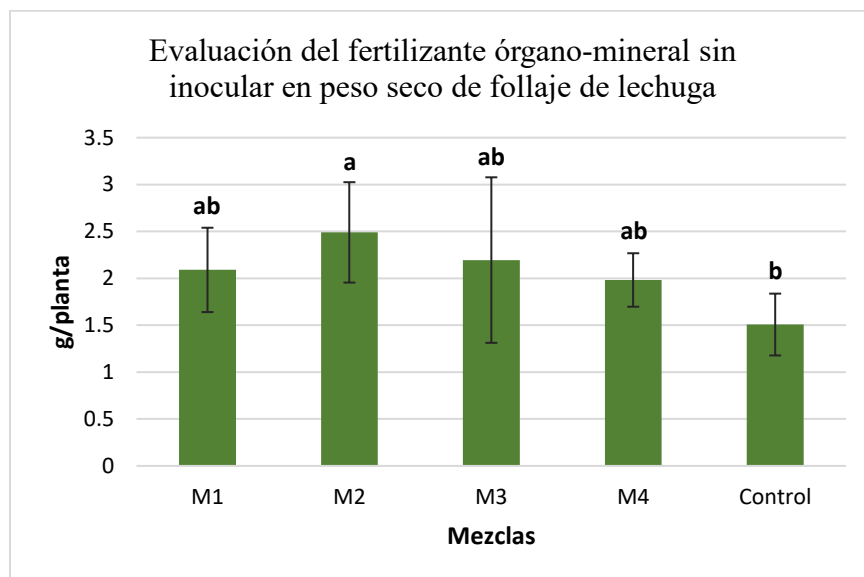


Figura 10. Promedio del peso seco (g) de follaje por planta de lechuga bajo cuatro mezclas de fertilizante órgano-mineral sin inocular y un control. M1: 50% composta, 50% zeolita; M2: 40% composta, 40% zeolita, 20% roca fosfórica; M3: 20% composta, 80% zeolita; M4: 20% composta, 80% roca fosfórica; Control: lechugas sin fertilizar. Las barras indican la desviación estándar. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas (t de Student $p < 0.05$).

Esta mejora en el área foliar podría explicarse por la combinación de materiales que aportan nutrientes y mejoran las propiedades físicas del suelo. Como se mencionó anteriormente, además de que la composición de las mezclas podría favorecer la supervivencia de las bacterias generando un ambiente más estable, también podría resultar favorable en el desarrollo vegetal, por ejemplo, la composta pudo haber actuado como fuente de carbono y nutrientes disponibles. Por su parte, la zeolita, al tener una alta capacidad de intercambio catiónico, pudo facilitar la retención y liberación gradual de nutrientes como el amonio, favoreciendo así su absorción por parte de las plantas (Ramesh & Reddy, 2011). Asimismo, la roca fosfórica pudo haber contribuido como fuente de fósforo, nutriente clave para el desarrollo radicular y la acumulación de biomasa.

La mezcla 2, que incluyó proporciones equilibradas de zeolita, composta y roca fosfórica, parece ser una formulación adecuada para mejorar el crecimiento de lechuga, lo cual resulta relevante para el diseño de fertilizantes más sustentables.

Por otro lado, al hacer la evaluación del peso seco de estas mismas mezclas en la parte radicular de las plantas de lechuga, observamos que, a diferencia de los resultados obtenidos en la biomasa aérea, en el peso seco de raíz no se detectaron diferencias significativas entre las cuatro mezclas ni con el control (Figura 11). Las barras de desviación estándar en el gráfico podrían sugerir que, existió una alta variabilidad entre las repeticiones, lo cual limita la capacidad de detectar efectos sobre el crecimiento radicular.

El desarrollo del sistema radicular depende de múltiples factores, entre ellos la disponibilidad de fósforo, la estructura física del suelo, la relación entre nutrientes disponibles y necesidades fisiológicas de la planta (Shen et al., 2011). Si bien la inclusión de zeolita, composta y roca

fosfórica en las mezclas pudo mejorar la disponibilidad de algunos nutrientes y el desarrollo foliar, es posible que las condiciones experimentales no hayan favorecido una expresión clara de estos beneficios en la biomasa de raíz. Esto debido al reducido espacio que tenían las raíces para su desarrollo ya que estas macetas eran más pequeñas que las del primer experimento, o bien que las plantas hayan priorizado el desarrollo foliar frente al radicular al contar con suficiente disponibilidad nutricional pero poco espacio para su desarrollo y expansión radicular, es decir, es posible que las raíces hayan alcanzado un punto de saturación de crecimiento bajo las condiciones del experimento. Esto se ha observado en cultivos donde la disponibilidad de nutrientes no es un factor limitante, y el crecimiento radical se ve más influido por la compactación del sustrato o la retención hídrica.

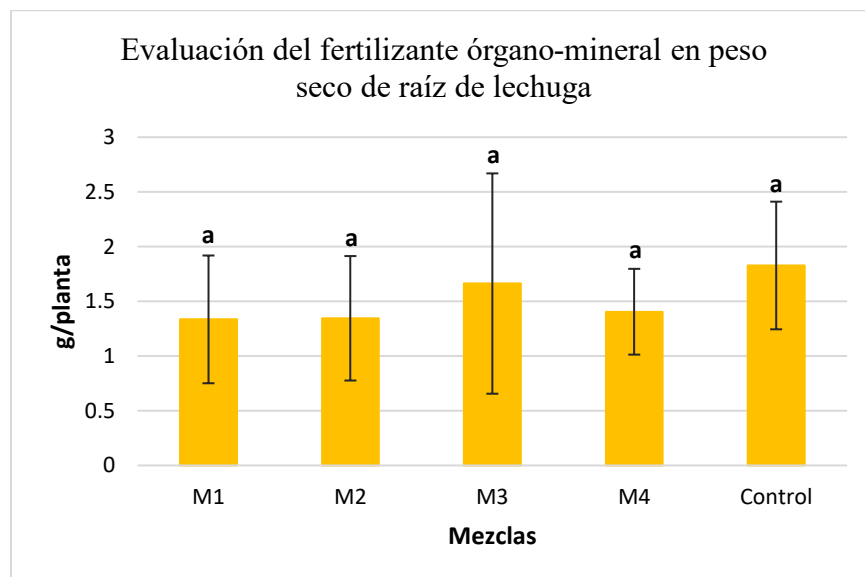


Figura 11. Promedio del peso seco (g) de raíz por planta de lechuga bajo cuatro mezclas de fertilizante órgano-mineral sin inocular y un control. M1: 50% composta, 50% zeolita; M2: 40% composta, 40% zeolita, 20% roca fosfórica; M3: 20% composta, 80% zeolita; M4: 20% composta, 80% roca fosfórica; Control: lechugas sin fertilizar. Las barras indican la desviación estándar. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas, letras iguales indican que no hay diferencias estadísticamente significativas (t de Student $p < 0.05$).

Evaluación del peso seco del experimento en macetas del fertilizante órgano-mineral (composta, zeolita, roca fosfórica) inoculando a carga media (inoculante diluido 1:100)

Similar a los resultados obtenidos en el peso seco del follaje en la evaluación del fertilizante sin inocular, la mezcla 2 (M2) mostró el mayor promedio de peso seco de follaje, siendo estadísticamente diferente de la mezcla 3 (M3) que registró el valor más bajo. Las mezclas 1, 4 y el control sin fertilizar presentaron valores intermedios, sin diferir significativamente de M2 ni de M3 (Figura 12).

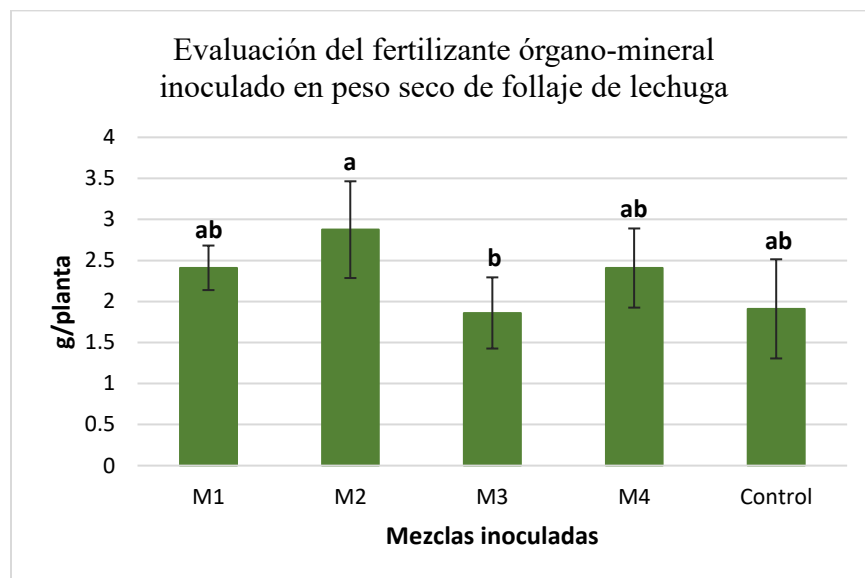


Figura 12. Promedio del peso seco (g) de follaje por planta de lechuga bajo cuatro mezclas de fertilizante órgano-mineral inoculadas y un control. M1: 50% composta, 50% zeolita; M2: 40% composta, 40% zeolita, 20% roca fosfórica; M3: 20% composta, 80% zeolita; M4: 20% composta, 80% roca fosfórica; Control: lechugas sin fertilizar. Las barras indican la desviación estándar. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas (t de Student $p < 0.05$).

Si comparamos el peso del follaje del tratamiento M2 de la Figura 10 (sin inocular) con M2 de la Figura 12 (inoculada), podemos observar que hubo un ligero aumento en el peso seco del follaje de las lechugas (2.49 g vs 2.875 g), pese a que las lechugas del tratamiento M2 de la Figura 12

fueron fertilizadas 13 días después, pero cosechadas al mismo tiempo que las que se fertilizaron con las mezclas sin inocular (M2 de la Figura 10). Esto podría evidenciar que existió una interacción sinérgica entre los microorganismos del INOCREP y los componentes del fertilizante de la mezcla 2, posiblemente favoreciendo la movilización de nutrientes como fósforo y nitrógeno.

En general, los promedios de pesos secos de los follajes de lechugas fertilizadas con las mezclas inoculadas fueron ligeramente superiores a los pesos secos de los follajes de las lechugas fertilizadas con las mezclas sin inocular, a excepción de la mezcla 3 (M3), las plantas fertilizadas con la mezcla 3 sin inocular tuvieron una mayor biomasa foliar que las plantas fertilizadas con la mezcla 3 inoculada. Esto podría indicar que hubo una interacción negativa entre la mezcla y los microorganismos inoculados, pudiendo deberse a la composición de la mezcla (20% composta, 80% zeolita). Esta contiene sólo 20% de composta, por lo que pudo tener un contenido orgánico limitado y aunque la zeolita mejora la retención de humedad y el intercambio catiónico, en altas proporciones (80%, en este caso) puede inmovilizar nutrientes, especialmente en presencia de microorganismos que liberan ácidos orgánicos o solubilizan fosfatos, pero estos podrían reabsorberse en los poros de la zeolita reduciendo su disponibilidad efectiva para la planta.

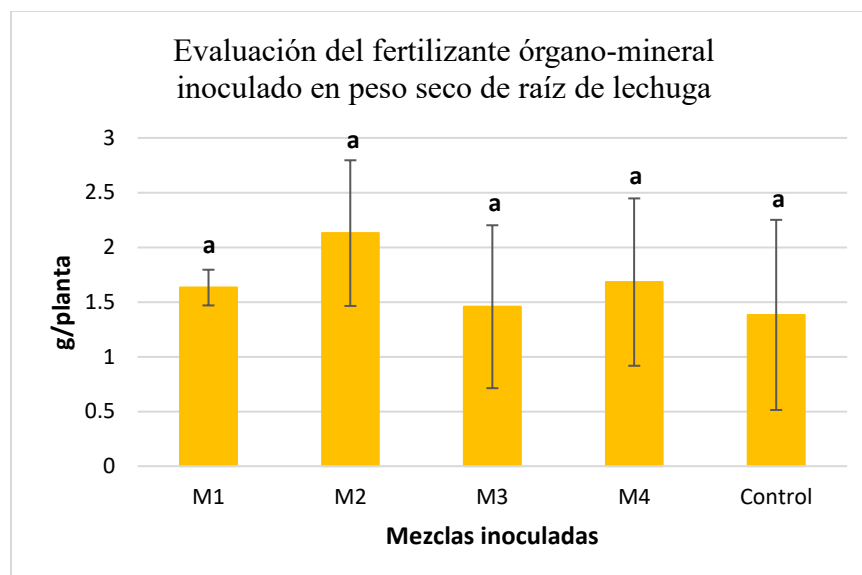


Figura 13. Promedio del peso seco (g) de raíz por planta de lechuga bajo cuatro mezclas de fertilizante órgano-mineral inoculadas y un control. M1: 50% composta, 50% zeolita; M2: 40% composta, 40% zeolita, 20% roca fosfórica; M3: 20% composta, 80% zeolita; M4: 20% composta, 80% roca fosfórica; Control: lechugas sin fertilizar. Las barras indican la desviación estándar. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas, letras iguales indican que no hay diferencias estadísticamente significativas (t de Student $p < 0.05$).

En la parte radicular de las lechugas fertilizadas con las mezclas inoculadas se observó un comportamiento similar al del área foliar, la mezcla 2 mostró el valor más alto de peso seco de raíz, sin embargo, no hubo diferencia significativa entre los tratamientos (Figura 13).

Experimento 3

Integración y supervivencia del consorcio bacteriano en un fertilizante órgano-mineral (40% composta, 40% zeolita, 20% roca fosfórica) inoculando a carga media (inoculante diluido 1:100)

En este tercer experimento se realizó el monitoreo de la supervivencia bacteriana por un periodo más prolongado, en este caso se evaluó la supervivencia en los días 6, 34, 97, 172 y 218 posteriores a la elaboración del fertilizante (Tabla 13).

Tabla 13. Seguimiento y monitoreo de UFC/g obtenidas a los días 6, 34, 97, 172 y 218 posteriores a la elaboración del fertilizante inoculado. $\pm$ Desviación estándar.

	Día 6	Día 34	Día 97	Día 172	Día 218
	[Log (UFC/g)]	[Log (UFC/g)]	[Log (UFC/g)]	[Log (UFC/g)]	[Log (UFC/g)]
KT2440	7.66 $\pm$ 0.05	7.36 $\pm$ 0.05	7.29 $\pm$ 0.11	6.87 $\pm$ 0.11	5.64 $\pm$ 0.22
OF178	7.63 $\pm$ 0.05	7.08 $\pm$ 0.07	4.98 $\pm$ 4.31	6.90 $\pm$ 0.10	5.68 $\pm$ 0.07
MS22	7.25 $\pm$ 0.24	6.29 $\pm$ 0.25	3.89 $\pm$ 3.38	0	0
PAI^{5T}	7.42 $\pm$ 0.04	6.35 $\pm$ 0.32	0	0	0
MTI-641^T	7.56 $\pm$ 0.22	6.85 $\pm$ 0.27	5.89 $\pm$ 0.17	0	0
Sp7	7.1 $\pm$ 0.17	4.61 $\pm$ 0.15	3.39 $\pm$ 2.93	4.95 $\pm$ 0.24	6 $\pm$ 0

Todas las cepas fueron detectadas exitosamente al día 6. Sin embargo, conforme pasó el tiempo se observó una reducción en las UFC/g, aunque con diferencias importantes en el patrón de supervivencia entre las especies. Hasta el día 34 se lograron detectar las seis cepas del consorcio microbiano, *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAI^{5T} fue la primera cepa que no pudo detectarse, esto se podría atribuir a competencia, cambios de oxígeno, además de ser una bacteria demandante de altos contenidos de azúcares (Restrepo et al., 2023), por lo que podría esperarse que en ausencia de esta condición y en materiales sólidos y secos como nuestra mezcla órgano-mineral la bacteria pierda su viabilidad antes que el resto de las cepas. Para el día 172 ya no se logró detectar a las cepas *Bradyrhizobium* sp. MS22 y *Paraburkholderia unamae* MTI-641^T. Temprano et al., (2002) indican que las condiciones de almacenamiento influyen en la viabilidad de *Bradyrhizobium* sp. y que formulaciones estériles conservan mejor la población celular durante varios meses, en este caso, al no almacenar nuestro fertilizante en refrigeración, y al no haber realizado una esterilización previa a la inoculación de nuestro fertilizante, es posible que la flora nativa de la composta, zeolita y roca fosfórica hayan desplazado las bacterias del inoculante. De igual manera, la viabilidad de

Paraburkholderia podría verse afectada por factores ambientales como la temperatura, la disponibilidad de nutrientes, o incluso, la presencia de otros microorganismos.

Por otra parte, *Pseudomonas putida* KT2440, *Sphingomonas* sp. OF178 y *Azospirillum brasilense* Sp7 fueron detectadas durante todo el periodo, lo cual sugiere que estas cepas tienen una mayor estabilidad y capacidad de adaptación a la formulación, este resultado coincide con lo observado en el primer experimento, así como en trabajos previos realizados por nuestro grupo de trabajo en el laboratorio.

Evaluación del peso seco de las plantas crecidas en macetas con el fertilizante órgano-mineral (40% composta, 40% zeolita, 20% roca fosfórica) inoculado a dosis media (inoculante diluido 1:100)

El peso seco de follaje de lechuga varió significativamente entre los tratamientos aplicados (Figura 14). El tratamiento 3 (T3, suelo + fertilizante órgano-mineral inoculado) presentó la mayor acumulación de biomasa aérea, con un promedio cercano a 10 g/planta, este tratamiento fue estadísticamente diferente a T1 y T2, los cuales mostraron valores similares entre sí, y también tendió a superar a T4 aunque sin diferencia estadísticamente significativa.

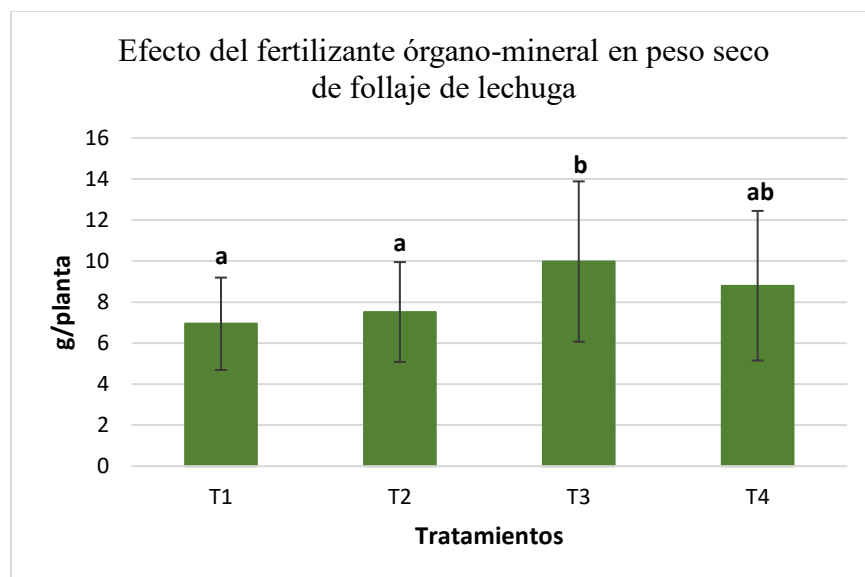


Figura 14. Promedio del peso seco de follaje por planta de lechuga (g) bajo cuatro tratamientos con diferentes fertilizaciones. T1: Suelo sin fertilizar; T2: Suelo + fertilizante órgano-mineral; T3: Suelo + fertilizante órgano-mineral inoculado; T4: Suelo + inoculante (sin fertilizante). Las barras indican la desviación estándar. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas (t de Student $p < 0.05$).

Estos resultados proponen que la combinación del fertilizante órgano-mineral con el inoculante microbiano promovió un efecto sinérgico en el desarrollo del follaje de lechuga, en comparación con el control (T1) e incluso en comparación con la aplicación del fertilizante sin inocular (T2) y con la aplicación de sólo el inoculante (T4), aunque con este último no hubo diferencia significativa. El incremento observado en T3 podría estar relacionado con la acción de las PGPB utilizadas en el inoculante, tales como *Azospirillum brasilense* Sp7 y *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAI^{5T}, las cuales han sido ampliamente documentadas por su capacidad para producir fitohormonas y fijar nitrógeno (Rivera-Urbalejo et al., 2019; Lambrecht et al., 2000), favoreciendo así la expansión foliar y acumulación de biomasa aérea, de igual manera en el trabajo de Aguilar-Benítez et al., (2020) reportaron que *Pseudomonas putida* fue una de las PGPB que más promovió el rendimiento de materia seca del pasto ovillo.

La aplicación del fertilizante órgano-mineral sin inocular (T2) no mostró diferencias significativas con el suelo sin fertilizar (T1), esto podría deberse a que los nutrientes del fertilizante por sí solos no fueron suficientes para estimular el desarrollo foliar de las lechugas, o a que posiblemente el suelo contenía suficientes nutrientes disponibles.

El tratamiento con sólo inoculante (sin fertilizante) (T4) mostró un efecto intermedio, indicando que, si bien el consorcio bacteriano tiene potencial para mejorar el crecimiento vegetal, su impacto es mayor o más evidente cuando se aplica en conjunto con una fuente orgánica-mineral de nutrientes como lo es el fertilizante compuesto por 40% composta, 40% zeolita y 20% roca fosfórica.

Para el área radicular de las lechugas, los resultados indicaron que, de igual manera que en el área foliar, el T3 (fertilizante órgano-mineral inoculado) presentó el mayor valor de peso seco y fue significativamente superior a T1 (testigo) el cual mostró el menor valor de los tratamientos. Los tratamientos T2 y T4 mostraron valores intermedios sin diferencias significativas con T3 ni con T1 (Figura 15).

Al igual que en el desarrollo del área foliar, la combinación del fertilizante órgano-mineral con el inoculante microbiano parece ser que promovió un efecto positivo en el crecimiento de las raíces de las lechugas. Se cree que este efecto se debió a la acción de las PGPB, ya que, por ejemplo, es bien sabido que la inoculación con bacterias del género *Azospirillum* en plantas conlleva a un aumento significativo del sistema radicular (Díaz Lezcano et al., 2020).

Por otro lado, la aplicación del fertilizante órgano-mineral sin inocular (T2) y la aplicación de sólo el inoculante (T4) no fueron suficientes para inducir un aumento significativo respecto al suelo sin

fertilizar (T1), lo que destaca la importancia de la interacción entre la disponibilidad de nutrientes y la actividad microbiana para promover un crecimiento radicular más eficiente.

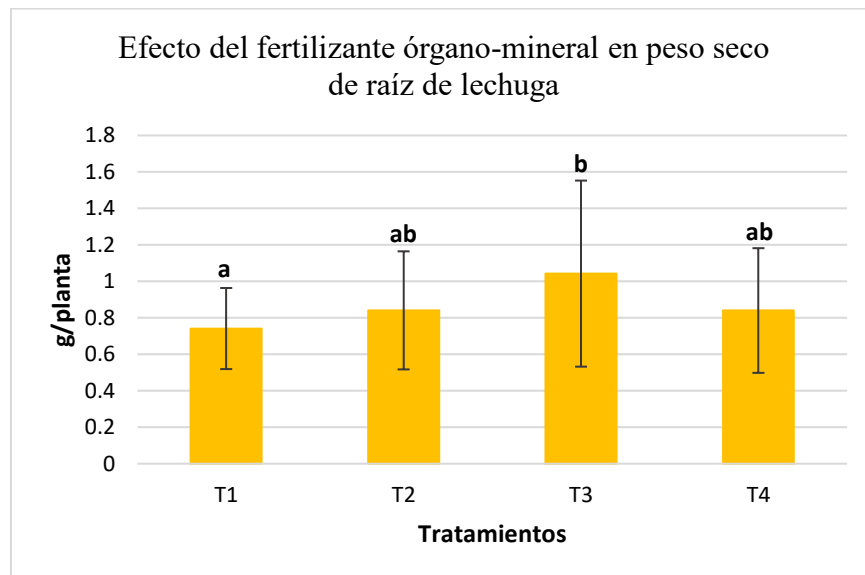


Figura 15. Promedio del peso seco de raíz por planta de lechuga (g) bajo cuatro tratamientos con diferentes fertilizaciones. T1: Suelo sin fertilizar; T2: Suelo + fertilizante órgano-mineral; T3: Suelo + fertilizante órgano-mineral inoculado; T4: Suelo + inoculante (sin fertilizante). Las barras indican la desviación estándar. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas (t de Student $p < 0.05$).

Por su parte, el análisis de suelo reveló importantes desequilibrios en cuanto a nutrientes esenciales (N, P, K, Ca y Mg) (Tabla 14); el valor de fósforo se encontró muy por encima del rango de referencia, lo que podría alterar la arquitectura de las raíces en las plantas de lechuga, así como también se podrían ver afectadas la disponibilidad y absorción de otros micronutrientes como Zinc (Zn) o Hierro (Fe), esto a su vez podría causar síntomas de deficiencia en la planta como clorosis o menores concentraciones foliares.

Tabla 14. Valores de P (fósforo), K (potasio), Ca (calcio), Mg (magnesio) y N (nitrógeno) total del suelo utilizado para el experimento en maceta. *Los valores de referencia fueron tomados de la Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000 (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2002).

Análisis de suelo

	P (mg/kg)	K (mg/kg)	Ca (mg/kg)	Mg (mg/kg)	N total (mg/kg)
Suelo	190.6	8099.91	880	408	2000
*Valores de referencia	15-30	117-234	1000-2000	156-360	1000-2000

El contenido de potasio tuvo un valor extremadamente alto comparado con el rango de referencia. Esta concentración puede estar relacionada con una sobrefertilización previa realizada en ese suelo, o bien, a propiedades intrínsecas del mismo. Respecto al calcio se observó una concentración ligeramente por debajo del rango de referencia, esta deficiencia se podría ver reflejada en las plantas principalmente en la afectación de la estructura de las paredes celulares, así como en el desarrollo radicular y la resistencia al estrés. El contenido de magnesio se encontraba levemente por encima del rango óptimo, esto en combinación con un bajo nivel de calcio y un excesivo nivel de potasio y fósforo puede generar desequilibrios catiónicos considerables que afecten la eficiencia de absorción vegetal.

El nivel de nitrógeno se considera adecuado ya que se encuentra dentro del rango de referencia, sin embargo, se debe tener en consideración que este valor corresponde al nitrógeno total y no necesariamente estaría reflejando la fracción disponible para las plantas.

En conjunto, estos resultados indican que el suelo que se utilizó en este experimento presenta niveles adecuados en ciertos elementos, pero también existen desequilibrios importantes en otros nutrientes, lo cual podría afectar la respuesta de nuestro cultivo de lechuga a la fertilización y al

uso de inoculantes microbianos, por consiguiente, estos factores podrían haber influido en los resultados de los tratamientos evaluados en el experimento en macetas.

Experimento 4

Integración y supervivencia del consorcio bacteriano en un fertilizante órgano-mineral (40% composta, 40% zeolita, 20% roca fosfórica) inoculado con carga media

El conteo de colonias en el fertilizante órgano-mineral de este experimento N°4 mostró que la cantidad de UFC iniciales era 100 veces menor que las detectadas en el experimento N°3. Por otro lado, el conteo de las seis cepas en el inoculante de este cuarto experimento (Tabla 15) mostró diferencias en la supervivencia. Tal como en los anteriores experimentos, *Pseudomonas putida* KT2440 fue la cepa más estable manteniéndose alrededor de 10^5 y 10^6 UFC/g durante todo el periodo, lo que podría atribuirse a su versatilidad metabólica (Nelson et al., 2002), su capacidad de adaptación y su resistencia a las variaciones de la matriz. *Sphingomonas* sp. OF178 y *Azospirillum brasilense* Sp7 también conservaron poblaciones relativamente estables, aunque con fluctuaciones que podrían estar asociadas a cambios de humedad o competencia. Particularmente, *Azospirillum brasilense* ha demostrado un comportamiento similar en este y los anteriores experimentos, donde se observa un descenso en su población durante los primeros días, seguido de una recuperación en etapas posteriores. La mayoría de las especies de *Azospirillum* se han aislado del suelo y de la rizósfera, aunque, algunas otras especies se han aislado de cuerpos de agua, mezclas productoras de petróleo, alquitrán desechado, productos ganaderos fermentados, fermentadores y cuevas kársticas (Gureeva & Gureev, 2023) lo que refleja su amplia plasticidad ecológica y capacidad de sobrevivir en condiciones extremas.

Tabla 15. Seguimiento y monitoreo de UFC/g obtenidas a los días 3, 15, 27 y 38 posteriores a la elaboración del fertilizante inoculado. $\pm$ Desviación estándar.

	Día 3	Día 15	Día 27	Día 38
	[Log (UFC/g)]	[Log (UFC/g)]	[Log (UFC/g)]	[Log (UFC/g)]
KT2440	6.64 $\pm$ 0.09	5.46 $\pm$ 0.45	6.35 $\pm$ 0.1	5.87 $\pm$ 0.12
OF178	5.65 $\pm$ 0.14	5.47 $\pm$ 0.07	4.15 $\pm$ 3.6	5.87 $\pm$ 0.12
MS22	0	4.05 $\pm$ 0.31	4.54 $\pm$ 0.06	0
PAI^{5T}	4.2 $\pm$ 0.2	4.15 $\pm$ 0.15	4.54 $\pm$ 0.22	0
MTI-641^T	3.23 $\pm$ 2.8	4.35 $\pm$ 0.1	4.58 $\pm$ 0.13	3.9 $\pm$ 0.24
Sp7	4.69 $\pm$ 0	4.37 $\pm$ 0.33	2.46 $\pm$ 2.13	4.58 $\pm$ 0.17

Es posible que la cepa de *Bradyrhizobium* sp. MS22, al ser una cepa más sensible a las condiciones evaluadas, haya entrado en un estado VBNC transitorio y por ello no se haya podido detectar al día 3, o bien, se podría pensar que pasó por una etapa de adaptación más prolongada que el resto de las cepas, ya que esta bacteria suele crecer más lentamente en comparación con bacterias como *Pseudomonas* o *Sphigomonas*, lo que explicaría que no alcanzara el umbral de detección tras los primeros días pero sí después de dos semanas. Por su parte, *Paraburkholderia unamae* MTI-641^T en este cuarto experimento parece poseer una tolerancia intermedia en la formulación, ya que logró establecerse y multiplicarse, aunque con menor persistencia a largo plazo en comparación con el resto de las cepas, este comportamiento coincide con lo observado en el experimento previo y sugiere que, de haberse continuado el monitoreo de UFC, probablemente habría sido la siguiente cepa en dejar de ser detectable.

Evaluación del peso seco de las plantas crecidas en macetas con el fertilizante órgano-mineral (40% composta, 40% zeolita, 20% roca fosfórica) inoculado a dosis media (inoculante diluido 1:100)

Los valores de peso seco del follaje no mostraron diferencias significativas entre los cuatro tratamientos (Figura 16), esto indica que, bajo las condiciones evaluadas, ni el fertilizante órgano-mineral ni el inoculante microbiano, solos o en combinación, promovieron un incremento significativo en la biomasa aérea comparado con el sustrato solo.

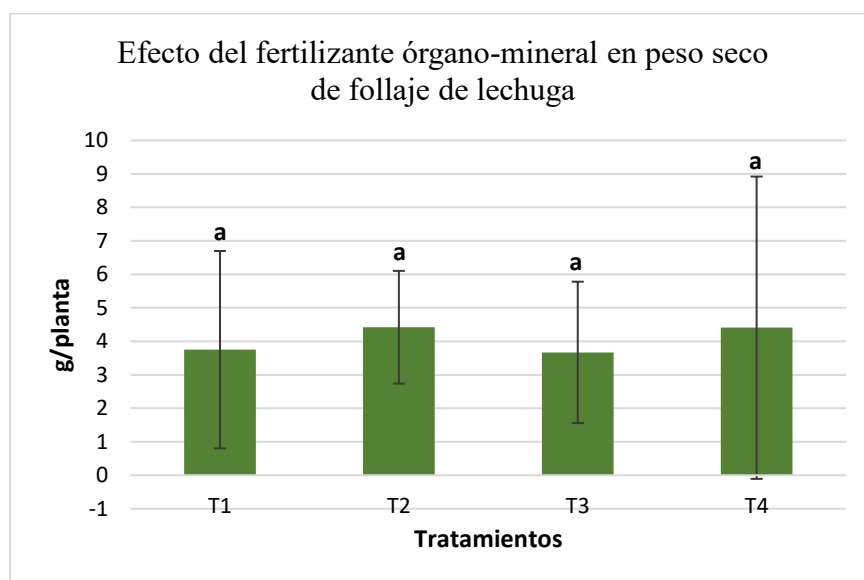


Figura 16. Promedio del peso seco de follaje por planta de lechuga (g) bajo cuatro tratamientos con diferentes fertilizaciones. T1: Sustrato sin fertilizar; T2: Sustrato + fertilizante órgano-mineral; T3: Sustrato + fertilizante órgano-mineral inoculado; T4: Sustrato + inoculante (sin fertilizante). Las barras indican la desviación estándar. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas, letras iguales indican que no hay diferencias estadísticamente significativas (t de Student $p < 0.05$).

No obstante, las elevadas desviaciones estándar reflejan una gran variabilidad en la respuesta de las plantas, particularmente en T4. Esta variabilidad pudo haber limitado la detección de diferencias estadísticas, sugiriendo que los efectos del fertilizante órgano-mineral y de los PGPB no son consistentes bajo las condiciones evaluadas. Dicho comportamiento podría estar

relacionado con factores intrínsecos al sistema experimental, como la heterogeneidad del sustrato, condiciones ambientales no controladas o incluso la carga y colonización de las PGPB aplicadas en el fertilizante órgano-mineral.

En contraste con los resultados más consistentes obtenidos en el experimento previo, en este cuarto ensayo no fue posible corroborar dichos hallazgos, lo cual podría explicarse por las diferencias marcadas entre ambos experimentos, por ejemplo, en este ensayo N° 4, se empleó lechuga variedad sangría mientras que en el experimento N° 3 lechuga variedad Toulumne. En el experimento N° 3, el sustrato fue suelo cernido con 0.2% N, 0.001906% de P y 0.81% de K, mientras que en este cuarto experimento se utilizó un sustrato “pobre” con 0.049% N, 0.000065% de P y 0% de K. Asimismo, es posible que la menor cantidad de UFC/g (10^6 - 10^3 UFC/g) de las bacterias en el fertilizante órgano-mineral, en comparación con el experimento previo (10^7 UFC/g), no haya sido suficiente para observar un efecto promotor de crecimiento vegetal.

De manera similar a lo observado en el follaje, los resultados de la parte radicular de las plantas no mostraron diferencias significativas (Figura 17), ninguno de los tratamientos aplicados promovió un mayor desarrollo que el testigo (T1).

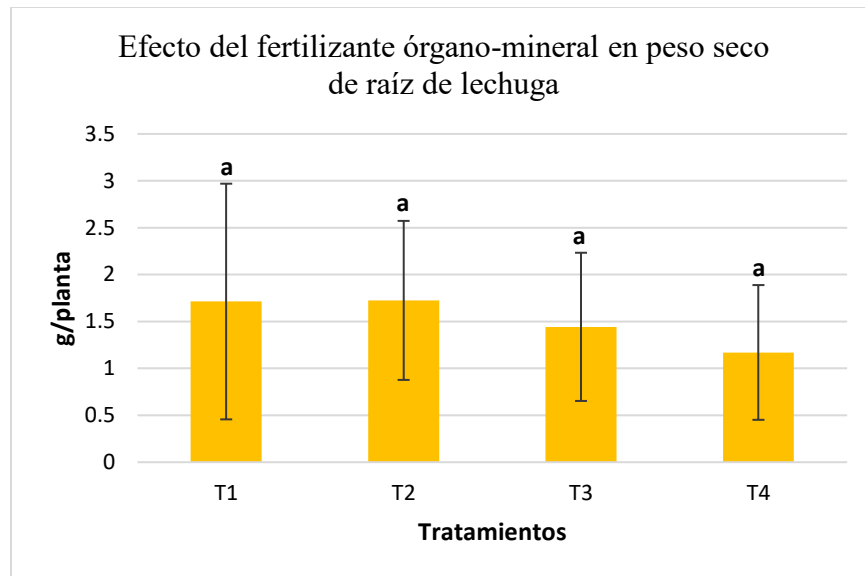


Figura 17. Promedio del peso seco de raíz por planta de lechuga (g) bajo cuatro tratamientos con diferentes fertilizaciones. T1: Suelo sin fertilizar; T2: Suelo + fertilizante órgano-mineral; T3: Suelo + fertilizante órgano-mineral inoculado; T4: Suelo + inoculante (sin fertilizante). Las barras indican la desviación estándar. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas, letras iguales indican que no hay diferencias estadísticamente significativas (t de Student $p < 0.05$).

Las barras de desviación estándar reflejan una elevada variabilidad entre tratamientos, esto indica que los efectos del fertilizante órgano-mineral y de la inoculación con PGPB no fueron consistentes bajo las condiciones de este experimento. Estos resultados refuerzan la necesidad de optimizar el diseño experimental para evaluar con mayor precisión el impacto de los tratamientos sobre el desarrollo de la lechuga. Un estudio con lechuga y tomate cultivados en sistemas hidropónicos mostró que la inoculación con *Azospirillum* tuvo un efecto limitado o nulo en la absorción de nutrientes y en el crecimiento de las plántulas, independientemente del tipo de fertilizante empleado (McClintic et al., 2024). Esto apunta que la efectividad de los PGPB puede depender fuertemente del entorno y del método de inoculación. El trabajo de Castaldi et al., (2025) evidenció que, aunque la inoculación con PGPB aceleró la germinación y mejoró la resistencia al estrés oxidativo, no potenció el crecimiento de la planta durante las primeras etapas del desarrollo.

Los resultados obtenidos del análisis nutrimental del follaje de las lechugas (Tabla 16) muestran que, a pesar de no haber obtenido un mayor peso seco para T3 en raíz y follaje, fue el tratamiento que presentó los valores más altos de macronutrientes N (0.945%), P (0.12425%) y K (4.5425%), además del Mg (0.3675%).

Tabla 16. Valores en porcentaje de N (Nitrógeno), P (Fósforo), K (Potasio), Ca (Calcio) y Mg (Magnesio) correspondientes al análisis del follaje de lechuga de los cuatro tratamientos. Superíndices diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (t de Student $p < 0.05$). *(S/F) = Sin fertilizar *(OMF) = Fertilizante órgano-mineral *(OMF I) = Fertilizante órgano-mineral inoculado *(I) = Inoculante

	T1	T2	T3	T4
	*(S/F)	*(OMF)	*(OMF I)	*(I)
N (%)	0.69 ^a	0.865 ^b	0.945 ^b	0.6725 ^a
P (%)	0.0785 ^a	0.11875 ^{ab}	0.12425 ^b	0.0885 ^{ab}
K (%)	3.3475 ^a	4.0825 ^{ab}	4.5425 ^b	3.36 ^a
Ca (%)	0.131 ^a	0.13475 ^a	0.14425 ^a	0.1225 ^a
Mg (%)	0.26 ^a	0.315 ^{ab}	0.3675 ^b	0.2575 ^a

Estos resultados indican que la combinación del fertilizante órgano-mineral con el inoculante favoreció la disponibilidad y absorción de macronutrientes en las plantas. Por otro lado, el T2 también mostró un incremento, aunque estadísticamente no significativo, en estos elementos respecto al control (T1), lo que confirma el efecto positivo del aporte de nutrientes del fertilizante órgano-mineral, aunque en menor magnitud que cuando se combinó con el inoculante.

En contraste, el T4 no presentó diferencias respecto al control (T1), lo que sugiere que la inoculación *per se*, sin una fuente adicional de nutrientes, no es suficiente para incrementar significativamente el contenido de N, P, K, Ca y Mg en el follaje de la lechuga.

El mayor contenido de macronutrientes en el T3 podría explicarse por la acción sinérgica del fertilizante órgano-mineral y las bacterias promotoras de crecimiento vegetal ya que, como se ha

mencionado a lo largo de este trabajo, es bien conocido que estas bacterias pueden fijar nitrógeno, solubilizar fósforo y producir fitohormonas, aumentando su disponibilidad y mejorando la absorción de nutrientes y la eficiencia metabólica (Fanai et al., 2024; Timofeeva et al., 2023). De este modo, aunque T3 no haya mejorado significativamente el peso seco de raíz o follaje sí favoreció una mayor concentración de nutrientes esenciales en los tejidos.

Conclusiones

El primer experimento mostró que una carga bacteriana media de INOCREP (dilución 1:100) fue adecuada para inocular el fertilizante órgano-mineral, el segundo experimento mostró que el sustituir el DAP por roca fosfórica en la formulación del fertilizante órgano-mineral resultó en mayores valores de supervivencia bacteriana. Cuando se utilizó la mezcla 40% composta, 40% zeolita y 20% roca fosfórica, se observó el mayor peso seco de las plantas de lechuga en comparación con las otras mezclas, destacando la importancia de la proporción de los componentes en la nutrición.

En el tercer experimento, se observó que la aplicación del fertilizante órgano-mineral inoculado con altos números de bacterias (10^7 UFC/g) favoreció el mayor peso seco de raíz y follaje de las lechugas en comparación con plantas no fertilizadas, aunque esta tendencia no se replicó en el cuarto experimento, probablemente debido al sustrato “pobre” en nutrimentos y la baja carga microbiana ($10^6 - 10^3$ UFC/g).

Una limitante importante de este trabajo fue que no se pudo controlar el utilizar la misma variedad de lechuga, la misma dosis de fertilización, la misma carga microbiana del inoculante, y los mismos tamaños de muestras, factores que limitaron la robustez de las comparaciones.

Los resultados sugieren que el fertilizante órgano-mineral inoculado puede mejorar tanto el crecimiento como la nutrición de la lechuga, pero su efecto positivo dependerá de encontrar la dosis adecuada para cada cultivo.

Perspectivas

A partir de las limitaciones encontradas y considerando los resultados alcanzados en este trabajo, se abren diversas perspectivas para investigaciones futuras. Particularmente, la variabilidad observada entre experimentos resalta la necesidad de estandarizar aspectos clave como el tamaño de muestra, el número de repeticiones, el manejo en la cosecha y las condiciones ambientales, a fin de reducir la heterogeneidad de los datos y obtener conclusiones más sólidas. De igual manera, ampliar la investigación hacia diferentes especies o variedades de hortalizas permitiría determinar la generalidad de los resultados y su potencial de transferencia al ámbito productivo. Finalmente, la implementación de ensayos a mayor escala y bajo condiciones de campo representaría un paso esencial para validar la efectividad de estas tecnologías y su viabilidad como alternativas sostenibles en la agricultura.

Referencias

- Aguilar-Benítez, G., Myrna Solís-Oba, M., Castro-Rivera, R., López-Gayou, V., Lara-Ávila, J. P., & Esteves-Luna, M. A. (2020). Efecto de bacterias PGPB, composta y digestato en el rendimiento de materia seca de pasto ovinillo. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 24, 118–127. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i24.2363>
- Ahmad, S., Imran, M., Hussain, S., Mahmood, S., Hussain, A., & Hasnain, M. (2017). Bacterial impregnation of mineral fertilizers improves yield and nutrient use efficiency of wheat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(11), 3685–3690. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8228>
- Albornoz, F., & Heinrich Lieth, J. (2015). Over fertilization limits lettuce productivity because of osmotic stress. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 75(3), 284–290. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392015000400003>
- Anušauskas, J., Steponavičius, D., Romaneckas, K., Lekavičienė, K., Zaleckas, E., & Sendžikienė, E. (2023). The Influence of Bacteria-Inoculated Mineral Fertilizer on the Productivity and Profitability of Spring Barley Cultivation. *Plants*, 12(6). <https://doi.org/10.3390/plants12061227>
- Baez-Rogelio, A., Morales-García, Y. E., Quintero-Hernández, V., & Muñoz-Rojas, J. (2017). Next generation of microbial inoculants for agriculture and bioremediation. *Microbial Biotechnology*, 10(1), 19–21. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12448>
- Bashan, Y., & de-Bashan, L. E. (2010). How the Plant Growth-Promoting Bacterium *Azospirillum* Promotes Plant Growth—A Critical Assessment. *Advances in Agronomy*, 108(C), 77–136. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(10\)08002-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(10)08002-8)
- Bashan, Y., de-Bashan, L. E., Prabhu, S. R., & Hernandez, J.-P. (2014). Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). *Plant and Soil*, 378, 1–33.
- Bhattacharyya, C., Banerjee, S., Acharya, U., Mitra, A., Mallick, I., Haldar, A., Haldar, S., Ghosh, A., & Ghosh, A. (2020). Evaluation of plant growth promotion properties and induction of antioxidative defense mechanism by tea rhizobacteria of Darjeeling, India. *Scientific Reports*, 10(1), 15536. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72439-z>

- BIOstrategy. (s.f.). *Organo-mineral fertilizers*. Retrieved September 13, 2025, from <https://www.biostrategy.ru/en/udobreniya/organo-mineral/>
- Boros, I. F., Székely, G., Balázs, L., Csambalik, L., & Sipos, L. (2023). Effects of LED lighting environments on lettuce (*Lactuca sativa* L.) in PFAL systems – A review. *Scientia Horticulturae*, 321, 112351. <https://doi.org/10.1016/J.SCIENTA.2023.112351>
- Bouhia, Y., Hafidi, M., Ouhdouch, Y., Boukhari, M. E. M. El, Mphatso, C., Zeroual, Y., & Lyamlouli, K. (2022). Conversion of waste into organo-mineral fertilizers: current technological trends and prospects. In *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* (Vol. 21, Issue 2, pp. 425–446). Springer Science and Business Media B.V. <https://doi.org/10.1007/s11157-022-09619-y>
- CANNA España. (2015, July). *Raíces y pelos radiculares*. <https://www.canna.es/articles/raices-y-pelos-radiculares>
- Castaldi, S., Lorenz, C., Vitale, E., Santorufo, L., Isticato, R., & Arena, C. (2025). Potentialities of Technosol-isolated PGPB consortium in promoting plant growth in lettuce seedlings. *Plant and Soil*, 507(1–2), 475–495. <https://doi.org/10.1007/s11104-024-06746-z>
- Cavalcante, V. A., & Dobereiner, J. (1988). A new acid-tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugarcane. *Plant and Soil*, 108, 23–31.
- Cherlinka, V. (2025, July 3). *Cultivo De Lechuga: Pasos De La Siembra A La Cosecha*. <https://eos.com/es/blog/cultivo-de-lechuga/>
- de Jesús-Ramos, A., Baez, A., Molina-Romero, D., Muñoz-Rojas, J., & Morales-García, Y. E. (2020, August). Potenciación del crecimiento de cacahuate criollo Huaquechula por bacterias rizosféricas aplicadas de forma individual o en consorcio. *Alianzas y Tendencias BUAP*, 20–40.
- Deeks, L. K., Chaney, K., Murray, C., Sakrabani, R., Gedara, S., Le, M. S., Tyrrel, S., Pawlett, M., Read, R., & Smith, G. H. (2013). A new sludge-derived organo-mineral fertilizer gives similar crop yields as conventional fertilizers. *Agronomy for Sustainable Development*, 33(3), 539–549. <https://doi.org/10.1007/s13593-013-0135-z>

- Díaz Lezcano, M. I., Fiori Fernandez, C., Ayala Aguilera, L., Yubero, F., Martinez, R., & López, M. (2020). Actividad de fosfatasa-alcalina y crecimiento del arroz con inoculación biológica y micronutrientes. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(3), 481–492. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i3.1873>
- Fageria, N. K., & Baligar, V. C. (2005). NUTRIENT AVAILABILITY. *Encyclopedia of Soils in the Environment*, 4, 63–71. <https://doi.org/10.1016/B0-12-348530-4/00236-8>
- Fanai, A., Bohia, B., Lalremruati, F., Lalhriatpuii, N., Lalrokimi, Lalmuanpuii, R., Singh, P. K., & Zothanpuia. (2024). Plant growth promoting bacteria (PGPB)-induced plant adaptations to stresses: an updated review. *PeerJ*, 12, e17882. <https://doi.org/10.7717/peerj.17882>
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2015). *Healthy soils are the basis for healthy food production*. <https://www.fao.org/3/i4405e/i4405e.pdf>
- Graetz, H. A. (2020). *Suelos y fertilización* (F. R. (Colab) Kirchner Salinas, E. (Colab) López González, & F. (Trad. y rev.) Orozco Luna, Eds.; 4a edición). Trillas.
- Gureeva, M. V., & Gureev, A. P. (2023). Molecular Mechanisms Determining the Role of Bacteria from the Genus *Azospirillum* in Plant Adaptation to Damaging Environmental Factors. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(11), 9122. <https://doi.org/10.3390/IJMS24119122>
- Hernández-Tenorio, A. L. (2014). *Viabilidad de bacterias de un inoculante multi-especies y su efecto a corto plazo, en el crecimiento de Solanum tuberosum cv. Atlantic*. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Hong, J., Xu, F., Chen, G., Huang, X., Wang, S., Du, L., & Ding, G. (2022). Evaluation of the Effects of Nitrogen, Phosphorus, and Potassium Applications on the Growth, Yield, and Quality of Lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Agronomy*, 12(10), 2477. <https://doi.org/10.3390/agronomy12102477>
- Intagri. (2023). *Guía de Fertilizantes Nitrogenados para Cultivos*. <https://www.intagri.com/articulos/nutricion-vegetal/guia-de-fertilizantes-nitrogenados-para-cultivos>

- International Plant Nutrition Institute. (2016). *Fuentes de nutrientes específicos. Fosfato diamónico. 17*. [http://www.ipni.net/publication/nss-es.nsf/0/3D71CA0246B0EA8E85257BBA0059CD97/\\$FILE/NSS-ES-17.pdf](http://www.ipni.net/publication/nss-es.nsf/0/3D71CA0246B0EA8E85257BBA0059CD97/$FILE/NSS-ES-17.pdf)
- Juárez-Hernández, D. (2013). *Evaluación de la capacidad de un inoculante multiespecies para estimular el crecimiento de frijol*. [Tesis de Licenciatura]. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- KILINÇ ARSLAN, H. H. (2019). *Granular microbial organo-mineral fertilizer* (Patent WO 2019/066745 A2). World Intellectual Property Organization.
- Lambrecht, M., Okon, Y., Vande Broek, A., & Vanderleyden, J. (2000). Indole-3-acetic acid: a reciprocal signalling molecule in bacteria–plant interactions. *Trends in Microbiology*, 8(7), 298–300. [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(00\)01732-7](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(00)01732-7)
- Lawrencia, D., Wong, S. K., Low, D. Y. S., Goh, B. H., Goh, J. K., Ruktanonchai, U. R., Soottitantawat, A., Lee, L. H., & Tang, S. Y. (2021). Controlled release fertilizers: A review on coating materials and mechanism of release. In *Plants* (Vol. 10, Issue 2, pp. 1–26). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/plants10020238>
- Lugtenberg, B., & Kamilova, F. (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*, 63, 541–556. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.62.081307.162918>
- Malusá, E., Sas-Paszt, L., & Ciesielska, J. (2012). Technologies for Beneficial Microorganisms Inocula Used as Biofertilizers. *The Scientific World Journal*, 2012, 1–12. <https://doi.org/10.1100/2012/491206>
- McClintic, N., Chen, Z., & Park, Y. (2024). Evaluating Organic Fertilizers and Microbial Inoculation for Soilless and Hydroponic Crop Production. *HortScience*, 59(4), 552–560. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI17727-24>
- Molina-Romero, D., Juárez-Sánchez, S., Venegas, B., Ortiz-González, C. S., Baez, A., Morales-García, Y. E., & Muñoz-Rojas, J. (2021). A Bacterial Consortium Interacts With Different Varieties of Maize, Promotes the Plant Growth, and Reduces the Application of Chemical Fertilizer Under Field Conditions. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.616757>

- Morales-García, Y. E. (2013). *Antagonismo entre bacterias de interés agrícola y evaluación de inoculantes*. [Tesis de doctorado.]. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Morales-García, Y. E., Sánchez-Navarrete, E. T., Romero-Navarro, E., & Rivera-Urbalejo, A. P. (2022). INOCREP: inoculante de segunda generación. *Inoculación y Uso de Extractos Naturales, Una Alternativa Agroecológica Para La Prevención de Plagas y Enfermedades En El Cultivo de Maíz En Puebla.*, 51–60.
- Muñoz-Rojas, J., Morales-García, Y. E., Baez-Rogelio, A., Quintero Hernández, V., Rivera-Urbalejo, A. P., & Pérez y Terrón, R. (2016). Métodos económicos para la cuantificación de microorganismos. In *Instituciones de Educación Superior. La labor investigadora e innovadora en México*. (1st ed., pp. 67–82). Science Associated Editors, L.L.C.
- Nelson, K. E., Weinel, C., Paulsen, I. T., Dodson, R. J., Hilbert, H., Martins dos Santos, V. A. P., Fouts, D. E., Gill, S. R., Pop, M., Holmes, M., Brinkac, L., Beanan, M., DeBoy, R. T., Daugherty, S., Kolonay, J., Madupu, R., Nelson, W., White, O., Peterson, J., ... Fraser, C. M. (2002). Complete genome sequence and comparative analysis of the metabolically versatile *Pseudomonas putida* KT2440. *Environmental Microbiology*, 4(12), 799–808. <https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2002.00366.x>
- Open-Meteo. (2025). *Historical weather API*. Open-Meteo. <https://open-meteo.com/>
- Organia Fertilizantes. (s.f.). *Home*. Retrieved September 13, 2025, from <https://organiafertilizantes.es/es/>
- Pahalvi, H. N., Rafiya, L., Rashid, S., Nisar, B., & Kamili, A. N. (2021). Chemical fertilizers and their impact on soil health. In *Microbiota and Biofertilizers, Vol 2: Ecofriendly Tools for Reclamation of Degraded Soil Environs* (pp. 1–20). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-61010-4_1
- Pardo Díaz, S., Mazo Molina, D. C., & Rojas Tapias, D. F. (2021). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal: filogenia, microbioma, y perspectivas. In R. Bonilla Buitrago, L. E. González de Bashan, & R. Osvaldo Pedraza (Eds.), *Bacterias promotoras de crecimiento vegetal en Sistemas de Agricultura Sostenible* (Primera Edición, pp. 48–76). Agrosavia Editorial.

- Pazos-Rojas, L. A., Cuellar-Sánchez, A., Romero-Cerón, A. L., Rivera-Urbalejo, A., Van Dillewijn, P., Luna-Vital, D. A., Muñoz-Rojas, J., Morales-García, Y. E., & Bustillos-Cristales, M. del R. (2023). The Viable but Non-Culturable (VBNC) State, a Poorly Explored Aspect of Beneficial Bacteria. *Microorganisms*, 12(1), 39. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12010039>
- Poorter, H., Niklas, K. J., Reich, P. B., Oleksyn, J., Poot, P., & Mommer, L. (2012). Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental control. *New Phytologist*, 193(1), 30–50. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03952.x>
- Ramesh, K., & Reddy, D. D. (2011). Zeolites and Their Potential Uses in Agriculture. *Advances in Agronomy*, 113, 219–241. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386473-4.00004-X>
- Restrepo, G. M., Rincón, A., & Sánchez, Ó. J. (2023). Kinetic Analysis of *Gluconacetobacter diazotrophicus* Cultivated on a Bench Scale: Modeling the Effect of pH and Design of a Sucrose-Based Medium. *Fermentation*, 9(8), 705. <https://doi.org/10.3390/fermentation9080705>
- Rivera-Urbalejo, A. P., Juárez-Hernández, D., Hernández-Tenorio, A. L., & Morales-García, Y. E. (2019). Aplicaciones potenciales de *Gluconacetobacter diazotrophicus* para incrementar los rendimientos agrícolas. *Alianzas y Tendencias BUAP (AyTBUAP)*, 4, 32–44.
- Sakrabani, R. (2024). Opportunities and challenges organo-mineral fertiliser can play in enabling food security. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 8. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2024.1296351>
- Santiago-Saenz, Y. (2014). *Efecto de un inoculante multiespecies (EMMIM-1) en papa Solanum tuberosum, cv. Atlantic, propagada en laboratorio y crecida en invernadero*. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2023, April 15). *Fresca como la lechuga*. <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/fresca-como-la-lechuga>
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2002). *NOM-021-RECNAT-2000* (Issue 31 de diciembre de 2002). Diario Oficial de la Federación. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=717582&fecha=31/12/2002

- Sembralía. (2021). *¿Cómo se clasifican los Fertilizantes Minerales? Claves que debes conocer para elegir el correcto*. <https://sembralía.com/blogs/blog/fertilizantes-minerales>
- Sharma, A., Shukla, S., & Kumar, S. (2022). Application of cyanobacteria in soil health and rhizospheric engineering. In *Rhizosphere Engineering* (pp. 113–127). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89973-4.00024-7>
- Shen, J., Yuan, L., Zhang, J., Li, H., Bai, Z., Chen, X., Zhang, W., & Zhang, F. (2011). Phosphorus Dynamics: From Soil to Plant. *Plant Physiology*, 156(3), 997–1005. <https://doi.org/10.1104/pp.111.175232>
- Singh, B., & Ryan, J. (2015). *Managing Fertilizers to Enhance Soil Health*. www.fertilizer.org/Library
- Temprano, F., Albareda, M., Camacho, M., Daza, A., Santamaría, C., & Rodríguez-Navarro, N. D. (2002). Survival of several Rhizobium/Bradyrhizobium strains on different inoculant formulations and inoculated seeds. *International Microbiology*, 5(2), 81–86. <https://doi.org/10.1007/s10123-002-0067-y>
- Terraplant Fertilizantes. (s.f.). *Home*. Retrieved September 13, 2025, from <https://www.terraplant.com.br/site/es/>
- Time and Date AS. (2025). *Sunrise and sunset times for Puebla, México*. Time and Date. <https://www.timeanddate.com/sun/>
- Timofeeva, A. M., Galyamova, M. R., & Sedykh, S. E. (2023). Plant Growth-Promoting Soil Bacteria: Nitrogen Fixation, Phosphate Solubilization, Siderophore Production, and Other Biological Activities. *Plants*, 12(24), 4074. <https://doi.org/10.3390/plants12244074>
- Uddin, M. K., Saha, B. K., Wong, V. N. L., & Patti, A. F. (2025). Organo-mineral fertilizer to sustain soil health and crop yield for reducing environmental impact: A comprehensive review. *European Journal of Agronomy*, 162, 127433. <https://doi.org/10.1016/J.EJA.2024.127433>
- Valenzuela, E. F., Barrera, S. P., & Pinochet, D. T. (2002). *SOLUBILIZACION DE ROCA FOSFORICA CAROLINA DEL NORTE CON CEPAS DE Aspergillus niger AISLADAS DESDE UN SUELO TRUMAO (Solubilization of North Caroline*

phosphoric rock with strains of Aspergillus niger isolated from trumao soil) (Vol. 17).

Welch, R. M., & Graham, R. D. (2012). *Perspectives on Enhancing the Nutritional Quality of Food Crops with Trace Elements: Vol. Volume 1* (T. W. Bruulsema, P. Heffer, R. M. Welch, I. Cakmak, & K. Moran, Eds.; First edition).