



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO



# **ADSORCIÓN DE MICROORGANISMOS EN CARBÓN ACTIVADO Y SU APLICACIÓN COMO BIOFERTILIZANTE EN LA PRODUCCIÓN DE TOMATE**

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA QUÍMICA**

PRESENTA:

**RODRÍGUEZ BEATRÍZ**

DIRECTORES DE TESIS:

**DR. RAUL OCAMPO PÉREZ  
DR. PABLO DELGADO SÁNCHEZ**

SAN LUIS POTOSÍ, S.L.P. JULIO DEL 2023

El programa de Maestría de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí pertenece al programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACyT, registro 00896, en el Nivel Consolidado Curriculum Vitae Único de la beca otorgada por CONACyT: 1177171

## Licencia Creative Commons



Adsorción de microorganismos en carbón activado y su aplicación como biofertilizante en la producción de tomate por Rodríguez Beatriz se distribuye bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional.

## Reporte de Similitud

 **Informe de Originalidad Turnitin**

Tesis de Maestría UASLP por Beatriz Rodríguez

Desde Tesis (Licenciatura 2)

Procesado el 26-jun.-2023 2:46 p. m.  
CST  
Identificador: 2123110993  
Número de palabras: 27844

Índice de similitud	Similitud según fuente
<b>19%</b>	Internet Sources: 18% Publicaciones: 6% Trabajos del estudiante: 9%



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO



**ADSORCIÓN DE MICROORGANISMOS EN CARBÓN  
ACTIVADO Y SU APLICACIÓN COMO  
BIOFERTILIZANTE EN LA PRODUCCIÓN DE TOMATE**

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA QUÍMICA**

PRESENTA:

**RODRÍGUEZ BEATRÍZ**

DIRECTORES DE TESIS:

**DR. RAUL OCAMPO PÉREZ  
DR. PABLO DELGADO SÁNCHEZ**

**SINODALES**

**Dr. Raúl Ocampo Pérez  
Presidente**

\_\_\_\_\_  
**Firma**

**Dr. Pablo Delgado Sánchez  
Presidente**

\_\_\_\_\_  
**Firma**

**Dra. Erika Padilla Ortega  
Vocal**

\_\_\_\_\_  
**Firma**

**Dra. María de la Luz Guerrero González  
Vocal**

\_\_\_\_\_  
**Firma**

San Luis Potosí, S.L.P, México  
Julio, 2023

**Comité Académico del Posgrado en Ciencias en Ingeniería Química**  
**Facultad de Ciencias Químicas**  
**Presente.-**

Por medio de la presente comunicamos que la Tesis llevada a cabo por el alumno de Maestría I.Q. Beatriz Rodríguez, titulada **ADSORCIÓN DE MICROORGANISMOS EN CARBÓN ACTIVADO Y SU APLICACIÓN COMO BIOFERTILIZANTE EN LA PRODUCCIÓN DE TOMATE** ha sido concluida y aprobada por el comité tutorial para iniciar los trámites correspondientes para su titulación, la cual tendrá lugar el próximo día 03 de Julio del 2023 a las 17:00 horas en el auditorio de la facultad.

**Dr. Raúl Ocampo Pérez**  
Presidente Facultad de Ciencias Químicas/UASLP

\_\_\_\_\_  
Firma

**Dr. Pablo Delgado Sánchez**  
Presidente Facultad de Agronomía y Veterinaria/UASLP

\_\_\_\_\_  
Firma

**Dra. Erika Padilla Ortega**  
Miembro Facultad de Ciencias Químicas/UASLP

\_\_\_\_\_  
Firma

**Dra. María de la Luz Guerrero González**  
Miembro Facultad de Agronomía y Veterinaria/UASLP

\_\_\_\_\_  
Firma

*Dedicado a mis padres, José de Jesús Rodríguez y Beatriz Elías, a quienes son mi apoyo incondicional, mi amor más grande y siempre mi mayor ejemplo.  
Gracias, gracias, gracias.  
Gracias infinitas.*

## AGRADECIMIENTOS

Empiezo por agradecer a dos pilares fundamentales en mi vida, mis padres; José de Jesús Rodríguez y Beatriz Elías. Quienes siempre me apoyan, me guían, me impulsan a emprender y superarme en cualquier aspecto de mi vida. Gracias por que sin ustedes no estaría concluyendo esta etapa en mi vida académica.

Rodrigo Cuello quién se ha convertido en mi compañero de sueños, metas y logros, quién siempre tiene palabras y actos de apoyo en cada área de mi vida. Gracias por creer en mí y por siempre estar.

Dr. Raúl Ocampo una guía en mi trayectoria académica desde la licenciatura y ahora en esta etapa de maestría concluida, gracias por compartir su conocimiento conmigo. Por creer en mí y resaltar mis capacidades, también por abrirme las puertas de su grupo de investigación.

Dr. Pablo Delgado una pieza fundamental en esta nueva área de conocimiento, gracias por su apoyo, sus palabras motivadoras y todo su conocimiento. Gracias por abrirme las puertas de su Laboratorio en Biotecnología, fue un lugar que desde que llegué se sentía como casa.

A mis grandes amigos que este proceso de investigación y crecimiento dejó en mi vida, M.C.I.Q Héctor Salas, M.C.I.Q Erick Oyarvide y M.C.A Ilian Martínez; gracias por compartir su conocimiento y su paciencia, pero sobre todo gracias por su apoyo y ahora poderlos llamar amigos.

A cada una de mis amigas, quienes forman parte de mi trayectoria desde hace muchos años, por estar siempre presente apoyando y celebrando mis sueños; muchas gracias. Que sigamos muchos años coincidiendo y compartiendo nuestros logros.

Gracias.

Gracias.

Gracias.

## **AGRADECIMIENTOS POR APOYO TÉCNICO**

En este proyecto hubo muchos talentos involucrados directa o indirectamente, por su tiempo, conocimiento y apoyo técnico les agradezco siempre.

Dra. Erika Padilla gracias por abrirme las puertas de su laboratorio y recibirme en su grupo de investigación, gracias a todos los alumnos de maestría y doctorado que conforman el grupo ya que de todos aprendí algo.

Dra. Luz Guerrero gracias por su conocimiento, tiempo y apoyo dentro de su Laboratorio de Biotecnología. A todos los alumnos que conforman el gran equipo, gracias por su ayuda en todo momento. Gracias a Martita por su tiempo y sus palabras.

A Gladis Labrada y al Laboratorio Nacional de Investigaciones en Nanociencias y Nanotecnología (LINAN), IPICYT, agradezco por facilitar el uso de sus instalaciones y el apoyo en la caracterización de Microscopio Electrónico de Barrido.

Dra. Angélica Aguilar gracias por el conocimiento, tiempo y capacitación durante mi estancia, por su apoyo en los estudios de caracterización de espectroscopia de Infrarrojo y durante esta etapa académica.

## **AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ  
(UASLP)  
Facultad de Ciencias Químicas  
Centro de Investigación y Estudios de Posgrado  
Facultad de Agronomía y Veterinaria

CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA  
(CONACyT)  
Beca No. 1177171

CONVOCATORIA DE APOYOS COMPLEMENTARIOS  
OEA-CONACyT  
Beca No. 820619

## RESUMEN

La seguridad alimentaria y la disponibilidad de fertilizantes químicos han planteado desafíos importantes, especialmente debido al aumento desproporcionado de precios. Esto ha abierto una valiosa oportunidad de investigación en el campo de la agroindustria. En esta tesis, se investigó el desarrollo de un biofertilizante utilizando tecnología de adsorción basada en carbón activado granular y un microorganismo conocido como *Trichoderma harzianum*, el cual es un hongo beneficioso perteneciente al género *Trichoderma*. Sus metabolitos ayudan a la promoción del crecimiento de la planta, la absorción y la eficiencia de uso de macronutrientes y micronutrientes presentes, también provee una protección a la planta frente a enfermedades; esto lo convierte en un fungi interesante para la aplicación en la agricultura. Para este estudio se desarrollaron cinco potenciales biofertilizantes, variando la concentración de suspensión de esporas de *Trichoderma harzianum*, con el objetivo de aplicarlos durante las etapas iniciales de crecimiento del tomate durante 45 días. Los tratamientos se caracterizaron química y morfológicamente para evaluar la presencia y viabilidad del microorganismo. Luego, se aplicaron diferentes dosis de los tratamientos en charolas de germinación (0g,0,1g,0.3g,0.5g,0.7 y 1g) en un total de 750 semillas de tomate tipo “Roma”. Al final del crecimiento inicial de 45 días se midieron parámetros morfológicos relevantes, como la altura de la planta, el diámetro del tallo y el peso de la raíz; para después analizarlos estadísticamente por el método de ANOVA de dos factores aplicando las normas del método Duncan. Los resultados demostraron que se puede aplicar una dosis baja de suspensión de esporas de *Trichoderma harzianum* y presentar una mejora significativa en los parámetros como diámetro de tallo, ancho de hoja, peso fresco y peso seco. También si se tiene interés único de mejorar la altura de la planta se presenta la concentración de biofertilizante ideal.

**Palabras Clave:** carbón activado granular, *Trichoderma harzianum*, biofertilizante, crecimiento de tomate, promotor de crecimiento de planta.

## ABSTRACT

Food security and the availability of chemical fertilizers have posed significant challenges, especially due to disproportionate price increases. This has opened up a valuable research opportunity in the field of agribusiness. In this thesis, the development of a biofertilizer using adsorption technology based on granular activated carbon and a microorganism known as *Trichoderma harzianum*, which is a beneficial fungus belonging to the genus *Trichoderma*, was investigated. Its metabolites help in the promotion of plant growth, absorption and efficiency of use of macronutrients and micronutrients present, it also provides protection to the plant against diseases; this makes it an interesting fungus for application in agriculture. For this study, five potential biofertilizers were developed, varying the concentration of *Trichoderma harzianum* spore suspension, with the objective of applying them during the initial stages of tomato growth for 45 days. The treatments were characterized chemically and morphologically to evaluate the presence and viability of the microorganism. Then, different doses of the treatments were applied in germination trays (0g, 0.1g, 0.3g, 0.5g, 0.7 and 1g) on a total of 750 Roma tomato seeds. At the end of the initial growth period of 45 days, relevant morphological parameters were measured, such as plant height, stem diameter and root weight, and then analyzed statistically by the two-factor ANOVA method using the Duncan method. The results showed that a low dose of *Trichoderma harzianum* spore suspension can be applied and present a significant improvement in parameters such as stem diameter, leaf width, fresh weight and dry weight. Furthermore, if there's a unique interest in improving plant height, the ideal concentration of biofertilizer is presented.

**Key Words:** granular activated carbon, *Trichoderma harzianum*, biofertilizer, tomato growth, promotion plant growth.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>RESUMEN</b> .....	<b>9</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>10</b>
<b>CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>15</b>
<b>CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>17</b>
<b>2.1 Precedentes</b> .....	<b>17</b>
<b>2.2 Impacto de la Agricultura en México</b> .....	<b>18</b>
<b>2.3 Tomate</b> .....	<b>19</b>
2.3.1 Origen .....	19
2.3.2 Importancia Económica.....	19
<b>2.4 Fertilizante</b> .....	<b>20</b>
2.4.1 Desventajas del Uso de Fertilizantes .....	21
<b>2.5 Biofertilizante</b> .....	<b>22</b>
<b>2.6 Trichoderma</b> .....	<b>23</b>
<b>2.8 Carbón Activado</b> .....	<b>26</b>
<b>2.9 Antecedentes</b> .....	<b>27</b>
<b>CAPÍTULO 3. JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>30</b>
<b>CAPÍTULO 4. HIPÓTESIS</b> .....	<b>32</b>
<b>CAPÍTULO 5. OBJETIVO GENERAL</b> .....	<b>33</b>
<b>CAPÍTULO 6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	<b>34</b>

<b>CAPITULO 7. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL .....</b>	<b>35</b>
<b>7.1 Características de Carbón Activado.....</b>	<b>35</b>
<b>7.2 <i>Trichoderma</i>.....</b>	<b>35</b>
7.2.1 Identificación de <i>Trichoderma</i> .....	36
7.2.2 Generalidades de <i>Trichoderma harzianum</i> .....	36
<b>7.3 Reproducción de <i>Trichoderma harzianum</i>.....</b>	<b>37</b>
7.3.1 Medio de Cultivo.....	37
7.3.2 Inoculación de Medio de Cultivo .....	38
<b>7.4 Método de Identificación y Cuantificación de <i>Trichoderma harzianum</i>.....</b>	<b>39</b>
7.4.1 Tinción de Azul de Metileno .....	39
7.4.2 Cámara de Neubauer .....	39
<b>7.5 Reproducción de <i>Trichoderma harzianum</i>.....</b>	<b>41</b>
7.5.1 Cinética de <i>Trichoderma harzianum</i> .....	41
7.5.2 Lixiviación de Cajas Inoculadas con <i>Trichoderma harzianum</i> .....	42
<b>7.6 Incorporación de <i>Trichoderma harzianum</i> sobre Carbón Activado .....</b>	<b>43</b>
7.6.1 Ensayo de Capacidad de Campo .....	43
7.6.2 Metodología de Inoculación al Soporte.....	43
7.6.3 Secado de Carbón Activado.....	44
<b>7.7 Caracterización Físicoquímica del Soporte.....</b>	<b>44</b>
7.7.1 Análisis Termogravimétrico .....	44
7.7.2 Espectrofotómetro Infrarrojo .....	45
7.7.3 Microscopio Electrónico de Barrido .....	46

<b>7.8 Aplicación del Biofertilizante.....</b>	<b>47</b>
7.8.1 Protocolo de Siembra .....	47
7.8.2 Diseño de Plántulas de Tomate .....	47
7.8.3 Condiciones de Siembra .....	48
7.8.4 Medición de Parámetros Morfológicos en las Plantas de Tomate .....	48
<b>7.9 Análisis Estadístico.....</b>	<b>50</b>
7.9.1 Análisis de varianza (ANOVA) .....	51
7.9.2 Método de Duncan .....	51
<b>7.10 Confrontaciones .....</b>	<b>52</b>
<b><i>CAPÍTULO 8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</i></b>	<i>Error! Bookmark not defined.</i>
<b>8.1 Reproducción de <i>Trichoderma harzianum</i>.....</b>	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
8.1.1 Inoculación Medio de Cultivo.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<b>8.2 Método de Identificación y Cuantificación.....</b>	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
8.2.1 Tinción de Azul de Metileno .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
8.2.2 Cámara de Neubauer .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<b>8.3 Reproducción de <i>Trichoderma harzianum</i>.....</b>	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
8.3.1 Cinética de <i>Trichoderma harzianum</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<b>8.4 Incorporación de <i>Trichoderma harzianum</i> sobre Carbón Activado .....</b>	<b>Error!</b>
Bookmark not defined.	
8.4.1 Ensayo de Capacidad de Campo .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
8.4.2 Concentración de Inoculación al Soporte .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
8.4.3 Crecimiento Radial con Soporte Inoculado .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

<b>8.5 Caracterización Físicoquímica del Soporte.....</b>	Error! Bookmark not defined.
8.5.1 Análisis Termogravimétrico .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
8.5.2 Espectrofotómetro Infrarrojo .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
8.5.3 Imágenes de Microscopio Electrónico de Barrido .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<b>8.6 Aplicación del Biofertilizante.....</b>	Error! Bookmark not defined.
8.6.1 Medición de Parámetros Morfológicos en las Plantas de Tomate .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<b>8.7 Análisis Estadístico.....</b>	Error! Bookmark not defined.
8.7.1 Discusión del Análisis Estadístico de los Parámetros Morfológicos representado en Gráficos.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
8.7.2 Representación Visual de los Resultados Estadísticos .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<b>8.8 Confrontaciones .....</b>	Error! Bookmark not defined.
<b><i>CAPÍTULO 9. CONCLUSIONES .....</i></b>	<b>53</b>
<b><i>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</i></b>	<b>55</b>
<b><i>ANEXO 1 .....</i></b>	<b>62</b>

## **CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN**

La agricultura es una de las actividades principales para el desarrollo económico de un país, la importancia de la agricultura es fundamental ya que países enteros dependen de la producción e importación de productos agrícolas. En los últimos años la población mundial sufrió una crisis sanitaria conocida como el COVID-19, la pandemia generó una gran incertidumbre en temas de la agroindustria; en específico la seguridad alimentaria de países enteros esto en relación a la paralización de producción agrícola y la limitación a insumos con una gran demanda, generando una inflación económica. Asimismo, otro impacto económico que presenta la guerra entre Ucrania y Rusia es la inflación ocasionada por el costo de los fertilizantes que exporta Rusia, que afecta también a la economía mundial en el mediano y el largo plazo (Benavides, R. D. P. C. ,2022).

Con estos hechos históricos que cambiaron drásticamente las actividades agroindustriales, se crea un campo de infinitas posibilidades para brindar soluciones inmediatas a la problemática de alza de precios en fertilizantes, también para ayudar a estabilizar la seguridad alimentaria. Con este nicho de oportunidades nace la idea de desarrollar un producto innovador para el sector de la agroindustria, cumpliendo con parámetros de mejora, remediación del suelo, con un precio accesible y lo más importante beneficios que se vean reflejados directamente en la producción de la siembra para asegurar la demanda de los productos agrícolas.

En este trabajo se presenta el uso del carbón activado, el cual es conocido como el adsorbente universal esto es por sus capacidades de adsorción de diversos materiales, por ejemplo, fármacos, bacterias, hongos y residuos químicos.

Esto presenta un área de oportunidad e innovación dentro del sector de la agroindustria, ya que el uso del carbón activado sería una alternativa como uso de soporte para el desarrollo de un biofertilizante, esto supliendo la problemática que presenta el uso actual de fertilizantes químicos relacionado a precios, de igual forma una alternativa para asegurar la producción alimentaria de productos con demanda.

En la formulación de un biofertilizante es imperdible la presencia de microorganismos benéficos ya sea un hongo o una bacteria, la existencia de ellos aumentan la disponibilidad de nutrientes para las plantas, esto se ve reflejado en una mejora de su desempeño en crecimiento y fortalecimiento. Un biofertilizante presenta ventajas importantes como lo son un costo menor en producción, un aumento en fertilidad y viabilidad de las plantas también presenta un aumento en la biodiversidad del suelo y con esto se reduce considerablemente el impacto ambiental.

Por lo anterior, en este trabajo, nació la idea de desarrollar un biofertilizante utilizando el carbón activado por sus capacidades de adsorción como el soporte para la adsorción de un microorganismo. En este trabajo se seleccionó como microorganismo un hongo, conocido como *Trichoderma*, el cual es un excelente promotor del crecimiento de las plantas, por ejemplo, en el aumento de la biomasa de raíces, como también un aumento en la absorción de nutrientes disponibles (Stewart, A., & Hill, R., 2014). Para finalizar este trabajo, se caracterizó química y morfológicamente el biofertilizante para aplicarlo en una siembra nivel laboratorio de plántulas de tomate; de esta forma se concluiría analizando los beneficios que

presento la aplicación de el biofertilizante en diferentes concentraciones y dosis en parámetros de la plántula que no dependan de la genética de esta misma.

## **CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO**

### **2.1 Precedentes**

El mundo ha sufrido hechos históricos drásticos que han cambiado la cotidianidad a la cual se estaba acostumbrado, este se ha enfrentado a una contingencia sanitaria por el Covid-19 en donde todo se paralizó gradualmente y se han ido evaluando alternativas para regresar a la normalidad paulatinamente. También la población mundial ha sido afectada por problemas bélicos entre Rusia y Ucrania. Este marco de hechos históricos afectó seriamente la economía de muchos países en desarrollo, paralizando industrias en su totalidad y abriendo campo a nuevos ingresos económicos para evitar una inflación económica. Una de las principales actividades económicas afectadas por ambos hechos fue la agricultura, ya que en algunos países existe una gran demanda de alimentos, reflejados por las necesidades de la población, que combinada con la limitación de suministros, debido a las interrupciones en las cadenas de producción agrícola debido a la pandemia se podría generar una crisis sin precedentes (Luque Zúñiga, B. G., Moreno Salazar Calderón, K. A. B., & Lanchipa Ale, T. M. (2021)).

Por otro lado, tomando en cuenta que Rusia es el principal productor de fertilizantes nitrogenados, la agricultura se vio afectada de manera drástica por el incremento desmedido de los fertilizantes químicos ya que el precio aumento en un 300%, el uso de fertilizante se redujo de un 30-50% debido a sus altos precios. (Hernández, E. (2022)).

## **2.2 Impacto de la Agricultura en México**

Una de las actividades primarias la cual ha ido evolucionando con el paso de los años gracias a la necesidades y demandas universales, es la agricultura. La agricultura es un gran motor el cual representa un ingreso económico, según la SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, 2018) esta actividad representa un 70% dentro del sector primario de México. Es importante saber que México cuenta con 32.4 millones de hectáreas destinadas a la cosecha, de acuerdo con la Encuesta Nacional Agropecuaria (ENA, 2017). El sector agrícola mexicano es uno de los líderes dentro de esta actividad dentro de América Latina; México es el principal país productor de hortalizas en la región latinoamericana y ocupa la segunda posición en el cultivo de fruta, solo por detrás de Brasil (Datos estadísticos, s/f). México tiene presencia en 160 países que consumen productos cultivados en México, colocándonos en el lugar número 11 mundialmente en la producción de alimentos (SciElo, 2014). Sobresaliendo la producción en nuestro país con su gran biodiversidad sobresalen las siembras de hortalizas, maíz, trigo, frijol y tomate.

Es importante destacar que, debido a la riqueza de la tierra, el clima y la gran cantidad de hectáreas dedicadas al cultivo de alimentos, México ha superado su récord de exportación tanto agrícola como industrial con un monto total de 35 mil millones de dólares, lo cual representa un 7.6% en el año 2018. Según SAGARPA el crecimiento agrícola se ha mantenido estable durante los últimos 10 años con un crecimiento estimado de 3%, es decir, que el campo mexicano es una potencia para la economía mexicana (Ramírez, M., 2021).

## **2.3 Tomate**

El tomate es un fruto el cual pertenece a la familia: *Solanaceae*, (*Solanum lycopersicum*), este fruto es rico en vitaminas y minerales para prevenir algunas enfermedades. Los minerales que contiene y son aprovechados por el organismo humano son calcio, fósforo, potasio y sodio y las vitaminas que contiene son A, B1, B2, y C.

### **2.3.1 Origen**

El tomate tiene como origen la parte occidental de América del Sur, incluyendo también las islas Galápagos. El primer tipo de tomate que se cultivó se considera que fue el más pequeño, conocido como el tomate cherry o miniatura. Con la conquista española el viejo mundo conoció y llevo algunas semillas de tomate de regreso a España, iniciando así su propagación y consumo por Europa.

### **2.3.2 Importancia Económica**

“El tomate es la hortaliza de mayor importancia en todo el mundo y la de mayor valor económico. Su demanda aumenta continuamente y con ella su cultivo, producción y comercio. El incremento anual de la producción en los últimos años se debe principalmente al aumento en el rendimiento y en menor proporción al aumento de la superficie cultivada.

La producción mundial de esta hortaliza, según los datos de 2012 de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (F.A.O.) se elevó a 211,021,843 toneladas. Siendo China el primer productor en el mundo con 50,125,055 toneladas, el 27.75% del total. A China le sigue la India como segundo productor mundial de tomate, con

un total de 17,500,000 toneladas (8.29%). México ocupa el décimo lugar con una producción de 3,433,567 toneladas, el 1.63% de la producción mundial de tomate fresco.” (Importancia económica del tomate en México. (2019, diciembre 18).)

“En 2020 el estado de Sinaloa fue el principal productor de tomate en México con 684,333 toneladas (20.3%), seguido por San Luis Potosí con 380,175 toneladas (11.3%) y Michoacán con 248,499 toneladas (7.4%), por lo que estas 3 entidades representaron el 39.0% de la producción nacional.

En cuanto al valor de la producción, el estado de Sinaloa generó 8,376 millones de pesos (26.4%), seguido por San Luis Potosí con 4,089 millones de pesos (12.9%) y Michoacán con 2,512 millones de pesos (7.9%), siendo el valor total de la producción nacional de tomate de 31,682 millones de pesos.” (Estadísticas de producción de tomate en México. (s/f).)

## **2.4 Fertilizante**

Los fertilizantes son sustancias ricas en nutrientes que se utilizan para mejorar las características del suelo para un mayor desarrollo de los cultivos agrícolas, éstos proveen nutrientes que los cultivos necesitan; con ellos se pueden producir más alimentos y cultivos comerciales de la mano con una mejora de calidad. Con los fertilizantes también se puede mejorar la baja fertilidad de los suelos que han sido sobreexplotados.

Existen diferentes tipos de fertilizantes, estos pueden ser orgánicos o inorgánicos (minerales). Los fertilizantes minerales son también conocidos como fertilizantes químicos o fertilizantes sintéticos.

Según Mariano Larrazabal (2019) los fertilizantes químicos más usados actualmente en México son los siguientes:

- Nitrogenados: Urea (46% de nitrógeno), sulfato amónico (21% nitrógeno)
- Fosfatos: superfosfato simple (18%  $P_2O_5$ ) o superfosfato triple (46%  $P_2O_5$ )
- Potasas: cloruro de potasio (60%  $K_2O$ ), sulfato de potasio (50%  $K_2O$ )

#### **2.4.1 Desventajas del Uso de Fertilizantes**

Sin embargo, los fertilizantes químicos presentan desventajas muy importantes tanto ambientales como económicas. Por ejemplo, uno de los efectos adversos de los fertilizantes se debe principalmente al uso excesivo e ineficiente que se hace de ellos, que provoca pérdidas de nutrientes en el medio ambiente y otras consecuencias negativas, como la contaminación del agua potable y la eutrofización de los sistemas de agua dulce.

Una de las principales desventajas económicas se ve reflejada en el incremento de “el costo del amoníaco; el cual es la principal materia prima en la producción de fertilizantes nitrogenados, se incrementó de \$110 dólares por tonelada en el verano del 2020 a \$1,100 dólares por tonelada a finales del 2021. Varias plantas de amoníaco y fertilizantes se han visto en la necesidad de reducir producción o incluso cesar operaciones” (AdrianDuhalt, 2022). A finales del año 2022 el precio se disparó a un 200% de su valor.

Dentro de los múltiples daños colaterales de una guerra entre Rusia y Ucrania, repercute en la economía de sus industrias, como lo es en la producción anteriormente mencionada de el amoníaco. Dejando en consecuencia un alto costo que es inalcanzable e incosteable para el sector agrícola de nuestro país.

Por tal motivo es de suma importancia crear nuevos proyectos alternativos con ayuda de la tecnología sin impactar a la ecología, que ayuden a la solución de esta suma de problemas generados por desacuerdos entre países.

## **2.5 Biofertilizante**

Es interesante mencionar de los últimos avances tecnológicos y científicos en materia, pues la agricultura está evolucionando a pasos agigantados debido a su gran demanda; tratando de remediar los daños causados por el uso desmedido de fertilizantes químicos, aunado al impacto ambiental que han sufrido las tierras por el cambio climático en las últimas décadas. En muy poco tiempo, se han experimentado más avances en la agricultura que en los últimos siglos gracias a que la innovación se está convirtiendo en una parte fundamental del sector agroindustrial.

Los biofertilizantes son productos compuestos por microorganismos, principalmente hongos y bacterias, que permiten aumentar la cantidad de nutrientes para la planta y mejorar la calidad del suelo. (Jamula, 2020).

Las principales ventajas de los biofertilizantes son las siguientes:

- Aumentan la biodiversidad y la fertilidad del suelo.
- Contribuyen a la protección del medio ambiente.
- Ayudan al proceso de absorción del agua y a la fijación del carbono en el suelo.
- Favorecen la materia orgánica presente en el suelo.
- Hacen los cultivos más sostenibles.

Un microorganismo o microbio es un organismo que por la clasificación de su tamaño se vuelve imperceptible para la vista humana, su apreciación se logra a través de la ayuda de un

microscopio. Los microorganismos se clasifican de la siguiente manera: bacterias, hongos, protozoos y algas.

La aplicación de un microorganismo en el suelo contribuye a la transformación y desarrollo de este, por lo que son de gran importancia para los cultivos. Entre sus beneficios se pueden describir los siguientes puntos:

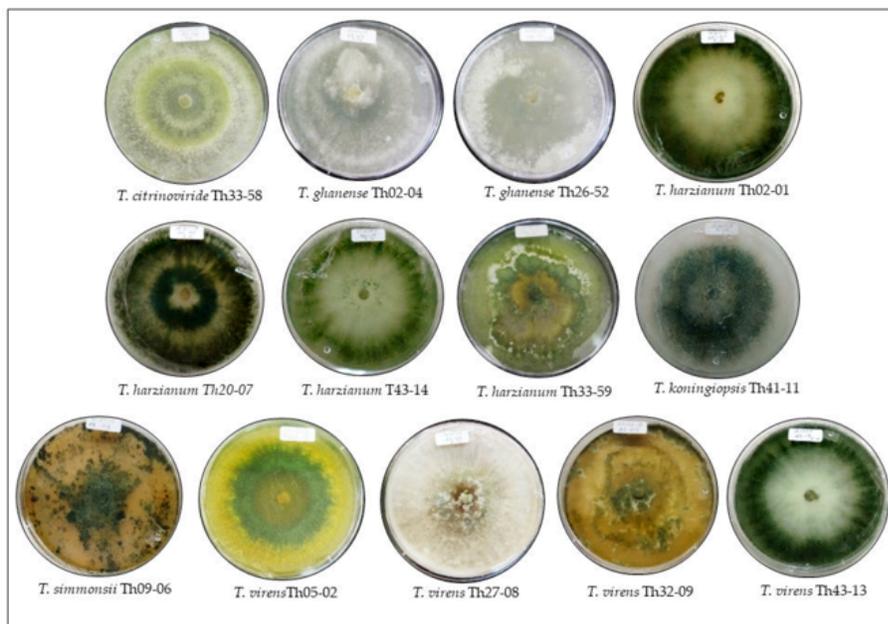
- Mejoran la estructura del suelo
- Colaboran en solubilizar nutrientes para las plantas
- Retienen humedad y mejoran el desarrollo de las raíces

Una de las principales ventajas de la aplicación de un biofertilizante es que en presencia de un microorganismo natural en la tierra no es suficiente, es posible aumentar su presencia por medio de un soporte rico en la presencia de este microorganismo. (Jamula, (2020).

## **2.6 *Trichoderma***

Dentro de los microorganismos con los cuales se puede trabajar para el desarrollo e innovación de un biofertilizante, se encuentra un hongo identificado como *Trichoderma*. El *Trichoderma* es un hongo filamentoso que pertenece al grupo de los ascomicetos, en los que la mayoría de las especies no tienen un periodo sexual, simplemente producen esporas asexuales. Este hongo se caracteriza por predominar en los ecosistemas terrestres y acuáticos. Dentro de sus principales mecanismos de acción se le conoce por su competencia de espacio y nutrientes, su identidad como micro parásito, su ayuda a la inducción del sistema de resistencia de la planta y teniendo presente una gran producción de metabolitos reguladores de crecimiento.

Muchas especies de *Trichoderma* son capaces de promover el crecimiento y desarrollo de las plantas. Existen investigaciones donde se menciona que el *Trichoderma* puede promover el crecimiento de las plantas hasta en un 300%; la promoción del crecimiento parece estar mediada por la producción de auxina por el hongo y por el hongo 1-aminociclopropano-1-carboxilato que reduce los niveles de etileno que se acumulan durante diversas situaciones de estrés. *Trichoderma spp.* también produce ácidos orgánicos como los ácidos glucónico, fumárico y cítrico que pueden reducir el pH del suelo y la solubilización de fosfatos, así como de micronutrientes y macronutrientes como el hierro, el manganeso y el magnesio que son vitales para el metabolismo de las plantas. Además, la capacidad de las cepas de *Trichoderma* de inducir mayores sistemas radiculares y mejorar la salud de las plantas proporciona más nichos para el crecimiento del hongo. (Brotman, Y., Kapuganti, J. G., & Viterbo, A., 2010).



2.6.1 Imagen de un Cepario Perteneciente al Género de *Trichoderma*.

De acuerdo a Harman,G.E. (2006), se tienen identificadas hasta más de 50 especies de este hongo; las colonias se diferencia principalmente por sus colores como se puede observar en la *Imágen 2.6.1* ya que van de verde, amarillas, hasta blancas con una variación en estos tonos. Para nombrar el hongo se sigue la normativa del Comité Internacional de Sistemática de Procariotas (ICSP), el cual ha creado directrices que explican la nomenclatura o el sistema de denominación adecuados para los microorganismos. Este sistema es conocido como el Código de Bacteriología; un microorganismo tiene un nombre binomial que consta de dos partes: el nombre del género, que indica a qué género pertenece, el epíteto de la especie y cepa la cual proviene de una determinada muestra en particular.

<i>Trichoderma</i>	<i>Harzianum</i>	<i>F22</i>
		
Género	Especie	Cepa

Cuando se habla de especies sin nombre, se utiliza la abreviatura “*sp.*” para referirse a una sola especie sin nombre, mientras que “*spp.*” después de un género se refiere a más de una especie sin nombre. Un ejemplo sería *Trichoderma spp.*

Esto lo convierte a el *Trichoderma spp.* en un microorganismo de interés en la producción de productos agrícolas como agente de promotor de la plana como para el control de patógenos del suelo y de enfermedades vegetales; también sin perder de vista sus habilidades de incrementar el crecimiento y desarrollo de plantas.

## 2.8 Carbón Activado

El uso de materiales con propiedades de carbón se remonta a miles de años en la historia, aunque resulta difícil precisar una fecha exacta de su origen. El carbón activado, en particular, ha sido utilizado en diversas aplicaciones a lo largo del tiempo. Se tienen datos en la literatura que los primeros usos de carbón activado en la industria datan en 1974, su aplicación fue como un agente de decoloración en la industria del azúcar. No fue hasta 1881 que la terminación de adsorción se relacionó por primera vez con el carbón activado por Kayser, para así describir que se atrapaban los gases.

El carbón activado es un material el cual presenta una estructura cristalina reticular similar a la del grafito solo que el orden de la estructura del carbón activado es menos perfecta; es extremadamente porosa y puede llegar a desarrollar áreas superficiales del orden de 500 a 1,500 m<sup>2</sup> o más, por gramo de carbón. El área de superficie del carbón activado varía dependiendo de la materia prima y del proceso de activación. Son las altas temperaturas, la atmósfera especial y la inyección de vapor del proceso de fabricación del carbón activado lo que “activa” y crea la porosidad dejando mayormente una “esponja” de esqueleto de carbón (Velázquez, et al., 2014).

La obtención de carbones activados a partir de material lignocelulósico es ampliamente usada en la industria química debido al bajo costo y a la abundancia de este tipo de materiales en la naturaleza. Además, este tipo de precursores es muy importante porque permite la obtención de carbones activados con porosidad variada dependiendo de las condiciones de preparación, como temperatura y tiempo de activación (Vargas et al., 2008). Para la preparación de carbones activados el material es calcinado (carbonización) y luego sometido al proceso de activación, lo cual conduce a aumentar la porosidad y la capacidad

de adsorción del material carbonizado mediante tratamientos de oxidación de los grupos funcionales de la superficie del sólido. (Cortés et al., 2008)

## 2.9 Antecedentes

De acuerdo a Molla et al., (2012), el tomate (*Lycopersicon esculentum Mill.*) es una de las hortalizas más importantes y populares en todo el mundo, ya que contiene hidratos de carbono, aminoácidos, minerales y vitaminas. El rendimiento y el contenido en nutrientes del tomate se ven dramáticamente afectados por la aplicación de fertilizantes inorgánicos (Dumas et al., 2003). De hecho, el uso desmedido de fertilizantes inorgánicos puede provocar la contaminación del medio ambiente, incluyendo la contaminación de las aguas subterráneas y la acidificación del suelo, así como el aumento de la desnitrificación, lo que se traduce en una mayor emisión de óxido nitroso ( $N_2O$ ) a la atmósfera, responsable del calentamiento global. Los esfuerzos actuales incluyen la exploración de la posibilidad de sustituir los fertilizantes inorgánicos por los orgánicos, que son ecológicos y rentables.

Como sugiere Taiwo et al., (2007) los fertilizantes orgánicos pueden combinarse con los inorgánicos en dosis inferiores a las recomendadas para la producción sostenible de tomate. El rendimiento del tomate es significativamente menor en las plantas fertilizadas orgánicamente que en las plantas que reciben fertilizantes inorgánicos (Heeb et al., 2006).

En los últimos años, los biofertilizantes, los cuales son productos que contienen células vivas de diferentes tipos de microorganismos, han surgido como un componente importante en el sistema integrado de suministro de nutrientes. Los biofertilizantes son muy prometedores para mejorar el rendimiento y la calidad de los cultivos a través de un mejor suministro de nutrientes (Wani SP, Lee KK, 1995).

En ese mismo orden de ideas, y según Harman, et al (2004). el *Trichoderma spp.* se describe como un hongo de vida libre, común en el suelo y en los ecosistemas radiculares. Este hongo es bien conocido por su capacidad para producir una amplia gama de sustancias antibióticas y por su capacidad para parasitar a otros hongos. De acuerdo a sus estudios hasta hace poco, se pensaba que estos efectos directos sobre otros hongos eran la base de los efectos beneficiosos de *Trichoderma spp.* sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas. Sin embargo, pruebas recientes indican que muchas cepas de *Trichoderma spp.*, incluidas *Trichoderma virens*, *Trichoderma atroviride* y *Trichoderma harzianum*, pueden inducir resistencia tanto localizada como sistémica en una serie de plantas frente a diversos fitopatógenos, y ciertas cepas también pueden tener una influencia sustancial en el crecimiento y desarrollo de las plantas.

Cuando las estructuras propagativas de *Trichoderma*, como las esporas, se añaden al suelo, entran en contacto con las raíces de las plantas y pueden germinar y crecer en la superficie de las raíces, y algunas cepas de *Trichoderma* pueden infectar las pocas células externas de las raíces. *Trichoderma spp.* produce al menos tres clases de compuestos que provocan respuestas de defensa de las plantas: péptidos, proteínas y compuestos de bajo peso molecular.

La colonización de las raíces por *Trichoderma spp.* también mejora con frecuencia el crecimiento y desarrollo de las raíces y, por tanto, puede mejorar la productividad de los cultivos; el *Trichoderma spp.* también aumenta la absorción de nutrientes y la eficiencia del uso del nitrógeno, y puede solubilizar nutrientes en el suelo.

La selección de un transportador o soporte para las esporas es de suma importancia ya que sin un soporte la espora presenta desventajas, por ejemplo, una menor viabilidad de la espora, una confrontación inmediata con otra presencia microbiana, condiciones hostiles

para el microorganismo y hasta la pérdida de concentración en un menor tiempo. Por esto, la selección de un carbón activado para su transporte fue ya que en la literatura se han encontrado beneficios adyacentes a su uso.

De acuerdo a Hussain, et al, (2017) consideran que el uso de biocarbón subsana el suelo mitigando el calentamiento global, restaurando las tierras degradadas y compensando la contaminación del agua mediante la eliminación de contaminantes orgánicos como pesticidas, tintes, productos farmacéuticos, etc. Como menciona Lehmann (2006), algunos otros beneficios asociados a la adición de biocarbón a los suelos agrícolas destacan la reducción sustancial de las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI), la adsorción de contaminantes y la mejora de la fertilidad del suelo y la productividad de los cultivos.

### **CAPÍTULO 3. JUSTIFICACIÓN**

En los últimos años la población mundial ha llegado enfrentar hechos inimaginables como lo fue una pandemia global conocida como Covid-19, ha atravesado por conflictos bélicos entre países como Rusia y Ucrania, creando una incertidumbre en sectores de actividades económicas de gran impacto en los ingresos de un país como la agricultura, la ganadería, el transporte, la educación, el turismo, la salud, la minería, la pesca, el comercio y la industria. Cuando para la humanidad se presenta un conflicto siempre nace el instinto por crear una infinidad de posibles soluciones e innovaciones para resolver el problema.

El sector de la agricultura presenta un gran porcentaje de ingresos económicos en países en desarrollo, para este sector es fundamental asegurar la cadena de producción para abastecer las necesidades alimenticias de sus consumidores y con esto evitar el alza de precios. Por lo tanto, queda implícito que sea el acontecimiento que se presente a nivel local o mundial el sector agrícola siempre debería ser un sector de innovación e investigación ya que sus actividades no se pueden reducir.

El conflicto que sostienen los países de Rusia y Ucrania es uno de los principales factores que influyen en el incremento desmedido en los precios de los fertilizantes utilizados en el campo, ya que, gracias al conflicto bélico, existe un alza de precios en materias primas que se utilizan en la elaboración de los mencionados fertilizantes.

El uso excesivo de fertilizantes químicos en la agricultura es costoso y tienen efectos adversos sobre propiedades fisicoquímicas de los suelos. Por ello, en últimos años se han introducido varios fertilizantes orgánicos que actúan como estimuladores naturales del el crecimiento y el desarrollo de las plantas (Khan et al., 2009).

Por estas razones, haciendo un análisis retrospectivo de los avances tecnológicos se abre una gran puerta a métodos nuevos, más eficientes y ambientalmente más amigables para producir, procesar, distribuir y consumir, tal es el caso de los biofertilizantes.

El biofertilizante contiene microorganismos que promueven el suministro adecuado de nutrientes a las plantas huésped y garantizan su correcto desarrollo y la regulación de su fisiología. La producción de biofertilizante bacteriano requiere esencialmente la selección de las cepas apropiadas para un cultivo concreto en un determinado agroclima.

## **CAPITULO 4. HIPÓTESIS**

La incorporación de materiales de carbón activado junto con la aplicación de *Trichoderma spp.* como agente de biocontrol en el cultivo de plántulas de hortalizas de tomate promoverá un mayor desarrollo de parámetros morfológicos, como la altura de la planta, el diámetro de tallo y la biomasa, en comparación con las plántulas no tratadas con carbón activado y *Trichoderma spp.*

## **CAPÍTULO 5. OBJETIVO GENERAL**

El objetivo principal de este proyecto es desarrollar una metodología para soportar *Trichoderma spp.* sobre partículas de carbón activado con la finalidad de emplear este biofertilizante como parte del sustrato en el crecimiento de plántulas de tomate e investigar los beneficios potenciales del biofertilizante resultante sobre los parámetros morfológicos y de crecimiento de las plántulas.

## CAPÍTULO 6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

En este trabajo de Tesis se plantearon los siguientes objetivos específicos:

1. Generar una cinética de crecimiento de *Trichoderma ssp* bajo condiciones controladas.
2. Caracterizar morfológicamente la superficie de carbón activado en presencia y ausencia de microorganismos, (IR, SEM TGA).
3. Desarrollar una metodología sistemática para la impregnación de *Trichoderma ssp* sobre la superficie de carbón activado.
4. Evaluar el efecto del biofertilizante con distinta carga de *Trichoderma ssp* sobre el crecimiento de plántulas de tomate.
5. Analizar los parámetros morfológicos de las plantas de tomate mediante un análisis estadístico.
6. Analizar el comportamiento de *Trichoderma ssp.* en presencia de patógenos encontrados comúnmente en plantas de tomate.

## **CAPITULO 7. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL**

### **7.1 Características de Carbón Activado**

El carbón activado granular comercial (en adelante “CAG”) que se utilizó en este experimento fungió como adsorbente, fue proporcionado por Calgon Carbon Corporation. Antes de su aplicación, el CAG se tamizó con una malla 30-50 para obtener un radio de partícula promedio de 0.542 mm, posteriormente se lavó varias veces con agua desionizada para eliminar el polvo y las impurezas. Finalmente, se secó a 110 °C durante 48 horas en un horno convencional y se almacenó en una botella sellada.

### **7.2 *Trichoderma***

“Los hongos del género *Trichoderma* son conocidos desde al menos la década de 1920, por su capacidad de actuar como agentes de biocontrol contra los patógenos de las plantas. Hasta hace poco, se suponía que los principales mecanismos de control eran los que actuaban principalmente sobre los patógenos e incluían el micoparasitismo, la antibiosis y la competencia por los recursos y el espacio. Avances recientes demuestran que los efectos de *Trichoderma* sobre las plantas, incluyendo la resistencia sistémica o localizada inducida, son también muy importantes. Estos hongos colonizan la epidermis de la raíz y las capas corticales externas y liberan moléculas bioactivas que provocan el amurallamiento del talo de *Trichoderma*. Al mismo tiempo, el transcriptoma y el proteoma de las plantas se alteran sustancialmente. Como consecuencia, además de la inducción de vías de resistencia en las plantas, se produce un aumento del crecimiento de la planta y de la absorción de nutrientes.”(Harman, G. E., 2006).

### **7.2.1 Identificación de *Trichoderma***

La cepa que se utilizó para realizar la serie de experimentos a mencionar pertenece al cepario de Laboratorio de Biotecnología ubicado en la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP), la cual estaba previamente aislada y conservada a una temperatura de -80°C. La especie fue clasificada como: *Trichoderma harzianum*.

Para ser capaces de identificar visualmente las características de este hongo, se estudió en la literatura características como su morfología, su medio de cultivo idóneo, su tiempo de reproducción, sus tonalidades cuando el hongo llegará a su máxima maduración, entre otras.

### **7.2.2 Generalidades de *Trichoderma harzianum***

Como Romero Arenas, O. Et al (2009) mencionan, el *Trichoderma harzianum* presenta unas características muy peculiares visualmente, como el color del micelio que es blanco y eventualmente desarrolla un color verde oscuro después de la esporulación. Las colonias de *Trichoderma harzianum* crecen y maduran rápidamente a los cinco días de incubación en medio de cultivo agar de dextrosa y papa (PDA) a 25°C-28°C. Las especies de este género generalmente prefieren un pH ácido de 4.5-5 y, además se desarrolla en áreas con un excesivo contenido de humedad y un estancamiento del bióxido de carbono en la atmósfera. El ciclo de vida de *Trichoderma harzianum*, inicia cuando el organismo crece y se ramifica como una hifa fúngica típica que mide de 5-10  $\mu$  de diámetro. La esporulación asexual ocurre cuando las esporas de 3-5  $\mu$  de diámetro son liberadas en un gran número en un tiempo estimado de 120 horas.

### **7.3 Reproducción de *Trichoderma harzianum*.**

#### **7.3.1 Medio de Cultivo**

Un medio de cultivo microbiano es una mezcla de sustancias que promueve y sustenta el crecimiento de los microorganismos. Los medios de cultivo contienen nutrientes como fuente de energía y promotores del crecimiento de los microorganismos. Las formulaciones de los medios de cultivo garantizan resultados precisos, reproducibles y repetibles de los análisis microbiológicos. Los medios de cultivo microbiológico pueden prepararse en diferentes estados, por ejemplo, líquido conocido como caldo, sólido que es en placas de agar o un semi-sólido (en profundidad). Los medios sólidos y semi-sólidos contienen un agente solidificante como el agar o la gelatina.

Para promover el crecimiento del *Trichoderma harzianum* se utilizó el medio de cultivo conocido como PDA por sus siglas en inglés, este medio está compuesto de dos ingredientes principales el agar de papa y la dextrosa (Potato Dextrose Agar), los cuales promueven el crecimiento de manera deseada. Para cultivar el hongo y lograr reproducirlo es necesario preparar placas de Petri con el medio de PDA.

Para esto es necesario preparar una solución homogénea de Difco™ Potato Dextrose Broth y agar bacteriológico con agua destilada, es de suma importancia esterilizar la solución por 20 minutos en la autoclave, bajo las condiciones de presión a 1 atm y de temperatura a 120°C; ya que esto elimina cualquier ruido bacteriológico que pudiera presentarse.

Para tener un stock de 30 cajas petri fue necesario preparar una solución de 750mL, ya que por caja se utiliza un promedio de 20-25mL de medio. Teniendo el medio estéril, se dejó enfriar aproximadamente de unos 10-15 minutos, mientras la campana de luz UV se limpiaba y se prendía su luz unos 10-15 minutos para tener un espacio con esterilidad. Al

verter el medio dentro de la campana de luz UV es necesario contar con mecheros Bunsen con alcohol al 96% para crear un radio de esterilidad y tener una zona donde realizar el trabajo. Para finalizar se dejó solidificar el medio PDA dentro de las cajas por unos minutos y finalmente se emplearon las cajas Petri.

Tabla 7.1. Materiales medios de cultivo y concentraciones utilizadas para el crecimiento de *Trichoderma harzianum*.

MEDIO	CANTIDAD DE COMPUESTOS
Difco™ Potato Dextrose Broth	24g/L
Agar Bacteriológico	12g/L

Las placas Petri se conservaron de 24-48 horas dentro en un espacio abierto en condiciones de temperatura ambiente, para observar si no se presentaba algún material microbiológico no deseado.

### 7.3.2 Inoculación de Medio de Cultivo

Para llevar a cabo la inoculación de las placas Petri es necesario trabajar en una campana de luz UV previamente esterilizada. El material necesario para realizar la inoculación de medio son un par de mecheros Bunsen con alcohol al 96%, unos palillos de madera y una pinza de disección previamente esterilizada.

Para iniciar el proceso se tomó la cepa perteneciente al Laboratorio de Biotecnología ubicado en la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP) a -80°C, la cepa se encontraba dentro de un tubo de criogénico, el cual se tomó y se introdujo un trozo del palillo de madera sujetado por la pinza de disección.

Una vez teniendo un pedazo sólido de la cepa, se colocó un punto en el centro de la placa Petri, así hasta terminar con las 30 placas que se necesitaban inocular. Se cerró la caja Petri y se empleó para poderlas rotular con la fecha de inoculación e iniciar ciclo de vida del *Trichoderma harzianum*.

Durante el periodo de incubación se cuidó de las placas Petri en una incubadora microbiológica a una temperatura promedio de 28°C con una presión atmosférica, las placas se monitoreaban cada 24 horas hasta cumplir con su tiempo de maduración, el cual es de 120 horas.

#### **7.4 Método de Identificación y Cuantificación de *Trichoderma harzianum***

##### **7.4.1 Tinción de Azul de Metileno**

Para la tinción de azul de metileno se siguió el procedimiento que sugiere González (2017), después de la inoculación se tomaba una placa Petri cada 24 horas para estudiar y confirmar la presencia del *Trichoderma harzianum*, se realizó tinción azul de metileno bajo las siguientes condiciones, para el hongo se utilizó coloración con azul de metileno, para así realizar un análisis bajo el microscopio. Confirmando la presencia microscópica y macroscópica se concluyó el método de identificación a las 120 horas.

##### **7.4.2 Cámara de Neubauer**

De acuerdo con el método utilizado por LeGresley y McDermott, el manejo de la cámara de recuento celular Neubauer Improved se describe de la siguiente manera: la cuadrícula de recuento está formada por 9 cuadrados grandes, cada uno de ellos con una superficie de 1 mm<sup>2</sup>. El cuadrado grande central (que se puede ver en su totalidad con el

objetivo 10X), está dividido en 25 cuadrados medianos (con el objetivo 40X se pueden ver los cuadrados medianos completamente), cada uno de ellos con 16 cuadrados pequeños en su interior.

Los cuatro cuadrados grandes de las esquinas están formados por 16 cuadrados medianos. El recuento se puede realizar tanto en el cuadrado grande central como en los de las esquinas, dependiendo del tamaño de las células en estudio.

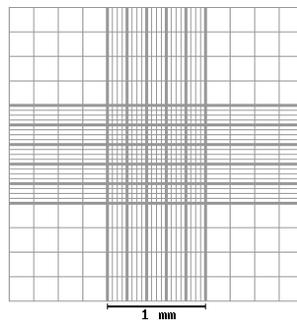


Figura 7.4.2. Representación de la cuadrícula en una Cámara de Neubauer

En función de este método, para identificar y cuantificar la reproducción de esporas de el *Trichoderma harzianum* se optó por realizar el conteo en los cuatro cuadros de las esquinas. Cuando se coloca la muestra bajo el cubreobjetos, la suspensión celular alcanza una altura de 0,1 mm, tomando esta información en cuenta y si consideramos uno de los cuadrados grandes, el volumen contenido en esta área es de:

$$1 \times 1 \times 0.1 = 0.1 \text{ mm}^3 = 10^{-4} \text{ ml}$$

Con el objetivo 10X del microscopio se localiza la zona de recuento (uno de los cuadrados grandes). Para contar las células se cambia al objetivo 40X. Se cuentan las células

contenidas en todos los cuadrados medianos (16 ya que se seleccionó una de las esquinas). Siguiendo este criterio, se contaron solo las esporas que se encontraban en la solución. Si se cuentan las células en los 4 cuadros de las esquinas, el volumen correspondiente es de  $4 \times (1 \text{ mm} \times 1 \text{ mm} \times 0.1 \text{ mm}) = 4 \times 0.1 \text{ mm}^3$ .

Para poder obtener la concentración de la solución, se realizó el cálculo de la siguiente manera:

$$N_{\text{células}}/4 \times 10^{-4} \text{ ml} = N/4 \times 10^4 \text{ células/mL}$$

Siendo  $N = n^\circ$  total de células contadas en las 4 zonas.

Este método se utilizó durante todos los conteos necesarios para obtener las concentraciones de dicha muestra reduciendo el porcentaje de error, también se utilizó este método con la intención de obtener la cinética de reproducción de este fungi.

## **7.5 Reproducción de *Trichoderma harzianum***

### **7.5.1 Cinética de *Trichoderma harzianum***

La cinética microbiana se define como el conocimiento y el entendimiento de los procesos y reacciones de la vida microbiana: reproducción, desarrollo, muerte, adaptación, ciclos celulares e interacciones. El crecimiento microbiano se define básicamente como el incremento del número de células; la evolución de los parámetros que miden el crecimiento microbiano se diferencian en cuatro fases:

- **Fase latencia:** Adaptación de los microorganismos al medio. En esta fase no se incrementa el número de células, pero si existe gran actividad metabólica. Una vez adaptados a las condiciones ambientales comienza una multiplicación pausada.

- **Fase exponencial:** Los microorganismos se multiplican a gran velocidad y en tiempos muy cortos de generación.
- **Fase estacionaria:** En este periodo los microorganismos no se incrementan, produciendo acumulación y liberación de metabolitos inhibidores producidos por la escasez de nutrientes esenciales.
- **Fase de muerte:** En esta fase las condiciones no favorecen el crecimiento de nuevas células, superando el número de células muertas a las nuevas.

Para lograr obtener una cinética microbiana de *Trichoderma harzianum*, se trabajó con placas Petri con el medio de cultivo de PDA, previamente inoculadas bajo las condiciones necesarias para poder analizar caja por caja cada 24 horas hasta cumplir con las 120 horas de su tiempo máximo de reproducción. Sus condiciones de crecimiento son dentro de en una incubadora microbiológica a una temperatura promedio de 28°C con una presión atmosférica.

### **7.5.2 Lixiviación de Cajas Inoculadas con *Trichoderma harzianum***

La lixiviación, o extracción sólido-líquido, es una operación unitaria que consiste en la separación de una o varias sustancias (solutos) contenidas en una matriz sólida (fase portadora). En este caso, se realizó una lixiviación a una placa Petri inoculada previamente con *Trichoderma harzianum* para obtener una solución rica en suspensión de esporas, esto se realizó cada 24 horas por 120 horas para con esta información poder obtener la cinética de reproducción del fungi. Para realizar el conteo y obtener una concentración se siguió el método de recuento celular de la cámara de Neubauer Improved.

## **7.6 Incorporación de *Trichoderma harzianum* sobre Carbón Activado**

### **7.6.1 Ensayo de Capacidad de Campo**

Los suelos contienen diferente cantidad de agua dependiendo de su textura y estructura. El límite superior de almacenamiento de agua se denomina con frecuencia "capacidad de campo". En este caso nuestro suelo es el material de carbón activado, de este mismo se necesitaba realizar un ensayo con agua destilada para conocer cuántos mililitros son necesarios para llegar a una capacidad de campo. Para saber que cantidad de carbón se necesitaba para ocupar 200 ml de agua destilada, se pesó en un inicio 50 g de este material colocándola en un vaso de precipitado o Beaker, en él se fue agregando el agua destilada poco a poco, así se fue desarrollando el ensayo hasta lograr obtener una capacidad de campo utilizando el total de los 200 ml.

### **7.6.2 Metodología de Inoculación al Soporte**

Al saber cuál era la capacidad de campo de nuestro soporte, se realizó una lixiviación a cajas inoculadas con *Trichoderma harzianum* para poder obtener una solución rica en suspensión de esporas. El material necesario para poder hacer la lixiviación fueron 5 frascos de vidrio pyrex cada uno con 200 ml de agua destilada esterilizados, un total de 26 placas Petri con el *Trichoderma harzianum* en su coloración verde (ya esporuladas) y una caja de puntas de 1 ml estériles junto con su micropipeta. Se realizó la lixiviación cinco veces para poder obtener cinco concentraciones diferentes, 1 caja (1C), 3 cajas (3C), 5 cajas (5C), 7 cajas (7C) y 10 cajas (10C). Una vez que se obtuvo la solución rica en suspensión de esporas, se cuantificó siguiendo el método de la cámara de Neubauer Improved. Después, se vertió

cada solución sobre los 220g del soporte. De esta manera se obtuvieron 5 tratamientos a diferentes concentraciones.

### **7.6.3 Secado de Carbón Activado**

Cada tratamiento de carbón activado, el cual fungió como el soporte para las esporas de el *Trichoderma harzianum*, se colocó sobre una charola de disección de acero la cuál se ubicó dentro de una campana de extracción durante 48 horas, para así eliminar toda partícula de agua y solo soportar las esporas.

## **7.7 Caracterización Físicoquímica del Soporte**

### **7.7.1 Análisis Termogravimétrico**

El análisis termogravimétrico “TGA” por sus siglas, es una técnica que permite el análisis cuantitativo de sustancias sometiéndolas a una temperatura elevada. El análisis de TGA ayuda a evaluar cambios en la masa con respecto al cambio de temperatura. En ese sentido, se pueden determinar varios parámetros físicos y químicos pertinentes a una sustancia en particular. Se puede usar el TGA para determinar las siguientes propiedades de una muestra de prueba: descomposición térmica, contenido de humedad, concentración solvente de una solución, contenido de plastificante y/o relleno y estabilidad oxidativa.

En esta ocasión se realizó el análisis termogravimétrico de la materia prima y el carbón activado inoculado con suspensión de esporas para poder estudiar el comportamiento térmico de la biomasa. Se utilizó un analizador termogravimétrico de la marca TA Instruments, modelo TGA Q500. La muestra que se uso fue entre 30 y 10 mg, con un tamaño de partícula entre 0.84 y 1.68 mm. El análisis termogravimétrico se llevó a cabo en atmósfera

inerte empleando un flujo de Ar de 100 cm<sup>3</sup>/min y una rampa de temperatura de 5°C/min hasta alcanzar 900°C. Con los resultados obtenidos se graficó pérdida de peso contra la temperatura y también su derivada; así se podría visualizar de una mejor manera la pérdida de masa en función de la temperatura.

### **7.7.2 Espectrofotómetro Infrarrojo**

La espectroscopia infrarroja conocido como FTIR “Infrared Spectroscopy” por sus siglas en inglés, se basa en el hecho de que la mayoría de las moléculas absorben la luz en la región infrarroja del espectro electromagnético, convirtiéndola en vibración molecular. Esta absorción es característica de la naturaleza de los enlaces químicos presentes en una muestra. Con un espectrómetro, esta absorción se mide como una función de longitud de onda (como números de onda, típicamente de 4000 - 600 cm<sup>-1</sup>). El resultado es un espectro IR que sirve como una característica "huella digital molecular" que se puede utilizar para identificar muestras orgánicas e inorgánicas.

Los grupos funcionales de la superficie del carbón activado y de este mismo ya inoculado con una solución de suspensión de esporas se identificaron mediante espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier. Los espectros infrarrojos se obtuvieron utilizando un espectrómetro FTIR de la marca Thermo Scientific, modelo Nicolet iS20 equipado con un accesorio ATR de diamante. El análisis se realizó en la región de número de onda de 4000 a 1000 cm<sup>-1</sup>, mediante el uso de 32 barridos con una resolución de 4 cm<sup>-1</sup>, obteniendo espectros de fondo entre cada muestra. Para el análisis de FTIR, las muestras que se utilizaron cajas de Petri con PDA sin inocular e inoculadas para identificar los compuestos presentes.

### 7.7.3 Microscopio Electrónico de Barrido

El microscopio electrónico de barrido o SEM por sus siglas en inglés “Scanning Electron Microscopy”, utiliza un haz de electrones en lugar de un haz de luz para formar una imagen ampliada de la superficie de un objeto. Es un instrumento que permite la observación y caracterización superficial de sólidos inorgánicos y orgánicos. Tiene una gran profundidad de campo, la cual permite que se enfoque a la vez una gran parte de la muestra y así realizar un análisis morfológico o un análisis elemental.

El análisis morfológico superficial se realiza mediante la imagen de electrones secundarios (SE) y análisis de composición y topografía mediante la imagen de electrones retro dispersados (BSE). El análisis elemental por EDS ayuda a identificar elementos desde 1% wt, también ayuda en la determinación de tamaño de partícula.

Este análisis se realizó para poder obtener imágenes del tamaño de partícula y la morfología de la superficie, con esto se pudo confirmar la presencia de las esporas de el *Trichoderma harzianum* y el aumento de ellas conforme la concentración aumentaba. Las imágenes con electrones secundarios se obtuvieron con un equipo UHR SEM HELIOS NANOLAB 600. Las tres muestras previamente seleccionadas se montaron directo sobre los porta muestras para su análisis.

## **7.8 Aplicación del Biofertilizante**

### **7.8.1 Protocolo de Siembra**

Para la experimentación de siembra se utilizaron las semillas de *Solanum lycopersicum*, var 'Roma'. Se contaron 3,750 semillas las cuales se separaron de 25 en 25 y se guardaron dentro de tubos de ensayo de 5mL. Las semillas fueron lavadas con agua destilada previamente esterilizada dentro de una campana de luz UV. Este proceso se repitió tres veces hasta observar en las semillas que de tener en principio un tono rojizo pasaban a un tono blanquizo, esto con la finalidad de remover el fungicida con el que vienen de fábrica previamente tratadas. Para asegurar que se removía en su totalidad el fungicida se colocaron en una placa de agitación durante 24 horas.

Como sustrato se empleó una mezcla de peat moss, perlita y vermiculita (3:1:1), la cual fue previamente esterilizada para eliminar la carga microbiológica que pudiera presentarse y así solo evaluar el rendimiento del *Trichoderma harzianum*. Se usaron cinco charolas de germinación en las cuales se relleno primero de sustrato, se colocó la semilla para después rellenar con un poco más de sustrato. Al finalizar se colocó una dosis de 0, 0.1, 0.3, 0.7 y 1g de cada uno de los cinco tratamientos.

### **7.8.2 Diseño de Plántulas de Tomate**

Para poder utilizar los 5 tratamientos con su variación en concentración de esporas inoculadas en el soporte se decidió utilizar una dosis diferente de cada tratamiento la cuál partía de un control, es decir el testigo en cada charola con 0g, 0.3g, 0.5g, 0.7g hasta 1g por tratamiento. Para lograr eso se diseñó el acomodo dentro de las charolas de germinación. Este

diseño por charola de germinación fue aleatorio para que ningún individuo presentara ventaja, a continuación, se presenta un visual de el acomodo seleccionado.

1C	Testigo	0.1	0.3
	0.5	0.7	1
3C	0.5	Testigo	0.7
	1	0.1	0.3
5C	1	0.3	Testigo
	0.1	0.5	0.7

7C	0.3	0.7	0.1
	Testigo	1	0.5
10C	0.7	1	0.5
	0.3	Testigo	0.1

Figura 7.8.2. Diseño de los ejemplares usados en cada charola de germinación

### 7.8.3 Condiciones de Siembra

Las charolas de germinación se mantuvieron en el invernadero a una temperatura aproximada de 30°C durante 45 días, iniciando en el mes de agosto y terminando en el mes de septiembre, influenciado bajo las condiciones climáticas de la temporada de verano en el estado de San Luis Potosí dentro de la zona centro. Las charolas de germinación contaron con riego manual cada 12 horas, por mañana y tarde hasta llegar a su capacidad de campo.

### 7.8.4 Medición de Parámetros Morfológicos en las Plantas de Tomate

Para realizar la medición de parámetros morfológicos se tomaron 10 plántulas al azar de cada uno de los grupos puestos en interacción con el biofertilizante a los 45 días después de su siembra; es decir, en su término de observación de crecimiento. Las variables que se midieron fueron las siguientes: Altura de la planta, diámetro de tallo, ancho hoja, largo de hoja, número de hoja, peso de raíz, peso fresco, peso seco, peso de raíz seco. Para medir las últimas dos variables es necesario pesarlás secas, es decir deshidratadas y para esto fue necesario guardarlas por separado dentro de bolsas de papel craft, rotuladas con el número de planta, su dosis de tratamiento (g) y el tratamiento al cual pertenecían (concentración).

Para realizar cada medición es necesario utilizar un Bernier previamente calibrado y elaborar tablas para cada tratamiento y su dosis correspondiente, ya que por sección son 10 plántulas, estas en sumatoria nos da un total de 300 plántulas. Se midieron los primero 7 parámetros morfológicos y se escribió la información en tablas de datos, para después crear una base de datos electrónica. Se preparo la plántula para los dos últimos dos parámetros morfológicos en bolsas se papel craft, las cuales se colocaron dentro de un horno a una temperatura de 120°C durante 72 horas para eliminar cualquier rastro de agua presente y poder concluir con la medición.

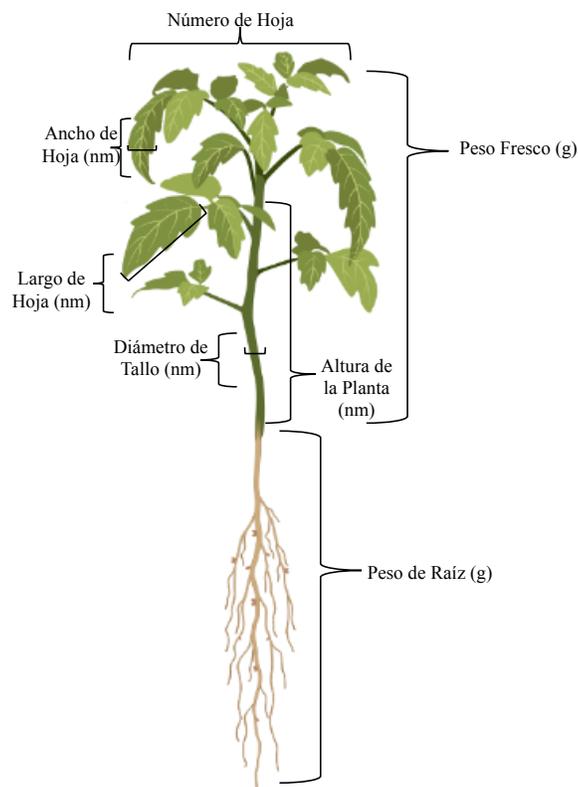


Figura 4.8.4. Representación visual de los parámetros morfológicos a medir en las plántulas de tomate después de 45 días de siembra.

## 7.9 Análisis Estadístico

El análisis estadístico es una herramienta fundamental en la investigación, ya que permite el análisis previo para lograr obtener conclusiones objetivas y confiables a partir de los datos recopilados experimentalmente. En el campo de la agricultura y la investigación agrícola, el análisis estadístico es crucial para evaluar y comparar los efectos de diferentes tratamientos en las plantas. En este caso será una herramienta fundamental para identificar y cuantificar las mejoras de crecimiento resultantes de la aplicación de el biofertilizante carbón activado-*Trichoderma harzianum* en las plántulas de tomate.

Antes de aplicar técnicas estadísticas como el análisis de varianza (ANOVA), es importante verificar que los datos sigan una distribución normal, la normalidad se refiere a que los valores de una variable se distribuyen simétricamente alrededor de su media. Para comprobar que los datos siguen una distribución normal se pueden utilizar diferentes pruebas de normalidad, como la prueba de Shapiro-Wilk o la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

Al realizar el análisis de normalidad, se deben cumplir ciertas hipótesis las cuales deben de incluir la homogeneidad de varianzas, la independencia de las observaciones y la ausencia de sesgos sistemáticos en los datos. La hipótesis nula ( $H_0$ ) asume que los datos siguen una distribución normal siguiendo que la probabilidad es  $p \geq 0.05$ , mientras que la hipótesis alternativa ( $H_1$ ) plantea que los datos no siguen una distribución normal. Al cumplirse la hipótesis nula, se puede proceder con confianza a realizar el análisis de varianza (Montgomery, D. C. , 2017).

### **7.9.1 Análisis de varianza (ANOVA)**

El análisis de varianza (ANOVA) es una técnica estadística utilizada para comparar las medias de tres o más grupos y determinar si existen diferencias significativas entre ellos. El objetivo principal del ANOVA es descomponer la variabilidad total de los datos en dos componentes: la variabilidad debida a las diferencias entre los grupos y la variabilidad dentro de los grupos.

El ANOVA te permite evaluar diferencias significativas en los parámetros morfológicos correspondientes a las plántulas de tomate, con esto evaluar los diferentes tratamientos y las diferentes dosis de aplicación que se han desarrollado previamente. Si el ANOVA muestra diferencias significativas, se utilizará el método de Duncan, para identificar qué grupos difieren entre sí y cuáles producen mejoras de crecimiento significativas en los parámetros morfológicos.

### **7.9.2 Método de Duncan**

El método de Duncan, también conocido como prueba de rangos múltiples de Duncan, es un procedimiento post hoc comúnmente utilizado después de realizar un análisis de varianza (ANOVA). Su objetivo es identificar qué grupos específicos difieren significativamente entre sí cuando el ANOVA muestra diferencias significativas entre al menos tres grupos.

El método de Duncan utiliza los valores de medias y desviaciones estándar de los grupos para realizar comparaciones pareadas entre todas las combinaciones posibles de grupos. Estas comparaciones se basan en el rango de las medias de los grupos, lo que permite determinar si hay diferencias significativas en el rendimiento entre ellos. El método de

Duncan utiliza los valores de medias y desviaciones estándar de los grupos para realizar comparaciones pareadas entre todas las combinaciones posibles de grupos. Estas comparaciones se basan en el rango de las medias de los grupos, lo que permite determinar si hay diferencias significativas en el rendimiento entre ellos. (Duncan, D.B., 1995).

### **7.10 Confrontaciones**

Se realizó una investigación previa en la literatura para conocer las enfermedades de hongos más comunes que afectan de manera directa las hortalizas de tomate. De acuerdo con Sanoubar y Barbanti las enfermedades fúngicas más frecuentes son *Sclerotium spp.*, *Rhizoctonia Solani*, *Alternaria dauci*, *Fusarium spp.*, *Phytophthora spp.* De un inicio se checó en el cepario perteneciente al Laboratorio de Biotecnología ubicado en la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP) con cuantos hongos se contaba para poderlos crecerlos en sus condiciones ideales y tener un stock de ellos para poder hacer una confrontación con el *Trichoderma harzianum*. Una confrontación es eficiente para determinar la capacidad de un hongo en predominar sobre otro hongo presente, cuanto tiempo tarda y quien sobrevive mayor tiempo. En este caso se realizaron dos confrontaciones una con *Sclerotium spp.* y *Phytophthora spp.*. Los tratamientos que se seleccionaron para realizar las confrontaciones fueron de  $2.73 \times 10^6$  UFC/ mL el cual presenta la concentración menor, después el tratamiento de  $1.34 \times 10^7$  UFC/ mL de una concentración intermedia y para finalizar el  $2.70 \times 10^7$  UFC/ mL con la mayor concentración de esporas presente.

## CAPÍTULO 9. CONCLUSIONES

Derivado de la presente investigación, se logró la identificación del hongo conocido como *Trichoderma ssp*; identificando una cepa de este mismo como *Trichoderma harzianum* para estudiar su morfología y métodos de reproducción.

Se logró reproducir el *Trichoderma harzianum* en un medio de cultivo para obtener diferentes soluciones en condiciones óptimas variando la concentración de suspensión de esporas, para con estas inocular el soporte seleccionado.

Se caracterizó el biofertilizante por tres métodos diferentes: análisis termogravimétrico, espectrofotómetro infrarrojo y microscopio electrónico de barrido. De las técnicas anteriormente mencionadas se obtuvo el resultado esperado en el análisis termogravimétrico y en el microscopio electrónico de barrido; ya que se observó el aumento de concentración y la presencia de esporas en comprobación de esto.

Se logró la formulación de un biofertilizante a partir de carbón activado inoculado con una solución rica en suspensión de esporas de *Trichoderma harzianum* para su uso en la siembra de tomate a escala laboratorio en condiciones ideales dentro de un invernadero. Se formularon cinco concentraciones como lo fueron  $2.73 \times 10^6$  UFC/mL (A),  $7.90 \times 10^6$  UFC/mL (B),  $1.34 \times 10^7$  UFC/mL (C),  $1.88 \times 10^7$  UFC/mL (D) y por último  $2.70 \times 10^7$  UFC/mL (E); aplicando diferentes dosis de cada tratamiento iniciando con 0.1g, 0.3g, 0.5g, 0.7g y finalizando con 1g.

Se logró analizar nueve diferentes parámetros morfológicos elementales de las plántulas mediante métodos estadísticos y elementos visuales; sin embargo solo se presentaron seis de estos parámetros por pasar la prueba de normalidad con un  $p > 0.05$ . Esto

con la finalidad de discutir sobre las condiciones a las que se enfrentaron las plantas de tomate durante 45 días de experimentación con los cinco diferentes tratamientos y dosis aplicadas.

Expuesto lo anterior se ha demostrado que la adición de un biofertilizante a partir de carbón activado inoculado con una suspensión de esporas de *Trichoderma harzianum* a la siembra de plántulas de tomate ha conducido a un aumento del crecimiento del tomate en parámetros formo lógicos como altura de la planta, diámetro de tallo, ancho de hoja, peso de raíz, peso fresco y peso seco.

Los resultados obtenidos en este trabajo se logran respaldar con datos de la literatura, y muestran que la adición de *Trichoderma harzianum* estimula el crecimiento de las plantas de tomate mejorando parámetros importantes por las capacidades del fungi por ejemplo, promotor de crecimiento.

Finalmente, con este trabajo se concluye que la mejor dosis de aplicación de biofertilizante es de 0.1g con una concentración de  $2.73 \times 10^6$  UFC/ mL, ya que coincide en la promoción de crecimiento de cuatro parámetros fundamentales como diámetro de tallo, ancho de hoja, peso fresco y peso seco. Una segunda opción de aplicación para presentar una mejora significativa de crecimiento en la altura de la planta son los tratamientos  $2.73 \times 10^6$  UFC/ mL con una dosis de biofertilizante de 0.5g y 0.7g y el tratamiento  $2.70 \times 10^7$  UFC/ mL con unas dosis de 0.3 y 0.7g. El tratamiento con una concentración de  $1.88 \times 10^7$  UFC/ mL con una dosis de biofertilizante de 0.5g y 1.0g es promotor del parámetro peso de raíz.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (S/f). Org.mx. Recuperado el 9 de enero de 2023, de <https://www.banxico.org.mx/publicaciones-y-prensa/informes-trimestrales/recuadros/%7BE18F830A-7A30-EE3A-C27C-EF4C70C58BD6%7D.pdf>
- Al Abboud, M. A., Ghany, T. A., & Alawlaqi, M. M. (2014). Role of biofertilizers in agriculture: a brief review. *Mycopath*, 11(2).
- Benavides, R. D. P. C. (2022). Ni trigo, ni petróleo, ni fertilizante: Rusia vs. Ucrania, un listado de intereses económicos con consecuencias bélicas y repercusiones mundiales. *Pie de Página*, (007), 25-27.
- Brotman, Y., Kapuganti, J. G., & Viterbo, A. (2010). Trichoderma. *Current Biology*, 20(9), R390-R391.
- Cerón, A. E. C., & Guerrero, L. C. (2010). Producción y caracterización de carbón activado usando vaina de frijol: extracción de Cd<sup>2+</sup> en solución acuosa. *Ingenierías*, 13(48), 9.
- Cortés, J. C., Giraldo, L., García, A. A., García, C., & Moreno, J. C. (2008). Oxidación de un carbón activado comercial y caracterización del contenido de grupos ácidos superficiales. *Revista Colombiana de Química*, 37(1), 55-65.
- De Información Agroalimentaria y Pesquera, S. (s/f). Jitomate (tomate rojo), es una hortaliza y sus propiedades son un medicamento natural. gov.mx. Recuperado el 13 de marzo de 2023, de

<https://www.gob.mx/siap/articulos/jitomate-tomate-rojo-es-una-hortaliza-y-sus-propiedades-son-un-medicamento-natural>

Dumas, Y., Dadomo, M., Di Lucca, G., & Grolier, P. (2003). Effects of environmental factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(5), 369-382.

Duncan, D. B. (1955). Multiple range and multiple F tests. *Biometrics*, 11(1), 1-42.

El sector agrícola en México – Datos estadísticos. (s/f). Statista. Recuperado el 8 de mayo de 2023, de <https://es.statista.com/temas/7029/el-sector-agricola-en-mexico/>

Estadísticas de producción de tomate en México. (s/f). Blogagricultura.com. Recuperado el 13 de marzo de 2023, de <https://blogagricultura.com/estadisticas-tomate-mexico/>

González, H., & Fuentes, N. (2017). Mecanismo de acción de cinco microorganismos promotores de crecimiento vegetal. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 34(1), 17-31.

Harman, G. E. (2006). Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 96(2), 190-194.

Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species—opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature reviews microbiology*, 2(1), 43-56.

- Heeb, A., Lundegårdh, B., Savage, G., & Ericsson, T. (2006). Impact of organic and inorganic fertilizers on yield, taste, and nutritional quality of tomatoes. *Journal of plant nutrition and soil science*, 169(4), 535-541.
- Hernández, E. (2022, marzo 29). Se dispara 300% el precio de fertilizantes en México por conflicto Rusia-Ucrania: agricultores. *Forbes México*. <https://www.forbes.com.mx/se-dispara-300-el-precio-de-fertilizantes-en-mexico-por-conflicto-rusia-ucrania-agricultores/>
- Hussain, M., Farooq, M., Nawaz, A., Al-Sadi, A. M., Solaiman, Z. M., Alghamdi, S. S., ... & Siddique, K. H. (2017). Biochar for crop production: potential benefits and risks. *Journal of Soils and Sediments*, 17, 685-716.
- Importancia económica del tomate en México. (2019, diciembre 18). *Revista InfoAgro México*. <https://mexico.infoagro.com/importancia-economica-del-tomate-en-mexico/>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (n.d.). Encuesta Nacional Agropecuaria 2017 [Data set].
- Jamula. (2020, mayo 4). Descubre las ventajas de los biofertilizantes. *Agran Liquid Technology; Huma Gro España*. <https://agran.es/descubre-las-ventajas-de-los-biofertilizantes/>
- Latameditor. (2020, November 30). ¿Cómo escribir los nombres científicos de las especies bacterianas en los Manuscritos de Revistas? (parte 2). *Enago Academy Spanish*. Retrieved

from <https://www.enago.com/es/academy/write-scientific-names-in-a-research-paper-bacteria/>

Lehmann, J., Gaunt, J., & Rondon, M. (2006). Bio-char sequestration in terrestrial ecosystems—a review. *Mitigation and adaptation strategies for global change*, 11, 403-427.

Liu, Z., Hu, J., Shen, F., Tian, D., Huang, M., He, J., ... & Zeng, Y. (2021). Trichoderma bridges waste biomass and ultra-high specific surface area carbon to achieve a high-performance supercapacitor. *Journal of Power Sources*, 497, 229880.

Luque Zúñiga, B. G., Moreno Salazar Calderón, K. A. B., & Lanchipa Ale, T. M. (2021). Impactos del COVID-19 en la agricultura y la seguridad alimentaria. *Centro Agrícola*, 48(1), 72-82.

Mas-Diego, S. M., Lobaina-Lobaina, E., Rodríguez-Rico, I. L., Tejera-Cisneros, H. E., & Núñez-Fidalgo, E. (2019). Modelación de la formación de biomasa de *Trichoderma harzianum* Rifai (A-34) en fase sólida. *Tecnología Química*, 39(2), 444-454.

Molla, A. H., Manjurul Haque, M., Amdadul Haque, M., & Ilias, G. N. M. (2012). Trichoderma-enriched biofertilizer enhances production and nutritional quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) and minimizes NPK fertilizer use. *Agricultural Research*, 1, 265-272.

Montgomery, D. C. (2017). *Design and analysis of experiments*. John Wiley & Sons.

Mundial, B. (2020, noviembre 20). ¿Cuál es el futuro de la agricultura en un mundo pospandemia?

World Bank; Banco Mundial.

<https://www.bancomundial.org/es/news/feature/2020/11/12/future-of-agriculture-in-a-post-pandemic-world-latin-america>

Muter, O., Grantina-Ievina, L., Makarenkova, G., Vecstaudza, D., Strikauska, S., Selga, T., ... & Steiner, C. (2017). Effect of biochar and Trichoderma application on fungal diversity and growth of Zea mays in a sandy loam soil. *Environ. Exper. Biol*, 15, 289-296.

Nuevo coronavirus 2019. (s/f). Who.int. Recuperado el 13 de marzo de 2023, de <https://www.who.int/es/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>

Ramírez, M. (2021). La agricultura: el motor de nuestra economía. *Transferencia Tec*. <https://transferencia.tec.mx/2021/05/05/la-agricultura-el-motor-de-nuestra-economia/>

Romero-Arenas, O., Huerta Lara, M., Damián Huato, M. A., Domínguez Hernández, F., & Arellano Victoria, D. A. (2009). Características de *Trichoderma harzianum*, como agente limitante en el cultivo de hongos comestibles. *Revista colombiana de Biotecnología*, 11(2), 143-151.

Sanoubar, R., & Barbanti, L. (2017). Fungal diseases on tomato plant under greenhouse condition. *European Journal of Biological Research*, 7(4), 299-308.

- Sofy, M., Mohamed, H., Dawood, M., & Abu-Elsaoud, A. (2021). Integrated usage of arbuscular mycorrhizal and biochar to ameliorate salt stress on spinach plants. *Archives of Agronomy and Soil Science*.
- Stewart, A., & Hill, R. (2014). Applications of *Trichoderma* in plant growth promotion. In *Biotechnology and biology of Trichoderma* (pp. 415-428). Elsevier.
- Taiwo, L. B., Adediran, J. A., & Sonubi, O. A. (2007). Yield and quality of tomato grown with organic and synthetic fertilizers. *International Journal of Vegetable Science*, 13(2), 5-19.
- Tucci, M., Ruocco, M., De Masi, L., De Palma, M., & Lorito, M. (2011). The beneficial effect of *Trichoderma* spp. on tomato is modulated by the plant genotype. *Molecular plant pathology*, 12(4), 341-354.
- Vargas, J. E., Giraldo, L., & Moreno, J. C. (2008). Obtención y caracterización de carbones activados a partir de semillas de mucuna sp. *Revista colombiana de química*, 37(1), 67-77.
- Velázquez, M. E., Smidt, M., Correa, L., & Barrios, L. (2014). Obtención de carbón activado a partir de cascara de macadamia. San Lorenzo.
- Vukelić, I. D., Racić, G. M., Bojović, M. M., Ćurčić, N. Ž., Mrkajić, D. Z., Jovanović, L. B., & Panković, D. M. (2020). Effect of *Trichoderma harzianum* on morpho-physiological parameters and metal uptake of tomato plants. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke*, (139), 61-71.

- Vukelić, I. D., Prokić, L. T., Racić, G. M., Pešić, M. B., Bojović, M. M., Sierka, E. M., ... & Panković, D. M. (2021). Effects of *Trichoderma harzianum* on photosynthetic characteristics and fruit quality of tomato plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13), 6961.
- Wani, S. P., & Lee, K. K. (1995). Microorganisms as biological inputs for sustainable agriculture. *Organic agriculture.*, 39-76.
- Yedidia, I., Srivastva, A. K., Kapulnik, Y., & Chet, I. (2001). Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plant and soil*, 235, 235-242.

## ANEXO 1

TRATAMIENTO A, Concentración  $2.73 \times 10^6$  MCU/mL

Gramaje	Parámetro	Altura de Planta	Diámetro de Tallo	Ancho Hoja	Largo de Hoja	Número de Hojas	Peso de Raíz	Peso Fresco	Peso Seco	Peso Seco Raíz
Control	1	56.1	3.9	41.1	29.3	4	0.62	0.97	0.13	0.08
Control	2	61	3.8	44.7	29.5	3	0.82	1.28	0.16	0.1
Control	3	80.3	3.1	51.3	29.5	3	0.78	1.43	0.19	0.1
Control	4	74	3.2	21.5	29.8	3	0.95	1.27	0.15	0.11
Control	5	80.7	3.1	42.4	31.4	3	0.86	1.31	0.17	0.1
Control	6	74.9	3.2	56.3	32.6	3	0.93	1.11	0.14	0.11
Control	7	68.3	2.7	43.9	36.2	3	1.33	1.49	0.2	0.16
Control	8	74.2	2.9	31.3	28	4	0.96	1.51	0.19	0.12
Control	9	84.2	2.6	31.2	29.2	3	0.81	1.13	0.15	0.08
Control	10	75.3	3	46.6	30.7	3	0.82	1.35	0.16	0.09
0.1	1	63.6	3.4	42.2	30.6	4	1.78	1.81	0.23	0.19
0.1	2	75.5	3.1	43.6	29.3	3	1.45	1.74	0.27	0.13
0.1	3	66.5	3.5	49.5	34.7	4	1.03	1.4	0.19	0.07
0.1	4	82.9	4.1	46.4	25.7	3	1.24	1.37	0.14	0.11
0.1	5	69.5	3.7	43.8	30.1	4	1.95	1.81	0.23	0.19
0.1	6	65.8	4	50.2	30	4	1.59	1.43	0.18	0.12
0.1	7	84.5	3.4	46.1	23.6	3	2.3	1.7	0.22	0.18
0.1	8	65.6	3.1	50.3	28.1	3	1.66	1.33	0.17	0.15
0.1	9	70.1	3.3	43.9	28	4	1.68	1.49	0.25	0.15
0.1	10	58.2	3	42.5	28.2	4	1.91	1.6	0.23	0.16

Gramaje	Parámetro	Altura de Planta	Diámetro de Tallo	Ancho Hoja	Largo de Hoja	Número de Hojas	Peso de Raíz	Peso Fresco	Peso Seco	Peso Seco Raíz
0.3	1	60.4	3.1	28	51.2	3	1.4	1.55	0.2	0.12
0.3	2	48.6	2.3	26.1	23.9	3	0.86	0.78	0.09	0.07
0.3	3	78.2	3.1	30.1	46.4	3	1.41	1.71	0.21	0.12
0.3	4	53.7	3	35.4	17.1	3	1.03	1.09	0.13	0.09
0.3	5	61.9	2.7	36.8	28.4	2	1.8	1.12	0.15	0.08
0.3	6	47.8	2.7	30.9	35	3	1.48	1.42	0.18	0.13
0.3	7	80.8	3.1	52.5	31.2	3	1.59	1.62	0.19	0.14
0.3	8	66.9	2.4	40.7	25.1	3	1.34	1.15	0.14	0.1
0.3	9	68.3	3.4	26.2	31.2	4	1.81	1.46	0.19	0.16
0.3	10	47.1	3.7	20.2	31	4	0.97	1.26	0.14	0.08
0.5	1	66.2	2.9	44.8	29.8	4	1.33	1.22	0.15	0.12
0.5	2	66.9	2.6	29.4	30.4	4	1.03	1.15	0.15	0.08
0.5	3	75.3	3	36.1	24.9	4	1.29	1.28	0.18	0.11
0.5	4	79.4	3.2	37.3	28.2	4	1.42	1.42	0.2	0.12
0.5	5	78.7	3	40.2	28.3	4	1.21	1.3	0.18	0.1
0.5	6	91	3.2	30.9	27.8	4	1.2	1.36	0.16	0.1
0.5	7	66.4	2.6	40.6	25.4	4	1.37	1.16	0.15	0.09
0.5	8	66.3	2.3	35.1	30.5	3	1.42	0.92	0.1	0.1
0.5	9	65.9	2.4	41.2	25	4	1.32	1.16	0.15	0.09
0.5	10	76.4	2.7	40.3	20	4	1.7	1.17	0.17	0.12

Gramaje	Parámetro	Altura de Planta	Diámetro de Tallo	Ancho Hoja	Largo de Hoja	Número de Hojas	Peso de Raíz	Peso Fresco	Peso Seco	Peso Seco Raíz
0.7	1	86.4	3.07	49.8	32.59	3	1.06	1.28	0.16	0.12
0.7	2	83.78	3.33	30	59	4	0.91	1.35	0.17	0.09
0.7	3	64.98	3.45	51.13	27.9	3	0.91	1.07	0.11	0.11
0.7	4	61	3.06	28.45	29.8	3	0.97	0.99	0.09	0.17
0.7	5	59.15	2.5	24.89	22.84	4	0.96	1.34	0.16	0.11
0.7	6	76.5	2.92	33.2	25.4	4	0.93	1.2	0.15	0.07
0.7	7	63.66	2.51	48.6	26.41	3	1.5	1.54	0.19	0.13
0.7	8	87.8	3.1	28.41	28.17	4	0.93	1.46	0.18	0.08
0.7	9	73.18	2.89	44.8	25.39	4	1.16	1.15	0.14	0.13
0.7	10	83.04	2.83	26.8	28.06	4	0.89	0.82	0.09	0.09
1	1	65.4	2.7	40.3	24.3	4	1.69	1.22	0.15	0.12
1	2	57	2.6	34.1	25.1	3	1.23	1.11	0.13	0.09
1	3	58	2.7	32.7	22.2	4	1.48	1.02	0.12	0.11
1	4	46.7	2.7	23.6	25.9	4	1.48	1.05	0.12	0.09
1	5	60.3	3	50.7	26.6	3	1.86	1.37	0.15	0.1
1	6	63.6	2.8	42.1	29.8	3	1.77	1.32	0.16	0.12
1	7	54.7	2.8	35	27.8	3	1.6	0.99	0.14	0.1
1	8	65.6	2.7	40.9	26.8	4	0.96	1.12	0.11	0.09
1	9	78.2	2.7	39.2	21.3	3	1.79	1.21	0.16	0.14
1	10	68.6	3.1	27.2	28.6	3	1.43	1.29	0.16	0.1

TRATAMIENTO B, Concentración 7.90X10<sup>6</sup> MCU/mL

Gramaje	Parámetro	Altura de Planta	Diámetro de Tallo	Ancho Hoja	Largo de Hoja	Número de Hojas	Peso de Raíz	Peso Fresco	Peso Seco	Peso Seco Raíz
Control	1	85.65	3.29	31.47	32.13	4	0.61	1.35	0.18	0.12
Control	2	73.13	2.8	50.35	30.46	3	0.83	1.39	0.2	0.12
Control	3	64.44	2.97	41.66	29.32	3	1.55	1.36	0.18	0.26
Control	4	64.19	3.09	41.45	23.14	3	0.7	1.28	0.18	0.11
Control	5	65.18	3.11	42.74	33.81	3	1.04	1.52	0.22	0.15
Control	6	72.43	3.02	48.93	25.13	3	1	1.43	0.17	0.16
Control	7	62.03	2.71	42.65	28.64	4	0.92	1.39	0.18	0.13
Control	8	57.26	2.86	44.84	31.04	3	0.67	1.15	0.17	0.1
Control	9	73.21	2.53	38.15	29.46	4	0.99	1.33	0.18	0.14
Control	10	61.02	2.93	44.83	26.95	3	0.99	1.16	0.17	0.16
0.1	1	79.66	3.04	44.35	32.34	3	1.05	1.31	0.18	0.09
0.1	2	82.55	2.87	45.03	65.67	4	1.22	1.24	0.19	0.12
0.1	3	79.47	2.71	34.57	24.51	4	0.84	1.08	0.15	0.07
0.1	4	62.29	2.74	45.3	28.04	3	1.15	1.04	0.13	0.12
0.1	5	59.67	2.22	43.45	28.76	3	1.42	1.29	0.15	0.14
0.1	6	72.4	2.84	31.82	27.93	3	0.87	0.8	0.13	0.1
0.1	7	63.17	2.86	36.81	30.19	4	1.05	1.26	0.15	0.1
0.1	8	63.3	2.72	44.28	29.59	3	1.13	1.14	0.16	0.12
0.1	9	70.21	2.94	30.48	32.3	4	1.1	1.25	0.15	0.1
0.1	10	67.49	2.92	44.21	33.1	3	1.36	1.32	0.16	0.16

Gramaje	Parámetro	Altura de Planta	Diámetro de Tallo	Ancho Hoja	Largo de Hoja	Número de Hojas	Peso de Raíz	Peso Fresco	Peso Seco	Peso Seco Raíz
0.3	1	54.8	2.66	29.3	27.91	3	1.53	0.9	0.15	0.12
0.3	2	55.3	2.8	40.69	32.27	3	1.34	3	0.16	0.1
0.3	3	64.05	2.81	35.56	24.21	4	1.55	0.95	0.13	0.11
0.3	4	65.92	2.57	47.9	31.85	3	1.29	0.92	0.12	0.12
0.3	5	59.87	2.66	42.53	30.8	3	1.34	1.16	0.14	0.1
0.3	6	47.61	2.53	37.81	22.79	2	1.23	0.91	0.11	0.1
0.3	7	59.01	2.37	46.86	26.09	3	0.92	0.88	0.09	0.07
0.3	8	59.49	2.68	44.09	23.25	3	1.12	0.84	0.11	0.08
0.3	9	56.62	2.28	39.29	29.74	3	0.94	0.83	0.1	0.07
0.3	10	75.63	2.62	41.51	23.83	3	0.74	0.83	0.1	0.06
0.5	1	62.92	2.93	44.6	32.37	2	1.15	1.31	0.16	0.12
0.5	2	72.6	2.99	52.34	27.9	3	1.21	1.37	0.17	0.1
0.5	3	74.93	2.64	46.28	30.2	3	1.17	1.29	0.16	0.11
0.5	4	69.39	3.33	50.9	32.26	3	1.34	1.18	0.14	0.12
0.5	5	69.3	3.03	42.02	25.29	3	1.18	1.26	0.16	0.1
0.5	6	70.47	2.97	43.61	24.63	3	1.24	1.24	0.15	0.1
0.5	7	67.27	3.37	47.28	27.1	2	1.36	1.41	0.18	0.12
0.5	8	64.35	2.69	47.63	25.64	3	1.27	1.17	0.13	0.12
0.5	9	68.18	3.15	4.53	29.95	3	1.3	1.22	0.16	0.12
0.5	10	67.36	3.22	44.83	31.29	4	1.27	1.57	0.19	0.11

Gramaje	Parámetro	Altura de Planta	Diámetro de Tallo	Ancho Hoja	Largo de Hoja	Número de Hojas	Peso de Raíz	Peso Fresco	Peso Seco	Peso Seco Raíz
0.7	1	65.19	2.92	47.31	25.69	3	1.64	1.36	0.14	0.12
0.7	2	69.47	2.98	34.07	27.97	4	1.43	1.45	0.16	0.08
0.7	3	56.86	2.71	44.1	27.11	3	1.4	1	0.1	0.08
0.7	4	65.36	2.87	38.68	25.61	3	1.36	1.26	0.14	0.07
0.7	5	66.49	2.37	40.81	31.88	4	1.8	0.99	0.12	0.13
0.7	6	73.33	3	47.52	28.05	4	1.56	2.14	0.12	0.07
0.7	7	55.8	2.66	36.15	22.58	5	1.65	1.3	0.14	0.08
0.7	8	59.98	2.74	27.84	27.84	3	1.56	0.93	0.08	0.07
0.7	9	57.83	2.45	28.8	25.15	2	1.37	1.52	0.18	0.08
0.7	10	74.26	2.92	54.96	31.37	3	2.01	0.92	0.09	0.09
1	1	66.29	2.78	39.52	30.82	3	1.65	1.11	0.13	0.1
1	2	74.31	3.56	33.93	25.25	3	1.6	1.16	0.13	0.1
1	3	84.66	2.51	46.8	35.45	3	1.57	1.35	0.18	0.1
1	4	69.24	3.06	33.37	29.58	4	1.86	1.27	0.14	0.1
1	5	59.65	2.52	30.91	31.56	3	1.24	1.16	0.13	0.08
1	6	67.2	2.7	36.34	29.96	3	1.31	1.18	0.15	0.08
1	7	69.73	2.65	43.68	24.58	3	1.53	1.2	0.13	0.09
1	8	50.08	3.12	45.91	25.23	4	1.47	1.31	0.14	0.09
1	9	66.77	2.37	41.56	24.45	3	1.22	1.03	0.12	0.08
1	10	57.17	2.4	25.9	22.5	3	1.46	1.07	0.13	0.07

TRATAMIENTO C, Concentración  $1.34 \times 10^7$  MCU/mL

Gramaje	Parámetro	Altura de Planta	Diámetro de Tallo	Ancho Hoja	Largo de Hoja	Número de Hojas	Peso de Raíz	Peso Fresco	Peso Seco	Peso Seco Raíz
Control	1	64	2.9	46.7	27.5	3	0.68	1.02	0.13	0.08
Control	2	59.7	3.1	37.3	26.4	3	0.5	0.92	0.1	0.06
Control	3	71.7	3.4	37.3	31.8	3	0.88	1.26	0.14	0.1
Control	4	55.9	3	33.6	28.9	3	0.76	1.26	0.17	0.1
Control	5	46.2	3.2	38.4	31.4	4	0.65	1.18	0.17	0.09
Control	6	51.8	2.8	36.8	27.1	2	0.78	1.3	0.18	0.12
Control	7	58.2	3.1	40.1	26.8	3	0.64	1.11	0.11	0.09
Control	8	58.5	2.6	37.5	24.4	3	0.55	0.92	0.11	0.07
Control	9	53.1	2.6	40.4	29.1	2	0.55	1.08	0.14	0.1
Control	10	61.8	2.9	32.3	25.2	3	0.56	0.94	0.12	0.07
0.1	1	73.8	3.1	50.3	27.7	3	0.9	1.35	0.19	0.08
0.1	2	78.9	3.2	49.6	29.1	3	0.83	1.28	0.17	0.08
0.1	3	69.1	3.2	33.1	30.1	3	0.83	1.41	0.18	0.07
0.1	4	65.3	3.8	38.6	40.3	4	0.82	1.3	0.14	0.08
0.1	5	64.9	3	38.4	28.5	3	1.04	1.27	0.15	0.1
0.1	6	61.3	3.1	31.7	28.5	4	0.64	1	0.12	0.05
0.1	7	75.5	3.6	44.7	25.3	3	0.82	1.3	0.17	0.07
0.1	8	55.8	3	36.9	27.3	3	0.79	1.19	0.15	0.07
0.1	9	71.4	3	40.7	27.4	3	0.74	1.31	0.16	0.08
0.1	10	76.8	3.8	42.3	30	3	0.79	1.41	0.18	0.07

Gramaje	Parámetro	Altura de Planta	Diámetro de Tallo	Ancho Hoja	Largo de Hoja	Número de Hojas	Peso de Raíz	Peso Fresco	Peso Seco	Peso Seco Raíz
0.3	1	62.4	3.5	32.6	24.4	3	0.78	1.23	0.15	0.09
0.3	2	56.4	3.2	31.5	25	3	0.93	1.33	0.15	0.1
0.3	3	60.7	3.3	30.6	27.6	3	0.92	1.38	0.16	0.08
0.3	4	69.9	3	39.1	24.5	3	0.88	1.45	0.18	0.1
0.3	5	66.1	2.9	35.2	24.5	3	0.7	1.33	0.18	0.08
0.3	6	57.3	3.4	35.2	25.2	3	0.77	1.13	0.14	0.08
0.3	7	64.2	3.4	38.2	25.7	4	0.93	1.38	0.18	0.08
0.3	8	73.6	3.2	42.4	23.7	3	0.94	1.2	0.17	0.11
0.3	9	62.2	2.6	43.2	26.4	3	0.76	0.96	0.13	0.09
0.3	10	51.3	2.9	32.5	25.2	3	0.93	1.14	0.15	0.13
0.5	1	59.5	2.8	40.7	22.9	3	0.82	1.11	0.14	0.08
0.5	2	62.9	3.2	40.2	25.4	3	0.68	0.96	0.13	0.08
0.5	3	54	3.4	38.8	29.3	4	0.78	1.15	0.17	0.08
0.5	4	64.9	3.2	48	25	3	0.57	0.88	0.1	0.06
0.5	5	66.1	2.9	24.7	27.7	3	0.75	1.06	0.19	0.05
0.5	6	70.2	3.1	38.1	23.6	3	0.88	1.37	0.19	0.09
0.5	7	72	3.8	33.7	22.3	3	0.68	1.13	0.17	0.05
0.5	8	59.9	3.5	39.3	25.4	3	0.62	1.01	0.16	0.06
0.5	9	59.1	3.3	32.3	24	4	0.86	1.06	0.14	0.08
0.5	10	52.6	3.1	24.4	26.7	3	0.58	0.91	0.17	0.06

Gramaje	Parámetro	Altura de Planta	Diámetro de Tallo	Ancho Hoja	Largo de Hoja	Número de Hojas	Peso de Raíz	Peso Fresco	Peso Seco	Peso Seco Raíz
0.7	1	66.2	3.8	41	24.9	3	0.66	1.15	0.14	0.07
0.7	2	71.2	3.1	47.4	27.1	3	0.63	1.18	0.15	0.07
0.7	3	52.5	2.9	42.6	22.1	4	0.55	0.85	0.1	0.05
0.7	4	62.8	3.4	49.2	21.1	3	0.94	1.18	0.18	0.06
0.7	5	59.9	4	36.5	24.6	3	0.92	1.25	0.18	0.06
0.7	6	64.3	3	39.7	20	3	0.84	1.15	0.17	0.07
0.7	7	56.1	2.6	46.6	21.1	3	0.77	1.12	0.14	0.08
0.7	8	56	2.5	42.6	22.7	3	0.68	0.78	0.13	0.04
0.7	9	56.8	3	29.9	23.7	3	0.62	0.83	0.09	0.04
0.7	10	50.3	3.2	37.7	27.5	4	0.73	1.05	0.18	0.05
1	1	57.6	2.6	41.9	23	3	0.73	1.02	0.12	0.06
1	2	60.9	3	39.3	26.2	3	0.98	1.25	0.15	0.08
1	3	61.1	2.7	34.6	2.6	3	0.67	1.03	0.12	0.04
1	4	55.1	3	42.1	27.1	3	0.61	0.97	0.11	0.06
1	5	50.1	3.1	34.2	23.3	3	0.76	1.24	0.16	0.08
1	6	58.8	2.9	38.7	25.3	3	0.81	0.94	0.12	0.09
1	7	53.4	2.7	39.9	24.4	3	0.9	1.2	0.14	0.09
1	8	68.9	2.7	35.8	24.4	3	0.71	1.04	0.1	0.07
1	9	59.4	2.9	42.3	23.3	4	0.79	1.25	0.16	0.07
1	10	58.3	2.5	35	23.5	3	0.78	1.09	0.11	0.08

TRATAMIENTO D, Concentración  $1.88 \times 10^7$  MCU/mL

Gramaje	Parámetro	Altura de Planta	Diámetro de Tallo	Ancho Hoja	Largo de Hoja	Número de Hojas	Peso de Raíz	Peso Fresco	Peso Seco	Peso Seco Raíz
Control	1	64.67	2.7	28.68	25.15	3	1.77	1.13	0.15	0.09
Control	2	61.69	2.87	35.58	26.95	3	1.86	1.28	0.14	0.11
Control	3	73.48	2	31.69	27.95	3	1.45	1.16	0.14	0.09
Control	4	74.57	3.21	42.64	26.02	3	1.81	1.31	0.16	0.1
Control	5	70.09	2.63	43.02	26.5	3	1.07	0.89	0.12	0.06
Control	6	91.99	3.65	29.85	31.21	3	1.08	1.53	0.19	0.11
Control	7	75.78	2.71	45.68	30.18	3	0.82	0.86	0.09	0.06
Control	8	71.43	2.82	29.33	25.39	4	1.46	1.68	0.2	0.11
Control	9	75.58	3.08	47.87	28.91	4	1.18	1.62	0.13	0.09
Control	10	65.25	2.58	39.16	28.09	3	1.36	1.11	0.11	0.1
0.1	1	62.43	2.63	37.56	30.66	4	1.62	1.43	0.16	0.11
0.1	2	70.69	2.69	45.49	27.52	2	1.5	1.11	0.14	0.08
0.1	3	67.93	2.68	42.2	31.22	3	1.84	0.93	0.11	0.09
0.1	4	62.61	2.43	44.09	28.01	3	1.7	1.19	0.12	0.09
0.1	5	55.93	2.07	39.38	24.44	3	1.94	0.93	0.13	0.07
0.1	6	66.59	2.28	28.84	25.65	4	1.84	1.11	0.16	0.07
0.1	7	53.13	3	33.19	26.11	4	1.6	1.04	0.11	0.1
0.1	8	71.11	2.59	40.14	25.22	3	1.38	1.04	0.11	0.07
0.1	9	63.7	2.68	68.19	25.37	3	1.8	1.08	0.14	0.09
0.1	10	62.22	2.79	34	29	3	1.51	1.14	0.12	0.09

Gramaje	Parámetro	Altura de Planta	Diámetro de Tallo	Ancho Hoja	Largo de Hoja	Número de Hojas	Peso de Raíz	Peso Fresco	Peso Seco	Peso Seco Raíz
0.3	1	54.65	2.31	30.38	23.89	4	1.32	0.86	0.1	0.09
0.3	2	55.5	3.2	50.38	28.3	3	1.47	1.07	0.12	0.08
0.3	3	64.9	2.43	35.3	28.83	4	1.51	0.83	0.09	0.13
0.3	4	36.04	3	27.31	25.67	6	1.5	0.93	0.1	0.06
0.3	5	66.85	2.82	48.6	28.99	3	1.93	1.32	0.15	0.11
0.3	6	64.54	2.64	47.29	27.23	3	2.14	1.15	0.14	0.11
0.3	7	59.69	3.26	43.4	28.48	4	1.31	0.95	0.1	0.08
0.3	10	51.2	2.36	32.61	29.47	4	1.71	1.32	0.16	0.11
0.5	1	62.92	2.78	32.63	28.04	4	1.85	1.23	0.15	0.12
0.5	2	55.33	2.39	35.36	31.62	4	1.21	1.01	0.1	0.04
0.5	3	61.75	3.21	45.06	27.89	3	2.18	1.32	0.13	0.1
0.5	4	49.86	2.61	31.89	27.33	3	2.11	1.09	0.12	0.09
0.5	5	62.87	2.81	43.83	25.12	3	2.31	1.32	0.14	0.1
0.5	6	67.11	3.46	30.7	23.7	4	2.29	1.38	0.19	0.12
0.5	7	78.5	2.76	32.09	29.82	3	2.18	1.3	0.13	0.09
0.5	8	76.67	2.84	32.57	24.25	3	1.65	1.27	0.13	0.08
0.5	9	72.49	2.73	45.01	28.94	3	2.48	1.21	0.16	0.09
0.5	10	55.1	2.54	33.64	27.97	3	1.54	1.06	0.09	0.06

Gramaje	Parámetro	Altura de Planta	Diámetro de Tallo	Ancho Hoja	Largo de Hoja	Número de Hojas	Peso de Raíz	Peso Fresco	Peso Seco	Peso Seco Raíz
0.7	1	60.08	1.92	31.84	24.67	4	1.24	0.94	0.11	0.1
0.7	2	64.76	2.6	41.5	31.83	3	1.9	1.2	0.18	0.11
0.7	3	68.11	3.22	35.55	30.18	3	1.75	1.04	0.14	0.13
0.7	4	73.07	2.67	38.75	31.21	4	1.46	1.12	0.14	0.12
0.7	5	60.09	2.8	37	30.98	3	1.2	1.1	0.13	0.07
0.7	6	65.67	2.51	37.1	30.06	4	1.35	0.99	0.12	0.08
0.7	7	59.83	2.57	38.42	28.48	3	1.43	0.95	0.16	0.09
0.7	8	51.27	2.39	31	27.04	4	1.18	0.75	0.09	0.07
0.7	9	60.44	2.7	35.21	28.6	3	1.34	1.13	0.17	0.1
0.7	10	61.74	2.55	33.31	28.81	3	1.63	1.08	0.14	0.11
1	1	66.79	2.98	44.48	30.85	3	2.15	1.24	0.14	0.12
1	2	69.51	2.74	40.26	29.45	4	2.12	1.33	0.16	0.11
1	3	74.24	2.83	41.27	31.07	3	1.89	1.31	0.15	0.09
1	4	66.26	3.47	46.23	28.82	3	2.36	1.24	0.14	0.09
1	5	58.66	3.2	24.61	23.25	3	1.69	0.96	0.11	0.09
1	6	55.99	3.27	29.68	27.04	4	1.94	1.48	0.17	0.14
1	7	75.3	2.4	34.69	28.56	5	1.73	1.17	0.14	0.1
1	8	57.84	2.88	47.95	31.65	3	1.9	0.99	0.11	0.08
1	9	58.58	2.51	45.28	21.49	3	2.03	1.04	0.12	0.1
1	10	61.89	2.51	39.63	25.44	3	1.36	1.18	0.13	0.08

TRATAMIENTO E, Concentración  $2.69 \times 10^7$  MCU/mL

Gramaje	Parámetro	Altura de Planta	Diámetro de Tallo	Ancho Hoja	Largo de Hoja	Número de Hojas	Peso de Raíz	Peso Fresco	Peso Seco	Peso Seco Raíz
Control	1	64.22	3.03	36.58	29.03	3	1.03	1.11	0.15	0.1
Control	2	62.66	3.11	36.8	30.38	3	1.18	1.3	0.17	0.12
Control	3	77.4	2.64	47.41	31.82	2	1.18	1.21	0.13	0.11
Control	4	81.2	2.88	38.06	28.8	2	1.05	1.22	0.18	0.1
Control	5	80.1	2.95	38.34	28.35	3	1.92	1.13	0.15	0.09
Control	6	69.59	2.91	31.9	26.93	3	1.01	0.97	0.13	0.08
Control	7	62.63	2.53	26.65	24.3	3	1.11	1.15	0.17	0.1
Control	8	53.41	2.41	35.56	29.97	3	1.02	1.11	0.14	0.09
Control	9	59.61	2.53	40.61	28.47	3	1.23	1.07	0.17	0.11
Control	10	69.09	2.86	44.47	32.68	4	1.14	1.22	0.15	0.11
0.1	1	64.68	2.84	33.37	26.4	3	1.24	1.4	0.17	0.13
0.1	2	69.26	2.81	34.91	25.45	4	1.06	1.13	0.13	0.1
0.1	3	70.92	4.86	31.1	26.13	3	0.76	1.01	0.11	0.08
0.1	4	70.39	2.8	37.11	29.32	3	1.05	1.2	0.15	0.12
0.1	5	60.64	2.72	41.25	30	3	0.95	0.88	0.1	0.1
0.1	6	60.38	2.2	26.93	28.84	3	1.08	1.27	0.14	0.1
0.1	7	51.84	3.34	26.03	22.15	3	1.08	1.07	0.17	0.12
0.1	8	70.34	3.26	36.8	28.33	3	1.03	1.08	0.12	0.1
0.1	9	85.75	2.8	33.46	26	3	1.07	1.21	0.12	0.12
0.1	10	73.8	2.41	31.29	33.7	3	1.17	1.26	0.17	0.12

Gramaje	Parámetro	Altura de Planta	Diámetro de Tallo	Ancho Hoja	Largo de Hoja	Número de Hojas	Peso de Raíz	Peso Fresco	Peso Seco	Peso Seco Raíz
0.3	1	78.43	3.32	28.04	30.4	3	1.57	1.39	0.18	0.11
0.3	2	67.53	3.19	36.36	30.9	3	1.32	1.32	0.15	0.1
0.3	3	71.5	2.44	36.55	31.86	3	1.27	1.26	0.17	0.09
0.3	4	64.79	3.19	36.68	29.1	3	1.65	1.47	0.16	0.12
0.3	5	65.46	3.13	42.14	30.5	4	1.82	1.7	0.22	0.13
0.3	6	74.83	3.62	75.46	30.81	3	1.58	1.59	0.2	0.12
0.3	7	77.62	2.99	35.64	27.95	4	1.94	1.61	0.21	0.14
0.3	8	56.4	2.5	32.89	25.92	4	0.98	1.22	0.11	0.08
0.3	9	66.25	3.36	51.12	36.66	4	1.23	1.46	0.17	0.09
0.3	10	86.69	2.92	29.12	20.35	4	1.2	1.56	0.19	0.08
0.5	1	72.25	2.63	44.31	45.1	3	1.6	1.09	0.15	0.13
0.5	2	67.84	2.87	43.09	35.46	3	1.44	1.44	0.17	0.09
0.5	3	76.39	3.38	33.67	23.9	3	1.39	1.02	0.15	0.1
0.5	4	57.44	2.05	28.15	24.67	3	1.28	0.8	0.09	0.08
0.5	5	59	2.78	33.63	23.62	5	1.8	1.23	0.15	0.15
0.5	6	53.82	2.63	25.65	20.58	4	1.33	1.04	0.13	0.1
0.5	7	62.67	2.22	30.95	24.93	3	1.37	1.05	0.12	0.08
0.5	8	77.11	2.62	43.44	28	3	1.35	1	0.13	0.09
0.5	9	76.68	2.18	38.9	32.05	3	1.58	1.21	0.13	0.12
0.5	10	63.61	2.41	23.66	25.99	3	1.13	0.73	0.08	0.08

Gramaje	Parámetro	Altura de Planta	Diámetro de Tallo	Ancho Hoja	Largo de Hoja	Número de Hojas	Peso de Raíz	Peso Fresco	Peso Seco	Peso Seco Raíz
0.7	1	72.5	3.16	38.31	35.27	3	1.4	1.33	0.16	0.1
0.7	2	66.19	3.66	34.64	27.42	3	1.7	1.3	0.17	0.18
0.7	3	66.22	2.96	29.63	25.43	3	1.2	1.16	0.16	0.08
0.7	4	69.67	2.83	35.22	25	3	1.75	1.16	0.14	0.17
0.7	5	84.19	2.85	42.08	32.29	3	1.6	1.4	0.18	0.12
0.7	6	69.93	2.47	32.84	31.67	3	1.81	1.3	0.19	0.16
0.7	7	59.47	2.06	32.61	25.46	3	0.99	0.91	0.16	0.12
0.7	8	65.14	2.62	33.1	25.91	3	1.98	1.22	0.11	0.06
0.7	9	107.85	2.68	33.06	25.63	4	1.59	1.37	0.13	0.15
0.7	10	90.47	2.93	28.97	24.57	3	1.51	1.23	0.19	0.11
1	1	70.27	3.6	27.58	20	4	0.85	0.88	0.12	0.07
1	2	60.68	2.68	27.08	28.5	3	1.2	0.98	0.13	0.08
1	3	68.66	2.78	31.46	26.69	3	1.3	1.24	0.13	0.1
1	4	57.37	2.38	35.51	25.6	3	1.09	0.77	0.12	0.08
1	5	66.93	2.35	32.87	28.26	3	1.09	0.98	0.1	0.08
1	6	61.35	2.67	34.05	26.36	3	1.77	1.27	0.15	0.14
1	7	46.86	2.37	24.44	21.4	4	0.75	0.65	0.09	0.06
1	8	62.67	3.08	54.37	33.62	4	1.44	1.58	0.15	0.11
1	9	78.38	3.67	43.51	28.81	3	1.3	1.37	0.16	0.11
1	10	43.51	3.01	41.39	31.17	3	0.97	1.07	0.12	0.08



