

Evaluación de consorcios micorrícicos arbusculares nativos en interacción con niveles de fósforo en la promoción del crecimiento y fotosíntesis de *Stevia rebaudiana* Bertoni

Evaluation of native arbuscular mycorrhizal consortia in interaction with phosphorus levels in the promotion of growth and photosynthesis of *Stevia rebaudiana* Bertoni

R. Cauch-Cauch¹, J.M. Tun-Suárez¹, J. Cristóbal-Alejo¹, E. Herrera-Parra², R. Andueza-Noh¹ and M.G. Lozano-Contreras^{2*}

¹ Departamento de Estudios de Posgrado e Investigación, Tecnológico Nacional de México, Conkal, Yucatán, México.

² Departamento de Biotecnología, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Mochochá, Yucatán, México.

RESUMEN

La creciente demanda de *Stevia rebaudiana* Bertoni como edulcorante natural, exige la búsqueda de sistemas de producción más sostenibles. El fósforo es indispensable en este cultivo, al estar involucrado en procesos de transformación de energía y biosíntesis de fitoquímicos; su poca disponibilidad afecta la producción y retarda el crecimiento de las plantas. La simbiosis con hongos micorrícicos arbusculares (HMA) representa una vía sostenible para aumentar la producción de los cultivos, gracias a una mejor absorción de nutrientes, particularmente fósforo. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de consorcios de HMA nativos, provenientes de las localidades: Reserva Cuxtal (RC), Tizimín (TZ) y Colonia Yucatán (CY) pertenecientes al estado de Yucatán, en interacción con porcentajes de fósforo en base a su requerimiento nutricional, sobre parámetros de crecimiento y fotosíntesis en *S. rebaudiana* a nivel invernadero. Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo bifactorial 4 X 5. Los resultados indicaron que, a bajas concentraciones de fósforo, hay mayor colonización micorrícica. Los tratamientos RC+25 % P y CY+25 % P aumentaron el crecimiento, mejoraron la arquitectura aérea de las plantas y la producción de biomasa, derivado de un mayor contenido de clorofila y mejor tasa fotosintética con respecto a plantas no inoculadas.

Palabras clave: hierba dulce; edulcorante natural; asociación; colonización; fosfato.

ABSTRACT

The growing demand for *Stevia rebaudiana* Bertoni as a natural sweetener requires the search for more sustainable production systems. Phosphorus is essential in this crop, as it is involved in processes of energy transformation and biosynthesis of phytochemicals; its low availability affects production and retards plant growth. Symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) represents a sustainable way to increase crop production, thanks to a better absorption of nutrients, particularly phosphorus. The objective of this study was to evaluate the effect of native AMF consortia, from the locations: Reserva Cuxtal (RC), Tizimín (TZ) and Colonia Yucatán (CY) belonging to the state of Yucatán, with percentages of phosphorus based on its nutritional requirement, on growth parameters and photosynthesis in *S. rebaudiana*

at the greenhouse level. A completely randomized design with a 4X5 bifactorial arrangement was used. The results indicated that, at low concentrations of phosphorus, there is greater mycorrhizal colonization. The RC+25 % P and CY+25 % P treatments increased growth, improved the aerial architecture of the plants and biomass production, derived from a higher chlorophyll content and a better photosynthetic rate compared to non-inoculated plants.

Keywords: sweet grass; natural sweetener; association; colonization; phosphate.

INTRODUCCIÓN

La creciente demanda por edulcorantes naturales sin calorías sitúa la planta de *S. rebaudiana* como cultivo potencial en el mercado alimentario y farmacéutico (Ahmad *et al.*, 2020). Las hojas de *S. rebaudiana* son una parte importante en la planta, presentan una composición única de glucósidos que son biológica y económicamente importantes, su poder edulcorante es mayor a la sacarosa (Tavarini *et al.*, 2015). El rendimiento del cultivo depende en gran medida del crecimiento de las plantas y su producción de hojas (Mandal *et al.*, 2013; Uçar *et al.*, 2018), que, a su vez depende de la eficiencia en la absorción de nutrientes con baja disponibilidad y movilidad en el suelo (Vafadar *et al.*, 2014). El fósforo es un nutriente esencial en la nutrición de la planta (Abdel-Fattah *et al.*, 2014), interviene en procesos de transporte, almacenamiento y transformación de energía, en la fotosíntesis, respiración, división y elongación celular (Dissanayaka *et al.*, 2021). Además, estimula la formación de órganos en las plantas, el crecimiento radicular y la formación de brotes. Sin embargo, en la mayoría de los suelos agrícolas, su disponibilidad es limitada y la producción de los cultivos se ve seriamente restringida (Richardson, 2001).

En las plantas, existen dos formas de absorción de fósforo; una es por medio de los propios transportadores de la planta y la otra ocurre a través de la simbiosis de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) (Sarmiento-López *et al.*, 2020). La simbiosis entre HMA y las plantas es una asociación de tipo mutualista, ya que ambos simbiosistas se benefician (Waller *et al.*, 2018). Los HMA obtienen fotosintatos de la planta, a cambio, forman un sistema ramificado de hifas

*Autor para correspondencia: Mónica Guadalupe Lozano Contreras
 Correo electrónico: lozano.monica@inifap.gob.mx

Recibido: 21 de junio de 2022

Aceptado: 18 de septiembre de 2022

extraradicales capaces de explorar el suelo más allá de la zona de influencia de las raíces, esta condición en el suelo favorece la traslocación de agua y nutrientes para la planta (particularmente de fósforo) y mejora la tasa fotosintética, al regular la conductancia estomática, lo que promueve la producción de los cultivos (Nouri *et al.*, 2014; Adolfsson *et al.*, 2015; Tekaya *et al.*, 2017; Kothe y Turnau, 2018). Los HMA representan una herramienta útil en la agricultura moderna, ya que puede reducir los insumos químicos, así como el impacto en el medio ambiente (Giovannini *et al.*, 2020). En los últimos años, los HMA se han utilizado para promover el aumento de la producción en cultivos de importancia económica (Quiñones-Aguilar *et al.*, 2014; Alvarado Carrillo *et al.*, 2014; Díaz Franco *et al.*, 2015). También se han reportado aumentos en la productividad de *S. rebaudiana* por efecto de la simbiosis micorrízica. Por ejemplo; Tedone *et al.* (2020) reportaron que la inoculación de HMA en *S. rebaudiana* influyó significativamente en la producción de biomasa seca aérea. Asimismo, Aguirre-Medina *et al.* (2020) observaron un aumento en el área foliar y en el número de hojas de *S. rebaudiana* a los 90 días después de la inoculación con *Rhizophagus intraradices*. Los beneficios sinérgicos de la inoculación de HMA en *S. rebaudiana* también han mejorado significativamente el crecimiento de brotes y longitud de raíz (Vafadar *et al.*, 2014). Por su parte, Sarmiento-López *et al.* (2020) observaron un aumento en el peso fresco de hojas y raíces en plantas de *S. rebaudiana* inoculadas con *R. irregularis* y fertilizadas con 200 μM de fósforo. Adicionalmente, Mandal *et al.* (2013) describen que la mejora en los aumentos en la producción de los cultivos, involucra mecanismos tanto nutricionales como no nutricionales, estos resultados sugieren la importancia del papel del fósforo en la simbiosis de HMA y *S. rebaudiana*, ya que el fósforo puede inhibir la colonización micorrízica (Tavarini *et al.*, 2018). En este contexto, se desconoce el nivel de fósforo óptimo que permita el desarrollo de la simbiosis de los HMA nativos de suelos de Yucatán con *S. rebaudiana*. Por otro lado, la mayoría de las especies de HMA utilizados en los sistemas agrícolas corresponden a cepas no nativas, la mayoría de los productos comerciales se centran en una sola especie, lo que limita su efectividad por el hecho de competir con la microbiota local (Kouadio *et al.*, 2017; Giovannini *et al.*, 2020). Se sabe que, la eficiencia de los HMA en las plantas, depende de la riqueza y composición de las especies inoculadas, sin embargo, diferentes cepas de HMA, incluso nativas, pueden tener un efecto diferencial en distintas especies de plantas (Trejo *et al.*, 2011; Vosátka *et al.*, 2012). Por lo tanto, el uso de consorcios nativos de HMA ha demostrado una mayor eficiencia en términos de aumentar el crecimiento y la productividad de las plantas hospederas (Douds *et al.*, 2012; Eun-Hwa *et al.*, 2013; Reyes-Ramírez *et al.*, 2014). Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar la efectividad de consorcios nativos de HMA en interacción con niveles de fósforo en la promoción del crecimiento y tasa fotosintética de *S. rebaudiana* en condiciones de invernadero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio experimental

La investigación se realizó dentro de una estructura protegida en el área de investigación del Instituto Tecnológico de Conkal, Yucatán, ubicado en Av. Tecnológico s/n Conkal, Yucatán, al noreste de Mérida a 21° 04' N y 89° 31' O, a una altitud de 8 m, el clima predominante es Awo (x') (i') g (Márdero *et al.*, 2012).

Consortios de HMA

Se evaluaron tres consorcios nativos de HMA, que fueron nombrados según su lugar de origen, los cuales provenían de localidades diferentes del estado de Yucatán, en suelos donde predominan comunidades vegetales de selva baja caducifolia tropical y suelo de tipo Leptosol (Durán García y García Contreras, 2010). Los consorcios se determinaron como: 1) Reserva Cuxtal (RC); (integrado por *Glomus ambisporum* G.S.Sm. y N.C. Schenck, *G. pustulatum* Koske, Friese, C. Walker y Dalp, *Claroideoglomus claroideum* C. Walker y A. Schussler, *Funneliformis geosporum* y *Ambispora gerdemanni* C. Walker) identificado a nivel morfológico por Herrera-Parra *et al.* (2021); 2) Tizimín (TZ) (sin identificar) y 3) Colonia Yucatán (CY) (sin identificar). Además, se incluyó un tratamiento testigo sin inocular.

Propagación y extracción de HMA

Los consorcios de HMA se propagaron por la técnica de cultivo trampa (Sieverding, 1990), se utilizaron macetas de 10 kg de capacidad con suelo tamizado y mezclado con arena estéril (1:1 v/v) donde se sembraron semillas de sorgo cv. Criollo (*Sorghum bicolor* L.) y maíz (*Zea mays* L.) como macetas de propagación (Herrera-Parra *et al.*, 2021). El cultivo trampa se monitoreó y mantuvo en un vivero a una temperatura de 22 - 38 °C y h: 42 % en las instalaciones del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)-C.E. Mocochoá. Después de 55 días, las plantas trampa se retiraron de la maceta de propagación y se removió el sustrato con las raíces colonizadas, posteriormente, se sembraron nuevas semillas y reinició el ciclo. Se realizaron riegos a capacidad de campo, después de 80 d se suspendió el riego con el fin de estimular la esporulación de los HMA. Después de 112 d se tomó una muestra de 100 g de cada maceta de propagación y se extrajeron los HMA siguiendo el método de tamizado y decantación en húmedo por centrifugación (Gerdemann y Nicolson, 1963). El suelo se homogenizó en agua y se agitó, la solución se filtró a través de una serie de tamices con apertura de mallas de 600, 425, 90 y 25 μm , y de las fracciones retenidas se extrajeron las esporas de los HMA mediante filtración a vacío.

Obtención del inóculo

Para la obtención del inóculo, se desinfectaron las esporas adicionando Tween 20 a 0.05 %, se centrifugaron a 500 rpm por 1 minuto, después se eliminó el sobrenadante y se adicionó Cloramina T al 2 %, se centrifugó a 500 rpm durante 15 min, estos dos procedimientos se repitieron en

dos ocasiones, finalmente, se retiró el sobrenadante (Bécard y Piché, 1992). Cada consorcio contenía 110 esporas mL⁻¹ con un promedio de cuatro morfoespecies presentes. Los inóculos se mantuvieron a 4 °C hasta su aplicación.

Material vegetal

Se utilizaron plantas de *Stevia rebaudiana* Bertoni variedad Morita II, propagadas por esqueje, a partir de plantas cultivadas con seis meses de edad. El material vegetal fue proporcionado por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), C.E. Mochochá.

Establecimiento del experimento

El trasplante se realizó el 9 de marzo de 2021, cuando las plántulas alcanzaron una altura de 15 cm en promedio. Se utilizaron bolsas de vivero con capacidad de 7 L. Las bolsas se distribuyeron dentro de un invernadero a una distancia de 0.30 y 1.0 m entre plantas e hileras, respectivamente. Se aplicó riego por goteo con el 80 % de la evapotranspiración de referencia, calculado en mm día⁻¹, para ello se utilizaron los registros diarios de la evaporación de un tanque evaporímetro tipo A, instalado dentro del área experimental (Cauich-Cauich *et al.*, 2018). Las temperaturas promedio registradas, en la temporada de crecimiento fueron de 38.8 °C como máxima y 22.5 °C como mínima, mientras que la humedad relativa osciló entre 26 - 91 %.

Propiedades fisicoquímicas del sustrato

El análisis fisicoquímico del sustrato (Tabla 1), se realizó en el laboratorio de análisis de suelos, plantas y agua (LASPA) de la Universidad Autónoma de Yucatán. La muestra correspondió a 1 kg del sustrato compuesto de una mezcla de suelo y bagazo viejo de henequén (2:1 v/v). Se realizaron los siguientes métodos: Textura (Hidrómetro de Bouyucos), pH (Potenciómetro), Conductividad Eléctrica (Conductómetro), Nitrógeno total (Micro-Kjeldahl), Fósforo disponible (Olsen; extracción con bicarbonato de sodio), Potasio intercambiable (Extraído con acetato de amonio, por el método de cobaltonitrato), Materia orgánica (Walkley-Black). El sustrato se esterilizó por flujo de vapor a 126 °C durante 7 h utilizando una caldera generadora de vapor (Sioux corporation, Beresford, USA).

Manejo del cultivo

Se realizaron dos podas de formación al cultivo, la primera se realizó a los 10 días después del trasplante (ddt) con la finalidad de eliminar la dominancia apical e inducir brotes y la segunda se realizó a los 20 ddt para eliminar la floración

del cultivo, la cual no es recomendable por que disminuye el tamaño de la hoja. La cosecha de hojas se llevó a cabo a los 120 ddt al final de la evaluación (Cauich-Cauich *et al.*, 2018). A partir de 30 ddt se suministró fertilización nitrogenada y potásica vía Drench (con 4.09 g N como nitrato de amonio y 4.50 g K como nitrato de potasio por planta respectivamente), se realizaron aplicaciones foliares a punto de rocío de productos orgánicos: Fungicida BioEquus; 3 mL L⁻¹ e insecticida Neem Higer; 5 mL L⁻¹ para el control preventivo de plagas y enfermedades.

Diseño experimental

El experimento se estableció bajo un diseño completamente al azar con arreglo bifactorial (4X3) para evaluar el efecto de la interacción entre consorcios nativos de HMA y niveles de fósforo. El factor A correspondió a; consorcios nativos de HMA (RC, TZ, CY más un testigo sin inocular (T)) y como factor B; cinco niveles de fósforo (0, 25, 50, 75 y 100 %) suministrado al inicio de la prueba como; 0, 79, 158, 237 y 316 mg de P₂O₅ kg⁻¹ suelo respectivamente, en función de su exigencia nutricional (19 kg ha⁻¹ ciclo) (Ramírez-Jaramillo y Lozano-contreras, 2017). Los consorcios de HMA se aplicaron directamente en la zona radicular con 110 esporas al momento del trasplante. La interacción de los factores totalizó 20 tratamientos, con 4 repeticiones y 80 unidades experimentales.

Determinación de la colonización micorrícica

A los 120 ddt se estimó el porcentaje de colonización por HMA, las raíces se lavaron con agua de la llave, se transportaron al laboratorio y se tiñeron con azul de tripano 0.05 %, siguiendo la técnica de Phillips y Hayman (1970). Con las raíces teñidas se realizaron preparaciones permanentes para observar las estructuras de HMA que indicaban colonización (micelio, esporas, vesículas, arbusculos y enrollamientos). La colonización micorrícica total se calculó según el método de intersección de líneas (Giovannetti y Mosse, 1980). Para cada tratamiento, se evaluaron 100 segmentos de raíces de cinco plantas.

Parámetros del crecimiento vegetativo

Al final del experimento (120 ddt) se evaluó el crecimiento de la planta mediante las variables; altura final de la planta (cm), medida con un flexómetro desde la base del tallo hasta el último ápice foliar, diámetro del tallo (mm), medido con un vernier digital colocado a 3 cm de la superficie del suelo, número de ramas (n planta⁻¹), longitud de la raíz (cm) con un flexómetro, volumen de raíz (cm³) con base en el

Tabla 1. Características fisicoquímicas del sustrato utilizado en el experimento.

Table 1. Physico-chemical characteristics of the substrate used in the experiment.

Arena (%)	Limo (%)	Arcilla (%)	Clase textural	Materia orgánica (%)	pH	C.E. (dS m ⁻¹)	CIC (meq/100g)	N Total (%)	P Disponible (mg kg ⁻¹)	K Intercambiable (meq/100g)
57.32	14	28.68	Franco arcillo-arenoso	9.58	6.3	0.007	121.23	0.83	74.335	0.19

C.E: Conductividad eléctrica, CIC: Capacidad de intercambio catiónico, N: Nitrógeno, P: Fósforo, K: Potasio

principio de Arquímedes, usando una balanza de precisión y un vaso de precipitados con agua, al sumergir las raíces en el agua, sin tocar las paredes del vaso, se registra un aumento de peso en el sistema (medido en g) que equivale al volumen de la raíz en cm³, y área foliar (cm²), con un integrador electrónico de área modelo LICOR LI300 (LI-COR, Inc. Lincoln, NE). Adicionalmente se calculó el índice morfológico; relación raíz a brote (materia seca de raíz / materia seca aérea (tallos y hojas) como indicador de la calidad de la planta (Arizaleta y Pire, 2008).

Se determinó la producción y distribución de biomasa seca (g planta⁻¹), para ello se separaron los órganos de la planta (raíz, tallo y hojas), los cuales se depositaron en bolsas de papel y se secaron en una estufa de aire forzado a 70 °C por 72 h hasta peso constante, posteriormente se pesaron en una balanza analítica.

Determinación de parámetros fisiológicos

El valor relativo de clorofila como índice SPAD, se midió con un medidor de clorofila portátil SPAD-502 plus Minolta según la metodología de Markwell *et al.* (1995). El intercambio de gases; tasa de asimilación neta de CO₂ (fotosíntesis), conductancia estomática, transpiración y uso eficiente del agua a escala foliar, se midieron con un analizador de gases en infrarrojo (LICOR LI-6400, Nebraska, Estados Unidos). Las mediciones de clorofila e intercambio de gases, se realizaron a los 120 ddt en cuatro hojas jóvenes totalmente expandidas ubicadas en el estrato alto de tres plantas por tratamiento, entre las 12:00 y 13:00 horas cuando ocurría la mayor densidad de flujo de fotones (1000 μmol m⁻² s⁻¹) (Garraña-Hernández *et al.*, 2014).

Análisis estadístico

Con los datos obtenidos de las variables, se realizaron análisis de varianza y para el caso de los datos relacionados con la colonización de los HMA (porcentaje de colonización total) que no cumplieron con los supuestos de distribución normal, fueron transformados para homogenizar varianzas mediante la función de arco seno; $y = \arcsin(\sqrt{\text{colonización}})$. Se aplicó como comparador de medias el método de Tukey ($P \leq 0.05$) mediante el paquete estadístico InfoStat versión 2014 (Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Colonización micorrícica total en *S. rebaudiana*

Los consorcios nativos de HMA utilizados en el estudio, colonizaron las raíces de *S. rebaudiana* a los 120 ddt. La fertilización con fósforo afectó significativamente ($P \leq 0.05$) la colonización de los consorcios micorrícicos RC, TZ y CY. El porcentaje de colonización total mostró un comportamiento inversamente proporcional a la concentración de fósforo, es decir, mientras mayor fue la concentración de fósforo aplicado, menor fue el porcentaje de colonización. La interacción entre RC+0 y RC+79 mg de P₂O₅ kg⁻¹ suelo, fue superior en el porcentaje de colonización total observada de los consorcios de HMA en *S. rebaudiana* (80.6 y 74.6% respectivamente), sin embargo, RC+79 mg de P₂O₅ kg⁻¹ suelo no se diferenció estadísticamente ($P \leq 0.05$) de TZ y CY con la misma concentración de fósforo (62.2 y 58.8 % respectivamente) (Figura 1). Por el contrario, el porcentaje de colonización total disminuyó en los consorcios CY, RC y TZ cuando se fertilizó con 316 mg de P₂O₅ kg⁻¹ suelo, registrando 30.4, 26.4 y 23.8 % respectivamente, sin embargo, esta disminución no obstaculizó el

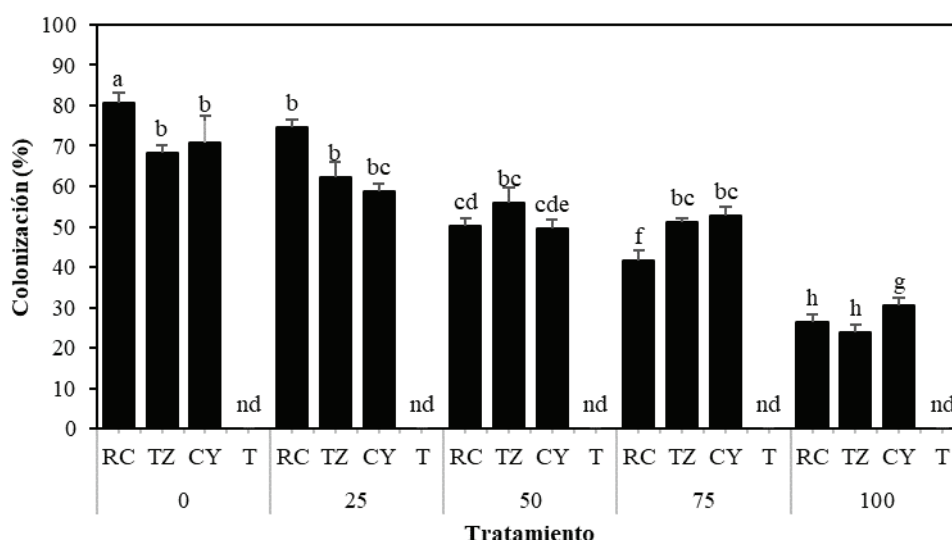


Figura 1. Porcentaje de la colonización micorrícica total en raíces de *S. rebaudiana* con consorcios nativos de HMA y niveles de fósforo a los 120 ddt. nd: no detectado. Las letras distintas indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$, prueba de Tukey), $n = 5$.

Figure 1. Percentage of total mycorrhizal colonization in roots of *S. rebaudiana* with native AMF consortia and phosphorus levels at 120 dat. nd: not detected. Distinct letters indicate significant differences ($P \leq 0.05$, Tukey Test), $n = 5$.

efecto que los HMA pudieron tener sobre otras variables. Por otro lado, no se detectó colonización en plantas testigo. Se observaron hifas extra e intraradicales, vesículas y esporas y arbusculos bajo microscopio compuesto a 10, 40 y 100 X en muestras representativas de cada consorcio con 79 mg de P_2O_5 kg^{-1} suelo (Figura 2). Al respecto, la disponibilidad del fósforo puede influir en la simbiosis HMA-planta y, en consecuencia, en la biomasa de la raíz (Balzergue *et al.*, 2013). Smith *et al.* (2011) obtuvieron resultados similares, al observar una reducción significativa en el porcentaje de colonización, asociada con aumentos en las dosis de fósforo en el suelo. También son congruentes con los resultados de Mandal *et al.* (2013), quienes obtuvieron 87 % de colonización total en plantas de *S. rebaudiana* inoculadas con *Rhizophagus fasciculatus*, y una reducción al 74 % cuando se aplicó 50 mg de P_2O_5 kg^{-1} suelo. Por su parte, Tavarini *et al.* (2018) confirmaron que *S. rebaudiana* es susceptible a la colonización por HMA observando un porcentaje de colonización del 87.6 %; sin embargo, adicionando 50 mg de P_2O_5 kg^{-1} suelo, obtuvieron 75.8 % de raíces colonizadas. Al respecto, se ha reportado que, la presencia de estrigolactonas (hormonas vegetales involucradas en la etapa presimbiótica) se correlaciona negativamente con la concentración de fósforo. Es decir, aumentan en condiciones deficientes de fósforo, favoreciendo la colonización micorrícica (López-Ráez *et al.*, 2011; López-

Ráez y Pozo, 2013). En contexto con los hallazgos previos, los consorcios nativos de HMA evaluados en este estudio (RC, TZ y CY), mostraron potencial para colonizar de 65 a 74.8 % las raíces de *S. rebaudiana* actuando en sinergia con 79 mg de P_2O_5 kg^{-1} suelo.

Efecto en el crecimiento vegetativo de *S. rebaudiana*

La respuesta de las plantas de *S. rebaudiana* en el crecimiento vegetativo, se determinó a los 120 ddt. El efecto principal de los consorcios de HMA, presentó diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en las variables: número de ramas, área foliar, volumen de raíz y en la relación raíz/brote. El efecto de los niveles de fósforo presentó significancia ($P \leq 0.05$) en las variables: área foliar y volumen de raíz, mientras que, la interacción entre los consorcios de HMA y los niveles de fósforo tuvo efectos significativos ($P \leq 0.05$) en la altura final, diámetro del tallo y longitud de raíz.

Las plantas más altas se registraron en los tratamientos CY, TZ y RC en interacción con 158 mg de P_2O_5 kg^{-1} suelo, alcanzando una altura final de 31.6, 31.5 y 31.2 cm respectivamente, teniendo un efecto estadísticamente igual ($P \leq 0.05$) entre sí, junto con RC y TZ con 79 mg de P_2O_5 kg^{-1} suelo (29.8 y 30.3 respectivamente), pero diferente con el tratamiento T+316 mg de P_2O_5 kg^{-1} suelo (26.8 cm) que representa la fertilización convencional (Tabla 2). Las plantas inoculadas con consorcios nativos de HMA mejoraron la altura incluso sin fertilización con fósforo en comparación con plantas testigo, probablemente a que tuvieron un mayor porcentaje de colonización. Este resultado pone en evidencia la diferencia significativa ($P \leq 0.05$) del uso de HMA junto a niveles de fósforo menores a la fertilización convencional, sobre la mejora en altura de las plantas en *S. rebaudiana*.

Diversos estudios destacan la capacidad de los consorcios de HMA para promover el crecimiento de hortalizas de importancia económica como chile serrano y jalapeño (Leos-Escobedo *et al.*, 2022). Por otro lado, Quiñones-Aguilar *et al.* (2014) reportaron un efecto similar en la dinámica de crecimiento de *Carica papaya* L., observando mayor altura con niveles bajos de fósforo junto a la inoculación de *Glomus* spp. Resultados semejantes que involucran fertilización con fósforo fueron los de Alarcón y Ferrera-Cerrato (2003) quienes registraron la mayor altura en plantas de *Citrus volkameriana* Tan & Pasq., cuando se inocularon con un consorcio micorrícico integrado por tres especies del género *Glomus* y fertilizadas con 20 mg de P_2O_5 kg^{-1} suelo. Los HMA son útiles para promover el crecimiento de las plantas sin la necesidad de utilizar altas dosis de fertilizantes (Vafadar *et al.*, 2014).

El diámetro de la base del tallo en las plantas de *S. rebaudiana* fue mayor en los tratamientos CY y RC junto a 79 mg de P_2O_5 kg^{-1} suelo, manteniendo un espesor de 3.8 y 3.7 mm respectivamente, estos valores fueron significativamente diferentes ($P \leq 0.05$) a los obtenidos con T+316 mg de P_2O_5 kg^{-1} suelo (manejo convencional) en un 32 %. En este sentido, el diámetro del tallo, representa un parámetro indispensable en el crecimiento y rendimiento de las plantas, a mayor grosor del tallo, mayor es el área del parénquima vascular, lo que

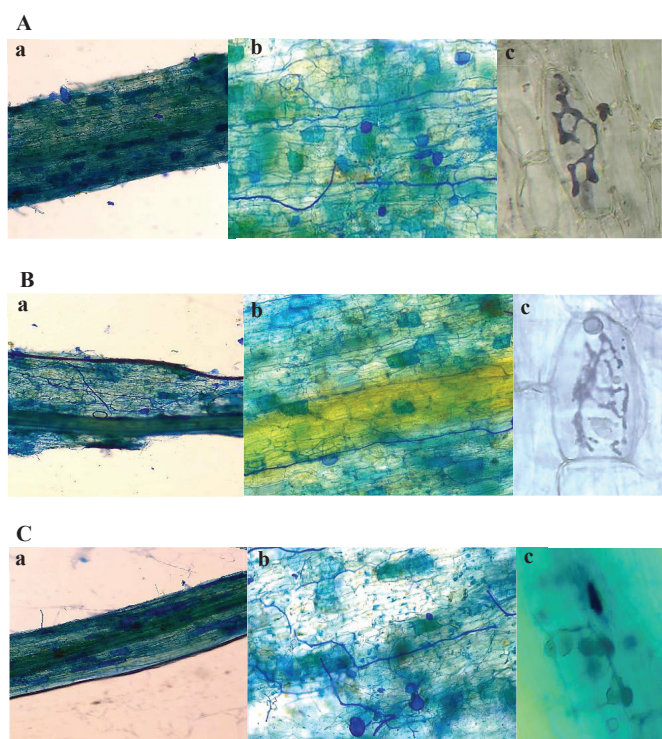


Figura 2. Raíces de *S. rebaudiana* colonizadas con consorcios nativos de HMA. A) raíces colonizadas con B) raíces colonizadas con TZ, y C) raíces colonizadas con CY, hifas extraradicales (a) (10X), vesículas e hifas intraradicales (b) (40X), arbusculo (c) (100X), con 25 % de fertilización con fósforo.

Figure 2. *S. rebaudiana* roots colonized with native AMF consortia. A) roots colonized with RC, B) roots colonized with TZ, and C) roots colonized with CY, extraradical hyphae (a) (10X), vesicles and intraradical hyphae (b) (40X), arbuscule (c) (100X), with 25 % phosphorus fertilization.

Tabla 2. Efecto de la inoculación de consorcios nativos de HMA y la aplicación de fósforo sobre altura final de la planta, diámetro del tallo, número de ramificaciones y área foliar de *S. rebaudiana* a los 120 ddt.

Table 2. Effect of the inoculation of native AMF consortia and the application of phosphorus, on the final height of the plant, stem diameter, number of branches and leaf area of *S. rebaudiana* at 120 dat.

Variable	P (mg de P ₂ O ₅ kg ⁻¹ suelo)	Consortio de HMA				Media
		RC	TZ	CY	Testigo	
Altura (cm)	0	27.3 ± 2.1 ab	25.3 ± 1.0 b	28.4 ± 1.0 ab	19.9 ± 0.4 cd	25.2 B
	59	29.8 ± 1.9 a	30.3 ± 1.3 a	27.5 ± 2.0 ab	20.8 ± 0.8 c	27.1 AB
	158	30.4 ± 1.1 a	28.0 ± 1.6 ab	28.5 ± 0.8 ab	17.7 ± 0.5 e	26.1 B
	237	31.3 ± 0.7 a	31.5 ± 1.7 a	31.6 ± 0.9 a	22.4 ± 1.1 c	29.2 A
	316	29.8 ± 1.4 a	28.2 ± 1.3 ab	28.0 ± 1.3 ab	26.9 ± 0.9 b	28.2 A
Media		29.7 A	28.7 A	28.8 A	21.6 B	
Significancia: HMAxP= *, HMA= **, P= *						
Diámetro del tallo (mm)	0	2.9 ± 0.2 bc	3.2 ± 0.2 b	3.0 ± 0.1 bc	2.3 ± 0.1 c	2.8 B
	59	3.7 ± 0.2 a	3.2 ± 0.1 b	3.8 ± 0.1 a	2.2 ± 0.1 e	3.2 A
	158	3.3 ± 0.1 b	2.7 ± 0.2 bcd	3.2 ± 0.1 b	2.0 ± 0.1 e	2.8 B
	237	3.1 ± 0.1 bc	3.3 ± 0.2 ab	3.1 ± 0.1 b	2.5 ± 0.1 c	3.0 A
	316	3.4 ± 0.1 ab	3.4 ± 0.1 b	3.1 ± 0.2 b	2.6 ± 0.2 c	3.1 A
Media		3.3 A	3.1 A	3.2 A	2.3 B	
Significancia: HMAxP= *, HMA= **, P= *						
Número de ramificaciones (N° planta ⁻¹)	0	12.6 ± 2.3	17.0 ± 3.7	11.1 ± 1.3	8.1 ± 0.7	12.2 B
	59	21.9 ± 1.9	20.8 ± 0.8	23.3 ± 3.3	10.0 ± 0.5	19.0 A
	158	16.8 ± 1.6	13.9 ± 1.9	17.9 ± 1.4	6.8 ± 1.1	13.9 B
	237	15.9 ± 1.4	14.8 ± 0.8	18.3 ± 0.9	6.7 ± 1.0	13.9 B
	316	13.8 ± 3.7	14.0 ± 3.9	13.5 ± 3.4	8.6 ± 2.2	12.5 B
Media		16.2 A	16.1 A	16.8 A	8.0 B	
Significancia: HMAxP= ns; HMA= **, P= *						
Área foliar (cm ²)	0	608.9 ± 127.9	579.9 ± 168.8	625.0 ± 67.5	401.9 ± 42.4	553.9 B
	59	850.4 ± 42.6	561.3 ± 97.6	745.9 ± 31.1	281 ± 23.5	609.7 B
	158	839.2 ± 105.3	778.8 ± 96.4	891.5 ± 120.6	193.2 ± 30.0	675.7 B
	237	1125.4 ± 104.9	1045.7 ± 152.5	1245.5 ± 101.8	393.9 ± 94.1	952.6 A
	316	1071.6 ± 80.4	1003.4 ± 113.6	1117.6 ± 289.5	738.8 ± 125.4	982.9 A
Media		899.1 A	793.8 A	925.1 A	401.8 B	
Significancia: HMAxP= ns; HMA= **, P= *						

Medias (n = 4) ± desviación estándar. Letras minúsculas indican el efecto de la interacción (HMA*P). Letras mayúsculas en la fila indican el efecto de consorcios (HMA). Letras mayúsculas en la columna indican el efecto de niveles de fósforo (P). La significancia se indica como: ns: no significativo, *: significativo a P ≤ 0.05, **: significativo a P ≤ 0.01, ***: significativo a P ≤ 0.001.

Means (n = 4) ± standard deviation. Lower case letters indicate the effect of the interaction (HMA*P). Capital letters in the row indicate the consortium effect (HMA). Capital letters in the column indicate the effect of phosphorus (P) levels. Significance is indicated as: ns: not significant, *: significant at P ≤ 0.05, **: significant at P ≤ 0.01, ***: significant at P ≤ 0.001.

implica mayor reserva de asimilados, así como, mayor área de xilema que posibilita un mayor transporte de agua y nutrientes (Holbrook y Zwieniecki, 2011). Los tratamientos RC y TZ+316 mg de P₂O₅ kg⁻¹ suelo, junto con TZ+237 mg de P₂O₅ kg⁻¹ suelo, superaron en efecto al resto de los tratamientos, incluso con niveles más bajos de fósforo (Tabla 2). Asimismo, de manera similar a la variable altura, se observó un aumento significativo en el grosor del tallo de las plantas inoculadas sin fertilización con fósforo, comparadas con plantas testigo con las mismas condiciones. Tanto en la altura final como en el diámetro del tallo, la inoculación de los consorcios nativos RC y TZ con fósforo, generó mejores resultados frente al efecto de la sola inoculación y la sola fertilización con fósforo, es decir, la sinergia de los factores fue indispensable para promover mayor altura y diámetro en *S. rebaudiana*.

En el número de ramificaciones por planta, no se encontró diferencias significativas (P ≤ 0.05) por efecto de

la interacción de los factores (HMA*P), pero sí por efecto individual tanto de los de los consorcios HMA como de los niveles de fósforo. El efecto de RC, TZ, CY estimulo la formación de 16.9, 16.2 y 16.1 ramificaciones por planta respectivamente, no existiendo diferencias estadísticas entre ellos, pero contrastando su efecto frente a plantas no inoculadas, las cuales registraron en promedio 8.1 ramificaciones por planta, detectando un aumento aproximado del 50 % en plantas inoculadas. Por parte del efecto del factor fósforo, la fertilización con 79 mg de P₂O₅ kg⁻¹ suelo, promovió el mayor número de ramificaciones por planta en promedio (19 n planta⁻¹) en comparación al resto de los niveles evaluados (Tabla 2). Los efectos beneficiosos de la simbiosis de HMA sobre el aumento de ramas y adecuada formación de la parte aérea de la planta (hojas y tallos) han sido bien reportados en la familia Asteracea de donde pertenece *S. rebaudiana* (Rapparini *et al.*, 2008; Aroca *et al.*, 2013). Según Mandal *et*

al. (2015), en *S. rebaudiana*, la simbiosis de HMA induce un cambio en el flujo de metabolitos hacia la biosíntesis de glucósidos de esteviol, en este sentido, la biosíntesis de glucósidos de esteviol y giberelinas (hormonas de crecimiento vegetal) comparten una misma ruta de síntesis (Brandle y Telmer, 2007; Ceunen y Geuns, 2013; Guleria y Yadav, 2013), en relación con eso, las giberelinas están involucradas en la modulación de la ramificación de brotes y el control de la arquitectura aérea de la planta (hojas y tallos) (Rameau *et al.*, 2015) (Ni *et al.*, 2015), lo que podría explicar el aumento del número de ramificaciones observado en las plantas micorrizadas. Por otro lado, aun cuando no se observaron efectos significativos ($P \leq 0.05$) de la interacción HMA*P, aplicar 25 % de P de la fertilización convencional para la región fue idóneo para mejorar el número de ramificaciones en *S. rebaudiana*. Es bien sabido que la fertilización química podría mejorar el crecimiento de las plantas (altura de las plantas, así como el número de ramas) debido al papel del P como componente esencial de los compuestos de fosfoproteínas y energía (Mostafa, 2019). Sin embargo, lograr esa mejora con dosis menores a las recomendadas, reduce el impacto económico y ambiental de los fertilizantes químicos.

El área foliar a los 120 ddt presentó diferencias significativas ($P \leq 0.05$) solo cuando los factores en estudio (HMA y fósforo) se analizaron por separado. A pesar de no encontrarse un efecto significativo de la interacción HMA*P, el análisis de varianza mostró evidencia del efecto individual de cada factor. Asimismo, los consorcios HMA tuvieron diferencias significativas en comparación con plantas testigo, siendo CY y RC los consorcios que marcaron un incremento de 57 y 44 % el área foliar respectivamente. Por su parte, el consorcio TZ tuvo un efecto estadísticamente igual a los anteriores. Sin embargo, los tres consorcios superaron a plantas testigo sin

inocular, que generó en promedio 401.8 cm² (Tabla 2). Estos resultados son similares a los reportados por Aguirre-Medina *et al.* (2020) a los 90 ddt en plantas de *S. rebaudiana* inoculadas con la especie *R. intraradices* y añadidura de estiércol bovino como biofertilizante. En el caso de los niveles del factor fósforo, se observó una tendencia directamente proporcional a la concentración de fósforo suministrado, mientras mayor fue el nivel de fósforo aplicado, el área foliar aumentó (Figura 3). Por lo tanto, este parámetro de crecimiento está directamente relacionado con la capacidad de la planta en la absorción de fósforo (Maniruzzaman *et al.*, 2017). Estos resultados demuestran la influencia de la simbiosis de HMA para expandir la lámina foliar, como se reportó por Sarmiento-López *et al.* (2021), lo que incrementa el área de captación de luz para la fotosíntesis (Tavarini *et al.*, 2015).

El factor de interacción entre consorcios de HMA y niveles de fósforo mostró diferencias significativas ($P \leq 0.05$) sobre la longitud de raíz. Los tratamientos CY+158 mg de P₂O₅ kg⁻¹ suelo y TZ+237 mg de P₂O₅ kg⁻¹ suelo, promocionaron la mayor longitud de raíz a los 120 ddt, alcanzando promedios de 12.11 y 11.67 cm respectivamente (Tabla 3). Estos resultados son similares a los reportados por Cauch-Cauch *et al.* (2018) quienes inocularon una sola especie (*R. intraradices*) en plantas de *S. rebaudiana*, por tanto, la inculación de un consorcio micorrícico no causó mayor efecto en la promoción del alargamiento radicular. En cambio, la interacción HMA*P no fue significativa ($P \leq 0.05$) sobre el volumen de raíz, sin embargo, los consorcios de HMA y niveles de fosforo por separado, mostraron diferencias estadísticas ($P \leq 0.05$). El volumen radicular de las plantas no inoculadas fue en promedio 0.56 cm³, mientras que en las plantas inoculadas con RC, TZ y CY, el volumen de raíz aumentó más del 50 %. Una adecuada arquitectura del sistema radicular en las plantas inoculadas

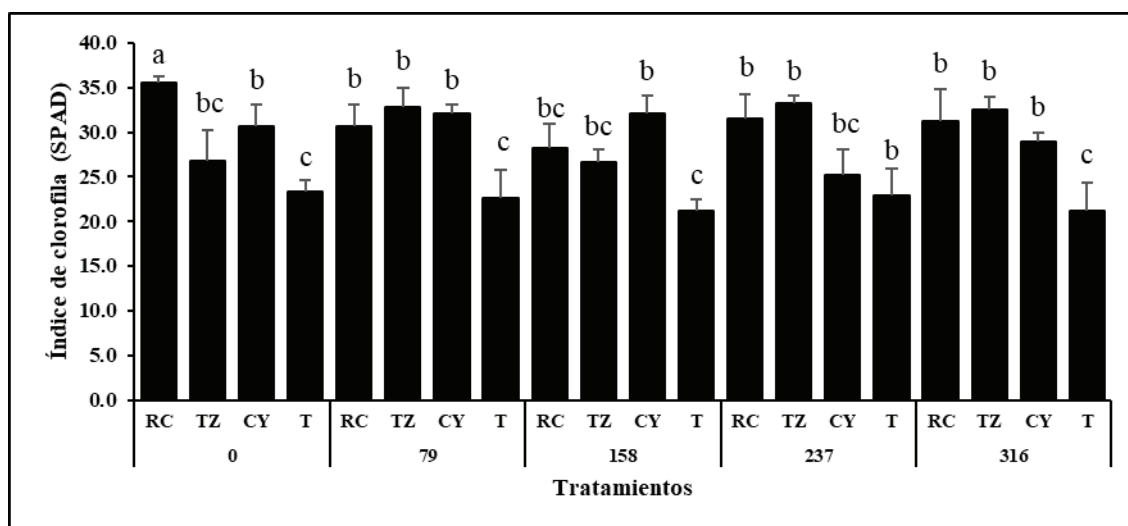


Figura 3. Índice relativo del contenido de clorofila en plantas de *S. rebaudiana* inoculadas con consorcios de HMA (RC, TZ, CY y T) y fertilizadas con niveles de fósforo (0, 79, 158, 237 y 316 mg de P₂O₅ kg⁻¹ suelo) a los 120 ddt. Las letras distintas indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$, prueba de Tukey), $n = 4$.

Figure 3. Relative index of chlorophyll content in *S. rebaudiana* plants inoculated with AMF consortia (RC, TZ, CY and T) and fertilized with phosphorus levels (0, 79, 158, 237 and 316 mg of P₂O₅ kg⁻¹ soil) at 120 dat. Different letters indicate significant differences ($P \leq 0.05$, Tukey's test), $n = 4$.

Tabla 3. Efecto de la inoculación de consorcios nativos de HMA y la aplicación de fósforo, sobre el crecimiento radicular de *S. rebaudiana* a los 120 ddt.
Table 3. Effect of the inoculation of native AMF consortia and the application of phosphorus, on the root growth of *S. rebaudiana* at 120 dat.

Variable	P (mg de P ₂ O ₅ kg ⁻¹ suelo)	Consortio de HMA				
		RC	TZ	CY	Testigo	Media
Longitud de raíz (cm)	0	9.78 ± 0.97 b	9.48 ± 0.70 bc	9.13 ± 0.11 bc	7.29 ± 0.77 d	8.92 BC
	79	9.90 ± 0.63 b	10.53 ± 0.84 ab	10.63 ± 0.26 b	6.91 ± 0.62 d	9.49 B
	158	10.97 ± 0.35 ab	10.21 ± 0.82 b	12.11 ± 0.32 a	6.87 ± 1.02 d	10.04 B
	237	10.87 ± 0.52 ab	11.67 ± 0.43 a	9.27 ± 0.57 bc	6.91 ± 0.88 d	9.68 B
	316	11.26 ± 0.19 ab	10.46 ± 0.20 b	10.79 ± 0.56 ab	10.97 ± 0.42 ab	10.87 A
Media		10.56 A	10.47 A	10.39 A	7.79 B	
Significancia: HMAxP= *, HMA= ***, P= *						
Volumen de raíz (cm ³)	0	0.73 ± 0.28	0.94 ± 0.23	0.84 ± 0.05	0.23 ± 0.02	0.69 C
	79	1.87 ± 0.14	1.76 ± 0.13	1.39 ± 0.41	0.92 ± 0.14	1.48 A
	158	1.33 ± 0.12	1.02 ± 0.10	1.24 ± 0.07	0.65 ± 0.08	1.06 B
	237	1.31 ± 0.13	1.10 ± 0.12	1.09 ± 0.12	0.47 ± 0.10	1.01 B
	316	1.20 ± 0.11	1.31 ± 0.22	1.13 ± 0.15	0.56 ± 0.14	1.05 B
Media		1.29 A	1.23 A	1.14 A	0.56 B	
Significancia: HMAxP= ns; HMA= ***, P= **						
Relación raíz/brote (g planta ⁻¹)	0	0.10 ± 0.03	0.14 ± 0.03	0.08 ± 0.01	0.06 ± 0.03	
	79	0.12 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.21 ± 0.05	
	158	0.14 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.20 ± 0.07	
	237	0.11 ± 0.02	0.07 ± 0.01	0.10 ± 0.02	0.07 ± 0.01	
	316	0.12 ± 0.03	0.11 ± 0.03	0.07 ± 0.00	0.19 ± 0.01	
Media		0.12 B	0.12 B	0.09 C	0.15 A	
Significancia: HMAxP= ns; HMA= *, P= ns						

Medias (n = 4) ± desviación estándar. Letras minúsculas indican el efecto de la interacción (HMA*P). Letras mayúsculas en la fila indican el efecto de consorcios (HMA). Letras mayúsculas en la columna indican el efecto de niveles de fósforo (P). La significancia se indica como: ns: no significativo, *: significativo a P ≤ 0.05, **: significativo a P ≤ 0.01, ***: significativo a P ≤ 0.001.

Means (n = 4) ± standard deviation. Lower case letters indicate the effect of the interaction (HMA*P). Capital letters in the row indicate the consortium effect (HMA). Capital letters in the column indicate the effect of phosphorus (P) levels. Significance is indicated as: ns: not significant, *: significant at P ≤ 0.05, **: significant at P ≤ 0.01, ***: significant at P ≤ 0.001.

con HMA está relacionada por un estado nutricional favorecido por la simbiosis micorrícica y el estímulo de fitohormonas (Oliveira *et al.*, 2016) aunque, también involucra mecanismos no nutricionales como la capacidad de asimilación de CO₂ en la fotosíntesis (Pan *et al.*, 2020). En cuanto a los niveles de fósforo, la aplicación de 59 mg de P₂O₅ kg⁻¹ suelo, generó el mayor volumen de raíz con 1.48 cm³ (Tabla 3). Por tanto, la inoculación de consorcios de HMA permite usar dosis de fósforo menores a la convencional y obtener los mismos resultados. Según Smith *et al.* (2011), la producción de biomasa, también depende de la capacidad de la planta para generar volumen radicular y tener una adecuada absorción de agua y nutrientes. Sin embargo, la simbiosis de HMA no siempre favorece el crecimiento radicular en las plantas, depende de las especies utilizadas y la planta hospedera. Al respecto, Yao *et al.* (2009) observaron que las especies de HMA *Glomus mosseae* y *G. caledonium* redujeron significativamente el crecimiento radicular en plantas de *Poncirus trifoliata* L. pero, *Gigaspora margarita* y *G. versiforme* influyeron positivamente. Este estudio sugiere que tal comportamiento, se atribuye a los mecanismos que las plantas pueden tener sobre la regulación de fitohormonas (Jiang, 2007), sin embargo, también está involucrada la capacidad y eficiencia de la colonización entre los simbioses (Giovannini *et al.*, 2020).

Para evaluar la proporción de biomasa por encima y por debajo del suelo en las plantas de *S. rebaudiana*, se evaluó la relación raíz/brote, la cual mostró que las plantas inoculadas con consorcios de HMA se diferenciaron (P ≤ 0.05) de las plantas testigo por tener valores bajos en este índice (Tabla 3), lo cual indica, que la simbiosis propició una proporción significativamente mayor de brotes en la parte aérea (hojas y tallo) que de raíces. Al respecto, Smith *et al.* (2011) observaron que las plantas colonizadas por HMA poseen una relación raíz/brote más baja. Por el contrario, el aumento de la relación raíz/brote en las plantas no inoculadas, sugiere el rechazo de la hipótesis de que las plantas con una mayor proporción de raíz tienen más posibilidad de obtener el mayor beneficio de crecimiento (Maherali, 2014). Es decir, aún con una menor relación raíz/brote, con la ayuda de los HMA, las plantas podrían absorber los nutrientes del suelo de manera más eficiente, ahorrar energía y carbono para aumentar al mismo tiempo el crecimiento de los brotes (Zhu *et al.*, 2017).

Producción de biomasa

La respuesta de las plantas de *S. rebaudiana* en la producción de biomasa seca, se determinó a los 120 ddt. El efecto individual de los consorcios nativos de HMA y los niveles de fósforo presentaron diferencias estadísticas (P ≤ 0.05) en la biomasa seca de hojas y de raíz, mientras que, la interacción

entre los dos factores (HMA*P) produjo diferencias ($P \leq 0.05$) en la biomasa seca del tallo y total. El consorcio RC incrementó la biomasa seca de hoja en un 60 % en comparación a plantas testigo, registrando en promedio 21.62 contra 8.60 g planta⁻¹ respectivamente. En cuanto a los niveles de fósforo, la fertilización con 79 mg de P₂O₅ kg⁻¹ suelo causó valores ligeramente altos, sin embargo, estadísticamente el efecto fue igual que con 237 y 316 mg de P₂O₅ kg⁻¹ suelo (Tabla 4). La biomasa seca del tallo fue mayor en los tratamientos TZ y CY con 79 mg de P₂O₅ kg⁻¹ suelo que produjeron 9.81 y 9.46 g planta⁻¹ respectivamente, aunque, estadísticamente, no fueron diferentes con RC y TZ+237 mg de P₂O₅ kg⁻¹ suelo y con CY+316 mg de P₂O₅ kg⁻¹ suelo, pero si marcaron diferencia frente al Testigo+0 y Testigo+79 mg de P₂O₅ kg⁻¹ suelo, que solo generaron 1.50 y 1.89 g planta⁻¹ respectivamente (Tabla 4). Independientemente del nivel de fósforo aplicado,

la simbiosis de los HMA impulsó la respuesta en esta variable. En *S. rebaudiana*, la biomasa de la parte aérea (hojas y tallo) es la parte más importante en el cultivo, ya que es donde se concentra la mayor cantidad de esteviósido y rebaudiosido-A, que le dan la propiedad dulce a la planta (Wölwer-Rieck, 2012). En ese contexto, el uso de HMA se ha relacionado con el aumento de biomasa, y se atribuye a una mejor respuesta al transporte de nutrientes y agua desde lugares donde la raíz no puede explorar (Tarraf *et al.*, 2015). Además, Tavarini *et al.* (2018) subrayan que, en *S. rebaudiana*, los HMA y niveles bajos de fósforo crean un ambiente idóneo que beneficia la producción de biomasa, por lo que, los resultados de este estudio pueden ser considerados en estrategias de producción de *S. rebaudiana*.

La biomasa seca de raíz fue modulada en gran medida por los consorcios RC, TZ y CY, que mostraron efectos

Tabla 4. Efecto de consorcios nativos de HMA y fertilización con fósforo sobre la producción y distribución de biomasa seca de *S. rebaudiana* a los 120 ddt.
Table 4. Effect of native AMF consortia and phosphorus fertilization, on the production and distribution of dry biomass of *S. rebaudiana* at 120 dat.

Biomasa seca (g planta ⁻¹)	P (mg de P ₂ O ₅ kg ⁻¹ suelo)	Consorcios de HMA				
		RC	TZ	CY	Testigo	Media
Hoja	0	11.60 ± 3.97	12.96 ± 3.98	15.63 ± 1.82	4.55 ± 1.05	11.19 C
	79	27.68 ± 2.15	25.85 ± 2.46	27.13 ± 3.77	5.05 ± 0.85	21.43 A
	158	19.65 ± 2.54	14.44 ± 2.25	21.08 ± 1.58	10.98 ± 3.14	16.54 AB
	237	23.59 ± 4.04	24.22 ± 3.19	18.34 ± 2.55	10.48 ± 1.74	19.16 A
	316	25.57 ± 2.37	16.84 ± 1.36	20.21 ± 2.40	11.94 ± 3.03	18.64 A
Media		21.62 A	18.86 A	20.48 A	8.60 B	
Significancia: HMAxP = ns; HMA = ***; P = **						
Tallo	0	4.62 ± 1.36 abc	4.58 ± 1.14 abc	5.41 ± 0.65 abc	1.50 ± 0.28 e	
	79	7.22 ± 0.77 a	9.81 ± 1.13 a	9.46 ± 2.11 a	1.89 ± 0.20 e	
	158	8.17 ± 1.00 a	4.42 ± 0.85 abc	8.10 ± 0.49 a	3.58 ± 0.88 abc	
	237	8.34 ± 1.59 a	9.01 ± 1.83 a	7.10 ± 0.99 a	4.47 ± 1.33 abc	
	316	7.28 ± 0.51 ab	5.41 ± 1.06 abc	7.13 ± 0.98 a	3.98 ± 1.09 abc	
Media		7.13 A	6.64 A	7.44 A	3.08 B	
Significancia: HMAxP = **, HMA = ***; P = ns						
Raíz	0	1.26 ± 0.29	2.10 ± 0.49	1.62 ± 0.10	0.58 ± 0.09	1.39 C
	79	4.04 ± 0.26	4.11 ± 0.49	3.92 ± 0.86	1.38 ± 0.25	3.36 A
	158	3.79 ± 0.26	2.43 ± 0.55	2.90 ± 0.06	0.97 ± 0.13	2.52 AB
	237	3.14 ± 0.23	2.63 ± 0.14	2.27 ± 0.38	1.07 ± 0.26	2.28 AB
	316	4.01 ± 1.27	2.98 ± 0.61	1.84 ± 0.24	2.95 ± 0.75	2.95 A
Media		3.25 A	2.85 A	2.51 A	1.39 B	
Significancia: HMAxP = ns; HMA = ***; P = **						
Total	0	17.47 ± 5.58 b	19.63 ± 5.58 b	22.66 ± 2.39 b	7.01 ± 1.37 d	16.69 C
	79	38.39 ± 2.91 a	42.16 ± 3.97 a	41.05 ± 6.62 a	8.32 ± 1.04 d	32.48 A
	158	31.61 ± 3.80 ab	21.29 ± 3.53 b	32.08 ± 2.03 ab	15.13 ± 2.83 bc	25.03 AB
	237	35.07 ± 5.63 a	38.97 ± 4.60 a	27.71 ± 3.56 ab	16.02 ± 4.44 bc	29.44 A
	316	36.86 ± 3.29 a	25.23 ± 2.18 b	29.18 ± 3.59 ab	18.87 ± 4.86 b	27.54 A
Media		31.88 A	29.46 A	30.54 A	13.07 B	
Significancia: HMAxP = *; HMA = ***; P = *						

Medias (n = 4) ± desviación estándar. Letras minúsculas indican el efecto de la interacción (HMA*P). Letras mayúsculas en la fila indican el efecto de consorcios (HMA). Letras mayúsculas en la columna indican el efecto de niveles de fósforo (P). La significancia se indica como: ns: no significativo, *: significativo a $P \leq 0.05$, **: significativo a $P \leq 0.01$, ***: significativo a $P \leq 0.001$.

Means (n = 4) ± standard deviation. Lower case letters indicate the effect of the interaction (HMA*P). Capital letters in the row indicate the consortium effect (HMA). Capital letters in the column indicate the effect of phosphorus (P) levels. Significance is indicated as: ns: not significant, *: significant at $P \leq 0.05$, **: significant at $P \leq 0.01$, ***: significant at $P \leq 0.001$.

similares sobre la variable, pero aumentaron el peso seco de raíz 58 % con respecto a plantas sin HMA (Tabla 4). Por otro lado, el efecto individual del factor fósforo mostró el mayor peso seco de raíz con 316 mg de P_2O_5 kg^{-1} suelo, no obstante, este resultado no fue significativamente diferente al reducir el nivel de fósforo a 79 mg de P_2O_5 kg^{-1} suelo.

El incremento de la biomasa seca de hoja influye sobre el peso de la biomasa seca total. El tratamiento TZ+79 mg de P_2O_5 kg^{-1} suelo, promovió el mayor aumento de biomasa seca total en un 3 % en comparación a CY y 9 % en comparación a RC con el mismo nivel de fósforo, que fueron el segundo y tercer mejor tratamiento en esta variable, respectivamente. En conjunto, estos resultados demostraron que la simbiosis de los consorcios nativos de HMA condujo a una producción mejorada de biomasa seca aérea en *S. rebaudiana* a los 120 ddt, por lo que, la fertilización convencional (316 mg de P_2O_5 kg^{-1} suelo) resulta en un alto costo de producción y uso desmedido de fertilizantes químicos. En ese marco, estudios han reportado que las aplicaciones de HMA como bioestimulante, presenta incrementos de biomasa seca en cultivos como *Cucumis sativus* (Reyes-Pérez *et al.*, 2021), sin embargo, Aguirre-Medina *et al.* (2020) encontraron que en *S. rebaudiana*, la inoculación de *R. intraradices* aumentó la biomasa seca total y el rendimiento de hoja seca. Por otra parte, Vafadar *et al.* (2014) subrayaron la efectividad de la inoculación de HMA para aumentar el peso seco en *S. rebaudiana*. No obstante, Mandal *et al.* (2013) observaron que el aumento de la biomasa seca en plantas inoculadas con HMA es mayor que en plantas no inoculadas cuando se fertiliza con 50 mg de P_2O_5 kg^{-1} suelo, por lo que, el aumento observado se atribuye a la capacidad de traslocación tanto de fósforo, como de otros nutrientes a la planta por parte de los HMA.

Parámetros fisiológicos

El contenido de clorofila (unidades SPAD) en las hojas de *S. rebaudiana*, se vio influenciado principalmente por efecto de los consorcios de HMA. La inoculación de RC, TZ y CY permitió el aumento de la concentración de clorofila en un 30% con respecto a plantas no colonizadas (Figura 3). Estos resultados son superiores a los reportados por Mostafa (2019) quien observó un aumento del 18 % en el contenido de clorofila (SPAD) en plantas de *S. rebaudiana*, con fertilización completa de NPK. El contenido relativo de clorofila es un indicador importante en la producción de biomasa y fitoquímicos en la planta, absorbe energía solar y la convierte en energía química a través de la fotosíntesis (Pal *et al.*, 2015), lo que explica la relación con el aumento de biomasa en las plantas colonizadas por HMA en este estudio. En contraste, la baja concentración de clorofila reduce la actividad fotosintética y la producción de biomasa de las plantas (Richardson *et al.*, 2002).

En el intercambio de gases, la interacción entre consorcios de HMA y niveles de fósforo, tuvo efecto significativo ($P \leq 0.05$) sobre la tasa de asimilación de CO_2 (fotosíntesis). Las plantas tratadas con RC+79 mg de P_2O_5 kg^{-1} suelo, registraron la tasa fotosintética más alta con 6.97 μmol CO_2 $m^{-2} s^{-1}$,

que estuvo por encima del tratamiento convencional (T+316 mg de P_2O_5 kg^{-1} suelo) con 0.18 μmol CO_2 $m^{-2} s^{-1}$ (Figura 4A). En este contexto, el tratamiento RC+79 mg de P_2O_5 kg^{-1} suelo, también produjo mayor biomasa seca total que T+316 mg de P_2O_5 kg^{-1} suelo, esto podría explicar parcialmente por qué RC+25 % P registró una tasa fotosintética más alta que T+100 % P. Por otra parte, se observó una disminución de la actividad fotosintética en los tratamientos con más del 50 % de fósforo aplicado. Es decir, los altos niveles de fósforo limitaron la tasa de asimilación de CO_2 aún con la inoculación de RC, TZ o CY.

Estos resultados fueron superiores a los observados por Cauch-Cauch *et al.* (2018) quienes reportaron 5.41 μmol CO_2 $m^{-2} s^{-1}$ como la tasa de asimilación de CO_2 más alta en plantas de *S. rebaudiana* inoculadas con *Rhizophagus intraradices*. En este sentido, es probable que el inóculo compuesto de consorcios nativos de HMA, propicie beneficios múltiples en la fisiología de las plantas. En este estudio, la optimización de la fotosíntesis podría estar relacionada con el área foliar producida, que mejora la intercepción y la utilidad de la luz y beneficia la asimilación fotosintética (Tóth *et al.*, 2002). La conductancia estomática mostró una tendencia similar a la fotosíntesis, es decir, fue menor en los tratamientos con 237 y 316 mg de P_2O_5 kg^{-1} suelo respectivamente (Figura 4B).

Los tratamientos RC+158, RC+79 y CY+79 mg de P_2O_5 kg^{-1} suelo con 0.14, 0.13 y 0.11 $mmol$ H_2O $m^{-2} s^{-1}$ respectivamente, fueron los que reflejaron los valores más altos de conductancia estomática, e incluso de transpiración con 3.33, 3.15 y 2.92 $mmol$ H_2O $m^{-2} s^{-1}$ respectivamente (Figura 4C). De acuerdo con Garruña-Hernández *et al.* (2014), la conductancia estomática tiene un comportamiento directamente proporcional a la transpiración, por lo tanto, esto explica el paralelismo observado entre estas dos variables fisiológicas. Además, se ha reportado que una transpiración más alta en las plantas colonizadas por HMA, es consistente con las tasas de conductancia estomática (Abdel-Fattah *et al.*, 2014). Por otro lado, las plantas testigo no tuvieron relevancia en la actividad de intercambio de gases. Por lo tanto, es evidente que el efecto de RC+79 mg de P_2O_5 kg^{-1} suelo, reguló la apertura estomática y la transpiración, mejorando la utilización de agua por parte de las plantas, mientras ésta, asimilaba la mayor cantidad de CO_2 . Al respecto, se ha observado un aumento significativo en el transporte de fósforo por las hifas hacia la planta, cuando la simbiosis de HMA altera positivamente el comportamiento estomático (Shu *et al.*, 2014).

El uso eficiente del agua instantáneo a escala foliar (UEA), se calculó mediante la relación μmol CO_2 (tasa de fotosíntesis) / $mmol$ H_2O (tasa de transpiración). Los tratamientos RC+0 y RC+79 mg de P_2O_5 kg^{-1} suelo, mostraron el mejor UEA con 2.45 y 2.25 μmol CO_2 $mmol^{-1}$ H_2O respectivamente (Figura 4D). Por lo tanto, resultaron con la capacidad de limitar la pérdida de agua, mientras se mantenía la absorción neta de carbono en las hojas de *S. rebaudiana* al momento de la medición.

El efecto de la simbiosis sobre el UEA depende en gran medida de la especie de HMA involucrada, sin correlacionar

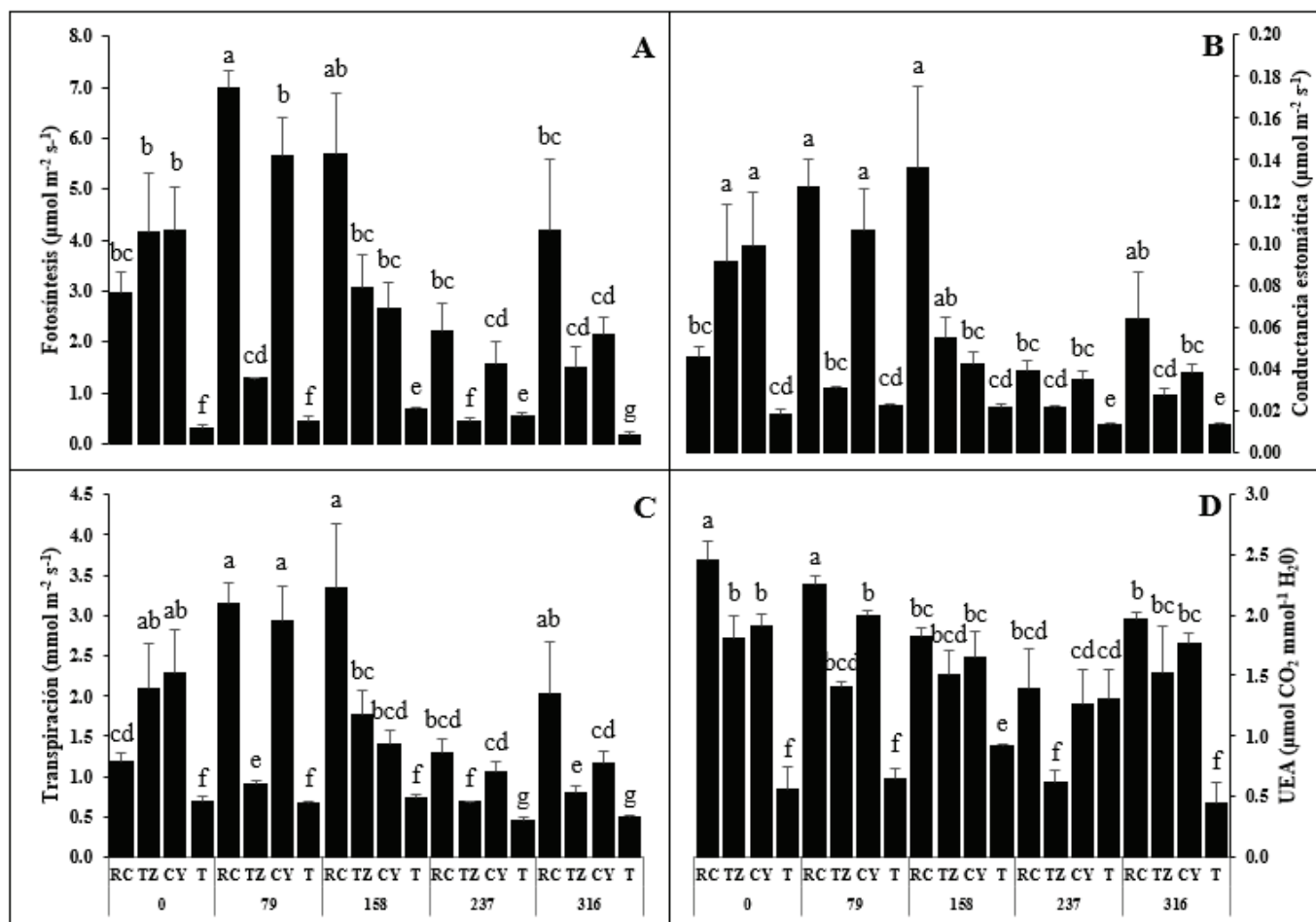


Figura 4. A) Fotosíntesis, B) conductancia estomática, C) Transpiración y D) uso eficiente del agua (UEA), en plantas de *S. rebaudiana*, inoculadas con consorcios de HMA (RC, TZ, CY y T) y fertilizadas con niveles de fósforo (0, 79, 158, 237 y 316 mg de P_2O_5 kg^{-1} suelo) a los 120 ddt. Las letras distintas indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$, prueba de Tukey), $n = 4$.

Figure 4. A) Photosynthesis, B) stomatal conductance, C) Transpiration and D) efficient use of water (UEA), in *S. rebaudiana* plants, inoculated with AMF consortia (RC, TZ, CY and T) and fertilized with phosphorus levels (0, 79, 158, 237 and 316 mg of P_2O_5 kg^{-1} soil) at 120 dat. Different letters indicate significant differences ($P \leq 0.05$, Tukey's test), $n = 4$.

su porcentaje de colonización (Ruiz-Lozano *et al.*, 2010); sin embargo, hay varios parámetros fisiológicos y bioquímicos modulados por los HMA que están involucrados en la regulación del UEA además de la conductancia estomática (Ruiz-Lozano *et al.*, 2010; Augé *et al.*, 2008).

CONCLUSIONES

La fertilización con 79 mg de P_2O_5 kg^{-1} suelo (25 % P de la fertilización convencional) en sinergia con la inoculación del consorcio nativo RC, resultó suficiente para mejorar la arquitectura aérea de las plantas en términos de altura y diámetro del tallo, sin embargo, los tres consorcios (RC, TZ y CY) promovieron mayor número de ramificaciones en comparación con plantas no inoculadas, lo que sugiere mejores resultados en el crecimiento vegetativo de *S. rebaudiana*. El efecto de la combinación de RC, TZ y CY con 25 % de fósforo sobre la producción de biomasa seca total, fue igual que con 100 %, por lo tanto, la inoculación de consorcios de HMA permite reducir los niveles de fertilización con fósforo en *S. rebaudiana*. Además, 79 mg de P_2O_5 kg^{-1} suelo, mejoró la colo-

nización micorrícica. Así mismo, RC+79 mg de P_2O_5 kg^{-1} suelo mejoró la tasa de fotosíntesis y el uso eficiente del agua. En conjunto, nuestros resultados demuestran el potencial de los consorcios nativos HMA evaluados. Por lo tanto, pueden considerarse un biofertilizante válido para el cultivo de *S. rebaudiana*, ya que permite aplicar menor cantidad de fertilizante, lo que conduce a sistemas agrícolas más sostenibles.

AGRADECIMIENTOS

El primer autor agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para sus estudios de posgrado. Al programa de Doctorado en Ciencias en Agricultura Tropical Sustentable del Tecnológico Nacional de México, campus Conkal y al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) por el financiamiento brindado para la realización del proyecto.

REFERENCIAS

Augé, R. M., Toler, H. D., Sams, C. E. y Nasim, G. 2008. Hydraulic conductance and water potential gradients in squash

- leaves showing mycorrhiza-induced increases in stomatal conductance. *Mycorrhiza*. 18(3): 115-121.
- Abdel-Fattah, G. M., Asrar, A. A., Al-Amri, S. M. y Abdel-Salam, E. M. 2014. Influence of arbuscular mycorrhiza and phosphorus fertilization on the gas exchange, growth and phosphatase activity of soybean (*Glycine max* L.) plants. *Photosynthetica*. 52(4): 581-588.
- Adolfsson, L., Solymosi, K., Andersson, M. X., Keresztes, Á., Uddling, J., Schoefs, B. y Spetea, C. 2015. Mycorrhiza symbiosis increases the surface for sunlight capture in *Medicago truncatula* for better photosynthetic production. *PLoS One*. 10(1): e0115314.
- Aguirre-Medina, J. F., Bartolón-Morales, F. R., Martínez-Solis, M., Cadena-Iñiguez, J. y Martínez-Sias, V. A. 2020. Growth and sweetener content in *Stevia rebaudiana* Bert. biofertilized with *Rhizophagus intraradices* (Schenck & Sm.) Walker ted y Schüßler, and *Azospirillum brasilense* Tarrand, Krieg y Döbereiner in a substrate with bovine manure added. *Japan Journal of Research*. 1(3): 1-5.
- Ahmad, J., Khan, I., Blundell, R., Azzopardi, J. y Mahomoodally, M. F. 2020. *Stevia rebaudiana* Bertoni.: an updated review of its health benefits, industrial applications and safety. *Trends in Food Science & Technology*. 100: 177-189.
- Alarcón, A. y Ferrera-Cerrato, R. 2003. Aplicación de fósforo e inoculación de hongos micorrízicos arbusculares en el crecimiento y estado nutricional de *Citrus volkameriana* Tan & Pasq. *Terra Latinoamericana*. 21(1): 91-99.
- Alvarado Carrillo, M., Díaz Franco, A. y Peña del Río, M. D. 2014. Productividad de tomate mediante micorriza arbuscular en agricultura protegida. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 5(3): 513-518.
- Arizaleta, M. y Pire, R. 2008. Respuesta de plántulas de cafeto al tamaño de la bolsa y fertilización con nitrógeno y fósforo en vivero. *Agrociencia*. 42(1): 47-55.
- Aroca, R., Ruiz-Lozano, J. M., Zamarreño, Á. M., Paz, J. A., García-Mina, J. M., Pozo, M. J. y López-Ráez, J. A. 2013. Arbuscular mycorrhizal symbiosis influences strigolactone production under salinity and alleviates salt stress in lettuce plants. *Journal of Plant Physiology*. 170(1): 47-55.
- Balergue, C., Chabaud, M., Barker, D. G., Bécard, G. y Rochange, S. F. 2013. High phosphate reduces host ability to develop arbuscular mycorrhizal symbiosis without affecting root calcium spiking responses to the fungus. *Frontiers in plant science*. 4(426): 1-15.
- Bécard, G. y Piché, Y. 1992. Establishment of Vesicular-arbuscular Mycorrhiza in Root Organ Culture: Review and Proposed Methodology. *Methods in microbiology*. 24: 89-108.
- Brandle, J. E. y Telmer, P. G. 2007. Steviol glycoside biosynthesis. *Phytochemistry*. 68(14): 1855-1863.
- Cauich-Cauich, R., Pérez Gutiérrez, A., Lozano Contreras, M. G., Garruña, R. y Ruiz Sánchez, E. 2018. Productividad de *Stevia rebaudiana* Bertoni con diferentes láminas de riego e inoculantes microbianos. *Nova Scientia*. 10(20): 30-46.
- Ceunen, S. y Geuns, J. M. 2013. Steviol glycosides: chemical diversity, metabolism, and function. *Journal of Natural Products*. 76(6): 1201-1228.
- Díaz Franco, A., Magallanes Estala, A., Aguado Santacruz, A. y Hernández Mendoza, J. L. 2015. Respuesta de la soya a inoculantes microbianos en el norte de Tamaulipas, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 6(2): 227-238.
- Dissanayaka, D. M., Ghahremani, M., Siebers, M., Wasaki, J. y Plaxton, W. C. 2021. Recent insights into the metabolic adaptations of phosphorus-deprived plants. *Journal of Experimental Botany*. 72(2): 199-223.
- Douds Jr, D. D., Lee, J., Rogers, L., Lohman, M. E., Pinzon, N. y Ganser, S. 2012. Utilization of inoculum of AM fungi produced on-farm for the production of *Capsicum annum*: a summary of seven years of field trials on a conventional vegetable farm. *Biological Agriculture & Horticulture*. 28(2): 129-145.
- Eun-Hwa, L., Ju-Kyeong, E., Kang-Hyeon, K. y Ahn-Heum, E. 2013. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and their roles in ecosystems. *Mycobiology*. 41(3): 121-125.
- Durán García, R. y García Contreras, G. 2010. Distribución espacial de la vegetación. En: Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán. R. Durán y M. Méndez (ed.), pp131-135 CICY, PPD-FMAM, CONABIO, SEDUMA.
- Garruña-Hernández, R., Orellana, R., Larque-Saavedra, A. y Canto, A. 2014. Understanding the physiological responses of a tropical crop (*Capsicum chinense* Jacq.) at high temperature. *PLoS One*. 9(11): e111402.
- Gerdemann, J. W. y Nicolson, T. H. 1963. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*. 46(2): 235-244.
- Giovannini, L., Palla, M., Agnolucci, M., Avio, L., Sbrana, C., Turrini, A. y Giovannetti, M. 2020. Arbuscular mycorrhizal fungi and associated microbiota as plant biostimulants: research strategies for the selection of the best performing inocula. *Agronomy*. 10(106): 1-14.
- Giovannetti, M. y Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New phytologist*. 84(3): 489-500.
- Guleria, P. y Kumar Yadav, S. 2013. Agrobacterium mediated transient gene silencing (AMTS) in *Stevia rebaudiana*: insights into steviol glycoside biosynthesis pathway. *PLoS One*. 8(9): e74731.
- Herrera-Parra, E., Ramos-Zapata, J., Basto-Pool, C. y Cristóbal-Alejo, J. 2021. Sweet pepper (*Capsicum annum*) response to the inoculation of native arbuscular mycorrhizal fungi and the parasitism of root-knot *Meloidogyne incognita*. *Revista Bio Ciencias*. 8: e982.
- Holbrook, N. M. y Zwieniecki, M. A. 2011. Stomatal control and Water transport in the Xylem. En: Vascular transport in plants. N. M. Holbrook and M. Zwieniecki (ed.), pp 152-169. Elsevier. Academic Press., Massachusetts.
- Jiang, C., Gao, X., Liao, L., Harberd, N. P. y Fu, X. 2007. Phosphate starvation root architecture and anthocyanin accumulation responses are modulated by the gibberellin-DELLA signaling pathway in Arabidopsis. *Plant Physiology*. 145(4): 1460-1470.
- Kouadio, A. N., Nandjui, J., Krou, S. M., Séry, D. J. M., Nelson, P. N. y Zézé, A. 2017. A native arbuscular mycorrhizal fungus inoculant outcompetes an exotic commercial species under two contrasting yam field conditions. *Rhizosphere*. 4: 112-118.
- Kothe, E. y Turnau, K. 2018. Mycorrhizosphere communication: Mycorrhizal fungi and endophytic fungus-plant interactions. *Frontiers in Microbiology*. 9: 3015.
- Leos-Escobedo, L., García-Carrillo, M., Delgadillo-Martínez, J., Valenzuela-García, A., Angulo-Castro, A., Preciado-Rangel, P. y Rueda-Puente, E. O. 2022. Consorcios de hongos

- micorrízicos y rizobacterias en el control biológico de *Phytophthora capsici* en cultivares de *Capsicum annum*. *Biocencia*. 24(1): 30-37.
- López-Ráez, J. A., Pozo, M. J. y García-Garrido, J. M. 2011. Strigolactones: a cry for help in the rhizosphere. *Botany*. 89(8): 513-522.
- López-Ráez, J. A. y Pozo, M. J. 2013. Chemical signalling in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: Biotechnological applications. En: *Symbiotic Endophytes*. R. Aroca (ed.), pp 215-232. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- Maherali, H. 2014. Is there an association between root architecture and mycorrhizal growth response?. *New Phytologist*. 204(1): 192-200.
- Maniruzzaman, M., Chowdhury, T., Rahman, M., A. y Chowdhury, M., A., H. 2017. Phosphorus use efficiency and critical P content of stevia grown in acid and non-calcareous soils of Bangladesh. *Research in Agriculture Livestock and Fisheries*. 4(2): 55-68.
- Mandal, S., Evelin, H., Giri, B., Singh, V. P. y Kapoor, R. 2013. Arbuscular mycorrhiza enhances the production of stevioside and rebaudioside-A in *Stevia rebaudiana* via nutritional and non-nutritional mechanisms. *Applied Soil Ecology*. 72: 187-194.
- Mandal, S., Upadhyay, S., Singh, V. P. y Kapoor, R. 2015. Enhanced production of steviol glycosides in mycorrhizal plants: a concerted effect of arbuscular mycorrhizal symbiosis on transcription of biosynthetic genes. *Plant Physiology and Biochemistry*. 89: 100-106.
- Márdero, S., Nickl, E., Schmook, B., Schneider, L., Rogan, J., Christman, Z. y Lawrence, D. 2012. Sequías en el sur de la península de Yucatán: análisis de la variabilidad anual y estacional de la precipitación. *Investigaciones Geográficas*. 78: 19-33.
- Markwell, J., Osterman, J. C. y Mitchell, J. L. 1995. Calibration of the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. *Photosynthesis Research*. 46(3): 467-472.
- Mostafa, H. S. 2019. Impact of NPK fertilization and lithovit rates on growth, yield components and chemical constituents of *Stevia rebaudiana* Bert. *Plant. Middle East Journal of Applied Sciences*. 9(02): 412-420.
- Ni, J., Gao, C., Chen, M. S., Pan, B. Z., Ye, K. y Xu, Z. F. 2015. Gibberellin promotes shoot branching in the perennial woody plant *Jatropha curcas*. *Plant and Cell Physiology*. 56(8): 1655-1666.
- Nouri, E., Breuillin-Sessoms, F., Feller, U. y Reinhardt, D. 2014. Correction: Phosphorus and nitrogen regulate arbuscular mycorrhizal symbiosis in *Petunia hybrida*. *PLoS One*. 10(4): e0127472.
- Oliveira, R. S., Ma, Y., Rocha, I., Carvalho, M. F., Vosátka, M. y Freitas, H. 2016. Arbuscular mycorrhizal fungi are an alternative to the application of chemical fertilizer in the production of the medicinal and aromatic plant *Coriandrum sativum* L. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*. 79(7): 320-328.
- Pal, P. K., Prasad, R. y Singh, R. D. 2015. Evaluating the non-destructive method for determining the chlorophyll and nitrogen content in *Stevia rebaudiana* (Bertoni) leaf. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*. 149(1): 131-135.
- Pan, J., Huang, C., Peng, F., Zhang, W., Luo, J., Ma, S. y Xue, X. 2020. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and plant growth-promoting bacteria (PGPR) inoculations on *Elaeagnus angustifolia* L. in saline soil. *Applied Sciences*. 10(3): 945.
- Phillips, J. M. y Hayman, D. S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*. 55(1): 158-161.
- Quiñones-Aguilar, E. E., López-Pérez, L. y Rincón-Enríquez, G. 2014. Dinámica del crecimiento de papaya por efecto de la inoculación micorrízica y fertilización con fósforo. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*. 20(2): 223-237.
- Ramírez-Jaramillo, G. y Lozano-Contreras, M. G. 2017. La producción de *Stevia rebaudiana* Bertoni en México. *AgroProductividad*. 10(8): 84-90.
- Rameau, C., Bertheloot, J., Leduc, N., Andrieu, B., Foucher, F. y Sakr, S. 2015. Multiple pathways regulate shoot branching. *Frontiers in Plant Science*. 5: 741.
- Rapparini, F., Llusià, J. y Peñuelas, J. 2008. Effect of arbuscular mycorrhizal (AM) colonization on terpene emission and content of *Artemisia annua* L. *Plant Biology*. 9(S 01): e20-e32.
- Reyes-Pérez, J. J., Rivero-Herrada, M., Andagoya Fajardo, C. J., Beltrán-Morales, F. A., Hernández-Montiel, L. G., García Liscano, A. E. y Ruiz-Espinoza, F. H. 2021. Emergencia y características agronómicas del *Cucumis sativus* a la aplicación de quitosano, *Glomus cubense* y ácidos húmicos. *Biocencia*. 23(3): 38-44.
- Reyes-Ramírez, A., López-Arcos, M., Ruiz-Sánchez, E., Latournerie-Moreno, L., Pérez-Gutiérrez, A., Lozano-Contreras, M. G. y Zavala-León, M. J. 2014. Efectividad de inoculantes microbianos en el crecimiento y productividad de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). *Agrociencia*. 48(3): 285-294.
- Richardson, A. E. 2001. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Functional Plant Biology*. 28(9): 897-906.
- Richardson, A. D., Duigan, S., P. y Berlyne, G. P. 2002. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. *New Phytologist*. 153(1): 185-194.
- Ruiz-Lozano, J. M. y Aroca, R. 2010. Host response to osmotic stresses: stomatal behaviour and water use efficiency of arbuscular mycorrhizal plants. En: *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*. H. Koltai y Y. Kapulnik (ed.), pp 239-256. Springer, Dordrecht.
- Sarmiento-López, L. G., López-Meyer, M., Sepúlveda-Jiménez, G., Cárdenas, L. y Rodríguez-Monroy, M. 2020. Photosynthetic performance and stevioside concentration are improved by the arbuscular mycorrhizal symbiosis in *Stevia rebaudiana* under different phosphate concentrations. *PeerJ*. 8: e10173.
- Sarmiento-López, L., G., López-Meyer, M., Sepúlveda-Jiménez, G., Cárdenas, L. y Rodríguez-Monroy, M. 2021. Arbuscular mycorrhizal symbiosis in *Stevia rebaudiana* increases trichome development, flavonoid and phenolic compound accumulation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 31: 101889.
- Sieverding, E. 1990. Ecology of VAM fungi in tropical agrosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 29(1-4): 369-390.
- Shu, B., Wang, P. y Xia, R. X. 2014. Effects of mycorrhizal fungi on phytate-phosphorus utilization in trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata* L. Raf) seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*. 36(4): 1023-1032.

- Smith, S. E., Jakobsen, I., Gronlund, M. y Smith, F. A. 2011. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant phosphorus nutrition: interactions between pathways of phosphorus uptake in arbuscular mycorrhizal roots have important implications for understanding and manipulating plant phosphorus acquisition. *Plant Physiology*. 156(3): 1050-1057.
- Tarraf, W., Ruta, C., De Cillis, F., Tagarelli, A., Tedone, L. y De Mastro, G. 2015. Effects of mycorrhiza on growth and essential oil production in selected aromatic plants. *Italian Journal of Agronomy*. 10(3): 160-162.
- Tavarini, S., Passera, B., Martini, A., Avio, L., Sbrana, C., Giovannetti, M. y Angelini, L. G. 2018. Plant growth, steviol glycosides and nutrient uptake as affected by arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorous fertilization in *Stevia rebaudiana* Bert. *Industrial Crops and Products*. 111: 899-907.
- Tavarini, S., Pagano, I., Guidi, L. y Angelini, L. G. 2015. Impact of nitrogen supply on growth, steviol glycosides and photosynthesis in *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*. 150(5): 953-962.
- Tedone, L., Ruta, C., De Cillis, F. y De Mastro, G. 2020. Effects of *Septoglomus viscosum* inoculation on biomass yield and steviol glycoside concentration of some *Stevia rebaudiana* chemotypes. *Scientia Horticulturae*. 262: 109026.
- Tekaya, M., Mechri, B., Mbarki, N., Cheheb, H., Hammami, M. y Attia, F. 2017. Arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis* influences key physiological parameters of olive trees (*Olea europaea* L.) and mineral nutrient profile. *Photosynthetica*. 55(2): 308-316.
- Tóth, V., R., Mészáros, I., Veres, S. and Nagy, J. 2002. Effects of the available nitrogen on the photosynthetic activity and xanthophyll cycle pool of maize in field. *Journal of Plant Physiology*. 159(6): 627-634.
- Trejo, D., Ferrera-Cerrato, R., García, R., Varela, L., Lara, L. y Alarcón, A. 2011. Efectividad de siete consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares en plantas de café en condiciones de invernadero y campo. *Revista Chilena de Historia Natural*. 84(1): 23-31.
- Uçar, E., Turgut, K., Özyiğit, Y., Özek, T. and Özek, G. 2018. The effect of different nitrogen levels on yield and quality of stevia (*Stevia rebaudiana* Bert.). *Journal of Plant Nutrition*. 41(9): 1130-1137.
- Vafadar, F., Amooaghaie, R. y Otroshy, M. 2014. Effects of plant-growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungus on plant growth, stevioside, NPK, and chlorophyll content of *Stevia rebaudiana*. *Journal of Plant Interactions*. 9(1): 128-136.
- Vosátka, M., Látr, A., Gianinazzi, S. y Albrechtová, J. 2012. Development of arbuscular mycorrhizal biotechnology and industry: current achievements and bottlenecks. *Symbiosis*. 58(1): 29-37.
- Waller, L. P., Felten, J., Hiiesalu, I. y Vogt-Schilb, H. 2018. Sharing resources for mutual benefit: crosstalk between disciplines deepens the understanding of mycorrhizal symbioses across scales. *New Phytologist*. 217(1): 29-32.
- Wölwer-Rieck, U. 2012. The leaves of *Stevia rebaudiana* (Bertoni), their constituents and the analyses thereof: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60(4): 886-895.
- Wright, D. P., Scholes, J. D., Read, D. J. and Rolfe, S. A. 2005. European and African maize cultivars differ in their physiological and molecular responses to mycorrhizal infection. *New Phytologist*. 167(3): 881-896.
- Yao, Q., Wang, L. R., Zhu, H. H. y Chen, J. Z. 2009. Effect of arbuscular mycorrhizal fungal inoculation on root system architecture of trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata* L. Raf.) seedlings. *Scientia Horticulturae*. 121(4): 458-461.
- Zhu, X. Q., Tang, M. y Zhang, H. Q. 2017. Arbuscular mycorrhizal fungi enhanced the growth, photosynthesis, and calorific value of black locust under salt stress. *Photosynthetica*. 55(2): 378-385.