



Universidad
Nacional
de Loja

Universidad Nacional de Loja

Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables

Carrera de Ingeniería Agronómica

Efecto de microorganismos rizosféricos y ácido salicílico sobre el crecimiento, desarrollo y rendimiento de lechuga bajo condiciones de estrés

Trabajo de Titulación previo a la obtención del Título de Ingeniera Agrónoma

AUTOR:

Erika Xiomara Gómez Montalván

DIRECTOR:

Ing. Klever Iván Granda Mora, PhD.

Loja – Ecuador

2023

Certificación

Loja, 09 de febrero del 2023

Ing. Klever Iván Granda Mora, PhD.
DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN

CERTIFICO:

Que he revisado y orientado todo el proceso de elaboración del Trabajo de Titulación denominado: **Efecto de microorganismos rizosféricos y ácido salicílico sobre el crecimiento, desarrollo y rendimiento de lechuga bajo condiciones de estrés**, previo a la obtención del título de **Ingeniera Agrónomo**, de autoría de la estudiante: **ERIKA XIOMARA GÓMEZ MONTALVÁN**, con **cédula de identidad Nro. 1105672099**, una vez que el trabajo cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Nacional de Loja, apruebo y autorizo para el efecto, autorizo su para los trámites de titulación.



Ing. Klever Iván Granda Mora, PhD
DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Autoría

Yo, **Erika Xiomara Gómez Montalván**, declaro ser la autora del presente trabajo de titulación y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos o acciones legales por el contenido de la misma. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el repositorio Institucional - Biblioteca Virtual.

Firma:



Cédula: 1105672099

Fecha: 03/04/2022

Nombre: Erika Xiomara Gómez Montalván

Correo: erika.gomez@unl.edu.ec

Teléfono: 0967532228

Carta de autorización para consulta, reproducción parcial o total y/o publicación electrónica del texto completo, del trabajo de titulación

Yo, **Erika Xiomara Gómez Montalván**, declaro ser autora del trabajo de Titulación denominado: **Efecto de microorganismos rizosféricos y ácido salicílico sobre el crecimiento, desarrollo y rendimiento de lechuga bajo condiciones de estrés**, como requisito para optar al título de **Ingeniera Agrónomo**, autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del Trabajo de Integración Curricular o de Titulación que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los tres días del mes de abril de dos mil veintitrés.



Firma:

Autor: Erika Xiomara Gómez Montalván

Cédula: 1105672099

Dirección: Barrio “La Alborada” calle Amador Maza entre Tegucigalpa y Puebla

Correo electrónico: erika.gomez@unl.edu.ec

Celular: 0967532228

DATOS COMPLEMENTARIOS

Director de Tesis del Trabajo de Titulación: Ing. Klever Iván Granda Mora, PhD.

Dedicatoria

El presente trabajo de investigación va dedicado, principalmente a Dios, quien me ha acompañado en este caminar y me ha guiado hasta cumplir esta meta, a mis padres, los pilares fundamentales quienes con amor, paciencia y sabiduría me han iluminado este camino para cumplir un sueño más, inculcándome el valor del trabajo, esfuerzo y valentía para no sentir miedo de las adversidades, sabiendo que en mi caminar siempre estarán ellos junto a Dios para guiarme.

A mis hermanos por su aprecio y apoyo incondicional durante toda mi vida, por estar en los momentos de caídas y ayudarme a levantar con palabras de aliento, a mis sobrinos por darme aquel amor incondicional siendo los que motivan mi vida. A mis abuelitas Victoria y Ana al igual que a mis ángeles del cielo mis abuelitos Segundo y Roberto, por siempre darme su bendición, por orar por mí y darme el mejor ejemplo de sacrificio, amor y fuerza lo cual hizo de mí una mejor persona.

Finalmente, a toda mi familia especialmente a mis tíos: Mónica, Luis y Wilmer quienes nunca me dejaron sola y a pesar de la distancia siempre me apoyaron en todo el proceso de formación.

Con mucho amor y cariño.

Erika Gómez

Agradecimiento

Mi agradecimiento incondicional a la Universidad Nacional de Loja, a todos los docentes de la carrera de Ingeniería Agronómica quienes me permitieron formarme bajo esta carrera, por compartir todos sus conocimientos por medio de la hermosa virtud de la enseñanza.

Agradezco a todo el equipo de investigación del proyecto “Bioproducto mixto con microorganismos benéficos para su aplicación en cultivos hortícolas” especialmente a mi tutor PhD. Klever Iván Granda Mora y al PhD. Ángel Robles quienes con la impartición de sus conocimientos hicieron posible lograr este trabajo investigativo de manera eficiente y oportuna.

A mi docente de la materia de titulación, PhD. Luis Viteri principal colaborador de la redacción y desarrollo, quien con su conocimiento, apoyo, enseñanza, humildad y colaboración me guío para lograr culminar con esta meta.

Finamente agradezco a mis amigos y colegas que en este caminar conocí, Santiago Macas quien con su humildad, paciencia y apoyo me ha acompañado en esta travesía desde el inicio de mi carrera hasta la actualidad, a Fernanda Córdova por apoyarme en cada paso y ser la testigo de todos mis sacrificios, darme la mano en mis caídas y aplaudirme en mis triunfos con amor y lealtad.

Erika Gómez

Índice de contenidos

Portada.....	i
Certificación.....	ii
Autoría.....	iii
Carta de autorización.....	iv
Dedicatoria.....	v
Agradecimiento.....	vi
Índice de contenidos.....	vii
Índice de figuras.....	ix
Índice de anexos.....	x
Portada.....	i
Certificación.....	ii
Autoría.....	iii
Carta de autorización.....	iv
Dedicatoria.....	v
Agradecimiento.....	vi
Índice de contenidos.....	vii
Índice de figuras.....	ix
Índice de anexos.....	x
1. Título.....	1
2. Resumen.....	2
2.1 Abstract.....	3
3. Introducción.....	4
Objetivo General.....	5
Objetivos Específicos.....	5
4. Marco teórico.....	6

4.1. Lechuga (<i>Lactuca sativa</i>)	6
4.1.1. Descripción taxonómica.....	6
4.1.2. Morfología.....	6
4.1.3. Requerimientos edafoclimáticos	7
4.1.4. Fenología del cultivo.....	7
4.2. Factores que producen estrés a la planta	8
4.2.1. Salinidad.....	8
4.2.2. Estrés hídrico	8
4.3 Biofertilización	9
4.3.1. Generalidades de los microorganismos.....	9
4.4 Uso de fitohormonas	12
5. Metodología	12
5.1. Ubicación geográfica	12
5.2. Metodología para el primer objetivo	12
5.2.1. Condiciones del cultivo de lechuga.....	13
5.2.2. Mitigadores de estrés (microorganismos y ácido Salicílico).....	13
5.2.3. Variables evaluadas	13
5.3. Metodología para el segundo objetivo	14
5.4. Diseño experimental	14
5.5. Análisis estadístico	15
6. Resultados	15
6.1 Efecto de microorganismos y ácido salicílico sobre variables de crecimiento y rendimiento en el cultivo de lechuga bajo condiciones de estrés	15
6.1.1 Altura de la planta.....	15
6.1.2. Número de hojas.....	17
6.1.3. Área de la hoja	19
6.1.4. Peso seco total.....	20

6.1.5. Rendimiento.....	22
6.2. Formulación de la cepa de microorganismos más eficiente	23
7. Discusión.....	24
7.1 Efecto de microorganismos y ácido salicílico sobre variables de crecimiento y rendimiento en el cultivo de lechuga bajo condiciones de estrés	24
7.2. Formulación de la cepa de microorganismos más eficiente	26
8. Conclusiones	26
9. Recomendaciones	27
10. Bibliografía	27
11. Anexos.....	35

Índice de figuras

Figura 1. Efecto de la aplicación de microorganismo rizosféricos y ácido salicílico en la dinámica de crecimiento en el cultivo de lechuga.....	16
Figura 2. Efecto de la aplicación de microorganismo rizosféricos y ácido salicílico en la dinámica de crecimiento en el cultivo de lechuga bajo condiciones de estrés hídrico.....	16
Figura 3. Efecto de la aplicación de microorganismo rizosféricos y ácido salicílico en la dinámica de crecimiento en el cultivo de lechuga bajo condiciones de estrés salino.....	17
Figura 4. Efecto de la aplicación de microorganismo rizosféricos y ácido salicílico en la dinámica de número de hojas en el cultivo de lechuga	18
Figura 5. Efecto de la aplicación de microorganismo rizosféricos y ácido salicílico en la dinámica de número de hojas en el cultivo de lechuga bajo condiciones de estrés hídrico.....	18
Figura 6. Efecto de la aplicación de microorganismo rizosféricos y ácido salicílico en la dinámica del número de hojas en el cultivo de lechuga bajo condiciones de estrés salino	19

Figura 8. Efecto de la aplicación de microorganismo rizosféricos y ácido salicílico en la dinámica del peso seco en el cultivo de lechuga bajo diferentes tipos de estrés.....	21
Figura 9. Efecto de la aplicación de microorganismo rizosféricos y ácido salicílico en la dinámica del rendimiento en el cultivo de lechuga bajo diferentes tipos de estrés.....	22
Figura10. Ficha técnica de Bioproducto a base de Pseudomonas y Azospirillum.....	24

Índice de anexos

Anexo 1. Composición físico química de caldo nutriente	35
Anexo 2. Preparación de sustrato.....	36
Anexo 3. Llenado de fundas y aplicación de estrés salino.....	36
Anexo 4. Activación y contabilización de UFC de cada microorganismo.	37
Anexo 5. Siembra de plántulas de lechuga (Lactuca sativa)y inoculación de microorganismo.	38
Anexo 6. Etiquetado de hojas y medición de variables	39
Anexo 7. Cosecha a los 70 DDT y determinación de peso.....	39
Anexo 8. Pre-secado y secado.....	40
Anexo 9. Determinación de peso seco	40
Anexo 10. Formulación de un biproducto a base de Pseudomonas y Azospirillum.....	41
Anexo 11. Certificado de traducción del Abstract.....	4

1. Título

Efecto de microorganismos rizosféricos y ácido salicílico sobre el crecimiento, desarrollo y rendimiento de lechuga bajo condiciones de estrés

2. Resumen

El desarrollo de biofertilizantes a base de aislados de microorganismos nativos para su aplicabilidad en condiciones no aptas para la agricultura donde se presenta salinización y sequía, requiere estudios de la interacción bacteriana para mitigar los efectos producidos por los diferentes tipos de estrés en el comportamiento productivo del cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*). El trabajo de titulación tuvo como objetivos evaluar el efecto de 3 cepas de microorganismos promotores de crecimiento (*Azotobacter*, *Azospirillum*, *Pseudomonas*) y ácido salicílico sobre el crecimiento, desarrollo y rendimiento de lechuga bajo condiciones de estrés salino y estrés por sequía con un total de 15 tratamientos y realizar una bioformulación de la cepa de microorganismos más eficiente. El ensayo se lo ejecuto en el área de permacultura de la Universidad Nacional de Loja, Se estimaron parámetros de crecimiento (altura de la planta, número de hojas, área de la hoja, peso seco) y rendimiento. Todas las cepas inoculadas y la aplicación de ácido salicílico fueron capaces de reducir los efectos causados por el estrés comparable con el control. Las variables evaluadas se afectaron favorablemente con la inoculación de las cepas de microorganismos y la aplicación de ácido salicílico. Los mejores resultados se obtuvieron al utilizar los aislados de AsM3R1 (*Azospirillum*) y PM8R1 (*Pseudomonas*) con los cuales se realizó una bioformulación en material sólido (turba). Las evidencias experimentales mostraron el potencial de las cepas nativas de microorganismos para su utilización como biofertilizantes al elevar las tasas de crecimiento y rendimiento en el cultivo de lechuga.

Palabras clave: *Lactuca sativa*, microorganismos rizosféricos, ácido salicílico, bioformulación, estrés hídrico, estrés salino, *Pseudomonas*; *Azospirillum*, *Azotobacter*.

2.1 Abstract

The development of biofertilizers with a basis of isolates of native microorganisms for its applicability in conditions unsuitable for agriculture where sanitization and drought occur requires studies of bacterial interaction to mitigate the effects produced by different types of stress on the productive behavior of the lettuce crop (*Lactuca sativa*). The objective of the present project was to evaluate the effect of three strains of growth promoting microorganisms (*Azotobacter*, *Azospirillum*, *Pseudomonas*) and salicylic acid on the growth, development and the yield of lettuce under conditions of salt stress and drought stress with a total of fifteen treatments and carrying out a bioformulation of the most efficient strain of microorganisms. The test was carried out in the permaculture area of the Universidad Nacional de Loja, growth parameters (plant height, number of leaves, leaves area, dry weight) and yield. All the inoculated strains and application of salicylic acid were able to reduce the effects caused by stress comparable to the control. The evaluated variable was favorably affected by the inoculation of the microorganisms' strains and the application of salicylic acid. The best results were obtained with the use of the isolates of AsM3R1 (*Azospirillum*) and PM8R1 (*Pseudomonas*) which were used to carry out a bioformulation in solid material (turba). The experimental evidence showed the potential of the native strains of the microorganisms for their use as biofertilizers by increasing the growth rates and yield in the lettuce crop.

Keywords: lettuce, rhizospheric microorganisms, salicylic acid, bioformulation, hydric stress, saline stress, *Pseudomonas*; *Azospirillum*, *Azotobacter*.

3. Introducción

La horticultura ha crecido significativamente a nivel mundial, teniendo una gran demanda de producción especialmente de Lechuga (*Lactuca sativa*) debido a que existe una modificación en la forma de alimentarse de la población integrando mayor variedad de ensaladas (OMS, 2019). Gracias a su composición nutricional, es una excelente fuente de ácido fólico el cual es considerado como anticancerígeno y con alto contenido de vitamina A, C, E, B1, B2, B3 (Sularz et al., 2020). En Ecuador no es la excepción el consumo masivo de esta hortaliza, es por ello que la extensión de producción en las últimas décadas se encuentran en constante aumento (Gissela, 2020). Según INEC (2000), existió una producción de 9 770 toneladas métricas desarrollada por pequeños agricultores en el año 2000, mientras que para el año 2017 se registró un aumento a 18 232 t (FAO, 2019). Sin embargo, existen diversas actividades humanas y factores edafoclimáticos que frenan el proceso óptimo de producción para satisfacer las necesidades locales y las ventas de exportación (Prada Millán, 2016; Sartorello et al., 2020).

Las prácticas extensivas, la utilización indiscriminada de insumos químicos provocan cambios que inducen a la degradación del suelo (Araújo et al., 2013; Sartorello et al., 2020). la salinización, la desertificación de las tierras y las deficiencias en la absorción (van Zanten & van Tulder, 2021). Al tener un aumento de sales disminuye el potencial hídrico y nutricional, factores que limitan la óptima absorción de estos (Obregón Castro, 2019). Como resultado se obtiene la pérdida de la diversidad microbiana la cual es de suma importancia para la fertilidad del suelo y el crecimiento óptimo de nuestros cultivos (Reyes-Palomino & Cano Ccoa, 2022).

En la actualidad, se requiere resolver estos problemas rizosféricos y promover el crecimiento de nuestros cultivos con tratamientos que cuenten con tecnología innovadora, bondadosa con el medio ambiente basándose en la sustentabilidad y además se adapten al medio (Pantoja, 2022). Uno de los desafíos es brindar seguridad alimentaria sin tener que afectar la sustentabilidad y sostenibilidad ambiental (Beltrán-Pineda & Bernal-Figueroa, 2022).

Los biofertilizantes y las fitohormonas podrían ser factores clave para impulsar la estabilidad, la conservación del suelo, el óptimo crecimiento, desarrollo y productividad, por ende, lograr la supervivencia de la planta en condiciones ambientales complejas para el cultivo (Chávez-Díaz et al., 2020)

Los biofertilizantes están compuestos por microorganismos habitantes de suelos fértiles (Aguilar, 2007; Cardozo et al., 2020). Son capaces de acelerar los procesos microbianos en pequeñas unidades agrícolas (Alarcon Camacho et al., 2020). Brindando varias ventajas: no

contaminan el medio ambiente; ayudan a la conservación y contribuyen una fuente de nutrientes al suelo, específicamente, a partir de la solubilización de fosfatos y la fijación de nitrógeno (Beltrán-Pineda & Bernal-Figueroa, 2022). Además, brindan beneficios en la productividad de los cultivos y la facilidad de recuperar suelos marginales para posteriormente, su buen aprovechamiento (Pérez Flórez & Oviedo Zumaque, 2019). De la misma manera, las fitohormonas nos ayudan a promover los procesos fisiológicos como el crecimiento, formación de raíces, a realizar un proceso de letargo el cual consiste en cerrar los estomas cuando existe un déficit hídrico o como respuesta inhibe el crecimiento vegetal (Borjas-Ventura et al., 2020). Una de las fitohormonas más utilizada es el ácido salicílico el cual se encuentra presente en todos los órganos vegetales y se menciona que las aplicaciones de este afectan de forma positiva a los diferentes procesos fisiológicos, resaltando el comportamiento de las plantas a condiciones de estrés tales como la sequía, fitotoxicidad y bajas temperaturas (Dzib-Ek et al., 2021; Tucuch-Haas et al., 2019).

El presente trabajo de titulación pretende demostrar que el uso de biofertilizantes y fitohormonas podrían ayudar a obtener una mayor posibilidad de cultivar en aquellas zonas donde el suelo presente diferentes condiciones no aptas para la agricultura, como también disminuir considerablemente el uso de agroquímicos y generar la disponibilidad de alimentos en cantidades requeridas por la población con los mejores estándares de calidad y nutricionales. Es por ello que se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo General

Determinar el efecto de la aplicación de microorganismos rizosféricos y ácido salicílico en diferentes condiciones de estrés y formulación de la cepa eficiente en la incidencia del crecimiento, desarrollo y rendimiento agrícola de lechuga (*Lactuca sativa*) bajo invernadero.

Objetivos Específicos

- Evaluar el efecto de microorganismos rizosféricos y ácido salicílico sobre los parámetros de crecimiento, desarrollo y rendimiento de plantas de lechuga bajo condiciones de estrés.
- Formulación de la cepa de microorganismos más eficiente en la incidencia del crecimiento, desarrollo y rendimiento de lechuga para estudios siguientes a nivel de campo.

4. Marco teórico

4.1. Lechuga (*Lactuca sativa*)

La lechuga *Lactuca sativa* es considerada como el cultivo más importante del grupo de las hortalizas de hoja, es reconocida por su variación morfológica y genética (Křístková et al., 2008). Es la verdura más consumida a nivel mundial ya que es baja en calorías, grasa y sodio, además de ser una excelente fuente de fibra, hierro, ácido y vitamina C, tiene un ciclo de vida muy corto de aproximadamente 2 meses (Kim et al., 2016).

4.1.1. Descripción taxonómica

La lechuga pertenece al género *Lactuca* de la familia de las Asteráceas del orden Asterales (Villaseñor, 2018). Abarca más de 1000 géneros y 20000 especies, sin embargo, solo se cultivan muy pocas. Dentro de esta familia existen varios tipos de hortalizas ya sea de hoja, de flor o de tallo (Santos Arcos et al., 2013).

4.1.2. Morfología

La lechuga es una planta anual, herbácea, el órgano comestible de la lechuga son sus hojas las cuales se consumen frescas (Frías, 2012). Se reproduce por autofecundación, posee una raíz pivotante que en la parte de la corona es gruesa mientras que en la profundidad se va adelgazando gradualmente, puede alcanzar una profundidad de 60 cm, la mayoría de las raíces laterales se concentran en la parte cercana a la superficie, por lo tanto, los nutrientes y agua son absorbidos de esta capa de la superficie (Silva & Sandoval Briones, 2016).

Las hojas se encuentran en rosetas, desplegadas al inicio, en algunos casos siguen así durante todo el desarrollo, por ejemplo: las variedades romanas y otros casos los cuales se acogollan. Los bordes pueden ser liso, ondulado o aserrado (Rubio, 2002). Sus semillas son de color negro o blanco, botánicamente se considera como un aquenio, es decir un fruto seco conformado por una sola semilla, su tamaño no supera los 3 mm (Silva & Sandoval Briones, 2016). En la fase inicial del cultivo de lechuga presenta un tallo corto donde las hojas se ubican cerca entre sí. Una vez inducida la floración el tallo tiende a alargarse y se produce un desarme de la cabeza en especies que la generan, este tallo floral puede llegar a alcanzar una altura de 1 o 2 m (Maroto Borrego, 2008; Silva & Sandoval Briones, 2016). Sus flores constituyen racimos de capítulos los cuales oscilan entre un grupo de 15 a 30 inflorescencias compuestas éstas son; liguladas, blancas o amarillentas, las flores de la lechuga son hermafroditas por ende se autopolinizan, en cuanto al cáliz este es filamentosos y forma un vilano el cual es un órgano de diseminación cuyo polen es transportado por el viento (Silva & Sandoval Briones, 2016).

4.1.3. Requerimientos edafoclimáticos

a) **Suelo.** El límite óptimo de pH oscila de 6,8 a 7,4 no es tolerante a la acidez del suelo, pero si se adapta a suelos ligeramente alcalinos (Saavedra et al., 2017).

Por otro lado, este cultivo prefiere suelos ligeros, arenosos – limosos, que cuenten con un buen drenaje (Terwissen et al., 2007). Con respecto a la salinidad la lechuga es sensible al exceso de salinidad disponible en el suelo (Maroto Borrego, 2008) los valores umbral de CE están en el rango de 1,0 a 1,4 dS m⁻¹ (Maas, 1986).

b) **Clima.** La lechuga es una hortaliza de clima frío, la temperatura puede oscilar entre los 15 y 18 °C, en temperaturas inferiores no existe crecimiento y en temperaturas elevadas causan deterioro de la misma (Saavedra et al., 2017). En sus estados iniciales toleran heladas, pero en la etapa cerca de la cosecha causan quemaduras en las hojas y susceptibilidad a ataques de enfermedades (Giacconi & Escaff, 2001).

c) **Agua.** El cultivo de lechuga no es tolerante a la sequía, requiere una lámina de riego de 6 mm diarios durante la época fresca mientras que en la época cálida de 10 mm sin embargo al tratarse de riegos sumamente pequeños se sugiere la aplicación de riegos en intervalos de 2 a 3 días (Drost, 2020). Los suministros de riegos ligeros hacen que las hojas se desarrollen en un menor tiempo, el exceso de riego especialmente en suelos que no cuentan con una absorción rápida (suelos pesados) pueden inducir a la propagación de enfermedades, crecimiento retrasado y quemaduras de los bordes de las hojas (Saavedra et al., 2017).

d) **Humedad relativa.** El tamaño del sistema radicular es menor al tamaño de la parte aérea de la lechuga por consiguiente es muy sensible a los periodos de sequía, la humedad relativa óptima para este cultivo oscila entre un 60 y 80% (Saavedra et al., 2017).

4.1.4. Fenología del cultivo

Se identifican 4 etapas significativas en el cultivo de lechuga según la escala Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie BBCH (Meier, 2001). La fase de plántula empieza con el estadio 00 hasta el estadio 09 en el que se observa la radícula, esta es una señal de que la semilla germinó, posteriormente se observa la emergencia de los cotiledones, un crecimiento significativo de la radícula y finalmente la aparición de 3 a 4 hojas verdaderas, esta fase tiene una duración que oscila entre las 3 y 4 semanas desde la siembra (Bilbao & Frezza). En la fase de desarrollo comprenden estadios desde el 20 al 29 en esta etapa aparecen nuevas hojas y existe una disminución de la relación largo y ancho de los folíolos y se da un proceso de acortamiento de los peciolos (Meier, 2001). La fase de roseta comprende

los estadios del 41 al 47 en el cual se conforma la roseta y al pasar de los días se va tornando dura y firme, esta fase tiene una duración que oscila entre 3 a 4 semanas, finalmente se presenta; la fase de floración que comprende los estadios del 49 al 50 la cabeza de la lechuga pierde calidad, toma un sabor amargo, el tallo comienza a alargarse (tallo floral) y finalmente se da la emisión de inflorescencias (Jenni & Bourgeois, 2008).

4.2. Factores que producen estrés a la planta

Los cultivos están expuestos a diferentes tipos de estrés abióticos esto sucede cuando las condiciones se apartan considerablemente del rango óptimo (Larcher, 2003). Los factores ambientales son la amenaza principal por la que no se puede obtener un crecimiento, desarrollo y productividad óptima de las plantas (Ashmore et al., 2006; Battisti & Naylor, 2009). La sequía, calor, salinidad, acidez del suelo, ozono troposférico y el exceso de radiación ultravioleta hacen que exista un alto riesgo en la escasez de alimento (Ashmore et al., 2006; Battisti & Naylor, 2009; Feng & Kobayashi, 2009; Fuhrer, 2009; Lobell et al., 2008; Ortiz et al., 2008; Wassmann et al., 2009).

4.2.1. Salinidad

La salinización es considerada como la amenaza más significativa para los recursos ambientales y la salud humana (Shahbaz & Ashraf, 2013). Es el resultado de interacciones complejas entre los procesos morfológicos, fisiológicos y bioquímicos (Akbarimoghaddam et al., 2011; Singh, 2001). La salinidad además de disminuir la producción óptima de casi la mayoría de cultivos, también afecta las propiedades fisicoquímicas del suelo y el equilibrio ecológico del área incluyendo algunos impactos como la baja productividad, bajo rendimiento en el eje económico y erosión de suelo (Hu & Schmidhalter, 2004).

La salinidad afecta a todos los estados fenológicos de la planta desde la germinación, el crecimiento vegetativo, hasta el desarrollo productivo debido a un estrés osmótico, además influye en la toxicidad iónica, deficiencia de nutrientes (N, Ca, K, P, Fe, Zn) y estrés oxidativo de las plantas teniendo como resultado una limitación significativa de agua del suelo, de fósforo (P) ya que los iones de fosfato tienden a precipitar los iones de Ca (Bano & Fatima, 2009).

4.2.2. Estrés hídrico

También conocido como sequía puede presenciarse debido a anomalías en las precipitaciones, fallas en la irrigación o a una temporada de verano las cuales son secas anualmente (Gilbert & Medina, 2016). La forma en la que puede afectar a las plantas puede depender de factores

interno o externos (resistencia al estrés, profundidad del sistema radical en el suelo y la etapa de desarrollo en la que se encuentre el cultivo) la cantidad de plantas por unidad de área, las condiciones climáticas (temperatura, humedad, viento, luz, cantidad de precipitación atmosférica) y finalmente por factores edáficos (cantidad de agua, presión osmótica, propiedades físicas y composición) (Duca, 2015).

El estrés hídrico dificulta el óptimo crecimiento desarrollo y producción de los cultivos (McDowell et al., 2011). Genera el cierre de estomas y la reducción del transporte interno de agua, lo cual dificulta el acceso de recursos necesarios para la realización de la fotosíntesis (Bréda et al., 2006). El estrés hídrico además de afectar la funcionalidad normal del cultivo también induce cambios en la morfología, fisiología y bioquímica con la finalidad de compensar las limitaciones de agua (Lee et al., 2016; Mittler, 2002). A largo plazo las plantas responden manteniendo el crecimiento de la raíz mientras que se reduce el crecimiento de la parte aérea (Comas et al. 2013)

Las limitaciones de agua presentes en los cultivos tienen como resultado la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno, la disminución de las actividades fotosintéticas, peroxidación lipídica y mayor frecuencia en los procesos de muerte celular programada (Deeba et al., 2012; Gill & Tuteja, 2010; Wallace et al., 2016).

4.3 Biofertilización

Los biofertilizantes o inoculantes microbianos, son productos que tienen como componente principal microorganismos del suelo gracias a sus propiedades aumentan la disponibilidad y la absorción de nutrientes minerales para las plantas (Malusá et al., 2012). Según Vessey (2003) al aplicarlos a semillas, la superficie de la planta o directamente al suelo colonizan la rizosfera o el interior de la planta, como resultado se presencia un aumento en el crecimiento, resistencia a factores bióticos y abióticos .

4.3.1. Generalidades de los microorganismos

Una de las alternativas para mejorar la fertilidad del suelo es el uso de microorganismos, la asociación con las plantas son una gran alternativa con enfoque sostenible para obtener un crecimiento, desarrollo y rendimiento óptimo (Berninger et al., 2018). Están relacionados con la mitigación de la salinidad del suelo, la fertilidad, la degradación, la pérdida de hábitat (Pandey et al., 2019). Además, tienen la función de proteger la salud frente a estreses bióticos y abióticos (Condori-Pacsi et al., 2019).

Entre los beneficios de la aplicación de microorganismos se encuentra la producción de antibióticos metabólicos que tienen la función de proteger a la planta de posibles ataques de organismos patógenos tales como: bacterias, hongos o nematodos (Valenzuela Ruiz et al., 2020). Por otra parte, poseen la capacidad de sintetizar fitohormonas para regular el crecimiento y desarrollo como también para incrementar la biodisponibilidad de nutrientes todo esto para obtener una mayor producción (Orozco-Mosqueda & Santoyo, 2020). Tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico y solubilizar fósforo, que son mecanismos con la función de aportar nutrientes a la planta, reduciendo o mitigando los eventos de contaminación por la aplicación intensiva de fertilizantes sintéticos, así como también el secuestro de hierro mediante sideróforos que previenen el desarrollo de fitopatógenos (Rojas Padilla et al., 2020; Valenzuela Ruiz et al., 2020). Estos también se consideran mejoradores de la estructura del suelo y ecofisiológicos ya que incrementan la resistencia al estrés tanto biótico como abiótico (Bowen & Rovira, 1999; Clark, 1949).

a) Género *Pseudomonas*. Son parte del dominio de *Bacterias*, del *Phylum Proteobacteria*, en la clase *Gammaproteobacteria*, en el orden *Pseudomonadales*, la familia *Pseudomonaceae*, cuenta con más de cien especies que alberga un grupo de bacterias consideradas las más diversas de la tierra (Hesse et al., 2018).

Es una bacteria aeróbica Gram-negativa, tiene la capacidad de prosperar en una variedad de entornos, en los que se incluyen los ecosistemas de agua dulce, terrestre y marinos, es considerada muy relevante en el ámbito agrícola gracias a su influencia que ejercen en la promoción del crecimiento (Kankariya et al., 2019). Son bastones los cuales pueden ser rectos o ligeramente curvados con flagelos polares, cuentan con un mecanismo respiratorio aeróbico sin embargo, ninguna de las especies es fermentativa, no toleran el pH menor a 4,5 es decir que en condiciones ácidas estos no crecen, son habitantes del agua y suelo (Palleroni & Moore, 2010).

Pseudomonas, es considerada como promotora de crecimiento, ayudan a colonizar las raíces, produce enzimas y metabolitos, solubiliza nutrientes, ácido indolacético y produce sideróforos estos actúan como agentes de biocontrol e inducen resistencia sistémica contra enfermedades (Podile & Kishore, 2007).

b) Género *Azospirillum*. Son bacterias Gram-negativas de vida libre que no forman esporas, son capaces de crecer en condiciones muy bajas de concentraciones de oxígeno (microaerófilas), prosperan en condiciones ambientales templadas, sus células tienen una forma

de bastón o espiral (Santos Ferreira et al., 2020). Se estudian ampliamente por su efecto como promotor de crecimiento de las plantas después de su inoculación (Cassán et al., 2020).

Se consideran organismos fijadores de nitrógeno donde la asociación de *Azospirillum* – planta, dan respuesta a un mayor desarrollo y rendimiento (Okon & Itzigsohn, 1995). Dicho aumento se atribuye a un mejor desarrollo radicular, un aumento considerable en la absorción de agua y nutrientes fijación biológica de nitrógeno, la producción de hormonas, la solubilización de fosfatos y sideróforos, además, tiene actividad biocontroladora de fitopatógenos (Pedraza et al., 2020).

c) Género *Azotobacter*. Son bacterias Gram-negativas los cuales tienen una vida libre (Alhia, 2010; Gandotra et al., 1998). Son ovaladas que forman quistes de paredes gruesas, algunas bacterias son móviles; estas se movilizan a través de flagelos peritrico, son sensibles al pH ácido, sales y temperatura altas. *Azotobacter* tienen gran importancia ya que contribuye al crecimiento y el rendimiento gracias a la biosíntesis de sustancias activas, estimulación de microbios rizosféricos, modificación de la absorción de nutrientes, producción de inhibidores Fitopatógenos (Sandeep et al., 2011).

Las azotobacterias se han venido utilizando como biofertilizantes hace más de un siglo. Fijan nitrógeno aeróbicamente, elaboran hormonas vegetales, tienen la capacidad de solubilizar fosfatos y ayudan a la reducción de fitopatógenos. la aplicación tiene un efecto positivo en el rendimiento (Das, 2019).

d) Formulación de microorganismos. La formulación es un proceso industrial en el cual se obtiene un bioinoculante que contiene como ingrediente activo microorganismos, los cuales son utilizados con un gran auge en los sistemas de producción para adquirir mayor disponibilidad de nutrientes, resistencia a factores biótico y abióticos que brinden rendimientos óptimos de los cultivos (Loredo-Osti et al., 2004). Se formulan normalmente en un vehículo estéril o no estéril (Bashan et al., 2014). Puede ser: líquido; granulado; sólido o polvo (Bashan et al., 2014; Catroux et al., 2001).

Las formulaciones sólidas se incorporan a través del recubrimiento de las semillas o aplicando enmiendas al suelo (Bashan et al., 2014). La materia prima del vehículo comúnmente es la turba, sin embargo, en la actualidad se utiliza el bagazo, estiércol animal, polvo de alfalfa, compost de polvo de coco (turba de coco), compost de lombrices, perlita, fosfatos de rosa, carbón vegetal entre varias variedades de carbones, lignito, talco y fracciones inorgánicas del suelo como las arcillas (Stephens & Rask, 2000).

Las formulaciones líquidas comprenden suspensiones de concentrados celulares, emulsiones o lodos que contienen partículas sólidas (Bashan et al., 2014). Al igual que la formulación sólida se puede aplicar recubriendo directamente a la semilla, como también pueden ser incorporados directamente en surcos durante la siembra en plantaciones ya establecidas (Malusá et al., 2012). Una de las ventajas de esta formulación es que también se puede aplicar de la parte aérea de la planta (Mitter et al., 2017).

4.4 Uso de fitohormonas

Las fitohormonas o hormonas vegetales se localizan en varios tejidos de las plantas como moléculas señalizadoras en cantidades limitadas de acuerdo al proceso que se necesite regular, los cambios que se dan en la distribución de estas hormonas modifican el desarrollo y las respuestas a los diferentes estreses (bióticos y abióticos) que se presentan, en la actualidad se conocen 11 tipos de hormonas entre ellas: ácido abscísico, etileno, las giberelinas, el ácido salicílico entre otras (Porta & Jiménez-Nopala, 2019).

El ácido salicílico es parte de un amplio grupo de compuestos sintetizados conocidos como fenólicos (Sánchez et al., 2010). Una gran gama de organismos procariontas y eucariotas producen ácido salicílico SA. (Cuéllar et al., 2008). Las funciones más conocidas que realiza son como molécula de las respuestas de defensa de la planta, resistencia a enfermedades, biorreguladores de crecimiento, provoca cierre de estomas, reducción de la transpiración y defensa de las plantas frente a diversos estreses ambientales (sequia, salinidad, inundaciones, cambios de temperatura, entre otros) (Sánchez et al., 2010; Ward et al., 1991).

5. Metodología

5.1. Ubicación geográfica

El presente ensayo se realizó en la quinta experimental docente “La Argelia” ubicada en la ciudad de Loja a 04° 57′ 20″ S y 79° 12′ 47″ O. Se encuentra a 2 136 msnm, a una temperatura que oscila desde 9°C a 21°C con una media de 17°C con una precipitación anual de 1001 mm.

5.2. Metodología para el primer objetivo

“Evaluar el efecto de microorganismos rizosféricos y ácido salicílico sobre los parámetros de crecimiento, desarrollo y rendimiento de plantas de lechuga bajo condiciones de estrés”.

5.2.1. Condiciones del cultivo de lechuga

Bajo invernadero se colocaron fundas de polietileno (25 x 17 cm) que contienen sustrato en proporción 2.1.1 a base de tierra de montaña, arena y turba previamente desinfectado con calor, con un pH de 6.5 y conductividad eléctrica de 0,5 dS/m (deciSiemens por metro) fueron trasplantadas plántulas de lechuga de 15 días de edad. No sin antes someter al sustrato a un tipo de estrés: Estrés de sales donde se aplicó 100 mol/m³ de cloruro de sodio (NaCl) hasta llegar a una conductividad de 2,29 dS/m (suelo salino). Este tipo de estrés fue generado al momento de la siembra (García-Parra et al., 2019). Para el estrés hídrico las plantas no fueron regadas por 5 días.

5.2.2. Mitigadores de estrés (microorganismos y ácido Salicílico)

Se usaron tres cepas de microorganismos promotores del crecimiento nativos de la Provincia de Loja de los géneros *Azotobacter* (AzM1R2), *Azospirillum* (AsM3R1) y *Pseudomonas* (PM8R1), previo a su aplicación se realizó una activación y crecimiento de los mismos para contabilizar las unidades formadoras de colonias (UFC) y determinar la concentración de cada uno. Obteniendo para AzM3R1: 3,3X10⁷ UFC/ml, AsM3R1: 3,6X10⁷ UFC/ml y PM8R1: 3,8X10⁷ UFC/ml. De esta solución se aplicó 1 ml con la ayuda de una pipeta al sustrato directo por planta. Para la aplicación del ácido salicílico (AS) fue usada la metodología sugerida por Sourí and Tohidloo (2019); en donde 100 mg de este producto se diluyó en 100 ml de agua potable; posteriormente se sumergió las raíces de las plántulas por un lapso de 30 minutos. En ambos casos los tratamientos fueron aplicados una sola vez y posteriormente se procedió con la siembra.

5.2.3. Variables evaluadas

Después de la siembra se recolectaron datos de las siguientes variables:

Número de hojas: Cada 15 días después de la siembra se contabilizó las hojas de todas las unidades experimentales.

Altura de la planta: Cada 15 días después de la siembra se midió con la ayuda de una cinta métrica desde la base hasta el final de la hoja de todas las unidades experimentales.

Área foliar: A los 70 DDS se midió con una cinta métrica la longitud y el ancho de 3 hojas de cada unidad experimental y se determinó mediante la fórmula $AF = L \times A / P$ (Martínez & Garcés, 2010)

Donde:

L= Longitud A= ancho P= área de suelo

Peso seco: A los 70 DDS se introdujo en una estufa todas las unidades experimentales a una temperatura de 65 °C por 8 días hasta lograr un peso estable, previo a un pre-secado por el lapso de 4 días, las muestras se colocaron en un cajón de madera con una cocina eléctrica generando un micro clima que deshidrato las plantas de lechuga.

Rendimiento: Se consideró el peso verde de todas las unidades experimentales de cada tratamiento al momento de la cosecha y se relacionó para una hectárea en kg/ha.

5.3. Metodología para el segundo objetivo

“Formulación de la cepa de microorganismos más eficiente en la incidencia del crecimiento, desarrollo y rendimiento de lechuga para estudios siguientes a nivel de campo”

Mediante las pruebas estadísticas realizadas de las variables de crecimiento y rendimiento del paquete estadístico SigmaPlot 14.0 se seleccionaron las cepas de los géneros *Azospirillum* y *Pseudomonas* las cuales mostraron mejores resultados, se sembraron en caldo nutriente (Anexo 1) y se estimuló su crecimiento hasta $3,6 \times 10^7$ UFC/mL⁻¹ y $3,8 \times 10^7$ UFC/mL⁻¹. Se utilizó turba comercial Promix PGX, con la metodología modificada de Aguilar (2020), se esterilizó mediante autoclave a 14 psi durante 20 minutos . Se usó fundas de papel aluminio de medidas de 20 X 13 cm que se esterilizaron mediante radiación UV durante 20 minutos.

En cada funda de papel aluminio se distribuyó 500 g de turba estéril con un inóculo de 30 ml de cada una de las cepas de interés. Se incubaron a 27° C dentro de un cuarto con control de temperatura durante 15 días. El producto final se mantuvo en refrigeración a 4° C para lograr una duración de 12 a 24 meses para próximos estudios a nivel de campo (Vacheron et al., 2015).

5.4. Diseño experimental

En el presente trabajo de titulación se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo bifactorial. Se planteó 15 tratamientos con 7 repeticiones con un total de 105 unidades experimentales donde se evaluó el efecto de la aplicación de 3 cepas de microorganismos de los géneros *Azotobacter* (AzM1R2), *Azospirillum* (AsM3R1), *Pseudomonas* (PM8R1) y ácido salicílico (AS) en el cultivo de lechuga bajo condiciones de estrés salino y estrés hídrico.

Tratamientos: T1 (control + control); T2 (control + AS); T3 (control + AzM1R2); T4 (control + AsM3R1); T5 (control+ PM8R1); T6 (estrés hídrico + control); T7 (estrés hídrico + AS); T8

(estrés hídrico + AzM1R2); T9 (estrés hídrico + AsM3R1); T10 (estrés hídrico + PM8R1); T11 (estrés salino + control); T12 (estrés salino+ AS); T13 (estrés salino + AzM1R2); T14 (estrés salino + AsM3R1); T15 (estrés salino + PM8R1)

5.5. Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron procesados en el paquete estadístico SigmaPlot 14.0 mediante un análisis de varianza (ANOVA), se comprobaron los supuestos de homogeneidad y normalidad y finalmente las medias fueron evaluadas mediante estadística paramétrica con la prueba de Tukey con una probabilidad del 5% y estadística no paramétrica con la prueba de Kruskal-Wallis.

6. Resultados

6.1 Efecto de microorganismos y ácido salicílico sobre variables de crecimiento y rendimiento en el cultivo de lechuga bajo condiciones de estrés

6.1.1 Altura de la planta

En condiciones edáficas del sustrato de pH 6,5 y conductividad eléctrica 0,5 dS/m, se obtuvieron resultados que reflejan que las plantas a las que se les aplicó microorganismos rizosféricos y ácido salicílico, lograron mayor altura en cada una de las plantas (figura 1A). Según la prueba de Tukey el control presentó diferencias significativas con todos los tratamientos siendo el de menor altura, en comparación de las plantas con los tratamientos de *Azotobacter*, ácido salicílico *Pseudomonas* y *Azospirillum* que fueron los tratamientos en donde las plantas alcanzaron mayor altura, mismos que no mantuvieron diferencias significativas entre sí (figura 1B).

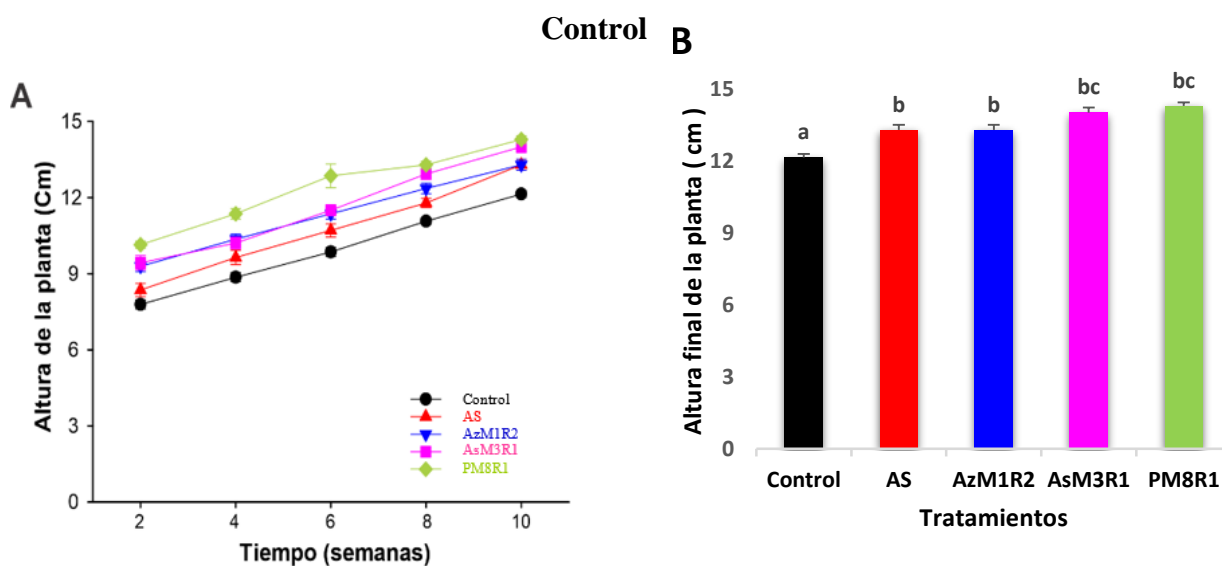


Figura 1. Efecto de la aplicación de microorganismo rizosféricos y ácido salicílico en la dinámica de crecimiento en el cultivo de lechuga. Loja, julio 2022. (A) dinámica del crecimiento de lechuga desde el trasplante hasta la cosecha, (B) altura final a los 70 días después del trasplante. Símbolos representan la media de 7 repeticiones, barras con letras desiguales difieren significativamente por la prueba de Tukey ($\alpha < 0.05$) (n= 35). Leyenda: ácido salicílico (AS), *Azotobacter* (AzM1R2), *Azospirillum* (AsM3R1), *Pseudomonas* (PM8R1).

Para la presente variable, los resultados reflejan que las aplicaciones de microorganismos rizosféricos y ácido salicílico lograron disminuir el efecto causado por el estrés hídrico, observándose mayor altura en cada una de las plantas (figura 2A). Según la prueba de Kruskal – Wallis, El control mostró diferencias significativas frente a la aplicación de ácido salicílico, *Azotobacter*, *Pseudomonas* y *Azospirillum*. Logrando los mayores promedios en altura (figura 2B).

Estrés hídrico

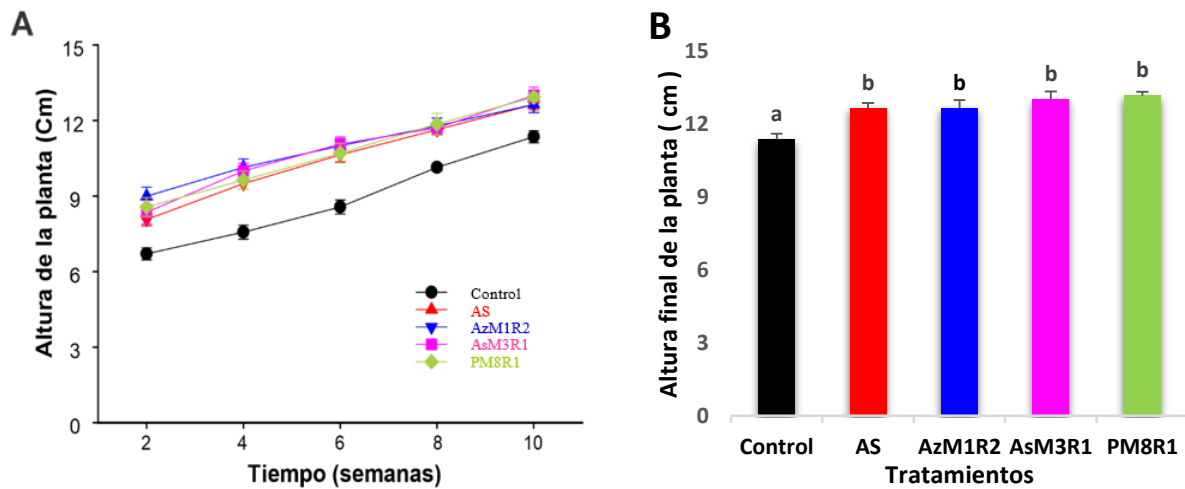


Figura 2. Efecto de la aplicación de microorganismo rizosféricos y ácido salicílico en la dinámica de crecimiento en el cultivo de lechuga bajo condiciones de estrés hídrico. Loja, julio 2022. (A) dinámica del crecimiento de lechuga desde el trasplante hasta la cosecha, (B) altura final a los 70 días después del trasplante. Símbolos representan la media de 7 repeticiones, barras con letras desiguales difieren significativamente por la prueba de Kruskal - Wallis ($\alpha < 0.05$) (n= 35). Leyenda: ácido salicílico (AS), *Azotobacter* (AzM1R2), *Azospirillum* (AsM3R1), *Pseudomonas* (PM8R1).

Bajo condiciones de estrés salino (CE de 2,34 dS/m) los resultados demuestran que la aplicación de microorganismos rizosféricos y ácido salicílico lograron disminuir el efecto de estrés causando como respuesta mayor altura de las plantas (figura 3A) en comparación con el control. Según la prueba de Tukey, el control mostró diferencias significativas con todos los

tratamientos aplicados, mientras que la aplicación de *Pseudomonas* alcanzo la mayor altura siendo diferente de *Azotobacter* y ácido salicílico (figura 3B).

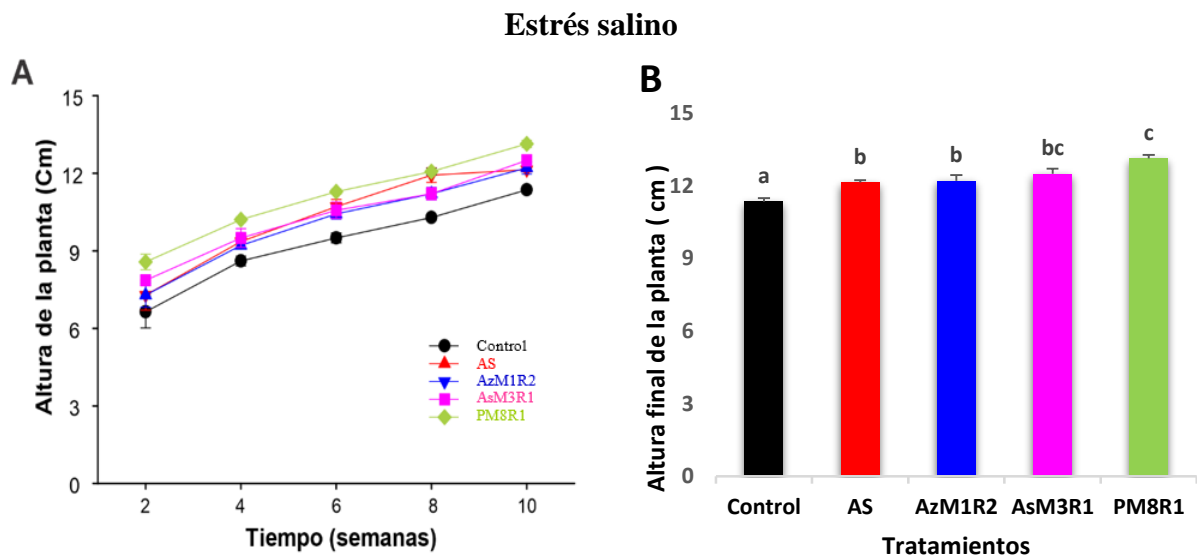


Figura 3. Efecto de la aplicación de microorganismo rizosféricos y ácido salicílico en la dinámica de crecimiento en el cultivo de lechuga bajo condiciones de estrés salino. Loja, julio 2022. (A) dinámica del crecimiento de lechuga desde el trasplante hasta la cosecha, (B) altura final a los 70 días después del trasplante. Símbolos representan la media de 7 repeticiones, barras con letras desiguales difieren significativamente por la prueba de Tukey ($\alpha < 0.05$) ($n = 35$). Leyenda: ácido salicílico (AS), *Azotobacter* (AzM1R2), *Azospirillum* (AsM3R1), *Pseudomonas* (PM8R1).

6.1.2. Número de hojas

Los resultados obtenidos reflejan que las aplicaciones de microorganismos rizosféricos y ácido salicílico lograron mayor cantidad de hojas por planta (figura 4A). Según el test de Kruskal – Wallis el control no presenta diferencias significativas con la aplicación de *Azotobacter* el cual consiguió el menor número de hojas por otro lado, la aplicación de *Pseudomonas*, *Azospirillum* y ácido salicílico obtuvieron la mayor cantidad de hojas (figura 4B).

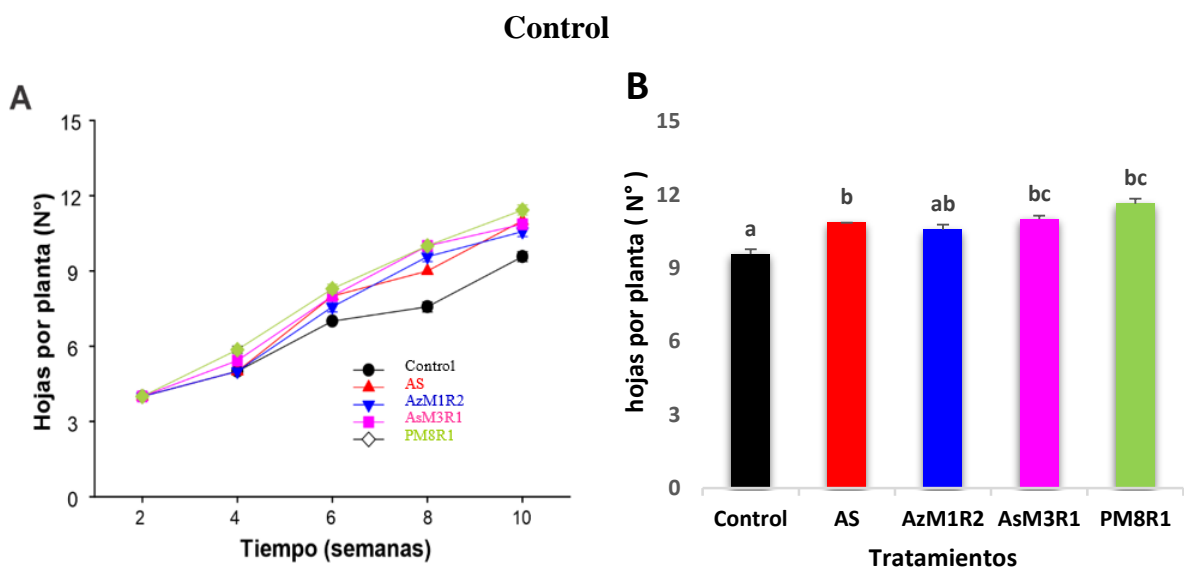


Figura 4. Efecto de la aplicación de microorganismo rizosféricos y ácido salicílico en la dinámica de número de hojas en el cultivo de lechuga. Loja, julio 2022. (A) dinámica de número de hojas de lechuga desde el trasplante hasta la cosecha, (B) número de hojas final a los 70 días después del trasplante. Símbolos representan la media de 7 repeticiones, barras con letras desiguales difieren significativamente por la prueba de Kruskal - Wallis ($\alpha < 0.05$) (n= 35). Leyenda: ácido salicílico (AS), *Azotobacter* (AzM1R2), *Azospirillum* (AsM3R1), *Pseudomonas* (PM8R1).

Bajo condiciones de estrés hídrico los resultados reflejaron que las aplicaciones de microorganismos rizosféricos y ácido salicílico generan mayor cantidad de hojas por planta (figura 5A). Según la prueba de Tukey el control no obtuvo diferencias significativas con la aplicación de *Azotobacter* siendo el tratamiento con menor hojas, por otro lado, la aplicación de ácido salicílico y *Azospirillum* no presentaron diferencias significativas mientras que la aplicación de *Pseudomonas* alcanzó la mayor cantidad de hojas (figura 5B).

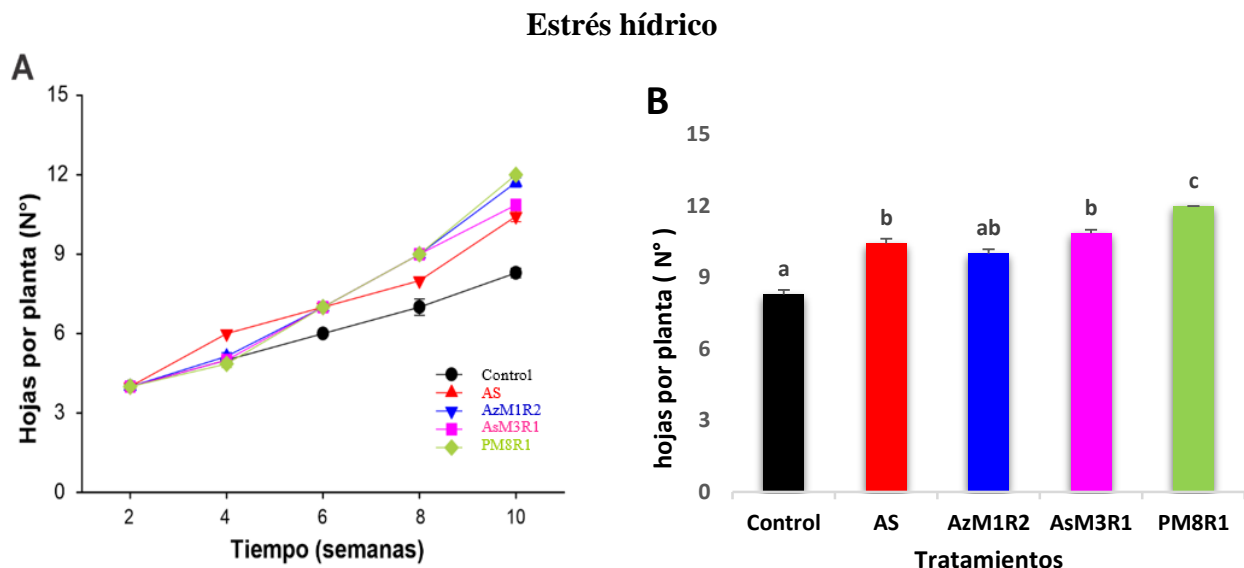


Figura 5. Efecto de la aplicación de microorganismo rizosféricos y ácido salicílico en la dinámica de número de hojas en el cultivo de lechuga bajo condiciones de estrés hídrico. Loja, julio 2022. (A) dinámica del número de hojas de lechuga desde el trasplante hasta la cosecha, (B) altura final a los 70 días después del trasplante. Símbolos representan la media de 7 repeticiones, barras con letras desiguales difieren significativamente por la prueba de Tukey ($\alpha < 0.05$) (n= 35). Leyenda: ácido salicílico (AS), *Azotobacter* (AzM1R2), *Azospirillum* (AsM3R1), *Pseudomonas* (PM8R1).

En condiciones de estrés salino los resultados reflejaron que las aplicaciones de microorganismos rizosféricos y ácido salicílico generaron mayor cantidad de hojas por planta (figura 6A). Según la prueba de Tukey el control tiene diferencias significativas con la aplicación de los tratamientos, no obstante, los tratamientos donde se aplicó ácido salicílico, *Azotobacter*, *Azospirillum* no mostraron diferencias significativas entre si manteniendo mayor cantidad de hojas al igual que *Pseudomonas* (figura 6B).

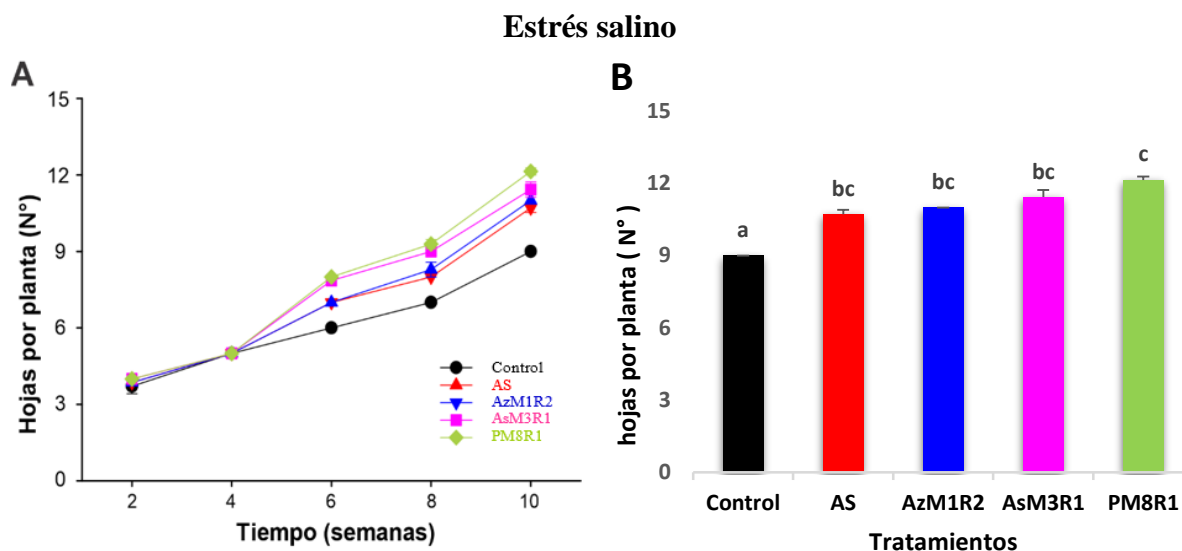


Figura 6. Efecto de la aplicación de microorganismo rizosféricos y ácido salicílico en la dinámica del número de hojas en el cultivo de lechuga bajo condiciones de estrés salino. Loja, julio 2022. (A) dinámica del número de hojas de lechuga desde el trasplante hasta la cosecha, (B) altura final a los 70 días después del trasplante. Símbolos representan la media de 7 repeticiones, barras con letras desiguales difieren significativamente por la prueba de Tukey ($\alpha < 0.05$) ($n = 35$). Leyenda: ácido salicílico (AS), *Azotobacter* (AzM1R2), *Azospirillum* (AsM3R1), *Pseudomonas* (PM8R1).

6.1.3. Área de la hoja

Según el test de Tukey no existe diferencias significativas entre el control y *Azotobacter* siendo los tratamientos con menor área foliar, por otro lado, la aplicación de *Pseudomonas* y *Azospirillum* obtuvieron los mejores resultados para esta variable, aunque similares efectos tuvieron las plantas sometidas al efecto del ácido salicílico (figura 7A). Bajo condiciones de estrés hídrico (figura 7B) el control no obtuvo diferencias significativas con la aplicación de *Azotobacter* siendo los tratamientos con menor área foliar, por otro lado, el ácido salicílico *Pseudomonas* y *Azospirillum* alcanzaron la mayor área foliar. Bajo condiciones de estrés salino (figura 7C) el control tiene diferencias significativas con la aplicación de los tratamientos, no obstante, el ácido salicílico, *Azotobacter*, *Pseudomonas* y *Azospirillum* alcanzaron la mayor área foliar sin mantener diferencias significativas entre sí.

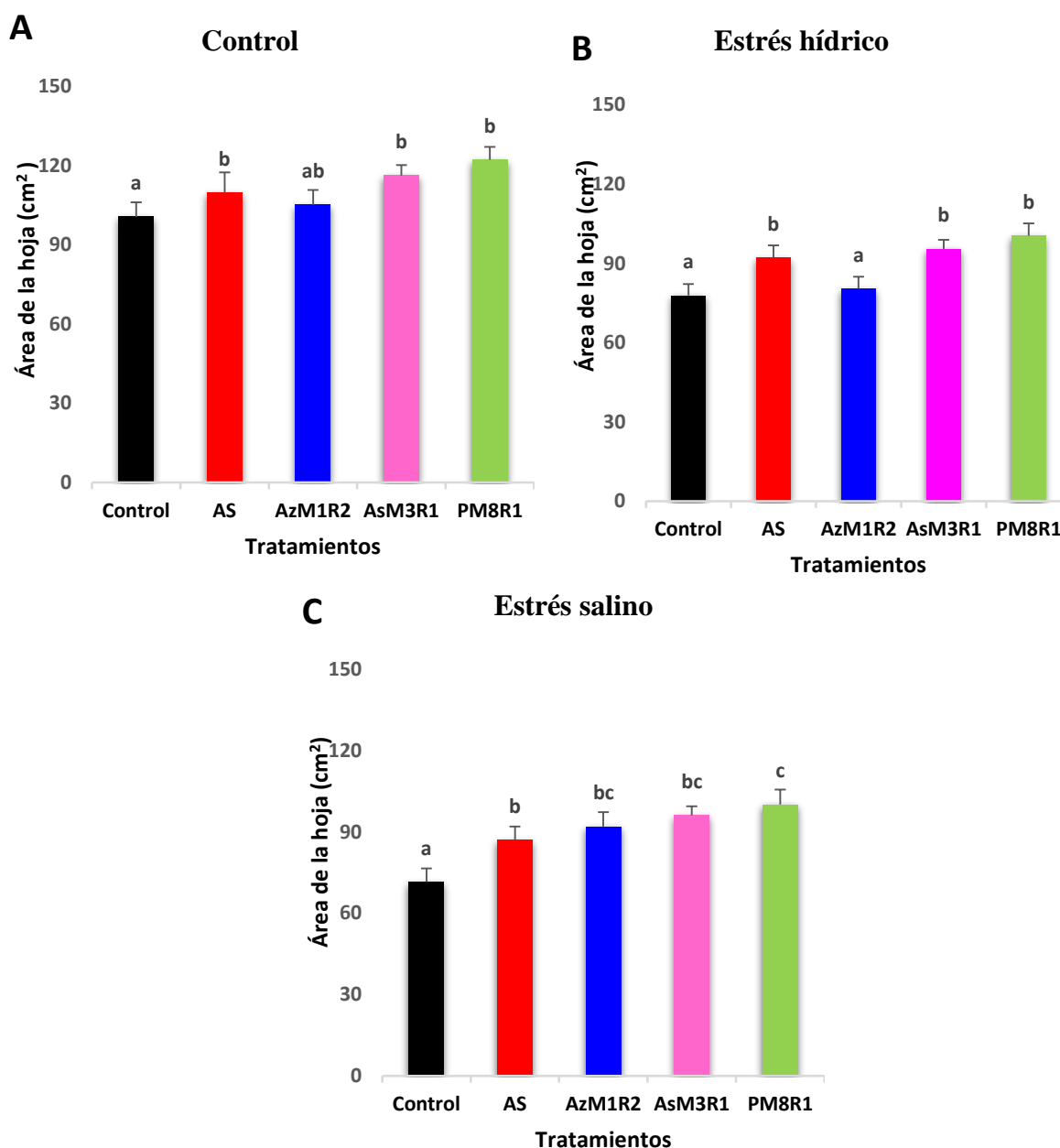


Figura 7. Efecto de la aplicación de microorganismo rizosféricos y ácido salicílico en la dinámica del área foliar en el cultivo de lechuga. Loja, julio 2022. (A) dinámica del área de la hoja final sin la aplicación de estrés, (B) dinámica del área de la hoja final bajo condiciones de estrés hídrico, (C) dinámica del área de la hoja final bajo condiciones de estrés salino a los 70 días después del trasplante. Símbolos representan la media de 7 repeticiones, barras con letras desiguales difieren significativamente por la prueba de Tukey ($\alpha < 0.05$) ($n = 35$). Leyenda: ácido salicílico (AS), *Azotobacter* (AzM1R2), *Azospirillum* (AsM3R1), *Pseudomonas* (PM8R1).

6.1.4. *Peso seco total*

Según el test de Tukey no existe diferencias significativas entre el control y *Azotobacter* siendo los tratamientos con menor peso seco, por otro lado, la aplicación de ácido salicílico, *Pseudomonas* y *Azospirillum* obtuvieron el mayor peso seco y no presentan diferencias significativas entre sí (figura 8A). Bajo condiciones de estrés hídrico (figura 8B) el control

obtuvo el menor peso seco, además, no se presentaron diferencias significativas con la aplicación de ácido salicílico, *Azotobacter* y *Azospirillum*, sin embargo, *Pseudomonas* y *Azospirillum* alcanzaron el mayor peso seco. Bajo condiciones de estrés salino (figura 8C) el control no tiene diferencias significativas con la aplicación de ácido salicílico siendo los tratamientos con menor peso seco, mientras que, *Azotobacter*, *Pseudomonas* y *Azospirillum* alcanzaron el mayor peso seco.

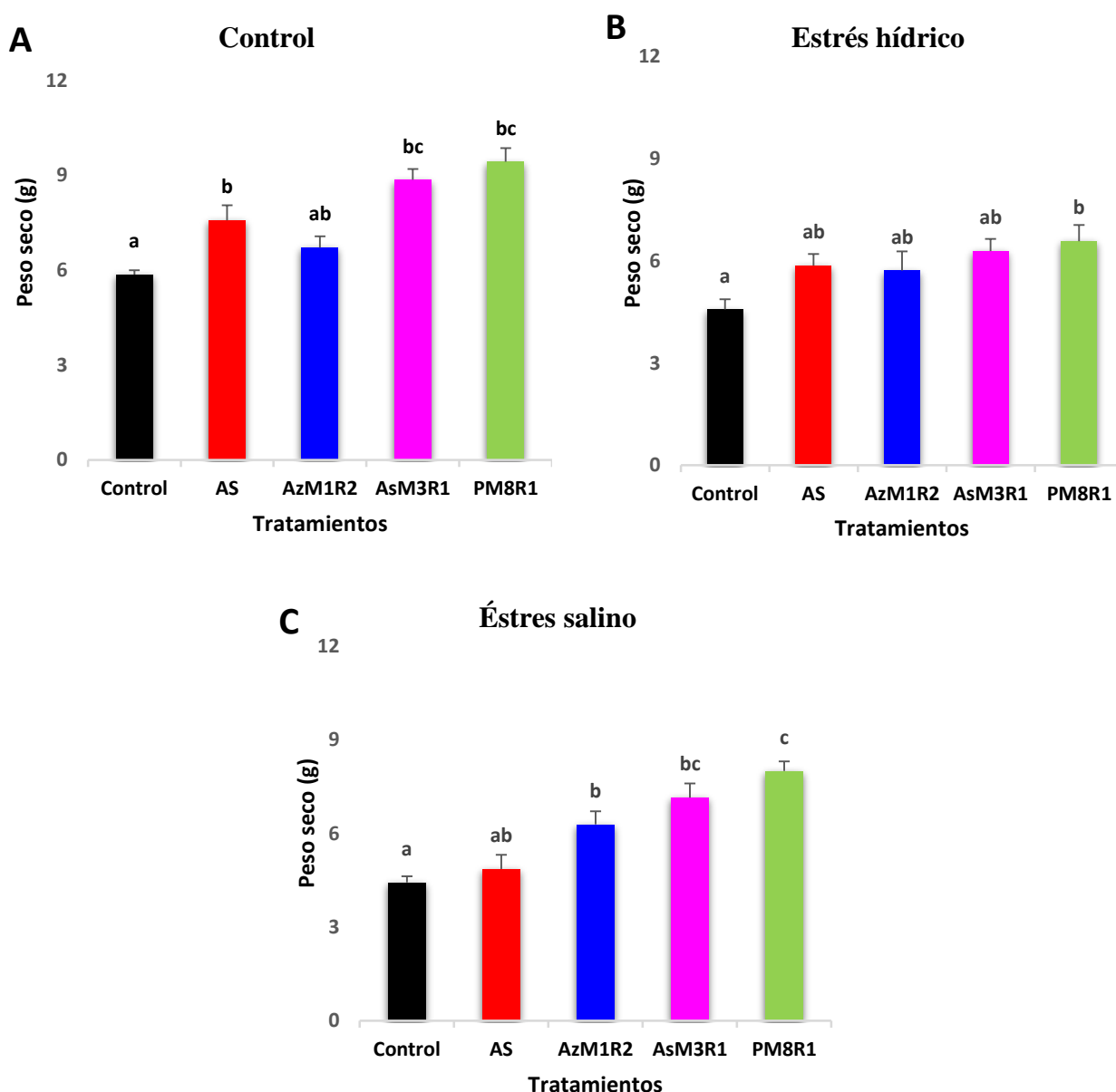


Figura 8. Efecto de la aplicación de microorganismo rizoféricos y ácido salicílico en la dinámica del peso seco en el cultivo de lechuga. Loja, julio 2022. (A) dinámica del peso seco sin la aplicación de estrés, (B) dinámica del peso seco bajo condiciones de estrés hídrico, (C) dinámica del peso seco bajo condiciones de estrés salino a los 70 días después del trasplante. Símbolos representan la media de 7 repeticiones, barras con letras desiguales difieren significativamente por la prueba de Tukey ($\alpha < 0.05$) (n= 35). Leyenda: ácido salicílico (AS), *Azotobacter* (AzM1R2), *Azospirillum* (AsM3R1), *Pseudomonas* (PM8R1).

6.1.5. Rendimiento

Según el test de Tukey no existe diferencias significativas entre el control y *Azotobacter* siendo los tratamientos con menor rendimiento, por otro lado, la aplicación de ácido salicílico *Pseudomonas* y *Azospirillum* obtuvieron los mejores resultados (figura 9A). Bajo condiciones de estrés hídrico (figura 9B) el control obtuvo el menor rendimiento, mientras que no se presentó diferencias significativas entre los tratamientos, sin embargo, los que alcanzaron menor rendimiento fueron el control y *Azotobacter*, por otro lado, la aplicación de ácido salicílico *Pseudomonas* y *Azospirillum* alcanzaron el mayor rendimiento. Bajo condiciones de estrés salino (figura 9C) el control tiene diferencias significativas con la aplicación de todos los tratamientos los cuales mitigaron los efectos causados por este tipo de estrés mostrando mayor área foliar con leves diferencias significativas.

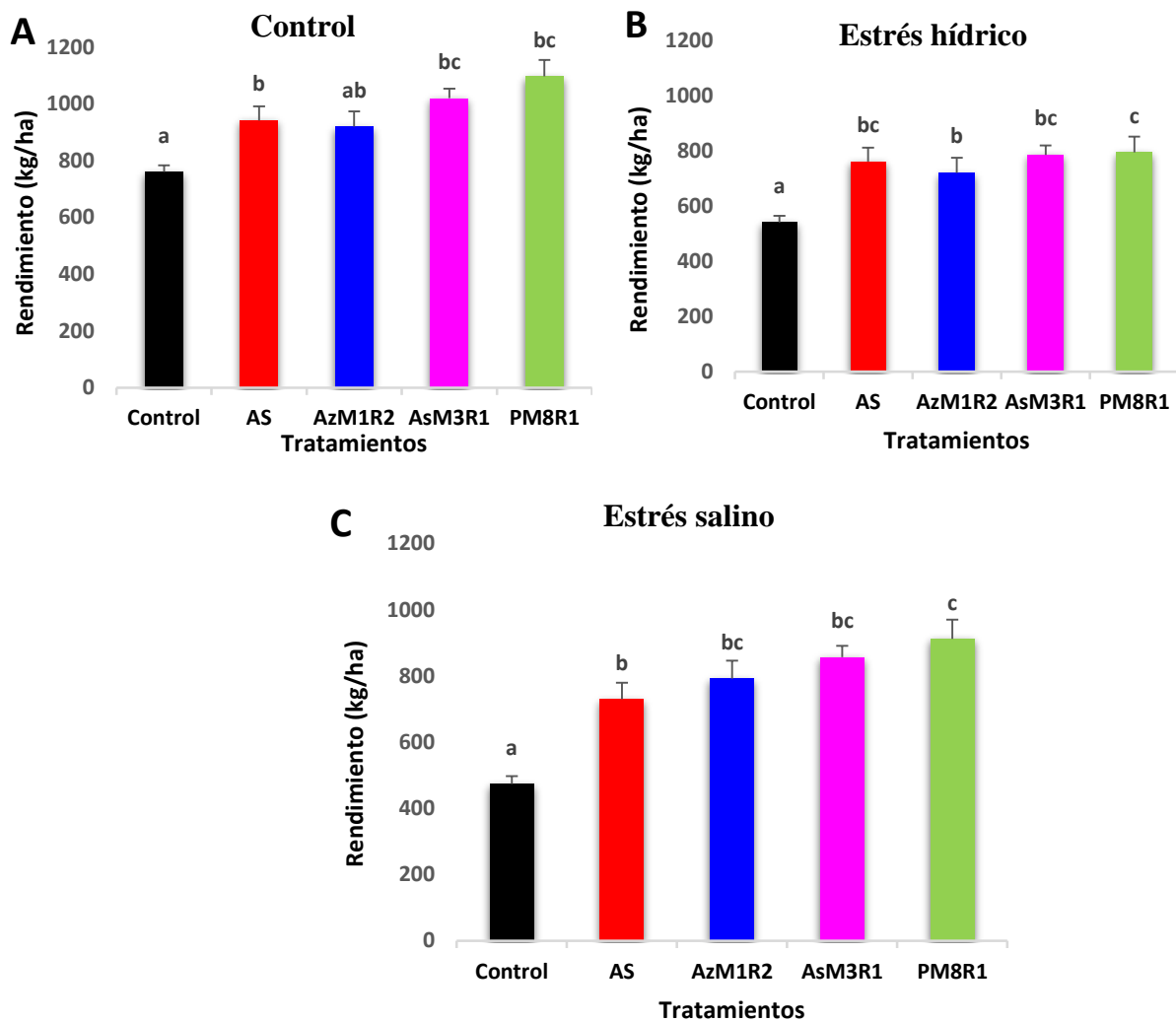



Figura 9. Efecto de la aplicación de microorganismo rizosféricos y ácido salicílico en la dinámica del rendimiento en el cultivo de lechuga. Loja, julio 2022. (A) dinámica del rendimiento sin la aplicación de estrés, (B) dinámica del rendimiento bajo condiciones de estrés hídrico, (C) dinámica del rendimiento

bajo condiciones de estrés salino a los 70 días después del trasplante. Símbolos representan la media de 7 repeticiones, barras con letras desiguales difieren significativamente por la prueba de Tukey ($\alpha < 0.05$) ($n = 35$). Leyenda: ácido salicílico (AS), *Azotobacter* (AzM1R2), *Azospirillum* (AsM3R1), *Pseudomonas* (PM8R1).


6.2. Formulación de la cepa de microorganismos más eficiente

Se obtuvo 15 fundas de turba + *Azospirillum* ($3,6 \times 10^7$ UFC/ml) y 15 fundas de turba + *Pseudomonas* ($3,8 \times 10^7$ UFC/ml) para estudios posteriores de viabilidad y pruebas en campo.



Ficha Técnica

Bioproducto mixto con microorganismos benéficos para su aplicación en cultivos hortícolas



IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO:

<p>A. Ingrediente activo: Azospirillum</p> <p>Clase química: Biológico</p> <p>Tipo de producto: Biofertilizante</p> <p>Formulación: Sólida (turba)</p> <p>Concentración: $3,6 \times 10^7$ UFC</p> <p>pH: 6,8</p>	<p>B. Ingrediente activo: Pseudomonas</p> <p>Clase química: Biológico</p> <p>Tipo de producto: Biofertilizante</p> <p>Formulación: Sólida (turba)</p> <p>Concentración: $3,8 \times 10^7$ UFC</p> <p>pH: 6,8</p>
--	---

INFORMACIÓN AGRONÓMICA

Clasificación del producto: Bacterias promotoras de crecimiento vegetal, captadoras de nitrógeno de aire y fijadoras al suelo, fito-estimuladores, resistencia sistémica

ALMACENAMIENTO

Temperatura: 4 °C

Duración: 12 a 24 meses

FORMA DE ACCIÓN

- Microorganismos rizosféricos clave para obtener cultivos saludables y vigorosos
- Generación de equilibrio, siendo esenciales para obtener velocidad de germinación de semillas
- Estimula el desarrollo radicular y formación de raíces fortaleciendo los mecanismos de defensa de la planta
- Aumenta la respuesta a la fertilización orgánica, reduciendo la pérdida de nitrógeno (N) y Fosforo (P)
- Sustituye la aplicación de fertilizantes hasta un 25 a 30% mejorando en rendimiento entre el 20 y el 30% en producción.
- Aumenta la tolerancia al estrés hídrico, ataque de plagas y enfermedades.
- Evita la entrada de agentes patógenos produciendo sustancias antimicrobianas (efecto antibiótico y sideróforos)

Figura 10. Ficha técnica de Bioproducto a base de *Pseudomonas* y *Azospirillum* en material sólido (turba)

7. Discusión

7.1 Efecto de microorganismos y ácido salicílico sobre variables de crecimiento y rendimiento en el cultivo de lechuga bajo condiciones de estrés

En el presente ensayo se estudió el efecto de microorganismos rizosféricos y ácido salicílico sobre el crecimiento, desarrollo y rendimiento de lechuga bajo condiciones de estrés.

Los microorganismos y las fitohormonas han demostrado ser opciones ventajosas como biofertilizantes, económicos, seguros y ecológicos; sus funciones los convierten en una alternativa potencial para el manejo agronómico de los cultivos en zonas donde las condiciones edáficas no son óptimas para la correcta absorción de agua y minerales (Bowen & Rovira, 1999).

Para determinar el efecto de estos microorganismos rizosféricos y ácido salicílico se evaluaron variables de crecimiento (altura, número de hojas y área foliar, peso seco) y rendimiento las cuales fueron uniformes con una línea de tendencia creciente durante las fases fenológicas del cultivo, los tratamientos controles obtuvieron el menor crecimiento en altura, menor número, área de hojas y rendimiento mismos resultados que se pretendían encontrar ya que no se encuentran en condiciones óptimas para su desarrollo, en comparación con la aplicación de los diferentes microorganismos rizosféricos y ácido salicílico. Ello coincide con lo evaluado por Terry et al. (2002) aplicando rizobacterias en los cultivos hortícolas de tomate, lechuga, habichuela y rábano manifestando diferencias significativas entre los tratamientos inoculados frente al control. De igual manera. En la presente investigación, el ácido salicílico mostró mayor crecimiento frente al tratamiento control, lo cual coincide con Prado et al. (2012), quien usando también ácido salicílico, menciona similar incremento con respecto al control en el rendimiento de lechuga. Para la variable de rendimiento se recolectó datos de peso seco total y peso verde en el cual también se mostró que la aplicación de microorganismos rizosféricos y ácido salicílico mitigaron los efectos producidos por el estrés hídrico y salino obteniendo mayor peso seco de la plata y rendimiento en los tratamientos aplicados.

El déficit hídrico, generalmente afecta el correcto desarrollo de las plantas disminuyendo la producción de biomasa (Kaushal & Wani, 2016), el crecimiento debido a cambios en los balances iónicos, eficiencia fotosintética, la distribución y la utilización de carbono (Janmohammadi et al., 2012), como también reducción a nivel foliar, madurez temprana y cerramiento estomático prolongado (Obidiegwu et al., 2015; Silva Dalberto et al., 2017). Sin

embargo, con la aplicación de microorganismos promotores de crecimiento, estos efectos disminuyeron, debido a que estas bacterias poseen una tolerancia al estrés osmótico, algunas de estas poseen la capacidad endofítica y en algunos casos proporcionan cambios considerados como morfo fisiológicos (acumulación de osmolitos, regulación estomática y disminución del potencial de la membrana), todo esto contribuye a la mitigación del estrés hídrico (Armada, 2015). Estos resultados se pueden corroborar con lo mencionado por Ocampo (2015) en su estudio realizado en maíz en zonas bajo condiciones de sequía, en donde se obtuvo mayor longitud de la planta previo a la aplicación de estos microorganismos, así mismo estudios realizados por Basahi et al. (2014) y Karam et al. (2002) mostraron mayor biomasa en el cultivo de lechuga bajo estrés hídrico con la aplicación de microorganismos. El ácido salicílico, de igual manera, mitigó los efectos ocasionados por este tipo de estrés dando como respuesta mayor crecimiento y rendimiento a comparación con el control y aunque no existe una alta gama de estudios realizados estos resultados coinciden con Casasola Zamora (2012) el cual evaluó el efecto del ácido salicílico sobre la tolerancia a la sequía en lechuga obteniendo como resultados mayor rendimiento que el control, sin embargo no se obtuvieron diferencias significativas. Por su parte, Agami (2013) y Ortiz and Xareny (2013) evaluaron el efecto del ácido salicílico y el estrés hídrico sobre la calidad de lechuga, obteniendo como resultados que las plantas tratadas lograron mayor rendimiento en comparación con los demás tratamientos, sin embargo, los microorganismos fueron los que ocasionaron los mejores resultados.

Bajo condiciones de estrés salino se estudiaron los efectos de microorganismos rizosféricos obteniendo como resultado que los tratamientos que no se aplicó estas bacterias y el ácido salicílico obtuvieron menor crecimiento y rendimiento, según Khan et al. (2012) se debe a un efecto acumulativo en la alteración de la homeostasis iónica, el desequilibrio hídrico y a la reducción de la capacidad fotosintética, ya que mediante el estrés salino se induce a un estrés oxidativo a través de una sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS) que pueden alterar las funciones de los cloroplastos (Apel & Hirt, 2004).

Mientras que con las plantas que se aplicaron los tratamientos de microorganismos rizosféricos se obtuvo mayor crecimiento y rendimiento coincidiendo con los diferentes estudios realizados en varios cultivos bajo condiciones de estrés por salinidad (Etesami & Maheshwari, 2018; Farro et al., 2021; Kaushal & Wani, 2016; Orhan, 2016; Singh & Jha, 2016) los cuales han mostrado que los mecanismos por lo que se mejora el crecimiento con microorganismos incluyen la acumulación de osmolitos tales como aminoácidos y algunos de sus derivados (glutamato, prolina, péptidos, y aminoácidos N- acetilados), así mitigando los efectos que produce la

salinidad y obteniendo mayor rendimiento en comparación con el control. Se obtuvieron los mismos resultados con la aplicación de ácido salicílico el cual mitigó este efecto obteniendo mayor crecimiento y rendimiento resultados que concuerdan con las investigaciones realizadas en diversos cultivos bajo este tipo de estrés (Eraslan et al., 2007; Gautam & Singh, 2009; Khan et al., 2014; Noreen & Ashraf, 2008). Al respecto Tayeb (2005) relaciona el aumento del crecimiento inducido por el ácido salicílico con una mayor actividad antioxidante que protegen de los daños oxidativos antes mencionados y un incremento en la fotosíntesis el cual es un factor de suma importancia para un óptimo crecimiento y rendimiento (Tambussi, 2005).

Sin embargo, los tratamientos que mayor crecimiento y rendimiento obtuvieron mitigando el estrés hídrico y el estrés salino fueron los que se aplicaron *Pseudomonas* y *Azospirillum* deduciendo que según la caracterización fisiológica presentada por Asunción (2022) en fase de laboratorio *Pseudomonas* y *Azospirillum* son los microorganismos que presentaron mayor índice en la solubilización de fosfatos, los más efectivos en cuanto a la degradación de la celulosa, mayor capacidad de fijación de nitrógeno y producción de ácido indol-3-acético (AIA).

7.2. Formulación de la cepa de microorganismos más eficiente

Se realizó una bioformulación a base de las cepas de microorganismos de *Azospirillum* y *Pseudomonas* las cuales incidieron positivamente en el crecimiento, desarrollo y rendimiento de lechuga. En un vehículo sólido a base de turba, la utilización de la turba como soporte es recomendada por el contenido de materia orgánica, de 60 a 70% de fuente de carbono y su capacidad de retención de agua (Torres, 2022). En trabajos de investigación no se reportan diferencias significativas en la variación poblacional de las bacterias con el uso de turba estéril como vehículo siendo considerado uno con los mejores resultados superando a la vermiculita, el polvo de talco, los gránulos de basalto y la bentonita (Bashan et al., 2007). Por su parte Quiroz-Sarmiento et al. (2019) en su estudio realizado en el cultivo de pimiento menciona que el mejor carrier para el uso de biofertilizantes es la turba por su composición y por el costo de producción en comparación con bentonita y vermiculita.

8. Conclusiones

Los microorganismos nativos de la provincia de Loja y el ácido salicílico disminuyeron los efectos producidos por los diferentes tipos de estreses (estrés salino y estrés hídrico) logrando mayor crecimiento, número de hojas, peso seco y rendimiento en comparación con el control

el cual obtuvo la menor incidencia en el crecimiento y rendimiento, sin embargo, los mejores resultados se reflejaron con las cepas nativas de *Azospirillum* y *Pseudomonas*.

Las Cepas de los géneros *Azospirillum* y *Pseudomonas* fueron formuladas en material sólido a base de turba en una concentración de $(3,6 \times 10^7 \text{ UFC/ml})$ y $(3,8 \times 10^7 \text{ UFC/ml})$ respectivamente para estudios posteriores a nivel de campo.

9. Recomendaciones

Realizar la caracterización molecular de cada uno de los géneros aislados seguido por una prueba de patogenicidad para evitar la propagación de enfermedades en los huéspedes

Realizar una activación de los microorganismos y contabilizar las UFC para brindar al usuario una dosificación exacta en la aplicación a nivel de campo que permita que los bioinoculantes expresen resultados óptimos y benéficos para el productor.

Aplicar las formulaciones realizadas a nivel de campo previo a un análisis de suelo y corroborar los efectos positivos de los mismos en el crecimiento, desarrollo y rendimiento de las plantas con la finalidad de evaluar en todos los entornos y condiciones edafoclimáticas su adaptabilidad y efectos.

10. Bibliografía

Agami, R. A. (2013). Salicylic acid mitigates the adverse effect of water stress on lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Applied Sciences Research*, 9(11), 5701-5711.

Aguilar, L. A. (2020). Producción masiva de *Azospirillum* spp., formulación, control de calidad y su uso en la agricultura: Revisión de Literatura.

Aguilar, N. (2007). Evaluación del efecto de la inoculación de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal y solubilizadoras de fósforo en plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.). *Santiago de Chile: Instituto de Producción y Sanidad Vegetal*.

Akbarimoghaddam, H., Galavi, M., Ghanbari, A., & Panjehkeh, N. (2011). Salinity effects on seed germination and seedling growth of bread wheat cultivars. *Trakia journal of Sciences*, 9(1), 43-50.

Alarcon Camacho, J., Recharte Pineda, D. C., Yanqui Díaz, F., Moreno LLacza, S. M., & Buendía Molina, M. A. (2020). Fertilizar con microorganismos eficientes autóctonos tiene efecto positivo en la fenología, biomasa y producción de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill). *Scientia Agropecuaria*, 11(1), 67-73.

Alhia, B. M. H. (2010). The Effect of *Azotobacter chroococcum* as nitrogen biofertilizer on the growth and yield of *Cucumis sativus*.

Apel, K., & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signaling transduction. *Annual review of plant biology*, 55, 373.

- Araújo, A. S. F., Cesarz, S., Leite, L. F. C., Borges, C. D., Tsai, S. M., & Eisenhauer, N. (2013). Soil microbial properties and temporal stability in degraded and restored lands of Northeast Brazil. *Soil Biology and Biochemistry*, 66, 175-181.
- Armada, E. (2015). *Efectos de microorganismos rizosféricos autóctonos (bacterias y hongos micorrízico arbusculares) sobre la tolerancia de las plantas al déficit hídrico en zonas semiáridas: mecanismos implicados* Universidad de Granada].
- Ashmore, M., Toet, S., & Emberson, L. (2006). Ozone: A Significant Threat to Future World Food Production? *New Phytologist*, 201-204.
- Asunción, E. J. (2022). Aislamiento y caracterización morfológica, bioquímica y fisiológica de microorganismos rizosféricos provenientes de suelos agrícolas de la provincia de Loja.
- Bano, A., & Fatima, M. (2009). Salt tolerance in *Zea mays* (L). following inoculation with *Rhizobium* and *Pseudomonas*. *Biology and Fertility of Soils*, 45(4), 405-413.
- Basahi, J. M., Ismail, I. M., & Hassan, I. A. (2014). Effects of enhanced UV-B radiation and drought stress on photosynthetic performance of lettuce (*Lactuca sativa* L. Romaine) plants. *Annual Research & Review in Biology*, 1739-1756.
- Bashan, L. E., Holguin, G., Glick, B. R., & Bashan, Y. (2007). Bacterias promotoras de crecimiento en plantas para propósitos agrícolas y ambientales. *Microbiología agrícola. Hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico, planta-microorganismo. México: Editorial Trillas*, 170-224.
- Bashan, Y., de-Bashan, L. E., Prabhu, S., & Hernandez, J.-P. (2014). Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). *Plant and soil*, 378(1), 1-33.
- Battisti, D. S., & Naylor, R. L. (2009). Historical warnings of future food insecurity with unprecedented seasonal heat. *Science*, 323(5911), 240-244.
- Beltrán-Pineda, M. E., & Bernal-Figueroa, A. A. (2022). Biofertilizantes.
- Berninger, T., González López, Ó., Bejarano, A., Preininger, C., & Sessitsch, A. (2018). Maintenance and assessment of cell viability in formulation of non-sporulating bacterial inoculants. *Microbial biotechnology*, 11(2), 277-301.
- Bilbao, M. L., & Frezza, D. Lechuga.
- Borjas-Ventura, R., Julca-Otiniano, A., & Alvarado-Huamán, L. (2020). Las fitohormonas una pieza clave en el desarrollo de la agricultura. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 8(2), 150-164.
- Bowen, G., & Rovira, A. (1999). The rhizosphere and its management to improve plant growth. *Advances in agronomy*, 66, 1-102.
- Bréda, N., Huc, R., Granier, A., & Dreyer, E. (2006). Temperate forest trees and stands under severe drought: a review of ecophysiological responses, adaptation processes and long-term consequences. *Annals of Forest Science*, 63(6), 625-644.
- Cardozo, A., El Mujtar, V. A., & Alvarez, V. E. (2020). Elaboración de Biofertilizantes a partir de microorganismos del bosque.

- Casasola Zamora, S. (2012). *Efecto del ácido salicílico en la tolerancia a estrés abiótico: inducción de genes de resistencia, producción de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante en lechuga (lactuca sativa)*
- Cassán, F., Coniglio, A., López, G., Molina, R., Nievas, S., de Carlan, C. L. N., . . . Pedrosa, F. O. (2020). Everything you must know about Azospirillum and its impact on agriculture and beyond. *Biology and Fertility of Soils*, 56, 461-479.
- Catroux, G., Hartmann, A., & Revellin, C. (2001). Trends in rhizobial inoculant production and use. *Plant and soil*, 230(1), 21-30.
- Chávez-Díaz, I. F., Zelaya Molina, L. X., Cruz Cárdenas, C. I., Rojas Anaya, E., Ruíz Ramírez, S., & Santos Villalobos, S. d. I. (2020). Consideraciones sobre el uso de biofertilizantes como alternativa agro-biotecnológica sostenible para la seguridad alimentaria en México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 11(6), 1423-1436.
- Clark, F. E. (1949). Soil microorganisms and plant roots. *Advances in agronomy*, 1, 241-288.
- Condori-Pacsi, S. J., Fernández-Guzman, P. R., & Valderrama-Valencia, M. R. (2019). Aislamiento y caracterización de Streptomyces spp rizosféricos promotores del crecimiento vegetal. *Idesia (Arica)*, 37(2), 109-116.
- Cuéllar, L., Sehtman, A., Donatti, L., & Allevato, M. (2008). Ácido salicílico. *Acta Terapéutica Dermatológica*, 31, 108-112.
- Das, H. K. (2019). Chapter One - *Azotobacters* as biofertilizer. In G. M. Gadd & S. Sariaslani (Eds.), *Advances in Applied Microbiology* (Vol. 108, pp. 1-43). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2019.07.001>
- Deeba, F., Pandey, A. K., Ranjan, S., Mishra, A., Singh, R., Sharma, Y., . . . Pandey, V. (2012). Physiological and proteomic responses of cotton (*Gossypium herbaceum* L.) to drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 53, 6-18.
- Drost, D. (2020). *Lettuce in the Garden*.
- Duca, M. (2015). *Plant physiology*. Springer.
- Dzib-Ek, G., Villanueva-Couoh, E., Garruña-Hernández, R., Vergara Yoisura, S., & Larqué-Saavedra, A. (2021). Efecto del ácido salicílico en la germinación y crecimiento radicular del tomate. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 12(4), 735-740.
- Eraslan, F., Inal, A., Gunes, A., & Alpaslan, M. (2007). Impact of exogenous salicylic acid on the growth, antioxidant activity and physiology of carrot plants subjected to combined salinity and boron toxicity. *Scientia Horticulturae*, 113(2), 120-128. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scienta.2007.03.012>
- Etesami, H., & Maheshwari, D. K. (2018). Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: Action mechanisms and future prospects. *Ecotoxicology and environmental safety*, 156, 225-246.
- FAO. (2019). MUNDIAL DE LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACION.
- Farro, C. J. U., Guerrero, M. A. G., Farfán, C. R. C., Sánchez, C. W. A., & Valdera, G. E. Z. (2021). Hongos rizosféricos de *Echinopsis pachanoi* “San Pedro hembra” y su potencial como promotores de crecimiento en *Zea mays* L. bajo estrés salino. *UCV Hacer*, 10(2), 23-30.
- Feng, Z., & Kobayashi, K. (2009). Assessing the impacts of current and future concentrations of surface ozone on crop yield with meta-analysis. *Atmospheric Environment*, 43(8), 1510-1519.

- Frías, J. C. M. (2012). Propagación y técnicas de cultivo de la Lechuga (*Lactuca sativa*). *Revista Vinculando*.
- Fuhrer, J. (2009). Ozone risk for crops and pastures in present and future climates. *Naturwissenschaften*, 96(2), 173-194.
- Gandotra, V., Gupta, R., & Bhardwaj, K. (1998). Abundance of *Azotobacter* in great soil groups of North-West Himalayas. *Journal of the Indian Society of Soil Science*, 46(3), 379-383.
- García-Parra, M. Á., García-Molano, J. F., & Quito Martínez, C. A. (2019). Efecto de la salinidad por NaCl en el crecimiento y desarrollo de plantas de *Chenopodium quinoa* Willd. *Ciencia en Desarrollo*, 10(1), 19-29.
- Gautam, S., & Singh, P. K. (2009). Salicylic acid-induced salinity tolerance in corn grown under NaCl stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31(6), 1185. <https://doi.org/10.1007/s11738-009-0338-8>
- Giaconi, V., & Escaff, M. (2001). Cultivo de hortalizas. 15 a edición. *Editorial Universitaria. Santiago, Chile*.
- Gilbert, M. E., & Medina, V. (2016). Drought adaptation mechanisms should guide experimental design. *Trends in plant science*, 21(8), 639-647.
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12), 909-930.
- Gissela, P. C. J. (2020). *EVALUACIÓN DEL EFECTO DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS PARA EL MANEJO DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN LECHUGA (Lactuca sativa L.), CHIMBORAZO-ECUADOR UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR*].
- Hesse, C., Schulz, F., Bull, C. T., Shaffer, B. T., Yan, Q., Shapiro, N., . . . Paulsen, I. T. (2018). Genome-based evolutionary history of *Pseudomonas* spp. *Environmental microbiology*, 20(6), 2142-2159.
- Hu, Y., & Schmidhalter, U. (2004). Limitation of salt stress to plant growth. *HOCK, E. Plant toxicology*, 4, 191-224.
- INEC. (2000). *Instituto Nacional de Estadística y Censos* <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/censo-nacional-agropecuario/>
- Janmohammadi, M., Abbasi, A., & Sabaghnia, N. (2012). Influence of NaCl treatments on growth and biochemical parameters of castor bean (*Ricinus communis* L.). *Acta Agriculturae Slovenica*, 99(1), 31.
- Jenni, S., & Bourgeois, G. (2008). Quantifying phenology and maturity in crisphead lettuce. *HortTechnology*, 18(4), 553-558.
- Kankariya, R. A., Chaudhari, A. B., Gavit, P. M., & Dandi, N. D. (2019). 2, 4-Diacetylphloroglucinol: a novel biotech bioactive compound for agriculture. In *Microbial interventions in agriculture and environment* (pp. 419-452). Springer.
- Karam, F., Mounzer, O., Sarkis, F., & Lahoud, R. (2002). Yield and nitrogen recovery of lettuce under different irrigation regimes. *J. Appl. Hort*, 4(2), 70-76.
- Kaushal, M., & Wani, S. P. (2016). Plant-growth-promoting rhizobacteria: drought stress alleviators to ameliorate crop production in drylands. *Annals of Microbiology*, 66(1), 35-42.
- Khan, M. I. R., Asgher, M., & Khan, N. A. (2014). Alleviation of salt-induced photosynthesis and growth inhibition by salicylic acid involves glycinebetaine and ethylene in mungbean

- (*Vigna radiata* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 80, 67-74. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.03.026>
- Khan, M. I. R., Iqbal, N., Masood, A., & Khan, N. A. (2012). Variation in Salt Tolerance of Wheat Cultivars: Role of Glycinebetaine and Ethylene. *Pedosphere*, 22(6), 746-754. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(12\)60060-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1002-0160(12)60060-5)
- Kim, M. J., Moon, Y., Tou, J. C., Mou, B., & Waterland, N. L. (2016). Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Food Composition and Analysis*, 49, 19-34. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.03.004>
- Křístková, E., Doležalová, I., Lebeda, A., Vinter, V., & Novotná, A. (2008). Description of morphological characters of lettuce (*Lactuca sativa* L.) genetic resources. *Horticultural Science*, 35(3), 113-129.
- Larcher, W. (2003). *Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups*. Springer Science & Business Media.
- Lee, D.-K., Jung, H., Jang, G., Jeong, J. S., Kim, Y. S., Ha, S.-H., . . . Kim, J.-K. (2016). Overexpression of the OsERF71 transcription factor alters rice root structure and drought resistance. *Plant physiology*, 172(1), 575-588.
- Lobell, D. B., Burke, M. B., Tebaldi, C., Mastrandrea, M. D., Falcon, W. P., & Naylor, R. L. (2008). Prioritizing climate change adaptation needs for food security in 2030. *Science*, 319(5863), 607-610.
- Loredo-Osti, C., López-Reyes, L., & Espinosa-Victoria, D. (2004). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal asociadas con gramíneas: Una revisión. *Terra Latinoamericana*, 22(2), 225-239.
- Maas, E. (1986). Salt tolerance of plants. *Applied agricultural research*, 1(1), 12-25.
- Malusá, E., Sas-Paszt, L., & Ciesielska, J. (2012). Technologies for beneficial microorganisms inocula used as biofertilizers. *The scientific world journal*, 2012.
- Maroto Borrego, J. V. (2008). *Elementos de horticultura general*. Mundi-Prensa Libros.
- Martínez, F. E., & Garcés, G. A. (2010). Crecimiento y producción de lechuga (*Lactuca sativa* L. var. romana) bajo diferentes niveles de potasio. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 4(2), 175-184.
- McDowell, N. G., Beerling, D. J., Breshears, D. D., Fisher, R. A., Raffa, K. F., & Stitt, M. (2011). The interdependence of mechanisms underlying climate-driven vegetation mortality. *Trends in ecology & evolution*, 26(10), 523-532.
- Meier, U. (2001). Estadios de las plantas mono y dicotiledóneas. *B BCH Monografía. Centro Federal de Investigaciones Biológicas para Agricultura y Silvicultura*.
- Mitter, B., Pfaffenbichler, N., Flavell, R., Compant, S., Antonielli, L., Petric, A., . . . Von Maltzahn, G. (2017). A new approach to modify plant microbiomes and traits by introducing beneficial bacteria at flowering into progeny seeds. *Frontiers in Microbiology*, 8, 11.
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in plant science*, 7(9), 405-410.
- Noreen, S., & Ashraf, M. (2008). Alleviation of adverse effects of salt stress on sunflower (*Helianthus annuus* L.) by exogenous application of salicylic acid: growth and photosynthesis. *Pak. J. Bot*, 40(4), 1657-1663.

- Obidiegwu, J. E., Bryan, G. J., Jones, H. G., & Prashar, A. (2015). Coping with drought: stress and adaptive responses in potato and perspectives for improvement. *Frontiers in plant science*, 6, 542.
- Obregón Castro, G. d. P. (2019). Disminución de la salinidad de suelos aplicando biochar a base de biomasa animal y vegetal en Cañete, 2019.
- Ocampo, E. (2015). Reducción de estrés hídrico en maíz mediada por bacterias endófitas de la raíz. Avances de Investigación. *Posgrado en Fitosanidad Colegio de postgraduados*, 95-99.
- Okon, Y., & Itzigsohn, R. (1995). The development of *Azospirillum* as a commercial inoculant for improving crop yields. *Biotechnology advances*, 13(3), 415-424. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0734-9750\(95\)02004-M](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0734-9750(95)02004-M)
- OMS. (2019). Aumentar el consumo de frutas y verduras para reducir el riesgo de enfermedades no transmisibles. *en línea*]. *Biblioteca electrónica de documentación científica sobre medidas nutricionales*.
- Orhan, F. (2016). Alleviation of salt stress by halotolerant and halophilic plant growth-promoting bacteria in wheat (*Triticum aestivum*). *Brazilian journal of microbiology*, 47, 621-627.
- Orozco-Mosqueda, M., & Santoyo, G. (2020). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal: aspectos básicos y aplicaciones para una agricultura sostenible. Primera. *Fontamara. Ciudad de México, México*.
- Ortiz, R., Sayre, K. D., Govaerts, B., Gupta, R., Subbarao, G., Ban, T., . . . Reynolds, M. (2008). Climate change: can wheat beat the heat? *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 126(1-2), 46-58.
- Ortiz, V., & Xareny, A. (2013). *Efecto del ácido salicílico y estrés hídrico en la calidad de lechugas (Lactuca sativa l.) producidas en invernadero*
- Palleroni, N. J., & Moore, D. H. P. E. R. B. (2010). 12 Microbiology of Hydrocarbon-Degrading *Pseudomonas*.
- Pandey, A., Tripathi, A., Srivastava, P., Choudhary, K. K., & Dikshit, A. (2019). 1 - Plant growth-promoting microorganisms in sustainable agriculture. In A. Kumar, A. K. Singh, & K. K. Choudhary (Eds.), *Role of Plant Growth Promoting Microorganisms in Sustainable Agriculture and Nanotechnology* (pp. 1-19). Woodhead Publishing. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817004-5.00001-4>
- Pantoja, Y. Y. P. (2022). AGRICULTURA URBANA Y LAS CIUDADES SUSTENTABLES: URBAN AGRICULTURE AND SUSTAINABLE CITIES. *Revista Transdisciplinaria del Saber*(3).
- Pedraza, R. O., Filippone, M. P., Fontana, C., Salazar, S. M., Ramírez-Mata, A., Sierra-Cacho, D., & Baca, B. E. (2020). Chapter 6 - *Azospirillum*. In N. Amaresan, M. Senthil Kumar, K. Annapurna, K. Kumar, & A. Sankaranarayanan (Eds.), *Beneficial Microbes in Agro-Ecology* (pp. 73-105). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823414-3.00006-X>
- Pérez Flórez, L. P., & Oviedo Zumaque, L. E. (2019). CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS NATIVAS CON POTENCIAL BIOFERTILIZANTE AISLADAS DE SUELOS DEL DEPARTAMENTO DE SUCRE. *libro Biotecnología aplicada al sector agropecuario en el departamento de Sucre*, 221-248.

- Podile, A. R., & Kishore, G. K. (2007). Plant growth-promoting *rhizobacteria*. In *Plant-associated bacteria* (pp. 195-230). Springer.
- Porta, H., & Jiménez-Nopala, G. (2019). Role of plant hormones in the regulation of autophagy in plants. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 22.
- Prada Millán, Y. (2016). Evaluación del lixiviado agroecológico como acondicionador del suelo en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*) variedad crespa verde del municipio de Madrid Departamento de Cundinamarca.
- Prado, W. E., Fonseca, A. Á., Batista, E. L., Larramendí, L. R., Gómez, G. G., & González, R. P. C. (2012). Efecto de los ácidos salicílico y benzoico en la lechuga (*Lactuca sativa* L.). *Centro Agrícola*, 39(4), 85-89.
- Quiroz-Sarmiento, V. F., Almaraz-Suarez, J. J., Sánchez-Viveros, G., Argumedo-Delira, R., & González-Mancilla, A. (2019). Biofertilizantes de rizobacterias en el crecimiento de plántulas de chile Poblano. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 10(8), 1733-1745.
- Reyes-Palomino, S. E., & Cano Ccoa, D. M. (2022). Efectos de la agricultura intensiva y el cambio climático sobre la biodiversidad. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 24(1), 53-64.
- Rojas Padilla, J., Chaparro Encinas, L. A., Robles Montoya, R. I., & Santos Villalobos, S. d. I. (2020). Promoción de crecimiento en trigo (*Triticum turgidum* L. subsp. durum) por la co-inoculación de cepas nativas de *Bacillus* aisladas del Valle del Yaqui, México. *Nova scientia*, 12(24), 0-0.
- Rubio, A. (2002). Fundamentos de fisiología vegetal. *Editorial Mc Graw, España, Barcelona*, 123-130.
- Saavedra, G., Corradini, F., & Antúnez, A. (2017). Manual de producción de lechuga. In: Instituto de Investigaciones Agropecuarias (Chile).
- Sánchez, G. R., Mercado, E. C., Peña, E. B., de la Cruz, H. R., & Pineda, E. G. (2010). El ácido salicílico y su participación en la resistencia a patógenos en plantas. *Biológicas*, 12(2), 90-95.
- Sandeep, C., Rashmi, S., Sharmila, V., Surekha, R., Tejaswini, R., & Suresh, C. (2011). Growth response of *Amaranthus gangeticus* to *Azotobacter chroococcum* isolated from different agroclimatic zones of Karnataka. *Journal of Phytology*, 3(7).
- Santos Arcos, E., Castrillón, A., Costa Viver, A. M., & Rodríguez Griñón, R. (2013). Determinación de la vida útil un producto de cuarta grama: ensalada de vegetales envasada en atmósfera modificada.
- Santos Ferreira, N., Sant'Anna, F. H., Reis, V. M., Ambrosini, A., Volpiano, C. G., Rothballer, M., . . . de Oliveira Pedrosa, F. (2020). Genome-based reclassification of *Azospirillum brasilense* Sp245 as the type strain of *Azospirillum baldaniorum* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(12), 6203-6212.
- Sartorello, Y., Pastorino, A., Bogliani, G., Ghidotti, S., Viterbi, R., & Cerrato, C. (2020). The impact of pastoral activities on animal biodiversity in Europe: A systematic review and meta-analysis. *Journal for Nature Conservation*, 56, 125863.
- Shahbaz, M., & Ashraf, M. (2013). Improving salinity tolerance in cereals. *Critical reviews in plant sciences*, 32(4), 237-249.
- Silva Dalberto, D., Garbin Martinazzo, E., & Antonio Bacarin, M. (2017). Chlorophyll a fluorescence reveals adaptation strategies in drought stress in *Ricinus communis*. *Brazilian Journal of Botany*, 40(4), 861-870.

- Silva, G. A. C., & Sandoval Briones, C. (2016). *Manual práctico del cultivo de la lechuga*. Mundi-Prensa Libros.
- Singh, K. (2001). Salinity tolerance. *Application of physiology in wheat breeding*.
- Singh, R. P., & Jha, P. N. (2016). The multifarious PGPR *Serratia marcescens* CDP-13 augments induced systemic resistance and enhanced salinity tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.). *PLoS one*, *11*(6), e0155026.
- Souri, M. K., & Tohidloo, G. (2019). Effectiveness of different methods of salicylic acid application on growth characteristics of tomato seedlings under salinity. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, *6*(1), 1-7.
- Stephens, J. H. G., & Rask, H. M. (2000). Inoculant production and formulation. *Field Crops Research*, *65*(2-3), 249-258.
- Sularz, O., Smoleń, S., Koronowicz, A., Kowalska, I., & Leszczyńska, T. (2020). Chemical composition of lettuce (*Lactuca sativa* L.) biofortified with iodine by KIO₃, 5-Iodo-, and 3,5-diiodosalicylic acid in a hydroponic cultivation. *Agronomy*, *10*(7), 1022.
- Tambussi, E. A. (2005). *Fotosíntesis, fotoprotección, productividad y estrés abiótico: algunos casos de estudio*. Universitat de Barcelona.
- Tayeb, M. (2005). Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation*, *45*(3), 215-224.
- Terry, E., Martínez-Viera, R., Pino, M. d. I. A., & Terán, Z. (2002). Biofertilizantes, una alternativa promisoriosa para la producción hortícola en organopónicos. *Cultivos Tropicales*, *23*(3), 43-46.
- Terwissen, A. G., Álvarez Castillo, H. A., López, A. N., Vincini, A. M., Manetti, P., Clemente, N. L., & Cendoya, M. G. (2007). Aspectos biológicos de *Deroceras reticulatum* (Müller, 1774)(Pulmonata: Stylommatophora) en condiciones controladas. *Revista del Museo de La Plata (nueva serie)*, *18*.
- Torres, J. A. C. (2022). Efecto promotor del crecimiento de plántulas de *Capsicum annuum* "PÁPRIKA" por bacterias diazotróficas nativas aisladas del suelo de cultivo de olivo de la Yarada-Tacna. *Revista Ciencias Biológicas y Ambientales*, *1*(1), 03-14.
- Tucuch-Haas, C. J., Pérez-Balam, J. V., Dzib-Ek, M. G., Alcántar-González, G., & Larqué-Saavedra, A. (2019). El ácido salicílico aumenta la acumulación de macro y micronutrientes en chile habanero. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, *10*(4), 839-847.
- Vacheron, J., Renoud, S., Muller, D., Babalola, O., Prigent-Combaret, C., Cassan, F., . . . Creus, C. (2015). Handbook for *Azospirillum*: Technical Issues and Protocols.
- Valenzuela Ruiz, V., Gálvez Gamboa, G. T., Villa Rodríguez, E. D., Parra Cota, F. I., Santoyo, G., & Santos-Villalobos, S. d. I. (2020). Lipopéptidos producidos por agentes de control biológico del género *Bacillus*: revisión de herramientas analíticas utilizadas para su estudio. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, *11*(2), 419-432.
- van Zanten, J. A., & van Tulder, R. (2021). Towards nexus-based governance: defining interactions between economic activities and Sustainable Development Goals (SDGs). *International Journal of Sustainable Development & World Ecology*, *28*(3), 210-226.
- Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting *rhizobacteria* as biofertilizers. *Plant and soil*, *255*(2), 571-586.

Villaseñor, J. L. (2018). Diversidad y distribución de la familia Asteraceae en México. *Botanical Sciences*, 96(2), 332-358.

Wallace, J. G., Zhang, X., Beyene, Y., Semagn, K., Olsen, M., Prasanna, B. M., & Buckler, E. S. (2016). Genome-wide association for plant height and flowering time across 15 tropical maize populations under managed drought stress and well-watered conditions in Sub-Saharan Africa. *Crop Science*, 56(5), 2365-2378.

Ward, E. R., Uknes, S. J., Williams, S. C., Dincher, S. S., Wiederhold, D. L., Alexander, D. C., . . . Ryals, J. A. (1991). Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquired resistance. *The Plant Cell*, 3(10), 1085-1094.

Wassmann, R., Jagadish, S., Sumfleth, K., Pathak, H., Howell, G., Ismail, A., . . . Heuer, S. (2009). Regional vulnerability of climate change impacts on Asian rice production and scope for adaptation. *Advances in agronomy*, 102, 91-133.

11. Anexos

Anexo 1. Propiedades físico, químicas y composición básica del caldo nutritivo

Información sobre las propiedades físicas y químicas básicas

a) Aspecto Forma	Polvo fluido homogéneo de color entre crema y amarillo
b) Olor	No hay datos disponibles
c) Umbral de olor	No hay datos disponibles
d) pH	: 7.20 - 7.60
e) Punto de fusión/punto de congelación	: No hay datos disponibles
f) Punto de ebullición inicial e intervalo de ebullición	: No hay datos disponibles
g) Punto de inflamación	: No hay datos disponibles
h) Tasa de evaporación	: No hay datos disponibles
i) Inflamabilidad (sólido, gas)	: No hay datos disponibles
j) Límites superior/inferior de inflamabilidad o explosividad	: No hay datos disponibles
k) Presión de vapor	No hay datos disponibles
l) Densidad de vapor	No hay datos disponibles
m) Densidad relativa	No hay datos disponibles
n) Solubilidad en agua	No hay datos disponibles
o) Coeficiente de reparto: n-octanol/agua	No hay datos disponibles
p) Temperatura de autoignición	No hay datos disponibles
q) Temperatura de descomposición	No hay datos disponibles
r) Viscosidad	No hay datos disponibles
s) Propiedades explosivas	No hay datos disponibles
t) Propiedades oxidantes	No hay datos disponibles

Otra información de seguridad No hay datos disponibles

Reactivo	Para 100 ml
Extracto de carne de vacuno	0,3 g
Peptona	0,5 g
NaCl	0,5 g

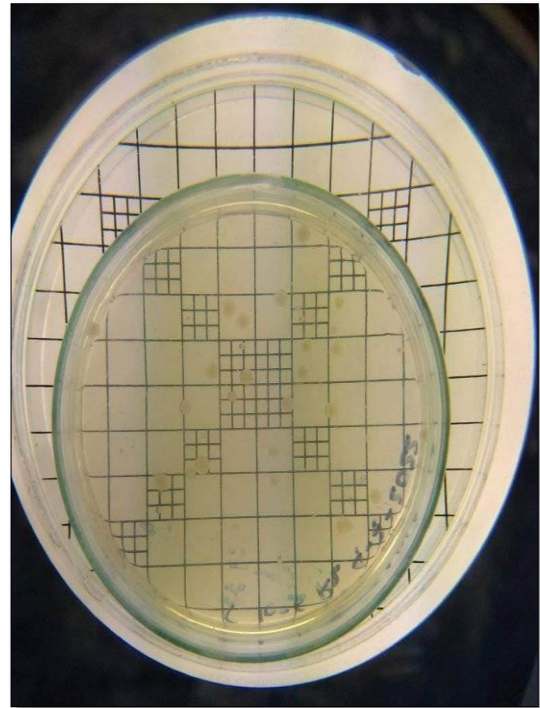
Anexo 2. Preparación de sustrato 2.1.1 (tierra de montaña, arena y turba) y desinfección



Anexo 3. Llenado de fundas y aplicación de estrés salino (100 mol/m³ de cloruro de sodio (NaCl) hasta llegar a una conductividad de 2,29 dS/m



Anexo 4. Activación y contabilización de UFC de cada microorganismo (Pseudomonas, Azospirillum, Azotobacter)



Anexo 5. Siembra de plántulas de lechuga (*Lactuca sativa*), inoculación de microorganismos y sumersión de plántulas de lechuga en ácido salicílico.





Anexo 6. Etiquetado de hojas y medición de variables





Anexo 7. Cosecha a los 70 DDT y determinación de peso





Anexo 8. Pre-secado y secado



Anexo 9. Determinación de peso seco



Anexo 10. Formulación de un biproducto a base de *Pseudomonas* y *Azospirillum*



CERTIFICADO DE TRADUCCIÓN

Lic.

Nathaly Antonela Ramón Maldonado

Licenciada en Pedagogía del Idioma Ingles

CERTIFICO:

En mi calidad de traductora del idioma inglés, a través de la Certificación de conocimiento de inglés, nivel B2, certifico que el documento aquí compuesto es fiel traducción del idioma español al idioma ingles del resumen (Abstract) del Trabajo de Titulación: **“Efecto de microorganismos rizosféricos y ácido salicílico sobre el crecimiento, desarrollo y rendimiento de lechuga bajo condiciones de estrés”**; de la autoría de Erika Xiomara Gómez Montalván con CI: 1105672099, egresada de la carrera de Ingeniería Agronómica de la Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Nacional De Loja.

En cuanto puedo certificar en honor a la verdad, facultando a la interesada, señorita Erika Xiomara Gómez Montalván, hacer usos del presente, según estime conveniente.

Atentamente:

Nathaly Maldonado
LICENCIADA EN PEDAGOGÍA
DEL IDIOMA INGLES



Lic. Nathaly Antonela Ramón Maldonado

Licenciada en Pedagogía del Idioma Ingles

