

REVIEW / ARTÍCULO DE REVISIÓN

Efecto de los hongos formadores de micorriza arbuscular (HFMA) en la producción de aceites esenciales en romero (*Rosmarinus officinalis* L.)

Effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on essential oil production in rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.)

Jorge A. Sierra-Escobar^{1*}, Manuela Márquez Arteaga², Clara Quiroz³

DOI. 10.21931/RB/2022.07.04.52

¹ Docente Asociado, grupo de estudios florísticos, Facultad de Ingenierías Universidad Católica de Oriente (UCO), Colombia.² Estudiante de Agronomía Universidad Católica de Oriente, Colombia.³ Ingeniera Química, docente Universidad Católica de Oriente, Colombia.Corresponding author: jsierra@uco.edu.co

Resumen: Se realizó una campaña experimental en invernadero con el fin de evaluar el efecto de los hongos formadores de micorriza arbuscular (HFMA) en la producción de aceites esenciales en romero (*Rosmarinus officinalis* L.). Para el efecto se implementó un diseño experimental completamente al azar, con tres tratamientos compuestos por suelo más inóculo multiespóricico (*Glomus* spp, *Acaulospora* spp, *Entrophospora* spp, *Scutellospora* spp.), suelo más inóculo monoespóricico (*Entrophospora colombiana*), y el tratamiento control sin inocular, todos estos con diez repeticiones por tratamiento. El suelo utilizado para todas las unidades experimentales fue esterilizado y ajustado a 0,02 mg L⁻¹ de P (fósforo), concentración óptima para la condición micorrizal. Las variables respuesta fueron: contenido de P foliar, la masa seca aérea, la colonización micorrizal, y el rendimiento en aceites esenciales. Los resultados de masa seca aérea indican incrementos significativos de los tratamientos inoculados comparados con el tratamiento control. El P foliar no presentó diferencias entre tratamientos. La colonización micorrizal promedio de los tratamientos inoculados fue del 73%. En cuanto a los aceites esenciales producidos por las plantas de romero, los resultados fueron inversos a los de la masa, donde se evidencio mayor rendimiento en el tratamiento control. De acuerdo con los datos, el uso de HFMA en la producción de romero, favorece el desarrollo de la planta, de otro lado, el rendimiento en aceites esenciales podría ser compensado por la mayor biomasa producida, lo que permitiría a los productores incrementar la cantidad de aceite extraído.

Palabras clave: Aceites esenciales, hongos micorrízicos arbusculares, *Rosmarinus officinalis*.

Abstract: An experimental greenhouse campaign was conducted to evaluate the effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on the production of essential oils in rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). For effect, a completely randomized experimental design was implemented, with three treatments composed of soil plus multispore inoculum (*Glomus* spp, *Acaulospora* spp, *Entrophospora* spp, *Scutellospora* spp.), soil plus monospore inoculum (*Entrophospora colombiana*), and the control treatment without inoculation, all of these with ten replicates per treatment. The soil used for all experimental units was sterilized and adjusted to 0.02 mg L⁻¹ of P (phosphorus), the optimum concentration for the mycorrhizal condition. The response variables were: foliar P content, aerial dry mass, mycorrhizal colonization, and essential oil yield. The results of aerial dry mass indicate significant increases in the inoculated treatments compared to the control treatment. Leaf P showed no differences between treatments. The average mycorrhizal colonization of the inoculated treatments was 73%. As for the essential oils produced by the rosemary plants, the results were the inverse of those of the mass, where a higher yield was found in the control treatment. According to the data, the use of HFMA in the production of rosemary favors the development of the plant; on the other hand, the yield of essential oils could be compensated by the higher biomass produced, which would allow producers to increase the amount of oil extracted.

Key words: Essential oils, arbuscular mycorrhizal fungi, *Rosmarinus officinalis*.

Introducción

El Romero (*Rosmarinus officinalis*) es una planta aromática de origen mediterráneo, que pertenece a la familia Lamiaceae, sus hojas presentan altas concentraciones de aceites esenciales con propiedades anti microbiales^{1,2}, se ha utilizado para incrementar la circulación de la sangre, y es efectiva contra reumatismo y migraña³. Debido a su importancia y demanda internacional, el cultivo de romero se ha incrementado en todo el mundo. En Colombia, una

de las regiones con mayor potencial para el cultivo de esta planta es el altiplano del oriente antioqueño (AOA). Los suelos del AOA donde se produce romero, generalmente tienen características de Andisoles, suelos desarrollados a partir de materiales provenientes de erupciones volcánicas (ceniza, pómez, lava, etc.) y/o de materiales volcánoclasticos en los que la fracción coloidal está dominada por minerales de bajo rango de ordenamiento o por complejos Al-humus⁴.

Citation: Sierra-Escobar JA, Arteaga M M, Quiroz C. Efecto de los hongos formadores de micorriza arbuscular (HFMA) en la producción de aceites esenciales en romero (*Rosmarinus officinalis* L.). *Revis Bionatura* 2022;7(4) 52. <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2022.07.04.52>

Received: 25 January 2022 / **Accepted:** 22 October 2022 / **Published:** 15 November 2022

Publisher's Note: Bionatura stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Los materiales de estos suelos le dan unas características únicas y distintivas, llamadas propiedades ándicas, las cuales se manifiestan en una baja densidad aparente, una alta carga variable y una alta capacidad de retención de fosfatos y de humedad⁵. En general, los Andisoles del AOA se han desarrollado bajo régimen de humedad údico caracterizados por presentar, en la capa arable, pH fuertemente ácido, alto contenido de materia orgánica, colores muy oscuros, alta carga variable, bajos contenidos de bases intercambiables y de fósforo disponible, además de desbalances entre las bases y contenidos de Al intercambiable⁶. El fósforo, elemento que es esencial en la fotosíntesis, la respiración celular y en el metabolismo energético de la planta⁷ se hace menos disponible cuando el suelo es de origen Ándico, es por esto que las plantas tienen que desarrollar mecanismos especializados para la toma de este elemento, uno de estos mecanismos, es la necesidad de realizar simbiosis benéficas con microorganismos del suelo como los hongos formadores de micorrizas, los cuales juegan un gran papel al hacer rápida la disponibilidad de este elemento y de otros para el buen funcionamiento fisiológico de las plantas⁸.

La palabra micorriza, se deriva del griego *myco*, que significa hongo, y *rhiza*, que hace referencia a las raíces de las plantas. Se podría decir que es una simbiosis mutualista formada entre los órganos de absorción sanos (raíces y rizomas), se cree que entre 86% al 94% de las plantas del mundo poseen simbiosis con algún tipo de micorriza⁹, ya sean terrestres, epífitas o acuáticas¹⁰. Existen varios tipos de micorriza, los principales son: micorrizas arbusculares, ericoides, orquidioides, y ectomicorrizas. Las micorrizas arbusculares, son el tipo más cosmopolita, el cual se encuentra en aproximadamente el 74% de las plantas con flor del mundo⁹. Se caracteriza por la integración estructural y metabólica entre ambos simbiontes que se manifiesta en la nutrición, sanidad, productividad y adaptabilidad de las plantas a las condiciones ambientales¹¹. Se encuentran en la literatura numerosos artículos que demuestran la efectividad de los hongos formadores de micorriza arbuscular (HFMA) para mejorar el rendimiento y productividad de las plantas¹²⁻¹⁴. Estas ventajas que dan a las plantas los HFMA en el rendimiento vegetal, se están utilizando con mayor frecuencia por parte de los cultivadores de diversos cultivos agrícolas. Incluso, algunos productores de romero del AOA utilizan con frecuencia inóculos comerciales de HFMA, con el fin de aumentar la productividad. El efecto positivo de HFMA en romero ya ha sido probado en estudios llevados a cabo por investigadores de Egipto e Irán, dando como resultado incrementos significativos en el crecimiento de las plántulas evaluadas, es de aclarar que ambos estudios se realizaron en condiciones de suelo diferentes^{15,16}. Sería interesante conocer si en las condiciones del AOA, la aplicación en el suelo de HFMA incrementaría la biomasa y productividad del romero. Y si esto favorece también su concentración en aceites esenciales. Por tal motivo, el presente estudio pretende conocer la respuesta de romero a la

inoculación de hongos formadores de micorriza arbuscular (HFMA) en el rendimiento en biomasa, y la concentración de aceites esenciales.

Materiales y métodos

Localización

El experimento se realizó en uno de los invernaderos de la Universidad Católica de Oriente (6° 9' 15.2" N, 75° 22' 10.4" W y altitud de 2112 m) ubicado en la cordillera central de los Andes (Rionegro, Colombia). El sitio presenta, una temperatura promedio de 17°C y una precipitación anual de 2200 mm con régimen bimodal dos periodos de lluvia y dos secos. Además, el invernadero se encuentra en la zona de vida bosque húmedo montano bajo¹⁷.

Suelo

Se utilizó un suelo orgánico (Andisol), el cual tenía características similares al suelo de las áreas cultivadas de romero del AOA. Éste suelo fue usado como materia prima para todos los análisis y ensayos posteriores. Los 499 kg de suelo que se utilizaron, se desinfectaron en caldera, donde se vaporizaron a 90 psi y a 90°C durante dos horas, esto con el fin de eliminar los microorganismos patógenos, semillas y propágulos vegetales indeseados.

Análisis físico-químico del suelo

Submuestras de suelo fueron utilizadas para realizar varios análisis como la isoterma de adsorción de P, que fue elaborada con base en la metodología propuesta por Fox & Kamprath¹⁸, los resultados de este procedimiento sirvieron para ajustar el suelo a 0,02 mg L⁻¹ de P (concentración óptima para la condición micorrizal). Además, se realizó un análisis de suelos de fertilidad en el laboratorio de suelos de la Universidad Nacional Sede Medellín (tabla 1). Aquello sirvió para ajustar los niveles de Mg y S que presentaban deficiencias, para lo cual se aplicó 12,31 g MgSO₄ por kilogramo de suelo. Los métodos analíticos utilizados para el análisis de suelos fueron: textura (Bouyucos), pH (agua, 1:1, v:v), materia orgánica % (Walkley y Black), Calcio, Magnesio y Potasio cmolc kg⁻¹ (Acetato de Amonio 1M, pH 7), Fósforo (Bray II); Hierro, Manganeso, Cobre y Zinc mg kg⁻¹ (Olsen – EDTA); Boro no detectable mg kg⁻¹ (Agua Caliente); Nitrato mg kg⁻¹ (Sulfato de Aluminio 0.025M) y Amonio mg kg⁻¹ (KCl 1M).

Inóculos y análisis biológico

Para los tratamientos se trabajaron dos inóculos micorrizales, uno monoespórico (*Entrophospora colombiana*) y otro multiespórico compuesto por especies de los géneros *Glomus* spp, *Acaulospora* spp, *Entrophospora* spp, y *Scutellospora* spp.

Para garantizar la efectividad de los inóculos de HFMA y homogenizar su aplicación en los diferentes tratamientos,

Textura				pH	C.E	M.O	Al	Ca	Mg	K	Na	CICE	P	S	Fe	Mn	Cu	Zn	B
A%	L%	Ar%	Clase		dSm-1	%	Cmolc Kg ⁻¹					mg kg ⁻¹							
58	32	10	FA	5,6	5.6	14,5	-	7,2	0,7	0,49	0,04	8,4	32	9	38	76	1	5	0.23

Tabla 1. Análisis físicoquímico del suelo utilizado para el experimento.

se realizaron conteos de esporas y se utilizó la técnica del número más probable de propágulos micorrizales infectivos (NMP) propuesta por Porter¹⁹ para hongos micorrizales. El conteo de esporas se realizó para conocer el número de esporas por gramo de cada inóculo. Para el efecto cada muestra se transfirió a un vaso de precipitación con 300 mL de agua corriente y 0,15 g de pirofosfato de sodio. Se agitó y se dejó decantar pasando el sobrenadante por una batería de tamices (250, 106 y 53 µm). Se centrifugó con una solución de sacarosa al 50% durante 5 minutos; el sedimento fue recogido del tamiz en un embudo cubierto con papel filtro. Finalmente se realizó el conteo en estereoscopio separando los morfotipos más representativos. Por otro lado, se determinó NMP. Para esto se utilizó un sustrato compuesto por una mezcla esterilizada compuesta por suelo (50%) y arena (50%), que se llevó a una concentración de P soluble de 0,02 mg L⁻¹ por medio de una isoterma (tal como se explicó anteriormente). La especie indicadora fue *Leucaena leucocephala*, ampliamente utilizada para este fin²⁰. Para el montaje, se emplearon diluciones de 10⁻¹ a 10⁻⁵ cada una con 5 repeticiones por dilución. Para un total de 25 unidades experimentales por muestra de inóculo. Cada unidad experimental estaba compuesta por 20 g de inóculo y de 180g de sustrato esterilizado. Una vez germinadas las semillas fueron colocadas en los potes con su respectiva dilución, aplicándoles semanalmente la solución nutritiva Hoagland libre de P hasta el final del experimento. Posteriormente, las plántulas de *L. leucocephala* se cosecharon a los 65 días y se les realizó tinción de raíces de acuerdo con lo propuesto por Kormanik *et al.*²¹. La observación de la raíces se realizó en el estereoscopio con la técnica de presencia-ausencia y los resultados se analizaron con la tabla de Cochran²². De acuerdo con los resultados del NMP se aplicaron 13,4 g/kg de suelo de *A. colombiana*, y 12,69 g/kg de suelo de inóculo multiespóricico.

Material vegetal

Se escogió el genotipo R2 de romero producido por la Unidad de Biotecnología de la Universidad Católica de Oriente y se multiplicaron vegetativamente por la técnica de enraizamiento de mini esquejes, de los cuales se tomó material vegetal entre 3 y 5 cm. Este material fue propagado en bandejas de germinación con un sustrato compuesto por turba más cascarilla de arroz quemada en relación 2:1 esterilizado, utilizando para el efecto la metodología propuesta por Castro *et al.*²³.

Diseño experimental

El diseño experimental fue completamente al azar, el cual estaba compuesto por tres tratamientos: el tratamiento 1 (*A. colombiana*), tratamiento 2 (inóculo multiespóricico) y el tratamiento 3 (control sin inocular) (Tabla 2). Cada tratamiento tuvo 10 réplicas. La unidad experimental correspondió a una plántula de romero contenida en una caneca plástica con capacidad de 20 litros de agua, la cual fue lle-

nada con 12 kg de suelo más su respectivo tratamiento. El total de unidades experimentales fueron 30.

La cosecha del experimento tuvo dos períodos de tiempo: el primero para realizar la evaluación del fósforo foliar, la masa aérea seca y el porcentaje de colonización (cosecha a los 119 días después de la siembra) en la cual se cosecharon 15 unidades experimentales, cinco por tratamiento. Y el segundo periodo tuvo la finalidad de producir mayor masa (100 g por unidad experimental como mínimo) requeridos para la extracción del aceite, y la masa seca aérea (nuevamente), la última cosecha ocurrió a los 280 días después de la siembra y con las 15 unidades experimentales restantes.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se realizaron las pruebas de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk. Además, los datos fueron sometidos a análisis de varianza y a la prueba de rangos múltiples de Duncan, para lo cual se empleó un nivel de significancia P £ 0,05. Se utilizó para estos análisis el paquete estadístico Statgraphics Centurión XVII y Rwizard 1,0.

Variables respuesta

Contenido de P foliar. Se estimó a través de la concentración de P en el disco de hoja al momento de la cosecha²⁴, en donde se analizó el contenido de P en las hojas jóvenes completamente desarrolladas 20. Para tal fin, una porción circular del tejido foliar se removió con un perforador (6 mm de diámetro). El contenido de P se expresó en términos de µg por disco de hoja. El P se determinó por el método del azul de molibdato²⁵, luego de reducir los discos de hoja a cenizas en la mufla a 500°C por 3 h. Este método de muestreo no destructivo fue originalmente propuesto por Aziz y Habte²⁶.

Masa seca aérea

Para determinar la masa seca aérea, cada plántula se cortó en el cuello de la raíz, se secó el material vegetal en horno a 60 °C por 72-96 horas (hasta obtener un peso constante) y finalmente se pesó cada unidad experimental. Este procedimiento se realizó en dos momentos, a los 119 y a los 280 días después de la siembra.

Colonización micorrizal

Para la colonización micorrizal, se tomaron submuestras de 0,6 a 1 g de raíces finas de cada unidad experimental, se lavaron y se cortaron aproximadamente a 1 cm de longitud, las cuales se sumergieron en una solución de KOH al 10% para su aclaración, durante 24 horas, después se acidificaron en una solución de HCl (10%)²⁷, y se tiñeron con fucsina ácida al 0,15 % en ácido láctico con base en la metodología propuesta por Kormanik *et al.*²¹. Para la cuantificación de la colonización, se extienden 20 raicillas en un portaobjetos, cada raicilla se leyó en tres puntos

Tratamiento	Fuente de inóculo
1	<i>Entrophospora colombiana</i>
2	<i>Glomus</i> spp. <i>Acaulospora</i> spp. <i>Entrophospora</i> spp. <i>Scutellospora</i> spp.
3	Control (sin inocular)

Tabla 2. Nomenclatura para los tratamientos.

(arriba, abajo y en el medio), se observaron al microscopio en 10X y 40X, y se marcaron las estructuras micorrícicas observadas (esporas, hifas y arbusculos) que equivalen a los campos colonizados, y los campos observados son la totalidad de campos, independientemente de que estén colonizados o no. El porcentaje de colonización se calculó con la fórmula²⁸.

$$\% \text{ colonización micorrizal} = \frac{\text{No. de campos colonizados}}{\text{No. total de campos observados}} * 100$$

Rendimiento en aceite esencial

A las 15 plantas restantes se les extrajo el aceite por medio de la técnica de hidrodestilación con trampa de Clevenger. El tiempo estimado para la extracción fue de 2 horas y 56 minutos. Una vez obtenido el aceite fue secado con sulfato de sodio anhidro. El rendimiento en la extracción se expresó en ml de aceite esencial/100 g de materia seca.

Resultados

La concentración de P foliar no presentó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, aunque el tratamiento control (sin inoculación) presentó un valor ligeramente superior de 5,0 mg de P por disco (Tabla 3).

No se presentaron diferencias significativas (LSD, ≤ 0.05) entre los promedios comparados.

En cuanto a masa seca aérea, en la primera cosecha (119 días después de la siembra) se presentaron diferencias significativas entre todos los tratamientos, con valores superiores en MSA a favor de los tratamientos inoculados, con valores de 42,5 y 34,5 para *E. colombiana* y Comercial respectivamente. En la segunda cosecha (280 días después de la siembra), se continuó con la misma tendencia, en donde los inóculos exhibieron diferencias significativas (Figura 1). Estos resultados evidencian un efecto positivo de los HFMA en romero, siendo el tratamiento 1 (inóculo monosporico con *E. colombiana*), el que presentó mejor efectividad.

La colonización micorrizal fue similar en los tratamientos 1 y 2, con valores de 77 y 69% respectivamente. Mientras que, el tratamiento 3 (control) presentó colonización del 4,7%, muy por debajo de los demás tratamientos. La colonización en el tratamiento control se debe, posiblemente, al tamaño de los potes utilizados (que facilitan la diseminación de esporas) y al ambiente confinado del invernadero (Tabla 4).

El rendimiento en aceite esencial evaluado mediante la técnica de destilación por arrastre de vapor con trampa Clevenger, tuvo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos T3 (control) y T1 (*E. colombiana*) con valores de 2,17 y 1,775 ml 100g⁻¹ respectivamente. De acuerdo con los datos, no hubo efecto indirecto de la inoculación de HFMA en romero en cuanto al rendimiento en la extracción de aceite (Tabla 5).

Tratamiento	P foliar (µg/disco)	Desviación estándar
T1 (<i>E. colombiana</i>)	3.66	0,926283
T2 (Comercial)	3,98	0,752994
T3 (Control)	5,0	2,00375

Tabla 3. Contenido de P en los discos de hoja de romero en función de la concentración de P en la solución del suelo y la inoculación micorrizal.

Tratamiento	Colonización micorrizal (%)	Desviación estándar
T1 (<i>E. colombiana</i>)	77	8,52485
T2 (Comercial)	69	17,1864
T3 (Control)	4,7	5,68133

Tabla 4. Porcentaje de colonización micorrizal.

Tratamientos	Rendimiento en aceite (ml 100g ⁻¹)	Desviación estándar
T1 (<i>E. colombiana</i>)	1,775 b	0.236291
T2 (Comercial)	1,98 ab	0.216795
T3 (Control)	2,17 a	0.198997

Tabla 5. Rendimiento en la extracción de aceite.

Columnas con letras disimiles indican diferencias significativas (Duncan, $P \leq 0.05$)

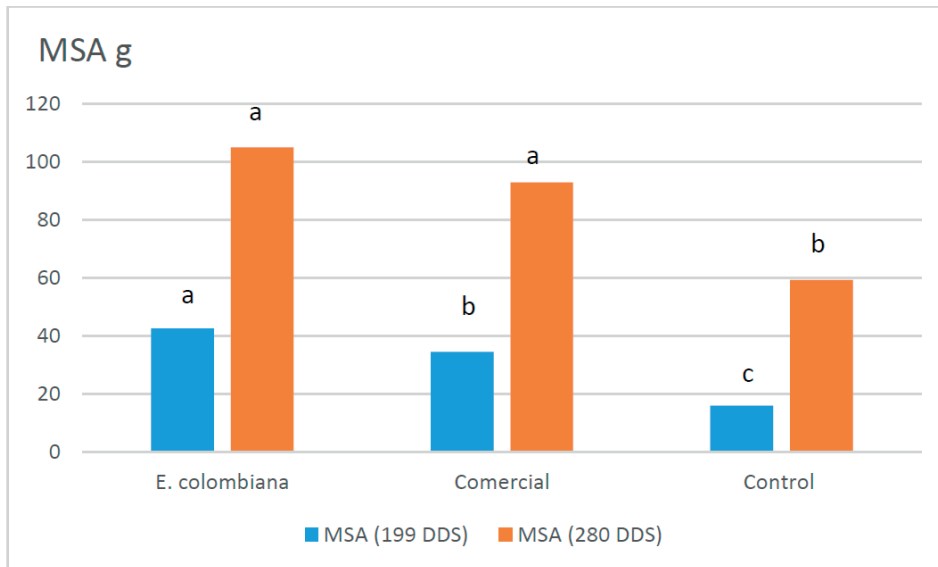


Figura 1. Masa seca aérea (MSA) de los diferentes tratamientos aplicados a romero en función de la inoculación micorrizal, y en dos momentos de cosecha. Columnas con letras disímiles indican diferencias significativas (Duncan, $P \leq 0,05$).

Discusión

Los resultados indican que romero (*Rosmarinus officinalis*) respondió bien a la inoculación de HFMA, lo cual mejoró significativamente la masa seca aérea. La respuesta positiva, en cuanto a masa, de plantas de romero inoculadas ha sido ampliamente reportada, aunque en condiciones diferentes. Por ejemplo, Sanchez-Blanco²⁹ evaluaron *R. officinalis* en condiciones de estrés hídrico y observaron que las plantas micorrizadas tuvieron incrementos significativos en masa seca aérea. En otro estudio en Irán, conducido por Bahonar *et al.*¹⁵ y en condiciones salinas, *R. officinalis* respondió bien a la inoculación micorrizal, con incrementos significativos en masa. Lo mismo ocurrió en suelos calcáreos de Egipto, en donde Shehata *et al.*¹⁶ evaluaron diferentes microorganismos (HFMA, *Bacillus megatherium*, *Azospirillum brasilense*) y sus mezclas y encontraron respuesta positiva a la inoculación en cuanto a la masa, sobre todo cuando las mezclas incluían HFMA. La anterior información confirma que *R. officinalis* puede adaptarse bien a diferentes condiciones de suelo, pero para hacerlo requiere de los HFMA.

Al igual que la masa, la colonización micorrizal en romero ha sido ampliamente estudiada, los porcentajes de colonización micorrizal varían dependiendo del mico simbionte, pero en general *R. officinalis* responde bien a la mayoría de ellos. Valores entre 20 y 70% de colonización han sido reportados³⁰. Lo que está en concordancia con los resultados aquí obtenidos (Tabla 5.).

La relación de los HFMA con metabolitos secundarios se encuentra estudiada, y se ha reportado que dependiendo de la especie de planta se favorecen los HFMA. Por ejemplo en *Valeriana officinalis*., *Salvia officinalis*., *Trifolium pratense* y *Origanum vulgare* los HFMA mejoraron su productividad, incluyendo la acumulación de metabolitos secundarios, aunque es de resaltar que este comportamiento depende de la especie de planta³¹. Además, se ha encontrado que los flavonoides, estimulan el crecimiento de los hongos micorrizales³². Otros autores han observado en raíces de plantas micorrizadas, cambios en la biosíntesis de metabolitos secundarios³³, los cuales van desde la acumulación de flavonoides³⁴ triterpenoides³⁵, ciclohexanona y apocarotenoides³⁶, fitoalexinas³⁷ y compuestos fenólicos³⁸, es decir que los HFMA tienen un efecto fisiológico en los

metabolitos secundarios producidos por las plantas. En este sentido, los cambios en las raíces colonizadas de *R. officinalis* pueden afectar la producción de aceites esenciales de forma diferencial, por ejemplo, en el presente estudio no hubo respuesta positiva en el rendimiento de aceites esenciales y su concentración, resultados similares encontró Bagheri *et al.*³⁹, en donde evidenciaron incrementos significativos en la masa seca cuando se inocularon las plantas de romero con *Glomus intraradices* y *G. mosseae*, cosa que no ocurrió con los aceites esenciales. De otro lado, Bahonar *et al.*¹⁵ observaron incrementos en masa y aceites esenciales cuando inocularon plántulas de romero en condiciones salinas. Igual tendencia presentó Shehata *et al.*¹⁶ en suelos calcáreos utilizando la mezcla de HFMA, *Bacillus megatherium* y *Azospirillum brasilense*. La anterior información sugiere que los mecanismos que estimulan el incremento en la producción de aceites esenciales en las plantas de *R. officinalis* no son claros, y pueden ser diferenciales, ya que sus efectos cambian dependiendo de las condiciones del suelo y del mico simbionte utilizado.

Conclusiones

Las plántulas micorrizadas exhibieron diferencias significativas en cuanto a biomasa en los dos períodos evaluados, es decir a los 199 y 280 días después de la siembra. Sin embargo, el mayor rendimiento en aceites esenciales lo presentó el tratamiento control (sin inocular), lo que sugiere que los HFMA disminuyen la concentración en los tejidos de romero de estos aceites. Es de aclarar, que, si se tiene en cuenta la cantidad total de biomasa de los tratamientos inoculados, el aceite producido para el cultivador sería mayor, por lo cual sería recomendable la micorrización de las plántulas para incrementar la producción de romero.

Agradecimientos

Agradecemos el apoyo económico de la Dirección de Investigación y Desarrollo de la Universidad Católica de Oriente.

También agradecemos al grupo de Estudios Florísticos y a los programas de Ingeniería Ambiental y Agronomía de la misma Universidad, que siempre estuvieron prestos a orientarnos en todo momento.

Referencias bibliográficas

1. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D and Idaomar M. Biological effects of essential oils: A review. *Food and Chemical Toxicology* 2008; 46: 446 - 75.
2. Tiwari RP, Kaur SKB, Dikshit R and Hoondal GS. Synergistic antimicrobial activity of tea and antibiotics; *Indian J. Med. Res.* 2006; 122: 180 - 86.
3. Al-Sereiti MR, Abu-Amer KM and Sen P. Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and its therapeutic potentials. *Indian. J. Exp. Biol.* 1999; 37 (2): 124 - 30.
4. Soil Survey Staff. 1999. Soil taxonomy: A basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys. 2nd edition. Natural Resources Conservation Service. U.S. Department of Agriculture Handbook 436.
5. Jaramillo Daniel Francisco. Variabilidad espacial de las propiedades ándicas de un andisol hidromórfico del oriente antioqueño (Colombia) *Revista Facultad Nacional de Agronomía - Medellín*, vol. 62, núm. 1, 2009, pp. 4907-4921
6. Jaramillo, D.F., M.T. Flórez y L.N. Parra. 2006. Caracterización de un Andisol de la cuenca de la quebrada Piedras Blancas, Oriente Antioqueño, Colombia. *Suelos Ecuatoriales* 36 (1): 61-71.
7. Osorio, Nelson Walter. 2014. Manejo de Nutrientes en Suelos del Trópico/Nelson Walter Osorio. Medellín. 416 p. Segunda edición. ISBN: 978-958-44-9746-8
8. M. R. Gómez y A. Rodríguez, Mecanismos de defensa y respuestas de las plantas en la interacción micorrízica: una revisión,» *Revista Colombiana de Biotecnología*, 7 Junio 2012
9. Brundrett M (2009) Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant Soil* 320:37–77
10. S. L. Camargo-Ricalde, N. M. Montaña, C. J. D. I. Rosa-Mera y S. A. M. Arias, «Micorrizas: una gran unión debajo del suelo,» *Revista digital universitaria*, vol. 13, n° 17, 1 Julio 2012.
11. Barea, J.M; R. Azcón, and C. Azcón-Aguilar. (2002). Mycorrhizosphere interactions to improve plant fitness and soil quality. *Antonie van Leeuwenhoek*, 81: 343-351.
12. González Octavia y Walter Osorio. 2008. Determinación de la dependencia micorrízica del lulo. *Acta biol. Colomb.*, Vol. 13 No. 2, 2008 163 - 174
13. Sandra P. Jaramillo & Nelson W. Osorio. 2009. Mycorrhizal dependency of coffee seedling at different levels of soil solution phosphorus. *suelos ecuatoriales* 39 (1): 100-106
14. Jorge A. Sierra-Escobar, Rafael A. Navarro Alzate y Gabriel J. Yepes. 2017. Efectos de la interacción de hongos micorrizo arbusculares (HMA) y *Meloidogyne javanica* en plántulas de granadilla (*Passiflora ligularis* Juss). *Bionatura*. Volumen 2 / Número 3
15. Bahonar A, Mehrafarin A, Abdousi V, Radmanesh E, Ladan Moghadam AR, Naghdi Badi H. Quantitative and Qualitative Changes of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) in Response to Mycorrhizal Fungi (*Glomus intraradices*) Inoculation under Saline Environments. *Journal of Medicinal Plants*. Volume 15, No. 57, 2016
16. Shehata A M., Walid, S. E. Nosir, and Adel F. Ahmed1. Using some biofertilizers treatments to promote growth and oil yield of rosemary plant (*Rosmarinus officinalis* L.) grown in sandy calcareous soil. *The future Journal of Biology*. 2019;3:26-33
17. L. Holdridge, *Ecología basada en zonas de vida*, San Jose: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), 1982, p. 246.
18. Fox, R. and E. Kamprath. (1970). Phosphate sorption isotherms for evaluating the phosphate requirements of soils. *Soil Science Society of America Proceedings*, 34: 902-907.
19. PORTER, W. 1979. The "Most Probable Number" method for enumerating infective propagules of vesicular arbuscular micorrizal fungi in soil. *Australian Journal of Soil Research*, 17: 515-519.
20. HABTE, M. and N.W. OSORIO. 2001. Arbuscular Mycorrhizas: Producing and applying Arbuscular Mycorrhizal Inoculum. University of Hawaii, Honolulu, 47 p.
21. KORMANIK, P.P., A.C. MCGRAW, and R.C. SCHULTZ. 1980. Procedure and equipment for staining a large number of plant samples for endomycorrhizal assay. *Can. J. Microbiol.*, 26: 536-538.
22. COCHRAN, W. 1950. Estimation of bacterial densities by means of the "most probable number". *Biometrics*, 2: 105-116.
23. D. Castro, J. Diaz, E. Osorio, M. Martínez, A. Urrea, K. Muñoz y R. Serna, Importancia de la calidad en el material de siembra en plantas aromáticas y medicinales., Medellín: Universidad Católica de Oriente, 2011.
24. HABTE, M.; R. FOX, and R. HUANG. 1987. Determining vesicular-arbuscular micorrizal effectiveness by monitoring P status of subleaflets of indicator plants. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 18: 1403-1420.
25. MURPHY, J. and J.P. RILEY. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 27:31-35.
26. AZIZ, T. and M. HABTE. 1987. Determining vesicular-arbuscular micorrizal effectiveness by monitoring P status of leaf disk. *Can. J. Microbiol.*, 33: 1097-1101.
27. PHILLIPS, J.M. and D.S. HAYMAN. 1970. improved procedures for clearing and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55: 158-161.
28. M. Sanchez de Prager, R. Posada A., D. Velazquez P y M. Narvaez C., *Metodologías básicas para el trabajo con micorriza arbuscular y hongos formadores de micorriza arbuscular*, 1 ed., Palmira, Valle: Universidad Nacional de Colombia, 2010, p. 140.
29. J. Sanchez-Blanco, T. Fernandez, M. Morales, A. Morte y J. Alarcon, «Variation in water status, gas exchange, and growth in *Rosmaris officinalis* plants infected with *Glomus desertica* under grought conditions,» *Journal of Plant Physiology*, vol. 161, pp. 675-682, 2004.
30. A. López-García, J. Palenzuela, J. Barea y C. Azcón-Aguilar, «Lige-history of arbuscular mycorrhizal fungi determine succession into roots of *Rosmarinus officinalis* L., a characteristic woody perennial plant species from Mediterranean ecosystems,» *Plant and Soil*, vol. 379, pp. 247-260, 2014.
31. M. Nell, Effect of the Arbuscular Mycorrhiza on biomass production and accumulation and ecologically active compounds in medicinal plants., Vienna: University of Natural resources and Applied Life Sciences, 2009.
32. C. García-Avila, Efecto de metabolitos secundarios producidos por plantas micorrízicas sobre la propagación de hongos micorrizógenos, Medellín, Antioquia: Universidad Pontificia Bolivariana, 2014, p. 142.
33. Y. Raei y W. Weisany, «Arbuscular micorrizal fungi associated with some aromatic and medicinal plants,» *Bulletin of Environment Pharmacology and Life Sciences*, vol. 2, n° 11, pp. 129-138, October 2013.
34. G. Larose, R. Chenevert, P. Moutoglis, S. Gagné, Y. Piché y H. Vierheilig, «Flavonoid levels in roots of *Medicago sativa* are modulated by the developmental stage of the symbiosis and the root colonizing arbuscular mycorrhizal fungus,» *Journal of Plant Physiology*, vol. 159, pp. 1329-1339, 2002.
35. K. Akiyama y H. Hayashi, «Arbuscular mycorrhizal fungus promoted accumulation of two new triterpenoids in cucumber roots,» *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, vol. 66, pp. 762-769, 2002.
36. T. Fester, B. Hause, D. Schmidt, K. Halfmann, J. Schmidt, V. Wray, G. Hause y D. Strack, «Occurrence and localization of apocarotenoids in arbuscular mycorrhizal plant roots,» *Plant and Cell Physiology*, vol. 43, pp. 256-265, 2002.
37. P. Sundaresan, N. Raja y P. Gunasekaran, «Induction and accumulation of phytoalexins in cowpea roots infected with the mycorrhizal fungus *Glomus fasciculatum* and their resistance to Fusarium wilt disease,» *Journal of Biosciences*, vol. 18, pp. 291-301, 1993.
38. J. Grandmaison, G. Olah, M. Van Calsteren y V. Furlan, «Characterization and localization of phenolics likely involved in the pathogen resistance expressed by endomycorrhizal roots,» *Mychorrhiza*, vol. 3, pp. 155-164, 1993.
39. Bagheri A, Reza Sirousmehr A, Reza Asgharipour M and Forouzanmehr M. Effect of mycorrhizal inoculation and phosphorus supply on morphological traits of rosemary under greenhouse conditions. *Journal of Applied Horticulture*, 20(2): 97-102, 2018