

**Evaluación De La Interacción De Microorganismos En Diferentes Sustratos De Cultivo Y
Su Incidencia En La Producción De *Cannabis sp.***

Leidy Cristina Vargas Cardona

Universidad Nacional Abierta Y A Distancia

Escuela De Ciencias Agrícolas Pecuarias Y Del Medio Ambiente – ECAPMA

Agronomía

Medellín

2021

**Evaluación De La Interacción De Microorganismos En Diferentes Sustratos De Cultivo Y
Su Incidencia En La Producción De *Cannabis sp.***

Leidy Cristina Vargas Cardona

Trabajo de grado, presentado como requisito parcial para optar por el título de Agrónomo

Asesora trabajo de grado
Catalina Muñoz Monsalve
Ing. Agroindustrial, Esp. en Alimentación y Nutrición

Director Cultivo
Faber De Jesús Chica Toro
Ing. Agrónomo, M. Sc.

Universidad Nacional Abierta Y A Distancia

Escuela De Ciencias Agrícolas Pecuarias Y Del Medio Ambiente – ECAPMA

Agronomía

Medellín
2021

Página de Aceptación

Catalina Muñoz Monsalve

Asesora Trabajo de Grado

Jurado

Jurado

Medellín, 2021

Dedicatoria

Primeramente, gracias a Dios por llenarme de vida y fortaleza para culminar una nueva etapa en mi vida, a mis padres y familia que de una u otra forma siempre me demostraron su apoyo y motivación para alcanzar una de mis tantas metas.

Agradecimientos

A Dios por llenarme de fuerza para alcanzar mis metas y no desfallecer en el camino.

A la Empresa CBD Botanical Group por permitirme realizar la investigación en sus instalaciones
y brindarme los recursos para el desarrollo de esta.

A Ángela Cardona Montoya por darme la oportunidad realizar mi trabajo de grado en su
Compañía

A los Ingenieros Faber Chica y Mayra Gómez, por transmitirme su conocimiento y apoyarme
con el desarrollo de la investigación.

A mi familia por llenarme siempre de motivación para alcanzar mi meta profesional.

A Catalina Muñoz por su paciencia, acompañamiento y apoyo en la realización del trabajo.

A mis amigos y demás personas cercanas que hicieron parte de este gratificante proceso.

Resumen

El empleo de microorganismos como alternativa en los diferentes procesos agrícolas ha tomado gran relevancia, en la agricultura y en la sociedad actual. Se exige que los productos sean cada vez más inocuos y limpios, el uso indiscriminado de agroquímicos y fertilizantes, la sobre explotación del suelo y las constantes prácticas de labranza han alterado severamente el suelo y su rizosfera así como los procesos físico químicos que se llevan a cabo en él.

Actualmente se aprobó el cultivo de *Cannabis sp.* para producción medicinal en la cual su enfoque debe ser bajo un manejo donde se implementen estrategias más sustentables con el medio ambiente a través del tiempo y por ende la reducción de agentes tóxicos, por tal razón los sustratos de siembra y los productos utilizados para su producción deben ser de carácter orgánico o limpio, garantizando mínima presencia de residuos tóxicos en la planta. El objetivo de esta investigación fue evaluar los efectos del uso de microorganismos en diferentes sustratos de siembra, así como la incidencia en su producción. El ensayo y la investigación se realizó en las instalaciones de CBD BOTANICAL GROUP, en el municipio de El Carmen de Viboral ubicado en el oriente Antioqueño. Se realizó un diseño completamente al azar DCA donde se evaluaron 3 tipos de productos con 8 tratamientos y 5 repeticiones de cada uno para un total de 40 unidades experimentales de *Cannabis sp.* en sus distintas etapas fenológicas. Los resultados de la investigación no mostraron diferencia significativa en cuanto a la implementación de microorganismos en sustratos de cultivos inertes.

Palabras claves: rizosfera, cannabis, sustrato, productividad, suelo, agricultura.

Abstract

The use of microorganisms as an alternative in the different agricultural processes has taken on great relevance, in agriculture and in today's society. The products are required to be increasingly innocuous and clean, the indiscriminate use of agrochemicals and fertilizers, the over-exploitation of the soil and the constant tillage practices have severely altered the soil and its rhizosphere as well as the physical-chemical processes that are carried out. Out on it.

Currently, the cultivation of Cannabis sp. for medicinal production in which its focus should be under a management where more sustainable strategies are implemented with the environment over time and therefore the reduction of toxic agents, for this reason the sowing substrates and the products used for their production They must be organic or clean, guaranteeing a minimum presence of toxic residues in the plant. The objective of this research was to evaluate the effects of the use of microorganisms in different planting substrates, as well as the incidence in their production. The trial and research was carried out at the CBD BOTANICAL GROUP facilities, in the municipality of El Carmen de Viboral located in eastern Antioquia. A completely randomized DCA design was carried out where 3 types of products were evaluated with 8 treatments and 5 repetitions of each one for a total of 40 experimental units of Cannabis sp. in its different phenological stages. The results of the investigation did not show a significant difference regarding the implementation of microorganisms in inert culture substrates.

Keywords: rhizosphere, cannabis, substrate, productivity, soil, agriculture.

Tabla de Contenido

Introducción	13
Planteamiento del problema	15
Justificación	16
Objetivos	18
Objetivo general	18
Objetivos Específicos	18
Marco Teórico.....	19
Cannabis (<i>Cannabis sp.</i>).....	19
Generalidades y descripción botánica.....	19
Origen y distribución.....	20
Descripción Morfológica	20
Hojas	20
Flores	20
Frutos y Semillas	21
Propagación.....	21
Requerimientos edafoclimáticos.....	22
Importancia del Cannabis en Colombia.....	22
Marco Regulatorio	23
Decreto 613 de 2017.....	24
Licencia de fabricación de derivados de Cannabis.....	24
Licencia de uso de semillas para siembra	24
Licencia de cultivos de plantas de cannabis psicoactivo	25
Licencia de cultivos de plantas de cannabis no psicoactivo	25

Composición Química	25
CBD – Cannabidiol THC - Tetrahydrocannabinol.....	27
Sistemas de producción de Cannabis en Colombia	27
Microorganismos y su uso en la agricultura	28
Importancia de los microorganismos en la Agricultura.....	29
Materiales y Métodos	31
Ubicación	31
Plántulas	31
Sustrato	32
Siembra	33
Inoculación Microorganismos	34
Diseño Experimental	35
Análisis estadístico.....	38
Resultados y Discusión	39
Resultados	39
Discusión	46
Conclusiones	50
Referencias Bibliográficas	51

Lista de Tablas

Tabla 1. Inoculación microorganismos.....	34
Tabla 2. Estructura de tratamientos	36

Lista de Imágenes

Imagen 1. Plantas <i>Cannabis sp.</i>	19
Imagen 2. Cannabis Hembra y Macho	21
Imagen 3. Propagación de esquejes y trasplante plántulas <i>Cannabis sp.</i>	32
Imagen 4. Sustrato Suelo –Chip coco, Sustrato de ceniza – cascarilla arroz	32
Imagen 5. Siembra plántulas.....	33
Imagen 6. Plántulas <i>Cannabis sp.</i>	34
Imagen 7. Productos a base de Microorganismos.....	35
Imagen 8. Unidades Experimentales, plántulas <i>Cannabis sp.</i>	36
Imagen 9. Masa Flor Fresca <i>Cannabis sp.</i>	37

Lista de Figuras

Figura 1. Prueba de rangos múltiples y grupos homogéneos	40
Figura 2. Intervalos de confianza al 95% para la interacción de m.o. y medios de cultivo sobre la productividad en <i>Cannabis sp</i>	40
Figura 3. Crecimiento a través del tiempo de <i>Cannabis sp</i> en diferentes medios de cultivo	42
Figura 4. Comportamiento de cannabinoide CBD en respuesta a diferentes medios de siembra	44
Figura 7. Comportamiento de cannabinoide THC en respuesta a diferentes medios de siembra.....	46

Introducción

El uso de microorganismos como alternativa para mejorar la estructura del suelo, población, productividad, aportar vigorosidad y por ende la sanidad dentro de las diferentes producciones y cultivos ha ido tomando gran importancia con el paso de las décadas, en especial en este nuevo siglo debido a la era de la revolución verde y el uso indiscriminado de agroquímicos, fertilizantes, entre otros; además de las constantes prácticas de labranza se ha alterado drásticamente el suelo como medio para el desarrollo de la rizosfera y por ende para los diferentes procesos físicoquímicos que se llevan a cabo en él (Calero Hurtado et al., 2019). Al respecto (Hernández et al., 2001) argumentan que parte del éxito de esta simbiosis es que entre las plantas y los microorganismos se establece una estrecha relación que se manifiesta en la región de la rizosfera, donde se liberan compuestos que, provenientes de la fotosíntesis, son metabolizados y translocados a las raíces en forma de exudados, secreciones y mucílagos. Ellos constituyen una reserva de nutrientes para la microbiota e influyen en el proceso de absorción de la planta y en el intercambio de iones. Por lo anterior, la rizosfera ejerce quimio atracción hacia determinados grupos microbianos, y provoca una intensa actividad biológica para distintos procesos como la fijación de N, la producción de fitohormonas y la solubilización de fosfatos, entre otros. Adicionalmente los procesos microbianos son importantes para la fertilidad del suelo y crecimiento de la planta, ya que los microorganismos mineralizan, oxidan, reducen e inmovilizan materiales minerales y orgánicos en el suelo. (Calero Hurtado et al., 2019).

Debido a la influencia del uso de microorganismos en las diferentes producciones a nivel mundial y al aumento de las diferentes industrias de *Cannabis sp* en el país, se llevó a cabo el desarrollo de esta investigación donde se evaluaron los efectos del uso de microorganismos como hongos solubilizadores de minerales, *Azospirillum brasilense* y cultivo bacteriano de

pseudomonas en diferentes sustratos de siembra lo cual permitió evaluar la incidencia en la producción de *Cannabis sp.*

Planteamiento del Problema

La producción de *Cannabis sp* ya sea a cielo abierto o bajo cubierta está destinada para diferentes usos, su principal enfoque de producción es medicinal y científico, donde las diferentes empresas tanto nacionales como internacionales aprovechan las condiciones favorables del país para su producción; por lo cual se deben buscar alternativas de producción donde el efecto residual de los productos utilizados en el cultivo, incluyendo los fertilizantes, sean mínimos y que estos no afecten su productividad (Cardona A, 2019) Esto obedece a que sus derivados son destinados a uso medicinal, por esta razón se deben garantizar procesos limpios y bajo parámetros de inocuidad para su adecuada producción, puesto que el suelo ha sido procesado y cambiado a través de los años, conteniendo altos porcentajes de plaguicidas, fertilizantes, y otros factores que afectarían de manera considerable la producción de *Cannabis sp*. (Ciro, P & Villegas, B., 2009)

En Colombia en el año 2016 se aprobó el cultivo, producción y comercialización de *Cannabis sp* (MINSALUD, 2017) con fines medicinales lo que permitió a diferentes empresas agroindustriales innovar sobre la producción de este cultivo, es por esto que la orientación de este trabajo es analizar una alternativa enfocada al uso de microorganismos y su incidencia sobre la producción y contenidos de cannabinoides.

A la fecha no existe suficiente investigación acerca de cómo actúan los microorganismos en diferentes sustratos de siembra para *Cannabis sp*. y como estos influyen en la productividad de la planta, donde se han adaptado diferentes procesos de la industria de flores, por esto se plantea la investigación de los diferentes sustratos para poder adaptarlos a la industria Cannábica.

Justificación

El desarrollo agrícola e industrial actual ha traído consigo la innovación de nuevos cultivos en el departamento de Antioquia, debido a esto se ha presentado un crecimiento en el interés de la producción de *Cannabis sp*, desde siglos pasados se ha venido trabajando la agricultura bajo un manejo de síntesis química, por esto que uno de los grandes retos en la producción de *Cannabis sp* es trabajar bajo una agricultura más limpia, además, garantizar parte de este proceso estableciendo el cultivo bajo cubierta, pues de esta manera se puede tener un control sobre los diferentes factores que influyen en su producción.

Pensando en un manejo más limpio se crea la necesidad de incorporar microorganismos en los sustratos inertes usados para la producción de este cultivo y cómo estos pueden influir en el desarrollo fisiológico y productivo del cultivo.

De acuerdo con La Asociación Internacional de la Industria de los Fertilizantes (IFA), en el 2018, el consumo mundial de fertilizantes creció un 1.3%, con respecto al año anterior alcanzando un estimado de 187 millones de toneladas, los fertilizantes y agroquímicos que se usan en el país pueden llegar a tener un peso del 35% del costo total, por lo que es muy importante conocer muy bien el producto para optimizar y reducir el riesgo de pérdida en los cultivos (CVN, 2019). De acuerdo con el ICA, en el 2015, el país logró una producción de 50,9 millones de litros y 24,5 millones de kilos de plaguicidas, con los herbicidas como el producto que más se produce al interior del país (Vega J, 2018)

Debido a estas cifras tan altas de biocidas y fertilizantes que se usan en Colombia para lograr producciones exitosas, además de un uso inadecuado se han generado problemas de carácter ambiental, es por esto que se busca una alternativa dentro de las producciones como el uso e implementación de diferentes agentes de control biológico, siendo en este caso el uso de

microorganismos para la producción de *Cannabis sp.* Según Portafolio (2020) la importancia de una producción inocua es que los productos obtenidos a partir de esta flor pueden ser comercializados en la industria farmacéutica porque tienen certificaciones internacionales que la respaldan por las buenas prácticas agrícolas que incluyen la no utilización de pesticidas.

Objetivos

Objetivo General

Evaluar la interacción de microorganismos en diferentes sustratos de cultivo y su incidencia en la producción de *Cannabis sp.*

Objetivos Específicos

- Establecer unidades experimentales de *Cannabis sp.* en diferentes sustratos de cultivo para evaluar la interacción de microorganismos sobre las plantas.
- Analizar la relación de los microorganismos utilizados en las unidades experimentales del cultivo con la productividad de *Cannabis sp.*
- Medir incidencia de los microorganismos sobre los contenidos finales de THC y CBD en *Cannabis sp.*

Marco Teórico

Cannabis (*Cannabis sp.*)

Generalidades y descripción botánica.

De acuerdo con (Acosta., 2001) la clasificación taxonómica del cannabis es: El Cannabis se encuentra dentro del grupo de las Angiospermas

Reino: Plantae

Clase: Magnoliopsidas

Subclase: Hamamélidas

Orden: Urticales

Familia: Cannabaceas

Género: *Cannabis*

Especie: *sativa*



Imagen 1. Planta *Cannabis sp.*

Fuente: El autor, 2020

Origen y distribución

La planta del cannabis es conocida desde hace milenios, estableciéndose su origen en Asia central. Algunos autores datan su uso desde hace 6000 años (Merino, 2000). Su utilización ha pasado desde el aprovechamiento de sus fibras para la confección de tejidos y cuerdas a la utilización como aditivo alimentario, haciendo uso de su aceite y los cañamones como nutriente.

También ha sido empleada con el fin de sanar diversas enfermedades (Lorenzo y Leza, 2000). Las propiedades medicinales del cannabis fueron conocidas y utilizadas en la China hace más de 4.000 años. Actualmente se encuentra ampliamente distribuida en regiones templadas y subtropicales del mundo. (Ángeles et al., 2014)

Descripción morfológica

El cannabis es una hierba florida anual y dioica (que posee los dos sexos). Los tallos son erectos y su altura oscila entre 0,2 y 6 m. Sin embargo, la mayoría de las plantas alcanzan una altura de 1 a 3 m. La longitud de las ramas, al igual que la altura de la planta, depende de factores ambientales y hereditarios, así como del método de cultivo (UNODC, 2010).

- **Hojas:** las hojas se encuentran sobre pecíolos de hasta 7 cm de largo, cada hoja se compone de entre 3 a 9 folíolos angostos de ápice agudo con márgenes serrados y tricomas glandulares recostados sobre el haz y el envés de un color más claro. Los tricomas glandulares producen una resina para proteger la planta contra agresiones externas (Ángeles et al., 2014).
- **Flores:** las inflorescencias masculinas son ramificadas, laxas y con muchas flores de 5 a 8. Las flores masculinas son pediceladas, con perianto de 5 tépalos; y las femeninas son sésiles,

con perianto entero, membranáceo y pegado al ovario, persistente en el fruto, ovario con un solo ovulo y 2 estigmas. (Ángeles et al., 2014).

- **Frutos y Semillas:** el fruto es un aquenio, con una sola semilla, ovoide, algo comprimida, blanco o verdoso teñido de purpura, encerrado en el perianto. (Ángeles et al., 2014).

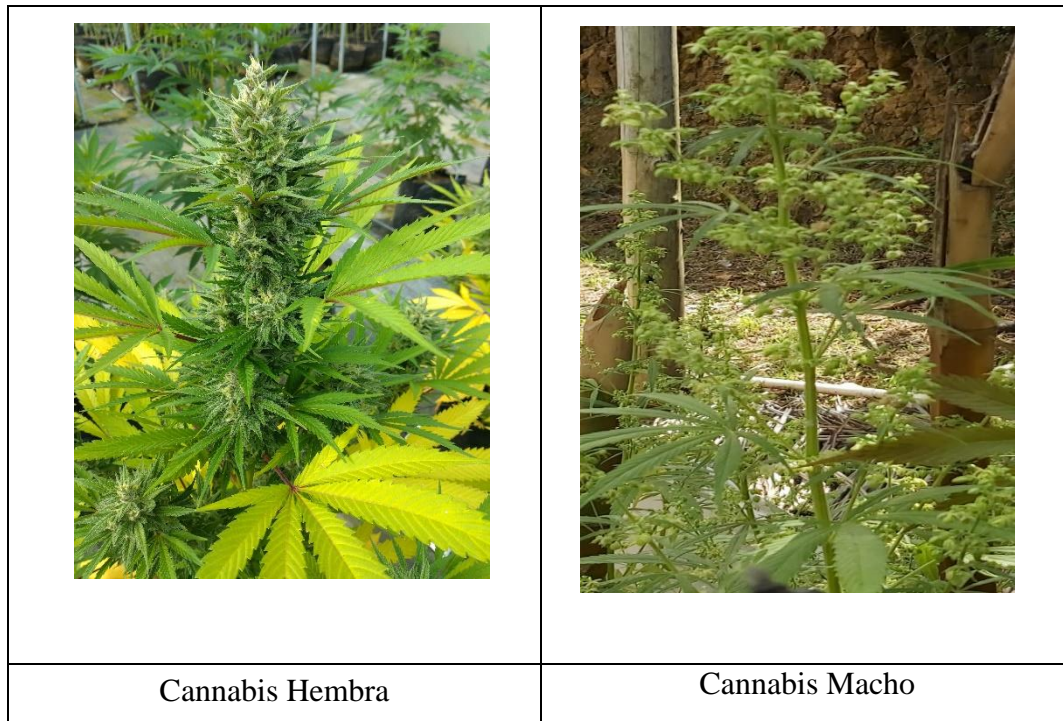


Imagen 2. Cannabis Hembra – Macho

Fuente: El autor, 2021

Propagación

La propagación del cannabis puede ser a través de métodos sexuales siendo su reproducción por semilla o asexuales siendo su reproducción por medio de esquejes, depende del método seleccionado por los productores y esta selección es importante porque aseguran procesos de estandarización del material vegetal. (Ramírez, et al., 2019).

Requerimientos Edafoclimáticos

Según Fassio et al., (2013) los requerimientos edafoclimáticos para el cultivo de cannabis tienen distintas variables según la etapa en la que se encuentre la temperatura en etapa de germinación es de 24°C, en la etapa de desarrollo y floración tiene una temperatura que oscila entre 21°C a 27°C durante el día y entre 13°C a 21°C durante la noche; requiere de un fotoperiodo de 18 horas luz y 6 horas noche en crecimiento y 12 horas luz y 12 horas noche en floración. Por cada ciclo del cultivo se requiere de un volumen de agua entre 200 a 700 mm, con una humedad relativa que oscila entre 40 y 80%. Estos requerimientos pueden variar de acuerdo a las condiciones edafoclimáticas de la zona donde se desarrolle y establezca el cultivo.

Importancia del cannabis en Colombia

Colombia ha sido un país donde la producción de cannabis se ha dado en un marco ilegal, pero desde el 2017 con la aprobación del decreto 613 que permite la producción, transformación, exportación, e investigación de cannabis con fines medicinales, de ahí la importancia que ha tomado el sector industrial y farmacéutico por el cultivo de cannabis. (Ramírez, M et al., 2019)

De acuerdo con Portafolio (2020) a partir de esas regulaciones, la nueva industria del cannabis medicinal de Colombia quiere posicionar su producto en la legalidad y desmarcarse del término marihuana, asociado a violencia, tráfico ilegal y la clandestinidad.

La planta de cannabis tiene múltiples usos, entre los que se destaca además del medicinal el uso en sectores como el de alimentos, bebidas, y cosméticos. El uso industrial del cáñamo, una variedad del cannabis se utiliza también en la producción de papel, fibra, celulosa y materiales de construcción, entre otros. (Ramírez, M et al., 2019).

Según Portafolio (2020) desde la expedición del Decreto 613, se ha visto un notable interés en la inversión de proyectos o negocios asociados al uso medicinal y científico del cannabis en Colombia, tanto que, a la fecha, y según las cifras oficiales, se han otorgado alrededor de más de 656 licencias en las modalidades de uso de semillas para siembra (98), cultivo de plantas de cannabis psicoactivo (164) y no psicoactivo (394) y aproximadamente más de 171 licencias de fabricación de derivados de cannabis. Así mismo, se han realizado alrededor de 4191 inscripciones de pequeños y medianos cultivadores, productores y comercializadores nacionales de cannabis medicinal.

Marco regulatorio

La producción, cultivo, transformación y exportación en Colombia está regulada por varias normas, decretos y leyes, esta regulación ha permitido que la cadena e industria del cannabis en el país se desarrolle con todos los requisitos establecidos y acordes a los diferentes procesos productivos. La industria de Cannabis medicinal en Colombia está regida a través de la Ley 1787 de 2016 y esta ley está reglamentada por el Decreto 613 de 2017, que define los requisitos para el acceso seguro e informado al uso médico y científico del cannabis, por el cual se obtienen las licencias de cannabis en Colombia.

Las autoridades establecidas en Colombia para asumir el control y regulación en la industria del cannabis se encuentran, El Ministerio de Salud y Protección Social, a través de la Dirección de Medicamentos y Tecnologías de la Salud, es la autoridad competente para expedir la licencia de fabricación de derivados de cannabis. El control administrativo y operativo a las actividades relacionadas con el manejo de cannabis y sus derivados se hará a través del Fondo Nacional de Estupefacientes (FNE), una vez expedida la licencia, quien también es la autoridad

competente para el control de los productos terminados provenientes del cannabis psicoactivo, sin perjuicio de las competencias en materia sanitaria y fitosanitaria del Instituto Nacional de Vigilancia de Alimentos y Medicamentos (INVIMA) y del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) que le sean aplicables a los productos que los contengan. (Ministerio de Salud y Protección Social., 2017).

El Ministerio de Justicia y del Derecho, a través de la Subdirección de Control y Fiscalización de Sustancias Químicas y Estupefacientes, es la autoridad competente para expedir las licencias de uso de semillas para siembra y de cultivo de plantas de cannabis, y ejercer el control administrativo y operativo a las actividades relacionadas con el manejo de las semillas para siembra, del cultivo de cannabis y del cannabis. (Ministerio de Salud y Protección Social., 2017).

Decreto 613 de 2017

El Decreto 613 de 2017 reglamentó el modelo actual de licenciamiento para la industria de Cannabis medicinal. Existen diferentes tipos de licencias y modalidades que legalizan el uso de semillas, el cultivo y la transformación del cannabis y sus derivados (Ministerio de Salud y Protección Social, 2017):

- **Licencia de fabricación de derivados de cannabis:** para la transformación del cannabis para fines médicos y científicos, que puede comprender la fabricación, adquisición a cualquier título, importación, exportación, almacenamiento, transporte, comercialización y distribución de los derivados de cannabis psicoactivos y no psicoactivos.
- **Licencia de uso de semillas para siembra:** para el manejo de semillas para siembra, que puede comprender la adquisición a cualquier título, importación, almacenamiento,

comercialización, distribución, posesión y disposición final, así como su exportación y uso para fines médicos y científicos.

- **Licencia de cultivo de plantas de cannabis psicoactivo:** para el cultivo de plantas de cannabis psicoactivo, que puede comprender la siembra, adquisición y producción de semillas, almacenamiento, comercialización, distribución y disposición final, así como la exportación y uso para fines médicos y científicos.

- **Licencia de cultivo de plantas de cannabis no psicoactivo:** para adelantar las actividades de cultivo de plantas de cannabis cuyo porcentaje de THC sea inferior a 1% en peso seco, que puede comprender la siembra, adquisición y producción de semillas; almacenamiento, comercialización, distribución y disposición final de plantas, así como la exportación y uso para fines médicos y científicos.

Composición química del Cannabis

La composición química de esta especie se ha estudiado ampliamente. Se han identificado aproximadamente 500 compuestos, entre los que se encuentran canabinoides, terpenos, flavonoides, alcaloides, estilbenos, amidas fenólicas y lignanamidas. (Ángeles et al., 2014).

Según (Flores & Verpoorte., 2008) los canabinoides son los metabolitos más abundantes y exclusivos de esta especie. Se conocen alrededor de 70, de los cuales el THC es el más estudiado. Son los de mayor importancia debido a que son capaces de interactuar con todo un sistema de receptores endógenos (sistema canabinoide endógeno). Además, son de naturaleza terpenofenólica y se concentran generalmente en la resina producida en los tricomas de la planta, sobre todo en las inflorescencias femeninas. Según Atakan Z (2012), los canabinoides son

sintetizados y acumulados como ácidos canabinoideos, y no es sino hasta el proceso de secado y almacenaje, que los ácidos se descarboxilan gradualmente hasta alcanzar su forma final, como por ejemplo el THC o el cannabidiol (CBD).

Según Grotenhermen (2006) las plantas de cannabis contienen cannabinoides, los más conocidos de los cuales son el tetrahidrocannabinol (THC), y el cannabidiol (CBD). Mientras que el THC tiene efectos psicoactivos, el CBD tiene nula o baja psicoactividad. Investigaciones relativamente recientes, y todavía en progreso, muestran que estos cannabinoides (o fitocannabinoides como se denominan por provenir de la planta del cannabis) interactúan con el sistema endocannabinoide del cuerpo humano. Este sistema se compone de endocannabinoides y de receptores de cannabinoides que residen en el cerebro y en diferentes órganos del cuerpo humano. Tanto los endocannabinoides como los fitocannabinoides se pueden unir a estos receptores generando efectos sobre el organismo.

De dicha unión se derivan los efectos terapéuticos y medicinales de los fitocannabinoides, entre los cuales sobresalen los efectos analgésicos, antiinflamatorios, estimulantes óseos, antieméticos, antiepilépticos, inmunosupresores y neuroprotectores. (Ramírez, M et al., 2019).

De acuerdo con Mudigoudar MD (2016) los más abundantes y mejor estudiados de estos cannabinoides son el componente psicoactivo, Δ^9 - Tetrahidrocannabinol (THC) y el cannabidiol (CBD) no psicoactivo, aunque también existen otros compuestos de este grupo con importancia terapéutica como el cannabinol (CBN), el cannabigerol y el cannabicrómeno, entre otros.

La composición química del cannabis está relacionada con la variedad y tipo de planta, además con la edad, y órgano vegetal. La cantidad de cannabinoides depende de las condiciones de crecimiento y la estabilidad de los componentes es afectada por la humedad, temperatura, luz y almacenamiento. (Ortega Serrano, 2017).

CBD – Cannabidiol THC - Tetrahydrocannabinol

Estos compuestos químicos presentes en el cannabis son los de mayor importancia para el uso medicinal debido a los efectos terapéuticos y medicinales que pueden proveer. Es por esto que en la reglamentación de Colombia se tienen diferentes Licencias de producción para cannabis medicinal. (Ramírez, M. et al., 2019).

Según (Ben-Shabat, 2006) el Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (THC) es mejor conocido por su actividad psicotrópica pero también tiene un potencial terapéutico que afecta la función de varias células inmunoactivas; mientras que el cannabidiol (CBD) es otro cannabinoide abundante de esta clase de plantas, el cual presenta propiedades antiinflamatorias, anticonvulsivantes, antipsicóticas. El cannabidiol (CBD) no causa ninguno de los efectos psicotrópicos del Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (THC), el constituyente psicoactivo del cannabis, este cannabinoide actúa por un mecanismo diferente del THC y comparte algunos de sus efectos terapéuticos. (Susanna Tchilibon, 2000).

Sistemas de producción de Cannabis en Colombia

En Colombia se pueden implementar diferentes sistemas de producción para cannabis, los sistemas usados son a cielo abierto, cielo abierto con riego semi – automatizado o en invernadero. El sistema elegido depende mucho de la ubicación geográfica, ya que bajo cubierta o en invernadero se requiere de la infraestructura adecuada para garantizar las condiciones climáticas favorables para las plantas y así obtener rendimientos adecuados. (Ramírez et al., 2019).

Microorganismos y su uso en la Agricultura

Según (Richardson et al., 2009) las poblaciones microbianas del suelo están inmersas en un marco de interacción que afecta el desarrollo de las plantas y la calidad del suelo. Ellas están involucradas en actividades fundamentales que aseguran la estabilidad y productividad, tanto de los agroecosistemas como de los ecosistemas naturales. Investigaciones estratégicas y aplicadas han demostrado el interés de ciertas actividades de cooperación microbiana para ser explotadas como una biotecnología de bajo impacto y costo para contribuir con prácticas agro-tecnológicas sustentables y amigables con el ambiente. Los microorganismos participan en procesos ecológicos que permiten el funcionamiento de los ecosistemas, y biotecnológicos que son esenciales para la industria farmacéutica, alimenticia y médica. (Montaño Arias et al., 2010).

La rizósfera es el volumen de suelo influenciado por la presencia de raíces de una planta viva, cuya extensión puede variar de acuerdo al tipo de suelo, la especie de planta, su edad y otros factores (Foster, 1998), constituye uno de esos puntos sensibles a la respuesta del cultivo porque concentra una gran actividad metabólica con intercambio de nutrientes entre la atmósfera y el suelo, la cual es mediada por la acción e interacción de plantas y microorganismos del suelo. (Pedraza R et al., 2010).

De acuerdo con Montaño Arias et al (2010) los microorganismos participan en procesos ecológicos que permiten el funcionamiento de los ecosistemas, ellos son los principales responsables de la descomposición de la materia orgánica y del ciclaje de los nutrientes (carbono, nitrógeno, fósforo, azufre, etc.). Así, en la fijación y ciclaje del nitrógeno están implicadas bacterias simbióticas como *Rhizobium* y *Frankia*, y bacterias de vida libre como *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Thiobacillus*, incluidas las cianobacterias: *Anabaena* y *Nostoc*. Otros ejemplos son la bacteria *Rhizobium etli* la cual aporta nitrógeno a las plantas de

frijol, las micorrizas que ayudan a las plantas a capturar los nutrientes del suelo y *Burkholderia* que promueve el crecimiento vegetal de los cultivos. El uso de microorganismos benéficos (MB) como hongos, bacterias o virus, constituye una herramienta básica, y de gran utilidad para el desarrollo de una agricultura limpia y amigable con el entorno productivo. Se han realizado muchos estudios científicos que han justificado los beneficios de los MB en distintos cultivos de seguridad alimentaria como papa, arroz, maíz, entre otros, y cultivos perennes, como frutales que poseen cualidades nutraceúticas por lo cual son muy apreciados. (Viera Arroyo, W., 2020)

Entre los principales microorganismos aplicados en la agricultura tenemos los hongos de los géneros *Trichoderma spp.* y *Beauveria*, y distintas especies de micorrizas, así como bacterias del género *Bacillus*. Estos agentes biológicos han probado su eficiencia en el control de plagas a través de distintos mecanismos de acción como antibiosis, micoparasitismo o competencia. Además, han confirmado su efecto como organismos promotores de crecimiento vegetal, especialmente a nivel de biomasa radicular y su incidencia en la mejora de la absorción de nutrientes como N y Ca, elementos que están relacionados a la división celular, la estructura de las paredes celulares, el crecimiento de la planta. Incluso, han incidido en el rendimiento de cultivos incrementando la producción hasta en un 20%. (Viera Arroyo, W., 2020).

Importancia de los microorganismos en la Agricultura

La agricultura tradicional ha buscado acrecentar la producción agrícola mediante el manejo del agua, los nutrientes y el control de malezas, insectos y organismos fitopatógenos. Prácticas más recientes, apuntan a utilizar los insumos agrícolas en forma dirigida y controlada en el manejo integrado de plagas y enfermedades, la agricultura de precisión, entre otros. Así, se busca identificar los puntos más sensibles del manejo del cultivo para aumentar su rendimiento y

disminuir la cantidad de agroquímicos utilizados. Por último, cabe considerar que el costo de los insumos agrícolas es altamente dependiente de variables internacionales y que sus efectos en el ambiente pueden ser perjudiciales cuando su uso es excesivo y no controlado. (Pedraza R et al., 2010)

Abril (2003) señala que la calidad del suelo es definida por su capacidad para funcionar en un marco de ecosistema natural o modificado, sostener la productividad vegetal y animal, mantener o mejorar la calidad de agua y aire, y contribuir a la salud humana y habitabilidad. La calidad del suelo está fuertemente influenciada por los procesos microbianos que en él ocurren, y éstos, relacionados con la diversidad; por tanto, es muy probable que el mantenimiento de la estructura de la comunidad microbiana tenga la capacidad de servir como indicador temprano y de gran sensibilidad de la degradación o empobrecimiento del suelo.

Según (Altieri, 1994) en los sistemas agrícolas la biodiversidad desempeña servicios ecológicos, más allá de la producción de alimento, fibra, combustibles e ingresos monetarios. Entre los ejemplos se incluyen el ciclado de nutrientes, control del microclima local, regulación de procesos hidrológicos locales, regulación de la abundancia de organismos indeseables y detoxificación de productos químicos nocivos. Estos procesos de renovación y servicios de los ecosistemas son en gran parte microbiológicos, por lo tanto, su persistencia depende del mantenimiento de la biodiversidad microbiana nativa o exógena del suelo.

Materiales y Métodos

Ubicación

La investigación se efectuó en una empresa con licencia para la producción de cannabis medicinal, ubicada en la vereda la Sonadora del municipio de El Carmen de Viboral con ubicación en las coordenadas $6^{\circ}05'00,84''\text{N} - 75^{\circ}20'05,23''\text{O}$. El municipio tiene una altitud de la cabecera municipal de 2.150 m.s.n.m y una temperatura promedio de 17°C , presenta precipitaciones anuales promedio entre 1000 y 4000 mm por año. (CORNARE, 2011).

Plántulas

La semilla utilizada fue de tipo asexual, esquejes apicales de una longitud aproximada de 4 cm. Al momento de la siembra se impregnó la base del tallo con un producto a base de Ácido Indolacético (AIA) y Ácido Indo Butílico (AIB). Posteriormente se introdujeron en una bandeja con un medio de siembra a base de ceniza y turba. Durante 28 días se les proporcionó agua a partir de un sistema de aspersión. Al momento del trasplante de los esquejes a campo se realizó una selección de esquejes para garantizar homogeneidad al momento de la siembra. En la imagen 3 se presenta las imágenes de la semilla empleada.



Imagen 3. Propagación de esquejes y trasplante plántulas Cannabis *sp.*

Fuente: El autor, 2020

Sustrato

Se emplearon dos sustratos. *Sustrato uno*, a base de suelo y chip de coco. *Sustrato 2*, mezcla de cascarilla de arroz y ceniza. Ambos sustratos obtenidos en la finca y previamente solarizados. Posteriormente se llenaron 20 contenedores con el sustrato uno y 20 contenedores con el sustrato dos. Los contenedores eran de geotextil con capacidad de 22L.



Imagen 4. Sustrato suelo – chip de coco. Sustrato de ceniza – cascarilla arroz

Fuente: El autor, 2020

Siembra

Se realizó la siembra de las plántulas en cada contenedor previamente humedecido, garantizando que cada plántula tuviera buen desarrollo radicular y foliar, estas plántulas tenían una altura promedio de 4 cm, se sembraron a una profundidad promedio de 4 cm.



Imagen 5. Siembra plántulas.

Fuente: El autor, 2020

Posterior a la siembra se realizó seguimiento durante 12 semanas el cual es el periodo de desarrollo vegetativo este consto de 8 semanas y el ciclo de producción y desarrollo de inflorescencias que consto de 4 semanas, durante este tiempo se realizaron las inoculaciones y se realizaron mediciones de altura de la planta (AP), al cannabis lo afectan plagas como los thrips, ácaros, mosca blanca, entre otros y dentro de las enfermedades más limitantes se encuentra la Botrytis la cual afecta principalmente las inflorescencias por lo cual se realizó el proceso fitosanitario y nutricional de acuerdo a los calendarios de prevención y control establecidos en la compañía.



Imagen 6. Plantas *Cannabis sp.*

Fuente: El autor, 2020

Inoculación Microorganismos

Se usaron tres tipos de inóculos para la investigación desarrollada los cuales podemos observar en la Tabla 1.

Inóculos	
Producto 1	(Hongos solubilizadores de minerales, contiene espora y micelio concentración 1×10^7 UFC por mL)
Producto 2	(<i>Azospirillum brasilense</i> contiene 1×10^7 UFC por mL)
Producto 3	(Cultivo bacteriano de <i>pseudomonas</i>)

Tabla 1. Inoculación Microorganismos

Se realizaron tres aplicaciones, en el momento del trasplante, 8 y 15 días después del trasplante, estas aplicaciones se realizaron en drench alrededor de cada plántula. Se emplearon tres tipos de inóculos para la investigación, *Producto 1* (Hongos solubilizadores de minerales, contiene espora y micelio concentración 1×10^7 UFC por mL), *Producto 2* (*Azospirillum*

brasileño contiene 1×10^7 UFC por mL); *Producto 3* (Cultivo bacteriano de pseudomonas); se usaron para el producto 1 y 2 un aproximado de 12 ml; donde se utilizaron 4cc en 2 litros de agua en cada aplicación realizando así las tres aplicaciones, y para el producto 3 aproximadamente 1 ml donde se usaron 0,32 cc en 2 litros de agua. Efectuando una aplicación de la solución de 200 ml aproximadamente por planta en cada inoculación, para un total de 600 ml aplicados durante las tres inoculaciones realizadas.

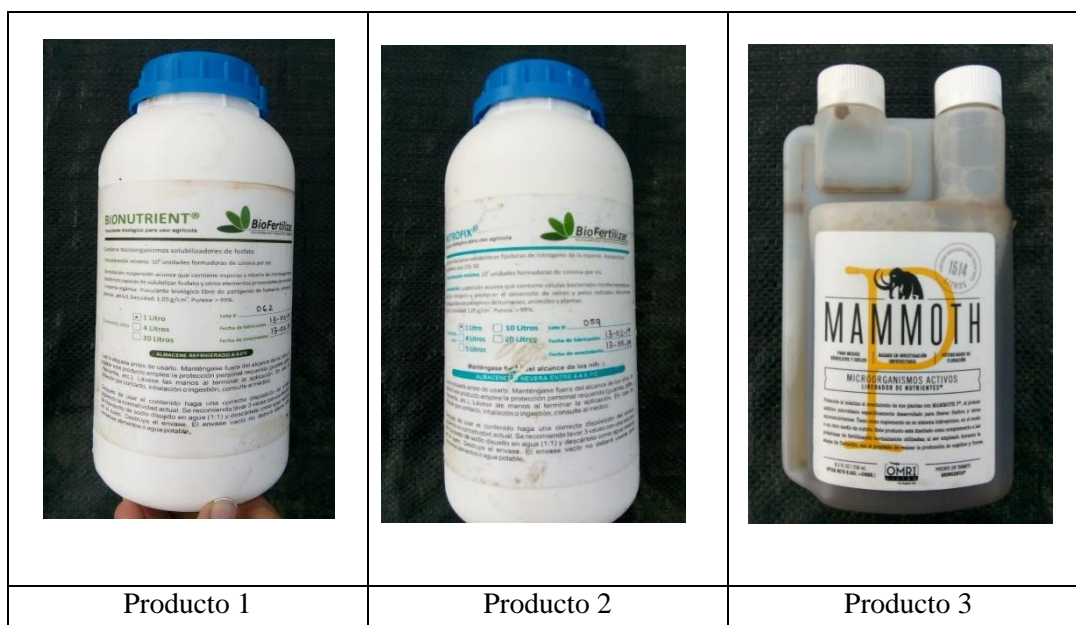


Imagen 7. Productos a base de Microorganismos.

Fuente: El autor, 2020

Diseño Experimental

Se realizó un montaje experimental bajo un diseño completamente al azar (DCA) con un arreglo factorial $3 \times 2 + 2$. Se evaluó el efecto de tres productos a base de microorganismos en dos sustratos de siembra (inerte y suelo) más dos testigos, para un total de 8 tratamientos, cada uno con 5 repeticiones, para un total de 40 unidades experimentales. La unidad experimental fue una planta de *Cannabis* sp. sembrada en un contenedor de 22 L. En la tabla 2 se presenta la estructura de los tratamientos.

Tratamiento	
1	Suelo + producto 1
2	Suelo + producto 2
3	Suelo + producto 3
4	Testigo suelo
5	Sustrato + producto 1
6	Sustrato + producto 2
7	Sustrato + producto 3
8	Testigo sustrato

Tabla 2. Estructura tratamientos.

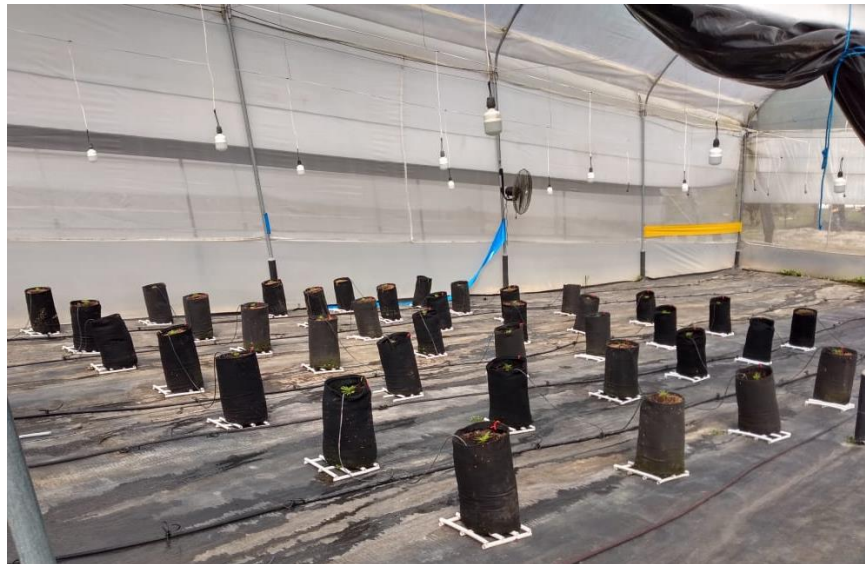


Imagen 8. Unidades experimentales, plántulas *Cannabis sp.*

Fuente: El autor, 2020

Semanalmente, durante 12 semanas se llevaron registros de altura de la planta en centímetros (cm) e inicio de floración, para elaborar las etapas fenológicas, observando que, aunque la AP vario entre plantas todas obtuvieron un desarrollo fenológico optimo, para cuantificar la productividad, al final del ciclo productivo se pesó la masa fresca de la inflorescencia y masa seca de la inflorescencia. Para saber si los microorganismos incidieron sobre la concentración de CBD y THC, al momento de la cosecha se tomó una muestra por tratamiento para realizar una cromatografía. Todas las labores agronómicas fueron las utilizadas por la empresa.



Imagen 9. Masa Flor Fresca – Cannabis sp.

Fuente: El autor, 2020

La cosecha de flor se realizó por repetición - tratamiento donde solo se retiraron de las plantas las inflorescencias almacenando por tratamiento y repetición las flores en bandejas de aluminio de 15 onzas, seguido se pesa la totalidad de la flor fresca cosechada (FFC). De esa cantidad se toma una muestra de 20 g (MFF). Luego se desarrolla la metodología de masa por peso constante, así: los 20 g se colocan en una bandeja de aluminio y se lleva a horno a

temperatura inferior a 105 °C. A las 24 horas de iniciado el secado, se inician a pesar las muestras cada hora. La muestra se considera seca cuando tres mediciones continuas arrojan igual peso-masa. Se registra el peso encontrado de flor seca (MFS). La diferencia entre MFF y MFS es la cantidad de agua que perdió la muestra durante el secado, expresada en porcentaje o en peso (%h). Luego este porcentaje se convierte en el factor de corrección para aplicárselo a la FFC de cada lote- Tratamiento, el resultado es la flor seca total FST, con estos datos ya se desarrolló la prueba de rangos múltiples y grupos homogéneos.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza-Anova y una prueba de medias con un nivel de significancia del 95%. Los resultados se procesaron bajo el programa estadístico Statgraphics centurión 16,5®.

Resultados y Discusión

Resultados

Cannabis sp se manejó con tres diferentes tratamientos de microorganismos así; producto 1 (Hongos solubilizadores de minerales, contiene espora y micelio concentración 1×10^7 UFC por mL), producto 2 (*Azospirillum brasiliense* contiene 1×10^2 UFC por mL), producto 3 (Cultivo bacteriano de *Pseudomonas*) para analizar su incidencia en la productividad de dos sustratos, uno de chip coco más suelo; otro de ceniza más cascarilla de arroz; con cada tratamiento se buscó conocer de qué manera los microorganismos actuaron en los sustratos y las plantas de cannabis, cada tratamiento por sí solo no tuvo un efecto significativo en crecimiento, desarrollo y producción del cannabis, donde se evidencio un mayor desarrollo para ambos sustratos en los tratamientos testigos suelo sin m.o (T4) e inerte sin m.o (T8) sin embargo según Comeau et al., (2021) demostraron un aumento significativo en el rendimiento de *C. sativa* de hasta un 70 % cuando se inocula con tres *Pseudomonas spp./Bacillus spp*, en diferentes consorcios, pero no con tratamientos de inoculación única. Este efecto promotor del crecimiento se observó en dos sustratos de suelo comerciales diferentes comúnmente utilizados para cultivar cannabis: Promix y Canna coco.

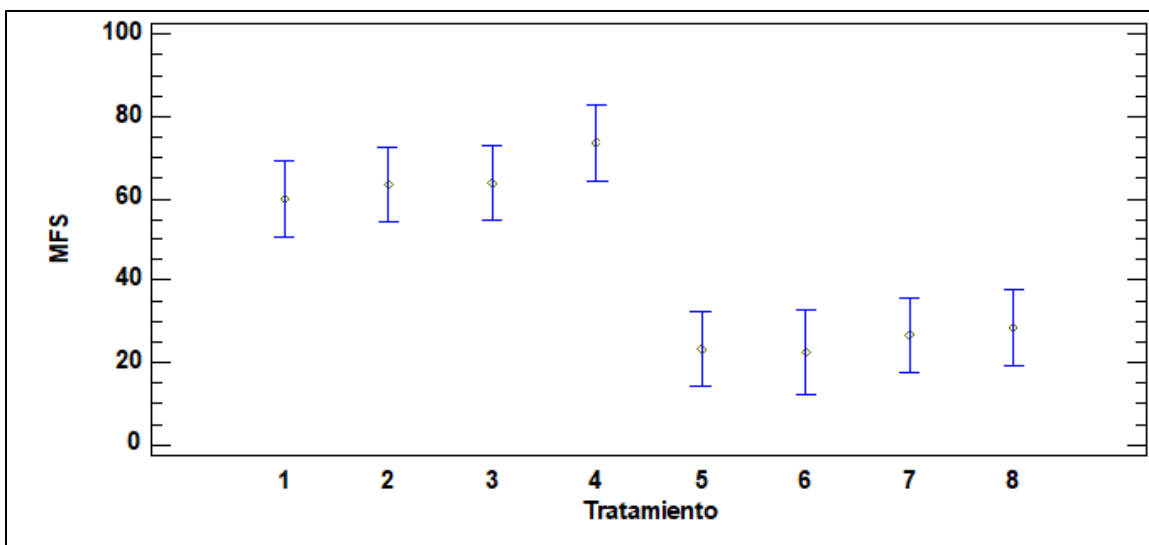
Para dar cumplimiento al objetivo relacionado con la incidencia de microorganismos (m.o) adicionados, los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza para evaluar el efecto de los factores microorganismos y tipo de sustrato de siembra. En general toda intervención sobre el comportamiento agronómico de una especie se mide a través del efecto de los tratamientos sobre la productividad, y ésta a través del aprovechamiento del órgano de interés de la planta cultivada. El efecto de la adición de microorganismos en los sustratos y su efecto sobre la productividad de la *Cannabis sp*. se midió a través del comportamiento de la inflorescencia,

que se ha denominado Masa Flor Fresca (MFF) y Masa Flor Seca (MFS). Para ambas variables evaluadas MFF y MFS se presentó diferencia altamente significativa entre los tratamientos ($p=0,0000$). Todos los tratamientos que utilizaron suelo como sustrato de cultivo, superaron ampliamente a los tratamientos que utilizaron sustrato inerte. En la figura 1 se presentan los grupos homogéneos y sus medias. En la figura 2, los intervalos de confianza para los tratamientos evaluados.

Figura 1. Prueba de rangos múltiples y grupos homogéneos. Producto de la interacción m.o. y medios de cultivo sobre la productividad en *Cannabis* sp.

Tratamiento	Media MFF	Media MFS	Grupos homogéneos
(6) Inerte + producto 3	91,5975	22,5013	a
(5) Inerte + producto 2	92,486	23,1059	a
(7) Inerte + producto 1	107,922	26,7333	a
(8) Testigo inerte	132,516	28,3905	a
(1) Suelo + producto 1	242,852	59,9477	b
(2) Suelo + producto 2	247,032	63,3013	b
(3) Suelo + producto 3	288,838	63,7489	b
(4) Testigo suelo	290,672	73,7548	b

Figura 2. Intervalos de confianza al 95%, para la interacción m.o. y medios de cultivo sobre la productividad en *Cannabis* sp.



De acuerdo con Winston et al. (2014) la marihuana y el cáñamo son modelos atractivos para explorar las interacciones planta-microbioma, ya que producen numerosos compuestos metabólicos secundarios. En consecuencia, la influencia del tipo de suelo y el genotipo de la planta en la estructura de la comunidad microbiana de la marihuana respalda el modelo de sistema de dos niveles en el que el tipo de suelo es un determinante de las comunidades microbianas en la rizosfera, y los cultivares de cannabis son un factor de la estructura de la comunidad en la rizosfera. La estructura de la comunidad de la rizosfera se correlaciona significativamente con la concentración y composición de cannabinoides.

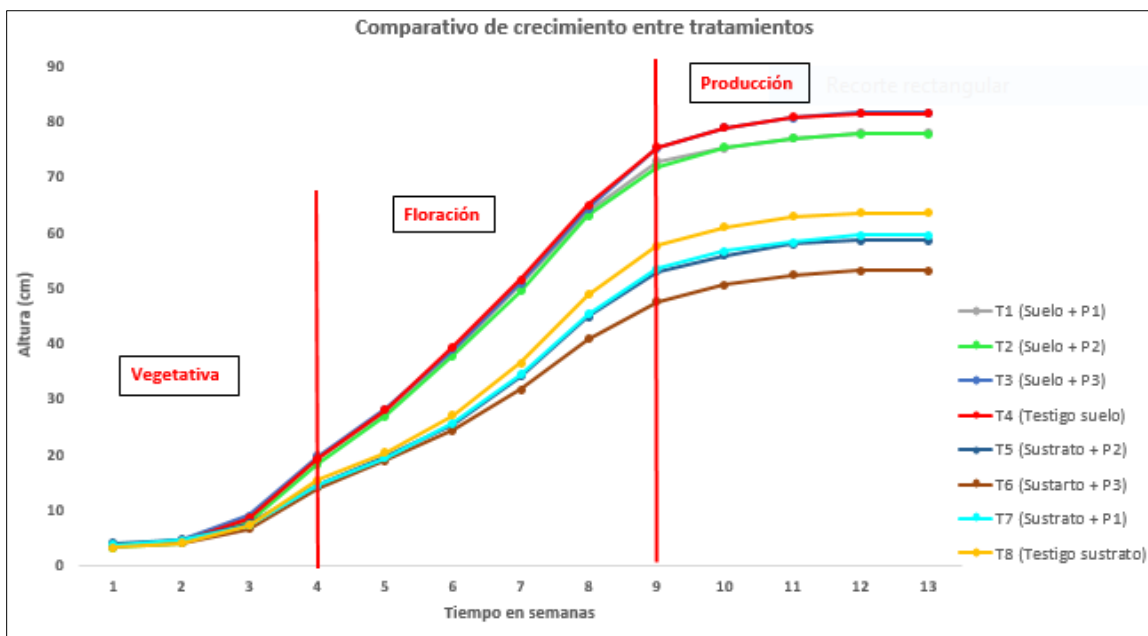
Para el siguiente análisis se conforman dos grupos, el primero con los tratamientos que usaron como sustrato de cultivo el suelo, un segundo compuesto por los tratamientos que usaron materiales inertes. Se observa un comportamiento similar en los dos grupos de tratamientos. En ambos conjuntos los tratamientos testigos, suelo sin m.o (T4) e inerte sin m.o (T8), superaron a los restantes de su grupo que fueron inoculados con m.o (figura 2). Esto sugiere una competencia entre los m.o y la planta por la toma de nutrientes. En teoría los m.o en sustratos ricos en materia orgánica, por ejemplo, mineralizan los elementos haciéndolos disponibles para las plantas. Es posible que en ambientes con poca o sin materia orgánica, se genere un efecto contrario, los m.o se consumen los elementos disponibles. Resultados que pueden respaldar esta teoría los presentan (Haro y Perales 2015), quienes cultivaron micro-algas en varios sustratos de cultivo, encontrando que el contenido de nitrógeno y fósforo se redujo en más de un 80%, en los residuales de los medios cultivados.

Estos resultados sugieren que los m.o. en ausencia de cadenas carbonadas y/u otras sustancias pueden consumir iones de la solución que deberían ser absorbidos por la planta la para

su nutrición. Es claro, a partir de los resultados presentados en la figura 1, 2 y 3, que los m.o no presentaron efecto superior cuando se adicionaron en el sustrato inerte, comparado al efecto cuando se adicionaron en el sustrato de suelo. Significa esto que los m.o no actuaron en el sustrato inerte a favor del crecimiento de la especie evaluada.

Aunque los microorganismos evaluados no actuaron a favor del cannabis algunos autores como Boddey et al (2003) encontraron resultados positivos de la interacción de las plantas con las BPCPs. Schultz et al. (2010) al inocular *Azospirillum brasilense*, observaron incrementos del 10 % en la productividad de la caña de azúcar en relación al tratamiento sin N-fertilizante. Basándose en esto, los autores concluyeron que la inoculación promueve rendimientos similares a la adición de 120 kg ha⁻¹ N.

Figura 3. Crecimiento a través del tiempo de Cannabis sp. en diferentes medios de cultivo.



La curva de crecimiento a través del tiempo (figura 3), ratifica los resultados presentados hasta el momento. Se observa que la altura al final del ciclo vegetativo, medido hasta la semana

13 después del trasplante (ddt), presenta iguales grupos. El conjunto de tratamientos que utilizaron suelo superaron hasta en 28,3 cm a los tratamientos que utilizaron el medio inerte, al comparar la altura del tratamiento 8 (testigo sustrato=53,2 cm), contra el tratamiento 4 (suelo + P1=81,5 cm). Para ambos grupos de tratamientos se observa que los testigos superaron en altura a los demás tratamientos de su grupo. Por ejemplo, la evaluación con sustrato de siembra inerte arrojó que, el T8-testigo (63,3 cm) > T7 (59,6 cm) > T5 (58,6 cm) > T6 (53,2 cm). Para el caso de los tratamientos que utilizaron suelo como medio de siembra, no obstante valores similares entre Testigo y T3, la situación fue similar, T3 (81,64 cm) > T4-testigo (81,5 cm) > T1 (78 cm) > T2 (77,8 cm).

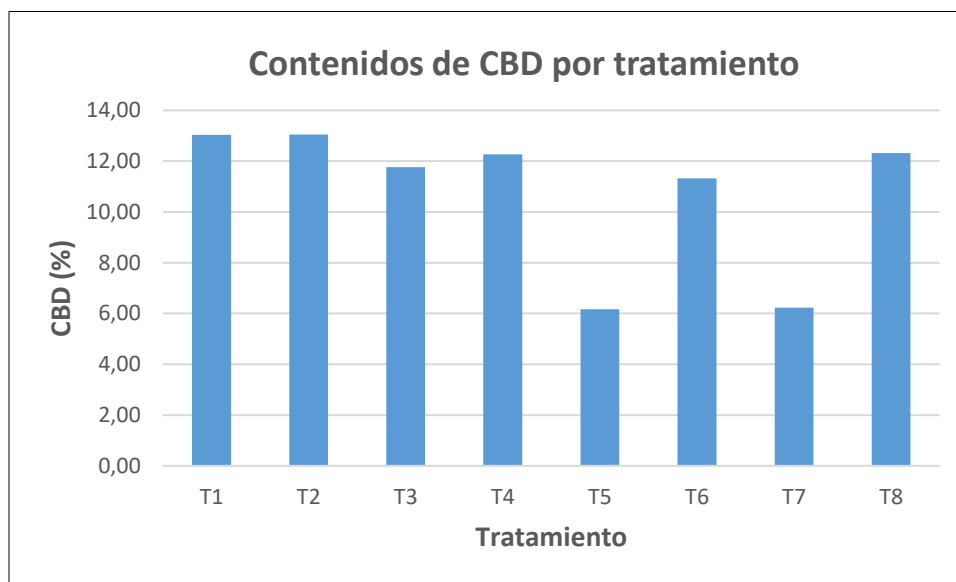
A partir de la figura 3, es posible observar que no obstante las diferencias entre las alturas alcanzadas hasta la semana 13, entre los dos grupos, las etapas fisiológicas propuestas no presentaron diferencias. La etapa vegetativa tuvo una duración de cuatro semanas ddt, la etapa de floración cinco semanas, y la de producción o maduración de la flor, otras cinco semanas. En total el ciclo vegetativo completo ddt, para ambos grupos de tratamientos se propone, bajo las condiciones de este experimento, de 14 semanas.

Referente a la respuesta de los cannabinoides (THC y CBD) frente a los tratamientos, es pertinente indicar que para este parámetro no se realizaron repeticiones que permitan inferir un comportamiento estadístico. En consecuencia, se describirá gráficamente la tendencia encontrada a partir de una cromatografía realizada a la flor de cada tratamiento.

Para una mejor comprensión del comportamiento de los cannabinoides y por efectos de escala, se analizaron por separado el THC del CBD (figuras 4 y 5). De acuerdo con Pagnani et al. (2018) la producción de tales metabolitos bioactivos puede mejorar el crecimiento de la planta huésped y

tolerar el estrés ambiental. Hay estudios limitados sobre el uso de endófitos bacterianos promotores del crecimiento y su efecto sobre el crecimiento y el rendimiento del cannabis.

Figura 4. Comportamiento de cannabinoide CBD en respuesta a diferentes medios de siembra.



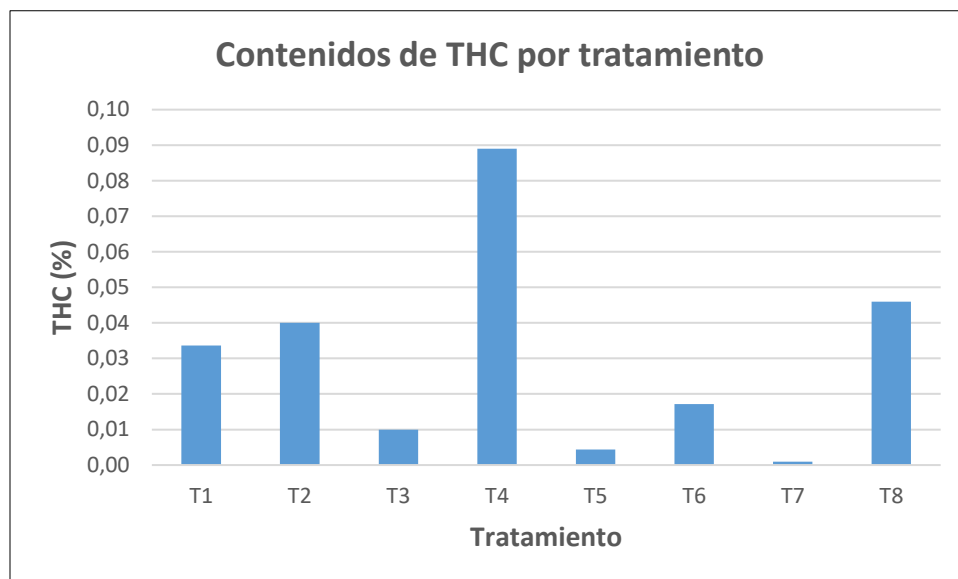
Según Pagnani et al. (2018) evaluó la idoneidad de un consorcio multiespecies formado por *Azospirillum brasilense*, *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae* y *Burkholderia ambifaria* aislados de raíces o tallos de maíz, sorgo, caña de azúcar y bermuda para mejorar la biomasa de cáñamo. El consorcio bacteriano favoreció el desarrollo del crecimiento de las plantas y la acumulación de metabolitos secundarios (es decir, CBD y THC).

No obstante, la única prueba realizada a la flor de cada tratamiento, se observa la continuidad en la tendencia. El grupo de tratamientos que utilizó suelo como sustrato (T1, T2, T3 y T4), superan excepto al testigo sustrato (T8), en los contenidos de CBD. El producto tres tuvo un efecto similar en ambos sustratos, suelo e inerte. Los productos uno y dos, no parecen tener

interacción favorable cuando son adicionados a sustratos inertes con las características del utilizado en esta investigación. Similar comportamiento se presentó con el cannabinoide THC. No obstante, la gráfica evidencia que los tratamientos con adición de productos, no lograron aumentar este metabolito, presentándose mayores porcentajes de THC en los tratamientos testigos de ambos sustratos de cultivo. Sin embargo el producto tres que tuvo similar efecto en ambos sustratos es similar al que usaron Conant et al. (2017) con el que se informó sobre un rendimiento significativo de cogollos de marihuana del 16,5 % y la altura de la planta como resultado del tratamiento con el bioestimulante microbiano Mammoth PTM, un consorcio de múltiples especies compuesto por cuatro taxones bacterianos *Enterobacter cloacae* , *Citrobacter freundii* , *Pseudomonas putida*, y *Comamonas testosteroni*.

La manipulación del agroecosistema sigue siendo una tarea formidable debido a la complejidad y la interconexión entre innumerables microorganismos y el huésped. (Busby et al., 2017).

Figura 5. Comportamiento de cannabinoide THC en respuesta a diferentes medios de siembra



Discusión

El cultivo de *Cannabis sp.* es un cultivo que desde el 2016 se aprobó su producción legal en el país, pero en el cual no se han desarrollado investigaciones acerca de este cultivo que se encuentren referenciadas; a continuación, se referencia información de algunas investigaciones donde se han usado microorganismos en diferentes cultivos. Según (Ucea-Herrera., et al.,2020) en cultivos de maíz (*Zea mays L.*) inoculados con diferentes cepas de *Azospirillum sp* se ha visto un mayor efecto en el aumento de la altura de la planta y contenido de clorofila. En cultivos de soya (*Glycine max*) inoculados con productos bacterianos comerciales de *Azospirillum spp*, se ha visto un efecto en el aumento del número de vainas, biomasa radical, diámetro del tallo, altura de la planta. Resultados similares se han obtenido de cultivos de trigo (*Triticumaestivum L.*) inoculados con *Azospirillum brasilense*. En la madurez, las plantas inoculadas mostraron una mayor biomasa, rendimiento de grano y contenido de nitrógeno, que las no inoculadas y una mayor concentración de proteína de grano que las no inoculadas; de tal manera que A.

brasiliense aumentó el crecimiento de las plantas al estimular la absorción de nitrógeno por las raíces.

La inoculación de *Azospirillum* y *Glomus* ha resultado en interacción positiva para estimular el crecimiento vegetal. Diversos autores han encontrado efectos positivos de la simbiosis entre algunos cultivos perennes tales como cítricos (González-Chávez y Ferrera-Cerrato, 1996), papaya (Sánchez-Espíndola *et al.*, 1996), aguacate (Azcón-Aguilar *et al.*, 1992), y diversos cultivos anuales. (Aguirre Medina *et al.*, 2007). Según indicaron (Ezziymani *et al.*, 2005) las bacterias pertenecientes al género *Pseudomonas sp* poseen la propiedad de producir diferentes sustancias, cuyas principales ventajas son las de estimular la germinación de las semillas, acelerar el crecimiento de las plantas especialmente en sus primeros estadios, inducir la iniciación radicular e incrementar la formación de raíces y pelos radiculares. Las principales sustancias estimuladoras producidas son de tipo hormonal como auxinas, giberelinas y citoquininas, pero también producen sustancias de otro tipo como aminoácidos y promotores específicos del crecimiento. Por otro lado, a consecuencia del encarecimiento de los fertilizantes sintéticos, las escasas reservas naturales de algunos minerales, así como los grandes consumos energéticos para su producción, se ha promovido el uso de las alternativas biológicas, no solo como una necesidad en la producción agrícola, sino también en la agricultura científica de hoy en día y del futuro, sin afectar el ambiente además de una factibilidad económica (Barroso *et al.*, 2015)

En el cultivo de *Cannabis sp* donde se llevó a cabo la investigación no se evidenciaron diferencias significativas en las plantas evaluadas, ya que solo se realizó sobre una unidad experimental sin repeticiones sin embargo teniendo en cuenta a Scott *et al.* (2018). existen estudios limitados de bioprospección sobre la actividad antagónica de los endófitos microbianos

asociados con el cáñamo y la marihuana contra patógenos invasores y hongos micotoxigénicos contaminantes. Estos estudios utilizaron el fundamento de la bioprospección de que el cáñamo y la marihuana contienen compuestos medicinales que también podrían albergar endófitos microbianos competentes capaces de proporcionar beneficios para la salud de la planta huésped.

Como lo hace notar Taghinasab y Jabaji (2020) estudios realizados, aunque de alcance limitado, revelan la potencia de los endófitos en las plantas de cannabis, y sus aplicaciones son muy prometedoras no solo como agentes de control biológico contra los fitopatógenos conocidos y emergentes de las plantas de cannabis, sino también, como un recurso sostenible de bioactivos biológicamente activos y nuevos metabolitos secundarios. Estos metabolitos bioactivos son un sustituto ideal de los quimiopesticidas no solo para respaldar los niveles bajos de residuos de pesticidas en las flores de cannabis, sino también para adoptar la política de tolerancia cero de los residuos de pesticidas de conformidad con los organismos reguladores gubernamentales.

Grageda-Cabrera et al., (2015) plantean que las nuevas tecnologías deben estar enfocadas a mantener y preservar la sostenibilidad del sistema de producción mediante la explotación racional de los recursos naturales y la aplicación de medidas pertinentes para preservar el ambiente. En este sentido, la inoculación y el manejo agronómico de los microorganismos con propiedades biofertilizantes se constituyeron en tecnologías racionales y surgieron como prácticas innovadoras y promisorias para la actividad agrícola (Sánchez et al., 2011).

Empleando las palabras de Taghinasab y Jabaji., (2020) debido a las restricciones legales anteriores sobre la producción de marihuana y cáñamo, son pocos los ensayos de promoción del crecimiento que aplican microbiomas endógenos aislados de cáñamo y marihuana. Parece razonable plantear la hipótesis de que las bacterias y los hongos endófitos endógenos poseen la información genética para desencadenar una promoción drástica del crecimiento fenotípico y

aumentar positivamente los metabolitos secundarios del cannabis en sus respectivos huéspedes en comparación con los endófitos aislados de diferentes especies de plantas. Con la legalización de la marihuana en Canadá y otros países, se hacen posibles investigaciones intensivas sobre cómo las moléculas similares a las hormonas producidas por los endófitos influyen en la adaptación y el crecimiento de las plantas.

Conclusiones

- La adición de microorganismos utilizados en esta investigación no presentó interacción positiva con el sustrato inerte para aumentar las biomásas totales y de flor seca.
- La interacción microorganismos con sustrato de cultivo suelo, lograron aumentar las biomásas totales y de flor seca, respecto a los tratamientos que usaron sustrato inerte. Sin embargo, al interior de los tratamientos con sustrato de siembra suelo, el mayor rendimiento de biomásas se obtuvo con el tratamiento testigo, sugiriendo que tuvo mayor peso el medio de siembra que los productos con microorganismos utilizados.
- Las etapas fisiológicas no fueron alteradas por los tratamientos, por lo cual se desarrollaron con normalidad las plántulas.
- La curva de crecimiento evidencia que la interacción entre el sustrato de siembra suelo más productos con microorganismos, incrementaron la altura de la planta de *Cannabis sp.*

Referencias Bibliográficas

- Abril A (2003). ¿Son los microorganismos edáficos buenos indicadores de impacto productivo en los ecosistemas? *Ecología Austral* 13:195-204.
- Acosta, X., (2001). Agroecología del Cáñamo. La fertilidad de la Tierra: Revista de Agricultura ecológica, 2001. 1 – 19, 6.
- Aguirre-Medina, Juan F., Mendoza-López, Alexander, Cadena-Iñiguez, Jorge, & Avendaño-Arrazate, Carlos H. (2007). Efecto de la biofertilización en vivero del cacao (*Theobroma cacao* L) con *Azospirillum brasilense* Tarrand, Krieg et döbereiner y *Glomus intraradices* Schenk et Smith. *Interciencia*, 32(8), 541-546.
- Altieri MA. 1994. Biodiversity and pest management in agroecosystems. Haworth Press, New York, 185 p.
- Ángeles López, G. et al. (2014). Cannabis sativa L., una planta singular. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 45 (4).
- Atakan Z. Review. Cannabis, a complex plant: different compounds and different effects on individuals. *Ther Adv Psychopharmacol*. 2012; 6(2): 241-254.
- Barroso, F. L., Abad, M. M., Rodríguez, H. P. y Jerez, M. E. (2015). Aplicación de Fitomas-E y Ecomic® para la reducción del consumo de fertilizante mineral en la producción de posturas de cafeto. *Cultivos Tropicales*, 36(4), 158-167
- Ben-Shabat, S. (2006). New Cannabidiol Derivatives: Synthesis, Binding to Cannabinoid Receptor, and Evaluation of Their Antiinflammatory Activity. *Journal Medicinal Chemistry*, 49(3), 1113–1117.
- Boddey RM, Xavier D, Alves BJR, Urquiaga S. Brazilian agriculture: the transition to sustainability. *J Crop Produc* 2003;(9):593-621
- Busby, PE, Soman, C., Wagner, MR, Friesen, ML, Kremer, J., Bennett, A., et al. (2017). Prioridades de investigación para aprovechar los microbiomas vegetales en la agricultura sostenible. *PLoS Biol*. 15: e2001793. doi: 10.1371/journal.pbio.2001793
- Calero, H., A., Pérez, D., Y., Quintero, R., E., Olivera, V., D., Peña, C., K. (2019). Efecto de la aplicación asociada entre *Rhizobium leguminosarum* y microorganismos eficientes sobre

- la producción del frijol común. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. Vol. 20. No. 2, 2019, Julio -, pp. 295 – 308. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria.
- Cardona, A. (2019). Conozca los diferentes tipos de cultivos si quiere emprender en la industria Cannábica. Editorial La Republica, sección Agronegocios. <https://www.agronegocios.co/agricultura/conozca-los-diferentes-tipos-de-cultivos-si-quiere-emprender-en-la-industria-cannabica-2832528>
- Ciro, P & Villegas B (2009). Mis Buenas Prácticas Agrícolas. “Guía para agroempresarios”. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Corporación colombiana Internacional. Bogotá, D.C. Colombia, octubre 2009. <https://www.ica.gov.co/areas/agricola/servicios/inocuidad-agricola/capacitacion/cartillabpa.aspx>
- Comeau D, Balthazar C, Novinscak A, Bouhamdani N, Joly DL y Filion M (2021) Interacciones entre *Bacillus* Spp., *Pseudomonas* Spp. y *Cannabis sativa* promueven el crecimiento de las plantas. *Parte delantera. microbiol* _ 12:715758. doi: 10.3389/fmicb.2021.715758.
- Conant, RT, Walsh, RP, Walsh, M., Bell, CW y Wallenstein, MD (2017). Efectos de un bioestimulante microbiano, Mammoth PTM, sobre la producción de cogollos de *Cannabis sativa*. *J. Hortic.* 4, 2376–3354. doi: 10.4172/2376-0354.1000191.
- CORNARE (2011). Evaluación y Zonificación de riesgos por avenida torrencial, inundación y movimiento en masa y dimensionamiento de procesos erosivos en el municipio de El Carmen de Viboral. Convenio CORNARE – Gobernación de Antioquia N° 2011 – CF – 12 – 0051 y 217 – 2011. <https://www.cornare.gov.co/GestionRiesgo/EL-CARMEN/EL-CAMREN-DE-VIBORAL.pdf>
- CVN (2019). Esto es lo que viene en cuestión de Fertilizantes. <https://www.cvn.com.co/admincvn/fertilizantes/>
- Ezziyyani, M., Requena, M., Pérez-Sánchez, C., Candela, M. 2005. Efecto del sustrato y la temperatura en el control biológico de *Phytophthora capsici* en pimiento (*Capsicum annum* L.). *Anales de Biología* 27: 119- 126.
- Fassio, A., et al. (2013). Cáñamo (*Cannabis sativa* L.) Boletín de Divulgación N° 103. Editado por la Unidad de Comunicación y Transferencia de Tecnología de INIA.

- Foster R.C. 1998. Microenvironments of soil microorganisms. *Biology and Fertility of Soils*. 6: 189- 203.
- Flores-Sánchez I, Verpoorte R. Secondary metabolism in *Cannabis*. *Phytochem Rev*. 2008; 7(3): 615-639.
- Fraguas, A. (2014). Cannabinoides: una prometedora herramienta para el desarrollo de nuevas terapias. *Real Academia Nacional de Farmacia*, 80(3), 556.
- Grageda-Cabrera, O. A., Díaz-Franco, A., PeñaCabriales, J. J. y Vera-Nuñez, J. A. (2012). Impacto de los biofertilizantes en la agricultura. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(6), 1261- 1274.
- Grotenhermen, F. (2006). Los cannabinoides y el sistema endocannabinoide. *Cannabinoids*.
- Haro & Perales. (2015). Cinética de consumo de nutrientes y crecimiento de un bloom de microalgas en un fotobiorreactor High Rate Algae Pond (HRAP). *Tecnología y Ciencias del Agua*, vol. VI, núm. 3, mayo-junio, 2015, pp. 15-31 Instituto Mexicano de Tecnología del Agua
- Hernández, Y., García, O.A., Ramón, M. (2001). Utilización de algunos microorganismos del suelo en cultivos de interés para ganadería. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. Vol 35. No. 2, 2001, pp. 85 – 97.
- Lorenzo, P. y Leza, J. (2000). Utilidad terapéutica del Cannabis y derivados. *Adicciones*, 12(2), 149-168.
- Merino, P. (2000). Vieja historia del cannabis y recientes prácticas preventivas en Europa. *Adicciones*, 12(2), 275-280.
- MINSALUD (2017). Cannabis de Uso Medicinal. Ministerio de Salud y protección Social. <https://www.minsalud.gov.co/salud/MT/Paginas/cannabis-uso-medicinal.aspx>
- MINSALUD (2017). Decreto 613 de 2017. Ministerio de Salud y protección Social. https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Decreto%20613%20de%202017.pdf
- Montano Arias, N., et al. (2010). Los microorganismos: pequeños gigantes Elementos: Ciencia y cultura, Vol. 17, Núm. 77, febrero-abril, 2010, pp. 15-23 Benemérita Universidad Autónoma de Puebla México. <https://www.redalyc.org/pdf/294/29411989003.pdf>
- Mudigoudar, B. (2016). Medicamentos antiepilépticos emergentes para pacientes pediátricos con epilepsias graves. *Scielo*, 497-516

- Ortega Serrano (2017). Caracterización Del Aceite De Cannabidiol Utilizado Como Anticonvulsivante En El Centro Nacional De Epilepsia. Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Químicas. Pág. 92 (11 – 12)
- Pagnani, G.; Pellegrini, M.; Galieni, A.; D'Egidio, S.; Matteucci, F.; Ricci, A.; Stagnari, F.; Sergio, M.; Lo Sterzo, C.; Pisante, M.; et al. (2018). Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) en el cultivo de *Cannabis sativa* 'Finola': una estrategia de fertilización alternativa para mejorar el crecimiento y las características de calidad de las plantas. *Cultivo Ind. Pinchar*, 123 , 75–83.
- Pedraza, R., et al. (2010). Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas y la calidad de los suelos. Revisión. Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria (2010) 11(2), 155-164.
- Portafolio (2020). Tres Años del Cannabis medicinal en Colombia. Sección Tendencias. El Tiempo Casa Editorial. Septiembre 01 de 2020.
<https://www.portafolio.co/tendencias/tres-anos-del-cannabis-medicinal-en-colombia-544176>
- Portafolio (2020). Cannabis Medicinal, una oportunidad económica para Colombia. Sección Negocios. El Tiempo Casa Editorial. Enero 26 de 2020.
<https://www.portafolio.co/negocios/cannabis-medicinal-una-oportunidad-economica-para-colombia-537448>
- Ramírez, M. et al. (2019). La Industria del Cannabis Medicinal en Colombia. FEDESARROLLO, pág (61).
https://www.repository.fedesarrollo.org.co/bitstream/handle/11445/3823/Repore_2019_Ram%C3%ADrez.pdf?sequence=4&isAllowed=y
- Richardson AE, Barea JM, McNeill AM, Prigent-Combaret C. 2009. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant and Soil* 321:305-339.
- Scott, M.; Rani, M.; Samsatly, J.; Charron, J.-B.; Jabaji, S. (2018). Endophytes of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) cultivars: Identification of culturable bacteria and fungi in leaves, petioles, and seeds. *Can. J. Microbiol.*

- Schultz N, Morais RF, Silva JA, et al. Avaliação agrônômica de duas variedades de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas e adubadas com nitrogênio. *Pesq Agropec Bras* 2012;(47):261-268.
- Susanna Tchilibon. (2000). Synthesis of a Primary Metabolite of Cannabidiol. ACS Publications, 3301-3303
- Taghinasab, M. y Jabaji, S. (2020). Microbioma de cannabis y el papel de los endófitos en la modulación de la producción de metabolitos secundarios: una descripción general. *Microorganismos* , 8 (3), 355. MDPI AG.
<http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms8030355>
- Ucea Herrera., et al. (2020). Impacto de Azospirillum Brasilense, una Rizobacteria que estimula la producción del Ácido Indol-3-Acético como el mecanismo de mejora del crecimiento de las plantas en los cultivos agrícolas. *Revista bolivariana de Química* vol.37 no.1 La Paz abr.2020
- UNODC. (2010). Métodos recomendados para la identificación y el análisis del cannabis y los productos del cannabis. Manual Para Uso De Los Laboratorios Nacionales De Estupefacientes. Naciones Unidas, New York. 2010
- Vega J. (2018). Los Agroquímicos son un mercado que mueve cerca de US\$ 600 millones al año. Editorial La Republica Sección Agronegocios.
<https://www.agronegocios.co/agricultura/los-agroquimicos-son-un-mercado-que-mueve-cerca-de-600-millones-al-ano-2723848>
- Viera Arroyo, W. Rol de los microorganismos benéficos en la Agricultura Sustentable. *Journal of the Selva Andina Biosphere* v.8 n.2 La Paz Nov. 2020.
http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2308-38592020000200001&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Winston, ME; Hampton-Marcell, J.; Zarraindia, I.; Owens, SM; Moreau, CS; Gilbert, JA; Hartsel, J.; Kennedy, SJ; Gibbons, SM. (2014) Comprender la especificidad del cultivo y los determinantes del suelo del microbioma del cannabis. *Plos UNO* 2014