

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO**

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS
LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

PARA OBTENER EL GRADO DE LICENCIADA EN QUÍMICA
FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

**USO DE *Acrocalymma vagum* COMO
BIOFERTILIZANTE EN PLANTAS DE *Medicago
sativa* y *Capsicum* sp. EN SUELOS
ESTERILIZADOS Y NO ESTERILIZADOS.**

QUE PRESENTA LA ALUMNA

Ana Soler Estrada

Matrícula: 2143025809

ASESORES

**Dra. Martha Leyte Lugo (No. Económico 900035)
Catedrática Conacyt y Departamento Sistemas Biológicos
Dr Azaola Espinosa Alejandro Alberto (No. Económico 5616)
Departamento Sistemas Biológicos**

Ciudad de México.

Abril, 2022.

RESUMEN

Actualmente, la degradación de suelos es una problemática que se encuentra extendida a nivel mundial y que conlleva una disminución en la cantidad y calidad de alimentos que se producen. Es por esto que constantemente se buscan nuevas tecnologías y formas de aprovechamiento para la recuperación de estos suelos y el aumento en el rendimiento de cultivos. Una opción que se encuentra en constante investigación es el uso de biofertilizantes, los cuales están desarrollados con microorganismos específicos que ayudan a recuperar o evitar la degradación de los suelos. En este proyecto se observó el efecto del hongo endófito septado *Acrocalymma vagum* en la germinación y el crecimiento de plantas de pimiento y alfalfa en suelos estériles y no estériles. Tras el análisis se determinó que este hongo podría ser una opción viable para el desarrollo de biofertilizantes, específicamente en plantas de crecimiento lento como el pimiento.

PALABRAS CLAVE: *Acrocalymma vagum*, hongos endófitos septados, *Medicago sativa*, *Capsicum* sp., biofertilizantes.

ÍNDICE

RESUMEN	
1. MARCO INSTITUCIONAL	3
2. INTRODUCCIÓN	3
2.1. BIOFERTILIZANTES	4
2.2. HONGOS ENDÓFITOS SEPTADOS COMO BIOFERTILIZANTES	5
2.2.1. <i>Acrocalymma vagum</i>	6
2.3. Especies de plantas	6
2.3.1. ALFALFA (<i>Medicago sativa</i>)	6
2.3.1. PIMIENTO/MINI PIMIENTO (<i>Capsicum sp.</i>)	7
3. OBJETIVOS	7
3.1. OBJETIVO GENERAL	7
4. METODOLOGÍA	8
4.1 OBTENCIÓN DE LAS SEMILLAS	9
4.2. LAVADO DE SEMILLAS	9
4.3. OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DEL SUELO PARA LA SIEMBRA	9
4.3.1. ESTERILIZACIÓN DEL SUELO	9
4.3.2. INOCULACIÓN DE SUELO CON <i>A. vagum</i>	10
4.4. PRESENCIA DE <i>A. vagum</i> EN EL SUELO	10
4.5. SIEMBRA	11
4.5.1 Alfalfa (<i>Medicago sativa</i>):	11
4.5.2 Pimiento (<i>Capsicum sp.</i>):	11
4.6. SEGUIMIENTO DE LA GERMINACIÓN Y DESARROLLO DE LAS PLÁNTULAS:	12
4.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	12
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	13
5.1. ALFALFA:	13
5.2. PIMIENTO	17
6. RECOMENDACIONES	23
7. BIBLIOGRAFÍA	24

1. MARCO INSTITUCIONAL

Este servicio social se realizó en la modalidad de actividades relacionadas con la profesión dentro del proyecto “Identificación de bacterias bioestimulantes y de metabolitos promotores del crecimiento vegetal en suelos agrícolas” coordinado por el Dr. Alejandro Azaola Espinosa y la Dra. Martha Leyte Lugo del Laboratorio de Biotecnología dentro del Departamento de Sistemas Biológicos de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco.

2. INTRODUCCIÓN

La degradación del suelo es una problemática que afecta la estabilidad y sustentabilidad de la producción de alimentos y genera hambre y pobreza, la disminución de suelos productivos en nuestro planeta pone en peligro la seguridad alimentaria y nutricional de gran parte de la población mundial¹.

Nuestro país cuenta con una superficie de 200 millones de hectáreas de territorio, de las cuales, actualmente más de 142 millones se encuentran en procesos de degradación física, química y biológica, esta condición se refleja tanto en el cambio climático como en la severa y creciente escasez de agua y alimentos¹. Es por eso que necesitamos nuevas alternativas que nos permitan restaurar la productividad y minimizar los impactos de estos procesos.

De acuerdo con el glosario de la Sociedad Americana de la Ciencia del Suelo (1984), el suelo se define como aquel material mineral no consolidado que se encuentra en la superficie de la Tierra, que ha estado sometido a la influencia de factores genéticos y ambientales tales como material parental, clima, macro y microorganismos y topografía, los cuales actúan durante un determinado periodo². En estado natural está en un equilibrio dinámico con el ambiente y se encuentra lleno de macro y microfauna³.

El suelo juega un papel ambiental de suma importancia, ya que se considera como un reactor bio-físico-químico en donde se descompone y es reciclado el material de desecho², sin embargo, debido a diferentes factores, puede llegar a sufrir un desgaste que resulta en la alteración de muchas de sus características. La alteración de estas características da paso a una degradación del suelo, la cual se define como el cambio en la salud del mismo, y conlleva la disminución de la capacidad del ecosistema para producir bienes o prestar servicios para sus beneficiarios⁴.

Actualmente, el uso desmedido de fertilizantes químicos ha agotado la salud del suelo al hacerlo ecológicamente inhabitable para la microflora y microfauna. Ante esta problemática se han estudiado diversas alternativas, una de ellas consiste en el desarrollo de biofertilizantes, estos son productos que contienen una o más especies de microorganismos que poseen la capacidad de aumentar o mejorar la disponibilidad de los elementos de importancia nutrimental para las plantas, actuando a través de procesos biológicos tales como la fijación de nitrógeno, la solubilización de fosfato y la excreción de sustancias promotoras de crecimiento.

Este proyecto se llevó a cabo durante la cuarentena establecida a causa de la pandemia por SARS_Cov2, por lo cual se hicieron modificaciones para poder realizarlo en un ambiente externo a laboratorio, se optó por sembrar las semillas en macetas con tierra obtenida en Xochimilco. Se emplearon dos especies de plantas con diferentes tiempos de germinación y crecimiento para probar la utilidad de *Acrocalymma vagum* como biofertilizante.

2.1. BIOFERTILIZANTES

Un biofertilizante está compuesto básicamente de una o más especies de bacterias u hongos que mejoran el desempeño de las plantas al facilitar la absorción de nutrientes tales como nitrógeno y fósforo. El uso de los biofertilizantes tiene un impacto benéfico no sólo en el medio ambiente, sino también en términos económicos, ya que su costo promedio es significativamente menor al de los

fertilizantes químicos. Además, los biofertilizantes permiten mejoras en la productividad de un gran número de cultivos entre los que destacan el maíz, el café y la caña de azúcar. También son una herramienta para ayudar a recuperar suelos previamente contaminados⁵.

Dentro de la gran variedad de biofertilizantes que existen, los hongos endófitos septados oscuros han demostrado ser microorganismos aptos para su uso en diferentes tipos de suelos, contaminados o degradados.

2.2. HONGOS ENDÓFITOS SEPTADOS COMO BIOFERTILIZANTES

Los hongos endófitos septados oscuros (DSE por sus siglas en inglés) son un grupo diverso de hongos Ascomicetos con hifas septadas y pigmentadas oscuras, se encuentran frecuentemente asociados como colonizadores de las raíces de las plantas, facilitando su crecimiento y mejorando la producción de metabolitos secundarios.

Los hongos pertenecientes a dicho grupo son capaces de colonizar de forma efectiva las células corticales y las regiones intercelulares de las raíces de las plantas, creando una relación simbiótica entre los organismos. Cabe destacar que estos microorganismos han demostrado ser útiles para el desarrollo óptimo de plantas.

En específico, *Acrocalymma vagum* parece ser una especie prometedora para el desarrollo de biofertilizantes, ya que es un promotor de crecimiento de plantas y es capaz de mejorar su desarrollo al facilitar la absorción de elementos minerales, por lo que podría ayudar al crecimiento de las plantas y al mismo tiempo otorgar resistencia a microorganismos oportunistas, además de colaborar con la recuperación del suelo de cultivo degradado. También, se ha reportado que estos microorganismos asociados a la rizosfera (área del suelo donde se desarrollan las raíces) juegan un papel importante en la descomposición de materia orgánica y el

mantenimiento de nutrientes, lo cual tiene efectos benéficos en la adaptación de las plantas hospedero a diferentes condiciones. La inoculación con este tipo de microorganismos ha demostrado producir un incremento de la biomasa de las plantas, mejorar el sistema radicular y la absorción de nitrógeno y fósforo⁷.

2.2.1. *Acrocalymma vagum*

Sinónimos: *Rhizopycnis vagum* D. F. Farr, 1998

Clasificación:

Reino: Fungi

Filo: Ascomycota

Clase: Dothideomycetes

Orden: Pleosporales

Familia: Acrocalymmaceae

Género: *Acrocalymma*⁵.

Esta especie de hongo crece en agar PDA aproximadamente 15 días después a partir de la inoculación, e invade completamente el agar presentando micelio negro característico a los 30 días.

2.3. Especies de plantas

Las dos especies de plantas utilizadas para el proyecto fueron seleccionadas por su viabilidad de cultivo a pequeña escala y por la diferencia que existe entre sus tiempos de germinación.

2.3.1. ALFALFA (*Medicago sativa*)

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Fabales
Familia: Fabaceae
Género: *Medicago*
Especie: *Medicago sativa* L., 1753⁸

Las plantas de alfalfa tienen un tiempo de germinación en tierra de 24 horas aproximadamente, y pasan de plántula a planta, presentando las hojas secundarias aproximadamente a los 12 días.

2.3.1. PIMIENTO/MINI PIMIENTO (*Capsicum* sp.)

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Solanales
Familia: Solanaceae
Género: *Capsicum*
Especie: *Capsicum* sp.⁹

Las plantas de mini pimiento usadas en este proyecto tienen un tiempo de germinación de entre 10 a 12 días en tierra, y pasan de plántula a planta después de 25 días.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de *Acrocalymma vagum* en el crecimiento de plantas de pimiento y alfalfa.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Conocer el impacto de los microorganismos nativos del suelo en el crecimiento de plantas de alfalfa y pimiento.
- 2) Estudiar los efectos de la presencia o ausencia del hongo *Acrocalymma vagum* en el crecimiento de las plantas de pimiento y alfalfa.
- 3) Analizar la interacción entre los microorganismos nativos del suelo con *Acrocaymma vagum* y su relación con el desarrollo de plantas de alfalfa y pimiento.
- 4) Comparar el crecimiento de las plantas de alfalfa y de pimiento en los distintos grupos de suelo.

4. METODOLOGÍA

Para la realización de este trabajo se eligió *A. vagum* como posible biofertilizante, gracias a que posee una buena capacidad de crecimiento y desarrollo en el suelo, además es una excelente especie para investigar dada la falta de información disponible sobre esta especie.

Se utilizaron dos especies de plantas para probar la utilidad de *A. vagum* como biofertilizante, la alfalfa (*Medicago sativa*) por su aceptabilidad en el consumo animal, su rentabilidad y su productibilidad por unidad de superficie sembrada⁶ ; y el pimiento (*Capsicum* sp.) por su importancia alimenticia y económica, ya que es consumido directamente como verdura fresca o como condimento, se utiliza en la industria farmacéutica como medicamento, colorante y además tiene otros usos potenciales que se derivan de su contenido de capsaicina, antioxidantes, vitaminas y polifenoles. Otra razón para seleccionar estas dos especies como variantes experimentales fue la diferencia en sus tiempos de germinación y crecimiento.

4.1. OBTENCIÓN DE LAS SEMILLAS

Las semillas de *Medicago sativa* fueron facilitadas por el Laboratorio de Biotecnologías, y fueron almacenadas en frascos de vidrio aislados del sol.

Las semillas de *Capsicum* sp. fueron cosechadas de plantas de pimiento sembradas en Xochimilco, se secaron a la sombra y fueron almacenadas en frascos opacos de plástico en un lugar fresco y seco.

4.2. LAVADO DE SEMILLAS

El lavado de semillas se realizó con una solución de hipoclorito de sodio al 0.5-0.6% por 10 minutos con agitación manual, posteriormente se llevó a cabo el primer enjuague con agua destilada y un segundo lavado con etanol al 70%.

Para finalizar se realizó un segundo enjuague con agua destilada y se secaron las semillas en papel secante estéril¹⁰.

4.3. OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DEL SUELO PARA LA SIEMBRA

El suelo utilizado para el experimento fue obtenido de un terreno a las faldas del Cerro de la Santa Cruz del pueblo de Xochitepec, en Xochimilco.

Fue tamizado con una malla plástica para retirar la mayor cantidad de piedras y restos orgánicos (macroorganismos, hojas, ramas, etc).

4.3.1. ESTERILIZACIÓN DEL SUELO

Se colocó el suelo en un recipiente Pyrex® de 4.3 L de capacidad hasta llenar $\frac{3}{4}$ del recipiente y se metió al microondas a máxima potencia durante 5 minutos. Se tapó el recipiente al retirarlo del microondas y se esperó a que estuviera a temperatura ambiente para colocarlo en los recipientes de siembra.

4.3.2. INOCULACIÓN DE SUELO CON *A. vagum*

Para realizar la inoculación del suelo se trabajó con 5 cajas de Petri con *A. vagum* en agar papa-dextrosa sembradas previamente, las cuales fueron proporcionadas por el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana unidad Xochimilco

Para colocar el inóculo en las macetas se cortaron cilindros (5mm de diámetro) de agar papa-dextrosa con *A. vagum* utilizando una perforadora esterilizada, y se colocaron en el centro de la circunferencia de los recipientes utilizados, a pocos milímetros de la superficie del suelo, unos minutos antes de la siembra.

4.4. PRESENCIA DE *A. vagum* EN EL SUELO

Para confirmar la presencia del hongo en los grupos con inóculo, se realizó un cultivo en agar bacteriológico al 1.5% en placa 9 días después de la siembra y en gelatina de jitomate en placa a 40 días después de la siembra. Las muestras se tomaron directamente del suelo de todos los recipientes de siembra con la ayuda de un asa bacteriológica estéril. Después de 15 días, las placas se observaron en microscopio a 10x.

4.4.1 ELABORACIÓN DE MEDIO DE CULTIVO DE GELATINA DE JITOMATE:

Se utilizó un jitomate rojo, agua, grenetina, sal y azúcar. Se asó y peló el jitomate, se molió en licuadora con 100 ml de agua, se agregó ¼ de cucharadita de sal y ½ cucharadita de azúcar. Por separado se hidrataron 4g de grenetina en 50 ml de agua, se calentó para disolver.

Se calentó el molido de jitomate y se agregó la grenetina previamente hidratada, se mezcló bien y se vació en cajas de Petri estériles, estas se colocaron en refrigeración para que cuajaran.

4.5. SIEMBRA

DISEÑO EXPERIMENTAL

4.5.1 ALFALFA (Medicago sativa): La siembra se realizó en botes plásticos transparentes de medio litro con tierra a 2/3 de altura, divididos en cuatro grupos de estudio, cada grupo conto con 3 botes de plástico donde se sembraron 6 semillas en cada maceta para tener un total de 72 semillas (Figura 1).

4.5.2 PIMIENTO (Capsicum sp.): La siembra se realizó en botes plásticos opacos de un litro con tierra a 2/3 de altura. Divididos en cuatro grupos de estudio, cada grupo conto con 6 botes de plástico donde se sembraron 3 semillas en cada maceta para tener un total de 72 semillas. Todas las plantas se mantuvieron bajo techo y con luz natural para protegerlas de los cambios extremos de condiciones (Figura 1).

GRUPOS DE ESTUDIO:

- Grupo control suelo: Suelo + semilla (alfalfa/pimiento)
- Grupo control suelo esterilizado: Suelo estéril + semilla (alfalfa/pimiento)
- Grupo *A. vagum* suelo: Suelo + semilla (alfalfa/pimiento) + inóculo *A. vagum*
- Grupo *A. vagum* suelo esterilizado: Suelo estéril + semilla (alfalfa/pimiento) + inóculo *A. vagum*

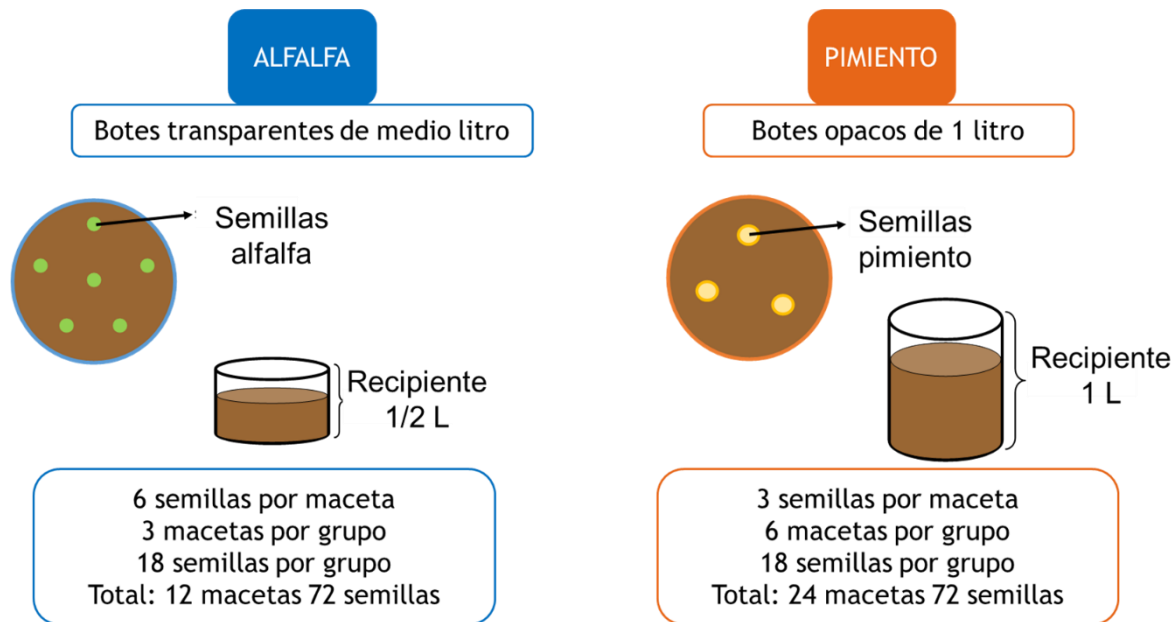


Figura 1. Distribución de las semillas de *M. sativa* y *Capsicum sp.*

4.6. SEGUIMIENTO DE LA GERMINACIÓN Y DESARROLLO DE LAS PLÁNTULAS:

Para las semillas de *M. sativa*, el monitoreo se realizó registrando el crecimiento (altura de cada planta con una regla) cada 12 horas, todos los datos se ordenaron en una hoja de cálculo Excel para sus posteriores análisis

Para las semillas de *Capsicum sp.* el monitoreo se realizó registrando el crecimiento (altura de cada planta con una regla) cada 24 horas, todos los datos se ordenaron en una hoja de cálculo Excel para sus posteriores análisis.

4.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los resultados fueron almacenados en hojas de cálculo de Microsoft Office Excel® 2020 para su análisis estadístico en IBM_SPSS.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. ALFALFA:

De acuerdo a los resultados obtenidos podemos notar un comportamiento similar entre los grupos de tierra no estéril, tanto con inóculo como sin inóculo, mientras que los grupos de tierra estéril se mantuvieron con una menor altura. Aun cuando no existe una diferencia estadísticamente significativa se puede percibir una tendencia de mayor crecimiento en los grupos de tierra no estéril, siendo el grupo de *A. Vagum* en tierra no estéril el que obtuvo una mayor longitud de plantas de alfalfa, esto puede deberse a la presencia de otros microorganismos en la tierra que favorecen el desarrollo de las plantas (Figura 2).

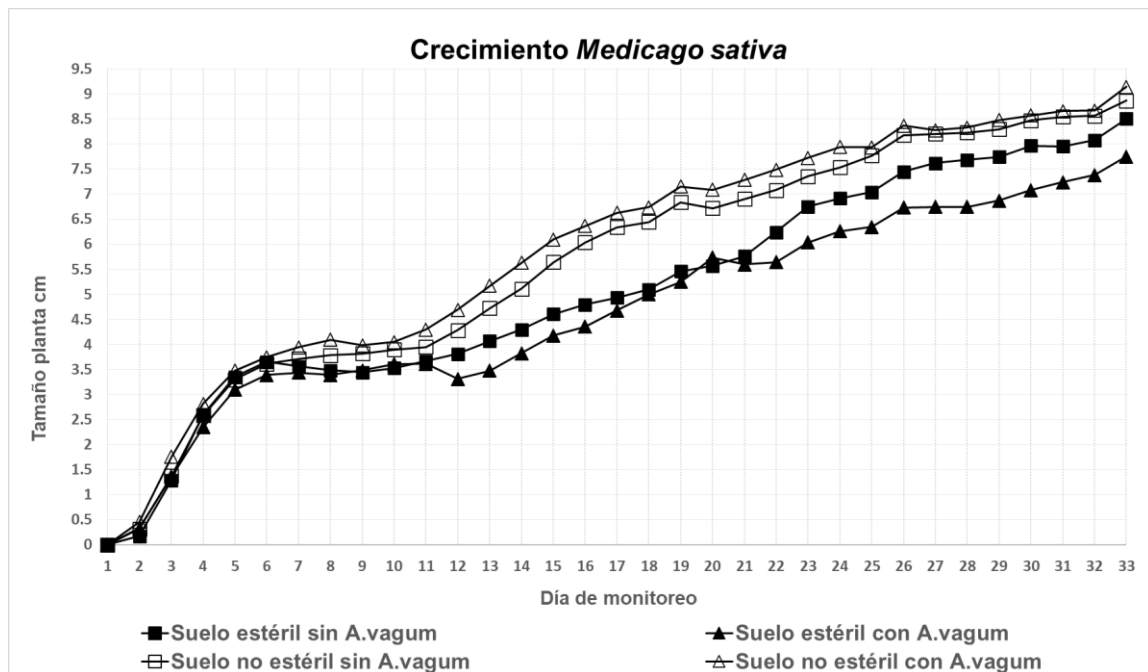


Figura 2 Seguimiento del crecimiento diario del modelo experimental de *M. sativa* con y sin inóculo de *A. vagum*

Se obtuvo el porcentaje de germinación, los resultados muestran que no hay diferencia por la presencia o ausencia de microorganismos nativos o por *A. vagum*. (Tabla 1)

Tabla 1: porcentaje de germinación de semillas de alfalfa	
Alfalfa suelo no estéril sin inóculo	77.77
Alfalfa suelo no estéril con inóculo de <i>A. vagum</i>	77.77
Alfalfa suelo no estéril sin inóculo	77.77
Alfalfa suelo estéril con inóculo de <i>A. vagum</i>	72.22

Para determinar la significancia de la presencia o ausencia del hongo estudiado en el crecimiento de plantas de *M. sativa* se realizó un análisis no paramétrico Kruskal-Wallis de una vía. De acuerdo a los resultados obtenidos de este análisis no hay diferencias significativas en la longitud de las plantas de alfalfa entre los grupos estudiados, se consideró como variable dependiente la longitud de las plantas en el último día de monitoreo y se encontró que la diferencia entre las medias entre los diferentes grupos no son suficientemente grandes para descartar que se deba a una variabilidad de muestra aleatoria, por lo que se considera que no hay diferencia estadísticamente significativa con un valor de P de 0.294. (tabla 2)

Tabla 2: Longitud de plantas de alfalfa después de 33 días de monitoreo			
Grupo	N	Media	Media +/- Desv. Esta.
Suelo no estéril sin inóculo	18	8.2	8.2 +/- 4.10
Suelo no estéril con inóculo	18	8.95	8.95 +/- 4.10
Suelo estéril sin inóculo	18	8.6	8.6 +/- 4.48
Suelo estéril con inóculo	18	6.55	6.55 +/- 4.35

En cuanto al desarrollo de las raíces de *M. sativa*, aun cuando no se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa, sí es perceptible que la presencia de microorganismos es de suma importancia para el desarrollo de las raíces de esta planta, ya que el grupo que de tierra estéril sin *A.vagum* representado en negro en la siguiente gráfica, obtuvo la menor longitud de raíces (Figura 3).

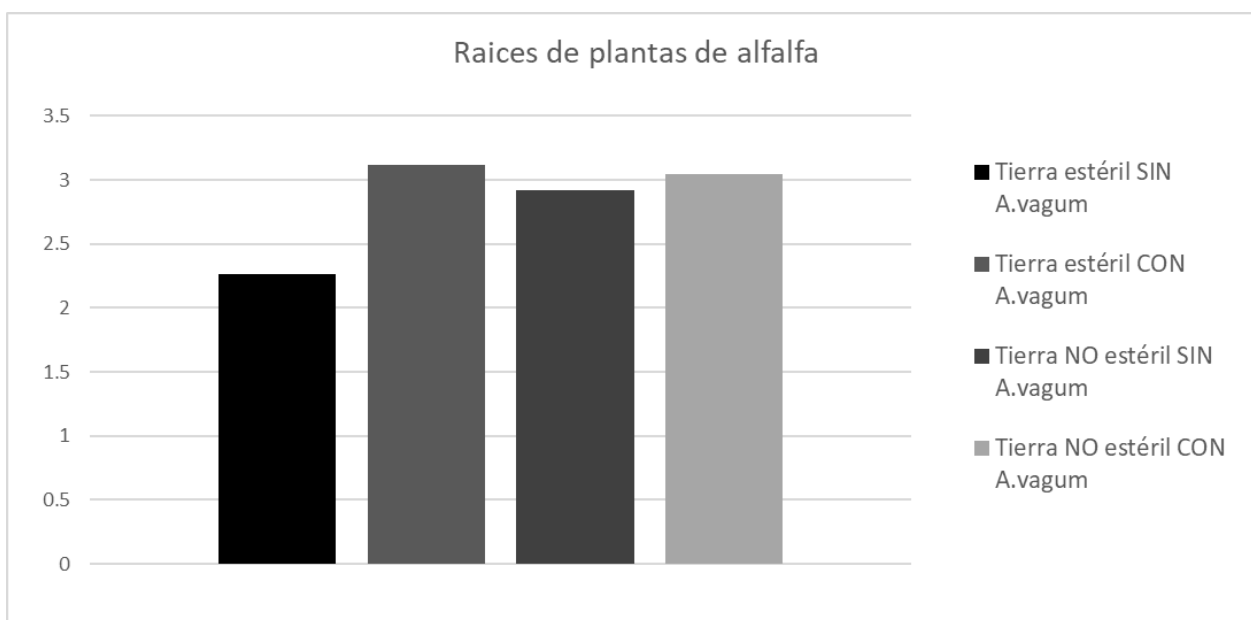


Figura 3. Comparación del desarrollo de raíces en plantas de alfalfa en los grupos estudiados.

Para determinar la significancia de la presencia o ausencia del hongo estudiado en el desarrollo de plantas de alfalfa se realizó un análisis no paramétrico Kruskal-Wallis de una vía, de acuerdo a los resultados obtenidos de este análisis no hay diferencias significativas en la longitud de las plantas de alfalfa entre los grupos estudiados, se consideró como variable dependiente tamaño de las raíces último día de monitoreo y se encontró que la diferencia entre las medias entre los diferentes grupos no son suficientemente grandes para descartar que se deba a una variabilidad de muestra aleatoria, por lo que se considera que no hay diferencia estadísticamente significativa con un valor de P de 0.456. (Tabla 3)

Tabla 3: Longitud de raíces de plantas de alfalfa después de 33 días de monitoreo			
Grupo	N	Media	Media +/- Desv. Esta.
Suelo no estéril sin inóculo	18	2.5	2.5 +/- 1.45
Suelo no estéril con inóculo	18	2.15	2.15 +/- 1.78
Suelo estéril sin inóculo	18	1.25	1.25 +/- 1.44
Suelo estéril con inóculo	18	2.1	2.1 +/- 2.06

En cuanto al desarrollo de las plantas, es decir el paso de plántula a planta identificado por la presencia de hojas secundarias, no resulto afectado por las variables estudiadas.

Al día 33 de monitoreo las plantas de alfalfa fueron retiradas de la tierra y posteriormente prensadas para su conservación, se midieron las plantas completas, sus raíces y la porción de tallo que quedó bajo tierra (Tabla 4).

Tabla 4: medidas de plantas de alfalfa			
Grupo	completa	raiz	tallo en tierra
Suelo no estéril sin inóculo	10.86	2.26	0.77
Suelo no estéril con inóculo	11.17	3.12	0.86
Suelo estéril sin inóculo	11.76	2.92	0.47
Suelo estéril con inóculo	12.04	3.04	0.66

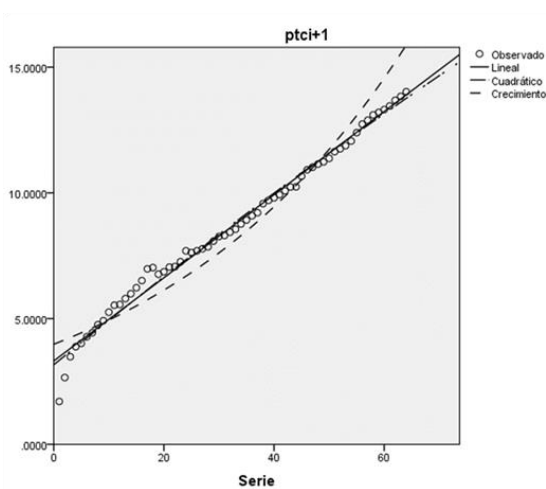
Tras el análisis de los resultados podemos concluir que, aunque la alfalfa no mostró una diferencia significativa que justificara un análisis estadístico más profundo, se pueden notar tendencias que incentivan a realizar más estudios sobre el uso de *A. vagum* como biofertilizante.

5.2. PIMIENTO

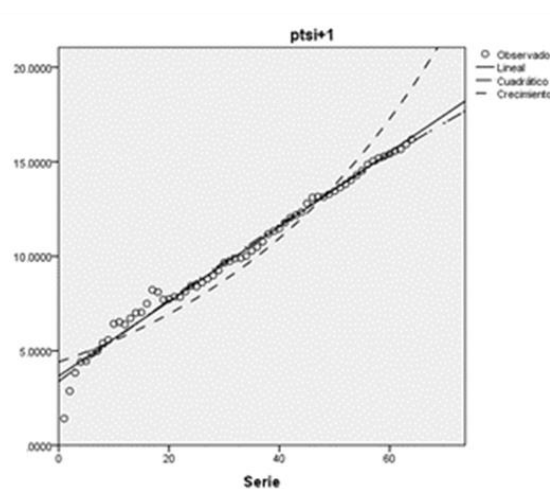
El monitoreo del crecimiento se realizó por 64 días, en los que se realizaron fotografías y se midió la altura de cada planta con ayuda de una cinta métrica.

Se realizó un análisis no paramétrico de crecimiento dentro de cada grupo para determinar la linealidad del crecimiento (PDFS) y si se adaptaba a una curva de crecimiento estándar, para esto se utilizó un modelo KS, en el cual se demostró la linealidad de crecimiento y se determinó que siguen una curva de crecimiento hipotética (Figura 4).

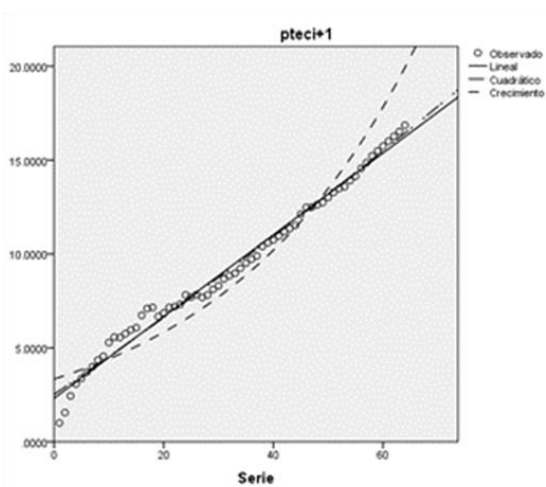
Pimiento tierra con inóculo (ptci+1)



Pimiento tierra sin inóculo (ptsi+1)



Pimiento tierra estéril con inóculo (pteci+1)



Pimiento tierra estéril sin inóculo (ptesi+1)

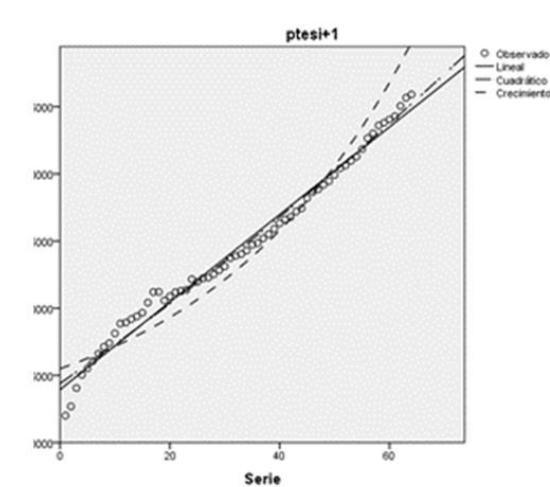


Figura 4. Resultados de análisis estadístico del crecimiento de las plantas de pimiento

De acuerdo a los resultados obtenidos podemos notar que durante los primeros quince días de monitoreo el grupo de tierra estéril sin *A. vagum* tuvo la menor altura, mientras que el grupo de tierra no estéril con *A. vagum* fue el grupo con mayor altura. También se puede notar un comportamiento similar en cuanto al crecimiento del día quince al día 43 de monitoreo, los monitoreos posteriores muestran un incremento notable en la altura de las plantas del grupo de tierra estéril con inóculo, siendo las que obtuvieron una mayor altura, y una disminución en el ritmo de crecimiento de las plantas pertenecientes al grupo de tierra no estéril sin inóculo, hasta el día 53, en el cual las plantas de los grupos de tierra no estériles, tanto con inóculo como sin inóculo redujeron el ritmo de crecimiento y el grupo de tierra estéril sin inóculo lo aumentó (Figura 5).

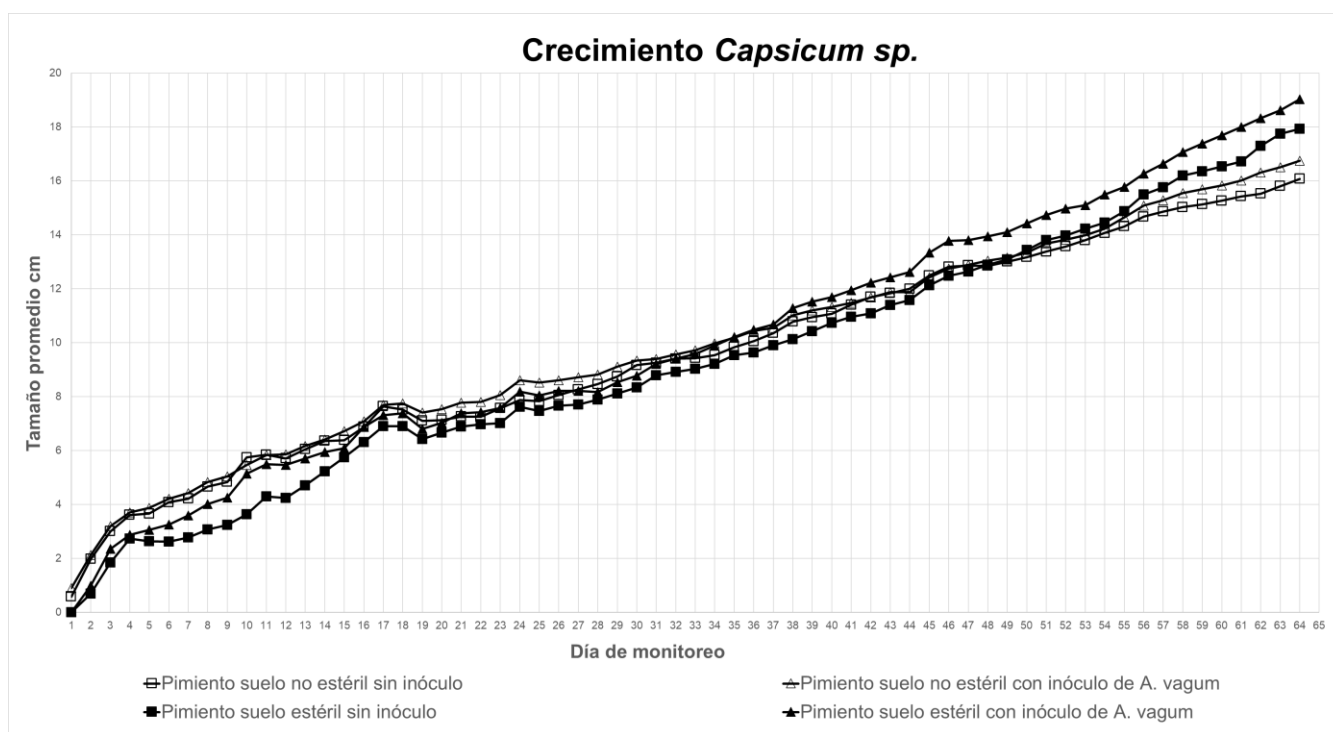


Figura 5 Seguimiento del crecimiento diario del modelo experimentales de *Capsicum sp* con y sin inóculo de *A. vagum*

En el último día de monitoreo (día 64) los grupos de tierra estéril presentaron las mayores alturas, mientras que en los grupos de tierra no estéril se registraron las menores alturas. En el caso del pimiento, el inóculo de *A. Vagum* tuvo efecto cuando no había microbiota nativa presente en la tierra. En la presencia de microbiota nativa, el crecimiento de las plantas fue incluso menor que en el grupo de tierra estéril sin inóculo, lo cual nos indica que la microbiota nativa presente en el suelo utilizado para esta siembra afectó el desarrollo de la planta de pimiento a partir del día 53, esto puede deberse a la competencia entre microorganismos nativos y *A. vagum*.

En cuanto al porcentaje de germinación, se puede notar una variación entre los grupos, siendo el grupo de tierra no estéril sin inóculo el que obtuvo un mayor porcentaje (94.44%) y el grupo de tierra no estéril con inóculo el menor porcentaje (77.77%), los grupos de tierra estéril se mantuvieron entre estos dos porcentajes con 83.33% el grupo de tierra estéril con inóculo y 88.88% el grupo de tierra estéril sin inóculo. Esto nos dice que la presencia de *A. vagum* influye en el porcentaje de semillas que germinan en el caso del pimiento y puede deberse a que, al ser una semilla de germinación lenta, en comparación con la alfalfa, el hongo afecta algunas semillas y les impide germinar. (Tabla 5)

Tabla 5: porcentaje de germinación de semillas de pimiento	
Pimiento suelo no estéril sin inóculo	94.44444
Pimiento suelo no estéril con inóculo de <i>A. vagum</i>	77.77778
Pimiento suelo estéril sin inóculo	88.88889
Pimiento suelo estéril con inóculo de <i>A. vagum</i>	83.33333

Para determinar la significancia de la presencia o ausencia del hongo estudiado en el crecimiento de plantas de pimiento se realizó un análisis no paramétrico Kruskal-Wallis de una vía. De acuerdo a los resultados obtenidos de este análisis si hay diferencias significativas en la longitud de las plantas de pimiento entre los grupos estudiados. Se consideró como variable dependiente la longitud de las plantas en el último día de monitoreo y se encontró que la diferencia entre las

medias entre los diferentes grupos estudiados es mayor de lo que se esperaría, por lo que se considera que hay diferencia estadísticamente significativa con un valor de P de 0.046. (Tabla 6)

Tabla 6: Longitud de plantas de pimiento después de 64 días de monitoreo			
Grupo	N	Media	Media +/- Desv. Esta.
Suelo no estéril sin inóculo	18	15.95	15.95 +/- 3.93
Suelo no estéril con inóculo	18	17.1	17.1 +/- 7.57
Suelo estéril sin inóculo	18	16.15	16.15 +/- 8.86
Suelo estéril con inóculo	18	18.75	18.75 +/- 7.47

En cuanto al desarrollo de las plantas, es decir el paso de plántula a planta, este no resultó afectado por las variables estudiadas.

De acuerdo con los datos obtenidos en este estudio se puede considerar que el hongo *A. vagum* es un buen candidato para el desarrollo de biofertilizantes ya que favoreció el crecimiento de las plantas de pimiento. Se debe tomar en cuenta que el tiempo de crecimiento que requiere esta especie de hongo es de aproximadamente 30 días en medio PDA. En el caso de plantas de crecimiento lento, como el pimiento, la inoculación puede realizarse al mismo tiempo que la siembra, ya que el tiempo de latencia de la semilla permite que el hongo se desarrolle en suelos. En el caso de las plantas de crecimiento rápido, es decir, menor a 30 días, como el caso de la alfalfa se debería realizar la inoculación del suelo antes de la siembra con el objetivo de permitir que el hongo crezca en el medio de siembra.

En cuanto a la interferencia entre microorganismos nativos y *A. vagum* en suelos, no se considera que exista una interferencia significativa, cabe mencionar que la microbiota en el suelo, sin importar si es nativa o no, es de importancia en el desarrollo de plantas.

La inoculación de medios de gelatina de jitomate mostró la presencia del hongo de interés en los grupos con *A. vagum* de pimiento y alfalfa, este análisis se realizó a simple vista por presencia de micelio negro característico de los hongos endófitos septados oscuros (Figuras 6 y 7).

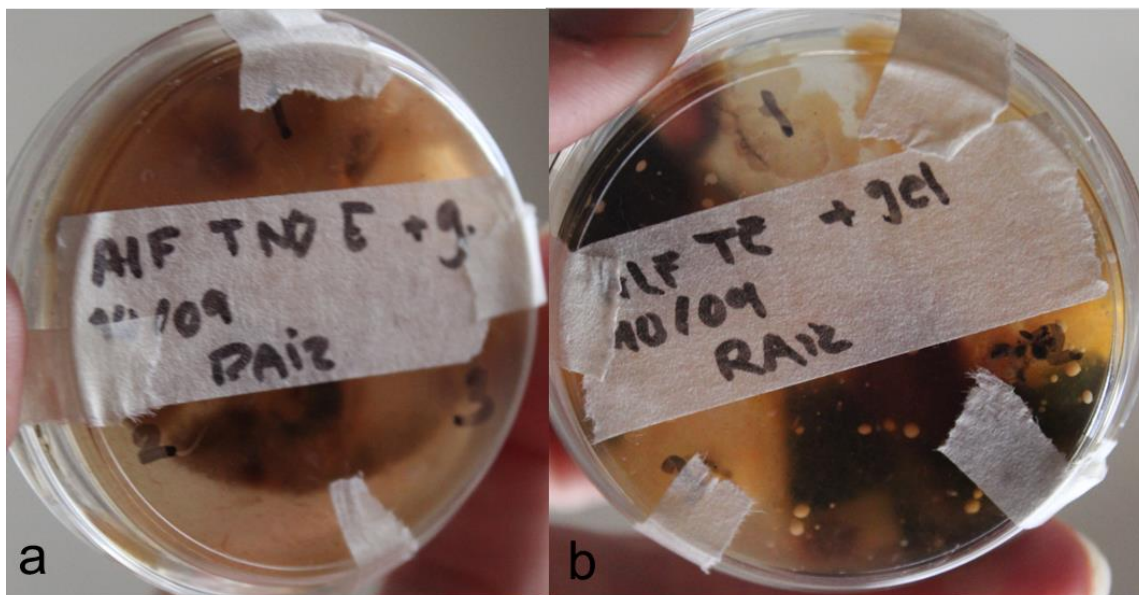


Figura 6. Placas de gelatina de jitomate con inóculo de tierra de grupos a) *M. sativa* tierra no estéril con *A. vagum* y b) *M. sativa* tierra estéril con *A. vagum*

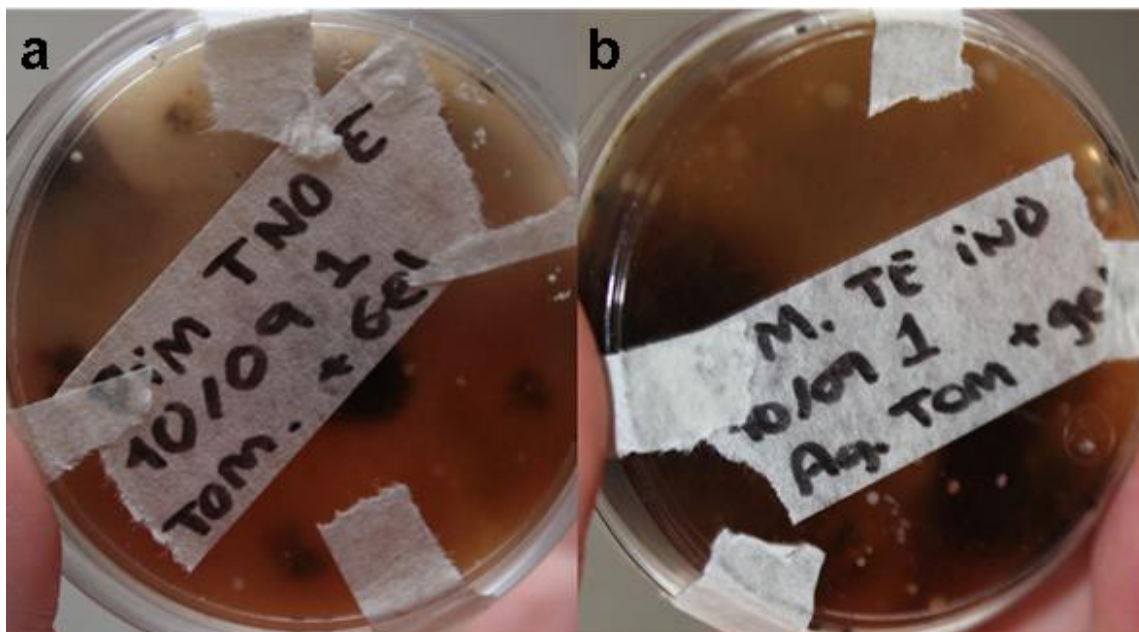


Figura 7 Placas de gelatina de jitomate con inóculo de grupos a. pimiento tierra no estéril con *A. vagum* y b. pimiento tierra estéril con *A. vagum*

En la siembra de muestras de suelo de los grupos de tierra estéril de alfalfa y pimienta en agar bacteriológico, no se pudo percibir el crecimiento del hongo a simple vista. El micelio sí fue perceptible a simple vista en los cultivos de los grupos de tierra no estéril. En el caso de estos dos grupos con micelio visible dentro de agar se realizó un análisis con microscopio a 10 X para observar el micelio de forma más clara.

Para confirmar que se trataba del hongo de interés, se realizó una comparación microscópica con una placa de agar bacteriológico con inóculo previamente sembrada en laboratorio. Para poder realizar la comparación se esperó a que se secase el medio y se observó con microscopio a 10 X (Figura 8).

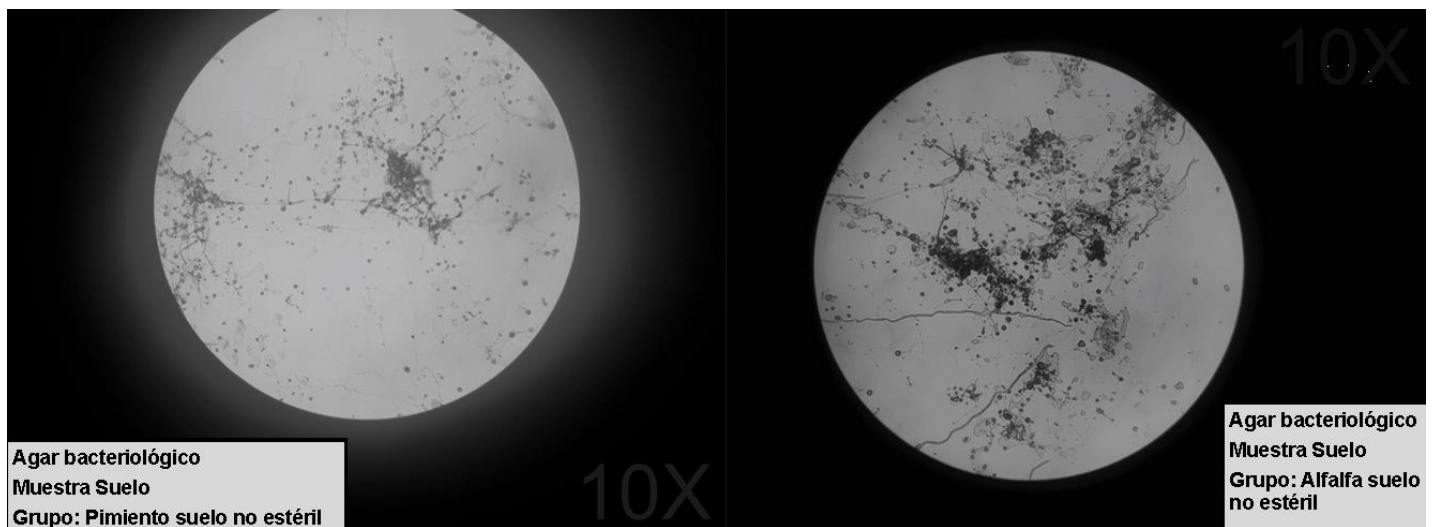


Figura 8. Vista microscopio 10X de muestras en placas de agar bacteriológico de *A. vagum* de grupos de tierra no estéril con inóculo en cultivo de pimienta (izquierda) y alfalfa (derecha)

De este trabajo se puede concluir que el hongo *Acrocalymma vagum* tiene la capacidad de modificar el crecimiento y desarrollo de las plantas de pimienta cuando es colocado como inóculo en suelo durante a la siembra, por lo que puede considerarse un buen candidato para el desarrollo de un biofertilizante enfocado en especies con tiempo de germinación lento. Mientras que en el caso de especies de

germinación rápida, como la alfalfa, se requiere una inoculación previa del suelo para comprobar la viabilidad de este hongo como biofertilizante.

6. RECOMENDACIONES

Este proyecto se desarrolló en casa a causa de la cuarentena provocada por la pandemia de SARS_Cov2 2020.

Se necesitan realizar más estudios sobre el crecimiento de *A. vagum* en suelos, así como del tiempo adecuado de inoculación del medio de siembra para mejorar la utilidad de esta especie de hongo como biofertilizante. También se requieren más experimentos con distintas especies de plantas que presenten diferentes tipos de semillas y diversos tiempos de germinación para poder asegurar que este hongo tiene un efecto benéfico en el crecimiento de las plantas.

Se recomienda realizar este tipo de proyectos con material de laboratorio, sobre todo en la elaboración de placas de cultivo, ya que no es posible alcanzar condiciones estériles en casa y esto complica mucho la identificación del hongo.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Moncada, J. Anaya, M. Ortiz, C. Sánchez, P. Chacón, J., 2013. Suelo, protejamos el suelo que nos da vida. México. Colegio de Postgraduados. Disponible en: <http://www.redinnovagro.in/documentosinnov/suelos.pdf>
2. Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC). 2004. El Suelo. Disponible en: <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/libros/448/9.pdf>
3. Espinosa, M. Andrade, E. Rivera, P. y Romero, M. A., 2011. Degradación de suelos por actividades antrópicas en el norte de Tamaulipas, México. Papeles de geografía, no. 53.
4. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO)., 2020. Degradación del Suelo. Disponible en: <http://www.fao.org/soils-portal/soil-degradation-restoration/es/>
5. Kirk, P. 2020. Species Fungorum (version Oct 2017). Species 2000 & ITIS Catalogue of Life. Disponible en: <http://www.catalogueoflife.org/col/details-species/id/06ead958e82911afd61748dfc21792cf>
6. Azucena del Rocío, D. (2020), Factores implicados en la calidad del forraje de alfalfa: *Medicago sativa*, consultado el 21 de octubre de 2021 <https://repositorioinstitucional.buap.mx/handle/20.500.12371/11222>
7. He, C. Wang, W. & Hou, J. 2019. Characterization of Dark Septate Endophytic Fungi and Improve the Performance of Liquorice Under Organic Residue Treatment. *Frontiers in microbiology*, Vol 10. 1364.
8. Sistema de información de organismos vivos modificados, Proyecto GEF-CIBIOGEM de bioseguridad, CONABIO. Consultado el 13 de noviembre de 2021. http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/bioseguridad/pdf/21893_sg7.pdf
9. CONABIO, Solanaceae *Capsicum annuum* L. (n.d.). consultada el 13 de noviembre de 2021. <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/solanaceae/capsicum-annuum/fichas/ficha.htm#:~:text=Categor%C3%ADas%20taxon%C3%B3micas%20superiores,%3A%20Asteridae%3B%20Orden%3A%20Solanales.>
10. Yaish, M. W., Sunkar, R., Zheng, Y., Ji, B., Al-Yahyai, R., & Farooq, S. A. (2015). A genome-wide identification of the miRNAome in response to salinity

stress in date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Frontiers in plant science*, 6, 946.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00946>



Dr Azaola Espinosa Alejandro Alberto
(No. Económico 5616)
Departamento Sistemas Biológicos



Dra. Martha Leyte Lugo
(No. Económico 900035)
Catedrática Conacyt y Departamento
Sistemas Biológicos

