



**EDUCACIÓN**  
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO  
NACIONAL DE MÉXICO®

**TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO**  
**INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CONKAL**

**BIÓSOLIDO CON *Glomus intraradices* EN *Catharanthus roseus***

**TITULACIÓN INTEGRAL - TESIS**

Que presenta:

**Cristina Chacha Mendoza**

Como requisito parcial para obtener el grado de:

**Ingeniera en Agronomía**

Director de tesis:

**Dr. Eduardo Villanueva Couoh**

Conkal, Yucatán, México

Mayo, 2025



**TecNM**



La presente Tesis fue realizada por Cristina Chacha Mendoza de la carrera de Ingeniería en Agronomía con Orientación en Horticultura Tropical Sustentable y con el número de control 17800043, con el título " Biósolido con *Glomus intraradices* en *Catharanthus roseus* ", la cual fue dirigida asesorada y revisada por el comité que fue asignado en su oportunidad y cuyos integrantes firman su cometimiento para su consentimiento para que este trabajo sea presentado como requisito parcial para la titulación, de acuerdo al Proceso de Titulación Integral y al Manual de Lineamientos Académicos-Administrativos del Tecnológico Nacional de México.

Director: \_\_\_\_\_

Dr. Eduardo Villanueva Couch

Asesor: \_\_\_\_\_

Ing. Geovanny Ayora Ricalde

Revisor \_\_\_\_\_

Dr. Carlos Juan Alvarado

## **DEDICATORIAS**

A mi madre Erminia y a mi padre Celestino por brindarme la oportunidad de seguir estudiando, enseñarme a ser una persona perseverante y responsable, por todos los sacrificios que han hecho hasta el día de hoy, para el día de mañana saber defenderme ante las circunstancias de la vida.

A mi hermana Lucero Chacha Mendoza por su apoyo y amistad incondicional.

A mi familia materna y paterna, por su ayuda y consejos que me han brindado.

A mi familia y amigos que ya no están, pero que me motivaron a seguir adelante.

## AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme solidez ante las adversidades de la vida, por poner a las personas indicadas y guiarme por el mejor camino.

A mi familia, a mi madre por su amor incondicional, escucharme, comprenderme y auxiliarme; a mi padre por todo lo que hace día a día por mí y hermana, por preocuparse y apoyarme; a mi hermana Lucero, por enseñarme a tener paciencia y por cocinarme en esos momentos de angustia.

A mis mascotas Simba, Pinkie, Gummy y Chispita, son parte de mi motivación para poder finalizar mis estudios; y a la niña mi gran compañera canina en Conkal.

A los asesores y profesores; el Dr. Eduardo Villanueva C. por tenerme mucha tolerancia, aconsejarme, brindarme conocimientos y por la motivación a seguir preparándome académicamente; al Ing. Geovany Ayora por la paciencia, sus recomendaciones, consejos y asesorías de mi trabajo; al Dr. Leonardo Pinzón por su paciencia, tiempo y mostrarme nuevos temas; al Dr. Jairo Cristóbal por aceptar prestarme los equipos del laboratorio y al Dr. Carlos Juan Alvarado L. por enseñarme el maravilloso mundo de las micorrizas y cooperación de conocimiento y equipos durante mi trabajo.

A mi amiga María Inés Rodríguez Díaz por transmitir su conocimiento y paciencia para explicarme temas académicos, por su amistad, compañía y cariño, por ser mi compañera y como una hermana durante la carrera.

A mi amigo Gonzalo Zapata por ser un buen amigo y ayudarme en este proceso.

A mis compañeros y conocidos, Daniel G. Ferreyro E. por su paciencia, perseverancia y amistad que me brindo durante 6 semestres; Daniel I. Bacab C. por ser un buen compañero durante los 3 últimos semestres, al compañero Gabriel Olvera A. por su ayuda para poder saber más sobre la estadística, al compañero Rodrigo Cauich por la

paciencia y blindaje de conocimiento de micorrizas, al compañero Gerardo Pat por compartir sus observaciones de HM, a los compañeros Diego y Alejandro por la orientación en el análisis de nutrientes.

Se le agradece a la empresa Grupo Porcicola Mexicano por el apoyo en la aportación del biosólido para el experimento y por estar pendientes al inicio de este proyecto.

## RESUMEN (Español e Inglés)

Los fertilizantes son importantes ya que aportan uno o diversos nutrientes indispensables a la planta y así obtener un buen desarrollo vegetativo. En el estado de Yucatán se encuentran un gran número de granjas porcícolas que producen toneladas de excretas de cerdo; la empresa Comercializadora Porcicola Mexicana S.A. de C.V. busco darles un segundo uso a estas excretas y creó el biosólido, que contiene cierta cantidad de nutrientes que sirve para mejorar la fertilidad del suelo y la nutrición de las plantas.

El objetivo del trabajo fue determinar la mejor mezcla de biosólido inoculado con micorriza en *Catharanthus roseus* para la producción en maceta, se evaluaron los efectos agronómicos, fisiológicos y se determinaron concentraciones de macro y micronutrientes de las diferentes mezclas, así como la presencia y colonización de micorrizas.

El trabajo se realizó en el Tecnológico Nacional de Mexico Campus Conkal, utilizando un diseño experimental completamente al azar, con 3 tratamientos de biosólido en porcentajes de 25 %, 35 % y 45 % mezclados con micorriza (*Glomus intraradices*), un testigo experimental con solución de Steiner a 100 % y un testigo.

Los resultados mostraron que el testigo experimental (Steiner) mostro una planta con mejor productividad y desarrollo, y los tratamientos compuestos de biosólido con micorriza, en ciertas variables no mostraron diferencias significativas, sin embargo, el que destaco fue el 25 % obteniendo mejores resultados en diámetro, conductancia estomática, materia seca, área foliar, volumen de raíz y colonización de micorrizas, por lo que el biosólido generado por la empresa se puede aprovechar en plantas ornamentales en concentraciones menores al 45 % inoculado con micorrizas, ya que no representa riesgos significativos para la producción.

*Palabras claves: Yucatán, fertilizantes, biosólido, micorrizas, Catharanthus roseus.*

## SUMMARY

Fertilizers are important because they provide one or several essential nutrients to the plant and thus obtain a good vegetative development. In the state of Yucatan there are a large number of pig farms that produce tons of pig excreta; the company Comercializadora Porcicola Mexicana S.A. de C.V. sought to give these excreta a second use and created the biosolid, which contains a certain amount of nutrients that serve to improve soil fertility and plant nutrition.

The objective of the work was to determine the best mixture of biosolids inoculated with mycorrhizae on *Catharanthus roseus* for pot production. The agronomic and physiological effects were evaluated and the macro and micronutrient concentrations of the different mixtures were determined, as well as the presence and colonization of mycorrhizae.

The project was carried out at the Tecnológico Nacional de Mexico Campus Conkal, using a completely randomized experimental design, with 3 treatments of biosolids in percentages of 25%, 35% and 45% mixed with mycorrhiza (*Glomus intraradices*), an experimental control with Steiner's solution at 100% and a control.

The results showed that the experimental control (Steiner) showed a plant with better productivity and development, and the treatments composed of biosolid with mycorrhizae, in certain variables did not show significant differences, however, the one that stood out was the 25%, obtaining better results in diameter, stomatal conductance, dry matter, leaf area, root volume and mycorrhizal colonization, The biosolid generated by the company can be used in ornamental plants in concentrations of less than 45% inoculated with mycorrhizae, since it does not represent significant risks for production.

Keywords: Yucatan, fertilizers, biosolid, mycorrhizae, *Catharanthus roseus*.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

|                                                 | Pág. |
|-------------------------------------------------|------|
| RESUMEN.....                                    | 6    |
| SUMMARY.....                                    | 7    |
| I.- Antecedentes del problema.....              | 15   |
| II.- Planteamiento del problema.....            | 16   |
| III.- Justificación del problema.....           | 17   |
| IV.- OBJETIVOS.....                             | 18   |
| 4.1.- General.....                              | 18   |
| 4.2.- Específicos.....                          | 18   |
| V.- Hipótesis.....                              | 19   |
| VI.- FUNDAMENTO TEORICO.....                    | 20   |
| 6.1.- <i>Catharanthus roseus</i> .....          | 20   |
| 6.1.1.- Taxonomía.....                          | 20   |
| 6.1.2.- Descripción botánica.....               | 20   |
| 6.1.3.- Temperatura.....                        | 21   |
| 6.1.4.- Humedad ambiental.....                  | 21   |
| 6.1.5.- Suelo.....                              | 21   |
| 6.1.6.- Plagas y enfermedades.....              | 21   |
| 6.1.7.- Usos.....                               | 22   |
| 6.2.- Sustratos utilizados en ornamentales..... | 23   |
| 6.2.1.- Tezontle.....                           | 24   |
| 6.2.2.- Agrolita.....                           | 24   |
| 6.3.- Fertilización.....                        | 24   |
| 6.4.- Solución nutritiva.....                   | 25   |
| 6.5.- Biosólido.....                            | 25   |
| 6.5.1.- Biosólido como sustrato.....            | 26   |
| 6.5.2.- Normativa para el biosólido.....        | 26   |
| 6.5.3.- Clasificación del biosólido.....        | 27   |

|                                                                                          |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 6.6.- Micorriza.....                                                                     | 27 |
| 6.6.1.- Hongo micorrizogenicos arbusculares (HMA) .....                                  | 28 |
| 6.6.1.1.- Clasificación de hongos formadores de micorrizas<br>arbusculares.....          | 28 |
| 6.6.2.- Relación entre las micorrizas y la absorción de fosforo del suelo...             | 29 |
| VII.- Desarrollo del proyecto.....                                                       | 31 |
| 7.1.- Área de estudio.....                                                               | 31 |
| 7.2.- Establecimiento del cultivo.....                                                   | 31 |
| 7.3.-Mantenimiento y manejo agronomico.....                                              | 32 |
| 7.4.- Evaluación y medición de variable.....                                             | 38 |
| 7.5.- Diseño experimental.....                                                           | 46 |
| 7.6.- Método estadístico.....                                                            | 46 |
| VIII.- Resultados y discusiones.....                                                     | 47 |
| 8.1.- Altura de la planta.....                                                           | 47 |
| 8.2.- Diámetro del tallo.....                                                            | 49 |
| 8.3.- Tasa fotosintética y conductancia estomática.....                                  | 50 |
| 8.4.- Unidades SPAD.....                                                                 | 53 |
| 8.5.- Materia fresca y materia seca.....                                                 | 55 |
| 8.6.- Área foliar.....                                                                   | 56 |
| 8.7.- Volumen de raíz.....                                                               | 58 |
| 8.8.- Colonización de <i>Glomus intraradices</i> .....                                   | 61 |
| 8.9.- Análisis de tejido vegetal de la planta (Rangos de suficiencia de nutrientes)..... | 63 |
| IX.- Conclusiones y recomendaciones.....                                                 | 66 |
| X.- Referencias bibliográficas.....                                                      | 68 |
| ANEXOS.....                                                                              | 77 |

## INDICE DE TABLAS

| Tablas                                                                                                                                                                        | Pág. |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1. Clasificación de los biosólidos.....                                                                                                                                       | 27   |
| 2. Clasificación actual de los hongos formadores de micorrizas arbusculares .....                                                                                             | 29   |
| 3. Porcentaje proporcionado de la base o sustrato en cada tratamiento.....                                                                                                    | 32   |
| 4. Análisis químico del agua utilizada para regar el cultivo de <i>Catharantus roseus</i> .....                                                                               | 33   |
| 5. Análisis químico del biosólido.....                                                                                                                                        | 34   |
| 6. Metales pesados encontrados en el biosólido.....                                                                                                                           | 35   |
| 7. Fuente de fertilizantes para preparar la solución nutritiva de Steiner (1961), con base en el análisis químico del agua (Padrón, 2021) .....                               | 36   |
| 8. Cantidades de fertilizantes para preparar la solución nutritiva de Steiner (1961), considerando la aportación de aniones y cationes del agua de riego. (Padrón, 2021)..... | 36   |
| 9. Tratamientos evaluados en el cultivo de <i>Catharanthus roseus</i> .....                                                                                                   | 46   |
| 10. Unidades SPAD de los diferentes tratamientos y porcentajes del contenido de nitrógeno (N).....                                                                            | 54   |
| 11. Resultados de materia fresca y materia seca de los distintos tratamientos.....                                                                                            | 55   |
| 12. Porcentaje de colonización de <i>Glomus intraradices</i> en las raíces de <i>Catharanthus roseus</i> .....                                                                | 62   |
| 13. Macronutrientes presentes en los tratamientos de la planta de <i>Catharathus roseus</i> (mg-g-1).....                                                                     | 63   |
| 14. Micronutrientes presentes en los tratamientos de la planta de <i>Catharathus roseus</i> (mg-g-1).....                                                                     | 64   |

## INDICE DE TABLAS

| Tablas                                                                                                                                                                        | Pág. |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1. Clasificación de los biosólidos.....                                                                                                                                       | 27   |
| 2. Clasificación actual de los hongos formadores de micorrizas arbusculares .....                                                                                             | 29   |
| 3. Porcentaje proporcionado de la base o sustrato en cada tratamiento.....                                                                                                    | 32   |
| 4. Análisis químico del agua utilizada para regar el cultivo de <i>Catharantus roseus</i> .....                                                                               | 33   |
| 5. Análisis químico del biosólido.....                                                                                                                                        | 34   |
| 6. Metales pesados encontrados en el biosólido.....                                                                                                                           | 35   |
| 7. Fuente de fertilizantes para preparar la solución nutritiva de Steiner (1961), con base en el análisis químico del agua (Padrón, 2021) .....                               | 36   |
| 8. Cantidades de fertilizantes para preparar la solución nutritiva de Steiner (1961), considerando la aportación de aniones y cationes del agua de riego. (Padrón, 2021)..... | 36   |
| 9. Tratamientos evaluados en el cultivo de <i>Catharanthus roseus</i> .....                                                                                                   | 46   |
| 10. Unidades SPAD de los diferentes tratamientos y porcentajes del contenido de nitrógeno (N).....                                                                            | 54   |
| 11. Resultados de materia fresca y materia seca de los distintos tratamientos.....                                                                                            | 55   |
| 12. Porcentaje de colonización de <i>Glomus intraradices</i> en las raíces de <i>Catharanthus roseus</i> .....                                                                | 62   |
| 13. Macronutrientes presentes en los tratamientos de la planta de <i>Catharathus roseus</i> (mg-g-1).....                                                                     | 63   |
| 14. Micronutrientes presentes en los tratamientos de la planta de <i>Catharathus roseus</i> (mg-g-1).....                                                                     | 64   |

## INDICE DE FIGURAS

| Figuras                                                                                                                                                                                | Pág. |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1. Tecnológico Nacional de México Campus Conkal.....                                                                                                                                   | 31   |
| 2. Plántulas de <i>Catharanthus roseus</i> variedad Vinca Tatto Blackerry.....                                                                                                         | 32   |
| 3. Trasplante de plántulas de <i>Catharanthus roseus</i> a macetas de 6 pulgadas.....                                                                                                  | 33   |
| 4. Aplicación de 100 mL de <i>Glomus intraradices</i> por maceta.....                                                                                                                  | 35   |
| 5. Pinzado de <i>Catharanthus roseus</i> para la inducción de ramas laterales.....                                                                                                     | 37   |
| 6. Hoja con daños ocasionados por insectos grillos (Grylloidea) .....                                                                                                                  | 38   |
| 7. Medición de la altura de la planta con flexómetro y diámetro del tallo con el vernier...                                                                                            | 38   |
| 8. A) PP Systems CO2 Analyzer y B) Medición de tasa fotosintética y conductancia<br>39estomática; C) Medición de unidades SPAD.....                                                    | 39   |
| 9. Análisis destructivo de sacrificio de <i>Catharanthus roseus</i> y medición de materia<br>fresca.....                                                                               | 39   |
| 10. Medición de área foliar en el cultivo de Vinca con LI-3100C Area meter.....                                                                                                        | 40   |
| 11. Medición de volumen de la raíz según el método de Arquímedes en <i>Catharanthus<br/>roseus</i> .....                                                                               | 40   |
| 12. Equipo ‘Thomas Wiley Laboratory Mill Model 4’ usado en la molienda de tejido<br>vegetal seco y obtención de la muestra para realizar la evaluación de nutrimentos de<br>Vinca..... | 41   |
| 13. Tinción de raíces, a) secciones de raíces en casetes etiquetados, b) y d) KOH en<br>microondas, c) casetes en agua oxigenada, e) casetes en azul de tripano.....                   | 42   |
| 14. a) Separación de raíces en la caja Petri, b) montaje de las raíces y c) observación con<br>microscopio óptico a 40X.....                                                           | 42   |
| 15. a) Equipo de M4 TORNADOR BRUKER, b) casetes etiquetados y dentro del equipo,<br>c) 3 puntos seleccionados para que los examinara el equipo.....                                    | 43   |
| 16. Tubos etiquetados para la digestión de las muestras molidas con ácido sulfúrico y<br>selenio.....                                                                                  | 44   |
| 17. Aplicación de las gotas de rojo de metilo en los matraces con 35 mL <sup>-1</sup> de ácido<br>bórico.....                                                                          | 45   |

|                                                                                                                                                                                                                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 18. Colocación del tubo de digestión en el destilador y el matraz en el tubo de salida del destilado.....                                                                                                                                                                   | 45 |
| 19. Lectura del volumen gastado en la titulación de la muestra .....                                                                                                                                                                                                        | 46 |
| 20. Altura de la planta final del experimento (55 días) después del trasplante. Columnas con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas según la prueba de Tukey, ( $p \leq 0.05$ ) DMS=2.16806 CV=15.13.....                                         | 47 |
| 21. Diferencia de altura de las plantas por tratamiento de <i>Catharanthus roseus</i> en macetas de 6 pulgadas.....                                                                                                                                                         | 49 |
| 22. Diámetro del tallo de la planta al final del experimento (55 días) en los diferentes tratamientos. Columnas con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas según la prueba de Tukey, ( $p \leq 0.05$ ) DMS: 0.32398 CV: 10.14.....                | 50 |
| 23. Tasa Fotosintética del cultivo de <i>Catharanthus roseus</i> en los distintos tratamientos obtenidos entre 11:50 a.m. y 13:50 p.m. bajo condiciones de invernadero, letras diferentes indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) DMS: 7.81459 CV: 15.23 ..... | 51 |
| 24. Conductancia estomática de los diferentes tratamientos, expresada en micro moles de agua por metro cuadrado por segundo. DMS: 139.73281 CV: 44.21.....                                                                                                                  | 52 |
| 25. Correlación entre la tasa de conductancia estomática y la tasa de fotosintética, la línea discontinua representa la línea de tendencia entre las dos variables con un coeficiente de determinación $R^2 = 0.76$ .....                                                   | 53 |
| 26. Representación donde se puede observar ligeramente la diferencia fisiológica basada en la diferencia estadística de las unidades SPAD .....                                                                                                                             | 54 |
| 27. Área foliar de los distintos tratamientos al finalizar el experimento, las columnas con letras distintas son significativamente diferentes según la prueba de Tukey. ( $p \leq 0.05$ ) DMS: 125.09449 CV: 20.66.....                                                    | 57 |
| 28. Diferencia del área foliar entre los tratamientos .....                                                                                                                                                                                                                 | 58 |
| 29. Volumen de raíz expresado en centímetros cúbicos de los diferentes tratamientos. prueba de Tukey. ( $p < 0.05$ ) DMS: 1.47136 CV: 29.00.....                                                                                                                            | 59 |
| 30. Volumen de las raíces de <i>Catharanthus roseus</i> donde se puede observar físicamente la diferencia de los tratamientos aplicados a los tantos días después del trasplante.....                                                                                       | 60 |
| 31. Presencia de vesículas (a, b y c) Presencia de algunos micelios con alguna vesícula (d, e y f).....                                                                                                                                                                     | 61 |

|                                                                                                                                 |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 32. Plantas de biosólido + <i>Glomus intraradices</i> donde visualmente se observa que hay<br>carencia de algún nutriente ..... | 65 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

## ÍNDICE DE ANEXOS

| ANEXO                                                                                       | Pág. |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1. Tinción de raíces (Phillips and Hayman, 1970).....                                       | 77   |
| 2. Montaje de raíces y cuantificación de colonización (McGonigle <i>et al.</i> , 1990)..... | 78   |
| 3. Realización del análisis de nitrógeno, método kjeldahl.....                              | 80   |

## INTRODUCCIÓN

### I.-ANTECEDENTES DEL PROBLEMA

Las plantas ornamentales poseen un papel importante en la sociedad, ya que existen un sin fin de especies y variedades producidas, principalmente se emplean con fines decorativos; y se aprovechan más aquellas plantas que su ciclo de reproducción se desarrolla casi todo el año y se adapta a diversas condiciones.

Según Tellez (2007), los medios de crecimiento de las plantas son los elementos materiales en los que las raíces se desarrollan, obtienen agua y los elementos nutritivos necesarios para alimentar a toda la estructura vegetal. Cada elemento nutritivo tiene funciones celulares importantes dentro de la planta, por lo que es necesario una buena fertilización, control del pH y una buena textura del suelo para garantizar una óptima absorción de nutrientes y crecimiento en las plantas.

*Catharantus roseus* es una planta ornamental con fines decorativos y que posee algunas sustancias químicas importantes en tratamientos para la salud y a nivel comercial es una planta que se comercializa como flor en maceta la cual tiene una gran demanda en los mercados.

Desde 2015, Yucatán ocupa el quinto lugar del país en la cría de porcinos (OCDE, 2019), según Méndez *et al*, 2009, la existencia total de cerdos en el Estado se estimó en 670,174 y generan diariamente 3,884.78 t de excretas, 9,428.37 m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup> de aguas residuales altamente contaminadas y una carga orgánica de 443,133.39 kg d<sup>-1</sup> medida como DQO. Por otra parte, la empresa Kekén perteneciente al Grupo Porcicola Mexicano S. A., es una empresa porcícola que procesa y exporta con los más altos estándares de calidad e inocuidad. (<https://kekentalento.com/>, 2023)

## II.-PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La vinca es una planta resistente, ya que es tolerante a altas temperaturas y adaptable a diversos suelos; por lo que se le considera una planta ornamental rentable y de interés económico para los agricultores.

Las granjas porcícolas producen subproductos como son las excretas que al ser dispuestos sin control alguno ocasionan perjuicios al ambiente, pero que siendo tratadas adecuadamente pueden servir excelentemente bien como sustrato para los cultivos agrícolas (Méndez *et al.*, 2009). La empresa Grupo Porcicola Mexicano KEKÉN pretende dar un segundo uso a las excretas y así no ocasionar tantos deterioros al ambiente, razón por la que hizo el biosólido. Para la obtención del biosólido éste, debe pasar por un sistema de tratamiento el cual consiste en que los residuos orgánicos y aguas de la granja pasen por un biodigestor que realiza un proceso anaerobio donde se degrada la materia orgánica por acción microbiana; posteriormente va a un sedimentador donde ocurre la separación de sólidos por medio de gravedad y también se clarifica el agua tratada; después pasa a un lecho de secado que es un proceso de secado de sólidos a través de filtración y exposición a radiación solar, y finalmente del secado se obtiene el biosólido que es un material rico en materia orgánica y con un contenido nutrimental que ayuda a mejorar la fertilidad del suelo.

### **III.-JUSTIFICACION DEL PROBLEMA**

En el presente trabajo se consideró a la especie *Catharanthus roseus* por la gran diversidad de usos decorativos y medicinales que tiene, el biosólido como sustrato y fertilizante por el contenido nutrimental que posee y *Glomus intraradices* hongo micorrizico arbuscular el cual ayuda a la resistencia del estrés hídrico, mejor a la absorción de agua y nutrientes y protege a la planta de patógenos radiculares, en este caso para obtener una planta de mejor calidad y mayor rendimiento.

## **IV.-OBJETIVOS**

### **4.1.-General**

Determinar una mezcla de biosólido inoculado con *Glomus intraradices* para la producción de flor en maceta de *Catharanthus roseus*.

### **4.2.-Específicos.**

Evaluar los efectos agronómicos y fisiológicos en plantas de *Catharanthus roseus* con las diferentes mezclas de biosólido con *Glomus intraradices*.

Determinar las concentraciones de macro y micronutrientes presentes al final del cultivo y la presencia de colonización de micorrizas.

## **V.-HIPOTESIS**

El biosólido es confiable a proporciones menores o igual a 45% lo cual puede actuar como un sustrato y fertilizante orgánico al mismo tiempo junto con *Glomus intraradices* que incrementará su capacidad y se obtendrá un resultado similar al de la fertilización química.

## V.I.-FUNDAMENTO TEORICO

### 6.1. *Catharanthus roseus*

#### 6.1.1. Taxonomía

Esta especie decorativa es más conocida como Vinca; y técnicamente como *Vinca* o *Catharanthus roseus* (Sánchez, 2006). La clasificación que se la ha dado a esta especie es:

Reino: Plantae

Phylum: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Gentianales

Familia: Apocynaceae

Género: *Catharanthus*

Nombre común: madagascar periwinkle, rosy periwinkle, teresita, maravilla, ninfa, vinca (Vibrans, 2009).

#### 6.1.2. Descripción botánica

La vinca es una planta ornamental arbustiva que con el tiempo puede alcanzar una altura de un metro, y obtener un tallo leñoso pero delgado solo en la parte de la base; la literatura dice que la vinca es de una hoja ovada es decir con la parte más ancha hacia el ápice, si parece tener otra forma la hoja seguramente es por causa de alguna deficiencia de nutrientes, puede llegar a medir hasta 7.5 cm de largo y 3.5 de ancho. Hay una gran variedad en cuanto al color de las flores, la Vinca Totto Blackberry tiene flores de un color morado intenso y de un tamaño grande, posee cinco pétalos y son flores solitarias es decir que están solas, no viene en racimos o algo parecido, y estas encuentran en la punta del tallo o en la parte superior de las axilas de las hojas. El fruto es erecto alcanza una longitud de 4cm, básicamente es una pequeña vaina y ahí se encuentran las semillas.

Acosta y Rodríguez, 2002 y la Biblioteca Digital de Medicina Tradicional Mexicana, 2009, describen a la vinca como una planta arbustiva de hasta 1.2 m de altura, tallos puberulentos a glabrescentes. Hojas con láminas 2.3-6.8×0.8-2.9 cm, angostamente elípticas a angostamente ovadas, el ápice mucronado a obtuso, la base cuneada, puberulentas a glabrescentes, pecíolo 2-12 mm de largo (Morales, 2009). En climas más fríos (temperaturas inferiores a 0°C) se cultiva como anual. Las flores son individuales y en diferentes colores, como blanco, rosa, lavanda o púrpura de 3-5 cm de diámetro, esta especie presenta floración desde primavera hasta verano, y las flores crecen generalmente solitarias en el extremo de los tallos florales o en las axilas de las hojas superiores, estas son planas y están formadas por cinco pétalos apenas unidos en su base y dan lugar a un fruto esférico negro. El fruto es un par de folículos de 2 a 4 cm de largo y 3 mm de ancho.

#### **6.1.3. Temperatura**

La vinca es muy susceptible al frío. Se trasplanta al aire libre, después que ha pasado el periodo de heladas. La temperatura ideal para cultivarla es entre 10 y 32°C (Sánchez, 2006). La planta puede soportar temperaturas de hasta 42°C en un invernadero de Yucatán, sin embargo, con este tipo de temperatura si requiere más cuidado en cuanto al riego.

#### **6.1.4. Humedad ambiental**

Las plantas prefieren atmósfera húmeda y en verano se puede asperjar agua a las hojas, pero no a las flores (Sánchez, 2006).

#### **6.1.5. Suelo**

La vinca se aprecia por su resistencia en condiciones de sequía, prefieren pleno sol y suelo bien drenado (Acosta y Rodríguez, 2002). Resiste cualquier tipo de suelo bien drenado, siempre y cuando se mantenga húmeda todo el año (Sánchez, 2006).

#### **6.1.6. Plagas y enfermedades**

Una plaga para la Vinca Tatto Blackberry y cualquier planta es la familia Grylloidea (grillo), ya que está ataca hojas y flores, sin importarle si está o no en descomposición, otro problema puede ser durante el desarrollo de esta planta, por eso hay que tener mucho cuidado en el riego y la temperatura, ya que un exceso de agua puede ocasionar pudrición en la raíz o que aparezca otra plaga.

Las plantas de *Catharanthus* pueden sufrir el ataque de pulgones y gusanos masticadores, aunque es muy raro (Heitz, 1994). Otra plaga importante es la mosca blanca, pulgón y hormigas negras (Asociación Gremial de Exportadores de Productos no Tradicionales, 2005; Agosto, 2007).

Los principales problemas de enfermedades son *Phytophthora* / pudrición de la raíz, tizón del tallo; y estas surgen por efecto del estrés a las bajas temperaturas y exceso de agua (Kessler, 1998). Otras enfermedades de *Catharanthus* son infecciones ocasionadas por el hongo oídio, caracterizado por tener un micelio de polvo blanco y el cual se controla con azufre (Acosta y Rodríguez, 2002). En las plantaciones se producen afectaciones originadas por el hongo *Colletotrichum* sp., que afecta hojas y ramas llegando a ocasionarle la muerte, la enfermedad es frecuente en época de fuertes lluvias, altas temperaturas y humedad relativa superior al 80 %. Otro hongo que produce ataque riguroso es *Phoma* sp. que afecta el área foliar de igual manera *Sclerotium rolfsii* que lesiona el cuello de las plantas, produciendo marchitez de la planta y más tarde su muerte (Téllez, 2007).

#### **6.1.7. Usos**

El principal uso en México de esta planta es decorativo ya que es una ornamental y se utiliza para adornar jardines o para el diseño de paisajes, también para usos en medicina tradicional, donde utilizan las hojas principalmente para el control de la diabetes, etc.; o las flores para enfermedades de los ojos.

En la India, Brasil y Mesoamérica, se le indica principalmente contra la diabetes, aunque también para tratar hemorragias, cicatrizar llagas, mientras que, en Cuba, la maceración acuosa de las flores blancas se emplea en lavados y fomentos para afecciones oculares. La infusión de la hoja de *Catharanthus roseus*, se emplea en forma de gargarismos para casos de laringitis y faringitis, tiene propiedades anticancerígenas y especialmente en el caso de la llamada enfermedad de Hodgkin, afectación maligna que ataca a los ganglios (George, 1989).

Considerando el empleo tradicional contra diabetes, la planta se incluyó dentro de un gran programa de investigación realizado en Canadá que procura de encontrar sustitutos de la insulina. No obstante, aunque ningún extracto derivado de la planta mostró sensibilidad en este sentido, una ocasional observación en sangre indicaba que algunos extractos derivados de hojas acumulaban alcaloides, que disminuían sensiblemente el número de glóbulos blancos y en particular el de los granulocitos. Este hallazgo, motivó a estos científicos a realizar estudios in Vitro, con células de leucemia, lo que condujo al aislamiento en los años 60, dentro de los más de 70 alcaloides de naturaleza indólica que produce esta planta, de vinblastina y vincristina (Acosta y Rodríguez, 2002).

## **6.2. Sustratos utilizados en ornamentales**

La base de todo sustrato preparado es la materia orgánica. Los materiales que se utilizan para mejorar las propiedades físicas de los sustratos son subproductos orgánicos como la corteza, el aserrín o las compostas. En un estudio realizado en el estado de Morelos se demostró que el segundo factor limitante de la producción de plantas en maceta lo constituye el sustrato (FIRA, 1996).

Martínez (1994), realizó una investigación en *coleus spp*, debido a la importancia del tipo de sustrato en el manejo del riego para la producción de plantas en macetas evaluó 15

mezclas de materiales para sustratos y tres frecuencias de riego, encontrando cinco mezclas constituidas por tierra de hoja tezontle y aserrín; tierra de hoja y aserrín; fibra de coco y tezontle-aserrín; fibra de coco y tezontle-aserrín y tierra de hoja y tezontle, con alta retención de humedad que interactúan bien con riegos cada 5 días sin deterioro de la calidad de la planta.

Hay diversos sustratos, la mayoría tiene la función de conservar cierta humedad para beneficio de las plantas, al ser mezclados pueden tener un mejor resultado y mejorar su drenaje. El tezontle y la agrolita mezclados hacen un buen trabajo para *Catharanthus roseus*.

#### **6.2.1. Tezontle**

El tezontle es un material considerado inerte, con valores de pH cercanos a la neutralidad, baja CIC, buena aireación, y con capacidad de retención de humedad que es dependiente del diámetro de la partícula; adicionalmente no contiene sustancias tóxicas y tiene estabilidad física (Bastida, 1999). Este sustrato físicamente parece piedrita, pero es de un color rojizo - anaranjado, al utilizarlo se garantiza que haya un buen drenaje, generalmente siempre es mezclado con otro sustrato o suelo.

#### **6.2.2. Agrolita**

Este es un sustrato de color blanco granulado, inerte y es bastante favorable para la germinación.

La agrolita es un sustrato que permite una alta capacidad de retención de agua, sin embargo, esto puede reducir significativamente el porcentaje de aireación y en su momento afectar el crecimiento vegetal (Urbina *et al*, 2011).

### **6.3. Fertilización**

La función de la fertilización es aportar nutrientes para que la planta tenga un mejor resultado durante su desarrollo, y esta puede ser de manera química u orgánica.

La fertilización mineral puede desempeñar un importante papel en el establecimiento de las plantas; (Ferrer *et al.*, 2001) ya que proveen nutrientes que los cultivos necesitan, y con estos se pueden producir más alimentos y cultivos comerciales, y de mejor calidad (World fertilizer use manual, 1992).

#### **6.4. Solución nutritiva**

La solución nutritiva es la unión de fertilizantes ya sean líquidos o sólidos, se aplica principalmente en hidroponía y en mezclas de sustratos. Según Fertilab las soluciones nutritivas son una mezcla de agua y fertilizantes, las cuales llegan directamente al cultivo mediante el sistema de riego. En una solución nutritiva ocurren prácticamente todos los nutrimentos considerados esenciales para las plantas, de tal manera que el cultivo no tiene ninguna restricción desde el punto de vista de su nutrición (Arteaga, 2015). Una verdadera solución nutritiva es aquella que contiene las especies químicas indicadas en la solución, por lo que deben coincidir con las que se determinen mediante el análisis químico correspondiente (Steiner, 1961).

#### **6.5. Biosólido**

Los biosólidos básicamente son desperdicios orgánicos sólidos, que para ser considerados “biosólidos” deben ser sometidos a un proceso de tratamiento para que esté libre de patógenos, un beneficio de estos es que al ser generalmente sólido sirve como sustrato y que tiene la ventaja de aportar nutrientes.

También llamados lodos residuales, y son denominados así cuando han sido sometidos a un proceso de estabilización de agentes patógenos. Después de ser tratados y procesados, los biosólidos pueden ser reciclados y aplicados como fertilizante para mejorar y mantener productivos los suelos y estimular el crecimiento de las plantas debido a que son

principalmente materia orgánica y contienen nutrientes esenciales (Obreza y O'connor, 2009).

Al reciclar los biosólidos se combaten dos grandes problemas para las poblaciones. El primero de ellos es la acumulación de residuos urbanos y el segundo problema es el uso excesivo de fertilizantes químicos en la agricultura, aplicar biosólido a los cultivos puede minimizar el uso de fertilizantes inorgánicos, los cuales son más costosos para los agricultores y contaminan el suelo y las aguas subterráneas (Trinidad, 2002).

#### **6.5.1. Biosólido como sustrato**

Al ser generalmente una materia sólida puede ser utilizada como sustrato, sin embargo, es recomendable mezclarlo con otro tipo de material como agrolita, tezontle, suelo entre otros, ya que la mayoría de los biosólidos tienden a tener altos niveles de algún nutriente en específico, y esto suele ocasionar problemas para el desarrollo de la planta.

Montes *et al.* (2005) mencionan que el uso de grandes volúmenes de sustrato para producción de plantas eleva los costos, proponiendo que el biosólido, sea una alternativa de sustrato, para disminuir los costos de producción.

#### **6.5.2. Normativa para el biosólido**

En México se cuenta con una norma en beneficio al tema del biosólido, sin embargo, hay países que llevan años trabajando con este, principalmente países de Europa, y sus normas son más amplias.

En el país se cuenta con la NOM-004-SEMARNAT-2002. Protección ambiental. - Lodos y biosólidos, la cual establece las especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes en los lodos o biosólidos, provenientes del desazolve de los sistemas de alcantarillado urbano o municipal, de las plantas potabilizadoras y de las plantas de

tratamiento de aguas residuales, con el fin de posibilitar su aprovechamiento o disposición final y proteger al medio ambiente y la salud humana (Morales, 2006).

### 6.5.3. Clasificación de los biosólido

Cada país tiene una distinta clasificación, pero siendo el objetivo principal darle un empleo adecuado al biosólido, según la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, los biosólidos se clasifican (Tabla 1) en tipo: excelente y bueno en función de su contenido de metales pesados; y en clase: A, B y C en función de su contenido de patógenos y parásitos.

**Tabla 1.**

*Clasificación de los biosólidos.*

| Tipo               | Clase | Aprovechamiento                                                                                          |
|--------------------|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Excelente.         | A     | -Usos urbanos con contacto público directo durante su aplicación.                                        |
| Excelente o Bueno. | B     | -Los establecidos para clase B y C.<br>-Usos urbanos sin contacto público directo durante su aplicación. |
| Excelente o Bueno. | C     | -Los establecidos para la clase C.<br>-Usos forestales.<br>-Mejoramiento de suelos.<br>-Usos agrícolas.  |

Fuente: Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002

### 6.6. Micorriza

Las micorrizas son la relación de un hongo y las raíces de una especie vegetal, que tienen como beneficio aumentar la capacidad de absorber el agua y nutrientes, tolerancia al estrés hídrico, resistencia de algunos patógenos e impulsa el crecimiento radicular y de la planta en general.

Las micorrizas son uno de los tipos de simbiosis más abundante de la biosfera, que mejoran la absorción de agua y nutrientes de la raíz, permitiendo que colonicen los suelos más pobres (Navarro, 2012).

La micorriza es una asociación constituida por un conjunto de hifas fúngicas (micelio) que, al entrar en contacto con las raíces de las plantas, las pueden envolver formando un manto y penetrarlas intercelularmente a través de las células del córtex, como en el caso de la ectomicorriza o, como en el caso de la micorriza arbuscular, penetran la raíz, pero no se forma ningún manto (Camargo *et al.*, 2012).

#### **6.6.1. Hongos micorrizógenos arbusculares (HMA)**

Las micorrizas son organismos del suelo que viven simbióticamente con la mayoría de las plantas; aportan beneficios, dándoles ventajas con respecto a las plantas no micorrizadas. Los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) son microorganismos del suelo que forman simbiosis con el 80 % de las plantas terrestres, formando arbuscúlos, vesículas (en algunas especies) e hifas, dentro de las células corticales de las plantas que colonizan (Barrer, 2009). Al haber presencia de hongos micorrizógenos arbusculares se asegura una mayor resistencia a los patógenos, a la escasez de agua; si encuentra un problema con la relación a la absorción los nutrientes, está tiene mayor capacidad de buscar la mejor manera de resistir y no dañar su relación con la planta. Mediante un microscopio se puede verificar si se efectúa la colonización, localizando hifas, vesículas, etc., en la raíz.

##### **6.6.1.1. Clasificación de hongos formadores de micorrizas arbusculares.**

Los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) se clasifican en nueve familias (Tabla 2). Hasta el momento se han descrito a nivel mundial alrededor de 200 especies (Smith y Read, 1997). No se ha logrado describir un mayor número de especies, ya que al ser

simbiontes obligados se requiere para su reproducción la presencia de plantas hospederas, pero, con todo, se presume que el número de especies sea mucho mayor (Ramos *et al.*, 2001).

**Tabla 2.**

*Clasificación actual de los hongos formadores de micorrizas arbusculares.*

|                 | Phylum: Glomeromycota |                          |
|-----------------|-----------------------|--------------------------|
|                 | Clase: Glomeromycetes |                          |
| Orden           | Familia               | Genero                   |
| Glomerales      | Glomeraceae           | Glomus                   |
| Diversisporales | Gigasporaceae         | Gigaspora, Scutellospora |
|                 | Acaulosporaceae       | Acaulospora, Kuklospora  |
|                 | Entrophosporaceae     | Entrophospora            |
|                 | Pacisporaceae         | Pacispora                |
|                 | Diversisporaceae      | Diversispora             |
| Paraglomerales  | Paraglomeraceae       | Paraglomus               |
| Archaeosporales | Geosiphonaceae        | Geosiphon                |
|                 | Archaeosporaceae      | Archaeospora, Intraspora |

Fuente: Realizado a partir de Schüßler y otros, 2001.

#### **6.6.2. Relación entre las micorrizas y la absorción de fósforo del suelo.**

El papel de los hongos micorrízicos en la absorción de fósforo del suelo puede resumirse de la siguiente manera: las plantas con micorrizas absorben y acumulan más fósforo que las plantas sin micorrizas especialmente si crecen en suelos de baja disponibilidad del nutriente. Puesto que el fósforo es un nutriente de baja movilidad en el suelo la raíz debe llegar a él para absorberlo. En raíces con micorrizas el incremento en la absorción de fósforo del suelo se debe a la mayor eficiencia en acceder a este nutriente y luego tomarlo. Esto se produce por un aumento en la superficie y el volumen de suelo que exploran las raíces logrado gracias a dos razones: a) raíces más sanas y b) las hifas del hongo actúan como una extensión de la raíz de la planta. La longitud absorbente de la raíz crece y por consiguiente la exploración de suelo también aumenta (Faggioli *et al.*, 2008). Los hongos micorrízicos

arbusculares (HMA) son una alternativa biológica para aumentar la absorción del fósforo y reducir el uso excesivo de fertilizantes fosfatados (Bañuelos *et al.*, 2017).

## VII.-DESARROLLO DEL PROYECTO

### 7.1. Área de estudio

El presente estudio se realizó en una estructura protegida tipo túnel con apertura cenital y plástico con 25% sombra, ubicada en Tecnológico Nacional de México Campus Conkal (Figura 1) en la villa de Conkal, Yucatán, situado a 16.3 Km al noroeste de la ciudad de Mérida antigua carretera Mérida- Motul con 9 msnm, sus coordenadas geográficas son: 19° 20' latitud Norte y 20° 37' longitud oeste del meridiano de Greenwich, con una latitud de 10msnm. El clima que predomina en la región es Awo (X) (i) g (Cálido) de acuerdo con la clasificación climática de Koepen, modificada por García (1998), con una temperatura media anual de 26.6 °C, máxima de 35°C y mínima de 17°C con una precipitación media anual de 700 mm.



**Figura 1. Tecnológico Nacional de México Campus Conkal.**

El proyecto constó de 3 fases que son: Establecimiento del cultivo, mantenimiento y manejo agronómico del cultivo y evaluación de variables.

### 7.2. Establecimiento del cultivo

Se utilizaron 2 semilleros de 200 cavidades y 200 macetas de 6 pulgadas, para desinfectarlas se utilizó una solución de agua e hipoclorito de sodio comercial al 6%. Se

sembraron semillas de *Catharantus roseus* variedad Tatto Blackberry en semilleros (Figura 2), y germinaron a los 7 días de la siembra.



**Figura 2. Plántulas de *Catharantus roseus* variedad Tatto Blackberry.**

Para la preparación del sustrato, se utilizó biosólido proporcionado por la empresa KEKEN Grupo Porcicola Mexicano S. A., este biosólido es proveniente de la excreta de porcinos; peat moss y una mezcla que contiene 80 % tezontle y 20 % agrolita esto según al porcentaje requerido en los tratamientos, en la tabla 3 se muestran los porcentajes proporcionados de la base o sustrato en cada tratamiento; para poder identificar los tratamientos en las macetas se utilizaron etiquetas.

**Tabla 3.**

*Porcentaje proporcionado de la base o sustrato en cada tratamiento.*

| Tratamiento /<br>Porcentaje (%) | Biosólido | Mezcla de tezontle y<br>agrolita | Peat moss | Suelo |
|---------------------------------|-----------|----------------------------------|-----------|-------|
| T1                              | 25        | 75                               | X         | X     |
| T2                              | 35        | 65                               | X         | X     |
| T3                              | 45        | 55                               | X         | X     |
| T0e                             | X         | 50                               | 50        | X     |
| T0                              | X         | X                                | X         | 100   |

El trasplante (Figura 3) se hizo a los 22 días de siembra cuando la plántula tuvo dos hojas verdaderas con una altura entre 4 y 5 cm.



**Figura 3.** Trasplante de plántulas de *Catharanthus roseus* a macetas de 6 pulgadas.

### 7.3. Manteamiento y manejo agronómico

El riego fue con una regadera y se utilizó agua proveniente de pozo a la que se le hizo un análisis de sus características químicas (Tabla 4), las primeras 2 semanas se dio un riego ligero diario, y a partir de la tercera semana se aplicó el riego lunes, miércoles y viernes.

**Tabla 4.**

*Análisis químico del agua utilizada para regar el cultivo de Catharantus roseus.*

| Parámetro        | Método                 | Resultado               |
|------------------|------------------------|-------------------------|
| pH en agua (1:2) | Potenciométrico        | 7.13                    |
| C.E.             | Conductimétrico        | 1.32 dS / m             |
| Calcio           | Absorción atómica      | 121 mg L <sup>-1</sup>  |
| Magnesio         | Absorción atómica      | 33.4 mg L <sup>-1</sup> |
| Sodio            | Absorción atómica      | 99.4 mg L <sup>-1</sup> |
| Fosforo          | Absorción atómica      | 22.7 mg L <sup>-1</sup> |
| Carbonatos       | Titulación volumétrica | 0.00 mg L <sup>-1</sup> |
| Bicarbonatos     | Titulación volumétrica | 402 mg L <sup>-1</sup>  |

|          |                   |                         |
|----------|-------------------|-------------------------|
| Cloruros | Argentometría     | 212 mg L <sup>-1</sup>  |
| Sulfatos | Turbidimétrico    | 4.48 mg L <sup>-1</sup> |
| Nitratos | Absorción atómica | 5.18 mg L <sup>-1</sup> |
| Boro     | Absorción atómica | 0.01 mg L <sup>-1</sup> |

También se realizó un análisis químico del biosólido (Tabla 5) y el contenido de metales pesados (Tabla 6).

**Tabla 5.**

*Análisis químico del biosólido.*

| Determinación                  | Método                                   | Unidades | Resultados  |
|--------------------------------|------------------------------------------|----------|-------------|
| pH                             | NMX-FF-109-SCFI-2007                     |          | 7.25        |
| Cond. Eléctrica                | NMX-FF-109-SCFI-2007                     | dS m     | 5.8         |
| *Nitrógeno total               | Dumas                                    | %        | 3.09        |
| Fosforo (P)                    | Digestión en microondas/ ICP             | %        | 2.5         |
| *Potasio (K)                   | Digestión en microondas/ ICP             | %        | 0.33        |
| *Calcio (Ca)                   | Digestión en microondas/ ICP             | %        | 15.8        |
| *Magnesio (Mg)                 | Digestión en microondas/ ICP             | %        | 1.1         |
| *Sodio (Na)                    | Digestión en microondas/ ICP             | %        | 0.38        |
| *Azufre (S)                    | Digestión en microondas/ Turbidimetría   | %        | 1.27        |
| *Hierro (Fe)                   | Digestión en microondas/ ICP             | ppm      | 6632        |
| *Cobre (Cu)                    | Digestión en microondas/ ICP             | ppm      | 516         |
| *Manganeso (Mn)                | Digestión en microondas/ ICP             | ppm      | 509         |
| *Zinc (Zn)                     | Digestión en microondas/ ICP             | ppm      | 3499        |
| *Boro (B)                      | Digestión en microondas/ ICP             | ppm      | 27.6        |
| Humedad                        | Método Gravímetro                        | %        | 29.1        |
| *Materia Orgánica              | Calcinación                              | %        | 61.5        |
| *Cenizas                       | Calcinación                              | %        | 38.5        |
| *Carbono Orgánico              | Calcinación                              | %        | 35.7        |
| *Relación C/N                  | Base Seca                                |          | 11.6        |
| *Nitratos (N-NO <sub>3</sub> ) | Método de nitración con ácido salicílico | ppm      | 164         |
| *Nitrógeno Amoniacal           |                                          | ppm      | 637         |
| *Cloro                         | TNP/MG                                   | %        | NA          |
| *Solidos Disueltos             | Método Gravímetro                        | mg/L     | NA          |
| *Solidos Totales               | Método Gravímetro                        | mg/L     | NA          |
| *Densidad Aparente             | NMX-FF-109-SCFI-2007                     | g/ml     | NA          |
| Arsénico                       | Digestión en microondas/ ICP             | ppm      | NA          |
| Níquel                         | Digestión en microondas/ ICP             | ppm      | 13.9        |
| Molibdeno                      | Digestión en microondas/ ICP             | ppm      | 19.3        |
| Ácidos Totales                 | Método Interno: MET-CP-14                | % ms     | 5.752581537 |

|                 |                           |      |             |
|-----------------|---------------------------|------|-------------|
| Ácidos Húmicos  | Método Interno: MET-CP-15 | % ms | 1.600342232 |
| Ácidos Fúlvicos | Método Interno: MET-CP-16 | % ms | 4.152239305 |

Método Interno: Método Interno MET-CP-14 basado en Kononova y real decreto 1110/1993; TNP/MG: Titulación con nitrato de plata/ método gravimétrico; % ms: % en 100 g de material seco; PND: Pendiente por verificación; NA: No analizado; Resultados reportados en BASE SECA.

**Tabla 6.**

*Metales pesados encontrados en el biosólido.*

| Determinación-Paquete | Método         | Resultados |                                   |
|-----------------------|----------------|------------|-----------------------------------|
|                       |                | ppm        | Límite de cuantificación práctico |
| Níquel (Ni)           | EPA 6010C 2007 | 13.923     | 0.25 ppm                          |
| Cobalto (Co)          | EPA 6010C 2008 | NA         | 0.025 ppm                         |
| Arsénico (As)         | EPA 6010C 2009 | NA         | 0.05 ppm                          |
| Bario (Ba)            | EPA 6010C 2010 | NA         | 0.5 ppm                           |
| Cromo (Cr)            | EPA 6010C 2011 | NA         | 0.03 ppm                          |
| Cadmio (Cd)           | EPA 6010C 2012 | NA         | 0.005 ppm                         |
| Aluminio (Al)         | EPA 6010C 2013 | NA         | 0.10 ppm                          |

Se aplicó el hongo micorrizico arbuscular (HMA) a los 24 días, esto consistió en hacer un diluido de la micorriza *M-300 Glomus Intraradices* (300propagulos/g), 8 g L<sup>-1</sup>, la dilución se efectuó en una cubeta de 20 L y se utilizó 160 g L<sup>-1</sup> de la cubeta; ya obtenida la dilución se aplicaban 100 mL por maceta (Figura 4). La aplicación de micorrizas se hizo 5 veces, a los 24, 29, 31, 36 y 38 días. Esto generando un total de 500 mL por maceta.



**Figura 4.** Aplicación de 100 mL de *Glomus intraradices* por maceta.

El testigo experimental consistió de una solución Steiner (Steiner, 1961), que utilizó Padrón *et al.* (2021) para el cultivo de *Lisianthus* en el campus Conkal, donde realizó un balance de fertilizantes en cuanto a las aportaciones de aniones y cationes (Tabla 7) y se utilizaron fertilizantes comerciales para los macronutrientes, siguiendo las recomendaciones de Arnon (1938) y Steiner (1984) (Tabla 8).

**Tabla 7.**

*Fuente de fertilizantes para preparar la solución nutritiva de Steiner (1961), con base en el análisis químico del agua de riego. Padrón (2021)*

|                                    | meq L <sup>-1</sup> | Aniones                      |                                             |                               | Cationes       |                  |                  |
|------------------------------------|---------------------|------------------------------|---------------------------------------------|-------------------------------|----------------|------------------|------------------|
|                                    |                     | NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> | SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> | K <sup>+</sup> | Ca <sup>2+</sup> | Mg <sup>2+</sup> |
|                                    |                     | 12                           | 1                                           | 7                             | 7              | 9                | 4                |
| Iones del agua                     |                     | 0.37                         | 0                                           | 0.14                          | 0.58           | 6.05             | 2.75             |
| Cantidades a agregar               |                     | 11.63                        | 1                                           | 6.86                          | 6.42           | 2.95             | 1.25             |
| Fertilizantes                      |                     |                              |                                             |                               |                |                  |                  |
| Ca (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> | 5.9                 | 2.95                         |                                             |                               |                | 2.95             |                  |
| KNO <sub>3</sub>                   | 6                   | 3                            |                                             |                               | 3              |                  |                  |
| K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>     | 6.84                |                              |                                             | 3.42                          | 3.42           |                  |                  |
| MgSO <sub>4</sub>                  | 2.5                 |                              |                                             | 1.25                          |                |                  | 1.25             |
| H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>     | 1                   |                              | 1                                           |                               |                |                  |                  |
| HNO <sub>3</sub>                   | 5.68                | 5.68                         |                                             |                               |                |                  |                  |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>     | 2.19                |                              |                                             | 2.19                          |                |                  |                  |

**Tabla 8.**

*Cantidades de fertilizantes para preparar la solución nutritiva de Steiner (1961), considerando la aportación de aniones y cationes del agua de riego. (Padrón, 2021)*

| Fertilizante <sup>†</sup>                                         | Peso<br>(meq L <sup>-1</sup> ) | Faltante<br>(meq L <sup>-1</sup> ) | g 100 L <sup>-1</sup> | Corrección<br>por pureza |
|-------------------------------------------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|-----------------------|--------------------------|
| Ca (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O (99.9 %)     | 118                            | 5.9                                | 69.62                 | 69.68 g                  |
| KNO <sub>3</sub> (100 %)                                          | 101                            | 6                                  | 60.60                 | 60.60 g                  |
| K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (100 %)                            | 90                             | 6.84                               | 61.56                 | 61.56 g                  |
| MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O (95 %)                        | 123                            | 2.5                                | 30.75                 | 32.36 g                  |
| H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (85%, ρ: 1.7 g mL <sup>-1</sup> )* | 32.60                          | 1                                  | 3.26                  | 2.25 mL                  |
| HNO <sub>3</sub> (95%, ρ: 1.5 g mL <sup>-1</sup> )*               | 98                             | 5.68                               | 35.784                | 25.11 mL                 |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (98%, ρ: 1.8 g mL <sup>-1</sup> )* | 63                             | 2.19                               | 21.462                | 11.96 mL                 |

$\rho$ : Densidad. \* Fertilizante líquido, por lo tanto, se multiplica el peso ( $\text{meq L}^{-1}$ ) por 100 / 85 y se divide entre la densidad

Para el trabajo de *Catharanthus roseus*, la fertilización inició a los 24 días de germinación y se realizó dos veces por semana (martes y jueves).

Se realizó un pinzado (Figura 5) a los 32 días en la parte del ápice para que la planta ramificara.



**Figura 5. Pinzado de *Catharanthus roseus* para la inducción de ramas laterales.**

Se monitoreó el cultivo constantemente para el control de maleza, plagas y enfermedades, se encontraron hojas mordidas por grillos (Grylloidea) (Figura 6), cuando se identificó se hizo un extracto de chile habanero y ajo y se aplicó dos veces por semana para evitar plagas en el cultivo.



**Figura 6. Hoja con daños ocasionados por insectos grillos (Grylloidea).**

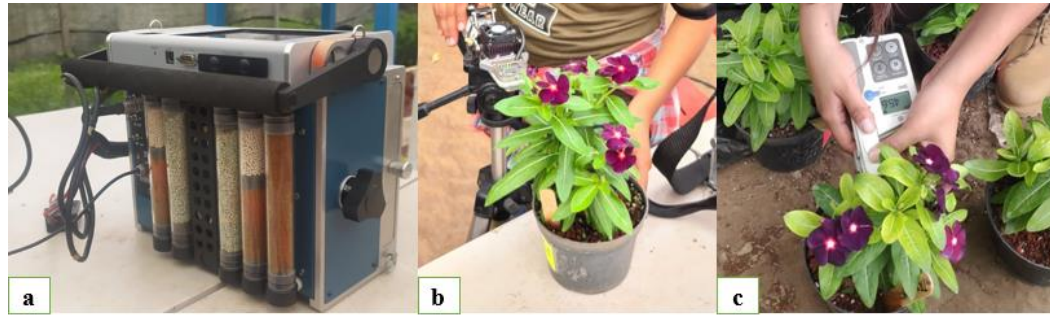
#### **7.4. Evaluación y medición de variable**

Las variables a medir fueron altura y diámetro de tallo de la planta por lo que se tomaron 20 plantas por cada tratamiento, que se realizó a partir de los 7 días después del pinzado, cada 7 días durante 6 semanas. Para medir la altura se usó un flexómetro pequeño y para el diámetro un vernier (Figura 7).



**Figura 7. Medición de la altura con flexómetro y ancho del tallo con el vernier.**

Con el equipo “PP Systems CO2 Analyzer” (Figura 8) se realizó la medición de tasa fotosintética y conductancia estomática a los 58 días después del pinzado, también se utilizó un “SPAD-502Plus” (Figura 8) mide unidades SPAD que pueden correlacionarse con el contenido o índice de clorofila, para esto se tomaron 8 plantas por tratamiento.



**Figura 8. A) PP Systems CO2 Analyzer, B) Medición de tasa fotosintética y conductancia estomática; C) Medición de unidades SPAD.**

En las variables de materia fresca, materia seca, área foliar y volumen de raíz se utilizaron 20 plantas por tratamiento.

Para medir la materia seca primero se separó el tallo de la maceta y se cortó en trozos, se retiraron las hojas, flores y se pesó en una báscula digital (Figura 9).



**Figura 9. Análisis destructivo de sacrificio de *Catharanthus roseus* y medición de materia fresca.**

Para la medición del área foliar se utilizó el equipo “LI-3100C Area meter” (Figura 10), donde se introdujeron continuamente las hojas y flores para obtener el área total (cm<sup>2</sup>) por tratamiento y repetición.



**Figura 10. Medición de área foliar en el cultivo de *Vinca* con LI-3100C Area meter.**

Se midió el volumen de raíz con base al principio de Arquímedes, retirando el sustrato de la maceta para extraer la raíz y limpiarla completamente, seguidamente se utilizó una probeta de 500 mL donde se le agregó 400 mL agua y se introducía la raíz (Figura 11), esperábamos unos segundos y obteníamos el resultado.

Para el peso de la materia seca, primero se introdujo en bolsas de papel Kraft las plantas sacrificadas (hojas, flores, tallo y raíz) y se colocó en un horno con una temperatura de 65°C por 72 horas hasta obtener un peso constante; seguidamente se retiraron de las bolsas y se pusieron las muestras secas en una báscula para obtener el peso seco.



**Figura 11. Medición de volumen de la raíz según el método de Arquímedes en *Catharanthus roseus*.**

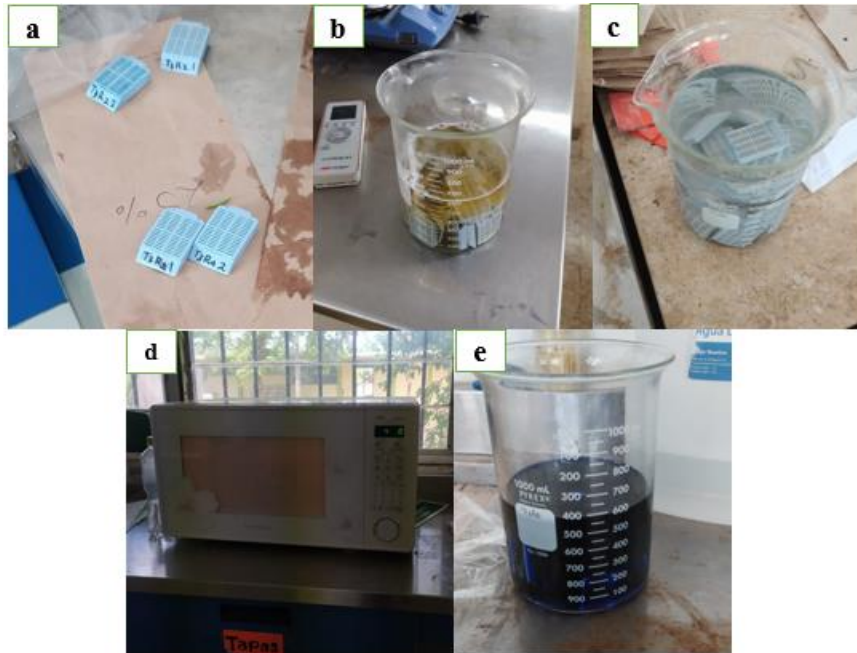
Las muestras se procesaron con un molino ‘Thomas Wiley Laboratory Mill Model 4’ (Figura 12), se hizo una segunda molienda en la licuadora convencional para tener un tamaño de partícula menor y hacer el análisis mineral.



**Figura 12. Equipo ‘Thomas Wiley Laboratory Mill Model 4’ usado en la molienda de tejido vegetal seco y obtención de la muestra para realizar la evaluación de nutrimentos de Vinca.**

Para evaluar la colonización de *Glomus intraradices* se utilizaron 4 plantas por tratamiento. La tinción de raíces fue con la técnica de Phillips and Hyman (1970) (Anexo 1), se utilizó azul de tripano, hidróxido de potasio (KOH) al 10 %, agua oxigenada (peróxido de hidrogeno) al 30 %, ácido clorhídrico (HCL) al 10 %, un vaso precipitado de cristal con capacidad de 1 L, casetes de tinción, inclusión o tela tipo gasa, hilo, guantes de tela (para agarrar objetos calientes) y horno de microondas.

La decoloración de las raíces se efectuó con KOH al 10 %, para el ablandamiento se agregó HCL al 30 % y agua oxigenada al 5%; por último, se incorporó el azul de tripano a los casetes que contenía las raíces y se dejó reposar 24 h (Figura 13).



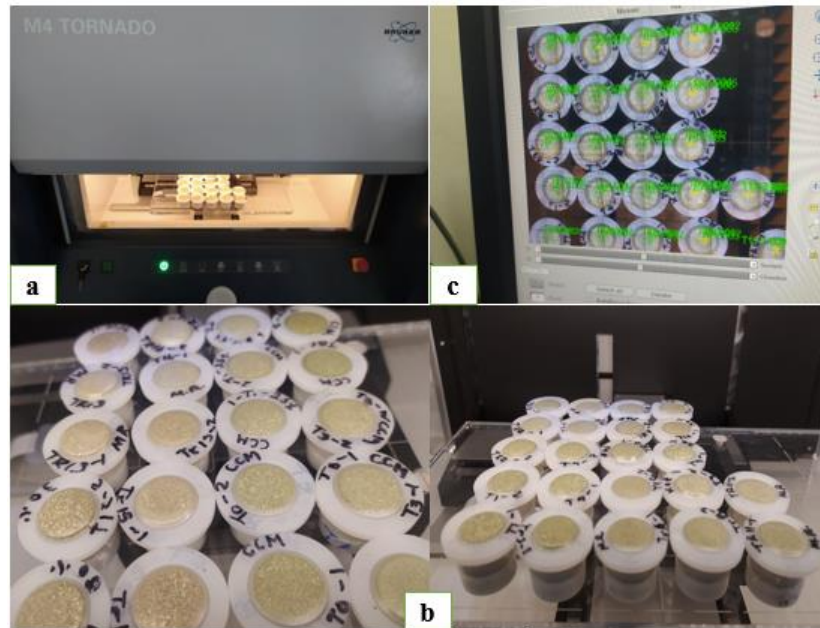
**Figura 13. Tinción de raíces: a) secciones de raíces en casetes etiquetados, b) y d) KOH en microondas, c) casetes en agua oxigenada, e) casetes en azul de tripano.**

Se realizó el montaje y cuantificación de colonización siguiendo las indicaciones de McGonigle *et al.* (1990) (Anexo 2). Se observó las preparaciones con el microscopio óptico, comenzando por uno de los extremos de la preparación, en unos de las puntas del primer segmento, a partir de ahí se movió la platina hacia el resto de los segmentos de la raíz e hicimos las observaciones a 40X.



**Figura 14. a) Separación de raíces en la caja Petri, b) montaje de las raíces y c) observación con microscopio óptico a 40X.**

El análisis de nutrientes se llevó a cabo mediante micro fluorescencia de rayos X con el equipo M4 TORNADO marca BRUKER (Figura 15). Para la lectura se molieron 2 repeticiones por tratamientos. Se analizaron 3 puntos por muestra.



**Figura 15. a) Equipo de M4 TORNADOR BRUKER, b) casetes etiquetados y dentro del equipo, c) 3 puntos seleccionados para que los examinara el equipo.**

El análisis de nitrógeno se realizó en el laboratorio AGUA-SUELO-PLANTA del TecNM Campus Conkal, se utilizó el método kjeldahi (anexo 3).

Las muestras digeridas se analizaron por duplicado para cada uno de los tratamientos T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub>, T<sub>0</sub>, T<sub>0e</sub> y un tubo como blanco (Figura 16).



**Figura 16. Tubos etiquetados para la digestión de las muestras molidas con ácido sulfúrico y selenio.**

Se pesaron 0.5g para la digestión y se agregó 1 g de selenio, se deja reposar 24 hrs y se agrega  $15 \text{ mL}^{-1}$  de ácido sulfúrico; se calienta a  $400^\circ\text{C}$  en un tiempo de aproximadamente 50 min.

Para la destilación se colocan  $35 \text{ mL}^{-1}$  de ácido bórico y 2 gotitas de rojo de metilo (Figura 17) para colocarlo en el tubo de salida del destilado y el tubo de digestión se pone en el destilador (Figura 18), se le aplica Hidróxido de sodio y se inicia el calentamiento; una vez hecho esto se colectan  $150 \text{ mL}^{-1}$  del destilado de los matraces.



**Figura 17. Aplicación de las gotas de rojo de metilo en los matraces con 35 mL<sup>-1</sup> de ácido bórico.**



**Figura 18. Colocación del tubo de digestión en el destilador y el matraz en el tubo de salida del destilado.**

Se tituló con ácido sulfúrico al 0.1N, se anotó el volumen gastado en la titulación de la muestra (Figura 19).



**Figura 19. Lectura del volumen gastado en la titulación de la muestra.**

### 7.5. Diseño experimental

El diseño experimental fue completamente al azar con 5 tratamientos (Tabla 9), incluyendo dos testigos, el testigo absoluto y un testigo experimental, considerando 40 plantas por tratamiento, se seleccionaron 20 por tratamiento, las cuales se monitorearon durante el experimento para la medición de variables, con la planta *Catharanthus roseus*.

**Tabla 9.**

*Tratamientos evaluados en el cultivo de Catharanthus roseus.*

| TRATAMIENTOS                      | Aplicaciones                                 |
|-----------------------------------|----------------------------------------------|
| Testigo ( $T_0$ )                 | Agua                                         |
| Testigo experimental ( $T_{0e}$ ) | 100 % Fertilización química                  |
| I ( $T_1$ )                       | 25% Biosólido con <i>Glomus intraradices</i> |
| II ( $T_2$ )                      | 35% Biosólido con <i>Glomus intraradices</i> |
| III ( $T_3$ )                     | 45% Biosólido con <i>Glomus intraradices</i> |

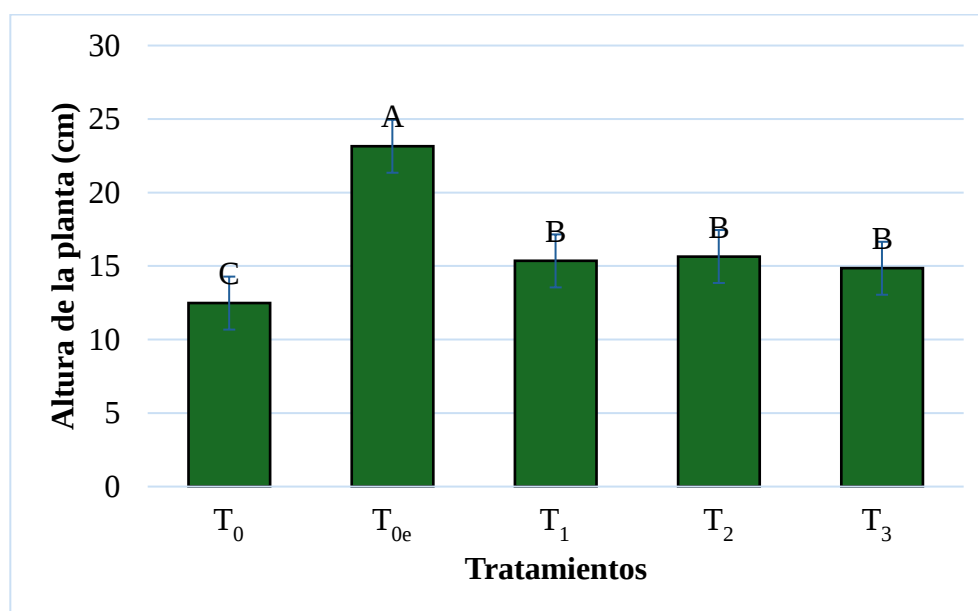
### 7.6. Método estadístico

Con los datos obtenidos en el campo y laboratorio se realizó un ANOVA, para diferencias significativas se aplicó la prueba de separación de medias de Tukey ( $\alpha < 0.05$ ), y los análisis estadísticos se realizaron con el programa InfoStat versión 2020.

## VIII.-RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 8.1. Altura de la planta

El análisis estadístico para la variable altura de la planta mostro diferencias significativas entre medias, se aprecia en la gráfica que los tratamientos  $T_{0e}$  (testigo experimental) con 23.15 y  $T_0$  (testigo) con 12.48 son diferentes, mientras que los tratamientos 2, 1 y 3 son significativamente iguales (Figura 20).



**Figura 20. Altura de la planta final del experimento (55 días) después del trasplante. Columnas con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas según la prueba de Tukey, ( $p \leq 0.05$ ) DMS=2.16806 CV=15.13.**

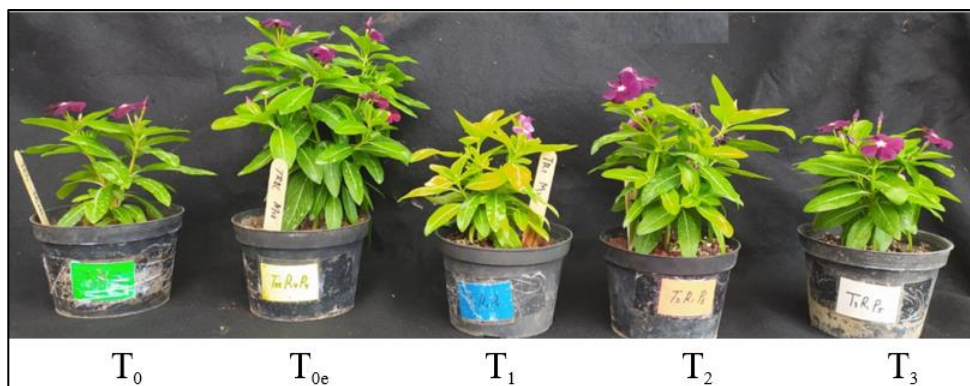
Según Alvarado (2006) donde uso biosólidos municipales composteados, menciona que la *Catharanthus roseus* y *Gerbera jamesonii* fueron menos tolerantes a altas concentraciones de biosólidos en su medio de cultivo, a proporciones de biosólidos: musgo *sphagnum* (peat-moss) 10:90, 25:75 y 50:50. Utria *et al.* (2007) donde utilizó biosólidos que procedieron de una estación depuradora de aguas residuales, menciona que observó como la aplicación de biosólidos estimuló positivamente el crecimiento en altura de plántulas con

valores similares a las desarrolladas en el suelo tratadas con fertilizante mineral y superiores a las que crecieron en el suelo natural.

Lo mencionado concuerda con los resultados ya que la altura final del presente trabajo mostro un mejor resultado en el  $T_{0e}$  (testigo experimental) debido a que se fertilizo con la solución nutritiva Steiner teniendo así una mejor nutrición y un crecimiento mayor de la planta, a diferencia de los otros tratamientos, solamente que para la aplicación de solución Steiner el costo es mayor.

González *et al.* (2015) menciona que la inoculación de *G. intraradices* fs18 estimulo significativamente una mayor altura en las plantas de los tres cultivares de *C. annuum*, jalapeño, serrano y de árbol, con respecto a las plantas inoculadas (testigo) a los 7, 14, 21 y 30 días después de la inoculación.

En los tratamientos 1, 2 y 3 se observa como la aplicación de biosólido con la micorriza *Glomus intraradices* impulso positivamente la altura de las plantas con valores mayores a las desarrolladas al  $T_0$  (testigo: suelo k'ankab (Clasificación FAO: Cambisol / Luvisol) pero no superiores a la que se fertilizó con solución nutritiva Steiner, visualmente puede observarse en la figura 21 que el  $T_2$  (35% biosólido + micorriza) tuvo ligeramente una mejor altura a comparación de los tratamientos 1 y 3.



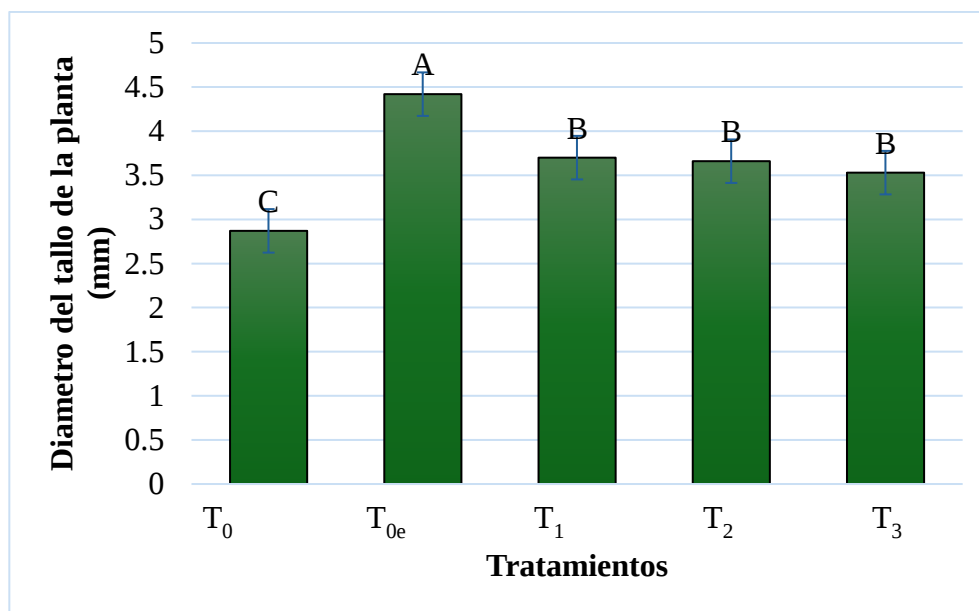
**Figura 21. Diferencia de altura de las plantas por tratamiento de *Catharanthus roseus* en macetas de 6 pulgadas.**

## **8.2. Diámetro del tallo**

Se observó diferencias significativas en los tratamientos, los valores más altos corresponden al  $T_{0e}$  (testigo experimental), mientras que el de menor valor correspondió al  $T_0$  (testigo); y el mejor tratamiento de biosólido con micorriza correspondió al  $T_1$  (25% biosólido + *Glomus intraradices*).

Utria *et al.* (2007) observó que las plantas cultivadas en el suelo tratado con fertilizante mineral lograron mayores valores en diámetro de tallo, y las plantas desarrolladas en el suelo natural lograron menores valores; y las plantas a las que se le aplicó biosólido respondieron positivamente. Montero (2017) observó en el desarrollo de *Citrus aurantium* que al finalizar el experimento el diámetro de la planta era muy similar en todos los tratamientos, donde utilizó distintos gramos de biosólido con suelo.

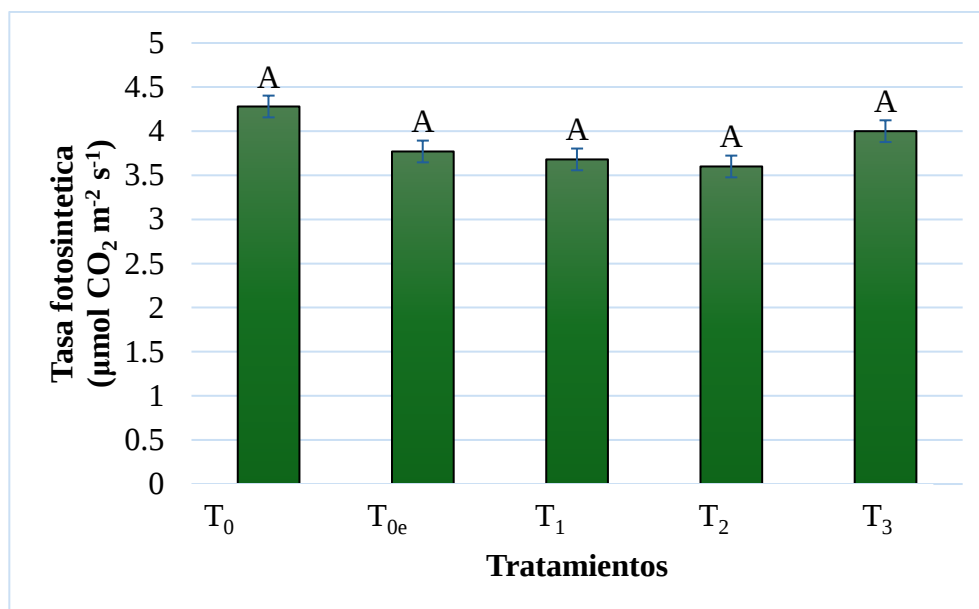
Los resultados del diámetro del tallo de la planta final del experimento (Figura 22) mostraron que el  $T_{0e}$  fue el mejor tratamiento, por consiguiente, los tratamientos 1, 2 y 3 que no tuvieron diferencias significativas, y el  $T_0$  fue el tratamiento inferior; todo esto concuerda con los autores Utria *et al.* (2007) y Montero (2017), ya que el mejor resultado fue el  $T_{0e}$  (testigo experimental) por tener una fertilización química para un crecimiento mayor en la planta, a diferencia del  $T_0$  (testigo) que es solamente suelo; y en los tratamientos 1, 2 y 3 de biosólido + *Glomus intraradices* las plantas tuvieron un resultado efectivo pero similares.



**Figura 22. Diámetro del tallo de la planta al final del experimento (55 días) en los diferentes tratamientos. Columnas con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas según la prueba de Tukey, ( $p \leq 0.05$ ) DMS: 0.32398 CV: 10.14**

### **8.3. Tasa fotosintética y conductancia estomática**

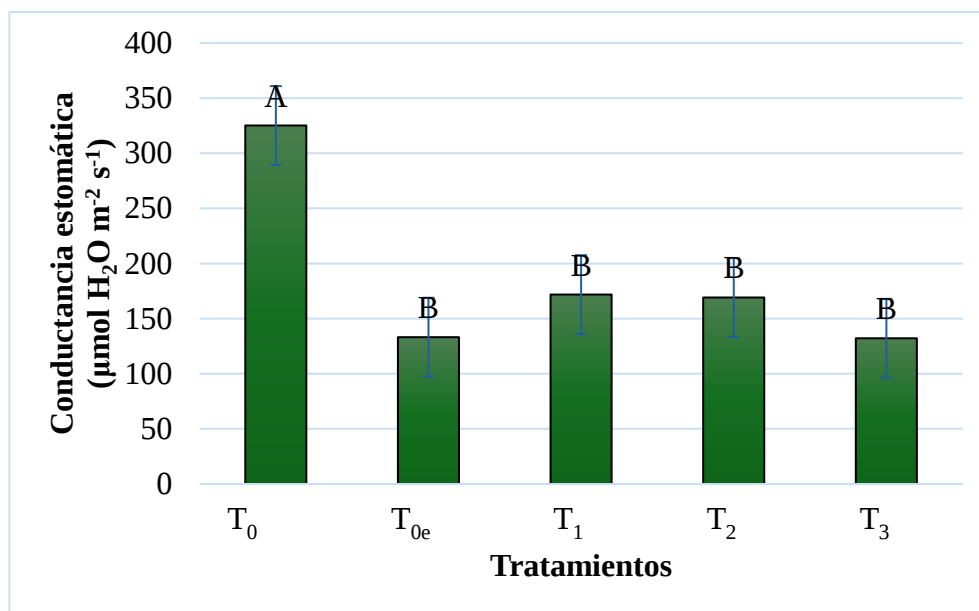
Los resultados obtenidos de tasa fotosintética que se observó al final del cultivo de *Catharanthus roseus* (Figura 23), fue de entre 3.6 y 4.28  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y se aprecia mediante una gráfica las diferencias entre las medias de la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) donde se encontró que no existe diferencia significativa en la tasa fotosintética entre ninguno de los tratamientos, por lo que en algunas variables (altura, diámetro) exista diferencias significativas no se debe a la influencia de menor concentración de  $\text{CO}_2$  en el invernadero ya que hubo un buen incremento en la tasa fotosintética, es decir que el rendimiento del cultivo no se debe a un factor fisiológico.



**Figura 23. Tasa Fotosintética del cultivo de *Catharanthus roseus* en los distintos tratamientos obtenidos entre 11:50 a.m. y 13:50 p.m. bajo condiciones de invernadero, letras diferentes indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) DMS: 7.81459 CV: 15.23**

Los resultados obtenidos de conductancia estomática (Figura 24) observados al final del cultivo se comprendieron entre 132.17 y 325.17  $\mu\text{mol HO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  en la producción de *Catharanthus roseus* y que mediante la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) demostró que existen dos rangos de significancia estadística, donde T<sub>0e</sub>, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> y T<sub>3</sub> son significativamente iguales, pero diferentes a T<sub>0</sub>, donde T<sub>0</sub> tiene el valor más alto.

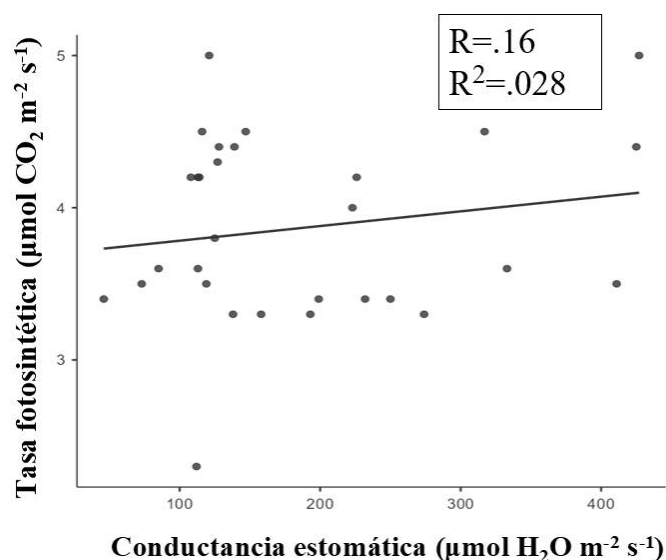
Corniani *et al.*, 2006 menciona que cuanto más alta sea la tasa fotosintética de las especies, más rápido se consume el CO<sub>2</sub>, y menor es su concentración en el interior de la hoja, suponiéndose que las estomas estén cerradas. Riveros, 2002 menciona que a medida que las estomas se mantengan abiertos la velocidad será mayor, al contrario, al presentarse un estrés hídrico las estomas tienden a cerrarse provocando una disminución drástica de la conductancia estomática.



**Figura 24. Conductancia estomática de los diferentes tratamientos, expresada en micro moles de agua por metro cuadrado por segundo. DMS: 139.73281 CV: 44.21**

De acuerdo con Kramer (1974) menciona que el estrés hace que la tasa neta de fotosíntesis disminuya por unidad foliar, y esta disminución puede deberse a la reducción del área foliar, al cierre de las estomas, diversos autores coinciden en afirmar que el decrecimiento en la fotosíntesis neta va siempre de la mano con una disminución de la conductancia estomática.

También se realizó una correlación de la tasa fotosintética y la de conductancia estomática mostraron una correlación positiva débil con un coeficiente de determinación  $R^2=0.28$  (Figura 25).



**Figura 25.** Correlación entre la tasa de conductancia estomática y la tasa de fotosintética, la línea discontinua representa la línea de tendencia entre las dos variables con un coeficiente de determinación  $R^2 = 0.28$

#### **8.4.-Unidades SPAD**

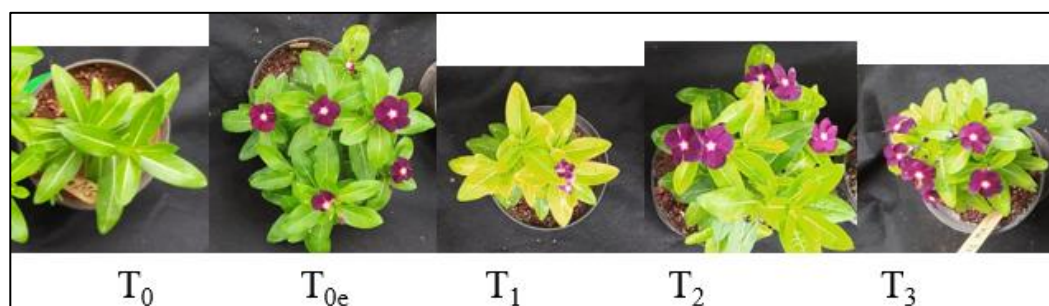
Se observó diferencias significativas entre los tratamientos. Los resultados obtenidos de unidades SPAD al final del cultivo (67 días después del transplante) se comprendieron entre 45.22 unidades SPAD y 26.8 unidades SPAD, la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) demostró que existen diferencias significativas, donde el tratamiento testigo experimental ( $T_{0e}$ ) fue superado por los otros tratamientos, y el valor más bajo a  $T_1$ ; mientras que  $T_0$ ,  $T_2$  y  $T_3$  son significativamente iguales pero diferentes a  $T_{0e}$  y  $T_1$ ; también  $T_0$ ,  $T_1$  y  $T_2$  son significativamente iguales pero diferentes a  $T_{0e}$  y  $T_3$ . (Tabla 10).

#### **Tabla 10.**

*Unidades SPAD de los diferentes tratamientos y porcentaje del contenido de nitrógeno (N).*

| Tratamiento                                                  | Unidades SPAD |    | N %  |
|--------------------------------------------------------------|---------------|----|------|
| T <sub>0</sub> (K'ankab)                                     | 34.35         | BC | 2.15 |
| T <sub>0e</sub> (Fertilización química)                      | 45.22         | A  | 2.43 |
| T <sub>1</sub> (25% Biosólido + <i>Glomus intraradices</i> ) | 26.8          | C  | 2.65 |
| T <sub>2</sub> (35% Biosólido + <i>Glomus intraradices</i> ) | 33.62         | BC | 2.71 |
| T <sub>3</sub> (45% Biosólido + <i>Glomus intraradices</i> ) | 39.9          | AB | 2.68 |

En la figura 26 se puede observar la diferencia fisiológica basado en la diferencia estadística.



**Figura 26. Representación donde se puede observar ligeramente la diferencia fisiológica basada en la diferencia estadística de las unidades SPAD.**

Moreno, 2022 trabajo con *Glomus intraradices* para la aclimatación de plántulas de caña de azúcar (planta C4) donde menciona que observo un aumento en la clorofila en todos sus tratamientos con micorrizas. Díaz *et al.* 2013 trabajo en la nutrición del fruto de pimiento (planta C3) con micorriza arbuscular mencionando que la inoculación de la micorriza bajo un sistema de fertirriego y en condiciones de invernadero en las plantas favoreció los valores SPAD.

Los resultados obtenidos por los autores mencionados no se relacionan completamente con los resultados presentados ya que el biosólido es un subproducto de cerdo y el análisis químico es distinto; el análisis de las unidades SPAD reflejo como mejor tratamiento al T<sub>0e</sub> (testigo experimental) debido a que esta fertilizado por una solución nutritiva para asegurar una nutrición y crecimiento destacado; en los tratamientos con

biosólido + *Glomus intraradices* mostró un mejor resultado el T<sub>3</sub> (45% biosólido + micorriza) con 39.9 unidades SPAD y el T<sub>1</sub> (25% biosólido + micorriza) con 26.8 unidades SPAD esto puede coincidir un poco con lo que dijo Moreno (2022) y Diaz *et al.* (2013) donde mencionan que las micorrizas arbusculares favorecen y aumentan el contenido de clorofila, y también con Montero, 2017 donde realizó una investigación donde se analizaron biosólidos de una planta tratadora de aguas residuales y menciona que el contenido de nitrógeno en los biosólidos favoreció el aumento de clorofila en las plantas, ya que al tener mayor porcentaje de biosólido debe encontrarse mayor concentración del contenido nutrimental que este aporta y por lo que la clorofila debe ser mayor; finalmente, al observar el T<sub>0</sub> (testigo) se concluye que en realidad el tratamiento con menor contenido de unidades SPAD fue el T<sub>1</sub>.

#### 8.5.-Materia fresca y materia seca

Se encontró diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla 11), se muestra que en materia fresca y en materia seca existe diferencia significativa entre el T<sub>0e</sub> y el T<sub>0</sub>, mientras que el T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> y T<sub>3</sub> son significativamente iguales.

**Tabla 11.**

*Resultados de materia fresca y materia seca de los distintos tratamientos.*

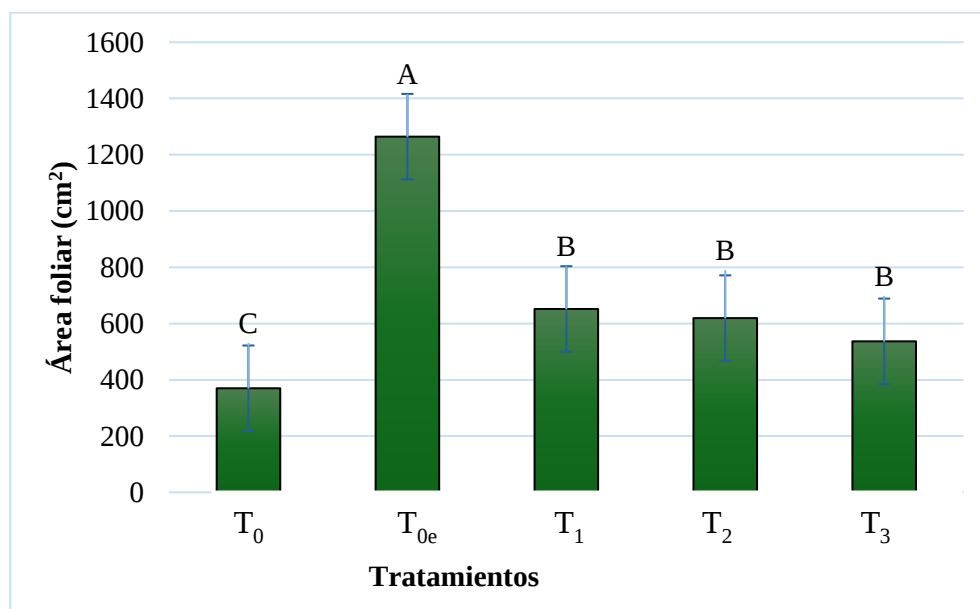
| Tratamiento                                                  | Materia fresca | Materia seca |
|--------------------------------------------------------------|----------------|--------------|
| T <sub>0</sub> (K'ankab)                                     | 14.05 c        | 1.49 c       |
| T <sub>0e</sub> (Fertilización química)                      | 43.7 a         | 5.28 a       |
| T <sub>1</sub> (25% Biosólido + <i>Glomus intraradices</i> ) | 23.05 b        | 2.46 b       |
| T <sub>2</sub> (35% Biosólido + <i>Glomus intraradices</i> ) | 23.25 b        | 2.41 b       |
| T <sub>3</sub> (45% Biosólido + <i>Glomus intraradices</i> ) | 20 b           | 2.21 b       |

Los resultados demuestran que en materia seca y materia fresca se mostró una mejor respuesta en el T<sub>0e</sub> (testigo experimental) debido a que es el tratamiento con una fertilización asegurando sobresalir, por otro lado, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> y T<sub>3</sub> son significativamente iguales y T<sub>0</sub> es diferente al resto de los tratamientos.

Ley *et al.* (2015) menciona que las cepas *Glomus sp.* y *G. intraradices* mostraron mayor eficiencia en el incremento de la biomasa de los frutos, por lo que *Glomus intraradices* debió influir en el aumento de biomasa de la planta. Brofas y Alifragis (2000); Cogger *et al.* (2001) y Gazete (2001) comentan que los nutrientes contenidos en los biosólidos incrementan la biomasa y el rendimiento de las plantas de cultivo, por lo que en los resultados a pesar de que contienen distintos porcentajes de biosólido y *G. intraradices* estadísticamente no mostraron diferencias significativas entre estos tratamientos ( $T_1$ ,  $T_2$  y  $T_3$ ), pero si sobresalieron al  $T_0$  (testigo) porque solo recurre de los nutrientes presentes en el suelo K'ankab.

### 8.6.-Área foliar

Se realizó un análisis de la variable dependiente área foliar (Figura 27), mediante la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) donde se mostró diferencia entre los tratamientos, existiendo una diferencia entre el  $T_{0e}$  y  $T_0$ , y similitud entre  $T_1$ ,  $T_2$  y  $T_3$ .



**Figura 27. Área foliar de los distintos tratamientos al finalizar el experimento, las columnas con letras distintas son significativamente diferentes según la prueba de Tukey. ( $p \leq 0.05$ ) DMS: 125.09449 CV: 20.66**

Utria *et al.* (2007) encontró que las plántulas cultivadas en el suelo tratado con biosólidos incrementaron la magnitud del área foliar, logrando resultados similares a las desarrolladas en el suelo tratado con fertilizante mineral y superiores a las desarrolladas en el suelo natural, los resultados concuerdan en la parte en que los tratamientos conformados con biosólido fueron superiores a los que solo fueron tratados con suelo natural, sin embargo, los tratamientos 1, 2 y 3 no fueron similares al tratamiento experimental que es el tratamiento con una solución nutritiva.

Por otra parte Ley *et al.*, en 2015 trabajo con cuatro especies de hongos micorrizogenos arbusculares en la producción de tomate donde observo que a partir de los 90 días comenzaron a diferenciarse las cepas *Glomus sp. 2* y *G. clarum* como productoras de biomasa foliar y el testigo, *Glomus sp. 1* y *G. intraradices* mantuvieron los niveles menores en la producción de hojas, pero los 2 últimos superiores al testigo, lo que indicó una actividad fotosintética más alta que se justifica por la presencia simbiótica del HMA, de acuerdo con lo mencionado, y relacionándolo con Utria *et al.*, podemos deducir que el biosólido + *Glomus intraradices* impulsaron positivamente el área foliar de las plantas, mostrando mejores resultados que el T<sub>0</sub> pero no mayores al T<sub>0e</sub> conformada con una nutrición esencial para la planta.

En la figura 28 se muestra una representación de acuerdo con los resultados estadísticos de área foliar donde se observa la diferencia física entre las plantas con los distintos tratamientos.



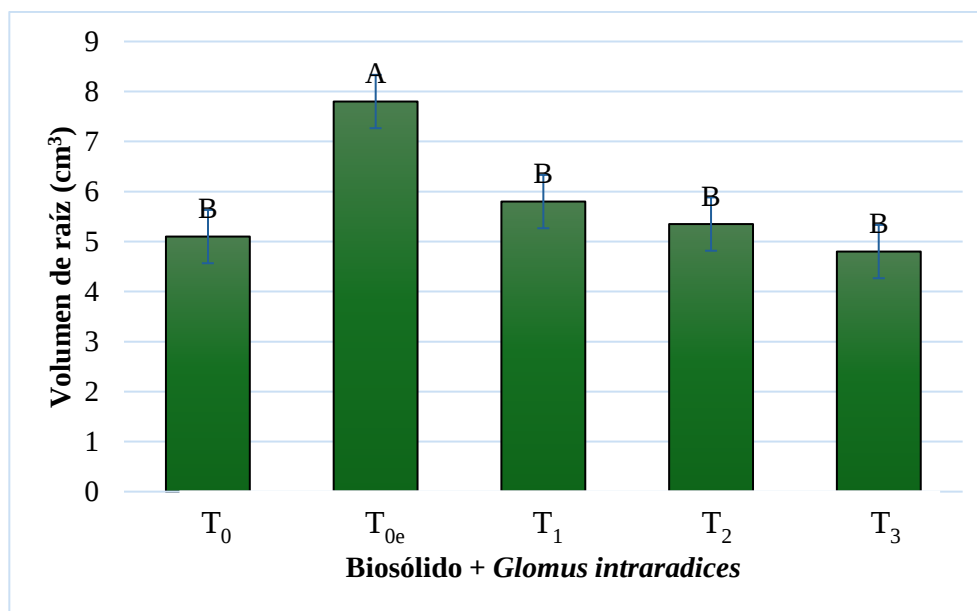
**Figura 28. Diferencia del área foliar entre los tratamientos.**

### **8.7.-Volumen de raíz**

El volumen radical del presente trabajo no mostro diferencias significativas entre los tratamientos conformados por biosólido y el testigo.

La raíz se encarga de anclar y sostener al resto de la planta, permite la absorción de agua y nutrientes que se encuentran en el suelo, es importante conocer esta variable ya que Rose *et al.* (1991) menciona que el volumen de la raíz es una característica adaptativa importante que se ha correlacionado en forma positiva con la supervivencia y crecimiento de las plantas en el terreno de plantación.

Utria *et al.* (2007) trabajó en la germinación de plántulas de tomate donde menciona que la aplicación de biosólidos en un período de tiempo de 15 días no influye sobre la longitud radical y Jurado *et al.*, 2012 menciono que la longitud de raíz fue similar entre el testigo y las dosis bajas y disminuyó con las dosis altas de biosólido.



**Figura 29. Volumen de raíz expresado en centímetros cúbicos de los diferentes tratamientos. prueba de Tukey. ( $p < 0.05$ ) DMS: 1.47136 CV: 29.00**

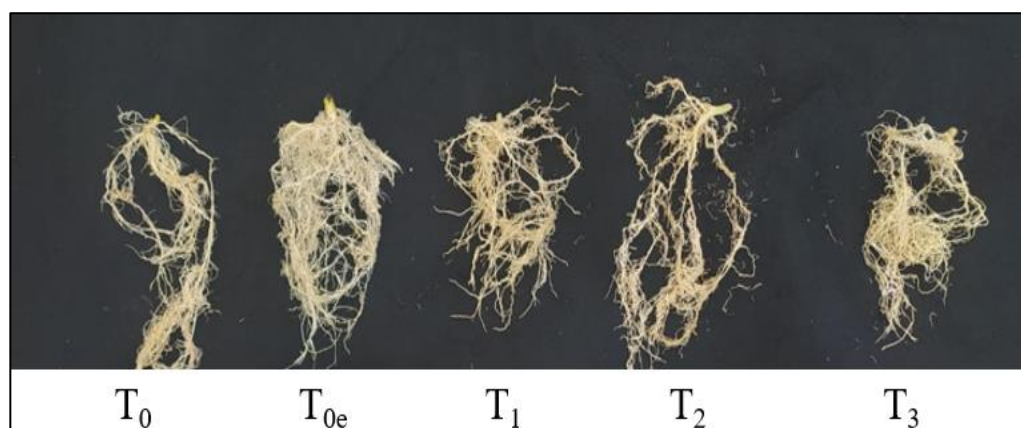
Por otro lado, Noda (2009) comenta que los hongos micorrízicos arbusculares incrementan el volumen de la raíz y permiten una mayor exploración de la rizosfera; y Riopedre *et al.* (2021) comentan que los hongos micorrízicos arbusculares constituyen una alternativa para contrarrestar el efecto tóxico causado por los metales pesados para las plantas, fitoestabilizando las concentraciones de estos elementos; debido a que en el trabajo se relacionó biosólido + *Glomus intraradices* (hongo micorrizico arbuscular) es posible que el contenido de algunos metales pesados que no fueron analizados del biosólido, a excepción de Niquel (metal pesado) a 13.923 ppm del biosólido haya sido absorbido y contrarrestando efectos tóxicos en la planta limitando el desarrollo de algunas partes de la planta como las raíces.

Otra posible razón por la que las raíces de los tratamientos conformados por biosólido no se desarrollaron adecuadamente es por la estructura del biosólido ya que puede que sus poros sean pequeños por lo que se compacta este producto, se comenta esto ya que antes de

analizar el volumen de raíz, se extrajeron las raíces de la mezcla de las macetas y se observaron pequeñas compactaciones en las raíces; por lo que según la FAO, la estructura del suelo afecta directamente varios factores y entre esos el crecimiento radicular, Botta *et al.* (2004); Håkansson y Reeder (1994); y Jorajuria *et al.* (1997) afirman, que la compactación del suelo ha sido durante mucho tiempo la causante de reducciones en el crecimiento de raíces y en el rendimiento de cultivos, y Haling *et al.* (2014) comentan que pelos radicales disminuyen su longitud cuando el diámetro de los poros del suelo es muy pequeño.

Obteniendo finalmente al T<sub>0e</sub> con mayor volumen radical debido a que es un tratamiento con una nutrición óptima, destacando en todas las partes de la planta como la raíz, y no obteniendo diferencias entre el volumen radical aun con los tratamientos 1,2 y 3 de distintos porcentajes del biosólido + *Glomus intraradices* y el T<sub>0</sub>.

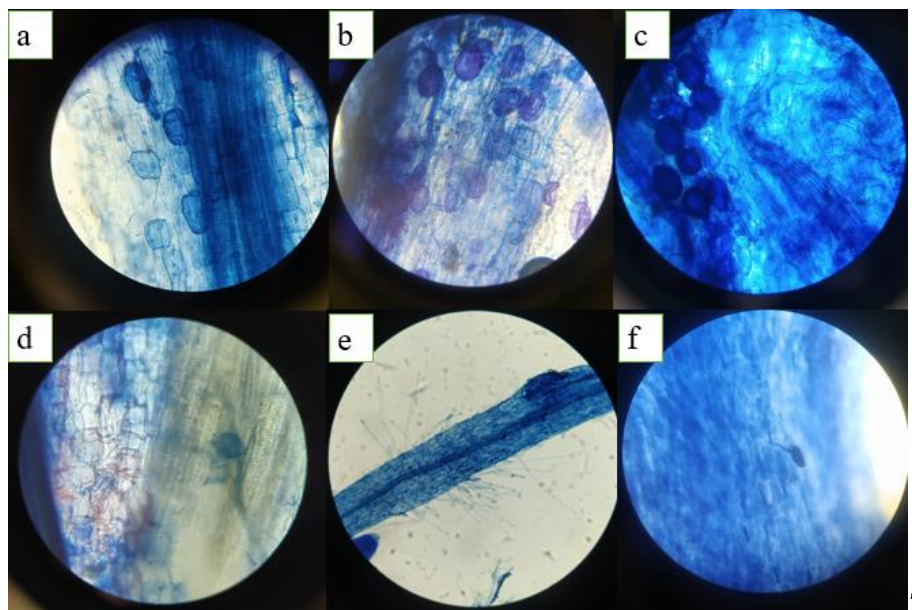
En la figura 30 se muestra el aspecto de las raíces de acuerdo con los resultados estadísticos, demostrando a T<sub>0e</sub> un mejor desarrollo y volumen radicular a diferencia de las otras.



**Figura 30. Volumen de las raíces de *Catharanthus roseus* donde se puede observar físicamente la diferencia de los tratamientos aplicados a los tantos días después del trasplante.**

### 8.8.-Colonización de *Glomus Intraradices*

En la figura 31 se puede observar mediante fotografías la presencia y colonización de micorriza mediante vesículas y micelio en las raíces de *Catharanthus roseus*; y en la tabla 11 el porcentaje estimado de colonización.



**Figura 31. Presencia de vesículas (a, b y c) Presencia de algunos micelios con alguna vesícula (d, e y f).**

El análisis estadístico para la variable porcentaje de colonización de micorriza en *Catharanthus roseus* mostro diferencias significativas entre las medias, donde se aprecia mediante la tabla 11 que el T<sub>1</sub> con 47.25 es diferente a los otros tratamientos, y el tratamiento 2, 3 y el T<sub>0</sub> son significativamente iguales.

Es importante destacar que existen hongos que pueden encontrarse en varios tipos de suelo y climas, teniendo un patrón de distribución mundial, el cual indica que están aparentemente, adaptados a diversos hábitats (Read, 1991; Finlay, 2008) por lo que en el suelo se pueden encontrar diversos hongos benéficos y se puede explicar por qué se encontró cierto porcentaje de colonización en el testigo, ya que fue un tratamiento compuesto de suelo.

**Tabla 12.**

Porcentaje de colonización de *Glomus intraradices* en las raíces de *Catharanthus roseus*.

| Tratamientos                                                 | % de colonización de micorriza |
|--------------------------------------------------------------|--------------------------------|
| T <sub>1</sub> (25% Biosólido + <i>Glomus intraradices</i> ) | 47.25 a                        |
| T <sub>2</sub> (35% Biosólido + <i>Glomus intraradices</i> ) | 36.38 b                        |
| T <sub>3</sub> (45% Biosólido + <i>Glomus intraradices</i> ) | 34.38 b                        |
| T <sub>0</sub> (K'ankab)                                     | 31.88 b                        |

De la Rosa (2009) trabajo con micorrizas arbusculares en *Catharanthus roseus* donde observo el porcentaje de colonización de distintas HMA, donde el tratamiento inoculado con el consorcio obtenido de *R. mexicanus*, fue el más alto presentando 35 % de colonización micorrizica, y los tratamientos *Glomus intraradices* y *Glomus* ZAC-19 exhibieron los valores más bajos de colonización, donde al final esto indica la respuesta de *Catharanthus roseus* a la inoculación de HMA, la cual es la medida por la formación de micorriza y colonización de los HMA en la raíz, de acuerdo con esto, los porcentajes de colonización de *Glomus intraradices* son menores comparando otros hongos micorrícicos arbusculares y no son muy altos con una sola aplicación en el cultivo, sin embargo, en este trabajo se realizaron 5 aplicaciones de la micorriza en el desarrollo del cultivo de *Catharanthus roseus*, por lo que los resultados de colonización de *Glomus intraradices* en las plantas con los distintos tratamientos, mostro porcentajes de 47.25 a 34.37, y son superiores al testigo.

Por otro lado, Salazar *et al.* (2019) comento que encontró una significativa disminución de la densidad de micelio a medida que aumenta la concentración de biosólido en relación con el testigo, y también que la densidad de esporas disminuye a medida que aumenta la concentración de biosólido al aplicarse en forma acumulativa, por lo que las dosis

de biosólido deben ser muy cuidadosas al aplicarse para no afectar la micorrización radicular; esto concuerda con los resultados obtenidos donde a mayor concentración de biosólido menor porcentaje de colonización de micorriza, ya que se puede observar que en el T<sub>1</sub> conformado por 25 % de biosólido + micorriza hay mayor porcentaje de colonización con 47.25, y en el T<sub>3</sub> conformado por 45 % de biosólido + micorriza se encuentra menor porcentaje de colonización con 34.375.

### 8.9.-Análisis de tejido vegetal de la planta (Rangos de suficiencia de nutrientes)

En los resultados del análisis de macronutrientes (Cuadro 12) se muestra las diferencias significativas, el análisis del N, no mostró diferencias significativas entre los tratamientos aplicados, sin embargo, la absorción de nitrógeno fue más alta en las plantas de T<sub>0e</sub> y en T<sub>0</sub> fue más bajo; en cuanto al fósforo (P) el análisis mostro que las plantas T<sub>1</sub> y T<sub>2</sub> son significativamente iguales pero diferentes a las plantas T<sub>0</sub>; el potasio (K) mostro que existe una gran diferencia significativa entre T<sub>0e</sub> y T<sub>1</sub>; el azufre (S) fue donde no se mostraron diferencias significativas entre los tratamientos; en el calcio (Ca) en el análisis T<sub>0</sub> y T<sub>0e</sub> no mostraron diferencias significativas pero son diferentes al T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> y T<sub>3</sub> donde estos significativamente iguales.

**Tabla 13.**

*Macronutrientes presentes en los tratamientos de la planta de Catharathus roseus.*

(mg-g-1)

|                 | %    | -----     | -----     | (mg-g-1) | -----     |
|-----------------|------|-----------|-----------|----------|-----------|
| Tratamiento     | N %  | P         | K         | S        | Ca        |
| T <sub>0</sub>  | 2.15 | 0.494 b   | 57.092 b  | 0.6285   | 37.32 a   |
| T <sub>0e</sub> | 2.43 | 0.6675 ab | 95.5955 a | 0.744    | 30.3215 a |
| T <sub>1</sub>  | 2.65 | 1.03 a    | 34.835 c  | 0.504    | 15.8215 b |
| T <sub>2</sub>  | 2.71 | 1.1545 a  | 47.279 bc | 0.5      | 19.22 b   |
| T <sub>3</sub>  | 2.68 | 0.9945 ab | 55.807 b  | 0.529    | 17.316 b  |

En los resultados del análisis de micronutrientes (Cuadro 13) se muestra los resultados de las diferencias significativas de estas, donde se muestra que en el Cl (cloro) en las plantas de  $T_0$  es diferente a  $T_2$  y  $T_3$ , el cobre (Cu) donde se observó que existe diferencia significativa con el  $T_1$ ,  $T_2$  y el  $T_{0e}$ ; , el hierro (Fe) y en el análisis mostro diferencias significativas entre  $T_0$  y  $T_2$ , pero  $T_{0e}$ ,  $T_1$  y  $T_3$  son significativamente parecidos; el manganeso (Mn) donde mostro que  $T_0$  y  $T_3$  son significativamente iguales pero son diferentes a  $T_{0e}$ ,  $T_1$  y  $T_3$ , finalmente el zinc (Zn) el análisis mostro que  $T_0$  y  $T_{0e}$  son diferentes a los otros tratamientos.

**Tabla 14.**

*Micronutrientes presentes en los tratamientos de la planta de Catharathus roseus.*

(mg-g-1)

| Tratamiento | Cl         | Cu       | Fe        | Mn       | Zn        |
|-------------|------------|----------|-----------|----------|-----------|
| $T_0$       | 12.802 a   | 0.034 ab | 2.263 a   | 0.73 a   | 0.2205 a  |
| $T_{0e}$    | 10.2745 ab | 0 b      | 1.6755 ab | 0.3805 b | 0.4175 c  |
| $T_1$       | 7.6315 bc  | 0.0255 b | 1.4515 ab | 0.2325 b | 0.2065 bc |
| $T_2$       | 6.7695 c   | 0.0285 b | 0.8415 ab | 0.343 b  | 0.2425 bc |
| $T_3$       | 6.4215 c   | 0.0765 a | 1.266 b   | 0.5725 a | 0.3625 ab |

Por otro parte, no se encontró un rango de suficiencia de los nutrientes en *Catharanthus roseus*, por lo que no se puede comprobar si los resultados son óptimos o presentó deficiencias o toxicidad; sin embargo, el testigo experimental ( $T_{0e}$ ) podría ser una base ya que es un tratamiento donde se utilizó una fertilización con la finalidad de ser una planta sana, donde visualmente no se observó carencias de nutrientes y al compararlo con los tratamientos de biosólido + *Glomus intraradices* eran plantas muy diferentes, por lo que es posible que se hayan presentado deficiencias de algunos nutrientes por cuestiones de antagonismo (Figura 32).

Por otro lado, Franco (2012) menciona que las micorrizas son tipos de hongos que proporcionan una simbiosis más abundante de la biosfera, que mejoran la absorción de agua y nutrientes de la raíz, de igual manera Smith y Read (2010) mencionan que como función principal de esta asociación simbiótica es el intercambio de nutrientes, donde, por un lado, la planta le da al hongo carbono adquirido vía fotosintética y por otro, el hongo ofrece principalmente nitrógeno y fósforo. Zavala (2011) dice que se ha encontrado que la presencia de las micorrizas favorece la absorción del fósforo en plantas que crecen sobre suelos ácidos o de baja a moderada fertilidad, lo mencionado por estos autores, concuerda con los resultados, ya que los tratamientos de biosólido + *Glomus intraradices*, presentaron niveles de nitrógeno y fósforo más altos a comparación de los tratamientos testigos.

Se trabajaron con concentraciones de 25 – 35 – 45 por ciento de biosólido, también por datos aun no publicados por Rodríguez (2026) donde trabajo con biosólido a concentraciones de 20 – 30 – 40 con ácido salicílico, mostró niveles más bajos de nutrientes y visualmente presento plantas más amarillas, por lo que el uso de micorrizas en la planta beneficia ligeramente en la absorción de nutrientes presentes del biosólido.



**Figura 32. Plantas de biosólido + *Glomus intraradices* donde visualmente se observa que hay carencia de algún nutriente.**

## IX.-CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El biosólido puede servir como una alternativa económica de fertilizantes o sustratos para los productores agrícolas, ya que aporta nutrientes en cantidades notables para la planta y la incorporación de *Glomus intraradices*, significó un aumento en el contenido de nutrientes en la planta.

El biosólido proporcionado por el Grupo Porcicola Mexicano S.A. KEKEN muestra niveles de pH de 7.25, mismas que si se conoce el requerimiento del cultivo pueden ser modificadas.

Los tratamientos de biosólido + *Glomus intraradices* respondieron moderadamente y donde se encontraron diferencias estadísticamente significativas, sin embargo, el T<sub>0e</sub> donde se utilizó una fertilización química obtuvo mejores resultados a los tratamientos constituidos por biosólido + micorriza, por lo que estos no sustituyen al rendimiento que te proporciona una planta de *Catharanthus roseus* fertilizada químicamente, sin embargo, el exceso de fertilizantes puede ocasionar infertilidad en los suelos entre otros riesgos ambientales, y en los últimos años el costo de los fertilizantes ha incrementado por lo que genera un impacto económico para los agricultores.

En las variables altura y materia fresca se registró una ligera ventaja en el tratamiento T2 (35 % de biosólido + *Glomus intraradices*), aunque, en diámetro, conductancia estomática, materia seca, área foliar, volumen de raíz y colonización de micorrizas, el tratamiento T1 (25 % biosólido + *Glomus intraradices*) tuvo mejor respuesta

En el tratamiento T3 (45 % + *Glomus intraradices*) donde hubo mayor cantidad de biosólido se observó una menor actividad microbiana; llegando a la conclusión que se pueden producir plantas al mezclar el biosólido + micorriza a cantidades iguales o menores a 25%

(129.75 g) en macetas de 6 in, más un complemento adicional como suelo o sustrato que también pueda aportar nutrientes para optimizar el contenido nutrimental de la planta.

Por otro lado, los tratamientos formados por biosólido respondieron moderadamente en comparación del testigo absoluto (Kankab).

## **X. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS**

Acosta de la L. L., & Rodríguez F. C. (2002). Instructivo técnico para el cultivo de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. Vicaria. Revista Cubana de Plantas Medicinales. Vol. 7 N.2 Recuperado de: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-479620020002000008&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-479620020002000008&lng=es&tlng=es)

Alvarado Dávila B. J. (2006) Tesis: Análisis económico de medio orgánico como alternativa a las mezclas comerciales utilizando turba para la producción de plantas ornamentales en tiestos. Universidad de Puerto Rico: Recinto Universitario de Mayagüez. Puerto Rico. Recuperado de: <https://www.proquest.com/openview/8e90b82f7a7f1fc56f92ac45bb39177f/1?pq-origsite=gscholar&cbl=18750&diss=y%20y%20https://scholar.uprm.edu/entities/publication/6c687ef7-c727-4f85-a359-050ce08a78f6>

Arteaga, R. A. M. (2015) Tesis: Evaluación del rendimiento en tomate (*Solanum lyvopersicum* L.) en invernadero bajo diferentes fuentes nutricionales. Universidad Autónoma Antonio Narro. México. Pp. 20 Recuperado de: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/6797/63420%20ART%20EAGA%20RESENDIZ,%20ANA%20MARIA%20%20TESIS.pdf?sequence=1>

Asociación gremial de exportadores de productos no tradicionales (2005) Hojas informativas del cultivo del cundeamor. Guatemala.

Bañuelos J., Sangabriel C. W., Gavito M. E., Trejo A. D., Camara S., Medel O. R. y Carreon A. Y. (2017) Efecto de diferentes niveles de fosforo en aguacate inoculado con hongos micorrízicos arbusculares. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Revista mexicana de ciencias agrícolas Vol. 8. Núm. 7. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/journal/2631/263153520004/html/>

Barrer E. S. (2009) El uso de hongos micorrízicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Vol. 7 N. 1 Colombia. Pp. 123-124 Recuperado de: <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v7n1/v7n1a14.pdf>

Bastida, A. (1999) El medio de cultivo de las plantas. Sustratos para hidroponía y producción de plantas ornamentales. Serie de Publicaciones AGRIBOT. Núm. 4 Universidad Autónoma Chapingo (UACH). México. Pp.72

Brofas, G. P.; Alifragis, D. (2000) Sewage sludge as an amendment for calcareous bauxite mine spoils reclamation. J. Environ. Qual. 29: 811–816. Referencia de: Utria B. E., Cabrera R. J. A., Reynaldo E. I. M., Morales G. D., Fernández A. M. y Toledo T. E. (2008) utilización agraria de los biosólidos y su influencia en el crecimiento de plántulas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) Revista Chapingo. Serie horticultura. Vol. 14 N. 1

Botta, G., Tolón-Becerra, A., Lastra-Bravo, X., Tourn, M., Balbuena, R., & Rivero, D. (2013). Continuous application of direct sowing: Traffic effect on subsoil compaction and maize (*Zea mays* L.) yields in Argentinean Pampas. Soil & Tillage Research, 134, 111-120. Referencia de: Martiren, V. S.; Fonterosa R. A.; Lastra, B. X. B.; Botta G. F. (2016) Compactación por el tráfico de la maquinaria agrícola: su efecto sobre el esfuerzo cortante del suelo y el rendimiento del cultivo de maíz (*Zea mayz* L.) Siembra 3

Camargo R. S. L., Montaña N. M., Rosa M. C. J. y Montaña A. S. A. (2012) Micorrizas: Una gran unión debajo del suelo. Revista Digital Universitaria. Vol. 13 N. 7. México. Pp. 3 Recuperado de: <http://www.revista.unam.mx/vol.13/num7/art72/art72.pdf>

Cogger, C.G.; Bary, A. I.; Fransen, S. C.; Sullivan, D. M. (2001) Siete años de aplicaciones de biosólidos versus nitrógeno inorgánico a la festuca alta. J. Environ. Qual. 30: 2188–2194. Referencia de: Utria B. E., Cabrera R. J. A., Reynaldo E. I. M., Morales G. D., Fernández A. M. y Toledo T. E. (2008) utilización agraria de los biosólidos y su influencia en el crecimiento de plántulas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) Revista Chapingo. Serie horticultura. Vol. 14 N. 1 Recuperado de: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1027-152X2008000100005](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-152X2008000100005)

Corniani, N. et al. (2006) Determinación del intercambio gaseoso y del potencial hídrico a través del uso de sistemas portátiles para la evaluación del estrés. En: Simposio Internacional de Iniciación Científica de la Universidad de San Paulo, 14. Referencia de: Aspiazu I., Sedyama T., Ribeiro JR. J. I., Silva A. A., Concennco G., Galon L., Ferreira E. A., Silva A. F., Borges E.T. y Araujo W. F. (2010) Eficiencia fotosintética y de uso del agua por malezas. Planta Daninha, Vicoso- MG. Vol. 28 N. 1 Pp. 87-92. Recuperado de: <https://www.scielo.br/j/pd/a/6sJBd3F6BrGvGK35YZRyPBt/?lang=es>

De la Rosa Mera, C. J. (2009) Tesis: Micorriza arbuscular y estrés abiótico en el contenido de alcaloides (vinblastina y vincristina) de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. Colegio de Postgraduados: Insitucion de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas. Pp. 52 – 53. Recuperado de: [http://colposdigital.colpos.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/10521/1303/Rosa\\_Mera\\_CJ\\_M\\_C\\_Edafologia\\_2009.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://colposdigital.colpos.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/10521/1303/Rosa_Mera_CJ_M_C_Edafologia_2009.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Díaz F. A., Alvarado C. M., Ortiz C. F. y Grageda C. O. (2013) Nutrición de la planta y calidad de fruto de pimiento asociado con micorriza arbuscular en invernadero. Revista

Mexicana de Ciencias Agrícolas. Vol. 4 N. 2. Pp.320. Recuperado de: [file:///C:/Users/1999c/Downloads/admin,+Editor a+de+la+revista,+315-321+Nota.pdf](file:///C:/Users/1999c/Downloads/admin,+Editor+a+de+la+revista,+315-321+Nota.pdf)

Faggioli V., Freytes G. y Galarza C. (2008) Las micorrizas en trigo y su relación con la absorción de fósforo del suelo. INTA EEA Marcos Juárez. Recuperado: [https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-relacin fsforo del suelo.pdf](https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-relacin_fsforo_del_suelo.pdf)

FAO. Propiedades físicas del suelo: estructura del suelo. Portal de suelos de la FAO. Recuperado de: <https://www.fao.org/soils-portal/soil-survey/propiedades-del-suelo/propiedades-fisicas/es/>

Fertilab Recuperado de: <https://www.fertilab.com.mx/Sitio/notas/NTF-18-004-SOLUCIONES-NUTRITIVAS.pdf>

Ferrer, C., San Miguel, A. & Olea, L. (2001). Nomenclátor básico de pastos en España. Vol. XXXI. N. 2 España. Pp.7-44.

Finlay R.D. 2008. Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. Journal of Experimental Botany, 59:1115-1126. Referencia de: Camargo, R. S. L.; Montaña, M. N.; De la Rosa, M. C. J. y Montaña, A. S. A. (2012) Micorrizas: Una gran unión debajo del suelo. Vol. 13 N. 7 Revista Digital Universitaria. Pp. 5 Recuperado de: <https://www.revista.unam.mx/vol.13/num7/art72/art72.pdf>

FIRA (1996) Consideraciones sobre el viverismo en el estado de Morelos. Apoyo tecnológico de fira boletín informativo. Retención de humedad. Libro de resúmenes de las VII jornadas del grupo de sustratos de la SECH. Pp. 289.

Garzón L. P. (2016) Importancia de las micorrizas arbusculares (MA) para un uso sostenible del suelo en la amazonia colombiana. Revista Luna Azul (On Line) N.42 Recuperado de: <http://www.scielo.org.co/pdf/luaz/n42/n42a14.pdf>

Gazete, R. (2001) Control de la Contaminación del suelo y reglamentos. No: 24609, Ankara. Referencia de: Utria B. E., Cabrera R. J. A., Reynaldo E. I. M., Morales G. D., Fernández A. M. y Toledo T. E. (2008) utilización agraria de los biosólidos y su influencia en el crecimiento de plántulas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) Revista Chapingo. Serie horticultura. Vol. 14 N. 1 Recuperado de: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1027-152X2008000100005](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-152X2008000100005)

George Edward. (1989) Farmacognosia 13ª edición. Trease. Pp 590 – 597. Recuperado de: [https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/01/877628/evaluacion-de-la-citotoxicidad-mediante-el-bioensayo-de-artemia\\_sra2iBx.pdf](https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/01/877628/evaluacion-de-la-citotoxicidad-mediante-el-bioensayo-de-artemia_sra2iBx.pdf)

González M. D., García L. A., Ceceña D. C., Grimaldo J. O., Aviles M. M., Pérez L. Y. Álvarez G. P. (2015) Hongos micorrizicos arbusculares y sus efectos en el crecimiento de diferentes cultivares de *Capsicum annuum* L. Revista Internacional de botánica experimental. ΦYTON 84 (1) Recuperado de: <http://www.scielo.org.ar/pdf/phyton/v84n2/v84n2a12.pdf>

Haling, R. E., L. K. Brown, A. G. Bengough, T. A. Valentine, P. J. White, I. M. Young, and T. S. George. 2014. Root hair length and rhizosheath mass depend on soil porosity, strength and water content in barley genotypes. *Planta* 239: 643-651. Referencia de: Pire Reinaldo y Pereira A. (2018) Tamaño de los poros del suelo y crecimiento de raíz y vástago del chile jalapeño (*Capsicum annuum* L.) Agrociencia. México. Vol. 52 N. 5. Recuperado de: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-31952018000500685#:~:text=Incluso%2C%20los%20pelos%20radicales%20disminuyen,puede%20representar%20una%20barrera%20f%C3%ADsica](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952018000500685#:~:text=Incluso%2C%20los%20pelos%20radicales%20disminuyen,puede%20representar%20una%20barrera%20f%C3%ADsica)

Heitz H. (1994) Plantas de interior. Editorial Everest. España. Pp. 101

Hernández, A. E.; Trejo, A. D.; Rivera, F. A. y Ferrera, C. R. (2020) La micorriza arbuscular como biofertilizante en cultivo de café. *Terra Latinoamericana Número Especial* 38 – 3: 613 – 628. Recuperado de: <https://www.scielo.org.mx/pdf/tl/v38n3/2395-8030-tl-38-03-613-en.pdf>

Jurado, G. P.; Domínguez, C. H.; Melgoza, C. A; Morales, N. C. (2012) Emergencia y crecimiento del zacate banderilla (*Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr.) con biosólidos en condiciones de sequía. *TECNOCENCIA Chihuahua*. Vol. 6 N. 1 Pp. 63. Recuperado de: <https://vocero.uach.mx/index.php/tecnociencia/article/view/688/761>

Kramer, P.J. (1974) Relaciones hídricas de suelos y plantas: una síntesis moderna. Edutex S.A. México 12, D.F. P. 538. Referencia de: Gomez Restrepo, M. L. (1998) Medición de diferentes parámetros relacionados con el estrés hídrico en las plantas. XXXV Curso Internacional de Edafología y Biología Vegetal. Recuperado de: [file:///C:/Users/1999c/Downloads/Medicion\\_diferentes\\_parametros%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/1999c/Downloads/Medicion_diferentes_parametros%20(1).pdf)

Ley, R. J. F.; Sánchez, J. A.; Ricardo, N. E.; Collazo E. (2015) Efecto de cuatro especies de hongos micorrizogenos arbusculares en la producción de frutos de tomate. *Agronomía Costarricense* Vol. 39 N. 1. Recuperado de: <https://www.scielo.sa.cr/pdf/ac/v39n1/a04v39n1.pdf>

López T. G., Lira S. R. y Méndez A. B. (2016) Medición de intercambio gaseoso, Área foliar e índice de clorofila en plantas elicitadas con nanopartículas. Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA) Saltillo, Coahuila. México. Pp. 119. Recuperado: <https://ciqa.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1025/338/1/Medici%C3%B3n%20de%20Intercambio%20Gaseoso%2C%20%C3%81rea%20Foliar%20e%20%C3%8Dndice%20de%20Clorofila%20en%20Plantas%20Elicitadas%20con%20Nanopart%C3%ADculas.pdf>

Martínez, M.F. (1994) Retención de humedad. Libro de resúmenes de las VII jornadas del grupo de sustratos de la SECH. NAVES-BARBIERO, C. C. et al. Fluxo de seiva e condutância estomática de duas espécies lenhosas sempre-verdes no campo sujo e cerrado. *R. Bras. Fisiol. Veg.* Vol. 12 N.1. España. Pp. 119-134.

Montero Rosado C. T. (2017) Tesis: utilización de biosólidos para la germinación y desarrollo de *Citrus aurantium*. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias Campus Tuxpan. Universidad Veracruzana. México. Recuperado de: [https://www.uv.mx/pozarica/mca/files/2019/05/G05\\_CAROLINA-TRINIDAD-MONTERO-ROSADO.pdf](https://www.uv.mx/pozarica/mca/files/2019/05/G05_CAROLINA-TRINIDAD-MONTERO-ROSADO.pdf)

Montes R., G.; S. Jiménez; H.y Solís G. 2005. Lodos Residuales Compostados: Una Alternativa de Sustrato para la Producción de Planta de *Agave durangensis*. *Revista Agrofaz.* Vol. 5 N.1 Pp. 683-688. Recuperado de: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/3612/T05442%20MORALES%20LOPEZ%2C%20JESUS%20JOAQUIN%20%20%20TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Moreno Hernández, M. R. (2022) Tesis: Inoculación de hongo micorrizico arbuscular (*Glomus intraradices*) durante la aclimatización de plántulas de caña de azúcar. Institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas. Campus Córdoba. Colegio de Postgraduados. México. Pp. 27. Recuperado: [http://colposdigital.colpos.mx:8080/jspui/bitstream/10521/4841/1/Moreno\\_Hernandez\\_MR\\_MC\\_IAS\\_2022.pdf](http://colposdigital.colpos.mx:8080/jspui/bitstream/10521/4841/1/Moreno_Hernandez_MR_MC_IAS_2022.pdf)

Morales L. J. J. (2006) Tesis: Caracterización, corrección de problemas y uso como sustrato de biosólidos generados en “embotelladora el Carmen”. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Mexico. Pp. 10. Recuperado de:

<http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/3612/T05442%20MORALES%20LOPEZ%2C%20JESUS%20JOAQUIN%20%20%20TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Morales J. F. (2009) Estudios en las Apocynaceae neotropicales XXXIX: revisión de las Apocynoideae y Rauvolfioideae de Honduras. Anales del Jardín Botánico de Madrid. Vol. 66 Núm. 2 España Pp. 230 Recuperado de:  
<https://www.redalyc.org/pdf/556/55612913004.pdf>

Navarro Franco. (2012) Efectos beneficiosos de las micorrizas sobre las plantas. Biocripts. Pp. 3. Recuperado de:  
[https://www.ciaorganico.net/documypublic/200\\_infoagronomo.net\\_Micorrizas-beneficios.pdf](https://www.ciaorganico.net/documypublic/200_infoagronomo.net_Micorrizas-beneficios.pdf)

Noda, Y. J. P. y F. (2009) Las micorrizas: Una alternativa de fertilización ecológica en los pastos. 32 (2): 1 Referencia de: Hernández González C. L. (2019) Tesis: Selección de plantas hospederas y el efecto de la solución Steiner baja en fosforo para la producción de inoculo de hongos micorrizicos arbusculares resistentes a salinidad. México. Pp. 1. Recuperado de:  
<http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/46919/Carmi%20Leticia%20Hernandez%20Gonzalez.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002 Recuperado de:  
[https://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=691939&fecha=15/08/2003#gsc.tab=0](https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=691939&fecha=15/08/2003#gsc.tab=0)

Obreza T. y O'Connor G. (2009) The basics of biosolids land application to land in Florida. Soil and Water Science Department. University of Florida. Estados Unidos. SL 205. Pp.1. Recuperado de: <http://ufdcimages.uflib.ufl.edu/IR/00/00/31/87/00001/SS42400.pdf>

Ordoñez, C. Y. M.; Ceballos, R. I. C. y Rodríguez V. A. (2021) Efecto de la inoculación con *Rhizophagus irregularis* y de la fertilización fosfatada sobre la comunidad local de hongos formadores de micorrizas arbusculares. Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial. Vol. 19 N. 2 Pp. 184 – 200. Recuperado:  
[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1692-35612021000200184](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612021000200184)

Padrón C. A. M., Villanueva C. E., Cristobal A. J., Garruña H. R. y Moo K. F. A. (2021) Tesis: Sustratos inoculados con *Trichoderma asperellum* (Ta13-17) en la nutrición de *lisianthus* (*Eustoma graniflorum* | Raf. | Shinn) TecNM Campus Conkal. México

Ramos Z. J. A., Marrufo Z. D., Guadarrama C. P. y Carrillo S. L. (2011) Biodiversidad: Hongos micorrízico-arbusculares. Pp. 176 Recuperado de: <http://www.cicy.mx/Documentos/CICY/Sitios/Biodiversidad/pdfs/Cap4/07%20Hongos%20micorrozicos.pdf>

Read D.J. 1991. Mycorrhizas in ecosystems. *Experientia*, 47:376-391. Referencia de: Camargo, R. S. L.; Montaña, M. N.; De la Rosa, M. C. J. y Montaña, A. S. A. (2012) Micorrizas: Una gran unión debajo del suelo. Vol. 13 N. 7 Revista Digital Universitaria. P. 5 Recuperado de: <https://www.revista.unam.mx/vol.13/num7/art72/art72.pdf>

Riveros, R. (2002) Efectos del riego deficitario controlado sobre la producción y la calidad del fruto en uva de mesa (sultanina). Tesis Ing. Agr. Santiago. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. 54 p. Referencia de: López Ríos, V. A. (2005) Tesis: Respuestas fisiológicas en uva de mesa cultivar crimson seedless sometidas a déficit hídrico. Facultad de Ciencias Agronómicas. Escuela de Agronomía. Universidad de Chile. Pp. 11 Recuperado de: [https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/101758/lopez\\_v.pdf?sequence=4](https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/101758/lopez_v.pdf?sequence=4)

Riopedre, G. T.; Delgado, A. A.; Cabrera, R. J. A.; Cartaya, R. O. E. (2021) Relacion entre metales pesados y los hongos formadores de micorrizas arbusculares. *CULTROP Online*. Vol. 42 N. 4. Recuperado de: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-59362021000400014](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362021000400014)

Rodríguez, M., Alcántar, G., Aguilar, A., Etchevers, J. y Santizó, J. (1998) Estimación de la concentración de nitrógeno y clorofila en tomate mediante un medidor portátil de clorofila. *Terra Latinoamericana* abril-junio: 135-141. Referencia de: Montero Rosado C. T. (2017) Tesis: utilización de biosólidos para la germinación y desarrollo de *Citrus aurantium*. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias Campus Tuxpan. Universidad Veracruzana. México. Pp. 67. Recuperado de: [https://www.uv.mx/pozarica/mca/files/2019/05/G05\\_CAROLINA-TRINIDAD-MONTERO-ROSADO.pdf](https://www.uv.mx/pozarica/mca/files/2019/05/G05_CAROLINA-TRINIDAD-MONTERO-ROSADO.pdf)

Rose, R., M. Atkinson, J. Gleason, and T. Sabin. 1991. Root volume as a grading criterion to improve field performance of Douglas-fir seedlings. *New For.* 5: 195-209. Referencia de: Córdoba, R. D.; Vargas, H. J. J.; López, U. J. y Muñoz O. A. (2011) Crecimiento de la raíz en plantas jóvenes de *Pinus pinceana* Gordon en respuesta a la humedad del suelo. *AGROCIENCIA*. Vol. 45 N. 4 Pp. 502. Recuperado de: <https://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v45n4/v45n4a8.pdf>

Salazar, Q. I. T.; Cornejo, R. P.; Alvear, Z. M. y Baraona, V. J. (2019) Efecto de la aplicación en un suelo de varias dosis de biosólido sobre la actividad microbiana, la densidad de

micelios y esporas de hongos micorrícicos arbusculares. Recuperado de: <https://aidisnet.org/wp-content/uploads/2019/07/397-Peru-oral.pdf>

Sánchez B. F. (2006) Agropecuaria Laguna Coahuila México. México. Pp. 14

Schubler A., Schwarzitt D., Walker A. (2001) A new phylum the Glomeromycota Phylogeny and evolution. Mycological Research, 105 (12). Pp. 1413 – 1421.

Steiner, A.A. 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. Plant and Soil. Vol. 15 N. 2 Pp. 134 Recuperado de: [https://www.nutricaoodeplantas.agr.br/site/downloads/unesp\\_jaboticabal/Manual\\_Soln\\_Nutritivas.pdf](https://www.nutricaoodeplantas.agr.br/site/downloads/unesp_jaboticabal/Manual_Soln_Nutritivas.pdf) & <https://www.jstor.org/stable/42931931>

Smith, S.E., y Read, D.J. (1997). Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press, London. Pp. 209-218.

Téllez P. B. (2007). Efecto del sustrato en la calidad de Petunias (*Petunia x hybrida*) y Vincas (*Vinca spp*) cultivadas en maceta bajo condiciones de la Comarca Lagunera. Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”. México. Pp. 1, 12-17. Recuperado de: [http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/2237/1189\\_BENITO%20TELLEZ%20PAREDES.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/2237/1189_BENITO%20TELLEZ%20PAREDES.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Trinidad S. A. (2002) Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Subsecretaría de Desarrollo Rural. Dirección General de Apoyos para el Desarrollo Rural. Sistema de Agronegocios. Abonos orgánicos. Instituto de Recursos Naturales. Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo.

Urbina. S. E., Baca C. G. A., Nuñez E. R., Colinas L. M. T., Tijerina C. K. y Tirado T. J. L. (2011) Zeolita como sustrato en el cultivo hidropónico de gerbera. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo A. C. Terra Latinoamericana. México. Vol. 29 N.4 Pp. 387

Utría B. E., Cabrera R. J. A., Reynaldo E. I. M., Morales G. D., Fernández A. M. y Toledo T. E. (2008) utilización agraria de los biosólidos y su influencia en el crecimiento de plántulas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) Revista Chapingo. Serie horticultura. Vol. 14 N. 1 Recuperado de: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1027-152X2008000100005](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-152X2008000100005)

Vibrans, H. (Eds.). (2009) *Catharanthus roseus*. Malezas de México. Recuperado de: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/apocynaceae/catharanthusroseus/fichas/ficha.htm>

World Fertilizer use Manual (1992) IFA, París. Francia. pp. 632. Recuperado de: <http://www.fertilizer.org>, también disponible en versión CD

Zavala, F. J. (2011). Rendimiento del sorgo con micorriza y fertilización química. Trabajo de grado, Ingeniería Agrónoma. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Uruapan. Recuperado de: Garzon Lina P. (2015) Importancia de las micorrizas arbusculares (ma) para un uso sostenible del suelo en la amazonia colombiana. Revista Luna Azul. N. 42 Colombia. Pp. 217-234

## ANEXOS

### ANEXO 1.- Tinción de raíces (Phillips and Hayman, 1970)

#### **Materiales:**

Azul de tripano

Hidróxido de potasio (KOH) al 10%

Agua oxigenada al 30% (peróxido de hidrogeno al 30%)

Ácido clorhídrico (HCL) al 10%

Vaso precipitado de cristal y capacidad de 1L

Casetes de tinción, inclusión o tela tipo gasa, hilo

Guantes de tela (para agarrar objetos calientes)

Microondas

#### **Procedimiento:**

1.-Lavar las raíces con agua corriente hasta eliminar el suelo presente en estas.

Posteriormente, cortar secciones de raíces de aproximadamente de dos a tres cm de largo y depositarlas en los casetes de tinción cerrarlos y etiquetar.

2.-Depositar los casetes que contiene las raíces en un vaso de precipitado y agregar KOH al 10% hasta cubrir estos y meterlos al microondas de tres a cinco minutos.

Transcurrido el tiempo retirar el KOH y enjuagar con agua corriente.

3.-Agregar agua oxigenada al 30%, a los casetes con las raíces y meter al microondas por un tiempo de dos minutos. Transcurrido el tiempo retirar el agua oxigenada y enjuagar con agua corriente.

4.-Agregar HCL al 30%, a los casetes con las raíces y dejar reposar por cinco minutos. Transcurrido este tiempo eliminar el HCL y NO enjuagar.

5.-Incorporar el azul de tripano a los casetes que contiene las raíces y dejar reposar 24 h.

Nota. Todos los reactivos pueden ir en frascos transparentes, etiquetados y cerrados. Posterior al uso de los reactivos se regresan al mismo frasco NUNCA TIRARLOS a la tarja del laboratorio. Los reactivos preparados se pueden reutilizar para procesar otras muestras y se desechan de acuerdo con las normas de almacenamiento de residuos.

## **ANEXO 2.- Montaje de raíces y cuantificación de colonización (McGonigle et al., 1990)**

### **Materiales:**

Pinzas relojero

Tijeras

Caja Petri

Tiras de papel estraza

Porta objetos

Cubre objetos

Etiquetas pequeñas

Solución PVLG

Guantes de nitrilo

**Procedimiento:**

1.-Retirara el azul de metileno de las raíces teñidas y enjuagarlas con agua corriente hasta eliminar el exceso de colorante y ponerlas a escurrir por periodo de 15-20 min.

2.-Depositar las raíces en una caja Petri y con la ayuda de pinzas separarlas, tomar cada sección de raíz y montarlas en una porta objetivo, realizar el mismo procedimiento hasta tener 10 secciones de raíz por portaobjeto.

3.-Con la ayuda de papel estraza presionar las raíces y ablandarlas, retirar el papel e incorporar de dos a tres gotas de PVLG y enseguida poner el cubreobjeto. Etiquetar la muestra.

4.-Dejar secar las muestras a temperatura ambiente durante el transcurso de una semana o meterlas a la estufa a de secado a una temperatura de 50-60°C por 24 horas (47°C durante 72 h).

5.-Observar las preparaciones con el microscopio óptico. Comenzar por uno de los extremos de la preparación, en unos de las puntas del primer segmento. A partir de ahí se debe mover la platina hacia el resto de los segmentos de la raíz y hacer las observaciones a 10X. Al llegar al segmento de la raíz del extremo opuesto al que comenzó, mover la planta hacia la parte media de la raíz y repetir el procedimiento hasta cubrir toda el área de la muestra.

### **ANEXO 3.-Realización del análisis de nitrógeno, método kjeldahi.**

#### **Objetivo:**

Desarrollar el procedimiento del análisis de nitrógeno total en muestras foliares, mediante el método kjeldahi.

#### **Alcance:**

El presente procedimiento permite determinar el contenido de nitrógeno total en forma de amonio de las muestras foliares, en base a este obtener el porcentaje de proteína.

#### **Equipo:**

- 1.-Balanza analítica con precisión de 0.1 mg.
- 2.-Balanza granataria con precisión de 0.1 g.
- 3.-Placa de calentamiento con regulador de temperatura.
- 4.-Digestor con capacidad de 25 tubos y regulador de temperatura.
- 5.-Campana de extracción de humos.
- 6.-Bomba de vacío.
- 7.-Destilador rápido.

#### **Materiales:**

- 1.-Pipetas volumétricas de 3.5 pyrex clase “A” o similar.
- 2.-Vasos de precipitado de 50, 100, 250, 1000 y 2000 ml pyrex clase “A” o similar.
- 3.-Probetas graduadas de 50, 100 ml

- 4.-Matraces Erlenmeyer de 250 ml pyrex clase “A” o similar.
- 5.-Matraces volumétricos de 50, 100, 500, 1000 y 2000 pyrex clase “A” o similar
- 6.-Tubos de digestion de 300 ml pyrex.
- 7.-Gradillas para tubos de digestión con capacidad de 25 tubos.
- 8.-Bureta de 25 ml pyrex clase “A” o similar

**Reactivos:**

- 1.-Agua destilada. (21 L)
- 2.-Ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) QP grado reactivo.
- 3.-Mezcla reactiva de selenio.
- 4.-Ácido salicílico QP.
- 5.-Hidroxido de sodio ( $\text{NaOH}$ ) grado reactivo.
- 6.-Ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) QP.
- 7.-Rojo de metilo.
- 8.-Carbonato de sodio anhidro ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )
- 9.-Ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 0.1 Normal.
- 10.-Anaranjado de metilo.

**Procedimiento:**

- 1.-Pesar aproximadamente y con precisión 0.5 g de muestra.

2.-Acondicionar 1 g del catalizador mezcla reactiva de selenio.

3.-Agregar con cuidado y por las paredes del tubo 15 ml de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )

QP.

4.-Correr blancos de reactivos.

5.-Colocar los tubos en el digestor y calentar hasta que la solución se torne transparente ( $150^\circ\text{C}$  a  $400^\circ\text{C}$ )

6.-Dejar enfriar y destilar.

#### **Destilación:**

1.-En un matraz Erlenmeyer de 250ml, añadir 35ml de ácido bórico más 3 gotas del indicador rojo de metilo y colocarlo en el tubo de salida del destilado.

2.-Colocar el tubo en el destilador.

3.-Agregar exactamente 70ml de hidróxido de sodio al 32% ( $\text{NaOH}$ ).

4.-Iniciar el calentamiento.

5.-Recolectar 150ml del destilado en un matraz Erlenmeyer de 250ml que contenga ácido bórico más 3 gotas del indicador rojo de metilo.

6.-Retirar el matraz y el tubo del destilador.

7.-Enjuagar el sistema de destilación colocando un tubo solo con agua e iniciar el proceso de destilado por 2 minutos.

#### **Titulación:**

1.-Enjuagar la bureta con la solución de ácido sulfúrico 0.1 N.

2.-Llenar a bureta y aforar procurando que el menisco que forma la solución roce la raya que marca el inicio en la bureta.

3.- iniciar el goteo con la solución de ácido sulfúrico 0.1N.

4.-Agitar durante el goteo de manera circular el matraz Erlenmeyer.5.-Terminar el goteo cuando se del vire a un color violeta tenue.

6.-Leer cuanto fue el volumen gastado en la titulación de la muestra.

### **Cálculos:**

Calcular el porcentaje en nitrógeno por medio de la siguiente formula:

$$\% \text{ Nitrógeno} = (G-B) (0.014) (N) \times 100 / g \text{ muestra}$$

Donde:

G= Gasto en ml de ácido sulfúrico en la titulación

B= Gasto en ml de ácido sulfúrico en la titulación

0.0014 = Miliequivalente de nitrógeno.

N= Normalidad del ácido sulfúrico.

g= Gramos de la muestra.

### **Cálculo de proteína:**

Para estimar el contenido de proteína de una muestra, solo se multiplica el porcentaje de nitrógeno obtenido por el factor de conversión 6.25 que indica que cada unidad de nitrógeno contiene 6.25 unidades de proteína.