



Evaluación del potencial de bioactividad de hongos ligninolíticos silvestre de la biodiversidad de la región de Urabá para la degradación de glifosato como alternativa de recuperación de suelos de explotación agrícola

Luis Felipe Giraldo Guzmán

Para optar por el título de Ingeniero Bioquímico

Asesor

MSc. Mauricio José Sierra Bautista

Universidad de Antioquia

Facultad de Ingeniería

Ingeniería Bioquímica

Carepa Antioquia

2024

| | |
|----------------------------|--|
| Cita | (Giraldo Guzmán L, 2024) |
| Referencia | Giraldo Guzmán, L, (2024). <i>Evaluación del potencial de bioactividad de hongos ligninolíticos silvestre de la biodiversidad de la región de Urabá para la degradación de glifosato como alternativa de recuperación de suelos de explotación agrícola</i> . [Proyecto de investigación]. Universidad de Antioquia, Medellín. |
| Estilo APA 7 (2020) | |



Grupo de Investigación Malaria



Centro de Documentación Ingeniería (CENDOI)

Repositorio Institucional: <http://bibliotecadigital.udea.edu.co>

Universidad de Antioquia - www.udea.edu.co

Rector: John Jairo Arboleda Céspedes.

Decano/director: Adriana Patricia Echavarría Isaza.

Jefe departamento: Farlan Taborda Agudelo

El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Antioquia ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por los derechos de autor y conexos.

Dedicatoria

A mi madre, por ser mi mayor inspiración y guía. Tu amor incondicional, esfuerzo y enseñanzas han sido el motor que me ha impulsado a alcanzar este logro. Este trabajo es tanto tuyo como mío.

A mi novia, por tu paciencia, comprensión y apoyo en los momentos más difíciles. Tus palabras de ánimo y confianza en mí me han motivado a seguir adelante, incluso cuando el camino parecía complicado.

A mi familia, por su respaldo inquebrantable y por creer siempre en mis capacidades.

Gracias por enseñarme el valor del esfuerzo y la perseverancia.

A mis amigos, por estar a mi lado en este viaje. Sus risas, consejos y compañía han sido un alivio y un recordatorio de que el éxito se disfruta más cuando se comparte.

A todos ustedes, dedico con gratitud y amor este logro, que no habría sido posible sin su apoyo.

Agradecimientos

En primer lugar, agradezco a Dios, quien ha sido mi guía y fortaleza en cada etapa de este proceso. Su luz y sabiduría me han acompañado en los momentos de desafío y han permitido que hoy alcance esta meta tan importante en mi vida.

A mi madre, Ana Deyci Guzmán Rengifo, mi mayor apoyo y ejemplo de dedicación. Gracias por tu amor incondicional, tus sacrificios y por enseñarme que con esfuerzo y fe todo es posible. Este logro es un reflejo de todo lo que me has dado.

A mi asesor de tesis, Mauricio Jose Sierra, por sus palabras sabias, enseñanzas y compromiso. Gracias por compartir sus conocimientos, por confiar en mi trabajo y por orientarme hacia la excelencia académica durante este proyecto.

A los profesores que me acompañaron durante mi formación, especialmente a Natalia Gómez, Juliana Romo, Estela Monsalve, Jerónimo Osorio, por inspirarme y transmitirme el amor por la ciencia y la investigación. Su apoyo ha sido fundamental para que desarrollara las habilidades necesarias para completar este trabajo.

A mi familia en general, gracias por su constante motivación, comprensión y aliento. Sus palabras y compañía me dieron la fuerza para superar los obstáculos y seguir adelante.

Gracias a mi novia Mariana Álvarez quien me apoyo desde el primer momento y me motivo a no desfallecer en este sueño.

A mis amigos y compañeros de carrera e investigación Juan Cantillo y en especial Yasser Torres por compartir y ayudarme desde el nivel cero en esta gran experiencia de vida la cual aún no termina.

Gracias a mis amigos cercanos, Juan Medina, Luis López, Mauricio Salazar, y Jhoan Carmona, Alejandra Baena quienes me motivaron a estudiar ingeniería en la universidad de Antioquia creyendo en mis capacidades.

Gracias a las personas que hicieron posible esta experiencia única e inigualable, mis amigos de la corte 2018 con quienes emprendí y disfruté esta historia.

Finalmente, a todas las personas que, de una u otra manera, contribuyeron a la realización de este proyecto, les extiendo mi más sincero agradecimiento.

Tabla de contenido

| | |
|---|----|
| Resumen | 12 |
| Abstract..... | 13 |
| Introducción..... | 14 |
| 1 Objetivos..... | 19 |
| 1.1. Objetivo general | 19 |
| 1.2. Objetivos específicos..... | 19 |
| 2 Marco teórico | 20 |
| 2.1. Contexto de la contaminación por Glifosato | 20 |
| 2.2. Biorremediación..... | 20 |
| 2.3. Biodiversidad | 21 |
| 2.4. Taxonomía de hongos..... | 21 |
| 2.5. Macromoléculas principales de los hongos | 22 |
| 2.6. Características y enzimas de degradación de lignina | 22 |
| 2.7. Potencial de degradación de herbicidas y contaminantes..... | 23 |
| 2.8. Enzima Lacasa en la remediación ambiental..... | 24 |
| 2.9. Relación entre actividad antioxidante y remediación de tóxicos..... | 24 |
| 2.10. Métodos de aprovechamiento | 25 |
| 2.11. Residuos agroindustriales | 25 |
| 3 Metodología | 28 |
| 3.1. Búsqueda y recolección de cepas fúngicas..... | 28 |
| 3.2. Aislamiento de cepas fúngicas | 28 |
| 3.3. Propagación in vitro y obtención de micelio vegetativo..... | 29 |
| 3.4. Preparación de la semilla fúngica..... | 29 |

| | | |
|--------|--|----|
| 3.5. | Ensayo de crecimiento micelar en presencia de glifosato | 29 |
| 3.5.1. | Determinación de la dinámica del crecimiento micelial..... | 30 |
| 3.6. | Cultivo en medio líquido y evaluación de la actividad enzimática | 30 |
| 3.7. | Método para la medición de actividad enzimática Lacasa | 31 |
| 3.7.1. | Preparación de medio (STBC)..... | 31 |
| 3.7.2. | Preparación de reactivos..... | 31 |
| 3.7.3. | Cuantificación de lacasa (U/L) | 31 |
| 3.8. | Segunda generación de cepas adaptadas al glifosato..... | 32 |
| 3.9. | Ensayo de fitotoxicidad con semillas de pepino..... | 32 |
| 3.9.1. | Análisis estadístico del índice de germinación en semillas de pepino | 33 |
| 4 | Resultados | 34 |
| 4.1. | Recolección de hongos lignocelulósicos silvestres | 34 |
| 4.2. | Aislamiento de cepas fúngicas | 38 |
| 4.3. | Propagación in vitro y obtención de micelio vegetativo..... | 40 |
| 4.4. | Preparación de la semilla fúngica..... | 42 |
| 4.5. | Crecimiento micelar en presencia de glifosato | 43 |
| 4.5.1. | Regresión No Lineal para la verificación del modelo utilizado | 48 |
| 4.6. | Evaluación de la actividad enzimática..... | 49 |
| 4.7. | Ensayo de fitotoxicidad con semillas de pepino..... | 52 |
| 4.7.1. | Análisis estadístico del índice de germinación en semillas de pepino | 57 |
| 5 | Conclusiones | 60 |
| 6 | Recomendaciones..... | 61 |
| | Referencias | 62 |
| | Anexos..... | 67 |

Lista de tablas

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Resultados del aislamiento de las cepas fúngicas..... | 38 |
| Tabla 2. Propagación micelar in vitro de las tres cepas fúngicas con potencial bioactivo | 40 |
| Tabla 3. formación de la semilla fúngica para las tres cepas fúngicas con potencial biológico.... | 42 |
| Tabla 4. Crecimiento micelar de cepas en presencia de glifosato | 43 |
| Tabla 5. Semillas de pepino germinadas con 10 % de glifosato cuando tiene el hongo 3 como biorremediador..... | 52 |
| Tabla 6. Semillas de pepino germinadas con 20 % de glifosato cuando tiene el hongo 3 como biorremediador..... | 53 |
| Tabla 7. Semillas de pepino germinadas con 30 % de glifosato cuando tiene el hongo 3 como biorremediador..... | 53 |
| Tabla 8. Semillas de pepino germinadas con 10 % de glifosato cuando no tiene el hongo 3 como biorremediador..... | 54 |
| Tabla 9. Semillas de pepino germinadas en control cuando tiene un 10 % glifosato sin el hongo | 55 |
| Tabla 10. Resultados de índice de germinación de semilla de pepino para cada tratamiento | 56 |
| Tabla 11. Análisis estadístico | 58 |

Lista de figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1. Estructura molecular de la lignina..... | 22 |
| Figura 2. Estructura molecular de la sal de glifosato isopropilamina..... | 24 |
| Figura 3. H1: Hongo característico del raquis de palma de aceite | 34 |
| Figura 4. H2: Hongo leñoso característico por su tonalidad blanca y forma de sombrilla..... | 34 |
| Figura 5. H3: Hongo de pudrición de la madera (árbol de mango)..... | 34 |
| Figura 6. H4: Hongo repisa de pudrición blanca de la madera | 35 |
| Figura 7. H5: Hongo de pudrición de la hoja del árbol de yarumo | 35 |
| Figura 8. H6: Hongo de pudrición de la palma de coco | 36 |
| Figura 9. H7: Hongo de pudrición de la madera | 37 |
| Figura 10. H8: Hongo velo de novia. | 37 |
| Figura 11. H9: Hongo de pudrición de tronco de ceiba | 37 |
| Figura 12. Cepas con abundante crecimiento micelar..... | 38 |
| Figura 13. Cepas con contaminación cruzada | 39 |
| Figura 14. Cepas con poco crecimiento micelar | 40 |
| Figura 15. Propagación in vitro H1 | 41 |
| Figura 16. H1..... | 41 |
| Figura 17. Propagación in vitro H3 | 41 |
| Figura 18. H3..... | 41 |
| Figura 19. Propagación in vitro H4..... | 41 |
| Figura 20. H4..... | 41 |
| Figura 21. Formación de la semilla H1 | 42 |
| Figura 22. Formación de la semilla H3 | 42 |
| Figura 23. Formación de la semilla H4 | 43 |

| | |
|--|----|
| Figura 24. Crecimiento de H1 con glifosato 24h..... | 43 |
| Figura 25. Crecimiento de H1 con glifosato 14 días | 43 |
| Figura 26. Crecimiento de H3 con glifosato 24h..... | 44 |
| Figura 27. Crecimiento de H3 con glifosato 14 días | 44 |
| Figura 28. Crecimiento de H4 con glifosato 24h..... | 44 |
| Figura 29. Crecimiento de H4 con glifosato 14 días | 44 |
| Figura 30. Crecimiento in vitro del hongo 1 en presencia de glifosato | 45 |
| Figura 31. Crecimiento in vitro del hongo 3 en presencia de glifosato | 46 |
| Figura 32. Crecimiento in vitro del hongo 4 en presencia de glifosato | 46 |
| Figura 33. Gráfica del modelo ajustado | 48 |
| Figura 34. Perfil de actividad enzimática lacasa durante 21 días..... | 49 |
| Figura 35. Perfil de actividad enzimática lacasa en presencia de glifosato..... | 50 |
| Figura 36. Germinación de semilla en control | 52 |
| Figura 37. Germinación de semilla | 53 |
| Figura 38. Semillas de pepino germinadas con 30 % de glifosato con H3 | 54 |
| Figura 39. Semillas de pepino germinadas con 10 % de glifosato sin H3 | 54 |
| Figura 40. Semillas de pepino germinadas en control con H3 | 55 |
| Figura 41. Dispersión por código de nivel | 57 |
| Figura 42. Gráfico de probabilidad normal para los efectos del diseño | 58 |

Resumen

El presente estudio evaluó el potencial de hongos ligninolíticos silvestres de la región de Urabá para degradar glifosato como alternativa de recuperación de suelos agrícolas. El diseño metodológico incluyó la búsqueda y aislamiento de cepas fúngicas, propagación in vitro, formación de semillas fúngicas, ensayos de crecimiento micelar en presencia de glifosato, y la evaluación de su actividad enzimática (AE) en medios líquidos. Además, se realizó un ensayo de fitotoxicidad con semillas de pepino como bioindicador para determinar el efecto del tratamiento fúngico.

Los resultados destacaron la cepa silvestre H3 como la más prometedora, con un pico de AE de 4,25 U/mL, lo que representó un incremento del 57,17 % en comparación con su AE natural. La cepa H4 también mostró un aumento significativo del 28,15 % en presencia de glifosato. El ensayo de fitotoxicidad evidenció que en una solución acuosa con glifosato al 10 % V/V las semillas de pepino no germinaron debido a la toxicidad del herbicida. Sin embargo, cuando se utilizó el extracto fúngico de la cepa H3, se alcanzó un índice de germinación del 27,2 %, indicando la remediación del medio acuoso.

Estos resultados confirman el papel de las enzimas ligninolíticas, especialmente lacasas, en la degradación del glifosato y destacan el potencial de estos hongos en estrategias de biorremediación para reducir la toxicidad de compuestos organofosforados y promover la recuperación de ecosistemas contaminados.

Palabras clave: Hongos ligninolíticos, glifosato, biorremediación, actividad enzimática
Fitotoxicidad.

Abstract

This study evaluated the potential of wild ligninolytic fungi from the Urabá region to degrade glyphosate as an alternative for recovering agricultural soils. The methodological design included the search and isolation of fungal strains, in vitro propagation, fungal seed formation, micellar growth assays in the presence of glyphosate, and the evaluation of their enzymatic activity (EA) in liquid media. Additionally, a phytotoxicity assay using cucumber seeds as bioindicators was conducted to determine the effect of fungal treatment.

The results highlighted the wild strain H3 as the most promising, with a peak EA of 4.25 U/mL, representing a 57.17% increase compared to its natural EA. Strain H4 also showed a significant increase of 28.15% in the presence of glyphosate. The phytotoxicity assay revealed that cucumber seeds did not germinate in an aqueous solution with 10% V/V glyphosate due to the herbicide's toxicity. However, when the fungal extract of strain H3 was used, a germination index of 27.2% was achieved, indicating the remediation of the aqueous medium.

These results confirm the role of ligninolytic enzymes, especially laccases, in glyphosate degradation and highlight the potential of these fungi in bioremediation strategies to reduce the toxicity of organophosphorus compounds and promote the recovery of contaminated ecosystems.

Keywords: Ligninolytic fungi, glyphosate, bioremediation, enzymatic activity
phytotoxicity.

Introducción

La región de Urabá, reconocida por su economía centrada en los cultivos de banano y plátano, se enfrenta a un desafío ambiental significativo derivado del uso extendido de herbicidas, particularmente compuestos organofosforados, en estas prácticas agrícolas. A lo largo de muchos años, la monocultural ha sido una práctica común en la región, lo que ha llevado a un incremento sustancial en la acumulación de residuos tóxicos en los suelos, planteando una amenaza creciente para la calidad ambiental y la sostenibilidad de la producción agrícola.

Cada año en Urabá se vierten al menos 10,5 millones de litros de fungicidas y químicos para el control de la sigatoka negra, una de las enfermedades más comunes que afecta a los cultivos de plátano y banano en el mundo. De las 50.685 hectáreas de cultivos de banano reportadas en Colombia en 2018, 35.123 estaban en esa región. El problema particular de esta zona es la aspersión aérea que arroja toneladas de residuos tóxicos, con consecuencias irreparables para el ambiente y la salud.

Esta situación plantea un dilema ambiental y de salud pública muy preocupante. El uso excesivo de agroquímicos y la aspersión aérea en la región de Urabá evidencian la necesidad urgente de implementar prácticas agrícolas más sostenibles y estrategias efectivas de biorremediación para abordar la contaminación causada por estos productos químicos (Cerosetenta, 2020).

La exposición continua a pesticidas y herbicidas organofosforados ha generado de acuerdo con Escobar et al. (2022). efectos adversos en el suelo y los recursos hídricos, impactando negativamente tanto en la biodiversidad como en la salud de los habitantes del ecosistema en general. La acumulación de residuos de herbicidas y la falta de una estrategia efectiva de remediación del suelo han suscitado preocupaciones ambientales y de salud pública. Además, la práctica de la monocultural ha contribuido a la pérdida de biodiversidad, agotamiento de los nutrientes del suelo y a la disminución de la productividad agrícola.

En este contexto, la necesidad de desarrollar una solución efectiva y sostenible para la degradación de herbicidas en suelos agrícolas de Urabá se hace inminente. Este problema no solo afecta la salud ambiental y la biodiversidad, sino que también pone en riesgo la calidad de vida de los habitantes de la región, cuya economía y bienestar dependen en gran medida de la agricultura. La contaminación de suelos y cuerpos de agua por herbicidas, en particular el glifosato, constituye un problema ambiental crítico, especialmente en regiones agrícolas intensivas como Urabá,

Antioquia, Colombia. El glifosato, el herbicida más utilizado en el mundo, ha sido objeto de estudio debido a sus efectos perjudiciales en la biodiversidad, la salud humana y la estabilidad de los ecosistemas, con residuos persistentes que pueden alterar tanto la flora microbiana como la vegetación circundante de acuerdo con Velasco et al. (2024). Frente a esta problemática, la biorremediación, que aprovecha la capacidad de microorganismos para degradar contaminantes, surge como una solución sostenible, económica y eficaz para la restauración ecológica (Cabral et al. 2024).

En este contexto, los hongos ligninolíticos, conocidos por su capacidad para descomponer compuestos complejos como la lignina a través de enzimas extracelulares, representan una alternativa prometedora para la degradación de glifosato y otros contaminantes persistentes como hidrocarburos. (Cecibel et al. 2020) o colorantes (Ziegler et al. 2022). El cual presentan una estructura molecular la cual se puede asemejar en cuanto a su complejidad. Esta investigación busca aislar y caracterizar especies de hongos ligninolíticos de la región de Urabá, evaluando su actividad antimicrobiana, antioxidante y su capacidad de degradación del glifosato mediante ensayos específicos *in vitro* en medio sólido y líquido, el primero para evaluar y cuantificar el crecimiento fúngico y el segundo para la determinación de la actividad enzimática de los hongos con resultados más promisorios. Además, se realizarán pruebas de fitotoxicidad con semillas de lechuga, permitiendo evaluar los efectos de los extractos fúngicos en plantas de referencia, y se explorará la propagación de estos hongos en utilizando granos de maíz y raquis de palma de aceite, aprovechando residuos de la agroindustria local.

Basados en la revisión de Quintero Díaz, (2011). Los hongos ligninolíticos, conocidos por variabilidad de colores llamativos y por su función principal en la descomposición de la madera, presentan capacidad de descomponer compuestos complejos mediante enzimas extracelulares, representan una alternativa prometedora en la degradación de glifosato y otros contaminantes agroquímicos persistentes. Para evaluar esta capacidad, este estudio sigue una metodología estructurada que comienza con la búsqueda y recolección de hongos ligninolíticos en diversos ecosistemas de Urabá. Posteriormente, se realizará el aislamiento de las especies recolectadas, seguido de un cultivo *in vitro* que permita su propagación y la caracterización de sus propiedades. Durante esta fase de caracterización, se analizará el potencial antibacteriano y antioxidante de cada cepa, seleccionando aquellas con mayor actividad para pruebas avanzadas.

Las cepas seleccionadas serán sometidas a un análisis de crecimiento en medios enriquecidos con glifosato a diferentes concentraciones, permitiendo evaluar su capacidad de supervivencia y adaptación en presencia del herbicida. Además, se establecerán cultivos en medios líquidos enriquecidos con salvado de trigo para medir la actividad enzimática de las cepas, tanto en condiciones con glifosato como sin él, para identificar si el herbicida estimula o inhibe la producción de enzimas ligninolíticas. Finalmente, se evaluará la fitotoxicidad de los extractos fúngicos mediante ensayos con semillas de lechuga, proporcionando un análisis completo de los efectos de estos hongos sobre la germinación de una planta modelo.

El desarrollo de tecnologías de biorremediación basadas en microorganismos autóctonos y recursos locales tiene el potencial de reducir los efectos negativos del uso de herbicidas en áreas agrícolas, promoviendo soluciones sostenibles que contribuyen a la preservación de la biodiversidad y la estabilidad de los ecosistemas. Esta propuesta se plantea como un aporte relevante para la mitigación de contaminantes agrícolas en la región, aportando bases científicas sólidas para prácticas agroindustriales responsables y sostenibles (Álvarez et al. 2024).

Planteamiento del problema

La región de Urabá, reconocida por su importancia económica en la producción de banano y plátano, enfrenta un problema ambiental y agrícola crítico derivado del uso intensivo de herbicidas, especialmente compuestos organofosforados como el glifosato. Este químico, ampliamente utilizado para el control de malezas, ha generado una acumulación persistente de residuos tóxicos en los suelos, alterando su estructura, composición química y capacidad de regeneración. Estos efectos se ven agravados por décadas de monocultivo, una práctica que ha llevado al agotamiento de nutrientes esenciales, la degradación de la biodiversidad microbiana y la disminución general de la productividad agrícola.

El impacto ambiental de los pesticidas no se limita al suelo, sino que también afecta los recursos hídricos de la región, con consecuencias graves para la salud humana y la biodiversidad acuática. La exposición continua a estos compuestos ha sido asociada con riesgos para la salud pública, incluyendo efectos neurotóxicos en las comunidades locales que dependen de estas tierras para su subsistencia. Además, la contaminación de los ecosistemas terrestres y acuáticos compromete la sostenibilidad de las prácticas agrícolas, poniendo en riesgo la seguridad alimentaria y la economía regional (Cecibel et al. 2020).

Las estrategias convencionales para la remediación de suelos contaminados, como la excavación o el lavado de suelos, son costosas y generan un impacto ambiental secundario significativo. En este contexto, la necesidad de desarrollar soluciones efectivas, económicas y sostenibles se vuelve inminente. Una de las alternativas más prometedoras es la biorremediación, un enfoque basado en el uso de organismos vivos, como los hongos ligninolíticos, capaces de degradar compuestos tóxicos mediante procesos enzimáticos naturales (Cabral et al. 2024)..

Entre los hongos ligninolíticos, los hongos de pudrición blanca destacan por su capacidad para secretar enzimas como lacasas y peroxidasas, que han demostrado ser altamente eficientes en la degradación de compuestos organofosforados. Además de reducir la toxicidad del glifosato, estos hongos podrían restaurar la funcionalidad biológica de los suelos, promoviendo el crecimiento vegetal y recuperando la productividad agrícola en áreas afectadas (Márquez, 2019). Por lo tanto, la investigación enfocada en el potencial de los hongos ligninolíticos de la región de Urabá para la biorremediación de suelos contaminados con glifosato es esencial. Este enfoque no solo contribuiría a mitigar los impactos negativos del uso de pesticidas, sino que también proporcionaría una solución sostenible que beneficie tanto al medio ambiente como al desarrollo

socioeconómico de las comunidades locales. De esta manera, se buscaría garantizar la sostenibilidad de la actividad agrícola y la preservación de los recursos naturales para las futuras generaciones.

1 Objetivos

1.1. Objetivo general

Evaluar el potencial de bioactividad de hongos ligninolíticos silvestre de la biodiversidad de la región de Urabá para la degradación de glifosato como alternativa de recuperación de suelos de explotación agrícola.

1.2. Objetivos específicos

- Determinar las condiciones de propagación de hongos lignocelulósicos silvestres potenciales para la biodegradación de compuestos organofosforados.
- Identificar los hongos lignocelulósicos silvestres con capacidad de degradación de glifosato en forma de sal Isopropilamina en condiciones in vitro.
- Evaluar la capacidad de degradación de compuestos organofosforado en condición in vitro a través de actividad enzimática.
- Identificar el efecto de fitotoxicidad sobre índice de germinación de semillas de hortalizas como medida de degradación.

2 Marco teórico

2.1. Contexto de la contaminación por Glifosato

El glifosato es uno de los herbicidas de mayor uso global y se emplea extensivamente en la agricultura moderna para el control de malezas, especialmente en cultivos genéticamente modificados (Navarro et al. 2023). Su popularidad se debe a su efectividad y a un costo relativamente bajo, sin embargo, este uso generalizado también trae consecuencias ambientales graves. Según Caicedo et al. (2021), desde su introducción, el uso de glifosato ha incrementado exponencialmente, estimándose que se aplican aproximadamente 9,4 millones de toneladas anualmente. Los efectos de la acumulación de glifosato en el suelo y en cuerpos de agua son motivo de preocupación, ya que estudios han encontrado que persiste en el ambiente, afectando la biodiversidad y alterando la salud del suelo y de los microorganismos que en él habitan. En la región de Urabá las aplicaciones de estos agroquímicos en los que resalta el glifosato para el control de maleza en los principales cultivos son mediante las avionetas de fumigación con la cual logran esparcirse de tal magnitud que afecta tanto a los trabajadores agrícolas como a las comunidades aledañas a estos cultivos. (Jaramillo, 2021).

2.2. Biorremediación

La biorremediación es una tecnología que emplea organismos vivos, principalmente microorganismos, para degradar o neutralizar contaminantes ambientales en suelos y cuerpos de agua. Esta técnica ha ganado popularidad por su bajo costo y por ser una alternativa amigable con el medio ambiente en comparación con los métodos físicos y químicos tradicionales (Benites et al.2023). Este proceso se basa en la capacidad metabólica de bacterias, hongos, y plantas para transformar compuestos contaminantes en formas menos dañinas, como dióxido de carbono, agua y biomasa, contribuyendo a la restauración de los ecosistemas afectados (Álvarez et al. 2024).

Entre los enfoques de biorremediación, la **bioestimulación** y la **bioaumentación** son las estrategias más comunes. La bioestimulación emplea nutrientes para mejorar el crecimiento de microorganismos autóctonos que degradan contaminantes, mientras que la bioaumentación implica la introducción de microorganismos exógenos con una capacidad de degradación específica (Ibarra et al. 2022). Sin embargo, la aplicación de hongos ligninolíticos, que destacan por su alta capacidad

para descomponer compuestos orgánicos complejos, ha demostrado un potencial significativo en la remediación de contaminantes persistentes, como los herbicidas (Márquez, 2019).

2.3. Biodiversidad

Según Elvira et al. (2013), la diversidad biológica de Colombia ha sido ampliamente estudiada en las últimas décadas debido al descubrimiento de microorganismos que producen sustancias con actividades antimicrobianas, antivirales y anticancerígenas. La ubicación geográfica del país, junto con su variedad de vegetación y clima, proporciona condiciones óptimas para que los hongos generen una amplia gama de compuestos químicos. Estos compuestos han despertado un notable interés medicinal, especialmente como antibacterianos y antioxidantes. Por ejemplo, *Phanerochaete* spp. es conocido como “Hongo xilófago” debido a que descompone la madera (pudrición blanca), especialmente los compuestos lignocelulósicos generando CO₂ y H₂O; gracias a la segregación de enzimas como celulasas, hemicelulasas, xilanasas, LiP, MnP y lacasa (Ruíz et al. 2021).

2.4. Taxonomía de hongos

La clasificación taxonómica de los hongos, organismos caracterizados por ser heterótrofos y carecer de capacidad fotosintética, presenta una complejidad inherente, ya que exhiben una combinación única de características compartidas entre animales y vegetales. A diferencia de estos últimos, los hongos almacenan su reserva energética en forma de glucógeno, y sus células están revestidas por una membrana compuesta por quitina, un polisacárido esencial, específicamente N-acetil-D-glucosamina. La taxonomía de este reino ha sido objeto de prolongados debates, y diversas interpretaciones coexisten, empleando criterios variables para la clasificación. Según una de las clasificaciones, se distinguen oomicetos, Quitridiomycetos, Zigomicetos, Ascomycetos y Basidiomycetos, siendo estos últimos considerados los hongos más avanzados en términos evolutivos (Ruthes et al., 2016). Este enfoque taxonómico contribuye a comprender la diversidad dentro del reino de los hongos, destacando su posición evolutiva y las características distintivas que los definen, como lo evidencian diversas fuentes bibliográficas (Lanao M, 2017).

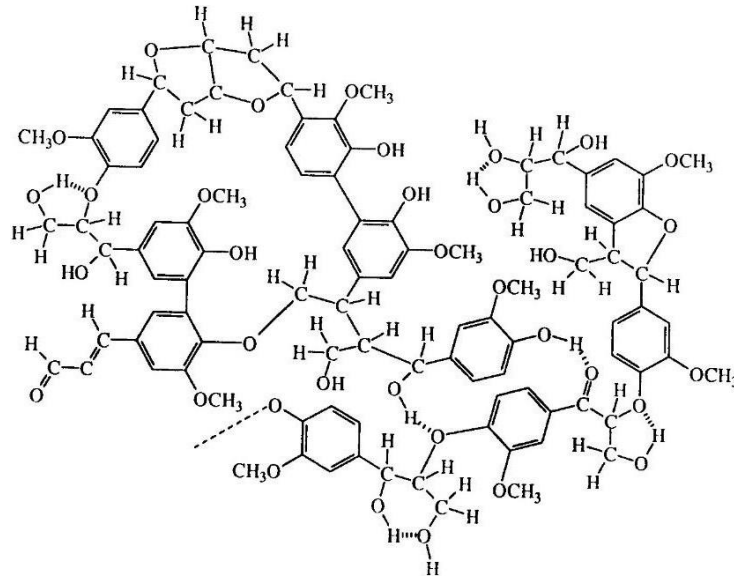
2.5. Macromoléculas principales de los hongos

Los macro hongos, en su compleja composición química, albergan una variedad de compuestos bioactivos que constituyen el fundamento científico de los efectos medicinales presentes en productos naturales. Estos compuestos, minuciosamente aislados e identificados desde cuerpos fructíferos, micelios y esporas, revelan un tesoro de posibilidades en el ámbito terapéutico. Entre ellos, destacan los polisacáridos, macromoléculas compuestas por azúcares, con mención especial a los β -glucanos, reconocidos por su capacidad para fortalecer el sistema inmunológico. Asimismo, los terpenoides emergen como protagonistas, asociándose con diversas actividades beneficiosas, tales como antioxidantes, antimicrobianas, antiproliferativas, antitumorales, antipalúdicas y anticolinesterásicas, ampliando así el abanico de aplicaciones potenciales en el campo de la salud y lo ambiental. No podemos obviar la presencia de los compuestos fenólicos, integrantes de un intrigante grupo de moléculas coloridas también presentes en vegetales y frutas, que desempeñan un papel crucial como antioxidantes. Este fascinante repertorio de sustancias bioactivas dentro de los macrohongos no solo abre puertas a la investigación científica, sino que también promete contribuir de manera significativa al desarrollo de estrategias ambientales (Gallo G,2023).

2.6. Características y enzimas de degradación de lignina

Los hongos ligninolíticos, también conocidos como hongos de pudrición blanca, poseen una capacidad única para descomponer la lignina en los tejidos vegetales, lo que los hace potencialmente eficaces en la remediación de compuestos similares.

Figura 1. Estructura molecular de la lignina



Fuente: Infoescuela. (n.d.). *Lignina - Estructura química y propiedades*. [Ilustración]. En Infoescuela.

<https://www.infoescuela.com/compostos-quimicos/lignina/>

La estructura molecular de la lignina refleja toda una red entrelazada por múltiples grupos funcionales los cuales aportan la rigidez al tejido estructural de los árboles y fibras leñosas. En nuestro ecosistema tropical húmedo los hongos cumplen un papel importante en la descomposición de la madera, sin ellos el proceso de degradación fuera más lento, ya que estos se hospedan en el interior del tronco realizando la ruptura de lignina mediante la acción de las enzimas extracelulares como la lacasa, manganeso peroxidasa (MnP) y lignina peroxidasa (LiP), que les permiten descomponer y asimilar compuestos complejos de lignina y otros contaminantes orgánicos persistentes en el ambiente (Ruíz et al. 2021).

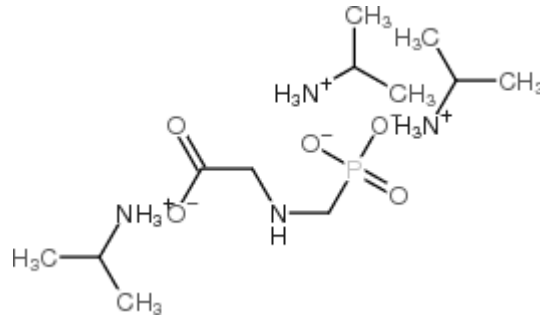
2.7. Potencial de degradación de herbicidas y contaminantes

La capacidad de los hongos ligninolíticos para degradar herbicidas como el glifosato se ha atribuido a su habilidad para generar radicales libres que atacan enlaces complejos en compuestos recalcitrantes (Cabral et al. 2024). Además, se ha observado que estos hongos adaptan su producción enzimática en respuesta a la presencia de contaminantes, lo que facilita la descomposición y mineralización de toxinas orgánicas en ambientes contaminados.

Estudios realizados por Rodríguez et al. (2022). han demostrado que estos hongos pueden no solo descomponer compuestos como el glifosato, sino también reducir sus efectos tóxicos en el

ambiente circundante, convirtiéndolos en una alternativa prometedora para la restauración ecológica de áreas contaminadas. Es por ello por lo que se estima que los hongos pueden ser esos aliados estratégicos en pro de la reducción de contaminación por desastres ambientales ocasionados por la huella del hombre.

Figura 2. Estructura molecular de la sal de glifosato isopropilamina.



Fuente: Infoescola. (Dakota del Norte). *Lignina - Estructura química y propiedades*. [Ilustración]. En *Infoescola*.

<https://www.infoescola.com/compostos-quimicos/lignina/>

2.8. Enzima Lacasa en la remediación ambiental

La lacasa es una de las enzimas más estudiadas en hongos ligninolíticos, ya que es responsable de catalizar la oxidación de diversos compuestos orgánicos (Majul et al. 2020). Su acción resulta en la despolimerización de lignina, generando productos que los hongos pueden metabolizar. El uso de hongos ligninolíticos que expresan lacasa en sistemas contaminados con glifosato podría, por lo tanto, facilitar la degradación del herbicida y reducir su persistencia en el ambiente (Rodríguez et al. 2022).

2.9. Relación entre actividad antioxidante y remediación de tóxicos

Además de su actividad ligninolítica, algunos hongos también muestran actividad antioxidante, la cual protege a las células fúngicas frente a las especies reactivas de oxígeno (ROS) generadas durante la degradación de compuestos tóxicos como el glifosato (Arvizu et al. 2020). Esta capacidad antioxidante es fundamental, ya que los ROS pueden causar daño celular y reducir la efectividad del proceso de biorremediación si no se controlan.

La contaminación por pesticidas tiene un impacto directo en la biodiversidad de la región. Estos químicos afectan a insectos, aves, mamíferos y otros organismos que forman parte de los ecosistemas locales. La pérdida de biodiversidad puede desequilibrar los ecosistemas y afectar negativamente la cadena, Los pesticidas utilizados en la agricultura a menudo se filtran en los cuerpos de agua locales. Esto no solo contamina las fuentes de agua potable, sino que también afecta a los ecosistemas acuáticos. La contaminación del agua puede dañar los peces y otros organismos acuáticos, lo que tiene efectos cascada en la cadena alimentaria.

El uso excesivo de pesticidas puede dañar la fertilidad del suelo al matar microorganismos beneficiosos y agotar los nutrientes esenciales. Esto reduce la capacidad del suelo para mantener cultivos saludables, lo que afecta la seguridad alimentaria de la región (Minta et al. 2020).

2.10. Métodos de aprovechamiento

La generación de subproductos o residuos agroindustriales en las diferentes etapas del proceso productivo se ha identificado como un problema significativo a nivel mundial. Este desafío es particularmente relevante en los países en desarrollo, donde estos residuos no son reaprovechados de manera adecuada, lo que podría conducir a la contaminación ambiental. Se ha clasificado cinco tipos principales de desechos agroindustriales: 1) bioenergía (incluyendo biodiesel, bioetanol, biomasa energética y biogás), 2) métodos de compostaje, 3) innovación de nuevos productos relacionados (como ladrillos, palés y compuestos), y 5) eliminación de medios abióticos contaminados (como metales pesados, tintes e hidrocarburos). El manejo adecuado de estos desechos ofrece beneficios significativos tanto económicos como medioambientales, apoyando así la mejora sostenible. Peñaranda González et al. (2017) destacaron en su estudio sobre el “Aprovechamiento de residuos agroindustriales en Colombia” que, en 2018, el Ministerio de Planeación Nacional de Colombia destinó el 20% de sus residuos a rellenos sanitarios y promovió el reciclaje, aunque no superó el 17%. Esta situación subraya la importancia de integrar los factores de producción con la investigación científica y tecnológica como una estrategia prioritaria. (Alcántara R, et al. 2022).

2.11. Residuos agroindustriales

Tal como reportaron Andrés Córdoba y Yineth Piñeros (2014), los compuestos lignocelulósicos son abundantes en la naturaleza y, en muchos casos, son residuos o subproductos

de bajo valor generados en procesos agroindustriales. El sector de la palma de aceite en Colombia ha experimentado un acelerado desarrollo principalmente debido a la importancia del aceite en el mercado externo. Durante el proceso de extracción se generan residuos ricos en celulosa, hemicelulosa y lignina, conocidos como racimos vacíos, "raquis" o "tusas," los cuales constituyen cerca del 20% del peso de frutos frescos que ingresan a proceso. En base seca, estos residuos contienen 69% de hemicelulosa y 22% de lignina, con una alta relación C/N. Estos residuos son comúnmente utilizados como combustible en las calderas, lo que ocasiona contaminación ambiental. Generalmente, los racimos vacíos se dejan bajo los árboles hasta su descomposición, atrayendo insectos perjudiciales y ocasionando problemas ambientales. Por esta razón, las industrias prefieren secarlos y luego quemarlos hasta convertirlos en cenizas, lo cual genera partículas y gases (SO₂, CO₂, CO y NO_x) que contaminan el aire (Ocampo et al. 2022).

Algunos estudios han mostrado el potencial de estos materiales lignocelulósicos como materia prima para la producción de xilosa (Aguar et al. 2021). Además, estos residuos se han utilizado como sustrato para la producción de enzimas con actividad celulasa (Agudelo et al. 2024), utilizando diversos microorganismos. Estos hallazgos subrayan la importancia de investigar y desarrollar tecnologías que permitan la valorización de los residuos lignocelulósicos, no solo para mitigar su impacto ambiental, sino también para aprovechar su potencial en la generación de productos de alto valor agregado. Los aportes de estos estudios destacan la viabilidad de transformar un problema ambiental en una oportunidad económica, fomentando la sostenibilidad en el sector agroindustrial y contribuyendo a la economía circular.

Además, el aprovechamiento de los residuos lignocelulósicos podría reducir la dependencia de combustibles fósiles, disminuir las emisiones de gases de efecto invernadero y promover prácticas agrícolas más sostenibles. La producción de enzimas celulíticas, por ejemplo, no solo abre nuevas vías para la bioconversión de biomasa en biocombustibles, sino que también puede impulsar el desarrollo de biotecnologías para la industria alimentaria y farmacéutica. En este sentido, las investigaciones mencionadas proporcionan un marco sólido para futuras exploraciones sobre el uso de lignocelulosa en bioprocesos innovadores, lo que podría tener un impacto significativo en la reducción de residuos y la mejora de la eficiencia en la producción industrial. La integración de estas prácticas sostenibles no solo beneficiará al medio ambiente, sino que también puede generar nuevas oportunidades de negocio y empleo en el sector agroindustrial.

En el sector agroindustrial, los materiales primarios experimentan procesos de adaptación y transformación con el objetivo de conferirles un mayor valor agregado. Este proceso se lleva a cabo mediante la implementación de diversas operaciones unitarias diseñadas para mejorar su aceptación y consumo. Sin embargo, este proceso conlleva a la generación masiva de residuos, lo que representa una de las principales preocupaciones ambientales en nuestro entorno. Es importante destacar que, en algunos casos, se implementan prácticas para mitigar el impacto negativo de estos residuos, ya sea a través de tratamientos destinados a reducir su emisión, vertido o disposición, convirtiéndolos así en productos útiles de mayor valor agregado. Este enfoque no solo aborda la problemática ambiental, sino que también busca generar ingresos económicos adicionales. En este contexto, la revisión documenta diversas investigaciones orientadas al aprovechamiento eficiente de los residuos generados en el ámbito agroindustrial, destacando la importancia de estrategias sostenibles y económicamente viables para abordar esta problemática (Cury R, et al 2017).

3 Metodología

El diseño del proceso evaluativo de los hongos de pudrición blanca contempla generalmente varias fases bien definidas. La primera fase es la búsqueda sistemática de los microorganismos, luego sigue el aislamiento de la cepa fúngica, posteriormente se propagan in vitro para obtención del micelio vegetativo y su caracterización, se continua con los análisis de propiedades antimicrobianas y antioxidantes, luego se escogen los idóneos para realiza el ensayo de crecimiento micelar cuando el hongo está en presencal de glifosato, adicionalmente se realiza un cultivo paralelo en medio liquido con el fin de determinar cuál es la actividad enzimática natural de estas especies fúngicas. Luego se realiza un segundo ensayo utilizando la segunda generación de estas cepas fúngicas las cuales fueron adaptadas al medio con glifosato. Con el fin de evaluar la remediación se propone un ensayo de fitotoxicidad utilizando semillas de lechuga, además se realiza la preparación de la semilla y sustrato, después la inoculación e incubación, se continua con inducción a la fructificación, y por último se evalúa el porcentaje de crecimiento micelar cuando están en una fase oscura alrededor de 30 días.

3.1. Búsqueda y recolección de cepas fúngicas

La primera fase consiste en una exploración sistemática en distintos hábitats de la región de Urabá, con el objetivo de identificar y recolectar hongos con potencial ligninolítico. Estos hongos se obtendrán de muestras de suelos y restos de madera en descomposición. Se iniciará la búsqueda desde el municipio de Mutatá, luego se visitarán el municipio de san juan, apartado, Chigorodó y la reserva natural del municipio de Carepa. Se recolectaron por lo menos dos especies fúngicas por cada territorio para un total de 9 cepas diferentes.

3.2. Aislamiento de cepas fúngicas

Las muestras recolectadas se procesarán para obtener cepas fúngicas mediante técnicas de aislamiento en medios de cultivo selectivos, donde las condiciones controladas permitirán la purificación de las especies fúngicas relevantes para el estudio. Se utilizarán guantes y elementos de protección para tener un aislamiento profesional sin tener contacto directo con el hongo.

3.3. Propagación in vitro y obtención de micelio vegetativo

Las cepas fúngicas seleccionadas se propagan en condiciones de cultivo in vitro, lo cual permite la obtención de micelio vegetativo de alta calidad. Esta fase es fundamental para asegurar el desarrollo óptimo de los hongos y su posterior caracterización. El medio de cultivo que se utilizará para el aislamiento será el agar PDA.

Se debe identificar y tomar una muestra de los hongos seleccionados en bolsas estériles el hongo para proceder a realizar el repique en placas Petri estériles con papa dextrosa agar (PDA), refrigeradora, bisturí, asa de siembra, mechero de alcohol, bolsa estéril.

3.4. Preparación de la semilla fúngica

Como siguiente paso se utilizan granos de maíz como huésped de los hongos silvestres recolectados en la región de Urabá.

Se emplean 2kg de trigo por cada 3 L de agua y se someten a cocción hasta un punto donde no estén reventados; esto en aproximadamente 15 minutos a fuego medio. Luego se dejó escurrir, reposar. Cuando los granos alcanzan una humedad entre 40 y 50% se procede a mezclar Carbonato de calcio 3.5 g por Kg. De trigo precocido con el propósito de disminuir la acidez y servir como fuente de calcio. Además, se le adiciona sulfato de calcio 13g por Kg de trigo cocido para que los granos no se peguen. Seguidamente, los granos se introducen en las bolsas dejando vacío el tercio superior, se sellan y se esterilizó por 25 min en autoclave a 121°C. Una vez obtenidas las bolsas de trigo esterilizadas y a temperatura ambiente se ubican trozos de micelio de las placas de PDA en las bolsas bajo condiciones asépticas. Este procedimiento se corta el micelio crecido en las placas introduciéndolos en las bolsas con los granos de trigo. Las bolsas de trigo se incuban de 22 a 25°C en oscuridad durante 30 días.

3.5. Ensayo de crecimiento micelar en presencia de glifosato

Las cepas con las propiedades más destacadas se seleccionarán para evaluar su crecimiento micelar en presencia de glifosato. Este ensayo permitirá estudiar la capacidad de los hongos para crecer en condiciones adversas y determinar su resistencia y adaptabilidad en entornos contaminados.

Se utilizarán diferentes concentraciones de glifosato con el fin de determinar el cual es la dosis letal de toxicidad del glifosato para cada una de las cepas fúngicas desarrolladas.

3.5.1. Determinación de la dinámica del crecimiento micelial

De acuerdo con la investigación de (Buendía et al,2020). La dinámica del crecimiento del diámetro fúngico o aumento de biomasa micelial está en función de los parámetros de fermentación e inclusive frente a situaciones de estrés (Deacon, 2006; Huang et al., 2010). Varios modelos se han aplicado para describir la cinética del crecimiento del diámetro micelial en distintos tipos de cultivo, como el modelo lineal, exponencial, modelo logístico, como también, modificaciones de éstos (Viniestra-González et al., 1993; Mitchell et al., 2004). Para la determinación de la dinámica del crecimiento del diámetro promedio micelial se utilizó la ecuación diferencial propuesta por Sarikaya y Ladisch (1997).

Ecuación 1. Ecuación diferencial propuesta por Sarikaya y Ladisch (1997)

$$\frac{dD}{dt} = \mu_1 D - k_1 D^2$$

Donde: D= diámetro de crecimiento micelial (mm), t= tiempo (días), μ_1 = la tasa específica de crecimiento (días⁻¹), K= es el diámetro máximo de crecimiento micelial (mm) y $k_1 = \mu_1 / K$ es el factor de retención de crecimiento.

De acuerdo con este modelo el cual representa el crecimiento micelar de los hongos filamentosos, se realizará un análisis comparativo con los datos obtenidos en el experimento, para los hongos cuando crecen en un medio con glifosato, y sin glifosato.

3.6. Cultivo en medio líquido y evaluación de la actividad enzimática

En paralelo al ensayo de crecimiento, se llevará a cabo un cultivo en medio líquido, donde se evaluará la actividad enzimática de las especies fúngicas en presencia y ausencia de glifosato. Este análisis medirá la producción de enzimas ligninolíticas, como lacasas, que son clave en el proceso de degradación del glifosato.

3.7. Método para la medición de actividad enzimática Lacasa

Teniendo ya las cepas fúngicas desarrolladas en Agar PDA. Después de nueve días de incubación, se tomaron tres cortes de cultivo fúngico (5 mm de diámetro) con ayuda de un popote estéril, se colocaron tres cortes de cultivo fúngico para cada matraz Erlenmeyer de 250 mL con 120 mL de medio de cultivo (Salvado de trigo en Buffer citrato), siendo en total de 10 matraces, 3 réplicas por cada hongo y un control. Por último, se incuban durante 7 días a 120 rpm (Valdés, et al., 2020).

3.7.1. Preparación de medio (STBC)

El medio salvado de trigo buffer citrato (STBC), se preparó primeramente el ácido cítrico a una concentración 0.05 M en 500 mL (4.8 g/0.5 L) y posteriormente el NaOH a una concentración 0.05 M en 500 mL (1 g/0.5 L); una vez ajustado el buffer a pH 9.0 se le adicionó el salvado de trigo (30g/L) (Delgadillo-Martínez et al., 2020).

3.7.2. Preparación de reactivos

- 0.1 M de ácido acético glacial. Se miden 1.5 mL de ácido acético glacial con una concentración de 95% (PM= 60.05 g/mol y δ = 1.5 g/mL) para ser disueltos en 250 mL de agua destilada.
- 5 mM de ABTS. Se pesan 0.013 g de ABTS sigma A1888 (PM= 548.68 g/mol) y se le agregan a 5 mL de agua desionizada, se disuelve y se vierte en un frasco ámbar.
- 0.1 M de buffer de acetato pH= 4.5. Se pesan y se mezclan 2.05 g de acetato de sodio en 250 mL de agua destilada y se mezcló con 0.1 M de ácido acético glacial hasta alcanzar un pH de 4.5.

Una unidad de actividad lacasa (U) se definió como la cantidad de enzima lacasa que oxidó 1 μ mol de sustrato ABTS por minuto. La actividad lacasa se expresa como actividad volumétrica (U/L).

3.7.3. Cuantificación de lacasa (U/L)

La actividad enzimática de lacasa se mide espectrofotométricamente, a través de la oxidación del ABTS [2,2' azino-bis-(3 etil benzotiazolina sulfato ácido)] como sustrato (Tinoco et

al., 2001). Se empleó 600 μL de muestra (extracto de los 3 cultivos fúngicos establecidos), 300 μL de buffer acetato de sodio y 100 μL de ABTS para la preparación del volumen total de la reacción dentro de las celdas de cuarzo (1 mL). Las muestras con abundante actividad se diluyen 1:20 con agua destilada. El blanco constó de 600 μL de muestra de extracto fúngico, 300 μL de buffer acetato de sodio y 100 μL de agua destilada. En el espectrofotómetro se calibra a 420 nm, monitoreando la oxidación del sustrato durante tres minutos (Sunil, et al., 2011). Este procedimiento se realizó para cada matraz. La actividad enzimática se calculó mediante la ecuación 2:

Ecuación 2. Actividad enzimática

$$\text{Lacasa } \left(\frac{U}{\text{mL}} \right) = \frac{\Delta \text{Abs} \cdot V_t}{t \cdot \xi \cdot \lambda \cdot V_m} (1000000)$$

Donde

t = Tiempo de reacción (Tres minutos)

ξ = Valor de coeficiente de extinción de 29300 mol/cm

V_t = Volumen total de reacción (1 mL)

λ = Haz de luz (1 cm)

ΔAbs = Abs final – Abs inicial.

3.8. Segunda generación de cepas adaptadas al glifosato

Las cepas que muestren adaptabilidad se emplearán para desarrollar una segunda generación de hongos, adaptada específicamente a medios con glifosato. Esta fase permitirá maximizar la capacidad biorremediador y la estabilidad de los hongos en condiciones de campo.

3.9. Ensayo de fitotoxicidad con semillas de pepino

Para evaluar el efecto de los hongos en la biorremediación del glifosato, se realizará un ensayo de fitotoxicidad utilizando semillas de lechuga. Este ensayo indicará si los hongos son capaces de reducir el impacto tóxico del glifosato en organismos vegetales sensibles. La metodología presentada a continuación fue tomada y modificada de Rodríguez, 2022.

Se dispone un papel de filtro en el interior de una caja de Petri, el que depositan con 3 ml de la solución proveniente de extracciones realizadas de los ensayos de actividad enzimática de la segunda generación fúngica, tomadas a los 15 días posteriores a la aplicación de pesticidas. El

tratamiento control se hidrató con agua destilada. Se colocarán en forma equidistante 10 semillas de pepino previamente hidratadas en agua por 30 minutos. Las cajas así preparadas se sellan con papel film, se disponen para ser incubadas por siete días a 25°C. El tratamiento y control se realizarán por triplicado. Finalizado este periodo se contaron las semillas que habían germinado en cada caja y se midió la longitud de la radícula (López,2022). El índice de germinación (IG) se calcula mediante la ecuación 3:

Ecuación 3. Índice de germinación

$$IG(\%) = \left(\frac{G}{G_0}\right) * \left(\frac{L}{L_0}\right) * 100$$

Donde G = N° de semillas germinadas del tratamiento; Go = N° de semillas germinadas de control; L = Longitud de la radícula del tratamiento; Lo = Longitud de la radícula del control (Rodríguez, 2022).

3.9.1. Análisis estadístico del índice de germinación en semillas de pepino

Se realiza un análisis estadístico un solo factor con 5 niveles de concentración de glifosato con el fin de determinar el efecto de remediación de la cepa H3 en medio acuoso. Se realizará un análisis ANOVA que determinará si hay diferencias significativas entre las medias. Se desean analizar diferentes estadísticos de (IG) para cada uno de los 5 niveles de GLIF. La intención principal del análisis de varianza de un factor es comparar las medias de los diferentes niveles.

4 Resultados

4.1. Recolección de hongos lignocelulósicos silvestres

Se recolectaron al menos dos especies fúngicas por cada territorio, obteniéndose un total de nueve cepas diferentes, identificadas y enumeradas de manera secuencial desde Hongo 1 (H1) hasta Hongo 9 (H9). Cabe destacar que las imágenes presentadas a continuación corresponden a fotografías capturadas por el autor, constituyendo así una fuente propia.

Figura 3. H1: Hongo característico del raquis de palma de aceite



Figura 4. H2: Hongo leñoso característico por su tonalidad blanca y forma de sombrilla



Figura 5. H3: Hongo de pudrición de la madera (árbol de mango)



Figura 6. H4: Hongo repisa de pudrición blanca de la madera



Figura 7. H5: Hongo de pudrición de la hoja del árbol de yarumo



Figura 8. H6: Hongo de pudrición de la palma de coco



Figura 9. H7: *Hongo de pudrición de la madera*



Figura 10. H8: *Hongo velo de novia.*



Figura 11. H9: *Hongo de pudrición de tronco de ceiba*

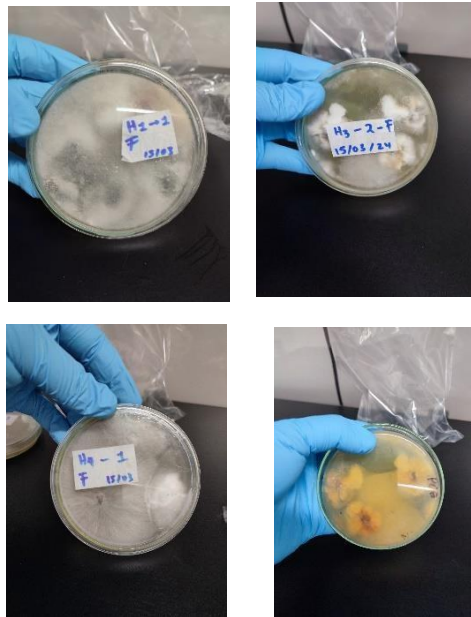


4.2. Aislamiento de cepas fúngicas

Las cepas recolectadas fueron trasladadas a la sede de estudios ecológicos y agroambientales ubicada en el municipio de Carepa Antioquia, ahí fueron sometidas a un lavado para su posterior aislamiento in vitro. Se utilizó un medio de cultivo específico para crecimiento fúngico en cajas Petri de 9 cm de diámetro y se realizaron 3 repeticiones para cada cepa fúngica y se incubaron durante 7 días a 25 °C. A continuación, en la **Tabla 1** se observa los resultados más relevantes, los cuales ilustran los hongos que fueron capaces de crecer en el medio sin contaminación cruzada, los que se contaminaron, y los que no tuvieron crecimiento significativo durante la incubación.

Tabla 1. Resultados del aislamiento de las cepas fúngicas

| Característica | Figura | Observaciones |
|-------------------------------|---|--|
| Abundante crecimiento micelar | <i>Figura 12. Cepas con abundante crecimiento micelar</i> | Las cepas fúngicas H1, H3, H4. Tuvieron los mejores resultados de crecimiento micelar, ocupando una red que les permite adquirir el alimento del medio |



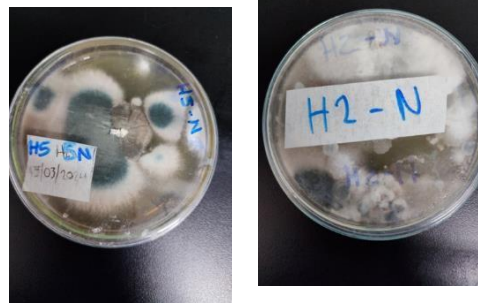
de cultivo, Estas cepas no presentaron contaminación cruzada y mostraron su capacidad biológica para adaptarse a condiciones in vitro.

Figura 13. Cepas con contaminación cruzada

Cepas con contaminación cruzada



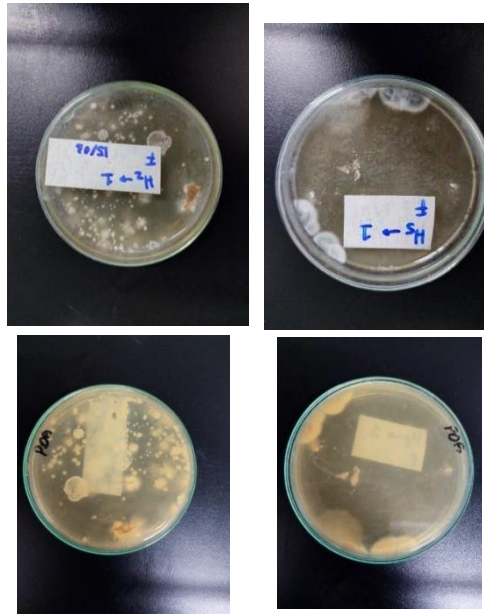
Las cepas fúngicas H2, H5, H6 presentaron múltiples contaminaciones por otros microorganismos, en las cajas se evidencia la formación de diferentes colonias las cuales dificultan



Poco crecimiento micelar

Las cepas H7, H8, H9 presentaron poco crecimiento micelar durante el periodo de incubación, lo cual es

Figura 14. Cepas con poco crecimiento micelar



un indicador de la baja actividad biológica para la propagación in vitro en medio de cultivo PDA.

4.3. Propagación in vitro y obtención de micelio vegetativo

De las cepas capaces de adaptarse al medio de cultivo in vitro se realizó una propagación en la cual se realizaron 5 réplicas para 3 cepas fúngicas en medio de cultivo agar PDA las cuales se mantuvieron incubadas a una temperatura promedio de 28°C durante 7 días. A continuación, en la **Tabla 2**, se presenta la propagación micelar in vitro de las tres cepas fúngicas con potencial bioactivo, seleccionadas para continuar con la investigación.

Tabla 2. Propagación micelar in vitro de las tres cepas fúngicas con potencial bioactivo

| Cepa fúngica | Imagen de la propagación in vitro | Imagen del hongo |
|---|-----------------------------------|------------------|
| H1: Hongo característico del raquis de palma de aceite | | |

**Figura 15. Propagación in vitro
H1.**

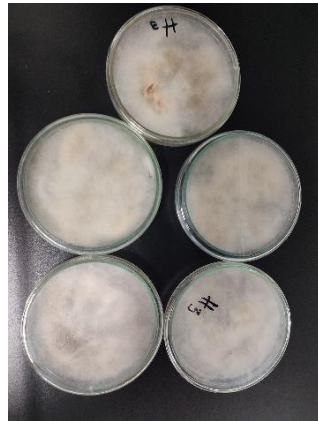


Figura 16. H1



H3: Hongo de pudrición de la madera (árbol de mango)

**Figura 17. Propagación in vitro
H3**



Figura 18. H3



H4: Hongo repisa de pudrición blanca de la madera

**Figura 19. Propagación in vitro
H4**



Figura 20. H4



4.4. Preparación de la semilla fúngica.

En la Tabla 3 se observan la formación de la semilla fúngica para las tres cepas fúngicas con potencial biológico.

Tabla 3. formación de la semilla fúngica para las tres cepas fúngicas con potencial biológico

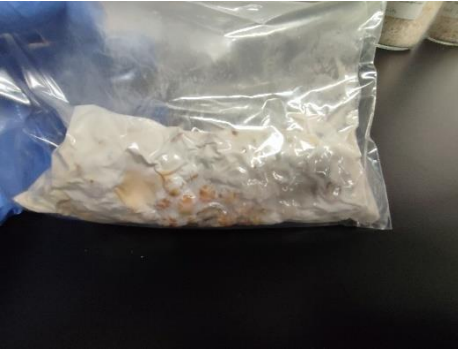
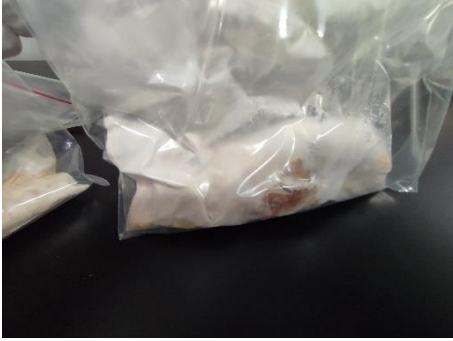
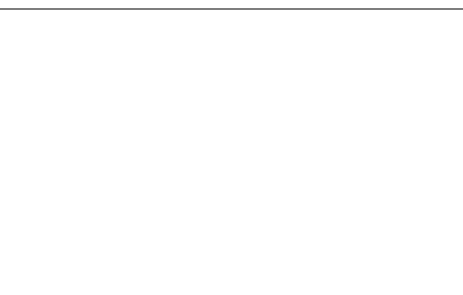
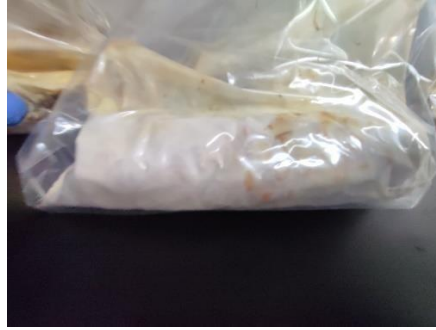
| Cepa fúngica | Imagen formación de la semilla fúngica | Observaciones |
|---|---|---|
| H1: Hongo característico del raquis de palma de aceite | <p data-bbox="483 621 943 688"><i>Figura 21. Formación de la semilla H1</i></p>  | <p>Esta cepa se adaptó de manera positiva en el sustrato e invadió totalmente durante los 30 días de incubación formando un vacío en el interior de la bolsa y colonizó los granos en su totalidad.</p> |
| H3: Hongo de pudrición de la madera (árbol de mango) | <p data-bbox="483 1077 943 1144"><i>Figura 22. Formación de la semilla H3</i></p>  | <p>Esta cepa se adaptó de manera positiva en el sustrato e invadió totalmente durante los 30 días de incubación. Esta cepa formó una capa gruesa de micelio vegetativo.</p> |
| H4: Hongo repisa de pudrición blanca de la madera |  | <p>Esta cepa se adaptó de manera positiva en el sustrato e invadió totalmente durante los 30 días de incubación. El hongo recubrió los granos</p> |

Figura 23. Formación de la semilla de maíz y los colonizo internamente
H4



4.5. Crecimiento micelar en presencia de glifosato

Se utilizaron las cepas H1, H3 y H4 para ser sometidas a crecimiento en presencia de glifosato en diferentes cantidades con el fin de determinar el cual es la dosis letal de toxicidad del glifosato para cada una de las cepas fúngicas desarrolladas.

En la **Tabla 4**, se detallan los resultados obtenidos del crecimiento micelar en medio con glifosato en diferentes concentraciones, en la tabla se encuentra desde el control (sin glifosato) siendo la primera caja hasta la concentración mas alta de glifosato de 115200 ppm.

Tabla 4. Crecimiento micelar de cepas en presencia de glifosato

| Cepa fúngica | Crecimiento en medio con glifosato a las 24 h | Crecimiento en medio con glifosato después de 14 días |
|---|---|--|
| H1: Hongo característico del raquis de palma de aceite | Figura 24. Crecimiento de H1 con glifosato 24h | Figura 25. Crecimiento de H1 con glifosato 14 días. |
| | | |

H3: Hongo de pudrición de la madera (árbol de mango)

Figura 26. Crecimiento de H3 con glifosato 24h



Figura 27. Crecimiento de H3 con glifosato 14 días



H4: Hongo repisa de pudrición blanca de la madera

Figura 28. Crecimiento de H4 con glifosato 24h



Figura 29. Crecimiento de H4 con glifosato 14 días



En la **Tabla 4**, se evidencian las 3 cepas fungicas a cada una de las diferentes concentraciones de glifosato a las 24 h y a los 7 días de incubación a temperatura promedio de 25 °C. La cepa H1 presenta crecimiento en la mayoría de las concentraciones, disminuyendo su tamaño a mayor concentración de glifosato,

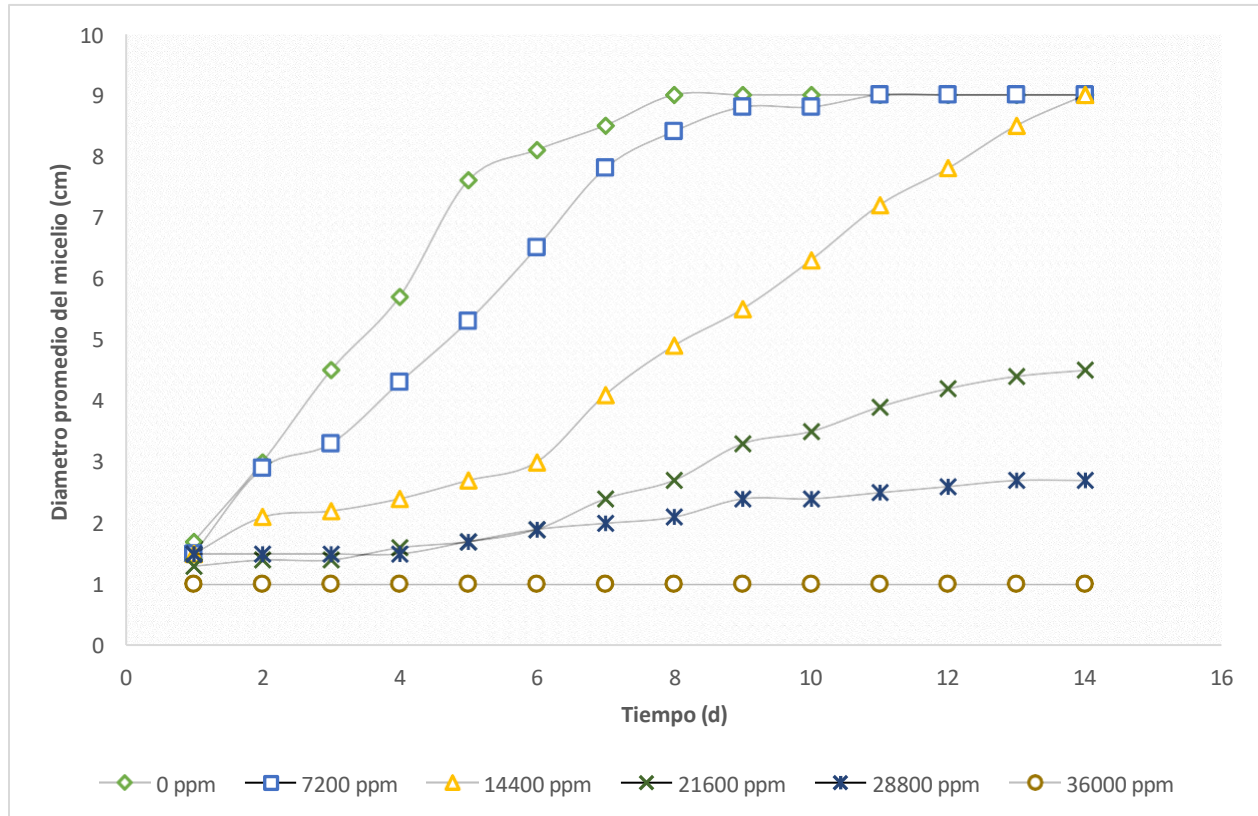
De acuerdo con Fiallos et al, (2023). En el cual estudio el efecto de 10 plaguicidas Pyralclostrobilin epoxiconazole (dúplex) , Pyridalyl (brillante), difeconazol (dimefol) y cartap hydrochloride (circon) resulto que inhibieron por completo el crecimiento de cuatro hongos nematofagos utilizados en sus dos concentraciones, estos resultados pueden deberse a los mecanismos de acción de cada ingrediente activo del plaguicida, puesto que los de síntesis química en general tienden a afectar al hongo benéfico hasta erradicarlo, puesto que estos pueden perturbar no solo estructuras de la membrana celular sino que también sus funciones enzimáticas de obtención de energía, reproducción y respiración.

La cepa H3 y H4 evidenciaron un crecimiento micelar en todas las concentraciones utilizadas de glifosato, mientras que la cepa H1 solo obtuvo resultados de crecimiento en 5 de las

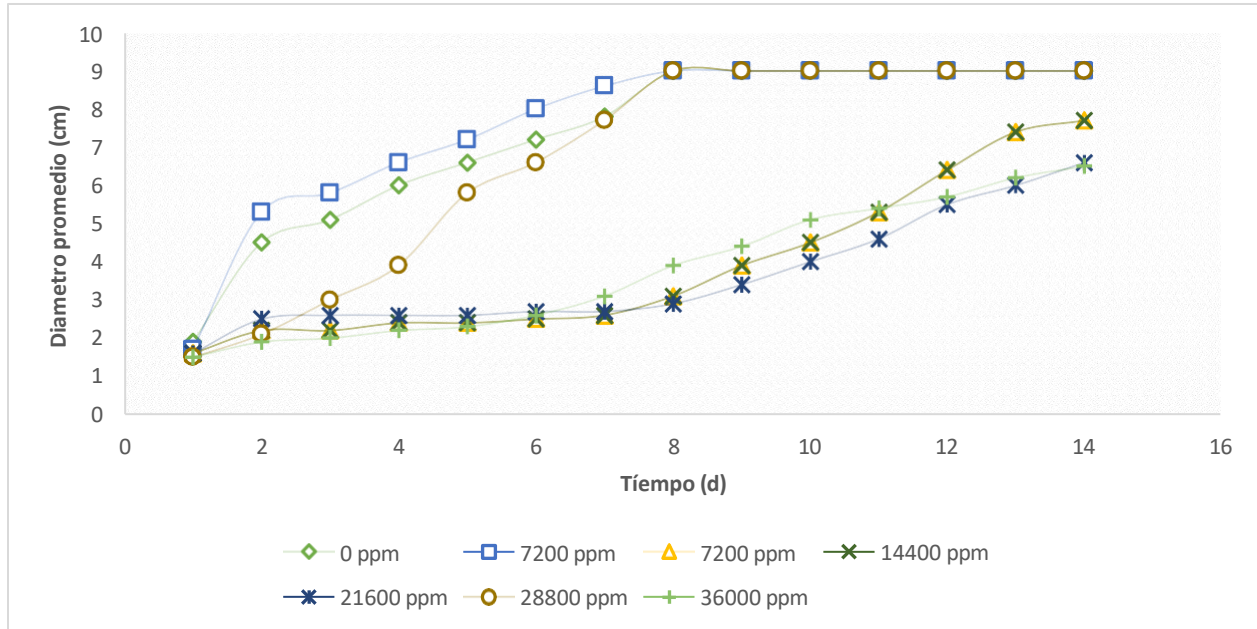
6 concentraciones utilizadas en el análisis y su crecimiento fue más limitado en comparación con las demás cepas fúngicas.

En la **Figura 30** se ilustra el crecimiento de la red micelar durante 14 días para 6 concentraciones diferentes de glifosato.

Figura 30. Crecimiento *in vitro* del hongo 1 en presencia de glifosato

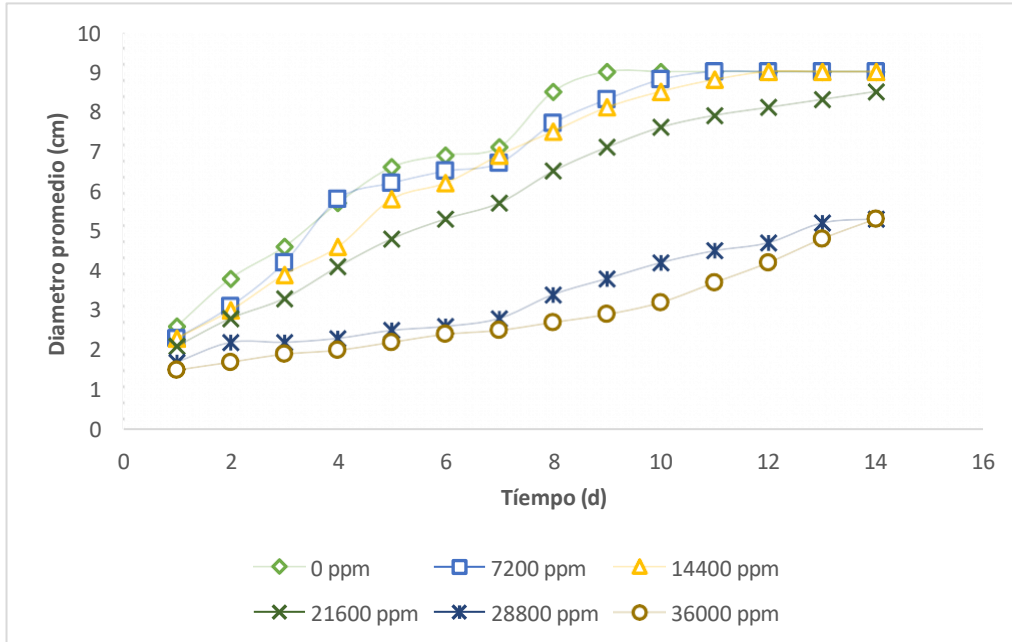


La cepa H1, característica del raquis de palma de aceite, resulto presentar inhibición de crecimiento cuando la concentración de glifosato supera los 57600 ppm, de acuerdo con esto se evidencia que a mayor concentración de glifosato menor es el crecimiento micelar de la cepa fúngica. De acuerdo con Ríos Cáceres, A. P. (2018). En la cual evidencio que, al utilizar Brillante, Curacron, Glifosato, Ridomil (plaguicidas), en las 4 especies de hongos (*Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Pleurotus ostreatus* y *Trichoderma harzianum*), en medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA) se observa que el crecimiento de estos se ve afectada en factor tiempo ya que su desarrollo fue más lento en aspecto al microorganismo testigo.

Figura 31. Crecimiento *in vitro* del hongo 3 en presencia de glifosato

En la **Figura 31**, se observa que la cepa fúngica H3 presenta un crecimiento micelar en cada una de las diferentes concentraciones de glifosato, cuando la concentración es de 7200 ppm presento mejores resultados de crecimiento que el testigo el cual no contiene el herbicida, se evidencio además que a una concentración alta de glifosato (57600 ppm) el crecimiento micelar fue bastante bueno llegando alrededor de los 8 días a su crecimiento máximo *in vitro*. En las concentraciones de (14400 ppm, 28800 ppm y 115200 ppm) se obtuvo un crecimiento similar llegando alrededor de los 7 cm de diámetro a los 14 días de incubación. Estos resultados dejan en evidencia que esta cepa no se inhibe fácilmente en presencia de glifosato, tiene unos días de adaptación a las altas concentraciones toxicas y después del 7 día inician el crecimiento del micelio vegetativo.

Figura 32. Crecimiento *in vitro* del hongo 4 en presencia de glifosato



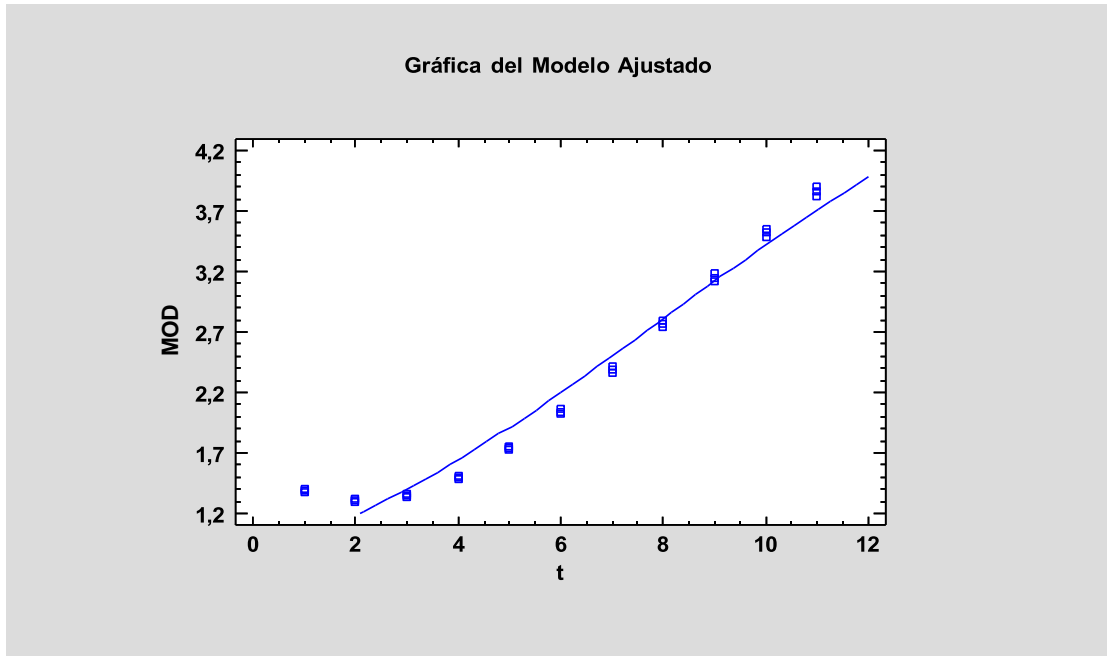
Finalmente, en la **Figura 32**, se puede observar que la cepa fúngica H4 presenta un crecimiento micelar en cada una de las diferentes concentraciones de glifosato, teniendo una respuesta similar a concentraciones de 0 ppm, 7200 ppm 14400 ppm y 28800 ppm en la cual en el día 9 ya estaban cerca del crecimiento máximo del micelio vegetativo, mientras que a las concentraciones más altas de 57600 ppm y 115200 ppm de glifosato se obtuvo un crecimiento micelar con un promedio alrededor de 5 cm de diámetro característico del micelio vegetativo a los 14 días de incubación.

En conclusion del diseño experimental se denota que la cepa H3 presenta crecimiento significativo en todas las concentraciones de glifosato, resultando una corolación rojiza a medida que se aumentan las concentraciones de glifosato.

Por ultimo la cepa H4 tambien presenta crecimiento en todas las concentraciones, a medida que las concentraciones de glifosato son mas altas, el crecimiento micelar se retarda en colonizar el medio de cultivo.

4.5.1. Regresión No Lineal para la verificación del modelo utilizado

Figura 33. Gráfica del modelo ajustado



R-Cuadrada = 96,4172 por ciento

R-Cuadrada (ajustada por g.l.) = 96,1783 por ciento

Error estándar del est. = 0,175228

Error medio absoluto = 0,134946

Estadístico Durbin-Watson = 0,561778

Autocorrelación residual de retardo 1 = 0,624376

El modelo dinámico de crecimiento micelar se ajusta con un R-Cuadrada = 96,42 %

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 96,4172% de la variabilidad en el modelo utilizado. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 0,175228.

Con estos resultados tomados para el crecimiento micelar de la cepa H1 en una concentración de 21600 ppm de glifosato en el medio acuoso, se evidencia la relación entre los valores obtenidos con la predicción del modelo dinámico utilizado. Cabe resaltar, que a medida que se aumenta la concentración de glifosato para las diferentes cepas este valor de ajuste de R-Cuadrada tendrá variaciones significativas ya que se presenta inhibición por estrés químico, lo cual

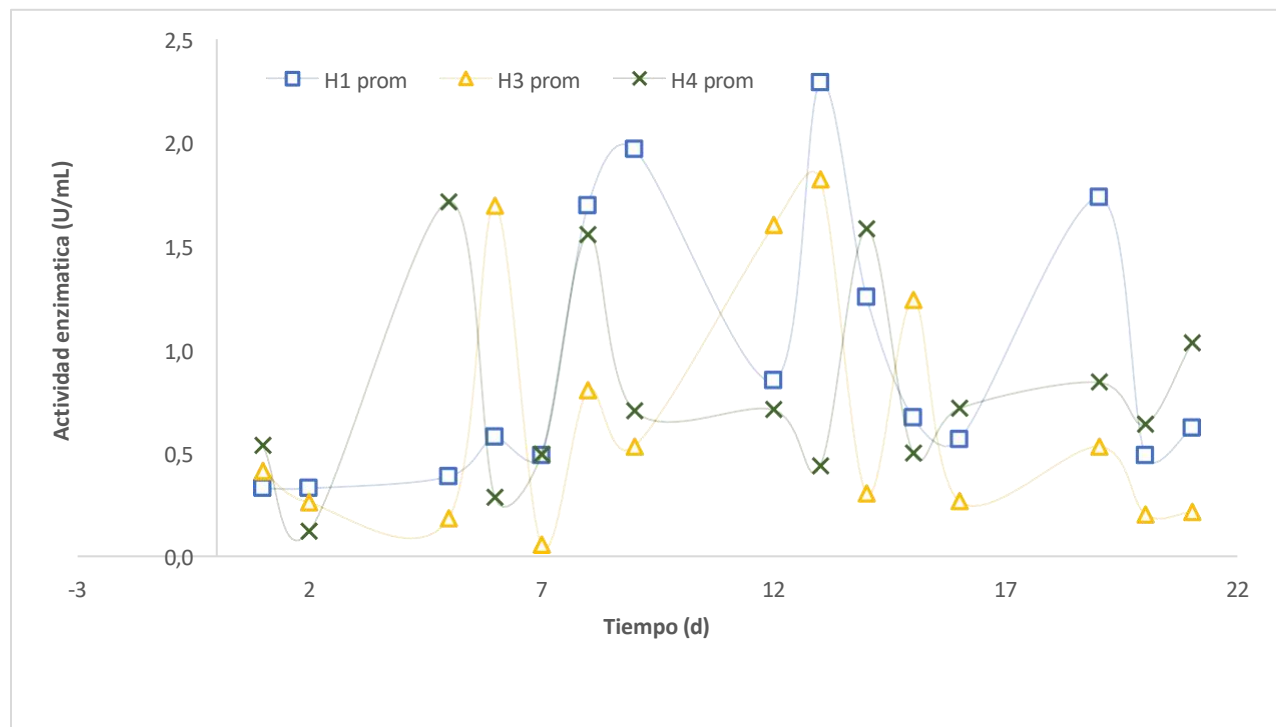
impide la modelación dinámica natural de las cepas fúngicas. Esta variación explica el efecto toxico que tiene el glifosato cuando se enriquece en el medio de cultivo utilizado para el crecimiento fúngico.

4.6. Evaluación de la actividad enzimática

Para cada una de las 3 cepas se realizó un cultivo en medio liquido por triplicado en el cual se evaluó la actividad enzimática lacasa que producen las cepas fúngicas durante 21 días en agitación constante. Luego se tomaron las cepas fúngicas que ya habían crecido en medio con glifosato y se realizó un segundo montaje con el fin de comparar si había un incremento o una disminución comparado con la producción natural de enzimas que tiene cada hongo. Y al día 7 se le agrego una cantidad de glifosato a cada una de las cepas con sus repeticiones, incluyendo el control el cual no contenía ninguna cepa fúngica.

A continuación, en la **Figura 34**, se presenta una gráfica la cual ilustra el perfil de producción de enzimas de las 3 cepas fúngicas de manera natural.

Figura 34. Perfil de actividad enzimática lacasa durante 21 días



En la figura anterior se evidencia el perfil de actividad enzimática natural (sin presencia de glifosato) de las cepas fúngicas H1, H3, H4 las cuales se evaluaron durante 21 días. La cepa H1 presento resultados prometedores de actividad enzimática (AE) lacasa teniendo 3 picos principales los cuales se evidencian en el día 9, día 13 y en el día 19, en segundo lugar, tenemos la cepa H3 la cual presenta valores de AE los cuales evidencian dos principales picos de actividad, en el día 6 y en el día 13. Y por último tenemos la cepa H4 la cual presenta 3 principales picos de actividad enzimática los cuales se evidencia en el día 5, día 8 y en el día 14.

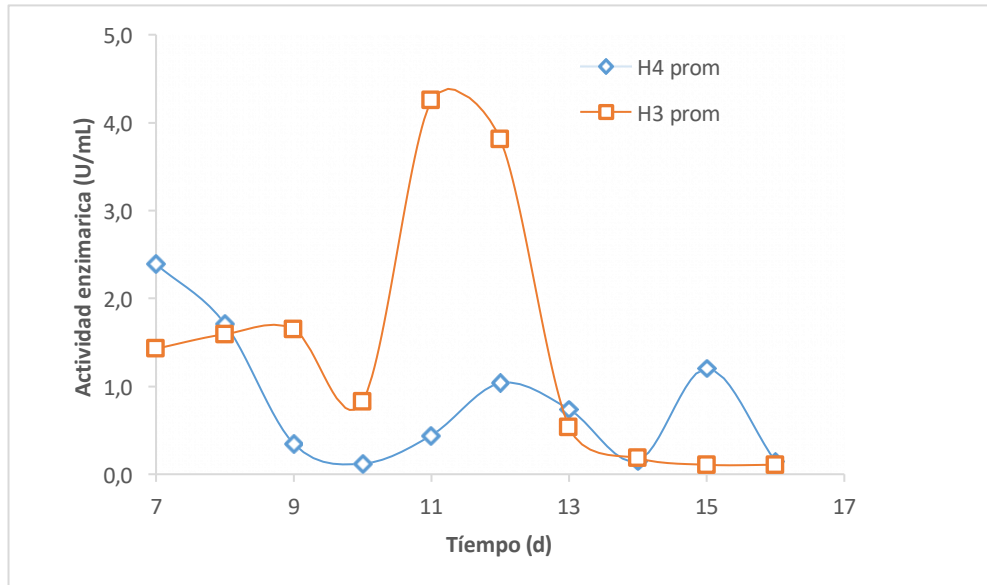
La AE máxima fue de H1 la cual obtuvo 2,28 U/mL a los 13 días cultivo, la segunda es de la cepa H3 la cual es de 1,82 U/mL a los 13 días de cultivo y por último H4 la cual fue de 1,71 U/mL a los 5 días de cultivo

Una investigación realizada por Molina Espinoza, B. D. (2023), En la que realizaron aislamientos de siete especies de hongos de pudrición blanca provenientes del Parque Yasuní. Se observó que en el día 16 se registró la máxima actividad enzimática lacasa entre todas las muestras analizadas. Se identificaron 2 hongos que presentaron la tasa promedio más alta de actividad enzimática en el día 16 del ensayo, del 9,4 UL-1 y 308,80 UL-1 en las cepas A y F, respectivamente. En la cepa A en el día 12 hubo una actividad de lacasa del 62,63 UL-1 que fue descendiendo hasta el día 16. Otra investigación realizada por Batista et al (2017), cuantifican que el valor de la tasa promedio más alta de actividad enzimática lacasa fue de 541.1 UL-1 y 421.3 UL-1, respectivamente por parte de las cepas *P. chrysospori* y *T. hirsuta*.

De acuerdo con estos estudios, es posible establecer que el valor máximo de AE lacasa de ambas investigaciones convertido a U/mL equivalen alrededor 31% del valor máximo obtenido por la cepa H4, del 29% de la cepa H3 y alrededor del 23% de la cepa H1 la cual tiene el valor mas alto de AE lacasa.

Los valores de actividad enzimática dependen de la efectividad del método y de la bioactividad de la cepa en este caso estos resultados sugieren que el método utilizado por consumo de ABTS como sustrato fue efectivo, además que las cepas fúngicas recolectadas de la biodiversidad de la región de Urabá tienen gran potencial biotecnológico.

Figura 35. *Perfil de actividad enzimática lacasa en presencia de glifosato*



En la **Figura 35**, se detalla el perfil de AE lacasa cuando se cultivan en un medio líquido con presencia alta en concentración de glifosato. Para la cepa H3 se evidencia un pico característico en los días 11 y 12 del cultivo obteniendo un valor máximo de 4,25 U/mL y la cepa fúngica H4 tiene un decaimiento desde el día 7 hasta el día 10 y luego tiene dos picos en el día 12 y día 15 teniendo una AE lacasa máxima de 2,38 en el día 7, es decir a las 24 h después de aplicado el glifosato.

De acuerdo con los resultados obtenidos de Rodríguez et al. (2022). En los tratamientos con glifosato, *T. villosa* CCC32 no presentó una respuesta enzimática, sin embargo, la especie *F. gallica* CCC28 registró los máximos valores de actividad de lacasa de 3,56 U ml⁻¹ a los 17 días de incubación en concentraciones de 500 mg L⁻¹. En concentraciones máximas, 1500 mg L⁻¹, la actividad de lacasa mostró un aumento constante llegando a un valor de 2,93 U ml⁻¹ a los 30 días de crecimiento.

De acuerdo con estos resultados realizamos un análisis comparativo en que se resalta que la cepa fúngica silvestres H3 presenta el mayor pico de AE alrededor de los 4,25 U/mL la cual es 16,23 % más que la AE lacasa máxima obtenida por la especie *F. gallica* CCC28.

En comparación con la AE natural de la misma cepa, H3 tuvo un incremento en la AE máxima del 57,17 % cuando está en presencia del glifosato y la cepa fúngica silvestre H4 tuvo un incremento de la EA máxima del 28,15 % cuando está en presencia del glifosato.

4.7. Ensayo de fitotoxicidad con semillas de pepino

A continuación, en la **Tabla 5**, se ilustran las tablas de resultados del ensayo de fitotoxicidad con semillas de lechuga en la cual se tienen 4 tratamientos distintos con 10 semillas de lechuga por cada uno incubadas durante 7 días a 25°C. *Longitud de radícula después de 7 días de incubación a 25 °C.*


Tabla 5. Semillas de pepino germinadas con 10 % de glifosato cuando tiene el hongo 3 como biorremediador.

| Semilla | ¿Hubo Germinación? Si / No | Longitud de radícula en centímetros (cm) | Imagen de la germinación |
|---|-------------------------------|--|---|
| 1 | Si | 2 | Figura 36. Germinación de semilla en control |
| 2 | Si | 4,5 | |
| 3 | Si | 5,6 | |
| 4 | Si | 3,4 | |
| 5 | Si | 4,9 | |
| 6 | Si | 2,6 | |
| 7 | Si | 3,8 | |
| 8 | Si | 3,2 | |
| 9 | Si | 4,1 | |
| 10 | Si | 3,4 | |
| Numero de semillas germinadas (G) | 10 | | |
| Promedio de la longitud de la radícula (L) | | 3,75 | |



Longitud de radícula después de 7 días de incubación a 25 °C.

Tabla 6. Semillas de pepino germinadas con 20 % de glifosato cuando tiene el hongo 3 como biorremediador.

| Semilla | ¿Hubo Germinación? Si / No | Longitud de radícula en centímetros (cm) | Imagen de la germinación |
|---|-------------------------------|--|--|
| 1 | Si | 0,9 | <i>Figura 37. Germinación de semilla</i>  |
| 2 | Si | 1 | |
| 3 | Si | 1,2 | |
| 4 | Si | 0,8 | |
| 5 | Si | 1 | |
| 6 | Si | 0,5 | |
| 7 | Si | 1,4 | |
| 8 | Si | 1,5 | |
| 9 | Si | 1,2 | |
| 10 | Si | 0,7 | |
| Numero de semillas germinadas (G) | 10 | | |
| Promedio de la longitud de la radícula (L) | | 1,02 | |

Longitud de radícula después de 7 días de incubación a 25 °C.

Tabla 7. Semillas de pepino germinadas con 30 % de glifosato cuando tiene el hongo 3 como biorremediador

| Semilla | ¿Hubo Germinación? | Longitud de radícula en | Imagen de la germinación |
|---------|--------------------|-------------------------|--------------------------|
|---------|--------------------|-------------------------|--------------------------|

| | Si / No | centímetros (cm) |
|---|---------|---------------------|
| 1 | Si | 0,7 |
| 2 | Si | 0,5 |
| 3 | Si | 0,4 |
| 4 | Si | 0,4 |
| 5 | Si | 0,7 |
| 6 | Si | 0,6 |
| 7 | Si | 0,6 |
| 8 | Si | 0,4 |
| 9 | Si | 0,8 |
| 10 | No | 0 |
| Numero de semillas germinadas (G) | 9 | |
| Promedio de la longitud de la radícula (L) | | 0,51 |

Figura 38. Semillas de pepino germinadas con 30 % de glifosato con H3



Longitud de radícula después de 7 días de incubación a 25 °C.

Tabla 8. Semillas de pepino germinadas con 10 % de glifosato cuando no tiene el hongo 3 como biorremediador

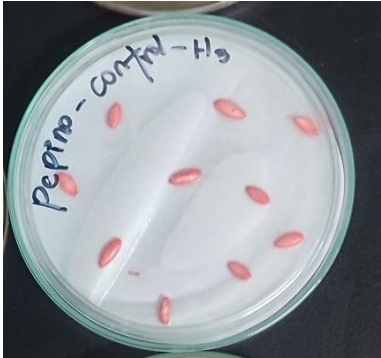
| Semilla | ¿Hubo Germinación? Si / No | Longitud de radícula en centímetros (cm) | Imagen de la germinación |
|---------|-------------------------------|--|--|
| 1 | Si | 0,6 | Figura 39. Semillas de pepino germinadas con 10 % de glifosato sin H3 |
| 2 | Si | 0,5 | |
| 3 | Si | 0,4 | |
| 4 | Si | 0,2 | |

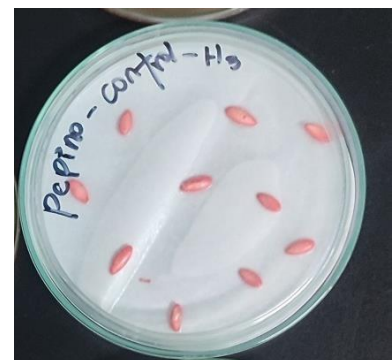
| | | |
|---|----|------|
| 5 | Si | 0,5 |
| 6 | Si | 0,5 |
| 7 | Si | 0,2 |
| 8 | Si | 0,4 |
| 9 | Si | 0,5 |
| 10 | No | 0 |
| Numero de semillas germinadas (G) | 9 | |
| Promedio de la longitud de la radícula (L) | | 0,38 |



Longitud de radícula después de 7 días de incubación a 25 °C.

Tabla 9. Semillas de pepino germinadas en control cuando tiene un 10 % glifosato sin el hongo

| Semilla | ¿Hubo Germinación? Si / No | Longitud de radícula en centímetros (cm) | Imagen de la germinación |
|---------|-------------------------------|--|--|
| 1 | No | 0 | <p>Figura 40. Semillas de pepino germinadas en control con H3</p>  |
| 2 | No | 0 | |
| 3 | No | 0 | |
| 4 | No | 0 | |
| 5 | No | 0 | |
| 6 | No | 0 | |
| 7 | No | 0 | |
| 8 | No | 0 | |
| 9 | No | 0 | |



| | | |
|---|----|---|
| 10 | No | 0 |
| Numero de semillas germinadas (G) | 0 | |
| Promedio de la longitud de la radícula (L) | | 0 |

Tabla 10. Resultados de índice de germinación de semilla de pepino para cada tratamiento

| Tratamiento | IG (%) |
|-----------------------|---------------|
| Glifosato 10 % | 0 |
| Glifosato al 10% + H3 | 27,2 |
| Glifosato al 20% + H3 | 12,24 |
| Glifosato al 30% + H3 | 9,12 |

En la **Tabla 10**, se evidencian los resultados que existe cuando se tiene una solución acuosa en presencia de glifosato al 10% V/V las semillas de pepino no germinan debido al grado de toxicidad del herbicida, sin embargo, cuando se tiene esta misma concentración de glifosato en un extracto fúngico de la cepa H3 se evidencia un índice de germinación del 27,2 % el cual evidencia la remediación del medio acuoso permitiendo la germinación paulatina de la semilla de pepino. Se ilustra que a medida que se aumenta la concentración de glifosato disminuye el índice de germinación

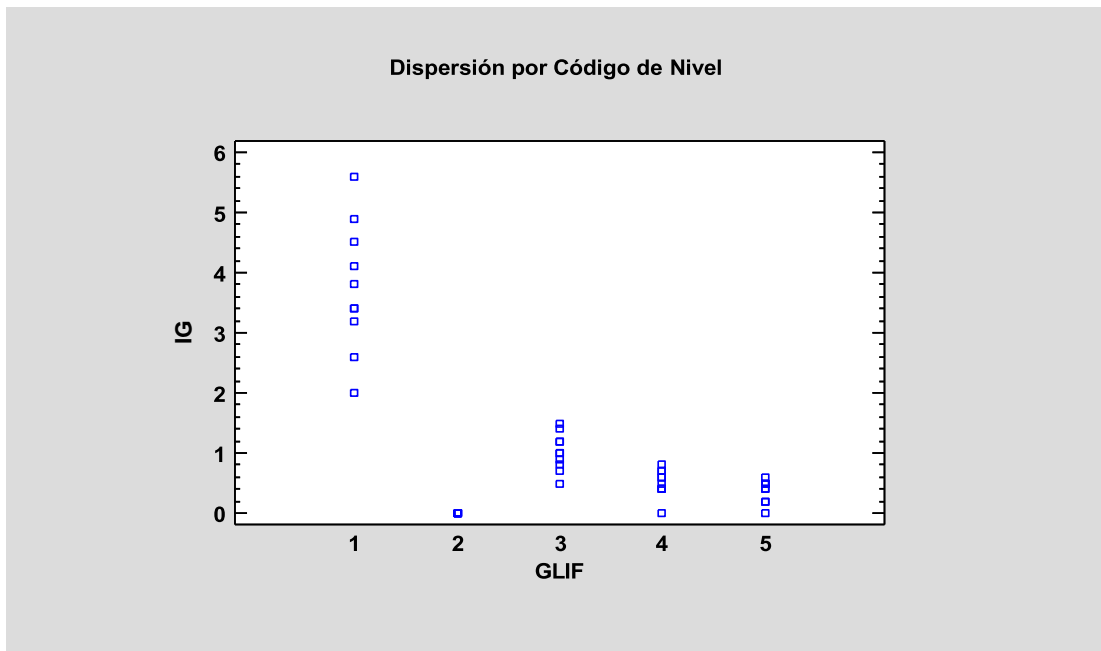
En estudios realizados por Bai et al. (2017) observaron una mayor tasa de germinación (79 %) asociada a una elevada tasa de degradación del carbendazim (98,2 %) luego de 3 días de tratamiento con *Rhodococcus* sp D-1, evidenciando que la toxicidad disminuyó ligeramente junto con la biodegradación.

Esto quiere decir que la baja degradación de glifosato se refleja en un bajo índice de germinación mientras que una degradación moderada de glifosato refleja un índice de germinación mayor sin embargo según la investigación de Baumann, A. J. (2022). “La reducción de la

contaminación no siempre va acompañada de una reducción de la toxicidad. La degradación incompleta y la formación de sustancias intermedias pueden provocar un aumento de la toxicidad (Saïen & Khezrianjoo, 2008)”.

4.7.1. Análisis estadístico del índice de germinación en semillas de pepino

Figura 41. Dispersión por código de nivel



En la **Figura 41**, se muestra una gráfica de índice de germinación (IG) por niveles de glifosato, en donde 1 es el primer nivel el cual no tiene glifosato, el nivel 2 equivale a las semillas germinadas en solución acuosa con un 10% de glifosato. El tercer nivel corresponde a la germinación resultante de tener una solución acuosa del 10% de glifosato más el coctel enzimático de la cepa H3. El nivel 4 corresponde a tener una germinación en solución acuosa del 20% de glifosato más el coctel enzimático de la cepa H3, y por último el nivel 5 equivale a la germinación cuando está en solución acuosa del 30% de glifosato más el coctel enzimático de la cepa H3.

Los resultados representan la variabilidad de los resultados cuando se tienen diferentes tratamientos equivalentes a concentraciones de glifosato, desde un 10% hasta un 30% en solución acuosa.

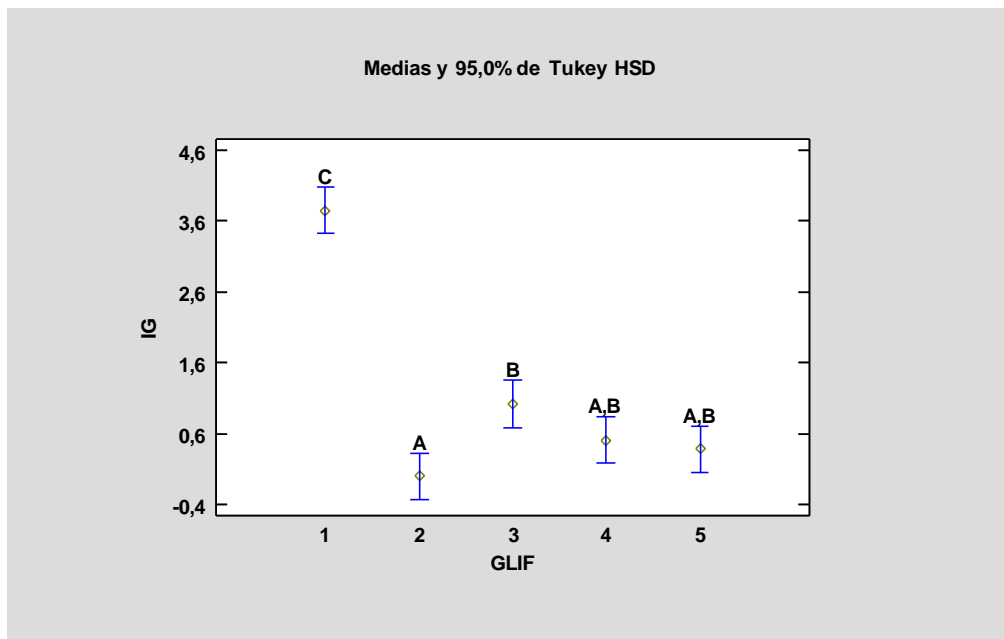
Cuando se tiene una germinación en un medio acuoso con 10% V/V de glifosato no hay germinación de las semillas de pepino, mientras que cuando se mezcla con el coctel enzimática de la cepa H3, se evidencia que a una concentración del 10% se presenta germinación paulatina de las semillas y se detalla que a medida que aumenta la concentración de glifosato mas el coctel enzimático de H3, disminuye el IG.

Tabla 11. Análisis estadístico

| GLIF | Recuento | Promedio | Desviación Estándar | Coefficiente de Variación |
|-------|----------|----------|---------------------|---------------------------|
| 1 | 10 | 3,75 | 1,07316 | 28,6175% |
| 2 | 10 | 0 | 0 | % |
| 3 | 10 | 1,02 | 0,311983 | 30,5866% |
| 4 | 10 | 0,51 | 0,228279 | 44,7605% |
| 5 | 10 | 0,38 | 0,18738 | 49,3104% |
| Total | 50 | 1,132 | 1,45004 | 128,096% |

En la **Tabla 11**, se evidencia que en diseño presenta una variación mayor del 28,5 % en el caso mas favorable de IG, esto se debe al Vigo de cada semilla por separado y a las condiciones puntuales a las cuales se haya sometido en su proceso de selección. La desviación estándar no supera la unidad resaltando la correlación independiente de cada tratamiento.

Figura 42. Gráfico de probabilidad normal para los efectos del diseño



En la **Figura 42**, se muestra la media de IG para cada uno de los niveles de GLIF. También muestra un intervalo alrededor de cada media. Los intervalos mostrados actualmente están basados en la diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Están contruidos de tal forma que, si todas las medias son iguales, todos los intervalos se traslaparán 95,0% de las veces

5 Conclusiones

Se establecieron con éxito las condiciones óptimas de propagación de los hongos lignocelulósicos silvestres seleccionados. Los parámetros controlados en el laboratorio permitieron identificar las condiciones de crecimiento más favorables para el desarrollo de estas especies, esenciales para su evaluación como agentes biodegradadores de compuestos organofosforados.

Se identificaron hongos lignocelulósicos silvestres con capacidad para degradar glifosato en forma de sal isopropilamina en condiciones *in vitro*. Mediante técnicas analíticas y enzimáticas, se confirmó la capacidad de degradación de estos hongos, consolidando su potencial para aplicaciones biotecnológicas en la remediación ambiental.

La evaluación de la capacidad degradativa de los compuestos organofosforados mediante actividad enzimática reveló niveles significativos de actividad ligninolítica en la cepa seleccionada. Las enzimas lacasas demostraron ser claves en el proceso de degradación, validando el uso de estos hongos en estrategias de biorremediación.

Se determinó que la degradación del glifosato por parte de los hongos evaluados redujo notablemente la fitotoxicidad en las semillas de pepino utilizadas como bioindicadores. Los índices de germinación obtenidos en los tratamientos demostraron un incremento en comparación con los controles no tratados, lo que confirma la efectividad de la degradación y la disminución del impacto tóxico del compuesto sobre el desarrollo vegetal.

6 Recomendaciones

- 6.1.** Evaluación de más cepas fúngicas: Ampliar la investigación hacia un mayor número de cepas lignocelulósicas autóctonas de la región para explorar su diversidad metabólica y enzimática. Esto permitirá identificar nuevas especies con potencial para la biodegradación de compuestos organofosforados y otros contaminantes ambientales relevantes.
- 6.2.** Análisis de diferentes compuestos xenobióticos: Incluir en futuros estudios la evaluación de la capacidad de degradación de otros compuestos xenobióticos como hidrocarburos aromáticos, pesticidas clorados y residuos industriales. Esto fortalecerá el entendimiento del potencial de los hongos ligninolíticos en la remediación de una gama más amplia de contaminantes ambientales.
- 6.3.** Desarrollo de estudios en condiciones más realistas: Realizar experimentos en condiciones que simulen escenarios naturales, como suelos contaminados y sistemas acuáticos, para validar la eficiencia de las cepas seleccionadas en contextos más representativos del entorno afectado. Esto permitirá una mejor proyección de su aplicación en escalas más amplias.

Referencias

- Aguiar, S., Arboleda, L., & Uvidía, H. (2021). Aprovechamiento de residuos agroindustriales como alternativa en el mejoramiento de la calidad del ambiente.
- Agudelo Lagos, V. L. (2024). Evaluación del crecimiento de *Pleurotus Djamor* a partir de Residuos Agroindustriales en el departamento de Cundinamarca.
- Aguilar, J. P. A., & Cupul, W. C. (2024). Actividad lacasa de *Bipolaris* sp. en diferentes medios de cultivo líquido. *Avances en investigación agropecuaria*, 28(1), ágs-126.
- Álvarez Flórez, V. (2024). *Biorremediación de suelos contaminados con glifosato- review* (Master's thesis, Escuela de Ingeniería).
- Alcántara-Revilla, A. R., Mejía-Benavides, A., Chávez-García, S. C., & Castillo-Llerena, D. E. (2022). Aprovechamiento de los Residuos Agroindustriales y su Impacto en el Medio Ambiente. *Revista Científica OGOLL*, 2(2), e29.
- Alberti, M. M. (2022). Determinación de los parámetros de cultivo para la producción intensiva de hongos comestibles del género *Oudemansiella* (Basidiomicetes): aportes nutricionales, nutraceuticos y enzimaticos.
- Arvizu de León, I. C. (2020). *Optimización de la producción de enzimas ligninolíticas con *Trametes versicolor* y su evaluación para la degradación de aguas azules* (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).
- Benites, A. M. J., & Méndez, J. F. R. (2023). Biorremediación de agua y suelo contaminados por residuos orgánicos de petróleo en Iquitos. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(5), 7936-7968.
- Bai, N., Wang, S., Abuduaini, R., Zhang, M., Zhu, X. & Zhao, Y. (2017). Rhamnolipid-aided biodegradation of carbendazim by *Rhodococcus* sp. D-1: characteristics, products, and phytotoxicity. *Sci. Total Environ.* 590–591, 343–351. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.025>.
- Baumann, A. J. (2022). Biorremediación fúngica de suelos agrícolas misioneros contaminados con plaguicidas.

- Buendía-Espinoza, J. C., Álvarez-Sánchez, M. E., Mateo-Guzmán, N., Bandalá Muñoz, V. M., & Maldonado-Torres, R. (2020). Modelo logístico de la dinámica del crecimiento micelial del hongo ‘Totolcozcatl’ en medios de cultivo. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 11(1), 33-44.
- Cabral, O. R. C. (2024). Hongos con potencial de biodegradación de agrotóxicos: revisión bibliográfica.
- Caicedo Amazo, L. M. (2021). Evaluación de los principales impactos ambientales del uso del glifosato como agente plaguicida de cultivos ilícitos en zonas rurales del país.
- CECIBEL, J. V. V. (2020). *Evaluación de bacterias y hongos potencialmente utilizables para la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos* (Doctoral dissertation, UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR).
- Cordoba, Andres & Piñeros-Castro, Yineth. (2014). PRODUCCIÓN DE *Pleurotus ostreatus* SOBRE RESIDUOS DE PALMA DE ACEITE SUPLEMENTADOS CON BAGAZO DE CAÑA Y SALVADO DE TRIGO. 10.2307/j.ctv2rcnqc5.8
- Cury R, K., Aguas M, Y., Martinez M, A., Olivero, R., V., & Chams Ch, L. (2017). Residuos agroindustriales su impacto, manejo y aprovechamiento. *Revista Colombiana de Ciencia Animal - RECIA*, 9(S1), 122–132. <https://doi.org/10.24188/recia.v9.ns.2017.530>
- Escobar Bisbicus, M. F. (2022). Evaluación de impacto de glifosato en propiedades físicas y químicas del suelo andisol mediante análisis cuantitativo.
- Fiallos Oviedo, K. V., & Procel Moreno, K. L. (2023). Efecto de diez plaguicidas de uso agrícola sobre el desarrollo de hongos entomopatógenos y nematofagos.
- Gallo, G. (s/f). Hongos: arsenal de compuestos bioactivos. Inecol.mx. Recuperado el 20 de diciembre de 2023, de <https://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/ct-menu-item-25/ct-menu-item-27/17-ciencia-hoy/1885-hongos-arsenal-de-compuestos-bioactivos>
- Ibarra Ramos, R. E. (2022). Perspectivas para la biorremediación de suelos contaminados con plomo en Colombia.

-
- Jaramillo Campos, J. (2021). Evaluación del riesgo químico por el uso del glifosato en trabajadores agrícolas.
- Lanao, M. M. (2017). Caracterización de compuestos bioactivos y efecto de la aplicación de Pulsos Eléctricos de Moderada Intensidad de Campo en setas cultivadas en La Rioja (Doctoral dissertation, Universitat de Lleida).
- López Escandon, V. (2022). Evaluación in-vitro de la biodegradación del glifosato en suelo utilizando *Pleurotus ostreatus*.
- Marquez Badillo, A. (2019). *Eficiencia de la bioestimulación en la remediación de un suelo contaminado con hidrocarburos, mediante el uso de hongos* (Master's thesis, Universidad Autónoma Metropolitana (México). Unidad Azcapotzalco. Coordinación de Servicios de Información.).
- Majul, L. M. (2020). *Uso de los sistemas de enzimas ligninolíticas de hongos Corticales y Geastrales para la degradación de colorantes de industriales* (Doctoral dissertation, Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales).
- Minta Carrillo, J. A. (2020). Evaluación de la eficiencia del hongo *Pleurotus Ostreatus* en la biodegradación de suelos contaminados con clorpirifos.
- Molina Espinoza, B. D. (2023). Evaluación del potencial micorremediador de siete cepas de hongos de los géneros *Ganoderma*, *Leiotrametes* y *Rigidoporus* mediante la determinación de su actividad enzimática.
- Navarro, S., Pérez-Lucas, G., & Navarro, G. (2023). *Plaguicidas y Medio Ambiente*. Aula Magna Proyecto clave McGraw Hill.
- OCAMPO, A. R. A. (2022). Aprovechamiento de residuos lignocelulósicos para la producción de hongos funcionales.
- Quintero Díaz, Juan Carlos. (2011). REVISIÓN: DEGRADACIÓN DE PLAGUICIDAS MEDIANTE HONGOS DE LA PUDRICIÓN BLANCA DE LA MADERA. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 64(1), 5867-5882. Retrieved October 26, 2023,

from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-28472011000100012&lng=en&tlng=es

- Ríos Cáceres, A. P. (2018). *Determinación de los efectos de seis plaguicidas de amplio espectro sobre cuatro microorganismos benéficos con potencial para la recuperación de suelos agrícolas a nivel de laboratorio* (Bachelor's thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo).
- Rodríguez, M. E., Pergassere, G. B., Kubach, C. M., Ortiz, A., Grasso, F. V., Montoya, P., ... & Robledo, G. L. (2022). Potencial de hongos de pudrición blanca en el tratamiento de pesticidas para el desarrollo de biocamas.
- Ruíz, J. R., Sandoval, J. P., Nava, L. R., Cruz, D. S., Muñoz, L. I., & Romero, C. C. (2021). Evaluación de pruebas bioquímicas para determinar actividad lacasa en hongos utilizados en biorremediación de suelos. *Avances de Investigación en Inocuidad de Alimentos*, 4, 5-5.
- Rugolo, M. (2018). Ensayos de producción, caracterización enzimática y obtención de exopolisacáridos de hongos comestibles lignocelulolíticos patagónicos en sustratos provenientes de desechos herbáceos, agrícolas y forestales.
- Ruíz, J. R., Sandoval, J. P., Nava, L. R., Cruz, D. S., Muñoz, L. I., & Romero, C. C. (2021). Evaluación de pruebas bioquímicas para determinar actividad lacasa en hongos utilizados en biorremediación de suelos. *Avances de Investigación en Inocuidad de Alimentos*, 4, 5-5.
- Sunil S.M., Renuka P.S., Pruthvi K., Swetha M., Malini S. y Veena S.M. (2011). Isolation, purification and characterization of fungal laccase from *Pleurotus* sp. *Enzyme Res.* DOI: 10.4061/2011/248735.
- Valdés, S., Garita, C., Esquivel, C., & Villegas, L. R. (2020). Aislamiento y purificación de la enzima lacasa: evaluación de su potencial biodegradador en residuos agrícolas. *Revista de la sociedad mexicana de Biotecnología y Bioingeniería*, 24(2), 29-45.
- Velasco Aguiar, F. J. (2024). *Herbicida glifosato y su impacto negativo en el Ecuador* (Bachelor's thesis, BABAHOYO: UTB, 2024).

Von Ziegler Muñoz, B. P., Aguilar, T. C. E., & García, A. I. (2022). Aplicación de hongos ligninolíticos para la biorremediación de aguas contaminadas con colorantes. *Contactos, Revista de Educación en Ciencias e Ingeniería*, (124), 15-33.

