

## Reproducción conidial de *Trichoderma asperelloides* en medios de cultivo y sustratos orgánicos

---

Ángel R. Ceballos-Chávez<sup>1</sup>  
Blanca E. López-Valenzuela<sup>1,5</sup>  
Fernando A. Valenzuela-Escoboza<sup>1</sup>  
Everardo López-Bautista<sup>1</sup>  
Hector A. Marquez-Lujan<sup>2</sup>  
Leidy E. Chávez-García<sup>3</sup>

1 Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte-Universidad Autónoma de Sinaloa. Av. Japaraqui y Calle 16 S/N, Juan José Ríos, Sinaloa, México. CP. 81110. ([angel.ceballos.chavez@gmail.com](mailto:angel.ceballos.chavez@gmail.com); [everardolob@uas.edu.mx](mailto:everardolob@uas.edu.mx); [fernando.vzla@favf.mx](mailto:fernando.vzla@favf.mx)).

2 Departamento de Agricultura Sustentable y Protegida-Universidad Tecnológica de la Babícora. Carretera Soto Máynez-Gómez Farias, Col. Oscar Soto Máynez, Namiquipa, Chihuahua, México. CP. 31963. ([jefatura.asp@utb.edu.mx](mailto:jefatura.asp@utb.edu.mx)).

3 Departamento de Tecnología Ambiental-Universidad Tecnológica de la Tarahumara. Carretera Guachochi-Yoquivo km 1.5, Turuseachi, Guachohi, Chihuahua, México. CP. 33180. ([echavez@uttarahumara.edu.mx](mailto:echavez@uttarahumara.edu.mx)).

Autor para correspondencia: [blancalopezvzla@favf.mx](mailto:blancalopezvzla@favf.mx)

---

### Resumen

El empleo de extractos vegetales para el control de enfermedades en el marco de una agricultura sostenible constituye una alternativa promisoriosa, debido a su elevada efectividad, bajo costo y no ser contaminantes del ambiente. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad biológica de reproducción conidial de *Trichoderma asperelloides* en medios de cultivos y sustratos orgánicos. Se evaluaron cuatro cepas de *T. asperelloides* en sustratos sólidos de arroz, maíz, sorgo, trigo, polvo de maicena y avena con cáscara de durazno variedad amarillo nativo de la región, se agregaron 250 g en bolsas de polietileno con una alícuota de 15 ml de agua destilada, con el hongo y en frascos de cristal se añadieron 10 discos miceliales de 0.5 cm de diámetro por cepa durante 45 días de incubación, además se probó el crecimiento de *T. asperelloides* en medios de cultivo de jugo de vegetales V8 al 5%, papa dextrosa agar, agar dextrosa sabouraud, 5 g de PDA con suplemento de polvo de trigo, 5 g de papa dextrosa agar con suplemento de polvo de aserrín de pino, 5 g de agar dextrosa sabouraud con suplemento de polvo de eucalipto, agar bacteriológico y agar macConkey durante siete días de crecimiento, para la obtención conidial se realizaron diluciones seriadas con seis repeticiones por medio de cultivo con una concentración de  $1 \times 10^6$ . Se obtuvo el 100% de reproducción conidial en los sustratos orgánicos y 87.5% de crecimiento micelial en medios de cultivo y se demostró la cepa 3 con la más alta producción conidial.

### Palabras clave:

antagonista, cepa, concentración, crecimiento.

---

## Introducción

Las enfermedades de las plantas son responsables de importantes pérdidas de cultivos en todo el mundo y representan una amenaza para la seguridad alimentaria mundial (Bevacqua *et al.*, 2019). El empleo de extractos vegetales para el control de plagas y enfermedades en el marco de una agricultura sostenible constituye una alternativa promisorio, debido a su elevada efectividad, bajo costo y no ser contaminantes del ambiente (Rodríguez *et al.*, 2000). Por ejemplo, los residuos orgánicos y subproductos de la agroindustria que resulten de fácil adquisición y proporcionen una elevada producción de conidias viables de hongos ( Rai *et al.*, 2023). Así como el desarrollo de nuevas metodologías de producción masiva de biocontroladores que permitan reducir el costo de producción y viabilizar un mayor uso de este antagonista en los diversos cultivos (Arévalo *et al.*, 2017).

Los hongos son microorganismos eucarióticos y heterótrofos, que requieren de compuestos orgánicos para su nutrición, ya que secretan enzimas las cuales ayudan a descomponer una gran variedad de sustratos, para absorber los nutrientes que hay en las hojas muertas y otros materiales orgánicos que se encuentran en el suelo (Ipiales *et al.*, 2021). Un tipo de microorganismos benéficos en el suelo son los hongos *Trichoderma* spp, mismos que establecen una simbiosis de beneficio mutuo en raíces de plantas superiores para la absorción de agua y nutrientes (Liang *et al.*, 2021).

Los sustratos comerciales permiten la optimización para la reproducción de microorganismos los cuales están compuestos por celulosa, hemicelulosa y lignina, estos sustratos incluyen paja de arroz y trigo, cáscaras de semillas de algodón, aserrín, papel de desecho, hojas y residuos de caña de azúcar (López- Martínez *et al.*, 2022). Se utilizan para reproducción de hongos (Aker y Sadia, 2020), además el género *Trichoderma*, suele aplicarse para mejorar la salud de los cultivos para manejar enfermedades de las plantas, como biofertilizante, biorremediador y agente de biocontrol ( Bhandari *et al.*, 2021).

Ademas se han obtenido resultados alentadores tanto en sustratos como en reproducción conidial en medios ricos en carnes, glucosa y fuentes proteicas (Antomarchi *et al.*, 2023). El objetivo de esta investigación consistió en evaluar la actividad biológica de reproducción conidial de *Trichoderma asperelloides* en diferentes medios de cultivos y sustratos orgánicos. La hipótesis planteada fue que al menos el 50% de los medios de cultivo presentará crecimiento micelial de *T. asperelloides* y efecto sobre los sustratos orgánicos comerciales.

## Materiales y métodos

### Lugar de estudio

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en los laboratorios de Microbiología, Edafología y Análisis ambientales de la Universidad Tecnológica de la Tarahumara ubicada en Guachochi, Chihuahua, México (enero de 2023) en conjunto con el laboratorio de Microbiología Agrícola de la Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte, de la Universidad Autónoma de Sinaloa de Juan José Ríos Sinaloa y el departamento de Fitopatología de la Universidad Autónoma de Occidente, Unidad regional los Mochis, Sinaloa (abril- junio 2023).

### Obtención de aislados

Para la obtención de las cuatro cepas de *T. asperelloides* se seleccionaron aquellas con mayor grado de inhibición, las cuales ya han sido previamente identificadas como cepa 3 y 5, obtenidas del municipio de Morelos, Chihuahua con una variación climatológica de 12 a 49 °C (Porrás *et al.*, 2021) y la cepa 1 y 8, aisladas del municipio de Guachochi, Chihuahua con una temperatura entre -6 a 17.5 °C (Alvarado *et al.*, 2019).

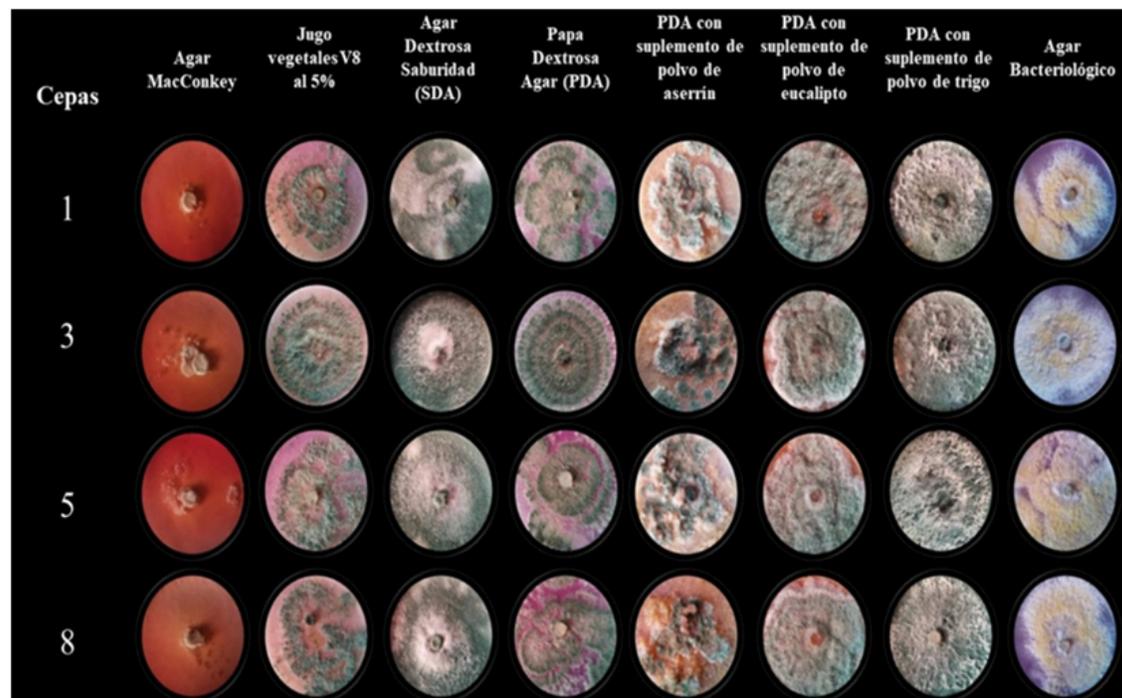
## Obtención de sustratos

Para la reproducción masiva de *T. asperelloides* en sustratos sólidos de origen comercial se tomó en cuenta el arroz (*Oryza sativa* L.) (Arévalo *et al.*, 2017), maíz (*Zea mays* L.), sorgo (*Sorghum* M.), trigo (*Triticum* L.), polvo de maicena (Feijóo-Vivas *et al.*, 2021; López- Martínez *et al.*, 2022) y avena con cáscara de durazno variedad amarillo nativo de la región.

## Preparación de medios de cultivo

Todas las cepas se cultivaron sobre jugo de vegetales V8 al 5% (Camargo *et al.*, 2021), papa dextrosa agar (PDA) agar dextrosa sabouraud (SDA) (Fletcher, 2019), 5 g de PDA con suplemento de polvo de trigo trituradas en un mortero (Ruschioni *et al.*, 2020), 5 g de PDA con suplemento de polvo de aserrín de pino trituradas en un mortero (Zhang *et al.*, 2021) 5 g de PDA con suplemento de polvo de eucalipto trituradas en un mortero con modificaciones (Ahmad *et al.*, 2020), agar bacteriológico (Rodriguez *et al.*, 2019), agar macConkey preparado en condiciones estériles estándar para evitar contaminaciones externas y de acuerdo las instrucciones del fabricante (Figura 1) (Kyei *et al.*, 2020), todos los medios fueron sometidos a un rango de pH= 5.5 a 7, con alternancia de luz y oscuridad (14 y 10 h respectivamente), durante siete días en todos los medios de cultivo, a una temperatura ambiente de 7 °C ±2 para el bioensayo 1 durante el invierno (noviembre) de 2022 y a una temperatura ambiente de 17.5 °C ±2 el bioensayo en verano (mayo) de 2023.

Figura 1. Crecimiento micelial *in vitro* de cepas de *Trichoderma asperelloides* sobre medios de cultivo.



## Preparación de los sustratos

Con el propósito de eliminar las impurezas de los sustratos se tomó en cuenta la técnica de Gato (2010), para ello se vertió el arroz en agua del grifo durante 24 h, posteriormente se lavó profundamente hasta eliminar el almidón, enseguida se agregaron 250 g de ese arroz en bolsas de polietileno y se esterizaron en autoclave (marca: Zhejiang Top Instruments, modelo: YX-18LD) a 121 °C por 60 min. Para maíz se molió a 1.3 g cm del grano y el sorgo se trituró hasta quedar pulverizado en una licuadora metálica ( marca: Waring, modelo: L.V.I.06714) se utilizaron frascos de cristal

envueltos en papel aluminio con tapa plástica, donde se depositaron 250 g de ambos sustratos (Vázquez *et al.*, 2009).

En trigo las semillas fueron desinfectadas superficialmente después de 5 min de remojo en solución de hipoclorito de sodio al 1%, seguido por la inmersión en agua estéril por 12 h, se colocaron en frascos de cristal con tapa plástica y se esterizaron mediante autoclave por 15 psi a 121 °C (Velmourougane *et al.*, 2019). En el sustrato de polvo de maicena se siguió la técnica con modificaciones de Zhang *et al.* (2021) en medio sólido se pesó 30 g polvo de maicena, mezclándolo con agua hirviendo con humedad relativa de 80%, se depositó en un contenedor de cristal de 250 ml y se esterilizó durante 30 minutos con 15 psi a 121 °C.

Para la preparación de avena con cascara de durazno variedad amarillo se licuaron 50 g de avena hasta quedar completamente polvo fino. Luego, se tomaron 200 g cáscaras frescas de duraznos nativas de la región, se cortaron en pequeños trozos de 5 cm los cuales, se mezclaron y se almacenaron en bolsas de polietileno para su posterior esterilización durante 8 minutos con 15 PSI a 121 °C.

### Inoculación de *Trichoderma asperelloides*

Las cepas de *T. asperelloides* se desarrollaron en medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) a los cuatro días de crecimiento (Arévalo *et al.*, 2017), se realizó un raspado con un asa bacteriológica y con una jeringa se tomó una alícuota de 15 ml de la mezcla de agua destilada con el antagonista, se inyectó con el sustrato y se dejó reposar durante 45 días a 27 °C ±2, con 14 h luz y 10 h oscuridad y se removió el sustrato diariamente hasta obtener la esporulación del hongo (Cuenca *et al.*, 2022), por otro lado a los sustratos contenidos en recipientes de cristal se agregaron 10 discos miceliales de 0.5 cm de diámetro por cepa. Los frascos se incubaron a la misma temperatura en completa oscuridad por 45 días (Vázquez *et al.*, 2009).

### Conteo de conidios a través de diluciones seriadas

Para el conteo de conidios se realizaron diluciones seriadas a partir de un gramo de sustrato colonizado con el hongo y se adicionaron a 9 ml de agua destilada estéril, por cada sustrato se realizaron seis repeticiones finalmente se tomó la lectura de seis alícuotas con una concentración  $1 \times 10^6$  en la cámara de Neubauer o hematocitómetro (Arévalo *et al.*, 2017).

Para el conteo de conidios en medios de cultivo se realizó un raspado de las cuatro cepas de *T. asperelloides* crecidas previamente en papa dextrosa agar (PDA) en los ocho medios de cultivo, con seis repeticiones con una concentración  $1 \times 10^6$ , así mismo se utilizó la fórmula propuesta por Bastidas (2018):  $V_2 = C_1 X V_1 / C_2$ . Donde=  $C_1$ = concentración inicial (conocida en el conteo);  $V_1$ = volumen inicial (establecido arbitrariamente al preparar el inóculo);  $C_2$ = concentración final deseada (según el estudio a realizar) y  $V_2$ = volumen final (desconocido).

### Análisis estadístico

Para llevar a cabo el análisis del tratamiento con mayor producción conidial en sustratos y medios de cultivo se empleó un diseño completamente al azar con arreglo factorial, con respecto a las cuatro cepas de *T. asperelloides*. Para el análisis de varianza y la comparación de medias se realizó la prueba de media de Tukey-Kramer, con un valor alfa de 0.05%, con seis repeticiones. Estos análisis se llevaron a cabo mediante el paquete estadístico JMP, versión 9.0.1 (Statistical Analysis System, [SAS Institute Inc.], 2011).



## Resultados y discusión

### Concentración conidial de *Trichoderma asperelloides* en medios de cultivo

De acuerdo con los resultados estadísticos analizados se determinó la diferencia entre los tratamientos, se consideraron los ocho medios de cultivo para obtener una producción conidial promedio por cepa. La cepa 1 mostró una reproducción conidial de 533 conidios  $\text{ml}^{-1}$  en medio agar dextrosa sabouraud (SDA) con mayor producción de esporas, mientras que en el medio MacConkey se obtuvo una menor cantidad conidial, para la cepa 3 se logró visualizar un total de 695 conidios  $\text{ml}^{-1}$  y cepa 5 con 627 conidios  $\text{ml}^{-1}$  ya que contabilizó el medio de cultivo PDA con suplemento de polvo de trigo con mayor número de conidios y el agar bacteriológico con la menor cantidad y para la cepa 8 con 183 conidios  $\text{ml}^{-1}$  se logró visualizar que el PDA con suplemento de polvo de trigo con mayor número de conidios y el medio SDA como la mínima.

En cepa 1 se obtuvo el crecimiento radial diario de 2.4 cm en medio PDA con suplemento de polvo de trigo en el bioensayo 1 y 2.325 cm con una desviación estándar de 0.025 en promedio con el medio PDA en el bioensayo 2 y el medio agar MacConkey con el crecimiento mínimo de 0 cm en ambos bioensayos, en la cepa 3 se presentó 2.58 cm en promedio más alto con el medio PDA suplemento de polvo de eucalipto en el bioensayo 1 y 2.36 cm en agar bacteriológico en el bioensayo 2 y el medio con menor crecimiento micelial fue agar MacConkey con 0 cm en ambos bioensayos, además en la cepa 5 se obtuvo 1.933 cm PDA y PDA con suplemento de polvo de aserrín en el bioensayo 1 y 2.4 cm en agar bacteriológico en el bioensayo 2 y el medio agar MacConkey con el crecimiento mínimo de 0 cm en ambos bioensayos y en la cepa 8 de 2.1 cm en promedio más alto con el medio PDA suplemento de polvo de trigo en el bioensayo 1 y 1.83 cm para el medio papa dextrosa agar (PDA) en el bioensayo 2 y el medio con menor crecimiento micelial fue agar MacConkey con 0 cm en ambos bioensayos.

Para comprobar el desarrollo *in vitro* de *T. asperelloides* en los medios de cultivo para el bioensayo 1, se observó un crecimiento significativo del hongo en medio de cultivo en PDA con suplemento de polvo de trigo (Figura 2 y 5), PDA con polvo de eucalipto (Figura 3) y papa dextrosa agar y PDA con polvo de eucalipto (Figura 4) y para el bioensayo 2 papa dextrosa agar (Figura 2 y 5), agar bacteriológico (Figura 3 y 4), por lo que se registró un crecimiento visible en tres días, en cambio en el resto de los medios de cultivo el crecimiento fue más lento o incluso inexistente.

Figura 2. Crecimiento *in vitro* de *T. asperelloides* en medios de cultivo durante siete días de desarrollo de la cepa 1. Literales diferentes, entre renglones indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ).

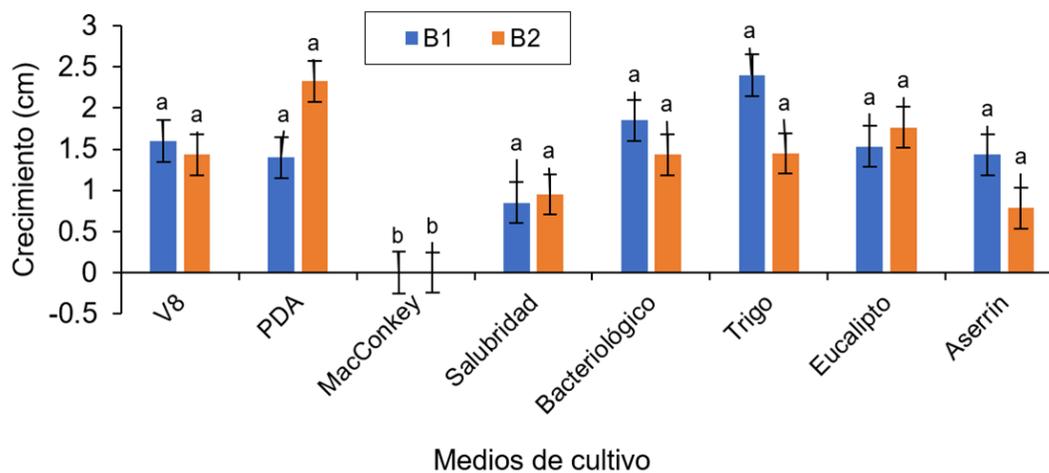


Figura 3. Crecimiento *in vitro* de *T. asperelloides* en medios de cultivo durante siete días de desarrollo de la cepa 3. Literales diferentes, entre renglones indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ).

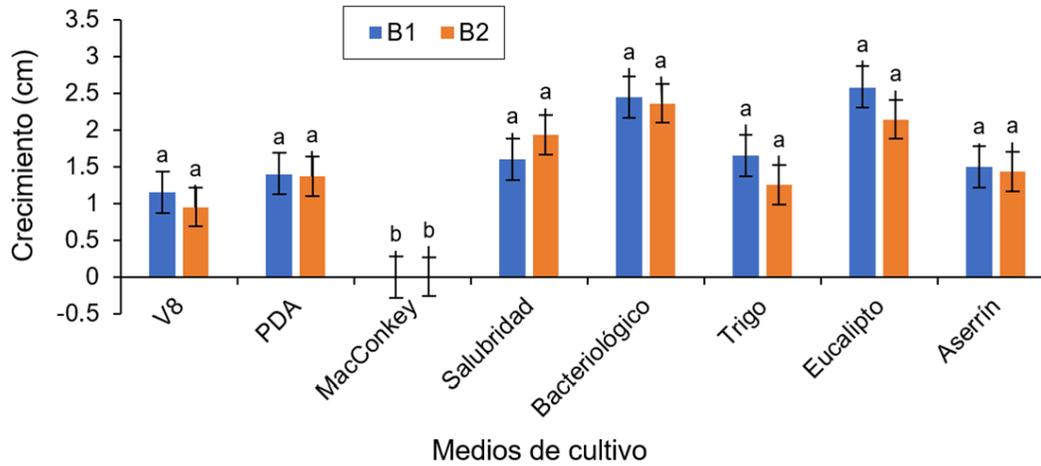


Figura 4. Crecimiento *in vitro* de *T. asperelloides* en medios de cultivo durante siete días de desarrollo de la cepa 5. Literales diferentes, entre renglones indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ).

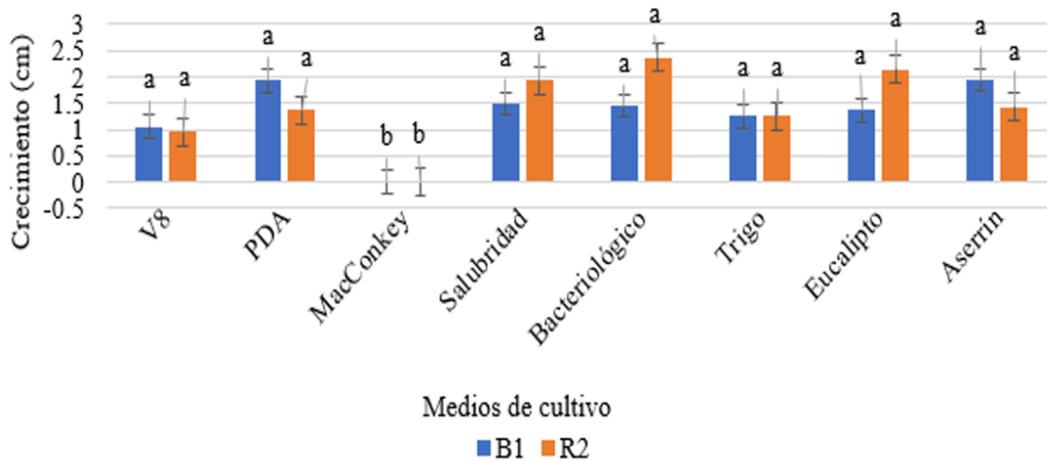
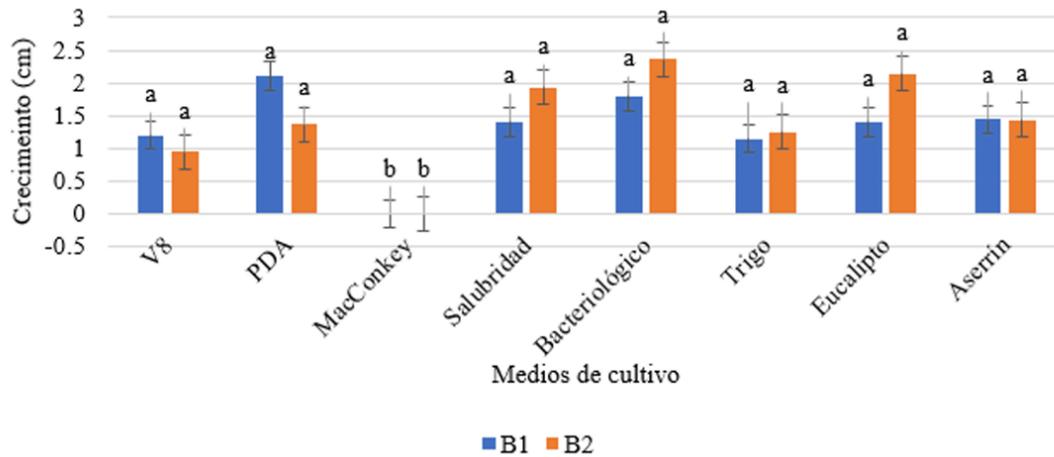


Figura 5. Crecimiento *in vitro* de *T. asperelloides* en medios de cultivo durante 7 días de desarrollo de la cepa 8. Literales diferentes, entre renglones indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ).



Los resultados coinciden con los estudios realizados por Shina *et al.* (2018) quienes evaluaron cinco medios de cultivo, papa dextrosa agar (PDA), agar de papa y zanahoria (PCA), agar de zanahoria (CA), czapek-dox medio de agar (CDA) y jugo de vegetales (V8), al inocular *T. viridae* y *T. harzianum*, en este estudio se reporta que los mayores crecimientos radiales se encontraron en agar papa dextrosa mientras que el crecimiento más bajo se registró en el jugo de vegetales, dichos resultados concuerdan con los de esta investigación, en ambos bioensayos realizados, se observó un mayor crecimiento radial en papa dextrosa agar, además del nulo crecimiento en el medio MacConkey.

Por otro lado, investigaciones realizadas en Bangladésh reportaron el crecimiento de *T. harzianum* en papa dextrosa agar, agar papa dextrosa modificado, agar agua, agar zanahoria y agar harina de maíz donde se encontró el mayor crecimiento radial en papa dextrosa agar (Jahan *et al.*, 2013), estos resultados coincidieron con los de este estudio al demostrar que en el mayor número de cepas evaluadas el medio papa dextrosa agar prevaleció.

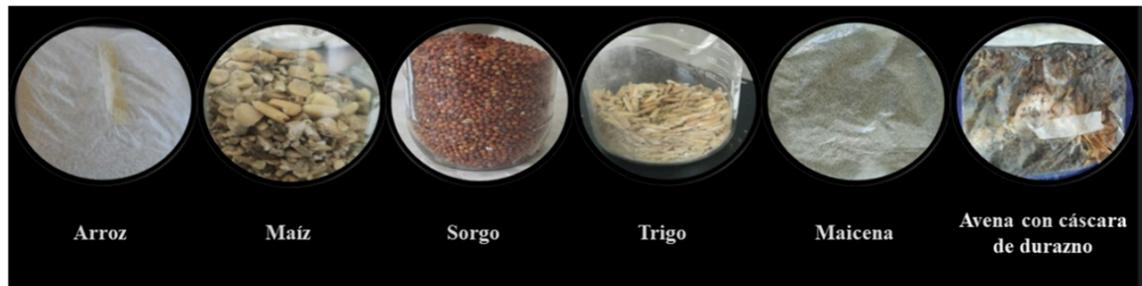
También Thomas y Gangadhara (2017) evaluaron ocho medios de cultivo (agar de jugo V8, agar sintético de Richard, agar sabouraud dextrosa, agar de harina de avena, agar de harina de maíz, agar zanahoria dextrosa, agar patata dextrosa, centeno agar) para el crecimiento de *Phytophthora capsici* durante cinco días en el cual desarrolló un mayor diámetro el agar sabouraud dextrosa con 69.5 mm de la colonia a diferencia de los resultados en *T. asperelloides* en que se mostró un crecimiento radial 0.7 y 1.9 cm en ambos bioensayos en todas las cepas evaluadas para el agar sabouraud dextrosa.

Al evaluar la producción conidial de las diferentes cepas de *T. asperelloides* en el municipio de Morelos, Chihuahua se consideran las variables climatológicas como un factor clave en el crecimiento del hongo al mostrar que la cepa 3 y 5 obtuvieron el mayor número promedio de conidios, ya que la temperatura promedio fue de 32 °C y la reproducción conidial en los diferentes medios varió de  $1 \times 10^6$  a  $1 \times 10^9$  en correlación con estudios previos realizados en San Paulo, Brasil al evaluar el efecto de factores específicos en la producción de conidios de *T. asperelloides*, *T. erinaceum*, *T. erinaceum* T-18 y *T. harzianum*, al medir variables clave como temperatura y la producción conidial en caldo de cultivo básico y el medio basal compuesto de 2 g de  $\text{NaNO}_3$ , 1 g de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0.5 g de KCl, 0.5 g de  $\text{MgSO}_4$  y 0.02 g  $\text{FeSO}_4$ . *T. asperelloides* presentó el 100% de producción conidial en siete días de crecimiento con un pH de 3.5 y una temperatura óptima de 30 °C en ambos medios con una producción conidial que varió de  $1 \times 10^8$  a  $2.6 \times 10^8$  (De Resende *et al.*, 2020).

## Análisis cuantitativo en los sustratos orgánicos comerciales sobre el crecimiento micelial de *Trichoderma asperelloides*

En general en todos los sustratos inicialmente se evidenció la formación de micelio de color blanco de *T. asperelloides* sobre el material vegetativo, posteriormente se tornó a verde pino, en el caso de avena con cáscara de durazno después de los 45 días el color se tornó a negruzco, así como en el sorgo se tardó 22 días en penetrar el hongo para realizar su invasión, además en maicena se formaron grumos entre 1 a 4.8 cm de diámetro después de los 39 días (Figura 6).

Figura 6. Reproducción masiva de *Trichoderma asperelloides* almacenados en bolsas de polietileno y contenedores de cristal de sustratos orgánicos comerciales.



En el resto de los sustratos, la presencia del hongo se mostró entre los 12 y 18 días. Los resultados indican que la reproducción conidial fue más efectiva en granos de arroz y semillas de trigo, ya que la invasión fue en su totalidad en menos tiempo en comparación con el resto, estos resultados se asimilan a los presentados por Mulatu *et al.* (2021) al evaluar especies de *Trichoderma* bajo fermentación en estado sólido, mediante 14 sustratos de orgánicos después de los 21 días de incubación, en la que se encontró que una mezcla de salvado de trigo y el arroz apoya el crecimiento máximo de *T. asperellum* ( $3.2 \times 10^7$  esporas  $g^{-1}$  sustrato seco) y *T. longibrachiatum* ( $3.5 \times 10^7$  esporas  $g^{-1}$  sustrato seco).

De acuerdo al análisis estadístico, todos los sustratos alcanzaron la concentración ideal de  $1 \times 10^6$  conidios  $ml^{-1}$  con una pureza de 100% tanto en los inoculados en bolsas de polietileno como los contenidos en vidrio, así como también se determinaron variaciones de concentración entre los sustratos con respecto a las diferentes cepas. Se demostró que la cepa 3 presentó la mayor concentración en todos los sustratos; no obstante, no hubo diferencia significativa entre los tratamientos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Concentración conidial de *Trichoderma asperelloides* y pureza de sustratos comerciales para el uso agrícola.

Sustrato (tratamiento)	Número de cepa	Concentración (conidios $g^{-1}$ de sustrato)	
Arroz	1	$1 \times 10^8$	a
Maíz	1	$1 \times 10^6$	a
Sorgo	1	$1 \times 10^6$	a
Trigo	1	$1 \times 10^9$	a
Maicena	1	$1 \times 10^8$	a
Avena con cáscara de durazno	1	$1 \times 10^6$	a
Arroz	3	$1 \times 10^9$	a

Sustrato (tratamiento)	Número de cepa	Concentración (conidios g <sup>-1</sup> de sustrato)	
Maíz	3	1x10 <sup>7</sup>	a
Sorgo	3	1x10 <sup>6</sup>	a
Trigo	3	1x10 <sup>9</sup>	a
Maicena	3	1x10 <sup>8</sup>	a
Avena con cascara de durazno	3	1x10 <sup>6</sup>	a
Arroz	5	1x10 <sup>7</sup>	a
Maíz	5	1x10 <sup>7</sup>	a
Sorgo	5	1x10 <sup>6</sup>	a
Trigo	5	1x10 <sup>8</sup>	a
Maicena	5	1x10 <sup>6</sup>	a
Avena con cascara de durazno	5	1x10 <sup>6</sup>	a
Arroz	8	1x10 <sup>7</sup>	a
Maíz	8	1x10 <sup>7</sup>	a
Sorgo	8	1x10 <sup>6</sup>	a
Trigo	8	1x10 <sup>8</sup>	a
Maicena	8	1x10 <sup>6</sup>	a
Avena con cascara de durazno	8	1x10 <sup>6</sup>	a

Literales diferentes, entre renglones indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ).

A comparación de lo obtenido por Cáceres y Galliani (2020) quienes evaluaron sustratos orgánicos sobre *T. viridae* en aserrín, maíz de grano amarillo, harina de avena, alpiste, cáscara seca de frijol lima, grano de trigo, orujo de uva y vaina de huarango y sus resultados fueron favorables para cáscara de frijol con una mayor concentración de  $2 \times 10^9$  conidios g<sup>-1</sup> en cinco días de incubación y se obtuvo el 100% de pureza en todos los sustratos.

Además, Perera *et al.* (2021) probaron diferentes tratamientos para el crecimiento de *T. viridae* al comparar paja de arroz, aserrín de madera, cáscara de arroz y hojas de plátano durante 36 días sus resultados fueron favorables al tener un efecto significativo en paja de arroz y aserrín en el desarrollo de *Trichoderma* en este caso coincidió con lo realizado en este estudio al encontrar los granos de arroz como mejor fuente de reproducción masiva y de inóculo de *T. asperelloides*.

Por otro lado, Silva *et al.* (2018) utilizaron la técnica planteada en este estudio para la inoculación de *T. asperelloides* y *T. asperellum* sobre gránulos de trigo con una concentración de  $1 \times 10^6$  conidios ml<sup>-1</sup> para determinar el mico parasitismo sobre *Sclerotinia sclerotiorum* y se tuvieron resultados de 100% de inhibición del hongo sobre el sustrato; no obstante, estudios realizados en Cuba han demostrado la reproducción masiva de *T. harzianum* en aserrín de pino blanco y se produjo el 29.87% de reproducción conidial sobre el bagazo de caña (Antomarchi *et al.*, 2023).

Sin embargo, existió diferencia de esta investigación ya que el aserrín de pino solo fue sobresaliente en la cepa 5 con el mismo valor de PDA, mientras López-Martínez *et al.* (2022) confirma el olote de maíz como mejor sustrato para la reproducción de *T. harzianum*, *T. harzianum*, *T. harzianum*, *Trichoderma* sp. y *T. longibrachiatum* en comparación con el sustrato en granos de arroz el valor de  $3.3 \times 10^6$  esporas en arroz y  $1.74 \times 10^6$  en olote y se demostró que el olote es un sustrato ideal para la reproducción de los hongos sin tener que utilizar un alimento del ser humano.

## Conclusiones

De los ocho medios de cultivo probados en cuatro cepas de *T. asperelloides* durante ambos bioensayos se destacaron papa dextrosa agar, agar bacteriológico y PDA con polvo de trigo con el valor más alto de crecimiento y el medio MacConkey no presentó crecimiento en los tratamientos y se demostró la cepa 3 con la más alta producción conidial al llenar una caja de 90 mm de los diferentes medios de cultivo en tres días de experimentación.

En todos los sustratos se presentó viabilidad para la reproducción conidial del hongo y se demostró que las semillas de trigo y los granos de arroz son una fuente ideal para su crecimiento a temperaturas cálidas ( $17.5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ ) y frías ( $7\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ ), por lo tanto se cumplió con el objetivo al confirmar la efectividad biológica de *T. asperelloides* en sustratos orgánicos comerciales, ya que se obtuvo el 100% de reproducción conidial y 87.5% de crecimiento micelial en medios de cultivo. Se recomienda probar los sustratos orgánicos en cultivos de la región ya sea en condiciones controladas como en campo abierto, agregándolos de forma sólida sobre el suelo, de igual manera se recomienda hacer uso del medio papa dextrosa agar para la reproducción conidial y así poder realizar las inoculaciones de forma líquida.

## Agradecimientos

El primer autor agradece al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) quien otorgó la beca de estudios de posgrado lo cual permitió realizar esta investigación, así también a la Universidad Autónoma de Occidente, Universidad Tecnológica de la Tarahumara por apoyar con el uso de los equipos para la ejecución de este proyecto y a Brenda Guaderrama Villagran quien participó como colaboradora del trabajo experimental.

## Bibliografía

- 1 Ahmad, H. B.; Venugopal, K. S.; Rajagopal, K. R.; De Britto, S.; Nandini, B. P.; Pushpalatha, H. G.; Konappa, N. M.; Udayashankar, A. C.; Geetha, N. S. and Jogaiah, S. 2020. Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using eucalyptus globules and their fungicidal ability against pathogenic fungi of apple orchards. *Biomolecules*. 10(3):e425. <https://doi.org/10.3390/biom10030425>.
- 2 Akter, S. M. and Sadia S. F. 2020. Evaluation of the biological efficacy of fungus and bacteria isolated from mushroom substrates against pathogenic fungi. *International Journal of Environmental and Agriculture Research (IJOEAR)*. 6(3):38-40.
- 3 Alvarado, B. R.; Pompa, G. J. M.; Zúñiga, V. J. and Jiménez, C. M. 2019. Spatial analysis of phenotypic variables in a clonal orchard of *Pinus arizonica* Engelm. In northern Mexico. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*. 25(2):185-199. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2018.11.086>.
- 4 Antomarchi, O. Y.; Tamayo, R. E.; Guerra, B. J. L.; Siannah, M. M. D. y Barrera, A. A. L. 2023. Producción de hongo *Trichoderma harzianum* a-34 en sustratos sólidos alternativos. *Revista Científica Arbitrada Multidisciplinaria*. 5(1):259-267. <http://editorialalema.org/index.php/pentaciencias/article/view/440/572>.
- 5 Arévalo, E. D.; Cayotopa, J. J.; Olivera, D. E.; Gárate, M. C.; Trigoso, E. B.; Costa, B. D. y Leon, T. B. 2017. Optimización de sustratos para la producción de conidias de *Trichoderma harzianum* por fermentación sólida en la región de San Martín, Perú. *Revista de Investigaciones Altoandinas. Journal of High Andean Research*. 19(2):135-144. <https://doi.org/10.18271/ria.2017.272>.
- 6 Bastidas, G. O. 2018. Conteo celular con hematócitosmetro (uso elemental del hematócitosmetro). *Neubauer chamber cell counting. Celeromics. Nota técnica núm. 1*. 6 p. <https://xdoc.mx/documents/conteo-celular-con-hematocitosmetro-606bdf1d4e7c7>.
- 7 Bevacqua, D. P.; Génard, M. W.; Lescourret, F. P.; Martinetti, D. P.; Vercambre, G. L.; Valsesia, P. W. and Mirás-Avalos, J. M. 2019. Coupling epidemiological and tree growth models to control fungal diseases spread in fruit orchards. *Scientific Reports*. 9(1):e8519-1-8. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44898-6>.

- 8 Bhandari, P. S.; Pandey, K. R.; Joshi, Y. R. and Lamichhane, S. K. 2021. An overview of multifaceted role of *Trichoderma* spp. for sustainable agriculture. Archives of Agriculture and Environmental Science. 6(1):72-79. <https://doi.org/10.26832/24566632.2021.0601010>.
- 9 Cáceres, Y. H. y Galliani, P. C. L. 2020. Production of *Trichoderma viride* in local organic substrates of the Ica region Peru. Plant Pathol Microbiol. 11(490):1-7. Doi: 10.35248/2157-7471.20.11.490.
- 10 Camargo, P. Y.; Zambrano, M. G.; Ortega, C. M.; Gutierrez, M. D. J. and Yepes, E. J. A. 2021. Actividad antifúngica *in vitro* del aceite esencial de *Swinglea glutinosa* Merr sobre *Colletotrichum* sp. patógeno de mango (*Mangifera indica* L.). Revista Colombiana de Biotecnología. 23(1):62-71. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v23n1.88025>.
- 11 Cuenca, S. J. A.; Quevedo, G. J. N.; Tuz, G. I. G. and Chabla, C. J. E. 2022. *Trichoderma* spp: propagación, dosificación y aplicación en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.). Ciencia y Agricultura. 19(3):32-44. <https://doi.org/10.19053/01228420.v19.n3.2022.14692>.
- 12 De Rezende, L. C.; De Andrade, C. A. L.; Costa, L. B.; De Almeida, H. V. B.; Silva, L. G.; Pinto, Z. V.; Morandi, M. A. B.; De Medeiros, F. H. V.; Mascarín, G. M. and Bettiol, W. 2020. Optimizing mass production of *Trichoderma asperelloides* by submerged liquid fermentation and its antagonism against *Sclerotinia sclerotiorum*. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 36(8):113-127. <https://doi.org/10.1007/s11274-020-02882-7>.
- 13 Feijóo-Vivas, K.; Bermúdez-Puga, S. A.; Rebolledo, H.; Figueroa, J. M.; Zamora, P. y Naranjo-Briceño, L. 2021. Bioproductos desarrollados a partir de micelio de hongos: una nueva cultura material y su impacto en la transición hacia una economía sostenible. Bionatura. 6(1):1637-1652. <https://doi.org/10.21931/rb/2021.06.01.29>.
- 14 Fletcher, I. A. 2019. Effect of temperature and growth media on *Mycelium* growth of *Pleurotus ostreatus* and *Ganoderma Lucidum* strains. Cohesive Journal of Microbiology and Infectious Disease. 2(5):1-5. <https://doi.org/10.31031/CJMI.2019.02.000549>.
- 15 Gato, C. Y. 2010. Métodos de conservación y formulación de *Trichoderma harzianum* rifai. Revista de Fitosanidad. 14(3):189-195. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=209115199008>.
- 16 Ipiates, J. J. P.; Pineda, I. J. A.; Barrigas, R. D. A.; Muñoz, P. F. A. y Pineda, S. C. A. 2021. Producción del hongo-moho (*Trichoderma harzianum*): una revisión. Revista de Biorrefinería. 4(4):1.-6. <https://www.cebaecuador.org/wp-content/uploads/2022/01/14.pdf>.
- 17 Jahan, J. T.; Sabinha, H. S.; Adhikary, S. K.; Sanzida, M. R. y Suraiya Y. S. 2013. Evaluation of the growth performance of *Trichoderma harzianum* (Rifai.) on different culture media. Journal of Agriculture and Veterinary Science. 3(4):44-50. <http://www.iosrjournals.org/>.
- 18 Kyei, K. S.; Dogbadze, E. S.; Tagoh, H. S. and Mwanza, E. B. 2020. Unorthodox ophthalmic preparations on the Ghanaian market: a potential risk for ocular and enteric infections. African Health Sciences. 20(1):515-523. <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0>.
- 19 Liang, S. M.; Zheng, F. L.; Fathi-Abd, A. E.; Muthuramalingam, P.; Wu, Q. S. and Hashem, A. 2021. Spatial changes of arbuscular mycorrhizal fungi in peach and their correlation with soil properties. Saudi Journal of Biological Sciences. 28(11):6495-6499. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.07.024>.
- 20 López-Martínez, T. Á.; Páramo Aguilera, L. A. y Delgado Silva, H. D. 2022. Reproducción masiva de hongos *Trichodermas* previamente identificados de suelos nicaragüenses en diferentes sustratos orgánicos. Nexo Revista Científica. 35(03):700-712. <https://doi.org/10.5377/nexo.v35i03.15000>.
- 21 Mulatu, A. U.; Alemu, T. M.; Megersa, N. G. and Vetukuri, R. R. 2021. Optimization of culture conditions and production of bio-fungicides from *Trichoderma* species under solid-state fermentation using mathematical modeling. Microorganisms 9(8):1675-1700. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081675>.

- 22 Porras, F. D.; Anchondo, P. C.; González, A. A.; Piñón M. M. A. and Anchondo, A. A. 2021. Diagnosis, technology transfer and technical support for the development of family production units in the municipality of Morelos, Chihuahua. *Revista Biologica Agripecuaria Tuxpan*. 9(2):62-71. <https://doi.org/10.47808/revistabioagro.v9i2.363>.
- 23 Perera, T. V. R. C.; Pakeerathan, K. P. and Nirosha, R. A. 2021. Eco-friendly management common lab contaminant *Trichoderma* spp. in oyster mushroom production using agrobased industry's by-products. *Proceedings of the 5<sup>th</sup> International Conference on Climate Change*. 5(1):65-71 <https://doi.org/10.17501/2513258X.2021.5111>.
- 24 Rai, P. D.; Ranjan R. K. and Kumar, R. M. 2023. Evaluation of local solid and liquid substrates for growth and sporulation of *Trichoderma asperellum*. *The Pharma Innovation Journal*. 12(3):15-18. <https://www.thepharmajournal.com/archives/2023/vol12issue3/PartA/11-12-654-306.pdf>.
- 25 Rodrigues, A. C.; Fontão, A. I.; Coelho, A. F.; Leal, M. C.; Soares da Silva, F. A. G.; Wan, Y.; Dourado, A. F. and Gama, F. M. 2019. Response surface statistical optimization of bacterial nanocellulose fermentation in static culture using a low-cost medium. *New Biotechnology*. 49(25):19-27. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2018.12.002>.
- 26 Rodríguez, A.T.; Morales, B. D. y Ramírez, M. A. 2000. Efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento *in vitro* de hongos fitopatógenos. *Cultivos tropicales*. 21(2):79-82. <https://www.redalyc.org/pdf/1932/193215024014.pdf>.
- 27 Ruschioni, U. S.; Loreto, A. N.; Foligni, P. R.; Mannozi, C. G.; Raffaelli, J. N.; Zamporlini, M. F.; Pasquini, A. M.; Roncolini, M. A.; Cardinali, G. F.; Osimani, M. A.; Aquilanti, P. L.; Isidoro, B. N.; Riolo, M. P. and Mozzon, A. M. 2020. Addition of olive pomace to feeding substrate affects growth performance and nutritional value of mealworm (*Tenebrio molitor* L.) Larvae. *Foods*. 9(3):317-331. <https://doi.org/10.3390/foods9030317>.
- 28 SAS. 2011. Statistical Analysis System, [SAS Institute Inc]. JMP versión 9.0.1. Statistical Discovery. From SAS. USA: Author. A Business Unit of SAS Campus Drive Cary, NC 27513. <https://www.sas.com/en-us/software/stat.html>.
- 29 Silva, M. A. F.; Moura, K. E.; Salomão, G. D. and Patricio, F. R. A. 2018. Compatibility of *Trichoderma* isolates with pesticides used in lettuce crop. *Summa Phytopathologica*. 44(2):137-142. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/176873>.
- 30 Shina, M. A. F.; Harshita, D. R.; Sing, R. P.; Gouvind, R. S. and Verma, D. A. 2018. Comprehensive evaluation of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* on different culture media & at different temperature and pH. *The Pharma Innovation Journal*. 7(2):193-195. <https://www.thepharmajournal.com/archives/2018/vol7issue2/PartC/7-2-8-168.pdf>.
- 31 Thomas, L. M. and Gangadhara, N. B. 2017. Evaluation of different culture media, fungicides and bio control agents on the growth of *Phytophthora capsici* Leonian. causing foot rot of black pepper *in vitro*. *Chemical Science Review and Letters*. 6(21):279-286. <https://chesci.com/wpcontent/uploads/2017/01/V6i21-51-CS092048024-Narasimha-279-286.pdf>.
- 32 Vázquez, L. A.; Tlapal, B. B.; Yáñez, M. M. J.; Pérez, P. R. and Quintos, E. M. 2009. Etiology of pepper wilt disease of 'chile de agua' (*Capsicum annum* L.) in Oaxaca, México. *Revista de Fitotecnia México*. 32(2):127-134. <https://www.scielo.org.mx/pdf/rfm/v32n2/v32n2a8.pdf>.
- 33 Velmourougane, R. K.; Prasanna, R. H.; Chawla, V. G.; Nain, L. I.; Kumar, V. A. and Saxena, A. K. 2019. *Trichoderma*-Azotobacterbiofilm inoculation improves soil nutrient availability and plant growth in wheat and cotton. *Journal of Basic Microbiology*. 59(6):632-644. <https://doi.org/10.1002/jobm.201900009>.
- 34 Zhang, P. N.; Xu, W. H.; Xie, J. A.; Cui, S. J.; Yang, C. J.; Zhao, M. J.; Tong, F. Y. and Jiang, C. J. 2021. Screening of cucumber *Fusarium* wilt bio Inhibitor: high sporulation *Trichoderma harzianum* mutant cultured on moso bamboo medium. *Frontiers in Microbiology*. 7(12):763006-763016. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.763006>.

## Reproducción conidial de *Trichoderma asperelloides* en medios de cultivo y sustratos orgánicos

Journal Information
Journal ID (publisher-id): remexca
Title: Revista mexicana de ciencias agrícolas
Abbreviated Title: Rev. Mex. Cienc. Agríc
ISSN (print): 2007-0934
Publisher: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias

Article/Issue Information
Date received: 01 October 2024
Date accepted: 01 February 2025
Publication date: 19 March 2025
Publication date: Jan-Feb 2025
Volume: 16
Issue: 1
Electronic Location Identifier: e3510
DOI: 10.29312/remexca.v16i1.3510

### Categories

Subject: Artículo

### Palabras clave:

**Palabras clave:**

antagonista  
cepa  
concentración  
crecimiento

### Counts

Figures: 6  
Tables: 1  
Equations: 0  
References: 34  
Pages: 0