

TRICHODERMA ASPERELLUM MT04438 COMO BIOESTIMULANTE DE RENDIMIENTO EN MAÍZ CRIOLLO BLANCO (ZEA MAYS)

Fecha de aceptación: 01/07/2024

José Israel Rodríguez Barrón

Researcher professor from Chemical & Biochemical Engineering Department at: Instituto Tecnológico de Tecip. Tecip Nayarit

Brenda Bermúdez

Biochemical Engineer researcher professor from Chemical & Biochemical Engineering Department at: Instituto Tecnológico de Tecip

Víctor Manuel Mata Prado

Researcher professor from the Industrial Engineering Department at: Instituto Tecnológico de Tecip. Tecip Nayarit

Ramón Rodríguez Blanco

Profesor e investigador de la Unidad Académica de Agricultura en la Universidad Autónoma de Nayarit

RESUMEN: La presente investigación evaluó el hongo nativo *Trichoderma asperellum* con registro MT044384 en National Center Biotechnology (NCBI), USA, para conocer su mecanismo de acción de bioestimulante de crecimiento y rendimiento maíz criollo blanco. Se evaluó una concentración de 1×10^8 esporas/ml de *T. asperellum* que se

asperjó al follaje de la planta cada 21 días hasta la formación de la espiga, con una combinación del hongo bioestimulante y composta, y tratamientos control sin el hongo y sin composta. El experimento se distribuyó en un diseño completamente al azar con tres repeticiones, en condiciones de campo e invernadero. Se realizó un análisis de varianza y comparación de medias de tratamientos con la prueba de Tukey con significancia de $p < 0.0001$. *T. asperellum* estimuló la altura de la planta del maíz criollo y las variables de rendimiento en condiciones de invernadero y campo comparadas con los tratamientos control. El mejor rendimiento de grano de maíz se obtuvo en *T. asperellum* en invernadero con 9.40 ton/ha, seguido de *T. asperellum* más composta en campo con 8.92 ton/ha ambos tratamientos fueron significativamente iguales, esto representa un promedio de hasta un 60 por ciento en relación con los tratamientos control. La mayor altura fue de 372.5 cm en *T. asperellum* en invernadero. La cepa nativa *T. asperellum* MT044384 potencialmente es una buena alternativa para incrementar los rendimientos del maíz criollo.

PALABRAS CLAVE: *Trichoderma asperellum* MT044384, Maíz criollo.

INTRODUCCIÓN

Una de las prioridades en el mundo y particularmente en Europa, es la reducción de plaguicidas, fungicidas en la agricultura para desarrollar una seguridad alimentaria en el consumidor y la biodiversidad del ambiente. El control biológico ha cobrado fuerza en los últimos años como una alternativa al desuso de los agroquímicos sintéticos, Woo et al. (2014). Los bioestimulantes de *Trichoderma* son seguros para el hombre, el ganado, las abejas y las plantas incluyendo las de uso hortícola, (López, Pelagio, y Herrera, 2015). *Trichoderma harzianum* es una de las especies más experimentadas en los cultivos y en el mundo. La cepa *T. harzianum* T-22 demostró mecanismos de acción en aumentar el crecimiento y desarrollo de las plantas y un sistema radicular robusto. En plantas ornamentales y césped acrecentó la resistencia a la sequía. En maíz se alcanzó un mayor rendimiento y una reducción de hasta un 40% de cantidad de nitrógeno en comparación de las plantas que no tuvieron el hongo T-22, (Harman, 2000).

Los efectos de los bioestimulantes con microorganismos producen un alto rendimiento en los cultivos agrícolas, que intensifican el aprovechamiento del uso de los nutrientes e incrementan la actividad fotosintética y la resistencia al estrés biótico y abiótico, estos contribuyen a una agricultura más sustentable y resiliente, (Van Oosten et al, 2017). Las cepas de *Trichoderma* tienen la cualidad de mejorar la capacidad de inducir la eficiencia de uso de nitrógeno, de tal forma que la aplicación de bajas dosis de nitrógeno a las plantas, evita la contaminación del agua y la eutroficación, que incluye el desarrollo de “zonas muertas” en las bahías y las bocas de los ríos, (Harman, 2011). *Trichoderma asperellum* es un agente de control biológico de fitopatógenos de importancia en la agricultura y un bioestimulante de crecimiento de las plantas agrícolas.

La cepa *T. asperellum* Ta. 85 se seleccionó por su capacidad promotora del crecimiento del sistema radical en plantas de frijol cultivar BAT-304, tres cepas de esta misma especie también tuvieron efectos positivos de promover el crecimiento foliar, estas cepas son considerados como candidatos para crear biofertilizantes en el frijol, (González et al 2019). *T. asperellum* Ta13-17 a una concentración de 1×10^8 conidios mL^{-1} redujo la incidencia de la mancha foliar *Corynespora cassiicola* en el jitomate, asimismo presento un mayor rendimiento y actividad fotosintética, (Celis et al 2023). *Trichoderma asperellum* MT044384 tiene la capacidad de reducir la incidencia de la enfermedad pudrición blanda en la jaca causada por el hongo de *Rhizopus stolonifer*, (Rodríguez B. J.E.).

El objetivo del presente trabajo, fue evaluar la capacidad bioestimuladora del aislado nativo *Trichoderma asperellum* MT044384 sobre el maíz criollo blanco, para incrementar el rendimiento de su producción.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las condiciones ambientales del presente trabajo se desarrollaron durante el periodo comprendido de agosto a diciembre del 2018, en un invernadero y en campo, colindantes al Departamento de Ingeniería Bioquímica e Ingeniería Química del Instituto Tecnológico de Tepic, que se ubica a 21°28'45" latitud norte, y 104°51'56" longitud oeste. La temperatura promedio del cultivo en condiciones de campo fue de 21°C y en el invernadero fue de 32°C.

Se utilizó una mezcla de maíz criollo de grano blanco, procedente de la Unidad Académica de Agricultura de la Universidad Autónoma de Nayarit, se sembró con una coa, se depositó dos semillas por hoyo. El experimento consistió de ocho tratamientos, de los cuales cuatro se les aplicó *Trichoderma* y cuatro sin el hongo que crecieron en condiciones de campo e invernadero. De estos tratamientos con y sin *Trichoderma*, dos de estos tratamientos, se aplicó una dosis de 4 toneladas/ha. de composta marca *Terra Sana* elaborada de bagazo de caña. Cuando las plantas de maíz presentaron las cuatro hojas verdaderas se asperjó al follaje una concentración de 1×10^8 esporas/ml de *T. asperellum* MT044384, las aspersiones con el hongo se realizaron cada 21 días hasta llegar a la floración.

Los tratamientos se distribuyeron en un diseño completamente al azar con tres repeticiones. Las variables de estudio fueron altura de planta, diámetro de tallo, y cualidades físicas de la mazorca. El rendimiento de grano de los tratamientos se realizó con el peso de 100 g de semilla de maíz que se guardaron en sobres de papel amarillo, estos se secaron en un horno (MARCA Memmer) a una temperatura de 75 °C durante 48 horas. Al final de este tiempo se pesaron los sobres con maíz y se comparó con el peso inicial de las semillas. Otra vez se secaron los sobres con maíz por un periodo de 24 horas a la temperatura indicada, hasta lograr un peso constante de cada uno de los tratamientos, (Manual de determinación de rendimiento, (2012). Los tratamientos se compararon en un análisis de varianza, y una comparación de medias con la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$) en el paquete estadístico SAS System for Windows 9.1.

El hongo *Trichoderma* se aisló del cultivo de jaca en el año 2014, en la localidad del Llano municipio de San Blas Nayarit. El hongo demostró tener buenas características de competencia y micoparasitismo contra el hongo fitopatógeno *Rhizopus sp.* La descripción morfológica del hongo se realizó con las claves de (Samuels et al., 2002; Samuels et al., 2010). El análisis molecular de *Trichoderma*, se realizó con la extracción de ADN genómico con el kit QUIAGEN (DNesay plant mini ki 250, cat. No. 69106) y las amplicones fueron secuenciados por la empresa Macrogen (Rockville, MD. 20850 USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Algunos maíces criollos o nativos inoculados con especies de *Trichoderma* tienen respuesta negativa, es decir no hay crecimiento de planta y de frutos, debido a que estas especies no colonizan a la epidermis de la planta por la poca o ligera liberación de biomoléculas que modifican a los transcriptomas del ARNm y las proteínas en las plantas, (Harman, 2005). En el presente estudio la cepa *T. asperellum* MT044384 fue competente en producir cambios favorables al maíz criollo blanco. Las temperaturas promedio en que se desarrolló el maíz desde la siembra hasta la cosecha con las aplicaciones de *T. asperellum* fueron de 21 °C en campo y de 31.4°C en invernadero, que están en el rango óptimo de *T. asperellum* de 30 °C, una mínima de 4 °C y una máxima de 35°C, (Lieckfel E. et al, 1999).

Los tratamientos de *T. asperellum* con y sin composta supero o igualo a los tratamientos sin el hongo bioestimulante, con y sin aplicaciones de composta en campo e invernadero. *T. asperellum* en invernadero obtuvo el mayor rendimiento con 9.40 ton/ha., seguido de *T. asperellum* más composta en campo con 8.92 ton/ha., el tratamiento composta en invernadero sin *T. asperellum* obtuvo el menor rendimiento con 4.37 ton/ha (Figura 1). Esto significa que *T. asperellum* con y sin composta incrementa la producción de maíz y supero al control. Esto es semejante al incremento de producción en maíz por *T. harzianum*, asimismo con un efecto de reducción de nitrógeno, que evita la contaminación de suelo agua y pérdida de fertilidad del suelo, (Tavera 2017).

Se esperaba que el rendimiento de *T. asperellum* más composta en invernadero (6.50 ton/ha) tuviera un rendimiento similar al de *T. asperellum* sin composta crecidos en invernadero. Es probable que se hayan presentado temperaturas mayores a 35°C que sobrepaso al límite máximo del buen crecimiento del hongo bioestimulante y por ende un bajo rendimiento en el maíz. Se abona a lo anterior que *T. asperellum* que la mayor producción de biomasa de *T. asperellum* se registró a temperaturas de 20°C, 25°C y 30°C y en menor cantidad de biomasa a 35°C, (Singh A. et al (2014, (Lieckfel E. et al, 1999).

Los anteriores resultados coinciden con las investigaciones de: *Trichoderma asperellum* (Ta13 y Ta.78) incrementó la altura de la planta del arroz, y sus raíces, tallo, hojas, y el rendimiento hasta un 30% en comparación de los tratamientos sin el hongo bioestimulante, (Ruiz S.M. et al 2022). De igual forma *Trichoderma viride* es un biofertilizante promotor en el cultivo del trigo al incrementar la altura de planta, peso de raíz, largo de hoja, peso de panícula, número de granos, (Mahato et al 2018). El comportamiento de los mejores tratamientos de esta investigación en sus respectivas variables fue: longitud de mazorca de 30.80 cm en el tratamiento *T. asperellum* más composta (I); diámetro de mazorca 4.70 cm en *T. asperellum* (c); hileras por mazorca, 17 hileras en *T. asperellum* (C) y granos por hilera 42.25 en *T. asperellum* más composta (C).

La mayor altura de planta fue en *T. asperellum* (I) con 372.5 cm que supero a las alturas de los tratamientos sin *Trichoderma* y el mayor diámetro de tallo fue de 3.427 cm

en el tratamiento solo suelo (C) que supero a los tratamientos con *Trichoderma* en campo e invernadero. El tratamiento *T. asperellum* más composta en campo su rendimiento de grano de maíz supero a los tratamientos sin *Trichoderma* y con la combinación de con y sin composta en invernadero y campo, (Tabla 1). Esto significa que la combinación hongo bioestimulante más composta es positivo para las plantas. Como se indica que la composta estimuló la población de *Trichoderma harzianum* y el vigor de *Pinus radiata* en vivero, (Donoso, E. G.A. Lobos y N. Rojas 2008).



Figura 1. Comparación de rendimiento de grano en maíz blanco criollo.

Núm.	Tratamientos	AP cm	DT cm	LMZ cm	DMZ cm	HMZ	GRH	RD Ton
1	Suelo más Composta (C)	275.5 cd	3.127 ab	23.500 c	4.52 ab	14.50 ab	29.00 c	5.42 b
2	Solo suelo (C)	267.5 d	3.427 a	16.00 d	4.46 abc	14.00 b	33.00 c	5.43 b
3	Suelo más Composta (I)	317.0 abcd	2.600 ab	24.575 bc	4.00 c	14.50 ab	31.00 c	4.37 b
4	Solo suelo (I)	341.7 abc	2.450 ab	21.375 c	4.10 bc	14.00 b	28.50 c	5.72 b
5	<i>T. asperellum</i> más composta (C)	314.5 abcd	3.110 ab	28.750 ab	4.60 a	14.00 b	43.25 a	8.92 a
6	<i>T. asperellum</i> (C)	302.7 bcd	3.232 ab	23.625 c	4.70 a	17.00 a	40.25 ab	6.50 b
7	<i>T. asperellum</i> más composta (I)	362.0 ab	2.425 ab	30.850 a	4.39 abc	14.50 ab	35.bc	6.50 b
8	<i>T. asperellum</i> (I)	372.5 a	2.165 b	23.625 c	4.00 c	12.00 b	42.250 a	9.40 a

Nota: los tratamientos son: (C) = campo, (I) = Invernadero, AP = Altura de la planta, DT =, Diámetro del tallo, LMZ = Longitud de la mazorca, DMZ = Diámetro de la mazorca, HMZ = Hileras por mazorca, GRH = Granos por hilera y RD = Rendimiento por ha. Con una $p < 0.0005$

Tabla 1. Resultados de las características morfológicas del maíz criollo con y sin *T. asperellum* combinados con y sin composta en condiciones de campo e invernadero.

La descripción morfológica del aislado *Trichoderma* que se utilizó en el presente estudio, mostraron clamidosporas en forma globosa a subglobosas, terminales e intercaladas (Figuras 2 y 3), esto coincide con las características de *Trichoderma asperellum* citada por Samuels et al 2010. Es una de las especies más comunes a nivel mundial contra una amplia gama de fitopatógenos (Tondje et al 2007).

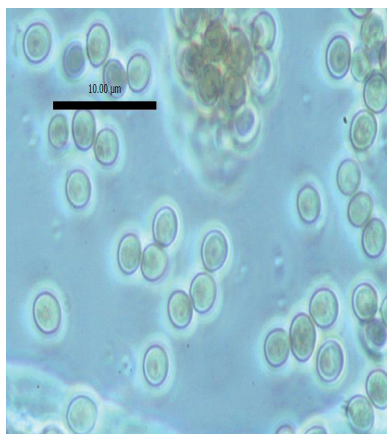


Figura 2. Conidias subglobosas

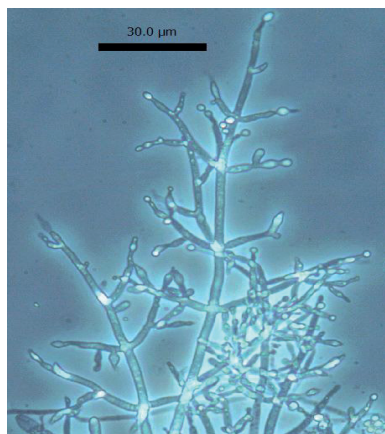


Figura 3. Fiálides

La calidad y la cantidad de ADN del aislado Trbji-25 de *Trichoderma* procedente del cultivo de la jaca produjeron bandas claras y nítidas, propiedades necesarias para garantizar la amplificación del ADN en la técnica de PCR. El tamaño del producto de la PCR del aislado Trbji-25 varió entre 550 a 689 pb para TEF1. El resultado del BLAST, presentó una homología del 99% que corresponde a *Trichoderma asperellum*, con código (MT044384) de acuerdo a la empresa Macrogen, (Samuels et al., 2002; Samuels et al., 2010; Sánchez et al., 2012). El árbol filogenético realizado con la secuencia del gen *tef* agrupó a las cepas Trbji-25 con *Trichoderma asperellum* como se muestra en la Figura 4.

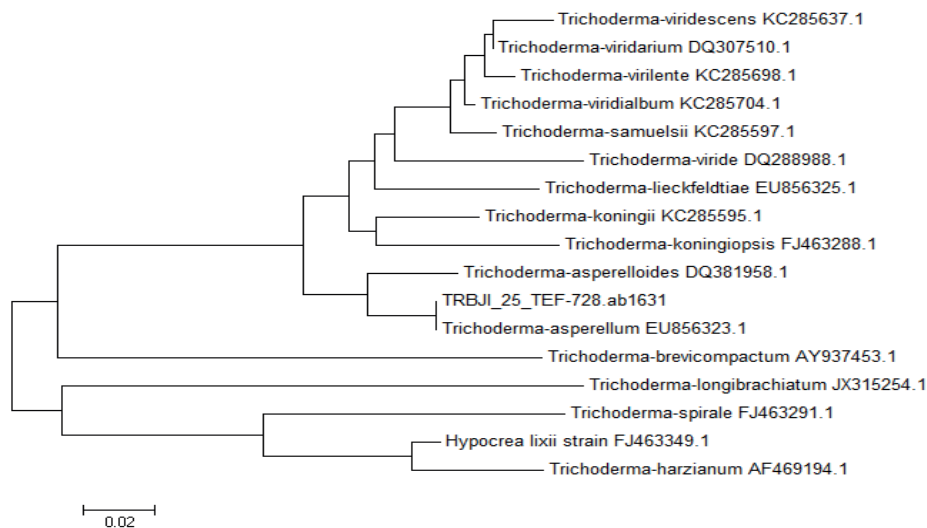


Figura 4. Árbol Filogenético de *Trichoderma asperellum*

CONCLUSIONES

El aislado *Trichoderma* Trbji-25, de acuerdo a las características morfológicas y moleculares corresponden a la especie *Trichoderma asperellum* (MT044384). Que sus evidencias de este experimento, se considera como un agente potencial bioestimulante en maíz blanco criollo, al incrementar la altura de planta, y las variables de mazorca y el factible aumento de rendimiento por hectárea.

REFERENCIAS

Celis, P. S. E., Alejo, J.C., Reyes, R.A., Garruña, H.R., Tun, S. J.M. ***Trichoderma asperellum* Ta13-17 in the growth of *Solanum lycopersicum* and biocontrol of *Corynespora cassiicola***. Revista Mexicana de Fitopatología, p. 70-8, 2023.

Donoso, E., Lobos, G. A., Rojas, N. **Effect of *Trichoderma harzianum* and compost in nursery *Pinus radiata* seedling**. BOSQUE, v.29 n.1: p. 52-57, 2008.

González, M. I., Infante, M D., Arias, V. Y., Gorrita, R. S., Hernández, G. T., de la Noval, P. B.M., Martínez, C. B., Peteira, B. **Efecto de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg sobre indicadores de crecimiento y desarrollo de *Phaseolus vulgaris* L. cultivar BAT-304**. Revista de Protección Vegetal, v. 34 n. 2. p. 1-10, 2019.

Harman, G.E. **Multifunctional fungal plant symbiont: new tool to enhance plant growth and productivity**. New Phytologist, v. 89. p. 647–649, 2011.

Harman, G. E. **Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma* spp.** Phytopathology, v. 96 p.190-194, 2005.

Harman, G.E. **Myths and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22**. Plant Disease, v. 84. n 4. p. 377-393, 2000.

Mahato, S., Bhuju, S., y Sheresta, J. **Effect of *Trichoderma viride* as biofertilizer on growth and yield of wheat.** Malaysian Journal of Sustainable Agriculture, v. 2 n. 2 p 01-05.,2018. DOI: <http://doi.org/10.26480/mjsa.02.2018.01.05>

Lieckfel, E., Samuels, G.J. Nirenberg, H.I. y Petrini, O. **A morphological and molecular perspective of *Trichoderma viride*: is it one or two species?**, Applied and Environmental microbiology, v.65 n.6 p-2418-2, 1999.

López, B. J., Pelagio, F. R., y Herrera, E. A. ***Trichoderma* as biostimulant: exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus.** Scientia Horticultural, v.196. p.109–123, 2015 <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.08.043>

Singh, A. Shahid, M., Srivastava, M., Pandey S., Sharma, A., et al. **Optimal physical parameters for growth of *Trichoderma* species at varying pH, temperature and agitation.** Virology & Mycology, v.3. n.1.p.1-7 2014. doi:10.4172/2161-0517.1000127

Tavera, Z. D. D., Hernández, E. J.J., Ulivarri, G. y Sánchez, Y. J.M. **Inoculación de *Trichoderma harzianum* en *Zea mays* y su efecto a la adición del fertilizante.** Journal of the Selva Andina Research Society, v.8n. 2. p. 115-123. 2017.

Tondje, P.R., Roberts, D.P., Bon, M.C., Widmer, T., Samuels, G.J., Ismaiel, A., Heddbar, K.P. **Isolation and identification of mycoparasitic isolates of *Trichoderma asperellum* with potential for supression of black pod disease in Cameroon.** Biological control, v. 43 n. p. 202-212. 2007.

Samuels, G.J., Dodd S.L., Gams W., Castlebury L.A. y Petrini O. ***Trichoderma* species associated with the green mold epidemic of commercially grown *Agaricus bisporus*.** Mycologia, v. 94.n.1.p. 146-170. 2002.

Samuels, G.J., Ismaiel, K.P., M.C. Bon, De Respinis S., y Petrini O. ***Trichoderma asperellum* sensu lato consists of two cryptic species.** Mycologia, v.102 n. 4 p. 944-966, 2010. DOI: 10.3852/09-243

Sánchez, L.V., Martínez, B.L., Zavala, G.E.A. y Ramírez, L.M. **Nuevos registros de *Trichoderma crassum* para México y su variación morfológica en diferentes ecosistemas.** Revista Mexicana de Micología., v.36. p.17-26, 2012.

Manual de determinación de rendimiento. **Editorial CIMMYT; SAGARPA.**, p. 36. 2012. <http://hdl.handle.net/10883/18249>

Rodríguez, B.J.I. **Aislamiento y evaluación de cepas nativas de *Trichoderma* sp. en el control biológico de *Rhizopus* sp. en la jaca *Artocarpus heterophyllus* L.** Tesis de maestría sin publicar. Instituto Tecnológico de Tepic. 2014.

Ruiz, S.M., Echeverría, H. A., Muñoz, H.Y., Martínez, R. A. Y., Cruz, T. A. **Aplicación de dos cepas de *Trichoderma asperellum* como estimulante de crecimiento en el cultivo del arroz.** Cultivos Tropicales, v.43 n.1 e10, 2022.

Van Oosten, M.J., Pepe, O., De Pascale, S., Silletti, S., Maggi A. **The role of biostimulants and bioeffectors as alleviators of abiotic stress in crop plants.** Chemical and Biological Technologies in Agriculture, v.4 n.5. p.1-12,2017. <https://doi.org/10.1186/s40538-017-0089-5>

Woo, S.L., Ruocco, M., Vinale, F., Nigro, M., Marra, R., Lombardi, N., Pascale, A., Lanzuise, S., Manganiello, G., y Lorito, M. ***Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture.** The Open Mycology Journal v.8 p.71-126, 2014. DOI: 10.2174/1874437001408010071