

Efecto de la aplicación de *Trichoderma spp* en condiciones *in vitro* en el desarrollo vegetal de semillas de maíz (*Zea mays*).

Effect of the application of Trichoderma spp under in vitro conditions on the plant development of maize seeds (Zea mays).

Yoly Dayana Moreno Ortega¹, Katherine Suárez Collazos¹, Valentín Murcia Torrejano¹, Yenny Carolina González Sterling¹, Yeison Rodríguez Guzmán¹, Sergio Andrés Orduz Tovar¹, Jonatán Valencia Payan², María Goretti Ramírez¹

Resumen

El género *Trichoderma spp* es considerado como un agente biocontrolador de patógenos activos en el suelo y bioestimulador de plantas vegetales; sin embargo, uno de los principales problemas es el desconocimiento sobre la comunidad microbiana presente en suelos y sobre su potencialidad para la elaboración de biofertilizantes. Se hizo un experimento en condiciones *In vitro*, con el objetivo de evaluar el efecto del *Trichoderma spp* en el porcentaje de germinación y, como promotor de crecimiento vegetal del maíz (*Zea mays L*), se seleccionaron semillas de Maíz variedad ICA V305; se establecieron suspensiones de 103 y de 105 conidios/mL y un tratamiento testigo. Se evaluó el porcentaje de germinación durante tres días, dado el potencial germinativo; posteriormente; las semillas germinadas se trasplantaron a macetas, usando 200 gramos de suelo, y se observó periódicamente durante 15 días se registraron datos de crecimiento vegetal como: longitud de raíz (LR), longitud del tallo (LT), grosor de la base del tallo (GBT), peso húmedo y seco (PFT). De acuerdo a esto, el tratamiento de la suspensión de 105 conidios/mL se evidencia mayor efecto en el grosor de tallo con media (2,78

mm), número de hojas verdaderas (3,83) y peso fresco total (2,61 gr). Sin embargo, la variable de porcentaje de germinación no presentó diferencias estadísticamente significativas, pero se evidencia que la concentración 105 conidios/mL tiene potencialidad de germinación acelerada; así, mejoran las características morfológicas de la semilla de maíz y se indica que el género *Trichoderma spp* tiene características potenciales para la elaboración de biofertilizantes.

Palabras Claves: Biofertilizante, *Trichoderma spp*, maíz, biopromotor vegetal.

Summary

Trichoderma spp is considered as a biocontrol agent of pathogens active in the soil and biostimulator of vegetable plants; however, one of the main problems is the lack of knowledge about the microbial community present in soils and about its potential for the elaboration of biofertilizers. An experiment was carried out under *In vitro* conditions, with the aim of evaluating the effect of *Trichoderma spp* on the percentage of germination and, as a plant growth promoter of corn (*Zea mays L*), seeds of corn variety ICA V305 were selected; suspensions of 103 and 105 conidia/mL and a control treatment were established. The germination percentage was evaluated for three days, given the germination potential; then, the germinated seeds were transplanted into pots, using 200 grams of soil, and were observed periodically for 15 days. Plant growth data were recorded, including: root length (LR), stem length (LT), stem base thickness (GBT), wet and dry weight (PFT). Based on the foregoing, the treatment of the 105 conidia/mL suspension showed the greatest effect on stem thickness with mean (2.78 mm), number of true leaves (3.83) and total fresh weight (2.61 gr). However, the variable of germination percentage did not present statistically significant differences, but it is evidenced that the concentration 105 conidia/mL may accelerate germination; thus, the morphological characteristics of the corn seed improve and it is observed that the genus *Trichoderma spp*. has potential characteristics for the elaboration of biofertilizers.

Key Words: Biofertilizer, *Trichoderma spp*, corn, plant biopromoter.

¹ Servicio Nacional de Aprendizaje SENA – Regional Huila. Centro de Formación Agroindustrial La Angostura. Grupo de Investigación Agroindustrial La Angostura
² Servicio Nacional de Aprendizaje SENA – Regional Huila. Centro de la Industrial, la Empresa y los Servicios. Semillero de Investigación SENABIOTEC, Instructor SENNOVA
 Autor para correspondencia: ydmoreno43@misena.edu.co

Introducción

El maíz (*Zea mays*) es uno de los granos alimenticios más antiguos que se conocen. Pertenece a la familia de las Poáceas (Gramíneas) (Sánchez & Pérez, 2015). Ocupa el primer lugar en términos de producción y el tercero, después del trigo y el arroz, en relación con área cubierta (FAO, 2004). En Colombia, el maíz es el tercer cultivo con mayor superficie de siembra después del café y el arroz, lo cual es un referente de la relevancia que representa el cultivo para los agricultores colombianos (Figueroa & Aguilar, 2019).

En Colombia el cultivo de maíz (*Zea Mays*) se encuentra ampliamente difundido en todas las regiones de nuestro país, dada a su especial adaptabilidad a diversas condiciones agroclimáticas. Específicamente en el departamento del Huila el cultivo de maíz otorga una ventaja competitiva en los sistemas agrícolas, dadas a las características propias de la zona de vida de bosque seco tropical Bs-t (Holdridge 1987). Sin embargo, la producción de maíz ha tenido una gran disminución en los últimos años, originada por el desestímulo en el manejo agronómico del cultivo y el abandono por problemas fitosanitarios (Ramírez et ál., 2016).

El género *Trichoderma spp* está compuesto por un grupo de especies de hongos saprofitos que se encuentra en ecosistemas como los bosques, suelos agrícolas y de la madera (Zin & Badaluddin, 2020) y es ampliamente conocido por el efecto antagónico frente a agentes patógenos del suelo. Debido a su ubicuidad, facilidad de aislamiento y cultivo son utilizados para el control de patógenos

y a su vez, como promotor de crecimiento y fortalecimiento vegetal (El_Komy, Eranthodi & Molan, 2015).

El efecto biocontrolador de patógenos ha comprobado que la inoculación del género *Trichoderma spp* aporta beneficios a las plantas a través de la descomposición de materia orgánica. Por ello, se utiliza frecuentemente como un organismo biofertilizante en diferentes productos comerciales (Moreno et ál., 2007), promoviendo el crecimiento y desarrollo de los cultivos y produciendo metabolitos que estimulan los procesos de desarrollo vegetal (Zin & Badaluddin, 2020). Tiene la capacidad de multiplicarse en el suelo y colonizar las raíces de las plantas; de tal forma, ofrece protección en esta zona contra patógenos y también al desarrollo robusto de las plantas (Contreras et ál., 2015). La presente investigación tuvo como objetivo comprobar la potencialidad de la cepa nativa de *Trichoderma ssp*, como inoculante biopromotor del crecimiento de maíz, mediante la evaluación de su efecto sobre la germinación.

Materiales y métodos

Área de estudios y tratamientos.

El ensayo fue conducido en condiciones controladas en el Laboratorio de Microbiología y Zoología del Centro de Formación Agroindustrial La Angostura. La cepa de *Trichoderma spp* fue aislada de suelo de bosque seco tropical, ubicado en el municipio de Palermo. Se hizo producción del hongo en cajas de Petri, usando medio de cultivo PDA (papa dextrosa), incubándose

a 27° C durante 5 días. A partir de este cultivo esporulado, se prepararon suspensiones del orden de 103, 105 Conidios mL-1 en solución salina estéril.

Germinación in vitro de semillas de maíz

En cajas de petri se colocaron círculos de papel filtro sobre algodón y fueron esterilizadas en autoclave a 121°C con 15 PSI por 15 min. Posteriormente en cada caja fue adicionada agua destilada estéril hasta saturar el soporte, y en seguida se colocaron 5 semillas por cada caja de petri de maíz variedad V305 certificadas por el IGAC, previamente lavadas con agua destilada para remover el funguicida. Se usa un diseño de bloques completos al azar, con tres factores, conformado por las dos concentraciones 103 y 105 conidios/mL y un tratamiento sin inocular. Cada unidad experimental fue inoculada con 1 mL de la suspensión de las concentraciones de *Trichoderma spp*; cada tratamiento contó con tres repeticiones. Cada unidad experimental fue inoculada con 1 mL de la suspensión de las concentraciones de *Trichoderma spp*; al tratamiento testigo (sin inocular) solo se le agregó 1 mL de agua destilada estéril. Todas las cajas se mantuvieron a oscuridad a 28°C. Se hicieron observaciones diarias durante 3 días, durante los cuales se registró el número de semillas germinadas, considerando semillas germinadas aquellas cuya radícula alcanzó 2 mm de longitud.

A partir de los datos registrados se determinó el porcentaje de germinación (PG) expresado como el porcentaje total de semillas germinadas a los 3 días. A esta

variable también se le llama capacidad de germinación.

Desarrollo de plántulas

Una vez evaluada la germinación, se tomaron las semillas de cada tratamiento y cada una fue sembrada a 1 cm de profundidad en recipientes con 200 g de suelo tomado de la unidad agroecológica del centro de formación previamente analizado. Después de trasplantadas las semillas al suelo, fueron inoculadas con 4 mL de las suspensiones de 103 y 105 conidios/mL. *Trichoderma spp*, respectivamente, y un testigo sin inocular. Las plántulas se mantienen en condiciones in vitro con humedad relativa del 62% y temperatura 25° ± 27°C. El volumen del aire, la luminosidad y el ataque de plagas se encuentran controlados con riego diario en horas de la mañana, agregando 20 mL a cada maceta; se usa un diseño de bloques completos al azar, conformado por las dos concentraciones 103 y 105 conidios/mL. Cada tratamiento contó con tres repeticiones. Después de 20 días se registraron medidas dasométricas como: la longitud de la raíz (LR), grosor de la base del tallo (GBT), número de hojas verdaderas (NHV), longitud del tallo (LT) y se determina el peso fresco (PFT) de cada una de las plantas.

Resultados y discusión

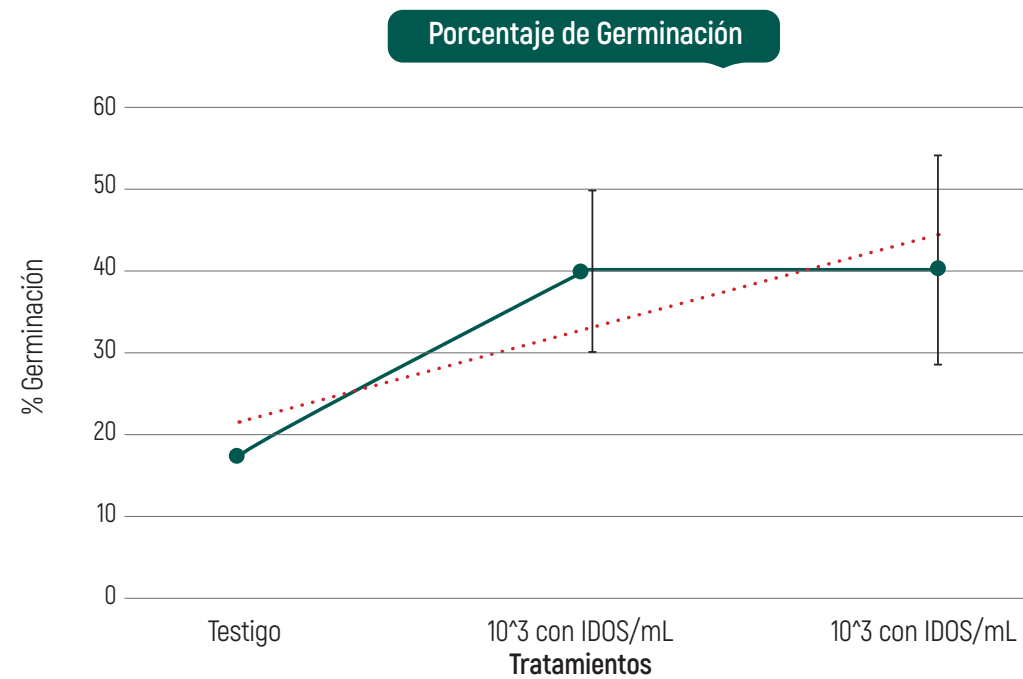
Porcentaje de Germinación en condiciones in vitro

Los resultados obtenidos en el porcentaje de germinación en condiciones *in vitro*, para la germinación en maíz no presenta diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0,05$); sin

embargo, se evidencian diferencias entre las medias 105 Conidios/mL frente a 103 Conidios/mL donde se presenta un mayor porcentaje de germinación (Fig.1). Este incremento en germinación puede ser muy representativo para los agricultores, debido a que eleva el número de plantas emergidas,

lo que representa mayor uniformidad en el cultivo; esto suscita mayor eficiencia en las labores agronómicas y, por tanto, un aumento en la productividad. Asimismo, Montes et ál. (2019) reportó en su trabajo un mayor índice de germinación en semillas de maíz inoculadas con *Trichoderma sp.*

Figura 1 SEQ Figura * ARABIC 1. Medias en porcentaje de germinación en condiciones in vitro (P ≤ 0,05)



Con respecto a la longitud de raíz en condiciones in vitro, a los 3 y 4 días, las medias de los tratamientos (Tabla 1) no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, ya que presentaron valores similares entre los tratamientos. Por tal motivo, la inoculación de *Trichoderma spp* no evidenció una respuesta positiva

en comparación con el tratamiento testigo; estos resultados coinciden con los descritos por Arias Rodas (2016), el cual establece que la aplicación de *Trichoderma spp* a una concentración baja versus agua no induce positivamente las repuestas fisiológicas en cultivo de mora variedad castilla.

Tabla 1. Medias de Longitud de raíz en condiciones in vitro

| Tratamientos | Longitud de raíz. Día 3 | Longitud de raíz. Día 4 |
|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | $\bar{X} \pm EE$ | $\bar{X} \pm EE$ |
| Testigo | 3,219 ± 0,521 ^a | 17,00 ± 1,998 ^a |
| 10 ³ conidios/ml | 3,555 ± 0,654 ^a | 16,10 ± 1,997 ^a |
| 10 ⁵ conidios/ml | 4,637 ± 0,711 ^a | 19,13 ± 1,997 ^a |

Letras diferentes presentan diferencias estadísticamente significativas. Prueba de rango múltiples Tukey (P≤0,05).

Desarrollo de plántulas

El tratamiento con la concentración 105 conidios/mL presentó diferencias estadísticamente significativas frente al tratamiento 103 conidios/mL y el tratamiento testigo; evidenció que las variables grosor de la base de tallo (GTB), número de hojas verdaderas (NHV) y peso fresco total (PFT) presentaron un efecto positivo sobre las variables dasométricas mencionadas anteriormente (Tabla 2). A su vez, en un trabajo en condiciones de campo Worlu et ál. (2022) evaluó parámetros de crecimiento y el rendimiento de *Zea mays L.*, con lo que demostró que las especies de *Trichoderma* tienen efectos positivos sobre todos los

parámetros de crecimiento en los distintos niveles de concentración de 103 esporas/ml, 105 esporas/ml y 107 esporas/ml. Algunos autores han demostrado que la aplicación de *Trichoderma spp* mejora considerablemente la estimulación de variables de crecimiento vegetal en cultivo de maracuyá (*Passiflora edulis*) (Cubillos, et ál., 2009; Hernández et ál., 2013). Por otro lado, la aplicación de *Trichoderma spp* no actuó directamente en la longitud de raíz (LR) y longitud del tallo (LT) en nuestro estudio; aun así, Rai et ál. (2020) menciona las limitaciones con el uso de *Trichoderma spp* en la agricultura; tiene una eficiencia que depende sensiblemente de los factores ambientales y de su nicho ecológico.

Tabla 2. Medias para longitud de tallo (LT), grosor del tallo en la base (GTB), número de hojas verdaderas (NHV), longitud de la raíz (LR), y peso fresco total (PFT); de las plántulas de Maíz establecidas en condiciones In vitro durante 20 días

| Tratamiento | LT (cm) | GTB (mm) ⁺⁺ | NHV ⁺⁺ | LR (cm) | PFT (gr) ⁺⁺ |
|-----------------|---------------------------|------------------------|--------------------------|-------------------|------------------------|
| | | 2,63 ± | | 15,08 ± | 2,00 ± |
| 10 ³ | 10,23 ± 0,55 ^a | 0,09 ^a | 3,3 ± 0,20 ^a | 1,03 ^a | 0,20 ^a |
| | | 2,78 ± | | 18,45 ± | 2,61 ± |
| 10 ⁵ | 12,05 ± 0,38 ^a | 0,10 ^b | 3,83 ± 0,13 ^b | 1,03 ^a | 0,17 ^b |
| | | 2,07 ± | | 16,15 | 1,41 ± |
| Testigo | 11,42 ± 0,93 ^a | 0,11 ^a | 3,2 ± 0,14 ^a | 1,66 ^a | 0,16 ^a |

Letras diferentes presentan diferencias estadísticamente significativas. ++ Variables dasométricas que presentaron diferencias. Prueba de rango múltiples Tukey (P≤0,05).Conclusiones

Conclusiones

La aplicación de *Trichoderma spp.* en el cultivo de maíz mejoró notablemente el crecimiento y el desarrollo en condiciones controladas, donde se presentaron diferencias estadísticamente significativas en grosor de la base del tallo, número de hojas verdaderas y peso fresco total en la concentración 105 conidios/ml; este hecho demostró que la aplicación de cepa nativa *Trichoderma spp.* posee condiciones para la elaboración de productos de biofertilizantes.

Recomendaciones

- Para la realización de estudios posteriores, sería pertinente la utilización de varias concentraciones de *Trichoderma spp.* en condiciones in vitro.
- Se recomienda utilizar mayor número de especies vegetales y otro tipo de plantas, para demostrar el comportamiento o respuesta del *Trichoderma spp.* sobre esta.
- Realizar ensayos entre especies del hongo *Trichoderma spp.* con hongos patógenos de importancia agrícola.
- Sería pertinente ampliar el número de especies de *Trichoderma spp.* y hongos de crecimiento vegetal, en condiciones in vitro e invernadero, con el fin de evidenciar el estímulo promotor y la capacidad antagonista.
- Para obtener la caracterización completa del efecto de la aplicación de *Trichoderma spp.*, se recomienda realizar pruebas de

contenido de materia orgánica, elementos mayores y menores presentes en el suelo antes y después de la aplicación de los tratamientos, para corroborar su aporte a la fertilidad en porcentaje de incremento o disminución de los nutrientes. Y de igual manera la caracterización de microorganismos microorganismos patógenos en el suelo.

- Se recomienda evaluar durante más tiempo el comportamiento del hongo frente a las respuestas fisiológicas de la planta en sustratos obtenidos de residuos orgánicos para comprobar su efectividad.

Referencias bibliográficas

- Arias Rodas, F. E. (2016). Evaluación de dos cepas de trichoderma *T. harzianum*, *T. koningii* como estimulantes del desarrollo radicular de estacas de mora de castilla *Rubus glaucus*, Benth.
- Cubillos-Hinojosa, J., Valero, N., & Mejía, L. (2009). *Trichoderma harzianum* como promotor del crecimiento vegetal del maracuyá (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* degener). *Agronomía Colombiana*, 27(1), 81-86.
- Contreras Cornejo H, A., Macías Rodríguez L., Garnica V, A et ál. (2015). *Trichoderma* modulates stomatal aperture and leaf transpiration through an abscisic acid-dependent mechanism. *J Plant Growth Regul*, 34 (4)25-432.
- El_Komy, M. H., Saleh, A. A., Eranthodi, A., & Molan, Y. Y. (2015). Characterization of novel *Trichoderma asperellum* isolates to select effective biocontrol agents against tomato *Fusarium* wilt. *The Plant Pathology Journal*, 31(1), 50.
- Fao (2004). www.fao.org/docrep/003/x7650s/x7650s02.htm. Consultado en línea 31/08/2016.
- Figueroa, E., & Aguilar, A. (2019). Maíz para Colombia Visión 2030. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT).
- Holdridge, I. R. (1987). *Ecología basada en zonas de vida* (n.º 83). Agroamérica.

- Hernández Sarmiento, C. F., & Plasencia Maldonado, J. L. (2013). Biocontrol del mal del semillero, enfermedad causada por los hongos *pythium sp.* Y *Phytophthora sp.* En tomate de árbol (*Solanum betaceum*) empleando hongos antagonistas del género *Trichoderma sp.* A nivel de semilleros.
- Moreno-Sarmiento, N., I. Moreno-Rodríguez y D. Uribe-Vélez. (2007). Biofertilizantes para la agricultura en Colombia. pp. 38-45. En: Izaguirre-Mayoral, M. I., C. Labandera y J. Sanjuán (eds.). *Biofertilizantes en Iberoamérica: una visión técnica, científica y empresarial*. Imprenta Denad Internacional, Montevideo.
- Montes, D., Castaño, E., Sánchez, S., Díaz, Y., & la Salud, V. (2019). *Trichoderma sp.* como promotor de crecimiento del maíz (*Zea mays*) en Valledupar, Cesar. *Trichoderma sp. as a corn growth promoter (Zea mays) in Valledupar, Cesar*.
- Ramírez, Z. R., Santillán, J. A. L., Hernández, E. O., Drouaillet, B. E., Martínez, J. A. P., del Carmen Mendoza, M., ... & Domínguez,

- J. A. M. (2016). Importancia de la resistencia del maíz nativo al ataque de larvas de lepidópteros. *Temas de Ciencia y Tecnología*, 20(59-200).
- Rai, N., Limbu, A. K., & Joshi, A. (2020). Impact of *Trichoderma sp.* in agriculture: A mini-review. *Journal of Biology and Today's World*, 9(7), 1-5.
- Sánchez Ortega, I., & Pérez-Urria Carril, E. (2015). Maíz I (*Zea mays*). *Ene*, 15, 39.
- Worlu, C. W., Nwauzoma, A. B., Chuku, E. C., & Ajuru, M. G. (2022). Comparative Effects of *Trichoderma* species on Growth Parameters and Yield of *Zea mays* (L.). *IJBMS-International Journal of Biological & Medicine Science*, 5(02), 01-09.
- Zin, N. A., & Badaluddin, N. A. (2020). Biological functions of *Trichoderma spp.* for agriculture applications. *Annals of Agricultural Sciences*, 65(2), 168-178.