

Especies de *Trichoderma* de suelo rizosférico y tejidos de *Agave potatorum*

Trichoderma species from rhizospheric soil and *Agave potatorum* tissues

Alejandra Caravantes-Pérez¹ , Ernesto Castañeda-Hidalgo^{2*} , Verónica Martínez-Gallegos³ , Celerino Robles³ , Misael Martínez-Bolaños⁴ , Raymundo Rosas-Quijano⁵ , Salvador Lozano-Trejo² 

¹Estudiante de Maestría en Ciencias en Productividad en Agroecosistemas, Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca, Tecnológico Nacional de México. Ex-Hacienda de Nazareno, CP. 71230. Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México.

²Profesor investigador, Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca. Ex-Hacienda de Nazareno, CP. 71230. Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México.

³Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR, Unidad Oaxaca. Calle Hornos 1003, CP. 71230. Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México.

⁴Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Rosario Izapa. Carretera Tapachula-Cacahoatán km 18, CP. 30870. Tuxtla Chico, Chiapas, México.

⁵Universidad Autónoma de Chiapas, Instituto de Biociencias, Boulevard. Príncipe Akishino s/n colonia Solidaridad 2000. CP. 30798. Tapachula, Chiapas, México.

*Autor de correspondencia: casta_h50@hotmail.com

Artículo científico

Recibido: 10 de agosto 2024

Aceptado: 03 de septiembre 2025

RESUMEN. Los hongos del género *Trichoderma* se encuentran en diferentes hábitats. El interés de su estudio es por los metabolitos secundarios que producen. Aunque las condiciones favorables para su crecimiento son en áreas con humedad relativa superior al 70%, el hallazgo de estos hongos en zonas semiáridas demuestra la plasticidad de algunas especies nativas para adaptarse y la oportunidad de conocer los mecanismos de acción que desempeñan. El objetivo de la investigación fue caracterizar la morfología, taxonomía y bioquímica enzimática de especies de *Trichoderma* de suelo rizosférico y tejidos de *A. potatorum*. En el año 2023, se colectó suelo y plantas de *A. potatorum* en Chichicapam, Oaxaca. A partir de ello, se identificaron cuatro especies de *Trichoderma* y se caracterizó la morfología, taxonomía, velocidad de crecimiento, producción de conidios y actividad de exoglucanasas y quitinasas. Las especies presentaron diferencias significativas en los caracteres morfométricos, taxonómicos y enzimáticos. Se identificó a *T. asperellum*, *T. yunnanense* y *T. lentiforme* como hongos que habitan el suelo y tejido de *A. potatorum*.

Palabras clave: Enzimas hidrolíticas, maguey tobalá, morfología, taxonomía, suelo semiárido.

ABSTRACT. Fungi of genus *Trichoderma* are found in different habitats. The interest in their study is by the secondary metabolites production. Although the favorable conditions for their growth are in relative humidity greater than 70%, the discovery of these fungi in semiarid zones exposes the plasticity of native species to adapt and the opportunity to learn about their mechanisms of action. The research objective was to characterize the morphology, taxonomy and enzymatic biochemistry of *Trichoderma* species from rhizospheric soil and *A. potatorum* tissues. In 2023, soil and plants of *A. potatorum* were collected in Chichicapam, Oaxaca. From these samples, four *Trichoderma* species were identified and characterized by morphology, taxonomy, growth speed, conidia production and exoglucanases and chitinases activity. The species had significant differences in morphometric, taxonomic and enzymatic characters. *T. asperellum*, *T. yunnanense* and *T. lentiforme* were identified as fungi of *A. potatorum* soil and tissue.

Key words: Hydrolytic enzyme, tobalá maguey, morphology, taxonomy, semiarid soil.

INTRODUCCIÓN

El agave tobalá (*Agave potatorum* Zucc.) crece en suelos arenosos planos o de poca pendiente, se distribuye desde el Valle de Tehuacán (Puebla) a Cuicatlán, la Sierra Mixteca y montañas de los Valles Centrales de Oaxaca (García-Mendoza 2010). Su creciente demanda para la elaboración de mezcal, se debe a sus propiedades organolépticas suaves atribuidas por la baja producción de ácido acético y etanol en piña cocida (Vera *et al.* 2009). Para el 2023, el volumen de producción anual del mezcal incrementó 13.60% (12.24 millones de L) con respecto al año anterior, siendo el Estado de Oaxaca el primer productor con 90.51% del volumen total (COMERCAM 2024). Más del 80% de la producción se obtiene de agave espadín y el segundo con mayor demanda es el tobalá (2.42%).

La presión social por la demanda de mezcal, aumenta la vulnerabilidad natural de algunas especies de agave con la extracción de plantas silvestres, cambios en el uso de suelo, que se agravan con la práctica de sistemas en monocultivo, y falta de manejo agronómico (Delgado-Lemus *et al.* 2014). Por lo que es importante promover su manejo integral con acciones concretas, como el manejo de semilleros, uso eficiente del agua, suelo y residuos; conjuntamente con el manejo de plagas y enfermedades con biocontroladores nativos (Lucio 2022).

Los hongos del género *Trichoderma* establecen relación simbiótica con las plantas, que está directamente influenciada por la microbiota nativa, la especificidad y factores abióticos (Alfiky y Weisskopf 2021). Son de hábitat variable debido a la capacidad metabólica y competitiva que poseen sus especies (Gams y Bisset 2002). Se encuentran en suelos, madera y material vegetal en descomposición, son de interés en la industria biotecnológica y en la agricultura por los diversos metabolitos que producen y por la adaptación a diferentes condiciones ambientales (Martínez *et al.* 2013).

La distinción de especies basada en la morfología se le atribuye a Rifai (1969), sin embargo, fue hasta la descripción de Samuels (1996) que se tuvo visión completa de la biología de *Trichoderma* y el uso potencial de las enzimas que producen. Estas enzimas participan en el proceso de micoparasitismo y regulan el ingreso del antagonista al hospedante, además, los metabolitos que sintetizan estos hongos pueden actuar como elicitores para promover el crecimiento vegetal e inducir resistencia sistémica (Khan *et al.* 2020). Su biosíntesis depende de la especie y se ve afectada por el pH, la presencia de micotoxinas o ácidos grasos que regulan la expresión de genes (Chóez-Guaranda *et al.* 2023).

Para identificar la diversidad de especies de *Trichoderma* se realiza caracterización morfológica y microscópica de aislamientos (Arrazate-Argueta *et al.* 2019). La morfología de este género es variable y el proceso de diferenciar las especies consiste en evaluar la textura del micelio, color, formación del halo central, número de anillos concéntricos, tipo de esporulación y la tasa de crecimiento. Además, se consideran estructuras microscópicas como clamidosporas, fiálides, disposición del conidióforo y la forma y tamaño de las esporas (Allende-Molar *et al.* 2022).

La capacidad de *Trichoderma* para promover el crecimiento vegetal se expresa en el incremento de la altura de planta, longitud de radícula y biomasa foliar (Gamboa-Villa *et al.* 2020, Sabando-Ávila *et al.* 2017). La aplicación preventiva de este hongo antagonista puede disminuir la presencia o severidad de enfermedades en diversos cultivos. Las enzimas que participan durante el

antagonismo son glucanasas y quitinasas. Modificar las condiciones del medio de cultivo o de incubación, como la temperatura y pH, provoca diferencias significativas en la cantidad de quitinasa producida por *Trichoderma* (Mohiddin *et al.* 2021); la cantidad de enzimas hidrolíticas que produce *T. harzianum* varía dependiendo de la procedencia del aislamiento (Chaparro y Castillo 2019). La producción de enzimas líticas depende de la fuente de carbono, condiciones fisicoquímicas de crecimiento y caracteriza el potencial de biocontrol que posee cada especie de *Trichoderma* (Kalsoom *et al.* 2019).

Las condiciones para el establecimiento de *Trichoderma* son de 25 a 30 °C, con humedad relativa superior al 70%, aunque esto no ha sido limitante para encontrar alta diversidad genética en zonas áridas. La presencia de estos hongos en condiciones de poca humedad y temperaturas altas comprueba la plasticidad de algunas especies para colonizar suelos y raíces de diferentes especies vegetales (Savín-Molina *et al.* 2021, Cabral-Miramontes *et al.* 2022). Esto demuestra la capacidad de hacer cambios metabólicos y fisiológicos de origen evolutivo en nichos ecológicos específicos. El estudio de *Trichoderma* nativa, enfocado a la distinción de características deseables, permite conocer la potencialidad de las cepas, su especificidad y pueden ser indicadores de salud ambiental (Sánchez-Hernández *et al.* 2018). El objetivo de la investigación fue caracterizar la morfología, taxonomía y bioquímica enzimática de especies de *Trichoderma* de suelo rizosférico y tejidos de *Agave potatorum* Zucc. cultivado en Valles Centrales de Oaxaca, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio y método de muestreo

Se seleccionó una plantación de *A. potatorum*, de 18 meses de edad, en la localidad de San Baltazar Chichicapam en la Región Valles Centrales de Oaxaca con ubicación geográfica 96° 49' 88" LO y 16° 74' 94" LN con 1 525 m de altitud. Se colectaron muestras de suelo rizosférico y plantas, utilizando la metodología cinco de oros propuesta por Moreira *et al.* (2012). Se colectaron submuestras de 10 g de suelo rizosférico para obtener una muestra compuesta de 50 g y plantas completas. Las muestras fueron trasladadas y procesadas en el Laboratorio de Fitopatología del Campo Experimental Rosario Izapa del INIFAP. Se determinó el pH, la salinidad y la textura del suelo (Bouyoucos 1936).

Siembra de suelo por método de diluciones y aislamiento de *Trichoderma* spp.

La muestra compuesta de suelo se homogenizó, se pesaron 10 g de suelo, se suspendió en 100 mL de agua destilada estéril y se agitó la solución durante 1 min. Se tomó una alícuota de 1 mL y se diluyó en 9 mL de agua destilada estéril, se agitó durante 1 min. Este procedimiento se repitió cuatro veces para obtener diluciones 10^{-2} a 10^{-5} .

Se seleccionaron las diluciones 10^{-3} y 10^{-4} para inocular medio de cultivo agar dextrosa papa (PDA) adicionado con 200 mg L⁻¹ de estreptomycin y 50 mg L⁻¹ de cloranfenicol. Se tomó 200 µL de cada solución, se inoculó en cajas de Petri con 12 mL de medio de cultivo y se incubaron durante cuatro días. Los aislados que expresaron características del género *Trichoderma* (micelio de rápido crecimiento, blanco, esporulación verde de diferente tonalidad, formación de anillos y bordes

regulares) fueron purificadas en cajas Petri con el medio PDA por la técnica de punta de hifa (Chairman *et al.* 1978).

Aislamiento de *Trichoderma* spp. a partir de tejido de *A. potato*

Se colectaron cinco plantas completas, fueron lavadas y se cortaron segmentos de tallo y raíz. Estos tejidos se desinfectaron con solución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 1% durante 2 min, seguido de alcohol al 70% durante 1 min y se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril. Los fragmentos de tallo se redujeron a 0.5 cm² y las raíces se cortaron a 0.5 cm de longitud.

Los explantes fueron sembrados en caja de Petri (90 x 15 mm) con 12 mL de PDA + 200 mg L⁻¹ de estreptomycin + 50 mg L⁻¹ de cloranfenicol. Las cajas se incubaron durante cinco días en condiciones de oscuridad a 27 °C, las colonias de hongos con morfología similar a *Trichoderma* se aislaron y purificaron en PDA, con las mismas condiciones de incubación.

Identificación molecular de *Trichoderma* spp.

Se realizó la identificación molecular de las cepas de *Trichoderma* en el Laboratorio de Genética de Poblaciones en el Instituto de Biociencias de la Universidad Autónoma de Chiapas. La extracción de ADN se realizó con modificaciones al protocolo de Huanca *et al.* (2014). Se amplificó la región espaciador transcrito interno (ITS), con los iniciadores ITS1 e ITS4. La amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) consistió en un ciclo inicial de desnaturalización a 94 °C por 3 min, seguido de 30 ciclos (94 °C por 45 s, 56 °C por 30 s, 72 °C por 90 s) y extensión final a 72 °C durante 10 min. El volumen final de la reacción fue de 25 µL con 14.9 µL de agua ultrapura estéril, 2.5 µL de solución amortiguadora Buffer 10X, 2 µL de MgCl₂ a 50 mM, 1 µL de dNTP mezcla a 10 mM, 1.25 µL de iniciadores ITS1 e ITS4 a 10 mM, 0.1 µL de ADN polimerasa Taq (Invitrogen®) y 2 µL del ADN.

La purificación de los productos PCR se realizó con modificaciones al protocolo de Rochelle *et al.* (1995). La secuenciación de los productos se hizo en el Laboratorio de Secuenciación Genómica de la Biodiversidad del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México. Una vez obtenidas las secuencias se procedió al análisis por Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) en la base de datos del National Center of Biotechnology Information (NCBI).

Descripción morfométrica de *Trichoderma* sp.

Para la caracterización morfológica de las cepas de *Trichoderma* se evaluó la textura del micelio (Tm, algodonoso o plano o filamentosos), el color de micelio (Cm, color), el color de micelio al reverso de la caja de Petri (Cr, color), número de anillos concéntricos (Nac, #) y color de conidios (Ce, verde oscuro o verde esmeralda o verde limón).

Para las características microscópicas se establecieron microcultivos en discos de PDA y agua agar al 2% con diámetro de 8 mm; los cuales se incubaron por siete días en condiciones de oscuridad y temperatura ambiente (27 °C ± 2 °C). Después fueron observados al microscopio para apreciar estructuras de la hifa, conidióforos, clamidosporas y fiálides.

Para medir la velocidad de crecimiento (Vc, cm d⁻¹) se sembraron discos con crecimiento micelial, con diámetro de 5 mm, en medio de cultivo PDA. Los discos fueron colocados al centro de la caja

de Petri y se registró el crecimiento micelial radial (Cmi, cm) cada 24 h hasta el llenado de la caja. La incubación fue en condiciones de oscuridad a temperatura ambiente ($27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$).

El análisis de los datos de las variables Tm, Nac, Cm, Cr y Ce fue descriptivo y para Vc se transformó la variable con $\sqrt{x+1}$ para hacer un análisis de varianza con prueba de medias por Tukey ($\alpha = 0.05$) con el paquete estadístico SAS for Windows versión 9.4.

Evaluación del tamaño, producción y germinación de conidios

El tamaño de los conidios fue registrado por micrográficas con apoyo del programa Amscope®, se midieron 20 conidios de cada aislamiento. Para ello se registró el diámetro meridional (Dm, μm), el diámetro ecuatorial (De, μm) y se calculó el diámetro promedio (Dp, μm). La producción de conidios (Pe, cel mL^{-1}) fue calculada a partir de una suspensión celular de los aislamientos de *Trichoderma* con siete días de incubación en medio de cultivo PDA. Se utilizó cámara de Neubauer para calcular el número de conidios por mL. Se colocaron 50 μL en medio de cultivo PDA de una suspensión celular con concentración 1×10^6 cel mL^{-1} y se monitoreó la germinación de conidios (Ge, %) a las 24 h, la unidad experimental fueron 100 conidios. El análisis de los datos se realizó con el programa SAS for Windows versión 9.4. Se realizó análisis de varianza con prueba de medias por Tukey ($\alpha = 0.01$) para Te y Tukey ($\alpha = 0.05$) para Pe y Ge. Las variables Pe y Ge fueron transformadas con $\sqrt{x+1}$.

Actividades enzimáticas de especies de *Trichoderma* con potencial para control biológico

Las determinaciones de la actividad enzimática se realizaron en el Laboratorio de Suelos del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR-IPN) Unidad Oaxaca.

Cuantificación de exoglucanasas

Se utilizó medio de cultivo mínimo basal formulado por 2 g de KH_2PO_4 , 0.3 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 14 g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ y 2% de carboximetilcelulosa (CMC) por L. Para obtener el extracto enzimático se realizaron modificaciones a la metodología propuesta por Ng *et al.* (1977); la determinación de azúcares fue por el método Nelson (1944) y Somogyi (1952), la curva patrón se realizó con diferentes concentraciones de glucosa (0-4 μM).

En 10 mL de medio de cultivo se inocularon 100 μL de suspensión de conidios de *Trichoderma* con concentración de 1×10^8 cel mL^{-1} . Los tubos (16x150 mm) fueron incubados durante tres días sin agitación a 26°C y tres días más con agitación constante de 140 rpm.

Posterior a la incubación, se centrifugó el sustrato enzimático a 6 000 g por 30 min y se tomó 1 mL para reaccionar con 1 mL de CMC al 0.2%. Los tubos se dejaron reaccionar a 60°C por 30 min y al término del tiempo se tomó 1 mL de la reacción y se le adicionó 1 mL de solución Somoyi, se calentó a 100°C por 15 min. La digestión se detuvo en baño de hielo y se agregó 1 mL de solución Nelson. Los tubos reposaron 3 min y se agregaron 10 mL de agua destilada para proceder a medir la absorbancia en espectrofotómetro UV (Thermo Fisher Scientific type Genesys 20, modelo 4001/4, CA, E.U.A.) a 540 nm. Una unidad de actividad celular se definió como la cantidad de enzima que liberó 1 μmol de glucosa por volumen de reacción por día.

Cuantificación de quitinasa

El sustrato enzimático fue obtenido según lo descrito por Mohiddin *et al.* (2021) con modificaciones. Se utilizó medio de cultivo mínimo basal con 0.1 g KH_2PO_4 , 0.01 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 3.0 g NaCl, 0.7 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.05 g de extracto de levadura y como sustrato quitina azure al 0.01% (SIGMA-ALDRICH C3020) por litro, se ajustó a pH 6. El medio de cultivo se inoculó con 100 μL de suspensión de conidios de *Trichoderma* con concentración de 1×10^6 cel mL^{-1} . La incubación se realizó en tubos de ensaye con rosca durante seis días a 26 °C y 140 rpm.

La solución enzimática se centrifugó a 6 000 g por 30 min; se tomaron 0.5 mL para reaccionar con 0.5 mL de quitina (0.01%). La incubación duró 1h a 45 °C según lo descrito por Mohiddin *et al.* (2021), la reacción se detuvo al adicionar 3 mL de ácido 5-dinitrosalicílico y se llevó a 100 °C durante 5 min. El producto se centrifugó a 6 000 g por 15 min y al sobrenadante se le midió la absorbancia en espectrofotómetro UV (Thermo Fisher Scientific type Genesys 20, modelo 4001/4, CA, E.U.A.) a 540 nm. La curva de calibración se realizó con N-acetilglucosamina (0 a 50 mM). Una unidad de actividad quitinasa se definió como la cantidad de enzima que liberó 1 mmol de N-acetilglucosamina min^{-1} .

RESULTADOS

Se obtuvieron cuatro cepas con morfología del género *Trichoderma* a partir de muestras de suelo y tejido de *A. potato* establecido en Oaxaca, México. El suelo tenía textura arenosa, con pH medianamente alcalino (7.66) y sin problemas de salinidad (0.13 dS m^{-1}).

Identificación molecular de *Trichoderma* spp.

El análisis BLAST del NCBI identificó a *T. lentiforme* aislada de suelo de *A. potato*, con homología al número de acceso NR144868.1 y 99.54% de identidad. El aislamiento de tallo de agave fue identificado como *T. yunnanense*, con homología del 98.75% (NR_134419.1). En raíz se identificó a *T. asperellum*, con homología del 100% al número de acceso NR130668.1. No fue posible asemejar al otro aislamiento de suelo, por lo que se identificó como *Trichoderma* sp.

Descripción morfométrica de *Trichoderma* sp.

Los cuatro aislamientos presentaron Cm blanco, con Cr amarillo y Tm algodonoso elevado (Figura 1). Se diferenciaron entre sí en el Nac que formaron y en el Ce.

En *Trichoderma* sp. y *T. lentiforme* no se observaron anillos, *T. yunnanense* presentó un anillo y *T. asperellum* formó dos. Los conidios observados eran esféricos. El color de los conidios de *T. asperellum* y *T. yunnanense* fue verde oscuro, mientras que, *Trichoderma* sp. presentó conidios de color verde esmeralda y *T. lentiforme* en coloración verde limón. En todos los aislados fue posible observar clamidosporas. La forma del conidióforo y de las fiálides fue diferente para cada especie (Figura 2).

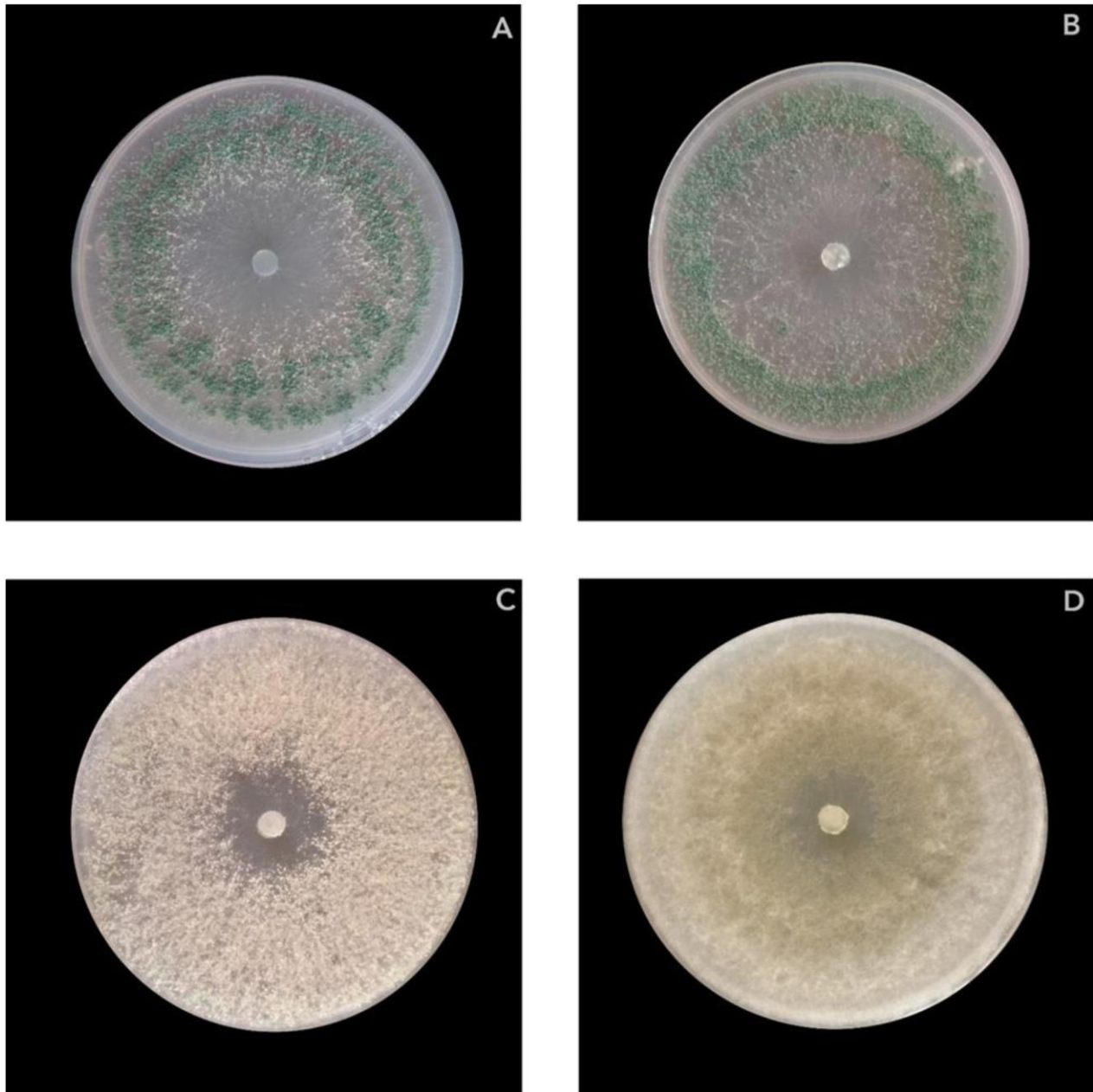


Figura 1. Morfología de aislamientos de *Trichoderma* de suelo y tejidos de *A. potatorum*. A. *T. asperellum*. B. *T. yunnanense*. C. *Trichoderma* sp. D. *T. lentiforme*.

La variable Cmi presentó diferencias significativas para el día uno y dos; sin embargo, al día tres el crecimiento se homogenizó (Tabla 1). La variable Vc presentó diferencia significativa. *Trichoderma* sp. tuvo mayor Vc y fue significativamente distinto de *T. asperellum* y *T. yunnanense*.

Evaluación del tamaño, producción y germinación de conidios

Se registraron diferencias significativas para las variables Dm, De y Dp (Tabla 2). *T. lentiforme* presentó los conidios de menor tamaño y *Trichoderma* sp. las de mayor diámetro. Las variables Pe

y Ge registraron diferencias significativas. En ambas, *T. yunnanense* fue significativamente distinta de *T. asperellum*.

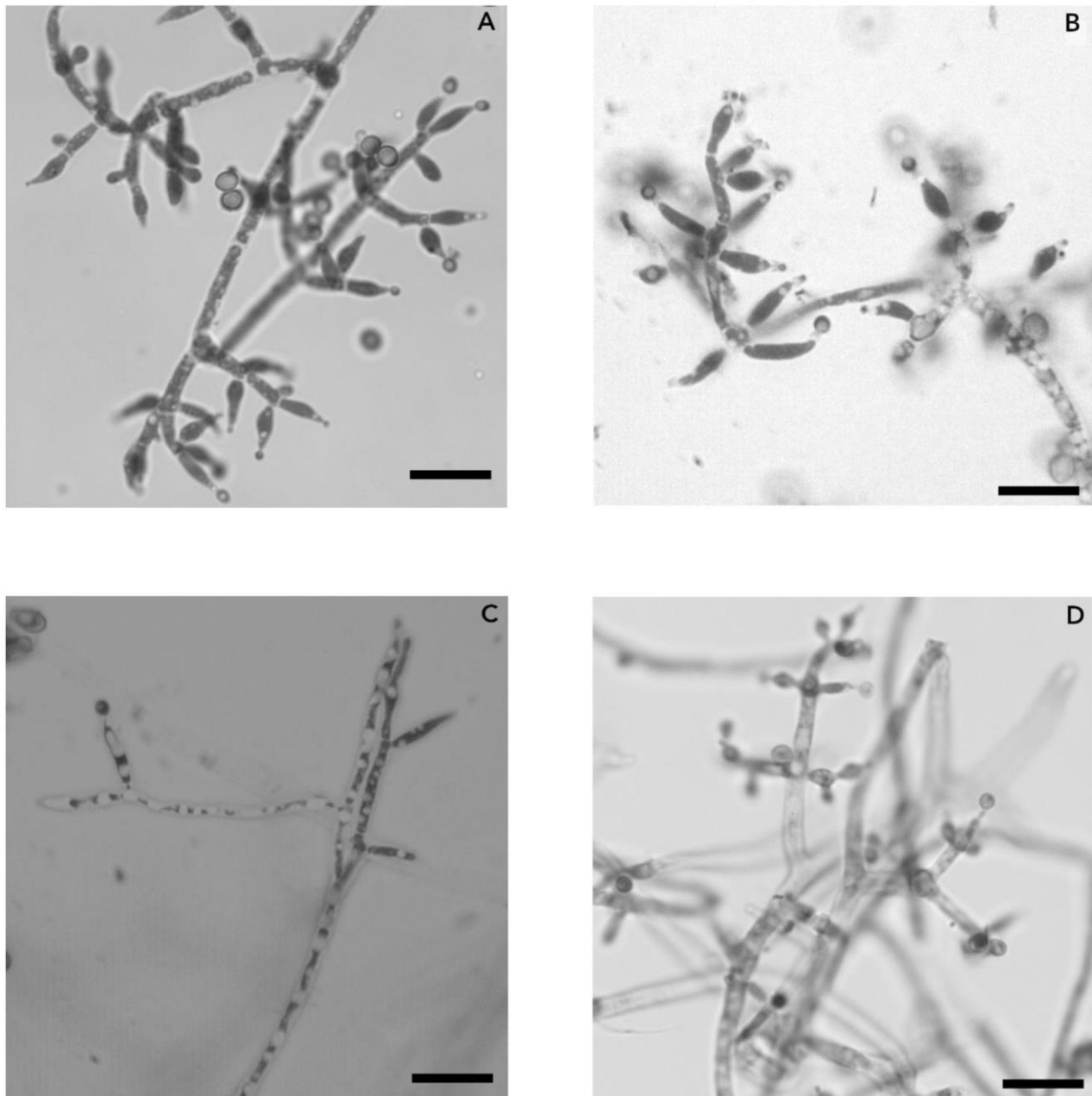


Figura 2. Micrografías de conidióforos de *Trichoderma* aisladas de *A. potato*. A. *T. asperellum*. B. *T. yunnanense*. C. *Trichoderma* sp. D. *T. lentiforme*. Barra = 20 µm.

Actividades enzimáticas de especies de *Trichoderma* con potencial para control biológico

La actividad de exoglucanasas fue significativamente diferente entre las especies. *T. asperellum* liberó la mayor cantidad de glucosa y para *Trichoderma* sp. fue menor (Tabla 3). Con respecto a la actividad de quitinasa, solo en *T. asperellum* y *T. yunnanense* se registró actividad de esta enzima en 6 d de incubación, para *Trichoderma* sp. y *T. lentiforme* no se presentó actividad.

Tabla 1. Crecimiento radial y velocidad de crecimiento del micelio de *Trichoderma*.

Especie	Cm 24 h (cm)	Cm 48 h (cm)	Cm 78 h (cm)	Vc (cm d ⁻¹) ‡
<i>T. asperellum</i>	1.95 ± 0.02 ^{ab}	3.10 ± 0.02 ^{bc}	3.68 ± 0.03 ^a	1.22 ± 0.01 ^b
<i>T. yunnanense</i>	1.56 ± 0.03 ^b	2.76 ± 0.02 ^c	3.65 ± 0.02 ^a	1.22 ± 0.01 ^b
<i>Trichoderma</i> sp.	2.13 ± 0.08 ^a	3.64 ± 0.03 ^a	3.64 ± 0.03 ^a	1.81 ± 0.02 ^a
<i>T. lentiforme</i>	1.83 ± 0.11 ^{ab}	3.45 ± 0.12 ^{ab}	3.60 ± 0.03 ^a	1.59 ± 0.19 ^{ab}
c.v.	6.93	3.96	1.38	2.99

Letras diferentes por columna son estadísticamente distintas (Tukey ≤ 0.01). ‡Datos transformados con la ecuación $\sqrt{x + 1}$. Cm = crecimiento micelial radial, Vc = velocidad de crecimiento.

Tabla 2. Tamaño, producción y germinación de conidios de *Trichoderma* aisladas de *A. potatorum*.

Especie	Dm (μm) [†]	De (μm) [†]	Dp (μm) [†]	Pe (10 ⁶ cel mL ⁻¹) ^{††}	Ge (%) ^{††}
<i>T. asperellum</i>	6.56 ± 0.08 ^a	5.55 ± 0.04 ^a	6.06 ± 0.05 ^a	19.40 ± 1.80 ^{b†}	96.25 ± 0.62 ^b
<i>T. yunnanense</i>	6.58 ± 0.07 ^a	5.55 ± 0.04 ^a	6.07 ± 0.04 ^a	35.40 ± 4.68 ^a	99.50 ± 0.28 ^a
<i>Trichoderma</i> sp.	6.91 ± 0.10 ^a	5.49 ± 0.07 ^{ab}	6.20 ± 0.07 ^a	22.80 ± 2.58 ^{ab}	98.25 ± 0.25 ^{ab}
<i>T. lentiforme</i>	5.67 ± 0.05 ^b	5.26 ± 0.05 ^b	5.46 ± 0.04 ^b	22.80 ± 4.76 ^{ab}	97.00 ± 0.91 ^b
c.v.	8.99	6.81	6.71	13.76	1.10

[†]Letras diferentes por columna son estadísticamente distintas (Tukey ≤ 0.01). ^{††}Letras diferentes por columna son estadísticamente distintas (Tukey ≤ 0.05). Dm = diámetro meridional, De = diámetro ecuatorial, Dp = diámetro promedio, Pe = producción de conidios, Ge = germinación de conidios, c.v. = coeficiente de variación.

Tabla 3. Actividad de exoglucanasas y quitinasas producidas por *Trichoderma* spp.

Especie	μM glucosa mL ⁻¹ día ⁻¹	mM n-acetilglucosamina mL ⁻¹ día ⁻¹
<i>T. asperellum</i>	0.55 ± 0.01 ^a	1.67 ± 0.17 ^a
<i>T. yunnanense</i>	0.51 ± 0.01 ^{ab}	1.49 ± 0.08 ^a
<i>Trichoderma</i> sp.	0.50 ± 0.01 ^b	NR
<i>T. lentiforme</i>	0.51 ± 0.01 ^{ab}	NR
c.v.	2.99	16.85

Letras diferentes por columna son estadísticamente distintas (Tukey ≤ 0.05). NR = no registrada.

DISCUSIÓN

De las especies identificadas en este estudio, solo *T. asperellum* ha sido reportada para suelos semiáridos en México. *T. yunnanense* y *T. lentiforme* se reportan por primera vez como especies que colonizan suelo y tejidos de agave en condiciones semiáridas. *T. asperellum*, *T. atroviride*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. viride* y *T. longibrachiatum* son las especies documentadas para suelos semiáridos del noroeste del país. Las poblaciones de estos hongos en suelos de este tipo están sujetas a la escasa vegetación en el sitio de muestreo, la textura arenosa del suelo y la plasticidad

de las especies para adaptarse a condiciones extremas mediante la producción de metabolitos (Savín-Molina *et al.* 2021).

Cabral-Miramontes *et al.* (2022) reportaron hongos del clado *T. asperolloides* y *T. harzianum* aislados de plantas y suelo árido-alcalino de México. *T. harzianum* mostró su capacidad para neutralizar pH ácidos y alcalinos durante su crecimiento *in vitro*; esta adaptación al nicho de origen, representa su potencial capacidad para sintetizar metabolitos involucrados en la colonización e inhibición de patógenos. El tipo de metabolitos secundarios que produce *Trichoderma* difiere según la especie, estos pueden ser: alcaloides, lactonas, quinonas, triterpenos, esteroides, azúcares reductores o flavonoides (Chóez-Guaranda *et al.* 2023). La síntesis de los metabolitos secundarios depende de la expresión génica, la cual es regulada por cambios en el pH, presencia de proteínas y la interacción con otros organismos (Khan *et al.* 2020).

La actividad de quitinasa producida por *T. asperellum* y *T. yunnanense* en medio mínimo basal adicionado con quitina, fue similar a lo reportado por Mohiddin *et al.* (2021), quienes mencionan que *T. harzianum* tiene la capacidad de producir desde 1.13 hasta 3.38 U mL⁻¹ de quitinasa. La actividad de exoglucanasas fue menor, para las cuatro especies, que lo reportado por Kalsoom *et al.* (2019) para *T. reesei*, que produce hasta 0.275 U mL⁻¹ min⁻¹ de enzima en 120 h en condiciones de 70 % de humedad.

Uno de los efectos del hongo *Trichoderma* en asociación con plantas es la alteración de la homeostasis hormonal, que mejora su desempeño fisiológico ante estrés abiótico (Alfiky y Weisskopf 2021). La selección de cepas nativas de *Trichoderma* que provienen de zonas semiáridas podría incrementar la adaptación a ambientes extremos, y su posible uso como agentes de biocontrol contra patógenos que producen enfermedades en plantas de interés agrícola (Savín-Molina *et al.* 2021). El aislamiento de cepas nativas de *Trichoderma* se ha reportado en suelo y raíz de aguacate (López-López *et al.* 2023).

En esta investigación, las especies aisladas de suelo tuvieron mejor Vc en comparación con las obtenidas de raíz y tallo de *A. potatorum*. A mayor Vc, *Trichoderma* posee potencial para establecerse en la rizosfera, convirtiéndose en competidor natural por espacio y nutrientes ante la presencia de otros hongos (Khan *et al.* 2020). Además, una mayor producción de conidios refleja la agresividad del antagonista para establecerse y permite que el porcentaje de germinación de conidios se incremente, asegurando la supervivencia de *Trichoderma*.

Las especies con mayor frecuencia reportadas en México son *T. asperellum* y *T. harzianum*. *T. lentiforme*, no ha sido reportada en el país (Ahedo-Quero *et al.* 2024, Allende-Molar *et al.* 2022).

CONCLUSIONES

Se identificó a *T. asperellum* y *T. yunnanense* como hongos nativos que habitan en tejido de *A. potatorum*. Se reporta por primera vez para México *T. lentiforme* en suelo de cultivo de agave en Oaxaca. Las características morfológicas de las especies son similares en la coloración y textura del micelio y diferentes en el color de conidios. La especie *T. lentiforme* aislada de suelo no presentó anillos concéntricos de esporulación. Las cuatro especies presentaron diferencias taxonómicas y

actividad de exoglucanasas. *T. asperellum* presentó más actividad de exoglucanasas y solamente *T. asperellum* y *T. yunnanense* mostraron actividad de quitinasa.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación por la beca otorgada al estudiante con CVU 1240438.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran que no tienen intereses en competencia.

LITERATURA CITADA

- Allende-Molar R, Báez-Parra KM, Salazar-Villa E, Rojo-Báez I (2022) Biodiversidad de *Trichoderma* spp. en México y su potencial de utilización en la agricultura. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 25: 088. <https://doi.org/10.56369/tsaes.4297>
- Alfiky A, Weisskopf L (2021) Deciphering *Trichoderma*-plant-pathogen interactions for better development of biocontrol applications. *Journal of Fungi* 7: 61. <https://doi.org/10.3390/jof7010061>
- Arrazate-Argueta VC, Martínez-Bolaños M, Ayala-Escobar V, Avendaño-Arrazate CH, Hernández-Morales J (2019) Diversidad morfológica y fisiológica de cepas nativas de *Trichoderma* spp. en suelos cacaoteros de México. *Agroproductividad* 12(12): 3-10. <https://doi.org/10.32854/agrop.vi12.1529>
- Bouyoucos GJ (1936) Directions for making mechanical analysis of soils by the hydrometer method. *Soil Science* 4: 225-228.
- Cabral-Miramontes JP, Olmedo-Monfil V, Lara-Banda M, Zuñiga-Romo ER, Aréchiga-Carvajal ET (2022) Promotion of plant growth in arid zones by selected *Trichoderma* spp. strains with adaptation plasticity to alkaline pH. *Biology* 11: 15. <https://doi.org/10.3390/biology11081206>
- Chaparro AE, Castillo CD (2019) Especies de *Trichoderma* productoras de β -galactosidasa en suelos de cultivo de Tacna, Perú. *Revista Ciencia y Tecnología para el Desarrollo-UJCM* 5(9): 27-37. <http://dx.doi.org/10.37260/rctd.v5i9.139>
- Chairman E, Bird G, Fisher K, Hickey K, Lewis F, Line R, Rickard S (1978) Methods for evaluating plant fungicides, nematocides and bactericides. The American Phytopathological Society. Minneapolis, USA. 141p.
- Chóez-Guaranda I, Espinoza-Lozano F, Reyes-Araujo D, Romero C, Manzano P, Galarza L, Sosa D (2023) Characterization of *Trichoderma* spp. extracts with antifungal activity against cocoa pathogens. *Molecules* 28: 3208. <https://doi.org/10.3390/molecules28073208>
- COMERCAM (2024) Informe estadístico 2024. Consejo Mexicano Regulador de la Calidad del Mezcal A. C. https://comercam-dom.org.mx/wp-content/uploads/2024/04/PUBLICO_INFORME_2024.pdf. Fecha de consulta: 29 de abril de 2024.
- Delgado-Lemus A, Torres I, Blancas J, Casas A (2014) Vulnerability and risk management of *Agave* species in the Tehuacán Valley, México. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 10: 53.

- Gamboa-Villa LC, Martínez-Fernández E, Martínez-Jaimes P, Suárez-Rodríguez R, Ramírez-Trujillo JA (2020) Biocontrol de *Trichoderma* spp. hacia patógenos de la raíz de caña de azúcar. *Agrociencia* 54(7): 955-966. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v54i7.2245>
- Gams W, Bissett J (2002) Morphology and identification of *Trichoderma*. In: Kubicek CP, Harman GE (eds) *Trichoderma y Gliocladium: basic biology, taxonomy and genetics*. Taylor y Francis, Ltd. pp. 3-34. <https://doi.org/10.1201/9781482295320>
- García-Mendoza AJ (2010) Revisión taxonómica del complejo de *Agave potatorum* Zucc. (Agavaceae): nuevos taxa y neotipificación. *Acta Botánica Mexicana* 91: 71-93.
- Huanca-Mamani W, Salvatierra MR, Sepúlveda-Chavera G (2014) A fast and efficient method for total DNA extraction from soil filamentous fungi. *Idesia (Arica)* 32(2): 75-78. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292014000200010>
- Kalsoom R, Ahmed S, Nadeem M, Chochan S, Abid M (2019) Biosynthesis and extraction of cellulase produced by *Trichoderma* on agro-wastes. *International Journal of Environmental Science and Technology* 16: 921-928. <https://doi.org/10.1007/s13762-018-1717-8>
- Khan RAA, Najeeb S, Hussain S, Xie B, Li Y (2020) Bioactive secondary metabolites from *Trichoderma* spp. against Phytopathogenic Fungi. *Microorganisms* 8(6): 817. <http://doi.org/10.3390/microorganisms8030401>
- López-López ME, Del-Toro-Sánchez CL, Ochoa-Ascencio S, Aguilar-López JA, Martínez-Cruz O, Madrigal-Pulido JA, Robles-García MA, Bernal-Mercado AT, Ávila-Novoa MG, Guerrero-Medina PJ, Gutiérrez-Lomelí M (2023) Antagonismo de cepas de *Trichoderma* aisladas de Tanaxuri, Michoacán, México contra patógenos postcosecha del fruto de aguacate (*Persea americana* Mill). *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud* 25: 24-33. <http://doi.org/10.18633/biotecnica.v25i1.1726>
- Lucio LCF (2022) Los destilados de agave en México: una exploración desde la economía ecológica radial. *Revista Iberoamericana de Economía Ecológica* 35(3): 21-38.
- Martínez B, Infante D, Reyes Y (2013) *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista Protección Vegetal* 28(1): 1-11.
- Mohiddin FA, Padder SA, Bhat AH, Ahanger MA, Shikari AB, Wani SH, Bhat FA, Nabi SU, Hamid A, Bhat NA, Sofi NR, Waza SA, Hamid B, Parveen S, Hussain A, Bhat AN, Ali OM, Dar MS, Latef AAHA (2021) Phylogeny and optimization of *Trichoderma harzianum* for chitinase production: evaluation of their antifungal behaviour against the prominent soil borne phyto-pathogens of temperate India. *Microorganisms* 9: 1962. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9091962>
- Moreira FMS, Huising EJ, Bignell DE (2012) Manual de biología de suelos tropicales: muestreo y caracterización de la biodiversidad bajo suelo. Instituto Nacional de Ecología. México. pp. 149-162.
- Nelson N (1944) A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *Journal of biological. Chemistry* 153: 375-380. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)71980-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)71980-7)
- Ng TK, Weimer PJ and Zeikus JG (1977) Cellulolytic and physiological properties of *Clostridium thermocellum*. *Archives of Microbiology* 114: 1977. <http://doi.org/10.1007/BF00429622>
- Rifai MA (1969) A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycological Papers* 116: 1-56.
- Rochelle PA, Will JAK, Fry JC, Jenkins GJS, Parkes RJ, Turley CM, Weightman AJ (1995) Extraction and amplification of 16S rRNA genes from deep marine sediments and seawater to assess bacterial community diversity. In: Trevors JT, Van Elsas JD (eds) *Nucleic acids in the environment*. Springer. Alemania. https://doi.org/10.1007/978-3-642-79050-8_11
- Sabando-Ávila F, Molina-Atencia LM, Garcés-Fiallos FR (2017) *Trichoderma harzianum* en pre-transplante aumenta el potencial agronómico del cultivo de piña. *Revista Brasileira de Ciencias Agrarias* 12(4): 410-414. <https://doi.org/10.5039/agraria.v12i4a5468>
- Samuels GJ (1996) *Trichoderma*: a review of biology and systematics of the genus. *Mycological Research* 100: 923-935. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(96\)80043-8](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(96)80043-8)

- Sánchez HL, Arias MRM, Rosique GJE, Pacheco FCJ (2018) Diversidad del género *Trichoderma* (Hypocraceae) en un área natural protegida de Tabasco, México. *Acta Botánica Mexicana* 123: 167-182. <http://dx.doi.org/10.21829/abm123.2018.1269>
- Savín-Molina J, Hernández-Montiel LG, Ceiro-Catasú W, Ávila-Quezada GD, Palacios-Espinosa A, Ruíz-Espinoza FH y Romero-Bastidas M (2021) Caracterización morfológica y potencial de biocontrol de especies de *Trichoderma* aisladas de suelos del semiárido. *Revista Mexicana de Fitopatología* 39(3): 435-451. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2106-7>
- Somogyi M (1952) Notes on sugar determinations. *Journal of biological Chemistry* 195: 19-23. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)50870-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)50870-5)
- Vera GAM, Santiago GPA, López MG (2009) Compuestos volátiles aromáticos generados durante la elaboración de mezcal de *Agave angustifolia* y *Agave potatorum*. *Revista Fitotecnia Mexicana* 32(4): 273-279. <http://doi.org/10.35196/rfm.2009.4.273-279>