



---

*Recibido:* 14/octubre/2024    *Aceptado:* 23/diciembre/2024

## **Evaluación de la esporulación de *Trichoderma* sp. en diferentes tiempos y medios de cultivo (Original)**

**Evaluation of *Trichoderma* sp. sporulation under different fermentation times and liquid media (Original)**

Franklin Gregorio Morán Espinoza. Ingeniero Agrónomo. *Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Técnica de Machala. Ecuador.*

[ [fmoran2@utmachala.edu.ec](mailto:fmoran2@utmachala.edu.ec) ] [ <https://orcid.org/0009-0007-9608-637X> ]

Edwin Edison Jaramillo Aguilar. Ingeniero agrónomo. *Docente en la carrera de Agronomía de la Universidad Técnica de Machala. Ecuador.*

[ [ejaramillo@utmachala.edu.ec](mailto:ejaramillo@utmachala.edu.ec) ] [ <https://orcid.org/0000-0002-8241-9598> ]

Sayda Noemí Herrera Reyes. *Docente Investigador de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala. Ecuador.*

[ [sherrera@utmachala.edu.ec](mailto:sherrera@utmachala.edu.ec) ] [ <https://orcid.org/0000-0002-7226-5345> ]

### **Resumen**

El género de hongos filamentosos *Trichoderma* ha generado un interés creciente en el ámbito agrícola debido a su potencial tanto como agente de control biológico como promotor del crecimiento vegetal. Este interés se origina en la necesidad de encontrar alternativas para combatir las enfermedades fúngicas sin comprometer la salud humana ni el medio ambiente. La implementación de *Trichoderma* spp. como herramienta de control biológico ha abierto nuevas perspectivas en la agricultura ecológica, destacándose por su capacidad para fomentar prácticas agrícolas sostenibles y reducir la dependencia de pesticidas químicos, lo que minimiza los impactos ambientales de su uso. Esta investigación tuvo como objetivo evaluar la esporulación de *Trichoderma* sp. en diferentes tiempos y medios de cultivo. Se utilizaron sustratos como arroz en grano, hojuelas de avena, a diferentes tiempos de fermentación. Los resultados indicaron que los tratamientos de Avena + Dextrosa a 22 días y Arroz + Dextrosa a 10 días de fermentación, lograron los mejores resultados en la producción de conidios. Este enfoque prometedor puede aportar de manera significativa a la agricultura sostenible y al bienestar del medio ambiente.

**Palabras Clave:** *Trichoderma*; fermentación; sustrato líquido; arroz; avena

### **Abstract**

The genus of filamentous fungi *Trichoderma* has garnered increasing interest in the agricultural field due to its potential as both a biological control agent and a plant growth promoter. This



interest arises from the need to find alternatives to combat fungal diseases without compromising human health or the environment. The implementation of *Trichoderma* spp. as a biological control tool has opened new perspectives in organic agriculture, notably for its ability to promote sustainable farming practices and reduce dependence on chemical pesticides, thereby minimizing the environmental impacts of their use. This research aimed to evaluate the sporulation of *Trichoderma* sp. over different periods and in various culture media. Substrates such as whole rice grains and oatmeal flakes were used at different fermentation times. The results indicated that the treatments of Oatmeal + Dextrose for 22 days and Rice + Dextrose for 10 days of fermentation achieved the best results in conidia production. This promising approach can significantly contribute to sustainable agriculture and environmental well-being.

**Keywords:** *Trichoderma*; fermentation; liquid substrate, rice, oats

## Introducción

Los cultivos pueden ser afectados por diversas enfermedades causadas por microorganismos como hongos, bacterias, nematodos y virus. Aunque el control químico mediante fungicidas es el método más comúnmente utilizado para manejar estas enfermedades, este enfoque es costoso y perjudicial para el medio ambiente. Además, varios estudios han señalado que el control químico no siempre es eficaz debido a la resistencia desarrollada por los patógenos (Companioni et al., 2019). No obstante, existen microorganismos nativos antagonistas que pueden ayudar a reducir el uso de fertilizantes y pesticidas (Cruz et al., 2021).

El uso de *Trichoderma* como medio de control biológico ha generado nuevas oportunidades en la agricultura ecológica (Nur & Noor, 2020). Uno de los aspectos más destacados del empleo de *Trichoderma* en la agricultura es su capacidad para promover prácticas agrícolas sostenibles (Lorito et al., 2010). Además, el uso de *Trichoderma* como agente de control biológico puede disminuir la dependencia de pesticidas químicos, reduciendo así los impactos ambientales negativos asociados con su uso.

El género *Trichoderma*, perteneciente a la familia *Hypocreaceae*, está ampliamente distribuido a nivel mundial y se encuentra en diversos hábitats como suelos, madera en descomposición y materia vegetal en descomposición. Estos hongos muestran una gran diversidad en sus modos de vida y en sus interacciones con otros hongos, animales y plantas (Tyskiewicz et al., 2022). La taxonomía de *Trichoderma* sigue siendo un área en desarrollo y la diferenciación de especies es compleja (Mesa et al., 2019). Morfológicamente, *Trichoderma* se



caracteriza por tener conidióforos delgados y ramificados que se asemejan a pequeños árboles, con mechones densos en forma de anillos y ramas piramidales irregulares que terminan en esporas o conidios asexuales. Además, producen clamidosporas intercalares y terminales, así como propágulos de tres tipos: hifas, clamidosporas y conidios. Como mecanismo de resistencia, estos hongos pueden formar clamidosporas en diferentes partes del micelio, incluyendo zonas intermedias y finales del micelio. Estas clamidosporas son estructuras de supervivencia que pueden perdurar en el tiempo (Martínez et al., 2015).

La búsqueda de estrategias alternativas para el control de enfermedades fúngicas ha sido motivada por la necesidad imperante de incrementar la productividad agrícola sin poner en peligro la salud humana ni el entorno ambiental. Se estima que el suelo, uno de los hábitats microbianos con mayor biodiversidad, contiene entre  $10 \times 10^4$  y  $10 \times 10^9$  microorganismos y especies diferentes por gramo de suelo y es la base de la agricultura. Por ello, se han promovido tecnologías amigables con el medio ambiente como el control biológico (CB) como parte del manejo integrado de plagas (MIP) (Viera et al., 2020). En consecuencia, *Trichoderma* se utiliza ampliamente como biofertilizante en una amplia gama de cultivos agrícolas, ya sea en combinación con la aplicación de fertilizantes químicos o de manera independiente (Andrade et al., 2023).

Las especies del género *Trichoderma* spp. son hongos de crecimiento rápido, caracterizados por tener hifas hialinas septadas y ramificadas, fiálides en forma de matraz, y conidióforos hialinos que generalmente se ramifican a partir de hifas en ángulos de  $90^\circ$ , a veces con una disposición piramidal. Los conidios son unicelulares, redondos y de color verde. En medios de cultivo con condiciones restrictivas, algunas especies pueden formar clamidosporas, que suelen ser globosas (Sánchez, 2009), y también pueden desarrollar microesclerocios como estructuras de resistencia (Kobori et al., 2015)

La importancia del género *Trichoderma* radica en su destacada eficacia para combatir diversas enfermedades, un hecho documentado en múltiples ocasiones. Se ha investigado específicamente su influencia en la prevención de la pudrición de las raíces, una afección responsable de considerables pérdidas económicas en diversos cultivos agrícolas (Antomarchi et al., 2023). Aunque los productos químicos siguen siendo la principal opción para enfrentar estas enfermedades, los agentes biológicos ofrecen una alternativa eficiente para controlarlas de manera más rápida y segura (Andrade et al., 2019). Las propiedades antagonistas de



*Trichoderma* contra los hongos patógenos se basan en la activación de diversos mecanismos, incluyendo la competencia por recursos como nutrientes y espacio, el micoparasitismo, la producción de sustancias antibióticas, la promoción del crecimiento de las plantas hospedantes y la inducción de respuestas de defensa en las mismas. Durante el micoparasitismo, *Trichoderma* secreta enzimas que descomponen la pared celular de los hongos parasitados, destacando proteasas, quitinasas y glucanasas. Esta acción provoca la retracción de la membrana plasmática y la desorganización del citoplasma en los hongos afectados. Además, *Trichoderma* inhibe la germinación de esporas y la elongación del tubo germinativo de los hongos patógenos (Hernández et al., 2019).

*Trichoderma* spp. produce tres tipos de propágulos: hifas, clamidosporas y esporas (Vassilev & De Oliveira, 2018), además de microesclerocios como estructuras de resistencia (Kobori et al., 2015). Para su producción masiva, los conidios son más adecuados, ya que tienen una pared gruesa compuesta por tres capas que protegen el protoplasto: endospora, epispora y perispora (Vassilev & De Oliveira, 2018). La producción de hongos antagonistas se realiza mediante la fermentación con la finalidad de obtener la mayor cantidad de conidios ya que son los propágulos más estables que se pueden utilizar y almacenar para su posterior uso en los cultivos (Pineda et al., 2017).

Según Chen (2013), la fermentación es un proceso en el que los microorganismos catalizan nutrientes, sintetizan metabolitos secundarios y realizan otras actividades fisiológicas bajo condiciones anaeróbicas o aeróbicas. Durante este proceso, se acumulan microorganismos o metabolitos microbianos deseados. Por lo tanto, hay tres elementos clave que deben considerarse en estudios de fermentación: el producto objetivo claro, la cepa productora y el ambiente de evaluación adecuado (nutrientes, temperatura, humedad, oxígeno). Los objetivos de la fermentación se clasifican en cuatro tipos: producción de biomasa (material celular viable), producción de metabolitos extracelulares (compuestos químicos), producción de elementos enzimáticos (enzimas y proteínas) y transformación del sustrato, donde el sustrato modificado se convierte en el producto final (Vuppala et al., 2015).

La producción de *Trichoderma* puede realizarse mediante fermentación sumergida (líquida) o fermentación en estado sólido. Ambos métodos tienen sus ventajas y desventajas, pero los procesos sumergidos son más sencillos de manejar y automatizar. En la mayoría de las fermentaciones líquidas, la concentración del sustrato varía entre 0,5% y 6%, dependiendo de



factores como la densidad del sustrato y las posibles complicaciones reológicas (Chávez et al., 2008). Los cultivos sumergidos de *Trichoderma* spp. se han llevado a cabo utilizando el medio Czapek Dox o sus variantes con concentraciones variables de sacarosa (10-30 g/L), así como fuentes de sacarosa como la melaza, y la adición ocasional de extracto de levadura/peptona extra (1-5 g/L). Estos cultivos han alcanzado concentraciones de peso seco de biomasa de *Trichoderma* spp. que oscilan entre 2 y 15 g/L en un período de cultivo de 4 a 7 días. Aunque el extracto de malta es común en otros tipos de cultivos, su aplicación en cultivos sumergidos de *Trichoderma* spp. ha sido poco frecuente hasta la fecha.

Uno de los sustratos comúnmente utilizados es el grano entero de arroz. Sin embargo, en busca de alternativas más económicas y accesibles para la producción de *Trichoderma*, se han propuesto otros sustratos. Por su parte, Michel et al. (2008) demostraron que se obtiene una mayor concentración de conidios en olote de maíz triturado, con  $4.43 \times 10^8$  mL<sup>-1</sup>, seguido por el grano de arroz, con  $3.13 \times 10^8$  mL<sup>-1</sup>. Un estudio más reciente de López et al. (2022) evaluó sustratos para la producción de esporas de *T. harzianum* (72TG-11) mediante fermentación sólida, alcanzando una producción de  $3.30 \times 10^6$  esporas en arroz y  $1.74 \times 10^6$  en olote de maíz. Esto confirmó que estos dos sustratos (arroz y olote de maíz) son los mejores para la obtención de conidios. En cuanto a la viabilidad de los conidios (germinación de conidios) en el sustrato, el olote de maíz presenta un 99% de viabilidad, seguido por el grano de arroz con 97.5%, la cascarilla de arroz con 97% y la cáscara de ajonjolí con 95.5% (Michel et al., 2008). El presente estudio se planteó como objetivo evaluar la esporulación de *Trichoderma* sp. en diferentes tiempos y medios de cultivo.

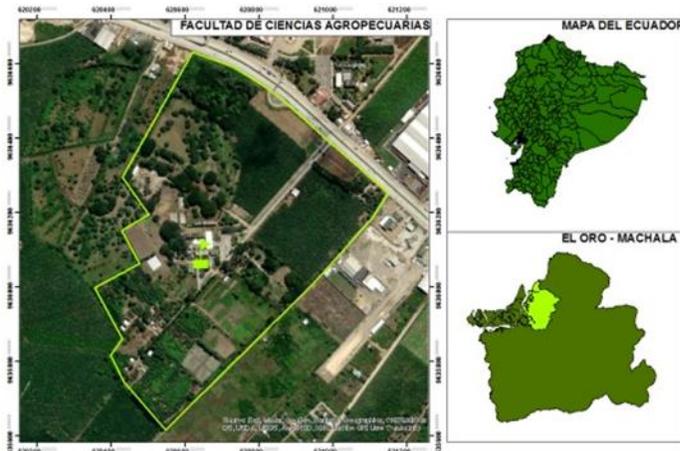
## **Materiales y Métodos**

### *Ubicación del experimento*

El experimento in vitro se realizó en el laboratorio de sanidad vegetal (sección Fitopatología) de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, en la Universidad Técnica de Machala, coordenadas geográficas: 3°15'52" S y 79°57'04" O, ubicada en la Avenida Panamericana, 5,5 km vía Machala-Pasaje, parroquia El Cambio, cantón Machala, provincia de El Oro. (Figura 1)



Figura 1. Ubicación referencial de la zona de ensayo.



Fuente: Elaboración propia

Equipos:

- Autoclave
- Cámara de flujo laminar

Materiales:

- Agar Papa Dextrosa
- Agua destilada
- Antibióticos (cloranfenicol)
- Cajas Petri plásticas
- Frascos autoclavables de rosca (100, 500ml)
- Lámpara de alcohol
- Matraz (300 ml)
- Papel aluminio
- Papel film
- Pinza
- Probetas
- Puntas de plástico
- Puntas para sembrar microorganismos

#### *Selección de Sustratos Orgánicos*

Para esta investigación, se eligieron dos sustratos orgánicos comunes: arroz en grano y avena en hojuelas. Estos sustratos fueron adquiridos de proveedores locales y se mantuvieron en condiciones adecuadas de almacenamiento hasta su utilización.



*Preparación de Sustratos Orgánicos*

Se prepararon los diferentes tratamientos colocando 200 gramos de cada sustrato, arroz o avena, más 15 gramos de dextrosa en un litro de agua destilada, utilizando una cámara de flujo laminar para asegurar condiciones estériles. Posteriormente, los sustratos se enfriaron a temperatura ambiente antes de ser utilizados. Cada sustrato fue esterilizado en autoclave a 121°C durante 20 minutos.

*Preparación de Trichoderma spp.*

El cultivo de *Trichoderma* spp. se mantuvo en placas de agar PDA (papa-dextrosa-agar) a 25°C en una incubadora durante 7 días para obtener colonias puras. Se prepararon suspensiones de esporas mediante la siembra de colonias en frascos de vidrio esterilizados que contenían un medio de cultivo líquido a base de melaza y agua destilada en una relación de 1:4.

*Diseño Experimental*

El diseño experimental fue completamente al azar (DCA), con 6 tratamientos, tres repeticiones por tratamiento.

**Tabla 1. Hidrolatos y aceites esenciales que se utilizaron en la evaluación de la esporulación en diferentes tiempos y medios de cultivo**

Tratamiento	medio de cultivo + tiempo	Repeticiones
T1	Arroz+Dextrosa+8 días	3
T2	Avena+Dextrosa+8 días	3
T3	Arroz+Dextrosa+10 días	3
T4	Avena+Dextrosa+10 días	3
T5	Arroz+Dextrosa+22 días	3
T6	Avena+Dextrosa+22 días	3

**Fuente: Elaboración propia**

*Variables a medir*

Las variables medidas incluyeron la cantidad de conidios producidos en diferentes medios líquidos y tiempos de fermentación. Los tratamientos se evaluaron a los 8, 10 y 22 días post-inoculación para determinar la producción de conidios de *Trichoderma* spp. Los conidios se contaron utilizando la cámara de Neubauer y un microscopio óptico.

*Análisis Estadístico*

Para el análisis estadístico de los datos, se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis debido a que los datos no cumplían con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza. La prueba de Kruskal-Wallis es una alternativa no paramétrica al ANOVA para datos no pareados, empleando rangos para comparar la hipótesis de que las muestras provienen de la misma población. Se consideró un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$  para todas las pruebas estadísticas. El software Infostat se utilizó para realizar los análisis estadísticos.

## Resultados y discusión

Al examinar la producción de conidios de *Trichoderma* en los dos tipos de medios líquidos y a diferentes tiempos de fermentación, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, como se muestra en la Tabla 2. En general, el hongo mostró la capacidad de producir conidios en todos los tratamientos analizados. Sin embargo, los tratamientos de Arroz + Dextrosa a 10 días y Avena + Dextrosa a los 22 días de fermentación, destacaron significativamente, alcanzando producciones de  $1.5 \times 10^7$  y  $1.95 \times 10^7$  conidios por mililitro, respectivamente.

En el contexto de producción artesanal, los hongos entomopatógenos cultivados en medio de cultivos líquidos han logrado rendimientos notables, situándose en el rango de  $10^{14}$  conidios por mililitro de sustrato. Sin embargo, la mayoría de las especies de hongos entomopatógenos presentan producciones más comunes alrededor de  $10^9$  conidios por mililitro de sustrato. Estos resultados destacan la eficacia y el potencial de este método de cultivo, lo que puede resultar en una producción considerable de conidios y, por lo tanto, en un aumento en la disponibilidad de agentes de control biológico para su uso en el manejo de plagas agrícolas (Pérez et al., 2002).

**Tabla 2. Análisis de la varianza no paramétrico (prueba de Kruskal Wallis) del efecto de diferentes tiempos y medios de cultivo sobre la producción de conidios en *Trichoderma* sp.**

Tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Arroz+Dextrosa+10 días	3	14966666.67	1159022.58	14800000.00	15.13	0.0098
Arroz+Dextrosa+22 días	3	12500000.00	500000.00	12500000.00		
Arroz+Dextrosa+8 días	3	10375000.00	2025000.00	10375000.00		
Avena+Dextrosa+10 días	3	9075000.00	925000.00	9075000.00		
Avena+Dextrosa+22 días	3	19500000.00	500000.00	19500000.00		
Avena+Dextrosa+8 días	3	12450000.00	1050000.00	12450000.00		

Fuente: Elaboración propia



Según el análisis de varianza y la prueba de Kruskal-Wallis, se observa que los valores de  $p$  de los tratamientos fueron significativamente inferiores al nivel de significancia del 5 %, indicando diferencias estadísticas significativas al menos en uno de los tratamientos. La variable de producción de conidios alcanzó su máximo en los tratamientos de Arroz + Dextrosa a 10 días y Avena + Dextrosa a los 22 días de fermentación, con producciones de  $1.5 \times 10^7$  y  $1.95 \times 10^7$  conidios por mililitro, respectivamente; mientras que el valor mínimo se registró en los tratamientos Avena + Dextrosa a 10 días y Arroz + Dextrosa a 8 días con  $9.08 \times 10^6$  y  $1.04 \times 10^7$ , como se detalla en la Tabla 3.

El arroz destaca como sustrato preferido para la producción a gran escala de hongos entomopatógenos debido a su capacidad para mantener condiciones físicas y químicas ideales. Proporcionan un equilibrio nutricional óptimo y condiciones específicas que cumplen con los requisitos de aislamiento (Bhanu et al., 2008). En un ensayo de Pérez et al. (2002), se demostró que la avena al 6% p/v fue el mejor de los medios líquidos con un recuento de  $2.9 \times 10^{11}$  conidios/ml a las 96 horas de cultivo con agitación neumática. Además, Vásquez (2010) obtiene  $2,215 \times 10^9$  conidios/mL para *T. viride* como máxima esporulación, en un medio de cultivo líquido con Harina de arroz + harina de frijol a los 8 días de fermentación con agitador rotatorio.

**Tabla 3. Comparación de Rango de Kruskal – Wallis, de diferentes tiempos y medios de cultivo en la esporulación de *Trichoderma* sp.**

Trat.	Ranks	Letter Group
Avena+Dextrosa+10días	2,67	A
Arroz+Dextrosa+8días	5,00	A
Avena+Dextrosa+8días	9,00	A B
Arroz+Dextrosa+22días	9,33	A B
Arroz+Dextrosa+10días	14,00	B
Avena+Dextrosa+22días	17,00	B

**Fuente:** Elaboración propia

### Conclusiones

Los mejores tratamientos fueron de Avena + Dextrosa a 22 días y Arroz + Dextrosa a 10 días de fermentación, ya que lograron los mejores resultados en la producción de conidios, alcanzando producciones de  $1.5 \times 10^7$  y  $1.95 \times 10^7$  conidios por mililitro, respectivamente, bajo condiciones de fermentación líquida estática. El sustrato donde se obtuvo menor tiempo de



fermentación fue el Arroz + Dextrosa a 10 días, en contraste con el sustrato Avena + Dextrosa, que el tiempo de fermentación fue de 22 días.

### Referencias Bibliográficas

- Andrade, P., Luna, A., Osorio, E., Molina, E., Landero, N., & Barrales, H. J. (2019). Antagonismo de *Trichoderma spp.* vs hongos asociados a la marchitez de chile. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(6), 1259-1272. [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-09342019000601259&script=sci\\_arttext](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-09342019000601259&script=sci_arttext)
- Andrade, P., Rivera, M. N., Landero, N., Silva, H. V., Martínez, S. J., & Romero, O. (2023). Beneficios ecológicos y biológicos del hongo cosmopolita *Trichoderma spp.* en la agricultura: Una perspectiva en el campo mexicano. *Revista Argentina de Microbiología*, 55(4) 366-377. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0325754123000603>
- Antomarchi, Y., Tamayo, E., Guerra, J. L., Mas, S. M., & Barrera, A. L. (2023). Producción de hongo *Trichoderma Harzianum A-34* en sustratos sólidos alternativos. *Revista Científica Arbitrada Multidisciplinaria Pentaciencias*, 5(1), 259-267. <http://editorialalema.org/index.php/pentaciencias/article/view/440>
- Bhanu, G., Padmaja, V., & Siva Kiran, R. (2008). Statistical optimization of process variables for the large-scale production of *Metarhizium anisopliae*. *Bioresource Technology*, 99(6), 1530-1537. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.04.031>
- Companiononi, G. B., Domínguez, A. G., & García, V. R. (2019). *Trichoderma*: su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura. *Biotecnología Vegetal*, 19(4), 237-248. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2074-86472019000400237&script=sci\\_arttext](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2074-86472019000400237&script=sci_arttext)
- Chávez, M., Montaña, J. S., Martínez, M. M., Mercado, M., Rodríguez, M. X., & Quevedo, B. (2008). Efecto del sustrato y la exposición a la luz en la producción de una cepa de *Trichoderma sp.* *Universitas Scientiarum*, 13(3), 245-251. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0122-74832008000300003&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0122-74832008000300003&script=sci_arttext)
- Chen, H. (2013). *Biotechnology Principles of Solid-State Fermentation*. Springer, Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-6043-1\\_2](https://doi.org/10.1007/978-94-007-6043-1_2)
- Cruz, C. I., Zelaya, L. X., Sandoval, C. G., Santos, V. S, Rojas, A. E., Chávez, I. F., & Ruíz, R. S. (2021). Utilización de microorganismos para una agricultura sostenible en México:



- consideraciones y retos. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 12(5), 899-913.  
<https://doi.org/10.29312/remexca.v12i5.2905>
- Hernández, D. J., Ferrera, R., & Alarcón, A. (2019). Trichoderma: Importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences*, 35(1), 98-112.  
<http://dx.doi.org/10.4067/S0719-38902019005000205>
- Kobori, N. N., Mascarín, G. M., Jackson, M. A., & Schisler, D. A. (2015). Liquid culture production of microsclerotia and submerged conidia by *Trichoderma harzianum* active against damping-off disease caused by *Rhizoctonia solani*. *Fungal Biology*, 119(4), 179-190. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2014.12.005>
- Lorito, M., Woo, S., Harman, G., & Monte, E. (2010). Investigación traslacional sobre *Trichoderma*: De la ómina al campo. *Annual Review of Phytopathology*, 395-417.
- López, T. A., Páramo, L. A., & Delgado, H. D. (2022). Reproducción masiva de hongos *Trichoderma*s previamente identificados de suelos nicaragüenses en diferentes sustratos orgánicos. *Revista Nexa*, 35(3), 700-712. <https://doi.org/10.5377/nexo.v35i03.15000>
- Martínez, B., Infante, D., & Peteira, B. (2015). Taxonomía polifásica y variabilidad en el género *Trichoderma*. *Revista Protección Vegetal*, 11-22.
- Mesa, A. M., Marin, A., & Calle, J. (2019). Metabolitos secundarios en *Trichoderma* spp. y sus aplicaciones biotecnológicas agrícolas. *Actualidades Biológicas*, 41(111), 32-44.
- Michel, A. C., Otero, M. A., Martínez, R. D., Rodríguez, N. L., Ariza, R., & Barrios, A. (2008). Producción masiva de *Trichoderma harzianum* Rifai en diferentes sustratos orgánicos. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 14(2), 185-191.
- Nur, A. Z., & Noor, A. B. (2020). Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. *Annals of Agricultural Sciences*, 65(2), 168-178.
- Pérez, L. F., Ramírez, C. A., Martínez, M. M., & Algecira, N. (2002). Efecto de las variables, condiciones de la fermentación y del sustrato en la producción de *Trichoderma harzianum*. *Revista de Protección vegetal*, 17(2).
- Pineda, J. A., Benavides, E. N., Duarte, A. S., Burgos, C. A., Soto, C. P., Pineda, C. A., & Álvarez, S. E. (2017). Producción de biopreparados de *Trichoderma* spp: Una revisión. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 51(1), 47-52.



- Sánchez, M. I. (2009). *Aislamiento y caracterización molecular y agronómica de Trichoderma spp. nativos del norte de Tamaulipas* [Tesis de maestría, Instituto Politécnico Nacional]. Repositorio Institucional IPN.
- Tyskiewicz, R., Nowak, A., Ozimek, E., & Jaroszuk-Ścisel, J. (2022). Trichoderma: The Current Status of Its Application in Agriculture for the Biocontrol of Fungal Phytopathogens and Stimulation of Plant Growth. *International Journal of Molecular Sciences*, 2329.
- Vásquez, J. A. (2010). *Caracterización microbiológica y producción de Trichoderma harzianum y Trichoderma viride en cultivo artesanal*. Pontificia Universidad Javeriana.
- Vassilev, N., & De Oliveira, M. G. (2018). Solid-State Fermentation and PlantBeneficial Microorganisms. *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*, Elsevier, 435-450. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63990-5.00019-0>
- Viera, W., Tello, C., Martínez, A., Navia, D., Medina, L., Delgado, A., & Jackson, T. (2020). Control Biológico: Una herramienta para una agricultura sustentable, un punto de vista de sus beneficios en Ecuador. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 8(2), 128-149.
- Vuppala, G., Krishna, R., & Murthy, K. (2015). Fermentation industrial. *Research and Reviews: Journal of Microbiology and Biotechnology*, 4(1), 2320-3528.

