VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

Efecto de los metabolitos secretados por *Trichoderma atroviride* sobre la germinación de semillas de maíz, bajo estrés por sequía.

Effect of metabolites secreted by *Trichoderma atroviride* on the germination of maize seeds under drought stress.

María José Torres-Hernández[1], Alan Tafolla-Orozco[1], Rebeca Itzel Solorzano-Olivares[2] & Vianey Olmedo-Monfil[3]

1) Licenciatura en Biología Experimental, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato. 2) Licenciatura en Ingeniería en Biotecnología, División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, Campus Celaya-Salvatierra. 3) Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, CP. 36050. Guanajuato, Gto. México.

Resumen

El cambio climático ha incrementado la frecuencia e intensidad de las sequías, afectando el crecimiento y la productividad de cultivos como el maíz. Ante esta problemática, el uso de microorganismos benéficos como *Trichoderma atroviride* representa una alternativa para mejorar la tolerancia de las plantas al estrés hídrico. En este proyecto se evaluó el efecto de los sobrenadantes de este hongo endófito benéfico, sobre la germinación y el desarrollo radicular de plántulas de maíz, sometidas a estrés hídrico inducido con polietilenglicol. Los resultados mostraron una tendencia a favorecer el crecimiento, especialmente en el desarrollo radicular, lo que indica que los metabolitos producidos por *T. atroviride* podrían representar una estrategia biotecnológica para mejorar la tolerancia del maíz a condiciones de déficit hídrico.

Palabras clave: Cambio climático; estrés hídrico; *Trichoderma atroviride*; maíz (*Zea mays*); germinación; desarrollo radicular.

Introducción y Antecedentes

El cambio climático impone un reto importante, donde uno de sus impactos está asociado a periodos de sequía cada vez más prolongados. Esto afecta el rendimiento de cultivos e incluso puede ocasionar la pérdida de siembras (SADER, 2015).

El cultivo del maíz en México tiene un papel fundamental en la alimentación, sociedad, cultura y economía (SADER, 2021). En 2023, la producción nacional de grano alcanzó las 27,549,918 toneladas, lo que posicionó a México como el sexto productor mundial (SADER, 2024). No obstante, las condiciones de sequía registradas durante el ciclo Primavera-Verano de ese mismo año ocasionaron importantes afectaciones; de acuerdo con el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), 500,070.32 hectáreas fueron reportadas como superficie siniestrada a nivel nacional, impactando directamente la cosecha de dicho ciclo y representando un riesgo para la seguridad alimentaria del país (SIAP, 2024).

La sequía puede afectar distintas etapas del desarrollo del cultivo, particularmente la germinación. Entre sus principales efectos se encuentran la disminución del porcentaje e índice de germinación, reducción de la energía germinativa, menor crecimiento de la radícula y de la plúmula, disminución del número de raíces, reducción de la biomasa fresca y seca, así como menor vigor de las plántulas, menor contenido de clorofila y reducción de la capacidad fotosintética durante las etapas iniciales del desarrollo. Como consecuencia, se retrasa el establecimiento del cultivo y disminuye su potencial de crecimiento y rendimiento (Du et al., 2025).

El suelo alberga una gran diversidad de microorganismos que establecen interacciones benéficas con las plantas. Los hongos del género *Tichoderma* se han utilizado en los campos agrícolas para el control biológico contra un gran número de fitopatógenos. Diversas investigaciones reportaron su capacidad de inducir la defensa vegetal, la promoción del crecimiento y desarrollo radicular, así como la estimulación y síntesis de sustancias que contribuyen a fortalecer la fertilidad del suelo, mejorando los rendimientos de los cultivos asociados. Por

ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

ello, puede coadyuvar a disminuir los efectos negativos ocasionados por el uso de agroquímicos y fertilizantes sintéticos, contribuyendo a una producción más sostenible (Cortés-Hernández et al., 2023). En particular *T. atroviride* es una especie muy estudiada; se sabe que produce de manera natural fitohormonas, como las auxinas y citocininas, que son reguladores importantes del desarrollo vegetal (Contreras-Cornejo et al.,2024).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de los sobrenadantes obtenidos del cultivo de *T. atroviride* sobre la germinación de semillas de maíz bajo estrés hídrico alto-moderado inducido mediante polietilenglicol (PEG), generando un potencial hídrico de -0.7MPa o de -0.2 MPa, comparado con una disponibilidad plena de agua.

Materiales y métodos

Protocolo: Obtención de conidios

La cepa IMI206040 de *T. atroviride* fue sembrada en medio de PDA y se incubó a 28°C durante 7 días, hasta la obtención de conidios. Sobre la placa se añadieron 7 mL de solución osmótica **(**0.85 % NaCl, 0.01 % Tween 80), los conidios se recuperaron mediante un raspado superficial con un asa de Digralsky. Se tomó una alícuota para realizar el conteo celular en una cámara de Neubauer. Se inocularon $1x10^6$ conidios/mL en medio líquido Murashige & Skoog (MS; 4.33 g/L de sales MS, PhytoTechnology Laboratories, LLC, catálogo M524 y sacarosa al 3 %, pH 5.7) y se incubó el cultivo a 28°C con agitación constante a 200 rpm durante 60 h. Posteriormente se separó el micelio del sobrenadante mediante una filtración peliminar con tela, seguida de una filtración al vacío usando papel 3M. Se ajustó el pH del sobrenadante a 5.7 y se estreilizó en autoclave (121 °C y 15 psi, durante 15–20 min).

Protocolo: Tratamiento de las semillas

Las semillas de maíz (variedad JS-322, porporcionada por un productor local del estado de Jalisco) se desinfectaron en una solución de hipoclorito de sodio al 30%, utilizando un agitador magnético durante 10 minutos. Después, se realizaron 6 lavados con agua estéril en condiciones de asepsia. El letargo de las semillas se rompió en tres condiciones, permitiendo la imbibición (entrada de agua a la semilla), con: **1)** el sobrenadante concentrado durante 20 h; **2)** con el sobrenadante diluido al 25% durante 20 h; y **3)** haciendo la imbibición con estéril durante 20 h y posteriormente incubando 4h con el sobrenadante de *T. atroviride,* probando tres diluciones (25, 15 y 10%). Después de la imbibición, las semillas se colocaron sobre papel grado alimenticio estéril, que fue enrollado e introducido en bolsas plásticas, a la cuales se les añadieron 25 mL de polietilenglicol 6000 (PEG) al 20%, 12% o agua, según el tratamiento correspondiente. Los rollos de papel cpn las semillas se incubaron en posición vertical, en oscuridad, a temperatura ambiente por 6 días y, finalmente, se midió la longitud de la raíz principal y el número de raíces secundarias. La longitud de la raíz principal se determinó usando el programa ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, MD, EE. UU) y los datos se analizaron con GraphPad Prism version 8.0.2 for Windows (GraphPad Software, San Diego, California, USA). Se usaron 10 semillas por cada tratamiento.

Resultados y discusión

Al analizar el crecimiento radicular de las plántulas de maíz después de 6 días de incubación, siempre observamos una mayor longitud de raíz en las plántulas del control, incubadas con agua, en comparación con aquellas incubadas con PEG. Esta diferencia indica que el tratamiento logró generar condiciones de estrés hídrico similares a la sequía, debido a la disminución en la disponibilidad de agua para la semilla. Como consecuencia, el desarrollo radicular se vio afectado, lo cual coincide con lo reportado por Kim y Lee (2023), quienes describen que el estrés hídrico limita el crecimiento inicial y el desarrollo radicular del maíz.

VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

Efecto del sobrenadante del cultivo de T. atroviride sobre el desarrollo inicial de plántulas de maíz bajo estrés hídrico.

Como primer ensayo, se evaluó el efecto sobre la germinación ante la exposición al sobrenadante durante todo el tiempo de la imbibición. Para ello, las semillas se mantuvieron en sobrenadante concentrado (100%) y posteriormente, para la germinación, fueron expuestas a la condición de déficit hídrico (-0.7MPa). Como se muestra en la Figura 1, la exposición al sobrenadante concentrado durante la imbibición no produjo un efecto benéfico, incluso se observó un menor crecimiento. La apariencia de las plántulas señala un efecto negativo, lo que indica que la exposición al sobrenadante concentrado no mejora el crecimiento inicial del maíz bajo las condiciones evaluadas.

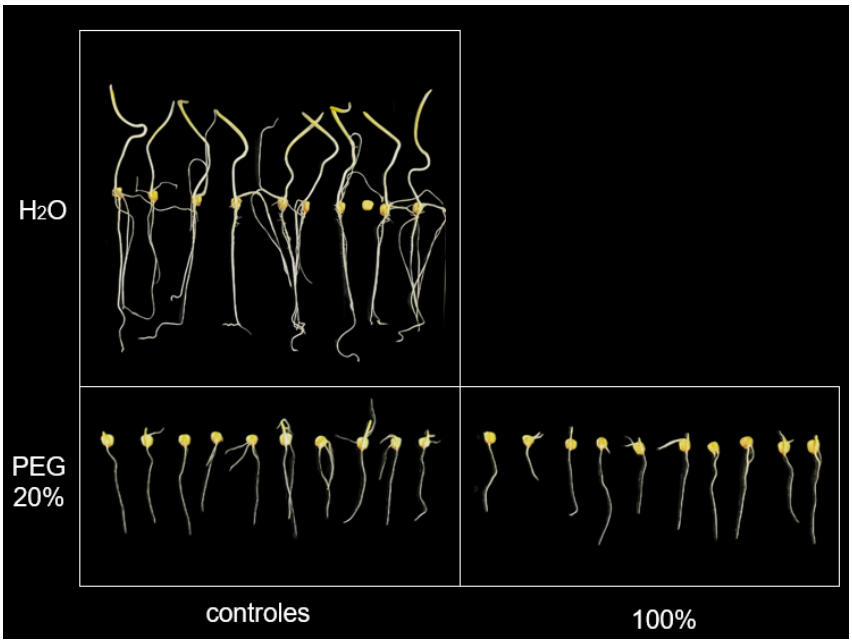


Figura 1. Germinación de semillas de maíz tratadas con sobrenadante concentrado de T. atroviride.

Se planteó un segundo ensayo con el objetivo de evaluar si una menor concentración del sobrenadante podría mejorar la respuesta de las plantas. En este caso la imbibición se hizo con el sobrenadante diluido al 25%. También decidimos disminur la intensidad del estrés a -0.2MPa.

Analizando la Figura 2 observamos lo esperado para las condiciones control, con agua las plántulas presentaron un desarrollo vigoroso y bajo condiciones de estrés hídrico hubo una disminución clara en su crecimiento. Al comparar las plántulas del tratamiento con sobrenadante al 25%, bajo estrés hídrico, nuevamente se observó una menor longitud de raíces principales y cantidad de raíces secundarias, en comparación con lo observado para la condición control con PEG. Es interesante mencionar que las plántulas expuestas al sobrenadante al 25% mostraron un ligero incremento en el desarrollo del tejido aéreo, lo cual podría indicar que los metabolitos presentes en el sobrenadante influyen en la asignación de recursos durante el desarrollo inicial de las plántulas, promoviendo preferentemente el crecimiento del tejido aéreo, sobre el desarrollo del sistema radicular.

VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

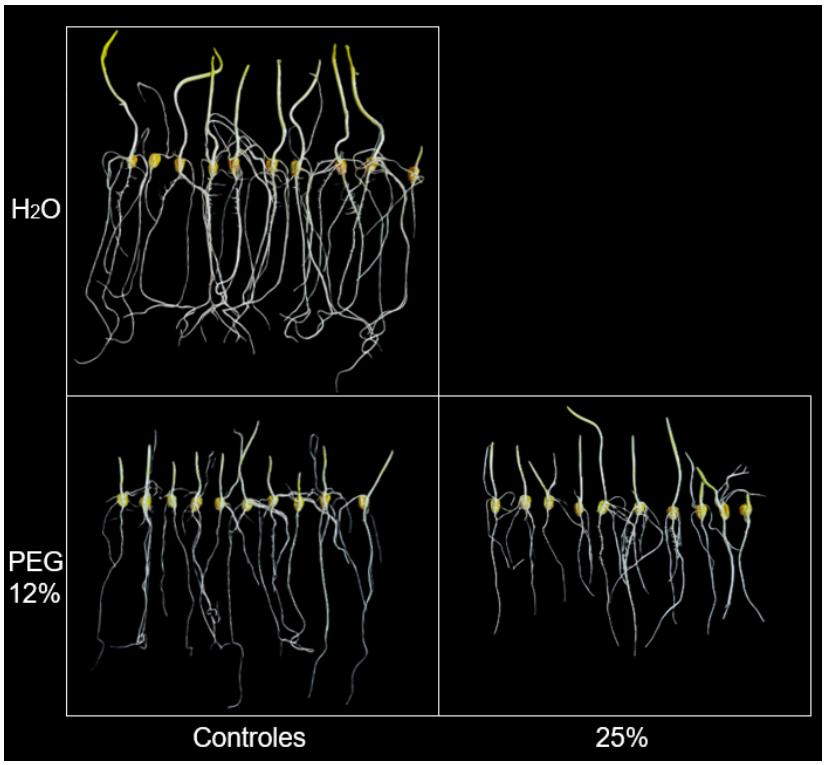


Figura 2. *Germinación de semillas de maíz expuestas todo el tiempo con sobrenadante al 25% de T. atroviride.*

Durante la germinación del maíz, la imbibición funciona como una señal de estrés, que activa la propia maquinaria hormonal del embrión para romper la latencia. Esta señalización involucra a las citocininas, cuyos niveles se modifican de manera dinámica conforme avanza el proceso germinativo. Se ha reportado que, tras la imbibición, ocurre un incremento transitorio de las formas activas de citocinina, coincidiendo con la emergencia de la radícula y el establecimiento inicial de la raíz principal (Stirk et al., 2012). Una vez superada esta fase, la señalización hormonal se reorienta hacia las auxinas, cuya actividad predomina en las etapas posteriores del desarrollo, favoreciendo la elongación del coleóptilo y el establecimiento del tejido aéreo por encima del crecimiento radicular (Liu et al., 2013). Esta secuencia sugiere que existe una ventana temporal acotada, inmediatamente después de la imbibición, en la que las citocininas endógenas favorecen preferentemente el desarrollo de la raíz, antes de que las auxinas tomen el papel dominante.

Los resultados obtenidos en los experimentos previos condujeron a un replanteamiento de la metodología. Con la idea de que los sobrenadantes de *T. atroviride* contienen compuestos como auxinas y citocininas, y con los datos que indican que las semillas de maíz responden a su propia señalización hormonal para romper la latencia, decidimos llevar a cabo la imbibición únicamente con agua y evaluar el efecto de la exposición de 4 horas con sobrenadante a concentraciones de 25, 15 y 10%, para posteriormente exponer al estrés hídrico inducido con PEG al 12%, con el objetivo de determinar si una exposición corta al sobrenadante era suficiente para promover el desarrollo inicial de las plántulas.

Efecto de exposición corta al sobrenadante de *T. atroviride* sobre el desarrollo inicial de plántulas de maíz bajo estrés hídrico.

Bajo estas condiciones observamos una mejora en las plántulas obtenidas de semillas expuestas a los sobrenadantes de *T. atroviride*. Tal como se muestra en la Figura 3, las plántulas obtenidas de las semillas tratadas con sobrenadante de *T. atroviride* presentaron un mayor desarrollo radicular en comparación con el

VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

control de estrés. El tratamiento con el sobrenadante al 10% presentó la respuesta más favorable entre las concentraciones evaluadas. En este tratamiento las raíces mostraron una mayor longitud y un crecimiento más uniforme en comparación con las dosis probadas al 25% y 15%. Aunque el desarrollo radicular no alcanzó el observado en el control con agua, los resultados sugieren que la concentración del 10% favorece una mejor respuesta de las plántulas, bajo condiciones de estrés hídrico moderado.

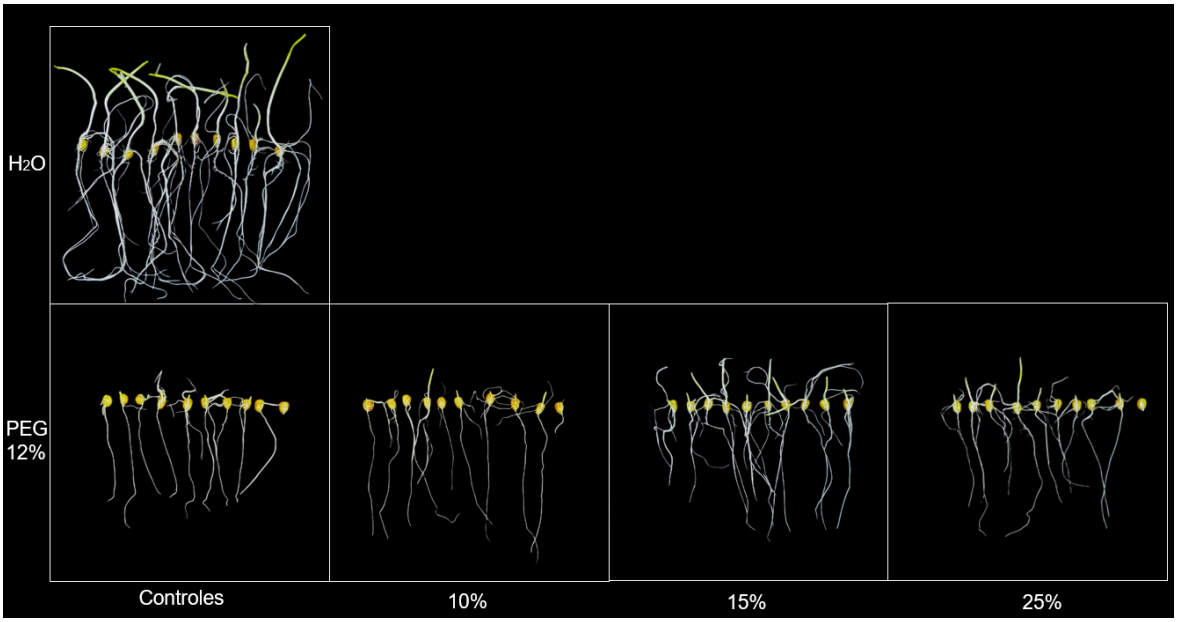


Figura 3. *Germinación de semillas de maíz tratadas con sobrenadante en distintas concentraciones de T. atroviride. T. atroviride.*

Tras evaluar el efecto de las diferentes concentraciones del sobrenadante de *T. atroviride* sobre la longitud de la raíz principal de plántulas de maíz sometidas a estrés hídrico, se realizó el análisis estadístico correspondiente con el fin de identificar diferencias significativas entre los tratamientos. Los resultados se representan en la Figura 4, permitiendo comparar la respuesta de cada tratamiento y visualizar el comportamiento del crecimiento radicular bajo las condiciones experimentales evaluadas.

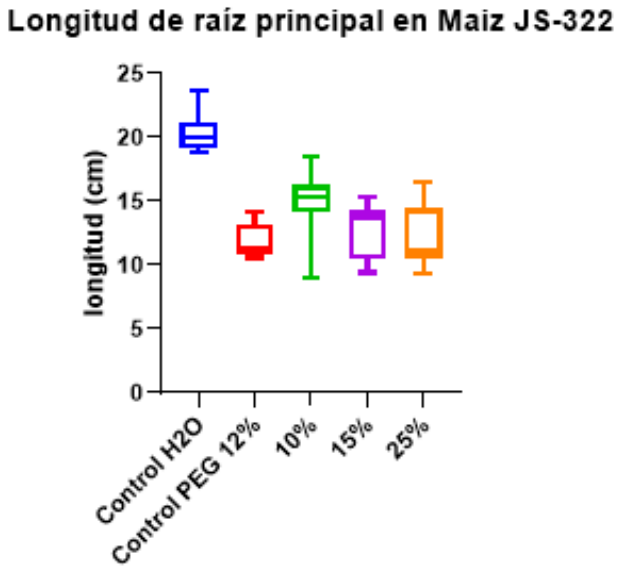


Figura 4. *Comparación de la longitud de la raíz principal de plántulas de maíz tratadas con sobrenadante de T. atroviride bajo estrés hídrico. Resultados de una réplica biológica n=10*
Fuente: Elaboración propia con GraphPad Prism version 8.0.2 for Windows (GraphPad Software, San Diego, California, USA).

La longitud de la raíz principal presentó variaciones entre los tratamientos evaluados. Como se evidenció en la fotohgrafías, en comparación con el control con agua, el tratamiento con PEG provocó una disminución significativa del crecimiento radicular. La aplicación del sobrenadante de *T. atroviride* favoreció la recuperación del crecimiento de la raíz principal bajo condiciones de estrés hídrico. Entre las concentraciones evaluadas, la condición al 10 % mostró el mejor desempeño, al presentar plántulas con la mayor longitud radicular y diferencias significativas con respecto al tratamiento con PEG. De manera similar, el sobrenadante al 25 % también mostró diferencias significativas respecto al control con PEG, mientras que las plantas expuestas al sobrenadante al 15 % presentaron un comportamiento estadísticamente similar al tratamiento con PEG. Sin embargo, la comparación entre las tres concentraciones del sobrenadante no evidenció diferencias significativas, lo que indica que es necesario llevar a cabo más experimentos donde se modifiquen las dosis para determinar si hay una mejor condición para proteger y/o estimular la germinación bajo estrés hídrico en maíz.

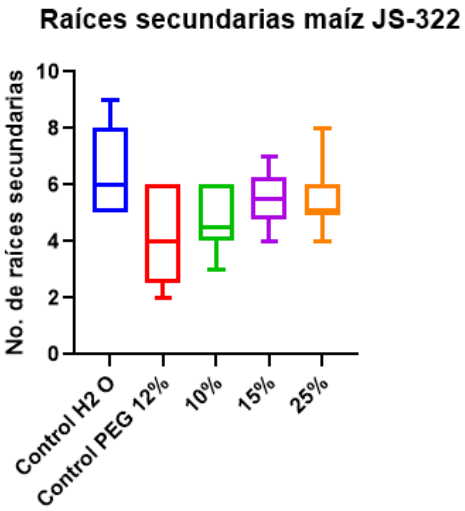


Figura 5. *Número de raíces secundarias en plántulas de maíz tratadas con sobrenadantes de T. atroviride a diferentes concentraciones bajo estrés hídrico. Resultados de una réplica biológica n=10*
Fuente: Elaboración propia con GraphPad Prism version 8.0.2 for Windows (GraphPad Software, San Diego, California, USA).

Con respecto al número de raíces secundarias, graficado en la Figura 5, se presentó una notable disminución en las plántulas obtenidas de semillas sometidas a estrés hídrico, al compararlas con el control en agua, lo cual reafirma que la sequía genera un impacto negativo en el desarrollo radicular durante la germinación. Al evaluar el efecto de los tratamientos, las plántulas tratadas con el sobrenadante al 15% y 25% mitigaron el impacto del estrés hídrico, con valores superiores de raíces secundarias. Esto sugiere que los metabolitos bioactivos presentes en los sobrenadantes de *T. atroviride,* que toleran el tratamiento térmico empleado, contribuyen a mantener la formación de raíces y el desarrollo de ramificaciones, aún en condiciones desfavorables de disponibilidad hídrica.

En conjunto, los resultados obtenidos muestran que el efecto del sobrenadante en diferentes dosis fue distinto si evaluamos longitud de la raíz principal o la formación de raíces secundarias; el efecto no fue proporcional a la concentración empleada. Dado que las tres diluiciones de sobrenadante empleado provienen de un mismo cultivo de *T. atroviride*, se podría explicar el efecto observado considerando que la respuesta de la plántula depende del balance entre sus propias hormonas y las fitohormonas presentes en el sobrenadante, más que de la dosis absoluta aplicada. En maíz, se ha demostrado que auxinas y citocininas actúan de manera antagónica sobre la arquitectura radicular, y que este antagonismo depende de la concentración y de la proporción entre ambas hormonas, de tal forma que un mismo cambio de dosis puede afectar de manera distinta, e incluso no proporcional, la elongación de la raíz principal y la formación de raíces laterales (Rivas et al., 2022). Bajo esta perspectiva, las diluciones al 10, 15 y 25 % probablemente no representan un simple gradiente de concentración, sino que podrían generar distintas proporciones entre los compuestos (fitohormonas) presentes en el sobrenadante con las propias fitohormonas vegetales, lo que ayudaría a explicar por qué la respuesta observada en longitud de raíz principal y en número de raíces secundarias no fue proporcional a la dilución empleada.

Aunque los resultados muestran que el sobrenadante de *T. atroviride* favoreció el desarrollo radicular bajo limitación de agua, este trabajo no permite identificar los mecanismos responsables de dicha respuesta. En este sentido, la caracterización química del sobrenadante y la incorporación de variables fisiológicas y bioquímicas representan un paso importante para relacionar la composición de los metabolitos con el efecto observado. En conjunto, los hallazgos obtenidos respaldan el potencial del sobrenadante de *T. atroviride* como una alternativa promisoria para mitigar el estrés hídrico durante las etapas iniciales del desarrollo del maíz, al tiempo que

establecen una base para investigaciones orientadas a comprender los procesos que sustentan esta interacción.

Conclusión

Los metabolitos presentes en el sobrenadante de *T. atroviride* contribuyen a favorecer el crecimiento radicular de las plántulas bajo condiciones de estrés hídrico. La concentración y tiempo de aplicación de los sobrenadantes son parámetros importantes en el efecto generado. Es necesario ampliar estos estudios mediante la evaluación de otras concentraciones y tiempos de exposición, e incorporando análisis fisiológicos, bioquímicos y moleculares que permitan comprender con mayor precisión los mecanismos involucrados en la mitigación del estrés hídrico y fortalecer el potencial de esta estrategia para su aplicación en una agricultura más sostenible.

Referencias

Contreras-Cornejo, H.A., Orozco-Granados, O., Ramírez-Ordorica, A., García-Juárez, P., López-Bucio, J. & Macías-Rodríguez, L. (2024). Light and mycelial injury influence volatile and non-volatile metabolites and biocontrol properties of *Trichoderma atroviride*. *Journal of Fungi*. (22) https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2022.100511.

Cortés-Hernández, F.C, Alvarado-Castillo, G., & Sánchez-Viveros, G. (2023). *Trichoderma* spp., una alternativa para la agricultura sostenible: Una revisión. *Revista Colombiana de Biotecnología*, *25*(2). https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v25n2.111384

Du, W., Zhang, F., Zhang, L., Hu, M., Tian, H., Hao, Y., Ding, S., & Zhang, D. (2025). Comprehensive evaluation and screening of drought resistance in maize at germination and seedling stages. *Frontiers in Plant Science*. (16). https://doi.org/10.3389/fpls.2025.1672228

Kim, K., & Lee, B. (2023). Effects of climate change and drought tolerance on maize growth. *Plants*. *12*(20). https://doi.org/10.3390/plants12203548

Liu, X., Zhang, H., Zhao, Y., Feng, Z., Li, Q., Yang, H. Q., Luan, S., Li, J., & He, Z. H. (2013). Auxin controls seed dormancy through stimulation of abscisic acid signaling by inducing ARF-mediated ABI3 activation in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(38). https://doi.org/10.1073/pnas.1304651110

Rivas, M. Á., Friero, I., Alarcón, M. V., & Salguero, J. (2022). Auxin-Cytokinin Balance Shapes Maize Root Architecture by Controlling Primary Root Elongation and Lateral Root Development. *Frontiers in Plant Science*. (13). https://doi.org/10.3389/fpls.2022.836592

Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural [SADER]. (2015). El cambio climático afecta al campo ¿cómo enfrentarlo? Gobierno de México. https://www.gob.mx/agricultura/articulos/el-cambio-climatico-afecta-al-campo-como-enfrentarlo

Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural [SADER]. (2021). *La riqueza de México es el maíz*. Gobierno de México. https://www.gob.mx/agricultura/articulos/la-riqueza-de-mexico-es-el-maiz

Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural [SADER]. (2024). *Día Nacional del Maíz*. Gobierno de México. https://www.gob.mx/agricultura/articulos/dia-nacional-del-maiz-379031

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP]. (2024). *Anuario estadístico de la producción agrícola: Cierre de la producción agrícola 2023*. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. https://nube.agricultura.gob.mx/cierre_agricola/

Stirk, W. A., Václavíková, K., Novák, O., Gajdošová, S., Kotland, O., Motyka, V., Strnad, M., & van Staden, J. (2012). Involvement of cis-zeatin, dihydrozeatin, and aromatic cytokinins in germination and seedling establishment of maize, oats, and lucerne. *Journal of Plant Growth Regulation*. (31). https://doi.org/10.1007/s00344-011-9249-1

* Este trabajo fue realizado gracias al apoyo asignado al proyecto 029/2026, a cargo de la Dra. Vianey Olmedo-Monfil, dentro de la convocatoria CIIC 2026, emitida por la rectoría General de la Universidad de Guanajuto, a través de la Dirección de Apoyo a la Investigación y al Posgrado.