

## POTENCIAL BIOESTIMULANTE DE CEPAS MUTANTES DE *Trichoderma harzianum* EN TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.), CULTIVADO EN SUSTRATOS CON CARACTERÍSTICAS CONTRASTANTES

### BIOSTIMULANT POTENTIAL OF *Trichoderma harzianum* MUTANT STRAINS IN TOMATO (*Solanum lycopersicum* L.) GROWN ON SUBSTRATES WITH CONTRASTING CHARACTERISTICS

Georgina I. Rodríguez Muñoz<sup>1a</sup>, Erika Cañada Coyote<sup>1b</sup>, Cesar L. Aguirre Mancilla<sup>1c</sup>, Mariano Mendoza Elos<sup>1d</sup>, Leandris Argente Martínez<sup>2</sup> y Juan Gabriel Ramírez Pimentel<sup>1e\*</sup>

<sup>1a</sup> Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Roque, km 8 Carretera Celaya-Juventino Rosas, Celaya 38110, Guanajuato, México  
<https://orcid.org/0009-0003-6713-7896>

<sup>1b</sup> Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Roque, km 8 Carretera Celaya-Juventino Rosas, Celaya 38110, Guanajuato, México.  
<https://orcid.org/0000-0002-7332-1214>

<sup>1c</sup> Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Roque, km 8 Carretera Celaya-Juventino Rosas, Celaya 38110, Guanajuato, México  
<https://orcid.org/0000-0002-2024-8471>

<sup>1d</sup> Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Roque, km 8 Carretera Celaya-Juventino Rosas, Celaya 38110, Guanajuato, México  
<https://orcid.org/0000-0002-8862-5819>

<sup>1e</sup> Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Roque, km 8 Carretera Celaya-Juventino Rosas, Celaya 38110, Guanajuato, México  
<https://orcid.org/0000-0002-3467-7357>

<sup>2</sup> Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico Valle del Yaqui, Calle 600, Bloque 611, 85276 Bácum, Sonora, México  
<https://orcid.org/0000-0002-0353-2251>

\* Autor para correspondencia: [juan.rp1@roque.tecnm.mx](mailto:juan.rp1@roque.tecnm.mx)

### RESUMEN

El género *Trichoderma* comprende especies capaces de interactuar con plantas y sustratos, favorece procesos asociados con el crecimiento vegetal. El objetivo de este estudio fue evaluar la respuesta agronómica y el rendimiento de *S. lycopersicum*, cv. Saladette Toronto, inoculado con *T. harzianum* cepa nativa TH1TR01 y las cepas mutantes ThRM14, ThRM21 y ThRM24, cultivado en dos tamaños de partícula de sustrato (<4,0 mm y >4,1 mm). El experimento se estableció en invernadero bajo un diseño completamente al azar con arreglo trifactorial, cuatro repeticiones, cinco tratamientos de cepa, dos tamaños de partícula y seis cortes de cosecha. Se evaluaron peso de fruto, diámetros polar y ecuatorial, altura de planta, diámetro de tallo, número de hojas, número de flores, índice SPAD, humedad y temperatura del sustrato. El ANOVA trifactorial mostró efectos significativos de la cepa, el sustrato y los cortes para varias variables, así como interacciones específicas entre cepa y sustrato. Las comparaciones de medias mostraron que ThRM14 presentó los mayores valores de peso de fruto, diámetro polar y altura de planta, mientras que ThRM21 destacó en diámetro de tallo, número de

hojas, número de flores e índice SPAD. En conjunto, los resultados indican respuestas diferenciales de las cepas según la variable agronómica y la condición del sustrato.

**Palabras clave:** Bioinsumos, bioestimulación vegetal, tamaño de partícula, respuesta agronómica.

## ABSTRACT

*Trichoderma* comprises species capable of interacting with plants and substrates and promoting processes associated with plant growth. The objective of this study was to evaluate the agronomic response and yield of *S. lycopersicum*, cv. Saladette Toronto, inoculated with *T. harzianum*, native strain TH1TR01 and mutant strains ThRM14, ThRM21, and ThRM24, grown in two substrate particle sizes (<4.0 mm and >4.1 mm). The experiment was conducted under greenhouse conditions using a completely randomized design with a three-factor arrangement, four replications, five strain treatments, two particle sizes, and six harvest events. Fruit weight, polar and equatorial diameters, plant height, stem diameter, number of leaves, number of flowers, SPAD index, substrate moisture, and substrate temperature were evaluated. The three-way ANOVA showed significant effects of strain, substrate, and harvest event for several variables, as well as specific strain × substrate interactions. Mean comparisons showed that ThRM14 had the highest fruit weight, polar diameter, and plant height, whereas ThRM21 stood out for stem diameter, number of leaves, number of flowers, and SPAD index. Overall, the results indicate differential responses among strains depending on the agronomic variable and substrate condition.

**Keywords:** Bioinputs, plant biostimulation, particle size, agronomical response.

## INTRODUCCIÓN

*Trichoderma harzianum* es una especie de interés agrícola por su capacidad de establecer interacciones con plantas y microorganismos del suelo o sustrato y colonizar diversos nichos (Xie et al., 2023); su capacidad endofítica le permite integrarse al holobionte vegetal, y establecer asociaciones estables con las plantas (Hang et al., 2022). Se ha descrito su participación en procesos relacionados con el biocontrol, la bioestimulación y la disponibilidad de nutrientes, aunque la magnitud de estos efectos depende de la cepa, la planta hospedera y las condiciones ambientales (Conte-Damiani et al., 2025; Contreras-Cornejo et al., 2024).

*T. harzianum* induce la síntesis de fitohormonas, y mejora la disponibilidad, captación y translocación de elementos biogénicos en la rizosfera (Woo et al., 2023). Su versatilidad metabólica le permite influir positivamente en la actividad enzimática, la eficiencia fotosintética y las vías de señalización bioquímica de la planta (Naranjo-Ortiz y Gabaldón, 2019; Woo et al., 2023; Conte-Damiani et al., 2025). La magnitud de estos procesos está condicionada por el estado físico, nutricional e hídrico del sustrato, los factores climáticos y el genotipo del cultivo (Sood et al., 2020). Como principio activo de bioinoculantes, *T. harzianum* promueve la estructuración de redes microbiológicas, la transformación de la materia orgánica y la adquisición de nutrientes (Abdullah et al.,

2021; Lanna et al., 2021; Salami et al., 2025). Su efectividad varía según factores ambientales, y diferencias genéticas entre cepas (Ayyandurai et al., 2021), su plasticidad biológica ha impulsado el desarrollo de estrategias biotecnológicas, como la obtención de cepas mutantes con capacidades funcionales optimizadas. Por ejemplo, la mejora en la solubilización de fósforo representa un mecanismo clave para incrementar la disponibilidad de nutrientes, y reducir la dependencia de plaguicidas sintéticos en hortalizas (Amaresh et al., 2019; Kredics et al., 2024; Hollman-Aragón et al., 2024).

Se han documentado efectos de la inoculación sobre germinación, crecimiento vegetativo y respuestas frente a condiciones de estrés (Halifu et al., 2019; Shao et al., 2025). Estas respuestas no son necesariamente equivalentes entre cepas, por lo que la selección del material biológico constituye un aspecto central para su utilización como bioinoculante.

La obtención de cepas mutantes mediante mutagénesis química permite generar variabilidad fenotípica que posteriormente puede evaluarse bajo condiciones agrícolas. Cañada-Coyote et al. (2021) reportaron que mutantes de *T. harzianum* mostraron diferencias en antagonismo frente a fitopatógenos, asimilación de fósforo y tolerancia al déficit hídrico en chile jalapeño. Estos antecedentes justifican evaluar experimentalmente cepas mutantes ya obtenidas, sin atribuirles mecanismos fisiológicos que no hayan sido medidos directamente.

El cultivo de *S. lycopersicum*, es una de las hortalizas de mayor impacto económico internacional y para su producción sostenible, *T. harzianum*, constituye una alternativa sustentable prometedora. Sin embargo, la efectividad de las interacciones biótico-abióticas del hongo depende estrechamente de las propiedades físicas del sustrato la porosidad, la aireación y la retención de agua, son factores que afectan el ambiente de la raíz y el desarrollo vegetal (Wang y Zhang, 2024). Por ello, comparar cepas bajo condiciones contrastantes de granulometría permite determinar si su respuesta agronómica es consistente o depende del ambiente de cultivolas.

El objetivo de este estudio fue evaluar la respuesta agronómica y el rendimiento de fruto de *S. lycopersicum* cv. Saladette Toronto, inoculado con la cepa nativa *T. harzianum* TH1TR01, y tres cepas mutantes ThRM14, ThRM21 y ThRM24, cultivadas en sustratos con dos granulometrías < 4 mm y > 5 mm, bajo condiciones de invernadero. La información generada permitió establecer la influencia de las características físicas del sustrato, sobre el desempeño biológico de *T. harzianum*, optimizando su integración como bioinoculante en la producción sostenible de *S. lycopersicum*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó durante el ciclo primavera-verano, (abril-agosto) de 2024 en el área experimental del Tecnológico Nacional de México, Campus Roque, ubicado en Carretera Celaya-Juventino Rosas km 8, Celaya, Guanajuato, México (20.5791° N, 100.8285° O), a una altitud aproximada de 1 770 m s. n. m. El área presenta un clima predominantemente semiseco y semicálido, la temperatura media oscila entre 20 a 25 °C, precipitación acumulada de 600 mm (CONAGUA, 2023).

### Material biológico

Las cepas de *T. harzianum* se obtuvieron de la colección de cultivos fúngicos de la división de estudios de posgrado e investigación del Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Roque. La cepa nativa TH1TR01, aislada de suelos de Guanajuato, cuya secuencia del espaciador transcrito interno (ITS) se encuentra depositada en la base de datos en la base de datos GenBank del National Center for Biotechnology Information (NCBI), bajo el número de acceso, MH282575, y tres cepas mutantes denominadas ThRM14, ThRM21, y ThRM24, se conservaron mediante criopreservación en glicerol 15–20% (v/v), a una temperatura de -80 °C dentro de un ultracongelador (Thermo scientific® modelo 931).

### Activación de cepas

Las cepas criopreservadas se reactivaron gradualmente en condiciones asépticas. Las suspensiones se homogeneizaron mediante agitación en vórtex durante 2 min y se realizaron diluciones seriadas en agua destilada estéril. Las alícuotas se sembraron por extensión superficial en cajas de Petri con agar papa dextrosa (PDA), ajustado a pH 5.8, y se incubaron a 29 °C. Posteriormente se realizaron subcultivos en medio selectivo para *Trichoderma* (TSM) y purificaciones en PDA suplementado con 0.1 % de ácido láctico. Los cultivos se mantuvieron con fotoperiodo de 12 h luz/12 h oscuridad. La concentración de conidios se determinó mediante cámara de Neubauer y se ajustó para las aplicaciones posteriores de acuerdo con la metodología descrita por (Covacevich y Consolo, 2014).

### Análisis físico y microbiológico del sustrato

Se preparó un volumen total de 500 kg de mezcla de sustrato para homogeneizar todos los tratamientos del ensayo, la mezcla con tezontle, turba, perlita y fibra de coco en proporción 4:1:1:1 (v/v). El material se solarizó durante 33 días, y se evaluó el pH  $6.58 \pm 0.12$ , conductividad eléctrica CE  $0.65 \text{ dS m}^{-1}$ . Después de la solarización, se tamizó para obtener dos tamaños de partículas: <4,0 mm y >4,1 mm; se evaluó por triplicado el espacio poroso total (EPT), la capacidad de aireación (CA) y la capacidad de retención de agua (CRA), mediante el método gravimétrico, adaptado para contenedores comerciales, utilizando bolsas de polietileno negro calibre 600, de volumen conocido ( $V = 10^{\circ}\text{L}$ ). Las muestras se saturaron con agua y posteriormente se dejaron drenar libremente a través de las perforaciones de drenaje de la bolsa, durante 60 min. Los parámetros se calcularon mediante las siguientes relaciones volumétricas (% v/v).

$$\text{Espacio Poroso Total (EPT, \%)} = \left( \frac{W_s - W_d}{V} \right) \times 100$$

$$\text{Capacidad de Retención de Agua (CRA, \%)} = \left( \frac{W_m - W_d}{V} \right) \times 100$$

$$\text{Capacidad de Aireación (CA, \%)} = \text{PT} - \text{CRA}$$

Donde  $W_s$  es el peso del contenedor con sustrato saturado (kg)–,  $W_m$  es el peso tras 60 min de drenaje libre (kg),  $W_d$  es el peso del sustrato seco tras secado en estufa a 105 °C–hasta peso constante (kg) y  $V$  es el volumen nominal del contenedor  $10 \text{ L} = 10 \text{ dm}^3$  (Velazco-Hernández et al., 2004; Wang y Zhang, 2024).

## Material vegetal y tratamientos

Se utilizaron plantas de tomate (*S. lycopersicum*), cv. Saladette Toronto. Las semillas se seleccionaron y sanitizaron con hipoclorito de sodio (NaOCl) al 2% durante 2 min, se enjuagaron con agua y se dejaron secar. La inoculación con las cepas se realizó en el semillero mediante una suspensión ajustada a  $1 \times 10^7$  conidios mL<sup>-1</sup>. A los 45 días después de la siembra, las plántulas se trasplantaron a contenedores de polietileno de 10 L, con una planta por contenedor. Después del trasplante se aplicaron 20 mL de suspensión de cada cepa a  $1 \times 10^9$  conidios mL<sup>-1</sup> en la zona cercana al tallo, con reinoculación cada tres semanas. El tratamiento control recibió el mismo manejo y volumen de agua destilada estéril, sin inóculo fúngico. Las plantas se mantuvieron en invernadero con temperatura promedio de 28 °C, humedad relativa aproximada de 60%, fotoperiodo de 12:12 h (luz:oscuridad) y pH del sustrato entre 5,9 y 6,5. El agua y la solución nutritiva se administraron en *drench*, y presentó las siguientes concentraciones (mg L<sup>-1</sup>): N (250), P (50), K (250), Ca (280), Mg (50), y S (180) como macronutrientes, y Fe (2), B (0.5), Mn (0.3), Cu (0.1) y Zn (0.2), como micronutrientes. Estos valores corresponden a una modificación de la solución Steiner estándar, empleada como referencia, con el fin de asegurar un suministro nutrimental balanceado, durante el ciclo del cultivo. La solución nutritiva se preparó en un tanque con capacidad de 250 L, y se distribuyó mediante un sistema de riego por goteo. La frecuencia de riego se controló mediante un temporizador digital industrial de 44 eventos y 2 canales (STEREN®), y se ajustó de acuerdo con la demanda hídrica del cultivo, incrementando el número de pulsos diarios durante los periodos de mayor temperatura ambiental, conforme a las condiciones climáticas predominantes.

## Variables evaluadas

Se analizaron 40 UE, de las cuales 20 UE correspondieron al sustrato con diámetro de partícula < 4,0 mm y 20 UE al sustrato > 4,1 mm, se evaluaron ocho unidades de observación (UO), inoculadas con cada una de las cepas de *Trichoderma* y el tratamiento control, de las cuales, cuatro fueron para sustrato < 4,0 mm, y cuatro para sustrato > 4,1 mm. Cada combinación factorial contó con cuatro repeticiones. La evaluación de variables de rendimiento y calidad de fruto maduros en estado rojo comercial (Grado 5–6, tabla de color USDA) se cosecharon individualmente en cada unidad experimental, y en cada uno de los seis cortes de cosecha. Para la evaluación morfológica, se seleccionaron al azar cuatro frutos por planta en cada corte ( $n = 20$  frutos por cepa). El peso de los frutos (PF), se evaluó con una balanza digital (Wellish®) y se expresó en gramos

(g). Las características morfológicas del fruto se evaluaron mediante la determinación del diámetro polar (DP cm), y diámetro ecuatorial (DE cm). El diámetro del tallo (DT cm) se midió en la zona basal de la planta, utilizando un calibrador vernier digital (Mikel's CVDm-6®). La altura de planta (AP cm), se midió con un flexómetro retráctil de 5 m. El número de hojas (NH), y el número de flores (NF), se determinaron mediante conteo directo. El contenido relativo de clorofila se estimó utilizando un medidor portátil SPAD-502 Plus (Konica Minolta, Tokio, Japón), y se expresó en unidades SPAD, las cuales constituyen un indicador indirecto de la concentración de clorofila foliar.

Las condiciones ambientales del invernadero se monitorearon continuamente, mediante un higrotermómetro digital con sensor (STEREN®), registrándose la temperatura y la humedad ambiental durante todo el periodo experimental. La evaluación de la temperatura (°C) y humedad (%) del sustrato, se incluyó como un factor de estudio. Las mediciones se tomaron a una profundidad constante de 10 cm en el centro del contenedor, mediante dos registros diarios (08:00 y 14:00 h), se registró con un sensor digital (Ubibot R5485 cloudforce®), las mediciones se realizaron en cada corte de cosecha de *S. lycopersicum*. Estos datos se integraron directamente al análisis de varianza (ANOVA) trifactorial, para determinar su efecto e interacción con los demás tratamientos evaluados

## Diseño experimental y Análisis estadístico

El experimento se estableció bajo un diseño completamente al azar con arreglo trifactorial. Los factores fueron: A, cepas de *T. harzianum* (TH1TR01, ThRM14, ThRM21, ThRM24 y control); B, tamaño de partícula del sustrato (<4,0 mm y >4,1 mm); y C, seis momentos de evaluación (corte de cosecha). Cada combinación factorial contó con cuatro repeticiones. Los seis cortes de cosecha se consideraron un factor de estudio y no como mediciones repetidas en el tiempo.

Cada combinación factorial contó con cuatro repeticiones, la UO estuvo conformada por ocho plantas, las cuales recibieron de manera independiente, una combinación específica de factores asignada.

Los datos obtenidos se analizaron mediante un ANOVA trifactorial, se evaluaron los efectos de los factores, y sus interacciones, con la finalidad de conocer el efecto de las diferentes cepas en los sustratos, con diferente tamaño de partícula en diferentes periodos de tiempo de la cosecha. Cuando se detectaron diferencias significativas, las medias se compararon mediante la prueba de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Asimismo, se aplicó un Análisis de Componentes Principales (PCA), sobre la matriz de datos estandarizada para identificar

los componentes de mayor contribución a la variabilidad total. Adicionalmente las cepas de *T. harzianum* se consideraron el factor biológico (análogo al genotipo), mientras que el tamaño de partícula del sustrato, y los períodos de cosecha representaron condiciones ambientales contrastantes. Por consiguiente, el modelo GGE/SREG se utilizó como herramienta multivariante exploratoria, para visualizar el comportamiento de las cepas de *T. harzianum*, y los patrones de interacción, complementando los análisis inferenciales. Se aplicó un análisis de correlación de Pearson ( $P \leq 0,05$ ), para examinar la interdependencia entre las variables agronómicas.

### RESULTADOS

El análisis de varianza trifactorial evidenció que los factores principales, cepas (C1) y cortes de cosecha (C2), afectaron de manera altamente significativa (), a todas las variables agronómicas

y microclimáticas evaluadas. Por su parte, el factor sustrato () tuvo un efecto significativo sobre el peso del fruto (PF), diámetro polar (DP), altura de planta (AP), número de hojas (NH) y número de flores (NF), sin influir en el diámetro del tallo (DT).

En cuanto a las interacciones, la combinación C1  $\times$  C2 resultó significativa para PF, DP, NH y NF, demostrando que la respuesta de las cepas dependió del corte de cosecha, mientras que C1  $\times$  S y C2  $\times$  S presentaron efectos específicos sobre la variable altura de planta, en C1  $\times$  S y sobre el PF, DP y la humedad del sustrato en C2  $\times$  S (Tablas 1A, 1B y 1C).

Para comprender de manera integral cómo estas variaciones observadas en el ANOVA estructuran el comportamiento global de las plantas y permiten discriminar el desempeño entre tratamientos, adicionalmente los datos se sometieron a un análisis de componentes principales, el cual, mostró que los dos primeros

**Tabla 1A. ANOVA trifactorial de variables de rendimiento y crecimiento.**  
**Table 1A. Three-factor ANOVA of yield and growth variables.**

| FV                        | GL | PF (F)   | DP (F)   | AP (F)   | DT (F)   | NH (F)     | NF (F)    |
|---------------------------|----|----------|----------|----------|----------|------------|-----------|
| C1                        | 4  | 44,90 ** | 27,77 ** | 85,44 ** | 16,74 ** | 141,34 **  | 49,54 **  |
| C2                        | 5  | 48,72 ** | 13,56 ** | 46,78 ** | 90,01 ** | 2624,32 ** | 306,83 ** |
| C1 $\times$ C2            | 20 | 3,14 **  | 2,85 **  | 1,05 ns  | 0,59 ns  | 10,83 **   | 3,99 **   |
| S                         | 1  | 47,00 ** | 49,66 ** | 19,77 ** | 4,75 *   | 63,06 **   | 64,06 **  |
| C1 $\times$ S             | 4  | 3,92 ns  | 0,64 ns  | 6,74 **  | 0,66 ns  | 11,92 **   | 3,29 ns   |
| C2 $\times$ S             | 5  | 9,89 **  | 5,89 **  | 0,68 ns  | 0,38 ns  | 1,49 ns    | 1,15 ns   |
| C1 $\times$ C2 $\times$ S | 20 | 0,83 ns  | 0,63 ns  | 0,30 ns  | 0,28 ns  | 1,80 ns    | 2,05 ns   |
| Error                     | —  | 9,12     | 0,31     | 48,52    | 0,05     | 1,02       | 1,27      |
| C.V. (%)                  | —  | 11,45    | 8,13     | 7,01     | 17,66    | 5,83       | 5,95      |

\*\*  $p < 0.001$ ; \*  $p < 0.05$ ; ns = no significativo. C1, cepas; C2, corte de cosecha; S, sustrato; FV, factor de variación; GL, grados de libertad; PF, peso de fruto; DP, diámetro polar; AP, altura de planta; DT, diámetro de tallo; NH, número de hojas; NF, número de flores.

**Tabla 1B. ANOVA trifactorial de variables fisiológicas y del sustrato.**  
**Table 1B. Three-factor ANOVA of physiological and substrate variables.**

| FV                        | SPAD (F) | HS (F)    | TS (F)   |
|---------------------------|----------|-----------|----------|
| C1                        | 30,00 ** | 19,70 **  | 8,33 **  |
| C2                        | 13,69 ** | 303,27 ** | 8,29 **  |
| C1 $\times$ C2            | 2,14 ns  | 4,08 **   | 2,72 ns  |
| S                         | 50,50 ** | 188,95 ** | 71,69 ** |
| C1 $\times$ S             | 2,27 ns  | 5,39 ns   | 5,15 ns  |
| C2 $\times$ S             | 3,05 ns  | 13,62 **  | 2,44 ns  |
| C1 $\times$ C2 $\times$ S | 1,22 ns  | 2,78 ns   | 1,72 ns  |
| Error                     | 6,90     | 3,62      | 0,48     |
| C.V. (%)                  | 5,95     | 3,86      | 2,29     |

\*\*  $p < 0.001$ ; \*  $p < 0.05$ ; ns = no significativo. C1, cepas; C2, corte de cosecha; S, sustrato; FV, factor de variación; GL, grados de libertad; HS, humedad de sustrato; T, temperatura



**Tabla 1C. Comparación de medias (Tukey,  $p \leq 0,05$ ) de las principales variables agronómicas y fisiológicas por cepa.****Table 1C. Mean comparison (Tukey's test,  $p \leq 0.05$ ) of the main agronomic and physiological variables by strain.**

| Cepas   | PF (g)  | DP (cm) | AP (cm)  | DT (cm) | NH      | NF      | SPAD    |
|---------|---------|---------|----------|---------|---------|---------|---------|
| ThRM14  | 96,60 a | 7,41 a  | 108,75 a | 1,39 b  | 17,70 b | 9,35 b  | 44,80 b |
| ThRM21  | 93,77 a | 7,08 b  | 106,46 a | 1,50 a  | 19,91 a | 10,75 a | 47,31 a |
| ThRM24  | 81,70 c | 6,73 b  | 93,46 c  | 1,37 b  | 16,00 c | 7,87 d  | 43,99 b |
| TH1TR01 | 86,70 b | 6,84 bc | 101,94 b | 1,19 c  | 17,71 b | 8,81 bc | 42,52 c |
| Control | 72,89 d | 6,28 d  | 86,71 d  | 1,18 c  | 15,42 d | 8,18 cd | 42,09 c |

Medias con la misma letra en la misma columna son estadísticamente iguales PF = peso de fruto; DP, diámetro polar; AP, altura de planta; DT, diámetro de tallo; NH, número de hojas; NF, número de flores; SPAD, índice relativo de clorofila.

componentes explicaron el 88,33% de la variación total de los datos, donde CP1 y CP2 contribuyeron con 70,27 y 18,09%, respectivamente. La distribución de los tratamientos evidenció una diferenciación multivariada, destacando la separación de ThRM21 y tratamiento control sobre el eje CP1, mientras que ThRM14, ThRM24 y Nativa presentaron posiciones intermedias dentro del plano factorial (Fig. 1). Estos resultados indican diferencias en el comportamiento conjunto de las variables evaluadas entre los tratamientos.

El ACP integrado por las variables de crecimiento, rendimiento y fisiológicas en *S. lycopersicum* explicó el 80,93% de la varianza total, mediante los primeros dos componentes (CP1 = 65,72% y CP2 = 15,21%) (Fig. 2). Esta representatividad confirma la capacidad del análisis multivariado para diferenciar el patrón morfofisiológico y productivo de la planta, entre los diferentes momentos de cosecha (Corte 1 a Corte 6). La distribución sobre el CP1 evidencia la transición ontogénica de las plantas, desde la fase inicial de desarrollo (Cortes 1 al 3) hacia la fase de máxima expresión acumulativa del rendimiento y biomasa (Cortes 4 al 6).

El análisis SREG para la variable número de hojas (NH) explicó el 99,73% de la variación total (Fig. 3). Se identificaron tres patrones de respuesta, donde la cepa mutante ThRM21 se asoció principalmente con los cortes cinco y seis, registrando el mayor número de hojas (19,9 hojas por planta), mostrando un mayor desarrollo foliar. La cepa nativa TH1TR01 y la mutante ThRM14 mostraron una respuesta intermedia (17,7 hojas por planta), mientras que ThRM24 y el testigo presentaron los menores valores, con promedios de (16,0 y 15,5 hojas por planta), respectivamente.

La longitud y dirección de los vectores representan la contribución y correlación de las

variables evaluadas, los puntos corresponden a la dispersión, y desempeño de los tratamientos cepas, cortes de cosecha, para la variable altura de planta (AP), el biplot SREG (Fig. 4) explicó el 97,91% de la variación total. La cepa mutante ThRM21 se asoció con los cortes, cinco y seis, registrando la mayor altura de planta (108,7 cm). La mutante ThRM14 mostró afinidad con los cortes dos y cuatro, presentando una altura promedio de 106,4 cm. La cepa nativa (TH1TR01) presentó un desempeño intermedio (101,9 cm), mientras que ThRM24 (93,1 cm) y el testigo (86,6 cm) registraron los menores valores.

Para la variable diámetro de tallo (DT), el biplot SREG (Fig. 5), explicó el 98,27% de la variación total. La cepa mutante ThRM21 se asoció con los cortes uno, cinco y seis, registrando el mayor diámetro de tallo (1,5 cm). La mutante ThRM14 mostró afinidad con los cortes dos y cuatro, mientras que ThRM24 se relacionó principalmente con el corte tres; ambas alcanzaron un diámetro promedio de 1,3 cm. En contraste, la cepa nativa TH1TR01 y el Control presentaron los menores valores, con un promedio de 1,1 cm.

El modelo SREG, SPAD, capturó el 96,01% de la variabilidad total de los datos, mediante los dos primeros componentes principales (Fig. 6). La mutante ThRM21 registró la mayor magnitud de respuesta asociada en el biplot (47,3 SPAD), exhibiendo una marcada afinidad y estabilidad a lo largo de la mayoría de los cortes de cosecha, a excepción del sexto corte. En dicho corte, la mutante ThRM24 mostró la mayor asociación específica con (43,9 SPAD), mientras que ThRM14 se relacionó estrechamente con el segundo corte (44,8 SPAD). En contraste, la cepa nativa TH1TR01 y el tratamiento control presentaron la menor afinidad en el biplot, registrando los valores más bajos, con (42,5 y 42,1 SPAD), respectivamente.

El tamaño de partícula del sustrato influyó significativamente ( $P \leq 0,05$ ) en la mayoría de las

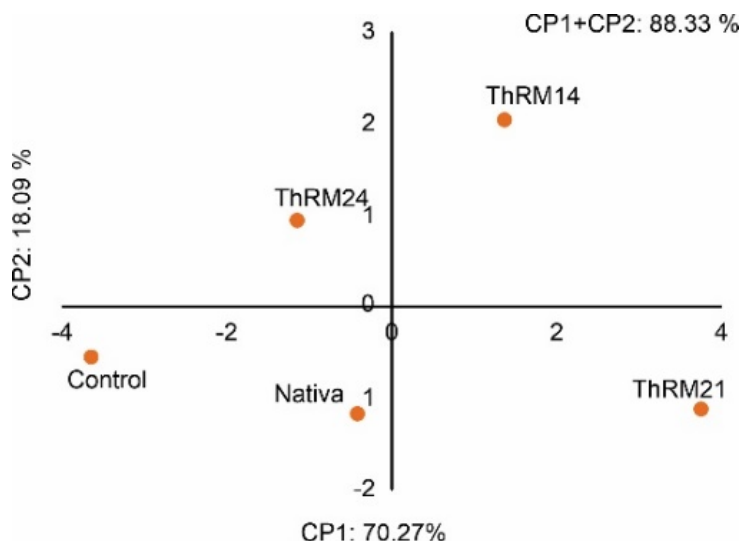


Fig. 1. ACP de las cepas evaluadas. Los puntos naranjas representan las puntuaciones de las cepas nativa, mutantes (ThRM14, ThRM21 y ThRM24), y Control, proyectadas sobre los componentes principales CP1 y CP2, que explicaron conjuntamente el 88,33% de la variación total.

Fig. 1. PCA of the strains evaluated. Orange points represent the scores of native and mutant strains (ThRM14, ThRM21, and ThRM24), and the Control, projected onto principal components PC1 and PC2, which jointly explained 88.33% of the total variation.

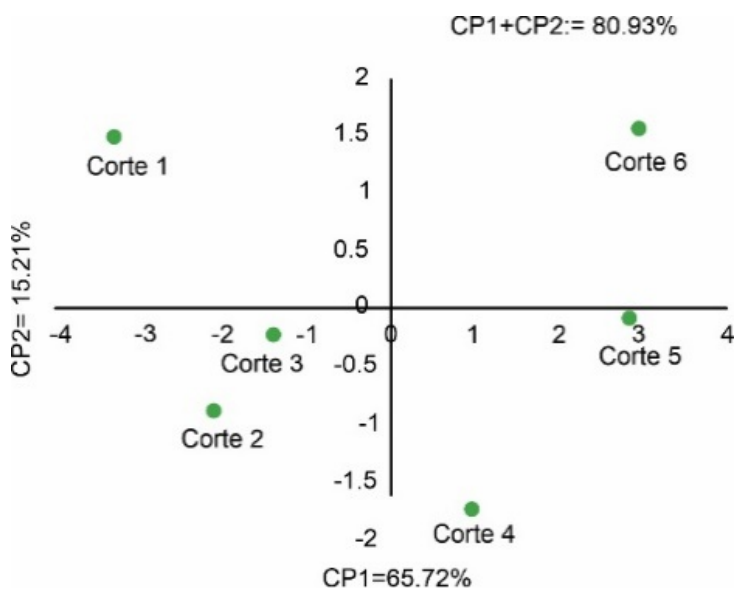
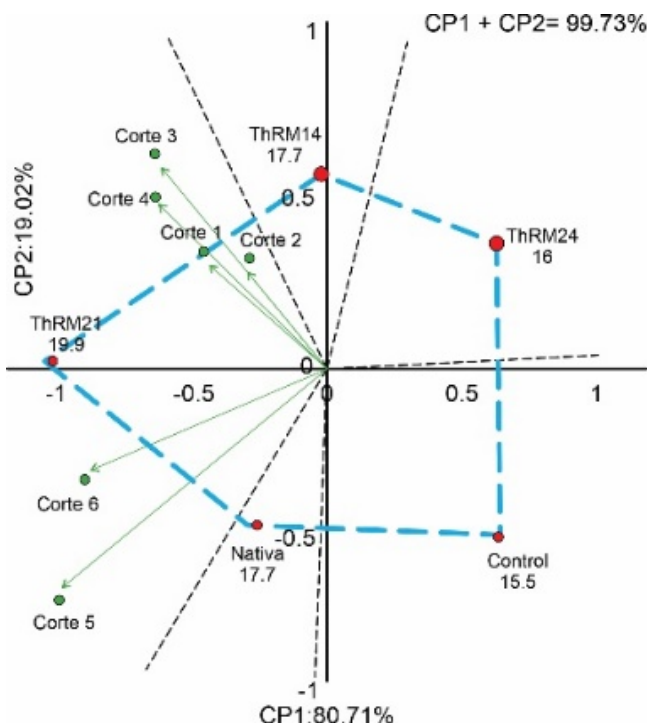


Fig. 2. Biplot ACP para los diferentes momentos de corte de cosecha (Corte 1 a Corte 6). Los círculos verdes representan las puntuaciones de cada corte proyectado sobre CP1 = (65,72% y CP2 = 15,21%), los cuales explican en conjunto el 80,93% de la variación total.

Fig. 2. PCA biplot of the different harvest events (Event 1 to 6). Green circles represent the scores for each harvest event projected onto PC1 (65.72%) and PC2 (15.21%), which jointly explained 80.93% of the total variation.



**Fig. 3.** Biplot SREG, basado en datos estandarizados de la variable número de hojas. Los puntos representan las medias de las cepas; los vectores (flechas) representan los cortes de cosecha; la longitud del vector indica la magnitud de su contribución, y el ángulo entre ellos refleja la correlación entre variables ( correlación positiva, correlación negativa). Las elipses delimitan el intervalo de confianza del alrededor del centroide de cada grupo, la cepa mutante ThRM21 tuvo una mayor asociación con los cortes 5 y 6.

**Fig. 3.** SREG biplot based on standardized data for the number of leaves. Points represent strain means, while vectors (arrows) represent harvest events. Vector length indicates the magnitude of their contribution, and the angle between vectors reflects the correlation between variables ( $< 90^\circ$  = positive correlation;  $180^\circ$  = negative correlation). Ellipses represent the 95% confidence interval around the centroid of each group. The mutant strain ThRM21 showed a stronger association with harvest events 5 and 6.

variables agronómicas evaluadas. El sustrato con partículas  $> 4,1$  mm, presentó mayores valores de peso de fruto individual (PF g), diámetro polar (DP cm), altura de planta (AP cm), diámetro de tallo (DT cm), número de hojas (NH), número de flores (NF), y SPAD, en comparación con el sustrato de partículas  $< 4,0$  mm, que registró mayor humedad y temperatura. El diámetro ecuatorial del fruto no se vio afectado de manera significativa ( $P \leq 0,05$ ) por el tamaño de partícula del sustrato, registrando valores estadísticamente equivalentes entre las granulometrías evaluadas. En las demás variables se observaron diferencias asociadas con las propiedades físicas del sustrato, ya que la fracción  $> 4,1$  mm presentó un mayor espacio poroso total (75%), y una mayor

capacidad de aireación (45%), en comparación con la fracción  $< 4,0$  mm (73 y 33%, respectivamente). Aunque el sustrato fino presentó una mayor capacidad de retención de agua (40%) respecto al sustrato grueso (29%), la mayor proporción de poros de aireación en las partículas  $> 4,1$  mm, pudo favorecer una adecuada disponibilidad de oxígeno en la zona radical, promoviendo mejores condiciones para el desarrollo vegetativo y reproductivo del cultivo.

#### Correlación entre variables

El análisis de correlación de Pearson (Tabla 2) mostró relaciones estadísticamente significativas, entre las variables agronómicas evaluadas. El peso del fruto (PF) se correlacionó de forma



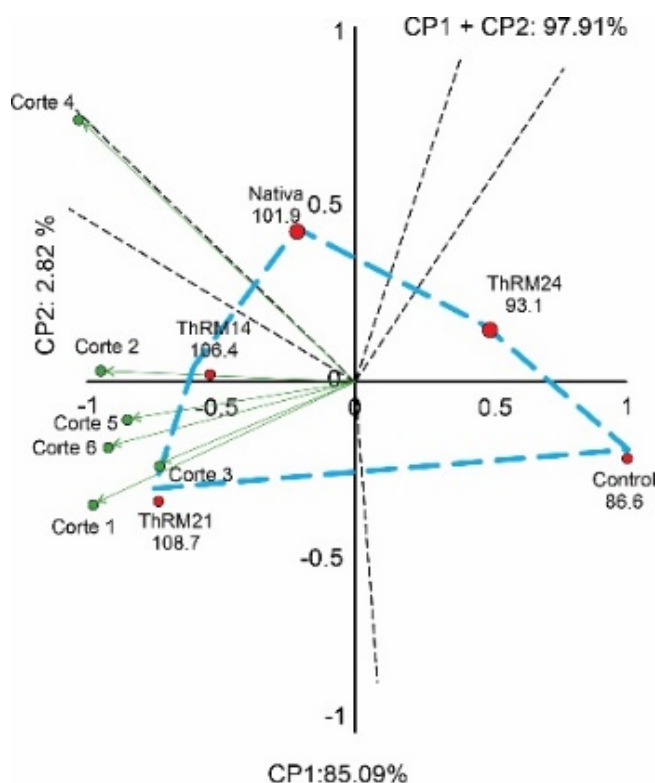


Fig. 4. Biplot SREG de las cepas y los cortes de cosecha para altura de planta. Las cepas ubicadas en los vértices presentan el mayor rendimiento en los ambientes comprendidos. ThRM21 tuvo una asociación en el sector de los cortes de cosecha 1, 3, 5 y 6, y ThRM14 para los cortes 2 y 4.

Fig. 4. SREG biplot of the strains and harvest events for plant height. Strains located at the vertices showed the highest performance in the corresponding environments. ThRM21 was associated with harvest events 1, 3, 5, and 6, whereas ThRM14 was associated with harvest events 2 and 4.

estadísticamente significativa ( $P \leq 0,01$ ) y positiva con el número de hojas ( $r = 0,59$ ), diámetro del fruto ( $r = 0,56$ ), altura de planta ( $r = 0,55$ ), diámetro del tallo ( $r = 0,49$ ) y SPAD ( $r = 0,40$ ). Por su parte, la mayor asociación positiva se registró entre el diámetro del tallo y el número de hojas ( $r = 0,75$ ,  $P \leq 0,01$ ). El número de flores (NF) presentó una correlación negativa leve con PF ( $r = 0,13$ ,  $P \leq 0,05$ ), y DT ( $r = 0,16$ ,  $P \leq 0,05$ ), pero positiva con el número de hojas ( $r = 0,36$ ,  $P \leq 0,01$ ).

En conjunto estos resultados sugieren, que la inoculación con las cepas de *T. harzianum* promueve un desarrollo vegetativo armónico y un mayor contenido relativo de clorofila, lo cual impacta de manera directa y positiva en la acumulación de biomasa (PF), aunque la dinámica reproductiva (NF) responde de forma independiente a la vigorosidad vegetativa de la planta.

La inoculación con la cepa mutante ThRM21 de *T. harzianum*, promovió una mayor respuesta

agronómica en *S. lycopersicum*, con un desempeño superior en plantas cultivadas en sustrato con tamaño de partícula  $> 4,1$  mm. En este tratamiento, se observaron incrementos del 10,8% en peso de fruto (PF), 7,7% en diámetro polar (DP), 4,2% en altura de planta (AP), 4,6% en diámetro de tallo (DT), 6,5% en número de hojas (NH), 13,7% en número de flores (NF) y 5,7% en el contenido relativo de clorofila (SPAD), en comparación con el sustrato  $< 4,0$  mm. En contraste, el diámetro ecuatorial del fruto (DE) no presentó diferencias significativas entre granulometrías ( $P > 0,05$ ) (Tabla 3).

## DISCUSIÓN

Los resultados muestran que una mayor granulometría del sustrato favoreció el crecimiento vegetativo, la acumulación de biomasa reproductiva y el estado fisiológico de las plantas, lo que sugiere una respuesta asociada

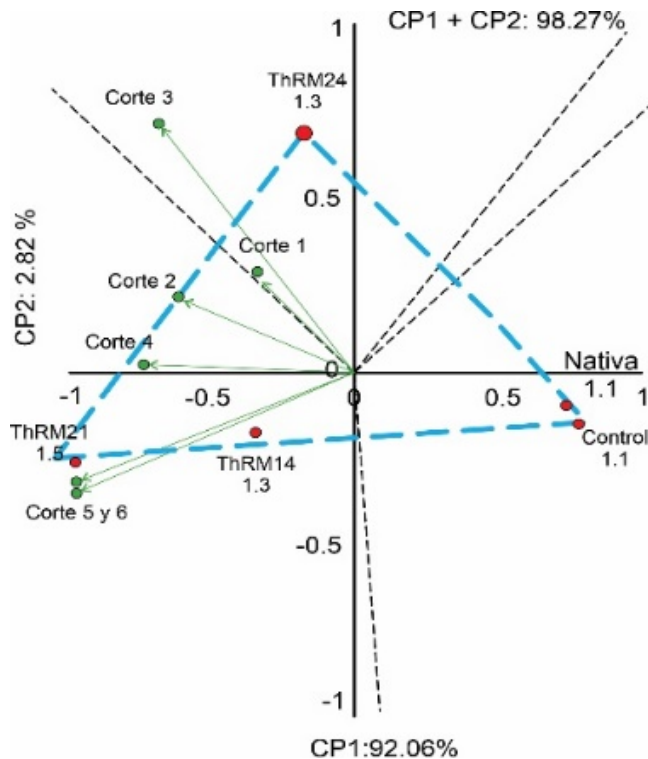


Fig. 5. Biplot SREG, de interacción entre cepas de *T. harzianum*, y cortes de cosecha para diámetro de tallo. La mutante ThRM21 presenta una mayor asociación con los cortes 5 y 6, indicando una mayor contribución a la expresión de esta variable.

Fig. 5. SREG biplot showing the interaction between *T. harzianum* strains and harvest events for stem diameter. The mutant strain ThRM21 showed a stronger association with harvest events 5 and 6, indicating a greater contribution to the expression of this variable.

a una mayor capacidad de aireación (CA) y una óptima relación aire-agua en la rizósfera. Esto concuerda con lo observado por Pérez-Corral et al. (2022) en plantas de *S. lycopersicum* cultivadas en sustratos inertes. Asimismo, la mayor respuesta obtenida con la granulometría  $> 4,1$  mm, valida los hallazgos de Gómez-Merino et al. (2020), quienes reportaron que fracciones gruesas del sustrato, favorecen el desarrollo aeróbico del sistema radicular en solanáceas cultivadas en contenedor. Aunque las estrategias biotecnológicas permiten potenciar los atributos de las cepas nativas de *Trichoderma*, su desempeño agronómico sigue condicionado por las propiedades físicas del medio de crecimiento (Holman et al., 2026).

La reducción en el tamaño de partícula disminuye la CA e incrementa la retención de agua y la conductividad térmica, reduciendo la amplitud térmica del sustrato (Carro-Huerga et al., 2021). De acuerdo con Wang y Zhang (2024), una elevada capacidad de retención de agua

desplaza el espacio poroso disponible, para el intercambio gaseoso, limitando la respiración radical y los procesos metabólicos de la planta. Por el contrario, un entorno con porosidad adecuada ( $> 4,1$  mm), optimiza el contacto raíz-sustrato, y el flujo de oxígeno, condicionando positivamente la respiración, la absorción de nutrientes, y la actividad metabólica general (Poveda y Eugui, 2022). Woo et al. (2023), reportan que la arquitectura de poros del sustrato proporciona un microambiente propicio, que maximiza la colonización radical y la interacción benéfica con *T. harzianum*.

La influencia observada en las cepas mutantes respecto a la cepa nativa (TH1TR01) se atribuye a la variabilidad genética inducida, mediante mutagénesis aleatoria con etil metanosulfonato (EMS). Este mutágeno químico, genera principalmente transiciones incrementando la diversidad alélica funcional. Como consecuencia, se originan variantes

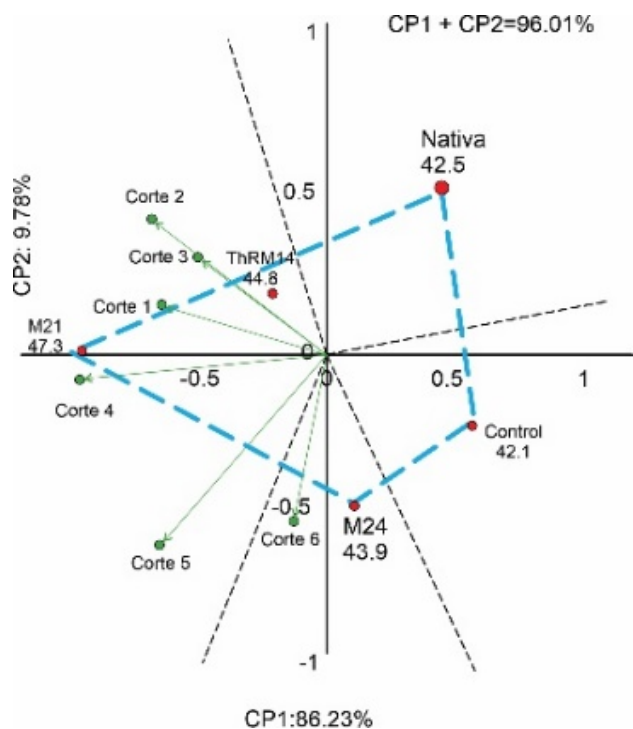


Fig. 6. Biplot SREG, de la interacción entre cepas de *T. harzianum* y cortes de cosecha para índice SPAD. La mutante ThRM21 presenta una mayor asociación con los cortes 4 y 5, indicando una mayor contribución a la expresión de esta variable.

Fig. 6. SREG biplot showing the interaction between *T. harzianum* strains and harvest events for SPAD index. The mutant strain ThRM21 showed a stronger association with harvest events 4 and 5, indicating a greater contribution to the expression of this variable.

Tabla 2. Correlación de Pearson entre variables agronómicas de *S. lycopersicum* en respuesta a la inoculación con cepas nativa y mutantes de *T. harzianum*.

Table 2. Pearson correlation among agronomic variables of *S. lycopersicum* in response to inoculation with native and mutant strains of *T. harzianum*.

|      | PF     | DP     | DE    | AP     | DT     | NH     | NF   | SPAD |
|------|--------|--------|-------|--------|--------|--------|------|------|
| PF   | 1,0    |        |       |        |        |        |      |      |
| DP   | 0,56** | 1,0    |       |        |        |        |      |      |
| DE   | 0,15*  | 0,08   | 1,0   |        |        |        |      |      |
| AP   | 0,55** | 0,32** | 0,19* | 1,0    |        |        |      |      |
| DT   | 0,49** | 0,05*  | 0,17* | 0,53** | 1,0    |        |      |      |
| NH   | 0,59** | 0,10   | 0,20* | 0,61** | 0,75** | 1,0    |      |      |
| NF   | -0,13* | 0,16*  | -0,05 | 0,03   | -0,16* | 0,36** | 1,0  |      |
| SPAD | 0,40** | 0,18*  | 0,01  | 0,48** | 0,46** | 0,36** | 0,10 | 1,0  |

\*Indica significancia estadística  $P \leq 0,05$  y \*\*  $P \leq 0,01$  PF, peso de fruto; DP, diámetro polar; DE, diámetro ecuatorial; AP, altura de planta; DT, diámetro de tallo; NH, número de hojas; NF, número de flores; SPAD, contenido relativo de clorofila.

**Tabla 3. Comparación de medias (Tukey,  $P \leq 0,05$ ) de variables agronómicas de *S. lycopersicum*, inoculado con cepa nativa TH1TR01, mutantes ThRM14, ThRM21 y ThRM24 de *T. harzianum* y tratamiento control en sustratos con tamaños de partícula  $< 4,0$  mm y  $> 4,1$  mm.**

**Table 3. Mean comparison (Tukey's test,  $p \leq 0.05$ ) of agronomic variables in *S. lycopersicum* inoculated with the native strain TH1TR01 and the mutant strains ThRM14, ThRM21, and ThRM24 of *T. harzianum*, and the control treatment, grown in substrates with particle sizes  $< 4.0$  mm and  $> 4.1$  mm.**

| Sustrato   | PFR (g) | DP (cm) | DE (cm) | AP (cm)  | DT (cm) | NH      | NF     | SPAD    |
|------------|---------|---------|---------|----------|---------|---------|--------|---------|
| $> 4.1$ mm | 90,71 a | 7,13 a  | 4,91 a  | 101,41 a | 1,36 a  | 17,91 a | 9,57 a | 45,36 a |
| $< 4.0$ mm | 81,89 b | 6,62 b  | 5,20 a  | 97,32 b  | 1,30 b  | 16,82 b | 8,42 b | 42,93 b |

Medias con la misma letra dentro de una columna, no difieren estadísticamente, según la prueba de Tukey. PF: peso de fruto; DP: diámetro polar; DE: diámetro ecuatorial; AP: altura de planta; DT: diámetro de tallo; NH: número de hojas; NF: número de flores; SPAD: contenido relativo de clorofila.

con alteraciones en la regulación génica, la síntesis de enzimas hidrolíticas, la producción de metabolitos secundarios, la tolerancia al estrés y la competencia rizosférica, factores clave para la promoción del crecimiento vegetal y el biocontrol. Como señalan Holman et al. (2026), la mutagénesis por EMS constituye una herramienta eficiente para el mejoramiento de hongos filamentosos al generar una amplia diversidad fenotípica evaluable, especialmente en taxones donde la edición genómica dirigida aún presenta restricciones técnicas. Dado que el éxito biotecnológico radica en la selección de mutantes con estabilidad fenotípica y desempeño validado en condiciones de cultivo, la mutagénesis representa una herramienta eficaz, para modificar los caracteres involucrados en la interacción endofítica o simbiótica (Mendoza et al., 2020).

La respuesta promovida por ThRM21, se fundamenta en la matriz de correlación (Tabla 2), donde las variables morfoestructurales, altura de planta ( $r = 0,55$ ;  $P \leq 0,01$ ), diámetro de tallo ( $r = 0,49$ ;  $P \leq 0,01$ ), y número de hojas ( $r = 0,59$ ;  $P \leq 0,01$ ), mostraron una sinergia positiva con el peso del fruto. Asimismo, la asociación entre SPAD y el PF ( $r = 0,40$ ;  $P \leq 0,01$ ), sugiere que ThRM21 optimiza la actividad fotosintética y la distribución de fotoasimilados hacia los órganos de demanda.

En contraste, la respuesta de las cepas mutantes ThRM14 y ThRM24 evidencia modificaciones en componentes específicos del rendimiento, sustentado en el *trade-off* negativo entre el número y el peso de frutos ( $r = 0,13$ ;  $P \leq 0,05$ ), y en la modulación del diámetro del fruto ( $r = 0,56$ ;  $P \leq 0,01$ ). Esto reconfirma que la mutagénesis aleatoria genera tanto ventajas fisiológicas integrales como adaptaciones cuantitativas parciales.

La respuesta de ThRM21 podría estar relacionado con la capacidad bioestimulante

de cepas de *T. harzianum*, cuyas mutantes hiperproductoras destacan por una mayor solubilización de fósforo, capacidad antagónica y síntesis de metabolitos secundarios, que estimulan el desarrollo radical y la acumulación de biomasa en solanáceas (Mendoza-Mendoza et al., 2020; Cañada-Coyote et al., 2021). Este estímulo, se vincula con un incremento en la actividad microbiana de la rizósfera, el reciclaje de nutrientes (Contreras-Cornejo et al., 2024) y la producción de fitohormonas y compuestos análogos a auxinas (Hollman-Aragón et al., 2024), los cuales optimizan la tasa de crecimiento, desde etapas tempranas (Illescas et al., 2021).

Asimismo, diversos estudios confirman, que los biofertilizantes a base de *Trichoderma* spp, reestructuran las comunidades microbianas del suelo e inducen cambios en el metabolismo secundario de las plantas (Singh et al., 2020; Shao et al., 2025), mejorando el diámetro del tallo, el área foliar y el contenido de clorofila en *S. lycopersicum* (Syaifudin et al., 2023); su aplicación podría reducir la dependencia de insumos sintéticos y avanzar hacia sistemas de producción hortícola sostenibles (Meyer et al., 2022; Holman et al., 2026).

## CONCLUSIÓN

La inoculación con cepas de *T. harzianum* produjo respuestas diferenciales en las variables agronómicas y fisiológicas del *S. lycopersicum* bajo los dos tamaños de partícula evaluados. ThRM14 presentó los mayores valores de peso de fruto, diámetro polar y altura de planta, mientras que ThRM21 destacó en diámetro de tallo, número de hojas, número de flores e índice SPAD. El sustrato  $> 4,1$  mm mostró mayor capacidad de aireación y, en términos generales, mayores medias en varias variables de crecimiento y rendimiento. El ANOVA trifactorial y la prueba de Tukey

sustentan estas diferencias, mientras que el ACP, GGE/SREG y las correlaciones de Pearson aportan evidencia exploratoria sobre los patrones de asociación. No se infieren mecanismos de colonización, regulación hormonal o absorción nutrimental porque no fueron evaluados directamente.

### AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo otorgado por la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación, anteriormente Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el financiamiento de la beca doctoral [349203] y al Tecnológico Nacional de México, campus Roque por facilitar el desarrollo del estudio.

### Conflicto de interés

Los autores declaran que no hay conflicto de intereses.

### Contribución de autores

Georgina I. Rodríguez Muñoz: participación en la revisión bibliográfica, elaboración de la metodología, discusión de los resultados y revisión y aprobación de la versión final del artículo; Erika Cañada Coyote: participación en la revisión bibliográfica, elaboración de la metodología, discusión de los resultados y revisión y aprobación de la versión final del artículo; Cesar L. Aguirre Mancilla: participación en la revisión bibliográfica, elaboración de la metodología, discusión de los resultados y revisión y aprobación de la versión final del artículo; Leandris Argente Martínez: participación en la revisión bibliográfica, discusión de los resultados y revisión y aprobación de la versión final del artículo; Mariano Mendoza Elos: participación en la elaboración de la metodología, discusión de los resultados y revisión y aprobación de la versión final del artículo; Gabriel Ramírez Pimentel: participación en la revisión bibliográfica, elaboración de la metodología, discusión de los resultados y revisión y aprobación de la versión final del artículo.

### Declaración sobre el uso de la IA generativa

Herramienta de IA: ChatGPT (GPT-5.6 Luna). Versión exacta utilizada en esta revisión: GPT-5.6 Luna, en la sección de resumen e introducción. Apoyo en la mejora de fluidez, gramática, coherencia, uniformidad. Los datos experimentales, valores estadísticos, tablas y conclusiones se basaron en los datos proporcionados por los autores y fueron revisados para mantener su correspondencia con la evidencia disponible.

### LITERATURA CITADA

- Abdullah, N., F. Doni, M. Mispan, M. Saiman, Y. Yusuf, M. Oke, and N. Suhaimi. 2021. Harnessing *Trichoderma* in agriculture for productivity and sustainability. *Agronomy* 11:2559. <https://doi.org/10.3390/agronomy11122559>.
- Amareh, Y.S., G. Chennappa, S. Avinash, M.K. Nai and M.Y. Sreenivasa. 2019. *Trichoderma*- A new strategy in combating agricultura problems. In *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*, Elsevier. Pp:235-244. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818258-1.00015-7>
- Ayyandurai, M., R. Akila, K. Manonmani, M. Theradimani and S. Vellaikumar. 2021. Phytostimulation and growth promotion activities of *Trichoderma* spp. on groundnut (*Arachis hypogaea* L.) crop. *Journal of Applied and Natural Science* 13(4), 1172-1179. <https://doi.org/10.31018/jans.v13i4.2936>
- Cañada-Coyote, E., J. Ramírez-Pimentel, C. Aguirre-Mancilla, J. Raya-Pérez, G. Acosta-García, and G. Iturriaga. 2021. *Trichoderma harzianum* mutants enhance antagonism against phytopathogenic fungi, phosphorus assimilation, and drought tolerance in Jalapeño pepper plants. *Chilean Journal of Agricultural Research* 81(3): 270-280. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392021000300270>
- Carro-Huerga, G., S. Mayo-Prieto, Á. Rodríguez-González, S. Álvarez-García, S. Gutiérrez, and P. A. Casquero. 2021. The influence of temperature on the growth, sporulation, colonization, and survival of *Trichoderma* spp. in grapevine pruning wounds. *Agronomy* 11(9): 1771. <https://doi.org/10.3390/agronomy11091771>
- CONAGUA (Comisión Nacional del Agua). 2023. Normales climatológicas por estado: Guanajuato (Estación Celaya). Servicio Meteorológico Nacional (SMN), CONAGUA, Ciudad de México, México. <https://smn.conagua.gob.mx>
- Conte-Damiani, E., E.J. da Rosa, G. Rieth-Silvestrini, D. da Silva-Motta, C. Fernandes de Oliveira, C. Cocco, G.F. Pauletti, W.P. Silvestre, T. Dal Magro, and J. Schwambach. 2025. Can *Trichoderma* spp. contribute to the bioremediation and biostimulation of plants in soil contaminated with herbicides? *ACS Omega* 10 (2): 2243-2252. <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c09197>



- Contreras-Cornejo, A., M. Schmoll, A. Esquivel-Ayala, E. González-Esquivel, V. Rocha-Ramírez, and J. Larsen. 2024. Mechanisms for plant growth promotion activated by *Trichoderma* in natural and managed terrestrial ecosystems. *Microbiological Research* 281: 127621. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2024.127621>
- Covacevich, F., and V.F. Consolo. 2014. Manual de protocolos, herramientas para el estudio y manipulación de hongos micorrízicos arbusculares y *Trichoderma*. 115 p. Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata, Argentina. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/108183>
- Gómez-Merino, F. C., L. Trejo-Téllez, and M. Morales-Gómez. 2020. Particle size distribution of organic substrates influences physical properties and early growth of tomato seedlings. *South African Journal of Botany* 131, 412-420.
- Halifu, S., X. Deng, X. Song, and R. Song. 2019. Effects of two *Trichoderma* strains on plant growth, rhizosphere soil nutrients, and fungal community of *Pinus sylvestris* var. *mongolica* Annual Seedlings. *Forests* 10(9): 758. <https://doi.org/10.3390/f10090758>
- Hang, X., L. Meng, Y. Ou, C. Shao, W. Xiong, N. Zhang, H. Liu, R. Li, Q. Shen, and G.A. Kowalchuk. 2022. *Trichoderma*-amended biofertilizer stimulates soil resident *Aspergillus* population for joint plant growth promotion. *npj Biofilms Microbiomes* 8: 57. <https://doi.org/10.1038/s41522-022-00321-z>
- Holman, D.E., A.I. Abrahams, K. Hattingh, C. Saulse, M. Hess, D. Stegmann, M. Roomanay, G. Basson, A. Klein, and M. Keyster. 2026. Ethyl methanesulfonate mutagenesis in fungi: genetic mechanisms, applications, and implications for agricultural biotechnology. *Archives of Microbiology* 208: 341. <https://doi.org/10.1007/s00203-026-04858-x>
- Hollman-Aragón, J., M. Romero-Bastidas, P. Arce-Amezquita, and A. Palacios-Espinosa. 2024. Efecto bioestimulante de cepas nativas de *Trichoderma* en la germinación de cuatro variedades de albahaca. *Revista Mexicana de Fitopatología* 42(1): 3. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2303-1>
- Illescas, M., A. Pedrero-Méndez, M. Pitorini-Bovolini, R. Hermosa and E. Monte. 2021. Phytohormone production profiles in *Trichoderma* species and their relationship to wheat plant responses to water stress. *Pathogens* 10: 991. <https://doi.org/10.3390/pathogens10080991>
- Kredics, L., R. Büchner, D. Balázs, H. Allaga, O. Kedves, G. Racić, A. Varga, V.D. Nagy, C. Vágvolgyi, and G. Sipos. 2024. Recent advances in the use of *Trichoderma*-containing multicomponent microbial inoculants for pathogen control and plant growth promotion. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 40: 162. <https://doi.org/10.1007/s11274-024-03965-5>
- Lanna, A.C., M.A. Silva, A.S. Moreira, A.S. Nascente, and M.C. de Filippi. 2021. Improved nutrient uptake in three *Crotalaria* species inoculated with multifunctional microorganisms. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 25(7): 460–465. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v25n7p460-465>
- Mendoza-Mendoza, A., R. Hermosa, and E. Monte. 2020. *Trichoderma*: From basic biology to biotechnology applications. *Fungal Biology Reviews* 34(4): 150–165. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2020.08.001>
- Meyer, M.C., S.M. Mazaro, and J.C. Silva (eds.). 2022. *Trichoderma: su uso en la agricultura*. 547 p. Embrapa, Brasília, Brasil.
- Naranjo-Ortiz, M. A., T. Gabaldon. 2019. Fungal evolution: major ecological adaptations and evolutionary transitions. *Biol. Rev.* 94: 1443–1476. doi: 10.1111/brv.12510
- Pérez-Corral, R. A., F. Delgado-Vargas, and J. A. Carrillo-Fasio. 2022. Response of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) to inoculation with *Trichoderma* strains under greenhouse conditions. *Mexican Journal of Phytopathology* 40(2), 215-230.
- Poveda, J., and D. Eugui. 2022. Combined use of *Trichoderma* and beneficial bacteria (mainly *Bacillus* and *Pseudomonas*): Development of microbial synergistic bio-inoculants in sustainable agriculture. *Biological Control* 176: 105100. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2022.105100>
- Salami, S., D. Koolivand, O. Eini, and R. Hemmati. 2025. Effectiveness of *Trichoderma harzianum* in mitigating Beet curly top Iran virus infection in tomato plants. *Scientific Reports* 15: 11377. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-96068-6>
- Shao, Y., S. Gu, H. Peng, L. Zhang, S. Li, R.L. Berendsen, T. Yang, C. Dong, Z. Wei, Y. Xu, and Q. Shen. 2025. Synergic interactions between *Trichoderma* and the soil microbiomes improve plant iron availability and growth. *npj Biofilms and Microbiomes* 11: 56. <https://doi.org/10.1038/s41522-025-00684-z>

- Singh, D.P., V. Singh, R. Shukla, P. Sahu, R. Prabha, A. Gupta, B.K. Sarma, and V.K. Gupta. 2020. Stage-dependent concomitant microbial fortification improves soil nutrient status, plant growth, antioxidative defense system and gene expression in rice. *Microbiological Research* 239: 126538. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126538>
- Sood, M., D. Kapoor, V. Kumar, M.S. Sheteiwy, M. Ramakrishnan, M. Landi, and A. Sharma. 2020. *Trichoderma*: The secrets of a multitasking biocontrol agent. *Plants* 9(6): 762. <https://doi.org/10.3390/plants9060762>
- Syaifudin, E.A., T. Subiono, N. Akhsan, S. Sila, and K. Kristiadi. 2023. Effect of application of plant growth promoting rhizobacteria and *Trichoderma* sp. on *Fusarium* wilt disease in shallots (*Allium cepa* L.). *Integrated Agriculture Journal* 11(2): 175–184.
- Wang, N.N., and T.B. Zhang. 2024. Soil pore structure and its research methods: A review. *Soil and Water Research* 19(1): 1–24. <https://doi.org/10.17221/64/2023-SWR>
- Woo, S.L., R. Hermosa, M. Lorito, and E. Monte. 2023. *Trichoderma*: A multipurpose, plant-beneficial microorganism for eco-sustainable agriculture. *Nature Reviews Microbiology* 21(5): 312–326. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00819-5>
- Xie, P., S. Yang, X. Liu, T. Zhang, X. Zhao, T. Wen, J. Zhang, C. Xue, Q. Shen, and J. Yuan. 2023. Learning from seed microbes: *Trichoderma* coating intervenes in rhizosphere microbiome assembly. *Microbiology Spectrum* 11(2): e03097-22. <https://doi.org/10.1128/spectrum.03097-22>