

DOI: <https://doi.org/10.56712/latam.v5i6.3131>

Evaluación de residuos agroindustriales para la producción de esporas de hongos filamentosos

Evaluation of agroindustrial waste for the production of spores of filamentous fungi

Jacquelin León Báez

Jacquelin.lb@teziutlan.tecnm.mx
<https://orcid.org/0000-0003-4588-6127>
Instituto Tecnológico Superior de Teziutlán
Puebla – México

Lucila Márquez Pallares

lucila.mp@apizaco.tecnm.mx
<https://orcid.org/0000-0003-2422-7800>
Instituto Tecnológico de Apizaco
Tlaxcala – México

Dulce María Hernández Degante

dulce.hd@teziutlan.tecnm.mx
<https://orcid.org/00009-0004-1178-7619>
Instituto Tecnológico Superior de Teziutlán
Puebla – México

Artículo recibido: 28 de noviembre de 2024. Aceptado para publicación: 12 de diciembre de 2024.
Conflictos de Interés: Ninguno que declarar.

Resumen


Se evaluaron cuatro tipos de residuos agroindustriales, olote de maíz, raquis de plátano, cascarilla de café y tazole, recolectados en la zona de Teziutlán y alrededores con el fin de producir esporas de hongos filamentosos, los cuales representan una alternativa viable para el control de plagas. Se utilizó una cepa (J800) de hongo filamentososo de la colección de cepas del Laboratorio de Microbiología del Instituto Tecnológico Superior de Teziutlán el cual fue aislado de suelos de la región. Se incubaron durante 12 días en los cuales se analizaron cualitativamente para observar el comportamiento del micelio. Se tomaron lecturas de esporas en los días 7, 10 y 12 para conocer el crecimiento. El raquis de plátano humectado con medio papa dextrosa fue el sustrato que tuvo una mayor producción con una cantidad de $1.64E+09$ de esporas por gramo.

Palabras clave: trichoderma, fermentación sólida, bioinsecticida

Abstract

Four types of agro-industrial waste were evaluated: olote de maíz, raquis de platan, cascarilla de café and tazole, collected in the Teziutlán area and surroundings in order to produce spores of filamentous fungi, which represent a viable alternative for pest control. A strain (J800) of filamentous fungus from the strain collection of the Microbiology Laboratory of the Instituto Tecnológico de Teziutlan was used, which was isolated from soils in the region. They were incubated for 12 days during which they were qualitatively analyzed to observe the behavior of the mycelium. Spore readings were taken on days 7, 10 and 12 to determine growth. Raquis de platan moistened with liquid of potato dextrose was the substrate that had the highest production with a quantity of $1.64E+09$ spores per gram.

Keywords: trichoderma, solid fermentation, bioinsecticide

Todo el contenido de LATAM Revista Latinoamericana de Ciencias Sociales y Humanidades, publicado en este sitio está disponibles bajo Licencia Creative Commons. 

Cómo citar: León Báez, J., Márquez Pallares, L., & Hernández Degante, D. M. (2024). Evaluación de residuos agroindustriales para la producción de esporas de hongos filamentosos. *LATAM Revista Latinoamericana de Ciencias Sociales y Humanidades* 5 (6), 1891 – 1901.
<https://doi.org/10.56712/latam.v5i6.3131>

INTRODUCCIÓN

En los cultivos de hortalizas de la región de Teziutlán Puebla, existen patógenos que afectan principalmente los invernaderos. El control de este tipo de plagas se realiza con productos químicos, que contaminan el suelo y el agua. Diversos autores han evaluado la capacidad antagónica in vitro de cepas nativas de hongos filamentosos contra patógenos. Por lo que las cepas de hongos filamentosos representan una alternativa viable para el control de plagas.

En los últimos años, las fermentaciones sólidas han sido muy utilizadas para el crecimiento de hongos filamentosos, por sus bajos costos y alto rendimiento en producción de esporas. Los subproductos agrícolas que contienen alto contenido celulósico son una nueva oportunidad para tener mayor variedad de sustratos que los que se utilizan actualmente como la cascarilla de arroz, soya, trigo y cebada, que tienen las cantidades nutricionales de nitrógeno y carbón necesarias para el desarrollo de las esporas.

Los hongos filamentosos son organismos eucarióticos, están compuestos por un núcleo, mitocondrias, retículo endoplasmático, aparato de Golgi, entre otros organelos más, tienen un sistema nervioso vegetativo llamado talo que es muy parecido al de las plantas, también se caracterizan por estar compuestos de filamentos de tamaño microscópico, estos filamentos están compuestos principalmente por quitina, galactanos y quitosán, la pared celular se compone por carbohidratos (80-90%), proteínas y lípidos. Los hongos filamentosos poseen la habilidad de adaptarse fisiológicamente al medio donde se encuentren, resistiendo condiciones extremas [5], se desarrollan a partir de sustratos que utilizan como alimento; gracias a la acción de las enzimas que liberan son capaces de degradar nutrientes cumpliendo así un papel fundamental dentro de los organismos descomponedores. La fuente de energía utilizada es la glucosa, aunque también utilizan fructosa, manosa y galactosa. Otros hongos son capaces de degradar lignina a dióxido de carbono, pero en presencia de otra fuente de carbono como la celulosa.

La glucosa sirve como fuente de carbono para el crecimiento de los hongos, además de que utilizan compuestos de carbono orgánico más complejos como el almidón, así mismo aprovechan algunas fuentes de nitrógeno inorgánico como sales de amonio y nitratos, se desarrollan a una temperatura que va desde los 25 hasta los 30°C.

Se han realizado investigaciones en diferentes sustratos con diferentes condiciones para el desarrollo de hongos filamentosos, en una de ellas se probaron 12 diferentes sustratos agrícolas provenientes de los municipios de Tuxtepec, Oaxaca y Zihuatanejo, Guerrero, midiendo la capacidad de esporulación del hongo filamentoso y observó que uno de los mejores sustratos fueron el olote de maíz con una cantidad de esporas final de 2.42×10^8 /ml, la cáscara de cacahuate con 2.41×10^8 /ml y el rastrojo de maíz tuvo una concentración de 2.02×10^8 /ml. Por otra parte se evaluó una cepa aislada en dos procesos de fermentación en estado sólido, en el que utilizaron sustratos y semillas, los sustratos que se utilizaron fueron cascarilla de arroz y algodón y la mejor producción de esporas se dio en el sustrato en seco de cascarilla de algodón y semillas de *Artocarpus*. En otra investigación experimental donde describen la producción de enzimas mediante fermentación en estado sólido del hongo *Aspergillus Fucuum* sobre residuos agroindustriales probaron con distintos volúmenes de sustrato y diferentes niveles de aireación. Los sustratos utilizados fueron residuos de maíz, trigo, canola, y arándanos, y la finalidad fue similar a esta investigación que es aprovechar la biomasa y evitar su acumulación en los basureros. También se probó la reproducción de esporas en granos de maíz quebrado, trigo y arroz, en la región de Tetela de Ocampo, Puebla-México. El tiempo de incubación para cada sustrato fue de 15 días a una temperatura ambiente. El sustrato que presentó una cantidad mayor en la producción de esporas fue el maíz, con 107.51×10^4 /ml, seguido por el trigo con 22.81×10^4 /ml y por último el arroz con 9.06×10^4 /ml, además con el sustrato de maíz se presentó una mayor expansión del micelio en comparación con los demás tratamientos [4]. En este estudio uno de los sustratos que se utilizaron fue

el Tazole o rastrojo de maíz, es un tipo de forraje utilizado para la alimentación animal, incluye: tallos y hojas que fueron desecadas por el sol después de la cosecha, tiene alto contenido lignocelulósico, aparte de contener una gran variedad de elementos químicos, como el azufre, calcio, cloro, potasio y silicio [10]. El olote de maíz es el producto resultante al separar el grano de la mazorca, la cascarilla de café también conocida como pergamino, es un tipo de biomasa que es resultante del procesado del café, después del despulpado, trillado y tostado. El raquis o pedúnculo floral, es conocido también como pinzote o vástago, es el encargado de dar soporte a los racimos de plátano, que al ser comercializados termina siendo un desecho después de su corte. Al ser un material con alto grado de nutrientes puede ser utilizado en sistemas de compostaje. Por lo que el objetivo de este trabajo es buscar el aprovechamiento de los residuos agroindustriales que son desechados en los alrededores de la región de Teziutlan como el olote de maíz, raquis de plátano, cascarilla de café y tazole, utilizándolos como sustratos en un proceso de fermentación sólida para la producción de hongos filamentosos los cuales están siendo utilizados como control biológico de los patógenos de frutas y vegetales. Además se disminuiría la cantidad de materiales lignocelulósicos que se desechan en los basureros que generan olores desagradables, y fauna no deseada.

METODOLOGÍA

Análisis físicos y químicos de los sustratos

Se recolectaron en la zona de Teziutlán 4 tipos de residuos agroindustriales: olote de maíz, raquis de plátano, cascarilla de café y tazole. Para determinar la humedad de los sustratos se pusieron muestras de 2 g en crisoles a peso constante y se colocaron en el horno de secado durante 4 horas a una temperatura de 100 °C. Al finalizar el tiempo de secado, se pusieron los crisoles en un desecador hasta tener peso constante.

El porcentaje de humedad se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ humedad} = \frac{P - P1}{P2} \times 100$$

Donde:

P: peso del crisol con muestra húmeda (g)

P1: Peso del crisol con muestra seca (g)

P2: Peso de la muestra (g)

Para la determinación del porcentaje de retención de humedad se pesaron 20 gramos de muestra de cada sustrato por triplicado y se mezclaron con 100 ml de agua corriente. Se dejaron reposar 1 hora y se colocaron en embudos con papel filtro y se filtraron hasta el cese del goteo [11]. Posterior a eso, se pesaron las muestras y se realizaron los cálculos con la siguiente fórmula:

$$\text{Agua retenida} = \frac{\text{Peso humedo de la muestra (100)}}{\text{Peso seco de la muestra}}$$

$$\% \text{ de retención de humedad} = \frac{\text{Agua retenida (100)}}{\text{Peso de muestra seca}}$$

Para la determinación de la porosidad se colocaron en varias probetas de 250 ml, las muestras de cada uno de los sustratos y se golpearon suavemente contra una superficie sólida para eliminar los espacios vacíos, se repitió el proceso hasta alcanzar un volumen de 110 ml posteriormente, se pesaron las probetas y se registraron los pesos. Se colocaron las muestras en un vaso de precipitado y se les adiciona agua corriente, después se colocaron las mezclas dentro de embudos con papel filtro previamente humedecidos, finalmente se dejaron filtrar una hora. Se realizaron los cálculos con la siguiente fórmula [12]:

$$\% \text{ Porosidad} = \frac{(\text{Peso húmedo} - \text{peso seco})}{\text{Volumen de la muestra}} (100)$$

Para determinar la densidad aparente se pesó una probeta de 250 ml y con la ayuda de una espátula se tomó una porción de la muestra de cada uno de los sustratos y se colocaron dentro de las probetas, se evitaron los espacios vacíos y se repitió el procedimiento hasta que se llegó a un volumen específico. Al terminar, se pesó la probeta con la muestra y se determinó la densidad con la siguiente fórmula:

$$D. A = \frac{P(\text{gr})}{V(\text{ml})}$$

Donde:

P: peso de los sustratos contenidos dentro de la probeta

V: Volumen específico que el sustrato alcanzó dentro de la probeta

Para la determinación de pH, se colocaron 5 gramos de muestra en 20 ml de agua destilada, dejando un periodo de reposo de 15 minutos, se utilizó un potenciómetro para la medición [13].

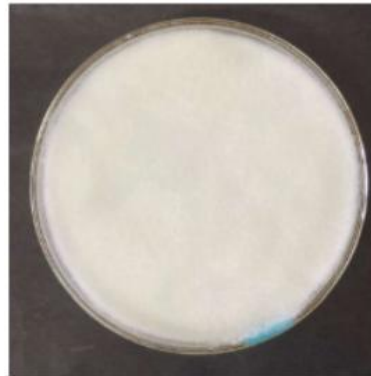
Inoculación de sustratos y fermentación en estado sólido

Para la fermentación en estado sólido, se utilizó el aislado de *Trichoderma* codificado como J800 proveniente de la colección de cepas del Laboratorio de Microbiología del Instituto Tecnológico Superior de Teziutlán, el cual fue aislado de los suelos del municipio de Teziutlán.

El aislado fue activado en medio Agar Papa Dextrosa (PDA) durante 7 días de incubación a una temperatura ambiente aproximada de 20-25°C.

Figura 1

Apariencia de la cepa J800



El medio de cultivo utilizado para la concentración de la cepa J800 fue PDA (Agar Papa Dextrosa). Se pesaron 9.75 g de PDA y 4.5 g de agar bacteriológico en una balanza analítica de la marca Sartorius, se colocaron en un matraz de 500 ml con 250 ml de agua y se puso en la parrilla, al matraz se le colocó un agitador magnético para homogenizar la mezcla. Se midió el pH con un potenciómetro para mantener el medio de cultivo a 5.5, o ajustar con NaOH 0.1 N. Una vez que se obtuvo el pH adecuado, se esterilizó el medio en la autoclave a una temperatura de 121 °C durante 15 minutos a 1 atmósfera, al terminar el tiempo de esterilización se dejó enfriar en una campana en espacio estéril y se vertió en 14 placas Petri estériles, se dejó solidificar el medio de cultivo a temperatura ambiente y se almacenaron en bolsas de poli papel las cajas Petri.

El sembrado de las placas se realizó con la cepa J800. Con un cúter estéril se cortó un pequeño trozo del agar que contenía micelio, se tomó por la parte inferior y se colocó boca abajo en una placa nueva. El proceso se repite en todas las placas y se cubren con plástico adherente por los bordes y se incuban.

Pasados 7 días de incubación, se preparó una solución estéril de glicerol al 30% que se adicionó a una de las placas y se hizo un raspado del micelio, se recuperó con la pipeta y se devolvió al tubo de la solución, se repitió el proceso hasta concluir el raspado y la recolección en todas las placas. Para el conteo de esporas se utilizó un microscopio digital y una cámara de Neubauer.

Para humectar los sustratos, se pesaron 5 gramos de cada muestra y se agregaron en frascos de vidrio. Se realizó un medio de cultivo papa dextrosa, se hirvieron 200 gramos de papas con 1 litro de agua, durante 5 minutos aproximadamente, se dejó atemperar y se filtró con ayuda de gasas y un embudo, el líquido se recuperó en un vaso de precipitados. Se completó el volumen gastado y se le agregó 20 gramos de dextrosa en polvo, se colocó en una parrilla de agitación para facilitar la homogeneización. Después de humectar los sustratos, con el medio de cultivo papa dextrosa se hicieron las réplicas, pero la humectación de los sustratos fue solo con agua. Todas las muestras se esterilizaron durante 20 minutos y se resguardaron en el gabinete de seguridad. Posteriormente se inocularon los sustratos con la cepa J80 y se resguardaron en una caja de plástico para su fermentación.

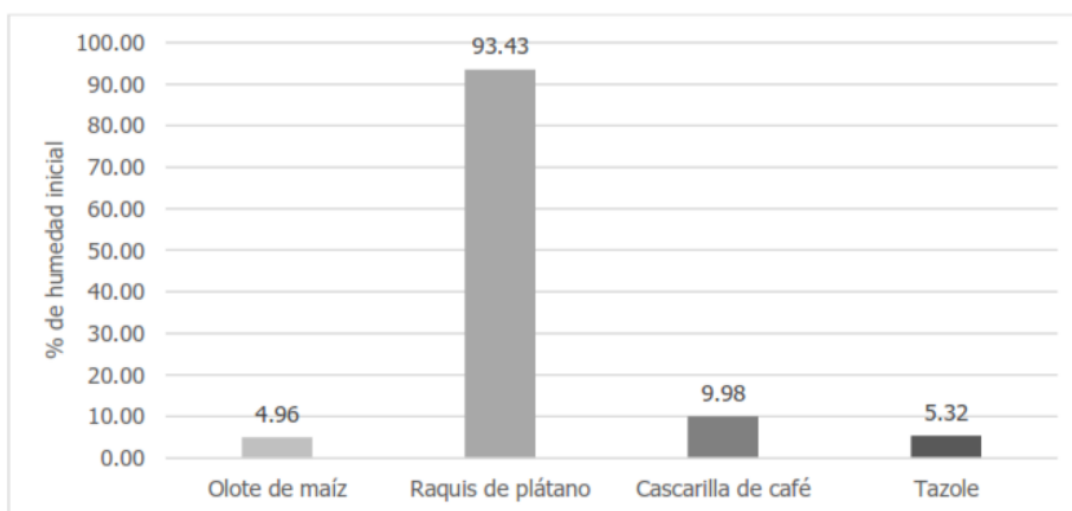
El conteo de esporas se realizó en los días 7, 10 y 12 de la fermentación. Se realizó el conteo con la cámara de Neubauer y microscopio digital.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La gráfica 1 muestra los porcentajes obtenidos sobre el análisis de humedad realizado en cada sustrato. El sustrato que presentó mayor humedad fue el raquis de plátano, con un porcentaje de 93.43%, el olote de maíz 4.95%, la cascarilla de café 9.98% y tazole 5.32%.

Gráfico 1

Porcentaje de humedad de los sustratos utilizados para la fermentación sólida

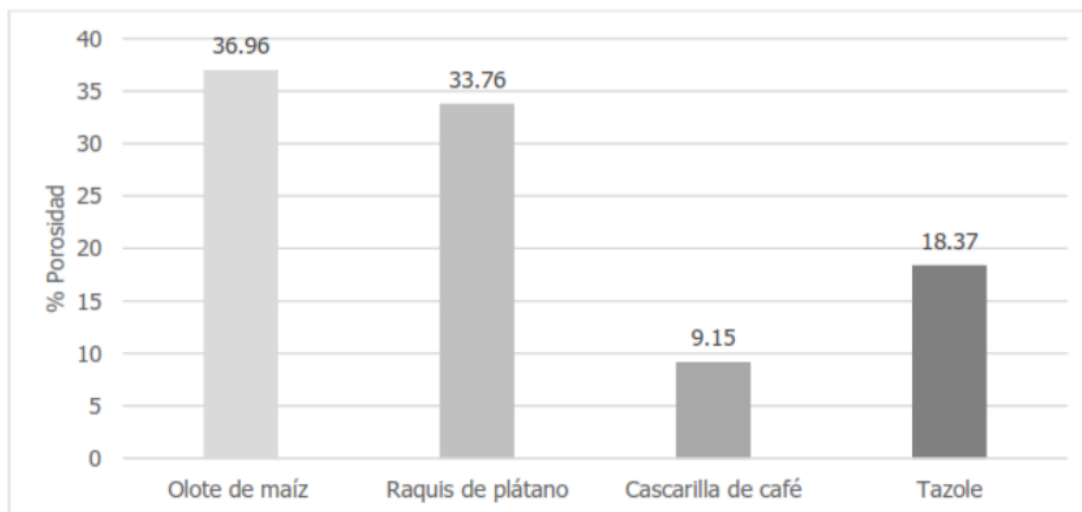


La retención de humedad en un sustrato dependerá de varios factores, principalmente de la composición química y del tamaño de partícula, uno pequeño tiene alta retención de agua como es el caso del olote de maíz que presentó una retención de 265.17% lo que beneficia la fermentación, aunque disminuirá la aireación dentro del sistema. El tazole tiene una retención del 366.50% al ser un residuo que incluye hojas y tallos que presentan poros internos, hace que la humedad no se concentra solo en un tipo de partículas y se distribuya mejor. El raquis de plátano al ser el sustrato que mayor humedad presentó, tendrá una retención alta con un valor de 308.44%. Finalmente, la cascarilla de café con un valor 215%, fue el sustrato con la menor retención esto debido a la estructura que tiene, como el poco grosor en sus paredes en comparación con otros sustratos, lo que hace que tenga menor cantidad de poros internos provocando una retención de humedad baja.

La porosidad de un sustrato es la relación entre el volumen del espacio poroso y el volumen total de la muestra, representando el porcentaje de espacios vacíos en el volumen total. El sustrato con mayor porcentaje de porosidad fue el olote de maíz, con un valor de 36.96%, en cuanto al raquis de plátano se obtuvo un valor de 33.76%, por último, el tazole con 18.37% y la cascarilla de café con 9.15%. A menor porosidad dentro del sistema, mayor será la dificultad del hongo para dispersarse por el sustrato, limitando su crecimiento y el desarrollo del micelio.

Gráfico 2

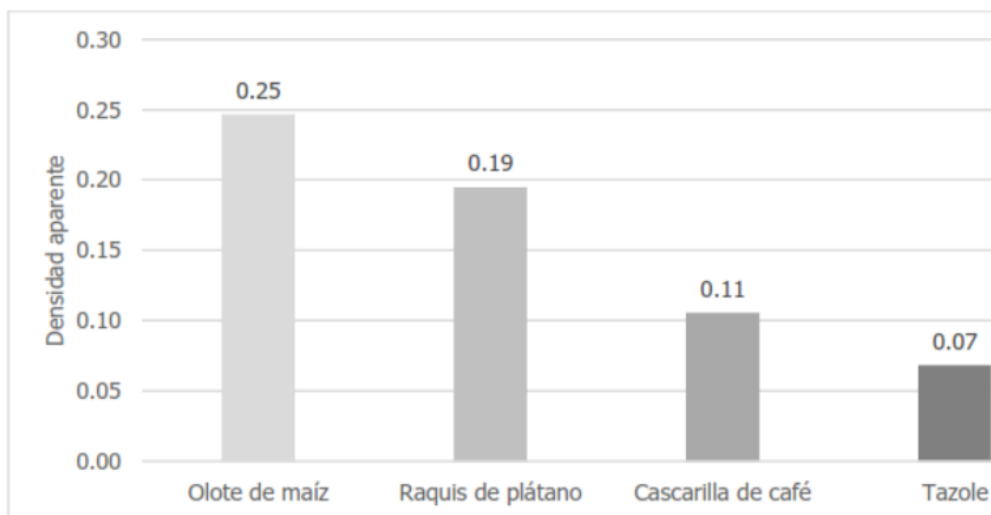
Porosidad de los sustratos utilizados para la fermentación sólida



La densidad aparente se representa en relación al peso seco con el volumen total que ocupa, entre mayor sea la densidad aparente menor será la condición de drenaje y porosidad. El sustrato que presentó mayor densidad fue el orote de maíz con 0.30 g/cm³ después estuvo el raquis de plátano con 0.19 g/cm³, la cascarilla de café tuvo una densidad aparente de 0.11 g/cm³. Finalmente, el tazole tuvo una densidad aparente de 0.07 g/cm³.

Gráfico 3

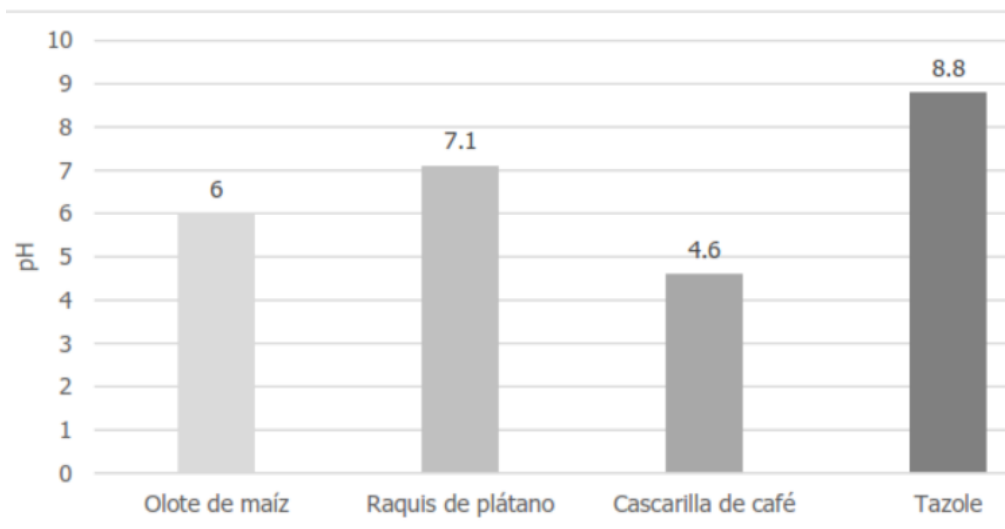
Densidad aparente de los sustratos utilizados para la fermentación sólida



El orote de maíz presentó un valor de pH de 6, valor cercano al pH óptimo de crecimiento de los hongos filamentosos, que es de 5.5, por otro lado, el raquis de plátano tuvo 7.1, y el tazole presentó el valor más alto con 8.8, aunque en las lecturas de esporas se comprobó que no afectó demasiado en la fermentación. La cascarilla de café tuvo un pH de 4.6.

Gráfico 4

pH de los sustratos utilizados para la fermentación sólida



Dentro de la evaluación de crecimiento de la cepa J800 se observó que en el sustrato raquis de plátano y orote de maíz, al día 10 alcanzaron una mayor producción de esporas ya que después de ese día la curva de crecimiento bajó considerablemente, a diferencia de tazole y cascarilla de café la mayor producción fue al día 12. El mayor crecimiento de esporas fue en el sustrato raquis de plátano. En la gráfica 5 se observa el crecimiento de esporas en el sustrato humectado con el medio papa dextrosa y agua.

Gráfica 5

Producción de esporas de la cepa J800 en raquis de plátano

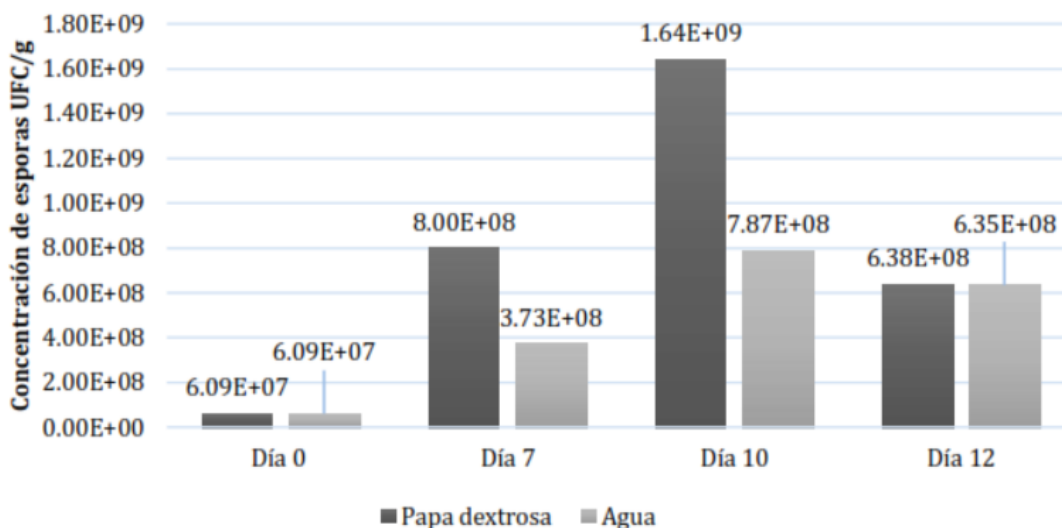


Figura 2

Crecimiento de micelio en el día 7 después de la inoculación en el sustrato raquis de plátano



Figura 3

Crecimiento de micelio en el día 10 después de la inoculación en el sustrato raquis de plátano



El raquis de plátano humectado al 100% con medio papa dextrosa fue el sustrato que tuvo una mejor respuesta en cuanto a la producción con una cantidad de $1.64E+09$ de esporas por gramo. El sustrato de olote de maíz tuvo una producción de $1.04E+09$ el cual es mencionado en otras investigaciones [7] como un buen sustrato. El tazole tuvo su mayor producción el día 12 con $6.3E+08$ y la cascarilla de café con $4.1E+08$ que coincide con los análisis físicos al ser un sustrato poco poroso con poca retención de agua y con un pH más bajo de lo requerido por los hongos filamentosos.

CONCLUSIÓN

El mejor sustrato de los evaluados en este estudio para el crecimiento del hongo filamentosos de la cepa J800 fue el raquis de plátano al día 10 después de ser inoculado, humectado con el medio papa dextrosa, el segundo mejor evaluado fue el olote de maíz, lo cual se relaciona con la porosidad de los sustratos, los nutrientes, la capacidad de retención de agua. Los sustratos con pH más extremos (8.8 y 4.6) también fueron los menos productivos.

REFERENCIAS

A. M Mesa-Vanegas, A. Marin, J. Calle-Osorno, "Metabolitos secundarios en *Trichoderma* spp. y sus aplicaciones biotecnológicas agrícolas", *Actualidades Biológicas*, vol. 41, no 111, pp. 32-44, 2019. <https://doi.org/10.17533/udea.acbi.v41n111a02>

Agamez Ramos, E. Y. (2009). Evaluación de sustratos y procesos de fermentación sólida para la producción de esporas de *Trichoderma* sp. *Revista Colombiana de Biotecnología* 10 (2), 23-34. Bogota, D.C. Colombia, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.

Amaro Leal, L., Romero Arenas, O., Rivera, T., & Huerta, L. (2015). Paper presented at the V Congreso Latinoamericano de Agroecología-SOCLA (7 al 9 de octubre de 2015, La Plata).

Atarés Huerta, L. (2015) Determinación de la porosidad. ETSIAMN, Universidad Politécnica de Valencia.

B. Leon Ttacca, N. Ortiz Calcina, N. Condori Ticona & E. Chura Yupanqui, "Cepas de *Trichoderma* con capacidad endofítica sobre el control del mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum.) y mejora del rendimiento de quinua", *Revista de Investigaciones Altoandinas*, vol. 20, no 1, pp.19-30, 2018 <https://dx.doi.org/10.18271/ria.2018.327>

Camps, M. y Marcos, F. 2008. *Los Biocombustible*. 2° ed. Ediciones Mundi Prensa, Madrid, España. 384 p.

Cepero, M. C., Restrepo, S., & Franco, A. E. (2012). *Biología de hongos*. Colombia: Universidad de los Andes. Retrieved from <http://www.ebrary.com>

Costa, M. (2009). Producción de enzima fitasa de con residuos agroindustriales en fermentación sumergida y sobre sustrato sólido. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 11 (1), 73-83. Bogotá, D.C. Colombia, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.


Pelczar, M., Reid, R. 1996. *Microbiología*. Cuarta edición. Editorial McGraw Hill. México D.F. 458

Pire, R. y Pereira A. (2003). Propiedades físicas de componentes de sustratos de uso común en la horticultura del estado Lara, Venezuela. *Propuesta Metodológica*. Bioagro.

Rosas D, Ortiz H, Herrera J y Leyva O. 2016. Revalorización de algunos residuos agroindustriales y su potencial de aplicación a suelos agrícolas. *Agroproductividad*, 9(8):18-23.

Sadzawka R., A. 1990. *Métodos de análisis de suelos*. Serie La Platina N°16, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Santiago, Chile, 130 p.

Y. Reyes Duque, "Aislamientos de *Trichoderma* spp. promisorios para el control biológico del tizón de la vaina (*Rhizoctonia solani* Kühn) en arroz", *Revista de protección vegetal*, vol. 27, no 1, pp. 68-68, 2012.

Todo el contenido de **LATAM Revista Latinoamericana de Ciencias Sociales y Humanidades**, publicados en este sitio está disponibles bajo Licencia [Creative Commons](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/) .