

Revista de la Sociedad Mexicana de

Biotecnología y Bioingeniería

Año 2026 Volumen 30, Número 4
ISSN 0188-4786



Sociedad Mexicana de
Biotecnología y Bioingeniería

ISSN 0188-4786, revista cuatrimestral publicada por la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería, A.C. Los artículos se encuentran en Google Académico. Certificado de Licitud de Título en trámite y Certificado de Licitud de Contenido en trámite. Reserva de derechos de Título 04-1999-082516265000-101. Los conceptos que en ella aparecen son responsabilidad exclusiva de los autores. Se prohíbe la reproducción total o parcial de su contenido sin previa autorización por escrito del Comité editorial. Toda correspondencia deberá enviarse a Km. 23.5 Carretera Federal México-Cuernavaca, Av. Cipreses s/n, Col. San Andrés Totoltepec, C.P. 14400, Alcaldía Tlalpan, Ciudad de México. o a la siguiente dirección electrónica revista_biotecnologia@smbb.mx.



Revista de la Sociedad Mexicana de
Biotecnología
y Bioingeniería A.C.

MESA DIRECTIVA

2026 – 2028

Dr. Francisco José Fernández Perrino
Presidente

Dr. Manuel Alejandro Lizardi Jiménez
Vicepresidente

Dra. Andrea Sabido Ramos
Secretaria

Dra. Neith Aracely Pacheco López
Subsecretaria

Dra. Carolina Peña Montes
Tesorera

Dr. Ricardo Hernández Martínez
Subtesorero

M. en C. Ileana Emilia Gutiérrez Cancino
Vocal Profesional

M. en Biot. Gerardo Díaz Domínguez
Vocal estudiante

EDITORIA

Dra. María Soledad Córdova Aguilar
UNAM

Co-editor

Dr. Jorge Gracida
UAQ

COMITÉ EDITORIAL

Dra. Isadora Martínez Arellano
Dra. María Eugenia de la Torre
Dra. Ileri Alejandra Carbajal Valenzuela
Dra. Andrea Sabido Ramos
Dra. Beatriz Ruiz Villafán
M. en C. Vanessa Hernández Rodríguez
Dr. Manuel Alejandro Lizardi Jiménez
Dra. Mirna Rodríguez Aguilar

Formación y edición

Pas. QA Mariana Espinoza Tapia

Índice

Instrucciones para los autores	4
--------------------------------	---

Artículos

Plant biostimulants: bioactive composition, mechanisms of action, and physiological responses

María Guadalupe Cárdenas-Barrera, Gloria Azucena Soto-Fernández, Carlos Farfán-Flores, Silvia Armenta-Jaime, Sergio Hernandez-León, Oscar Arce-Cervantes	8
--	---

Revolucionando el Compostaje Domiciliario: Una Solución para los Residuos Orgánicos Complejos

Diego Bustos, Gabriela Elgueta, Viviana Chávez, Jorge Parodi	27
--	----

Avances biotecnológicos en el diagnóstico y tratamiento del cordoma de Clivus: una revisión bibliográfica

Mariamalia Murillo, Valentina Montero, Mónica Murillo, Alejandro Rodríguez, José Daniel Amador	38
--	----

Evaluación de sustratos por fermentación líquida, sólida y bifásica para la producción de *Trichoderma asperellum*

Rómulo García-Velasco, Dulce María Cortes de-León, Grisel Domínguez-Arizmendi, Martha Elena Mora-Herrera, Barbarita Companioni-González, Jesús Ricardo Sánchez-Pale	48
---	----

Instrucciones para los autores

Guía de Autores

La revista puede recibir trabajos de investigación original, así como de revisión en los campos de la Biotecnología y Bioingeniería. Todos los manuscritos serán sujetos a revisión por al menos dos miembros del Comité Editorial y deberán contar con una recomendación de aceptación para ser publicados.

Los idiomas en los que se puede publicar en la revista son el español y el inglés.

Los trabajos se escribirán en hoja tamaño carta (21.6 cm x 27.6 cm). Los márgenes aplicados a todo el manuscrito serán de 2.5 cm para los extremos superior e inferior, así como 3 cm de cada lado. Las páginas deberán estar numeradas en la parte inferior y central de cada hoja.

Para evitar errores innecesarios se recomienda usar el corrector de gramática y ortografía del procesador de palabras. Se recomienda que los trabajos completos tengan un máximo de 25 páginas, escritas con un interlineado de 1.5 renglones, incluyendo las tablas y figuras. Las publicaciones en la revista Biotecnología están exentas de costo para los autores.

Cuando corresponda, se recomienda el uso de abreviaturas para referirse a unidades de tiempo (h, min, s), de volumen (l, ml, μ l), de peso (kg, g, mg, μ g), ADN, ARN y otras comúnmente aceptadas en la literatura científica.

Los trabajos de investigación original pueden tocar cualquiera de los diversos campos que cultivan la biotecnología y la bioingeniería, desde aspectos fundamentales hasta sus aplicaciones, incluyendo: Enzimas y Biocatálisis, Microbiología, Biotecnología Agrícola y Vegetal, Biotecnología Marina, Alimentos y bebidas, Biotecnología farmacéutica, Biotecnología Ambiental, Bioingeniería y fermentaciones, Bioenergía y biocombustibles, Biología de sistemas y bioinformática, Biología sintética, Nanobiotecnología y biomateriales, Ingeniería metabólica, Omicas, Bioseguridad y Bioética.

Tanto los trabajos de investigación original como las revisiones deberán apegarse al siguiente formato:

1. El título del manuscrito se escribirá en negritas con letra Arial o equivalente tamaño 14. El título deberá estar centrado y ser conciso e informativo. Evite el uso de abreviaciones y fórmulas.

Instrucciones para los autores

2. El nombre de los autores ocupará los siguientes renglones escribiendo el nombre y primer apellido de cada participante. Se usará letra Arial o equivalente tamaño 12. Los nombres de los participantes deberán estar centrados, señalando con un asterisco el autor responsable de la publicación. En el siguiente renglón con letra itálica Arial del mismo tamaño, se incluirá la dirección postal de la institución de adscripción de los autores, así como la dirección de correo del autor corresponsal. Si el responsable fuera un estudiante, deberá incluir una carta del tutor o director del trabajo autorizándolo.
3. Se deberá añadir un Resumen de no más de 250 palabras en español y el correspondiente Abstract en inglés.
4. Se incluirán entre 3 a 6 Palabras clave: que permitan clasificar el artículo en una base de datos. Estas palabras deberán de incluirse en español y en inglés (Key words).
5. Si el texto inicia con el nombre de algún subtema, éste de pondrá como primera línea en cursivas con letra Arial o equivalente tamaño 10. Después en el siguiente renglón se iniciará el texto descriptivo usando letra Arial o equivalente tamaño 10. El texto deberá ser escrito con un interlineado de 1.5 renglones. Se deberá dejar un espacio de un renglón al inicio de una sección o subtema nuevo. Los géneros y especies deberán escribirse en letras itálicas.
6. Las figuras deberán numerarse con arábigos, correlativamente en orden de aparición en el texto. No se integrarán al texto, sino al final del manuscrito. No obstante, para facilitar el trabajo de edición, se recomienda indicar la ubicación de las mismas en el momento en que son mencionadas por primera vez en el texto. Las figuras deben incluir un breve título explicativo en la parte inferior de la misma. Si es necesario incluir fotos, éstas se deberán designar como figuras.
7. Las tablas también se numerarán con arábigos ubicados en la parte superior de las mismas e incluirán un breve título explicativo. Las notas en las tablas deberán ser indicadas con letras minúsculas en superíndice. La ubicación de las tablas será señalada en el texto, pero se anexarán en hojas separadas y al igual que las figuras, al final del manuscrito.
8. La información dada como referencias bibliográficas deberá permitir a los lectores llegar con facilidad a la fuente de información original. En el texto del trabajo, las referencias se citan por autor y año entre paréntesis redondos. Por ejemplo: "Martínez & García (1999) han demostrado que...", o bien, "Datos recientes (Martínez & García, 1999) han demostrado que...". Si la cita posee varios autores se escribirá como sigue: "Gutiérrez et al. (2003), han demostrado..." O bien: "Datos recientes (Gutiérrez et al., 2003) han mostrado..."

Instrucciones para los autores

Si la cita es una página de Internet, la dirección URL deberá escribirse completa y entre paréntesis directamente en el texto.

9. La lista de Referencias se deberá escribir con el mismo tipo de letra del texto principal (Arial tamaño 10) y con sangría francesa de acuerdo con el siguiente formato:

Artículos:

Bayegan AH, Clote P (2020) RNAmountAlign: Efficient software for local, global, semiglobal pairwise and multiple RNA sequence/structure alignment. PLoS ONE 15(1): e0227177. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227177>.

Libros:

Ullrich M (2009) Bacterial Polysaccharides: Current Innovations and Future Trends. Horizon Scientific Press, Norwich.

Capítulos de libros:

Sánchez S & Demain AL (2009) Metabolic regulation and overproduction of primary metabolites. In: Encyclopedia of Industrial Biotechnology. Bioprocess, Bioseparation, and Cell Technology (EIB). Flickinger MC (ed). John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, NJ. pp. 396-458.

Patentes:

Fenical WH, Jensen PR & Kwon HC (2009) Polyol macrolide antitumor-antibiotics from the marine actinomycete strain CNQ140. US patent 7,521,414.

Congresos y reuniones:

Reyes N, Domínguez RM, Islas I & Solis S (2007) Inducción diferencial por pH y temperatura del complejo pectinolítico producido por células inmovilizadas de *Aspergillus* HL. XII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. Morelia Mich. México. OIII-12.

Instrucciones para los autores

Sitios en internet:

CAZY, Carbohydrate-Active Enzymes Database. (<http://www.cazy.org/>)

Tesis de pre y posgrado:

Cárdenas C (2009) Evaluación del uso biotecnológico de la semilla de *Ditaxis heterantha* para la producción de safranal. Tesis Maestría en Ciencias Bioquímicas. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. pp. 1-78.

Cada autor es responsable de la precisión de las citas que emplea.

Una vez que ha sido revisado y aceptado su trabajo, los autores deberán enviar una carta de cesión de los Derechos de Autor, de manera que la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería pueda hacer uso del artículo aceptado, o parte de él, con fines de divulgación y difusión de la actividad científica y tecnológica. En ningún caso, dichos derechos afectan la propiedad intelectual que es propia de los autores, para usar la totalidad o parte de ese artículo con fines no lucrativos.

Los trabajos se someten en línea en la página electrónica de la Sociedad Mexicana de Biotecnología, en la dirección <https://smbb.mx/publicaciones/publicacion-de-articulo/>. Al momento de recibirlo, se enviará un acuse de recibo al autor correspondiente. La dirección para mantener comunicación con el editor es: revista_biotecnologia@smbb.mx y marisol.cordova@icat.unam.mx.

Una vez aceptados, los trabajos son editados y enviados a los autores para su corrección. En esta condición no se permitirán cambios sustanciales en el contenido de los mismos sin la aprobación del editor en jefe. Una vez aprobada la prueba, el trabajo se publicará en línea y podrá ser consultado en la página de la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería AC <http://www.smbb.com.mx/>.

Plant biostimulants: bioactive composition, mechanisms of action, and physiological responses

María Guadalupe Cárdenas-Barrera ^{1§}(<https://orcid.org/0009-0003-4974-385X>)

Gloria Azucena Soto-Fernández ^{1§}(<https://orcid.org/0009-0002-1632-4133>)

Carlos Farfán-Flores ^{1*} (<https://orcid.org/0009-0006-8117-7351>)

Silvia Armenta-Jaime ¹ (<https://orcid.org/0000-0001-8464-5591>)

Sergio Hernandez-León ¹ (<https://orcid.org/0000-0001-5892-6066>)

Oscar Arce-Cervantes ^{1*} (<https://orcid.org/0000-0002-3388-2973>)

¹*Instituto de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, CP. 43775, Ciudad Universitaria, Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México.*

Corresponding: [*cfarfan170799@gmail.com](mailto:cfarfan170799@gmail.com), oarce@uaeh.edu.mx

[§] Equal contribution

Abstract

Agriculture faces the challenge of increasing crop productivity under conditions of soil degradation, intensive mineral fertilizer use, and growing pressure associated with climate change. In this context, plant biostimulants (PB) have emerged as a functional alternative to enhance plant physiological performance beyond the direct supply of nutrients. This review synthesizes current knowledge on microbial and non-microbial biostimulants, with emphasis on their composition, mechanisms of action, and effects on plant physiology. Among microbial biostimulants, arbuscular mycorrhizal fungi, *Trichoderma* spp., plant growth promoting rhizobacteria (PGPR), and actinobacteria stand out for their ability to improve nutrient acquisition, modulate hormonal pathways, and enhance stress tolerance through rhizosphere mediated interactions. In contrast, non-microbial biostimulants, including humic substances, protein hydrolysates, seaweed and botanical extracts, chitosan and its derivatives, as well as certain inorganic compounds, act through multifactorial mechanisms associated with nutrient uptake and assimilation, redox regulation, hormonal signaling, osmotic adjustment, and the activation of defense related responses. Overall, the available evidence indicates that plant biostimulants represent a strategic tool to strengthen physiological efficiency, resilience, and sustainability in agricultural systems. However, their rational use still requires a deeper mechanistic understanding, methodological standardization, and validation under real production conditions.

Key Words: Nutrient use efficiency, rhizosphere microbiome, hormonal signaling, redox regulation, stress tolerance

Introduction

Agriculture faces the challenge of increasing crop productivity to meet the growing demand for healthy food under conditions of soil resource degradation and climate change related stresses. To sustain plant growth and yields at the global scale, agricultural production has relied heavily on mineral fertilizers, particularly those based on nitrogen (N), phosphorus (P), and potassium (K) (Bergstrand, 2022). However, the intensified use of these inputs has been associated with nutrient losses, soil degradation, eutrophication of water bodies, and greenhouse gas emissions, thereby

compromising the sustainability of agricultural systems (Debasmita et al., 2026).

In this context, plant biostimulants (PBs) have emerged as promising tools to support the transition toward more efficient and resilient production systems (López-Serrano et al., 2026). These products are not defined by their direct nutrient supply, but rather by their capacity to modulate biological and physiological processes in plants and their immediate environment, thereby promoting improved nutrient use efficiency, enhanced tolerance to abiotic stress, better crop quality, and, in some cases, increased nutrient availability in the rhizosphere. PBs include

humic substances, protein hydrolysates, seaweed extracts, plant extracts, silicon, arbuscular mycorrhizal fungi, and plant growth-promoting rhizobacteria belonging to the genera *Azotobacter*, *Azospirillum* and *Rhizobium* spp (Rouphael and Colla, 2020; Roche et al., 2024).

Nevertheless, despite the rapid expansion of both the scientific and commercial sectors, the concept of biostimulation still faces major challenges. One of the main issues lies in the fact that biostimulants comprise an extremely heterogeneous category of substances and/or microorganisms (López-Serrano et al., 2026). This diversity in origin, composition, and formulation has facilitated the rapid development of the field, but has also hindered their classification, the comparison of studies, and the precise identification of the mechanisms underlying their effects (Baltazar et al., 2021; Kaushal et al., 2023). Within this framework, the present review provides an integrative overview of microbial and non-microbial biostimulants, with emphasis on their composition, mechanisms of action, and effects on plant physiology. In addition, conceptual and methodological limitations that still constrain their interpretation are discussed, together with future perspectives for their integration into more sustainable and resilient agricultural systems.

Unlike conventional fertilizers, which are designed to supply essential nutrients directly to plants, PBs act primarily by modulating biological and physiological processes associated with nutrient acquisition, stress adaptation, and crop performance. Reflecting their growing importance in sustainable agriculture, the global bioinput market has rapidly expanded, with biostimulants representing one of the fastest growing categories of agricultural products (da Silva et al., 2026). According to the European Union Regulation (REPC) 2019/1009, a PBs is defined as a product that stimulates plant

nutrition processes independently of its nutrient content, improving nutrient use efficiency, tolerance to abiotic stress, crop quality traits, or nutrient availability in the rhizosphere. Given their diversity in origin and composition, classification based on origin and biological nature provides a useful framework of substances and microorganisms. Therefore, classification based on origin and biological nature provides a useful framework for understanding their modes of action and agricultural applications.

Microbial biostimulants

Microbial biostimulants are formulations based on beneficial microorganisms that enhance nutrient availability and nutrient use efficiency in plants (Chaudhary et al., 2022). Although some of these microorganisms may also function as biocontrol agents, their role in mitigating biotic stress is not considered a primary attribute of biostimulation (Kumari et al., 2023; Fasusi et al., 2023). In this context, microbial biostimulants encompass a wide range of plant associated microorganisms, which can be broadly classified into fungal and bacterial based groups (Fig. 1) (Sani & Yong, 2022).

Fungal biostimulants include species such as *Trichoderma* spp. and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). *Trichoderma* spp. are widely used in agriculture due to their ability to promote plant growth and improve tolerance to abiotic stress through hormonal modulation and the production of bioactive metabolites (Jin and Alberti, 2025). In turn, AMF establish mutualistic symbioses with plants through root colonization and the development of extraradical hyphal networks, thereby increasing soil exploration and facilitating the uptake of poorly mobile nutrients, particularly phosphorus (Begum et al., 2019). In addition, AMF contribute to the maintenance of nutritional homeostasis and improved plant growth.

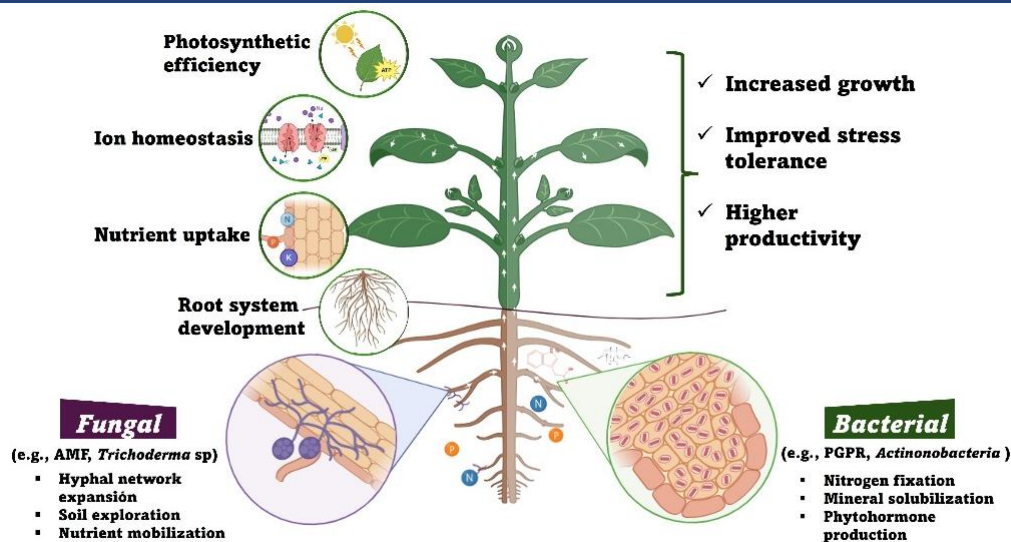


Figure 1. Microbial biostimulants: mechanisms of action and plant physiological response

Bacterial biostimulants mainly include plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and actinobacteria, particularly members of the genera *Rhizobium*, *Azotobacter*, and *Azospirillum* (Baltazar et al., 2021). These microorganisms produce a wide range of compounds capable of reshaping rhizosphere microbial dynamics and increasing the availability of nitrogen, phosphorus, potassium, and other essential minerals. They are also able to synthesize phytohormones such as auxins, gibberellins, cytokinins, ethylene, and abscisic acid, thereby modulating key physiological processes in plants (Kaushal et al., 2023; Roche et al., 2024). In addition, certain PGPR can modify soil conditions through the production of organic acids, which promote organic matter mineralization and enhance nutrient availability (Chen et al., 2023). Likewise, the production of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase enables the regulation of ethylene levels, thereby promoting root elongation and improving tolerance to abiotic stress (Orozco-Mosqueda, et al., 2022; Aloo et al., 2022).

Ecological relationships in the rhizosphere

The concept of biostimulation has evolved, shifting from considering only the direct effects on plants to a more integrative view that recognizes the role of ecological interactions between roots and the microbial communities associated with plant rhizospheres. According to Gen-Jimenez et al. (2025), these ecological relationships represent a second genome or

defense system in plants. This perspective considers the plant and its microbiome as a functional unit, called the holobiont, in which the physiological responses largely depend on the complex relationships established among the organisms that constitute the root ecosystem (Rouphael and Colla, 2020; Trivedi et al., 2020; Adedayo and Babalola, 2023).

Plant-soil-microorganism interactions constitute one of the most dynamic and complex biological interfaces, characterized by intense metabolic activity and high microbial diversity. Consequently, the structure of the rhizosphere microbiome is the result of a complex network of ecological interactions modulated by both biotic and abiotic factors (Compant et al., 2021; Trivedi et al., 2023). These mutualistic relationships represent one of the main mechanisms by which biostimulants improve crop growth and productivity under diverse environmental conditions (Santoyo et al., 2021; Kaushal et al., 2023; Ali et al., 2024).

In addition, the ecological interactions of biostimulants promote biological control and competition, as they produce antimicrobial compounds, siderophores, and secondary metabolites that limit the development of competing or potentially pathogenic organisms (Hamid et al., 2021). This competitive exclusion significantly contributes to disease suppression and maintenance of microbiome functional stability (Compant et al., 2021; Adedayo and Babalola, 2023).

Another relevant aspect is the existence of keystone taxa, the activity of which strongly influences the structure and function of microbial communities. Recent ecological network analyses have demonstrated that the presence or absence of specific taxa can significantly alter microbiome stability, consequently affecting plant responses to stress conditions. This knowledge has fostered new strategies aimed at designing biostimulants capable of promoting key microorganisms that contribute to maintaining the ecological functionality of the rhizosphere (Banerjee et al., 2023; Trivedi et al., 2023).

Endophytes and microbial consortia

Endophytic microorganisms are promising biotechnological tools for developing next generation agricultural biostimulants. Their primary mechanisms of action involve the production of phytohormones and plant growth regulating compounds. Several endophytic bacteria belonging to genera such as *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Burkholderia*, and *Enterobacter* synthesize indole-3-acetic acid, cytokinins, gibberellins, and other bioactive compounds that stimulate root development, cell elongation and biomass accumulation. Furthermore, many endophytic microorganisms exhibit ACC deaminase activity, which reduces stress induced ethylene concentrations and promotes plant growth under adverse conditions (Orozco-Mosqueda et al., 2021; Ali et al., 2022).

The ability of endophytic microorganisms to increase plant tolerance to drought, salinity, extreme temperatures, and environmental contamination is associated with the induction of antioxidant enzymes, osmoprotectants, and secondary metabolites, which are crucial for maintaining cellular homeostasis and minimizing oxidative damage. These microorganisms also regulate hormonal pathways involving abscisic acid, jasmonates, and ethylene, thereby strengthening plant adaptation to abiotic stress (Nadeem et al., 2021; Ali et al., 2022; Verma et al., 2023). Currently, microbial consortia are a promising strategy for agricultural biostimulants because of their ability to promote plant growth through complementary biological mechanisms that enhance productivity and sustainability. These

consortia consist of functional communities that integrate plant growth promoting bacteria (PGPB), arbuscular mycorrhizal fungi, actinobacteria, *Trichoderma* species, and other beneficial microorganisms that synergistically interact within the rhizosphere (Santoyo et al., 2021; Ruzzi and Aroca, 2021; Negi et al., 2024).

Recent studies have indicated that microbial consortia act as microbiome-modulating agents, promoting the functional stability of soil microbial communities and improving soil resilience to environmental changes (Compant et al., 2021; Trivedi et al., 2023; Adedayo and Babalola, 2023). Functional complementarity among microorganisms enhances ecological resilience and crop adaptation to adverse environmental conditions, stimulating interest in the rational design of microbial communities for biostimulant applications (Tabacchioni et al., 2021; Negi et al., 2024).

Non-microbial biostimulants

Non-microbial biostimulants are derived from organic and mineral sources and therefore comprise a broad diversity of biologically active compounds (Sagar et al., 2021; Chen et al., 2023). This group exerts its effects primarily through the modulation of key physiological processes, including hormonal signaling, regulation of enzymatic activity, maintenance of redox balance, and improvement of nutrient availability and assimilation at the root level (Du Jardin, 2015; Rouphael & Colla, 2020). In addition, these products have been shown to induce the synthesis of osmoprotectants, modulate the expression of stress related genes, and enhance photosynthetic efficiency (Yakhin et al., 2017; Franzoni et al., 2022). Non-microbial biostimulants are generally classified into five major categories: (i) humic substances, (ii) protein hydrolysates and nitrogen-containing compounds, (iii) seaweed and plant extracts, (iv) chitosan and its derivatives, and (v) inorganic compounds (Kaushal et al., 2023; Roche et al., 2024), as illustrated in Fig. 2. The following sections describe each of these categories in detail, with emphasis on their bioactive composition and the specific mechanisms through which they influence plant physiology.

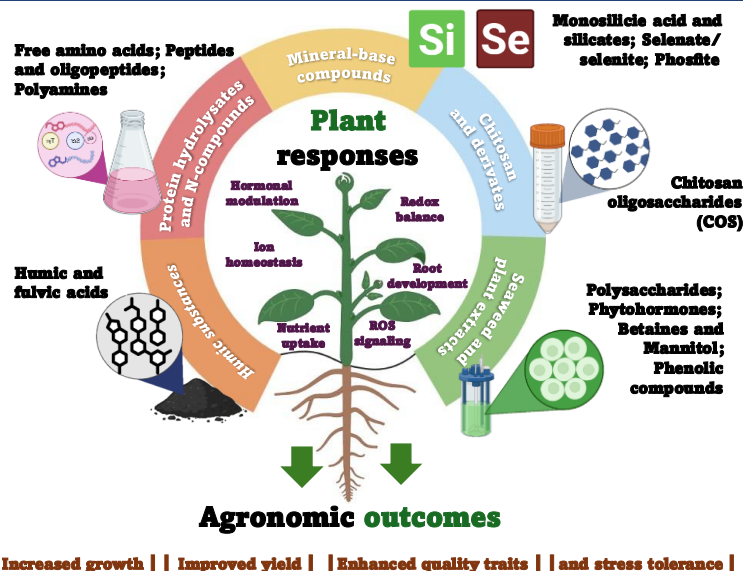


Figure 2. Non-microbial biostimulants: bioactive compounds and plant physiological responses

Humic substances (HS)

Humic substances (HS) are key components of soil organic matter derived from the biological and chemical decomposition of organic residues and play a fundamental role in both soil structure and plant physiology (Maffia et al., 2025). They can be extracted from a range of sources, including organic matter, leonardite, compost, and vermicompost (Lv et al., 2024; Martins et al., 2024). Structurally, HS are commonly classified into three main fractions: humic acids (HA), which are soluble under alkaline conditions and typically range from 20,000 to 100,000 Da in molecular weight; fulvic acids (FA), which are soluble under both acidic and alkaline conditions and have lower molecular weights (approximately 500–2,000 Da); and humins, an insoluble, highly heterogeneous,

and recalcitrant fraction in both acidic and alkaline media (Ampong et al., 2022; López-Serrano, et al., 2026).

As a result, most research has focused on HA and FA, whose biostimulant effects are comparatively well documented (Table 1). Among the main reported mechanisms are the enhancement of soil cation exchange capacity (CEC) and the stimulation of proton pump activity through the activation of root plasma membrane H^+ -ATPases. These processes promote selective nutrient uptake and, under saline conditions, contribute to reduced sodium (Na^+) accumulation and increased potassium (K^+) uptake, thereby supporting ionic homeostasis and improving crop performance (Alsudays et al., 2024).

Table 1. Mechanisms of action and plant responses associated with humic substances in agricultural crops

Crop	Biostimulant type	Main mechanism	Key plant response	Reference
<i>Oryza sativa</i> (rice)	Fulvic acids (FA)	Upregulation of phosphate transporters (OsPTs); root exudation of organic acids	Improved P acquisition under deficiency conditions	(Lv et al., 2024)
<i>Hordeum vulgare</i> (barley)	Humic substances (HA + FA; K-humate)	Ion homeostasis regulation (Na^+ exclusion, K^+ uptake); improved nutrient use efficiency	Enhanced salinity tolerance and grain yield	(Alsudays et al., 2024)
<i>Triticum aestivum</i> (wheat)	Humic acids (HA)	Hormonal modulation (auxin- and cytokinin-related pathways); root morphogenesis	Increased root hair density and root biomass	(Rathor et al., 2024)
<i>Solanum lycopersicum</i> (tomato)	Humic substances (HA + FA)	Micronutrient chelation and enhanced Fe availability	Increased chlorophyll content and biomass in soilless systems	(Quijia-Pillajo et al., 2024)
<i>Petunia × hybrida</i>	Humic substances (HA + FA)	Enhanced nutrient uptake and metabolic activity under low N	Improved growth and flowering under nutrient limitation	(Martins et al., 2024)
Cassava / Okra	Vermicompost-derived HA	Synergistic interaction with PGPR; enhanced N cycling	Improved yield and nitrogen use efficiency	(Canellas et al., 2022)

In addition, humic substances modulate hormone related responses by upregulating pathways associated with auxin and cytokinin biosynthesis, resulting in changes in root system architecture, including increased lateral root formation and root hair development (Rathor et al., 2024). They have also been shown to induce phosphate transporter expression and stimulate the exudation of organic acids into the rhizosphere, thereby enhancing the mobilization of previously immobilized phosphorus and improving phosphorus fertilizer use efficiency (Lv et al., 2024). Complementarily, HS can increase photosynthetic pigment content and activate antioxidant defenses, promoting osmoprotectant accumulation and mitigating oxidative damage under stress conditions (Canellas et al., 2024; Martins et al., 2024). These effects are also associated with the regulation of key metabolic pathways, including phenylpropanoid metabolism, which is involved in plant defense and adaptive responses (Nabi et al., 2025).

Taken together, these physiological responses enhance the acquisition of macronutrients such as nitrogen (N), phosphorus (P), and potassium (K), even under adverse environmental conditions (Martins et al., 2024). In addition, synergistic interactions between humic substances and beneficial microorganisms have been reported, particularly in processes such as biological nitrogen fixation and phosphorus solubilization, thereby further improving nutrient use efficiency and plant growth (Canellas et al., 2022).

Protein hydrolysates and nitrogen-containing compounds

Amino acids used as biostimulants may be obtained either by chemical synthesis or through protein hydrolysis (Sun et al., 2024). In contrast, protein hydrolysates (PHs) are complex mixtures of polypeptides, oligopeptides, and free amino acids generated by the partial hydrolysis of protein-rich biomass of plant or animal origin (Malécange et al., 2023). Hydrolysis can be achieved through chemical (e.g., NaOH, KOH, HCl), thermal (e.g., superheated water, steam explosion), enzymatic (e.g., proteases, keratinases, cutinases), or combined

processes, all of which directly influence the composition and bioactivity of the resulting fractions (Wang et al., 2026). This technological versatility positions PHs as strategic bioinputs for the valorization of agro-industrial residues, including animal derived by products such as feathers, wool, leather waste, and fish residues, as well as plant derived materials such as alfalfa hay and legume seeds (Dhanasekaran et al., 2025; Farfán-Flores et al., 2025).

Beyond their role as a source of organic nitrogen, the biostimulant efficacy of PHs lies in their ability to modulate plant physiological processes (Table 2) (Sun et al., 2024). These compounds can act as signaling molecules, eliciting phytohormone like responses that promote root development and vegetative growth (Malécange et al., 2023). In addition, PHs have been reported to improve nitrogen use efficiency by stimulating key enzymes involved in nitrogen metabolism, particularly glutamine synthetase (GS) and glutamate synthase (GOGAT), thereby enhancing ammonium assimilation and its incorporation into organic compounds such as amino acids and ureides (Engel et al., 2024). This metabolic regulation has been associated with increased ureide and nitrate accumulation, as well as improved crop performance, indicating a more efficient nitrogen metabolism (Engel et al., 2024).

PHs also play an important role in abiotic stress tolerance. Functional amino acids such as proline can act as osmoprotectants, contributing to cellular stabilization and antioxidant system activation, thereby reducing oxidative damage under saline, drought, or thermal stress conditions (Pérez-Aguilar et al., 2023). In parallel, recent evidence suggests that exogenous peptide application may also participate in plant microorganism interactions in both the rhizosphere and phyllosphere, further expanding the functional scope of this category (Segonzac and Moghan, 2019; Chen et al., 2023). However, the bioactive properties of PHs are strongly dependent on the conditions and methodologies used during hydrolysis. Therefore, the development of efficient and reproducible processing protocols remains essential for obtaining consistent and agronomically effective biostimulant products (Mendes et al., 2023).

Table 2. Mechanisms and plant responses associated with protein hydrolysate-based biostimulants in crop systems

Crop	Biostimulant source	Main mechanisms	Key plant response	Reference
<i>Glycine max</i>	Collagen-derived protein hydrolysate	Enhanced N metabolism (GS/GOGAT activity); increased ureide transport	Increased pod number and grain yield	Engel et al., 2024
<i>Capsicum annuum</i>	Animal-derived protein hydrolysates (slaughterhouse residues)	Improved nutrient assimilation and metabolic activity	Increased yield and fruit nutritional quality (vitamin C, minerals)	Ávila-Pozo et al., 2023
<i>Avena sativa</i>	Keratin-derived protein hydrolysates (wool)	Amino acid supply and metabolic stimulation	Increased shoot growth and forage protein content	Farfán-Flores et al., 2025
<i>Lactuca sativa</i> , <i>Brassica rapa</i>	Animal protein hydrolysates (PAPs)	Early-stage metabolic activation; stress mitigation	Improved germination and seedling growth under stress	Pérez-Aguilar et al., 2023
<i>Solanum lycopersicum</i> , <i>Zea mays</i>	Plant- and animal-derived protein hydrolysates	Chelation and improved nutrient uptake; metabolic regulation	Increased biomass accumulation and nutrient use efficiency	Sun et al., 2024

Seaweed and plant extracts

Seaweed and plant extracts constitute a broad category of non-microbial biostimulants characterized by high compositional complexity and functional diversity. Seaweed extracts (SWEs) are primarily derived from macroalgae and are generally classified into three major groups: *Chlorophyceae* (green algae), *Phaeophyceae* (brown algae), and *Rhodophyceae* (red algae). These extracts are obtained through physical processes, such as heat, pressure, or microwave assisted extraction, as well as chemical methods involving solvents, acids, or alkalis, which enable the release of a wide range of bioactive compounds, including polysaccharides, polyphenols, macro and micronutrients, vitamins, fatty acids, and phytohormones such as cytokinins, gibberellins, auxins, abscisic acid, and betaines (Calvo et al., 2014; El Boukhari et al., 2020; López-Serrano et al., 2026).

Because of this compositional complexity, the biostimulant effects of SWEs and plant extracts cannot be attributed to a single dominant bioactive compound. Indeed, studies based on isolated fractions have shown that none of them can fully reproduce the physiological responses induced by the complete extract, supporting the idea that their activity largely depends on synergistic interactions among multiple constituents (Ali et al., 2021). This feature is particularly important when distinguishing this category from protein

hydrolysates (PHs), whose biostimulant activity is more directly associated with peptides and amino acids released during hydrolysis, even when derived from plant biomass, often of legume origin (Malécange et al., 2023). In contrast, the activity of seaweed and plant extracts is predominantly linked to the combined action of polysaccharides, growth regulating compounds, fatty acids, sterols, carotenoids, oxylipins, minerals, polyphenols, and other biologically active secondary metabolites (Ali et al., 2021).

At the physiological level, these compounds may act through multiple complementary mechanisms. These include the supply or modulation of hormonal signals involved in cell division, elongation, and differentiation, thereby promoting root and shoot growth; improved water and nutrient uptake through changes in root architecture; activation of defense responses and stress tolerance mediated by elicitor active polysaccharides; enhancement of the photosynthetic apparatus through increased chlorophyll content and metabolic efficiency; and, additionally, improvement of the rhizosphere environment by favoring beneficial soil microorganisms (López-Serrano et al., 2026). Collectively, these mechanisms position seaweed and plant extracts as multifunctional biostimulants with strong potential to improve crop performance, physiological efficiency, and resilience (Table 3).

Table 3. Mechanisms and responses of plants associated with biostimulants based on seaweed extracts

Crop	Biostimulant source	Main mechanism	Key plant response	Reference
<i>Zea mays</i>	Commercial seaweed extract (foliar application)	Enhanced nutrient use efficiency; metabolic and hormonal regulation	Increased grain yield under reduced N and P fertilization	Fatima, 2024
<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>Sargassum</i> spp. extract	Antioxidant system activation; osmotic stress mitigation	Increased biomass and improved salinity tolerance	Sariñana-Aldaco et al., 2022
<i>Persea americana</i>	<i>Durvillaea potatorum</i> / <i>Ascophyllum nodosum</i> extract	Root architecture stimulation; hormonal and metabolic modulation	Enhanced root growth, yield, and postharvest fruit quality	Arioli et al., 2024
<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>Moringa oleifera</i> leaf extract	Hormonal and antioxidant modulation	Increased vegetative growth, yield, and antioxidant enzyme activity	Culver et al., 2012
<i>Lactuca sativa</i>	<i>Borago officinalis</i> extract	Metabolic stimulation and nutrient-related effects	Improved growth and crop quality	Bulgari et al., 2017
<i>Zea mays</i>	<i>Medicago sativa</i> extract	Nitrogen metabolism modulation (glutamate synthase activity)	Enhanced plant growth	Ertani et al., 2009

Chitosan and its derivatives

Chitosan is the main derivative of chitin, a natural, biodegradable, and biocompatible biopolymer that represents the second most abundant polysaccharide in nature after cellulose (Pichyangkura & Chadcawan, 2015). Its primary sources include the exoskeletons of crustaceans, such as shrimp and crabs, as well as the cell walls of certain fungi (Baviskar et al., 2025; Rojas-Pirela et al., 2024). Chitosan functions as an elicitor capable of activating plant defense responses upon recognition by pattern recognition receptors (PRRs). This interaction triggers signaling cascades involving salicylic acid (SA) and jasmonic acid (JA) dependent pathways, promoting phytoalexin biosynthesis and the establishment of a primed physiological state that enhances plant responsiveness to both biotic and abiotic stresses (Rojas-Pirela et al., 2024; Sun et al., 2023).

In addition to its role in defense signaling, chitosan modulates plant responses to abiotic stress through the regulation of redox and osmotic homeostasis. It has been reported to induce the accumulation of osmoprotective compounds such as proline and γ -aminobutyric acid (GABA), as well as to stimulate the activity of antioxidant enzymes, including superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD), and ascorbate peroxidase (APX), thereby contributing to the mitigation of oxidative damage under adverse environmental conditions (Rojas-Pirela et al., 2024).

Chitosan may also influence plant growth through indirect modulation of hormone related pathways, with reported effects on root development and biomass accumulation. Furthermore, due to the presence of amino groups in its structure, chitosan can act as a chelating agent, enhancing nutrient availability while also contributing to the immobilization of potentially toxic heavy metals (Baviskar et al., 2025).

These effects have been supported by studies conducted under both controlled and field conditions (Table 4). In *Solanum lycopersicum*, foliar application of chitosan (300 mg L⁻¹) improved plant growth and yield-related traits, including fruit number and diameter, without negatively affecting fruit quality (Reyes-Pérez et al., 2020). Similarly, in *Abelmoschus esculentus*, chitin-enriched fertilizers promoted greater vegetative development. In medicinal plants such as *Mentha* spp. and *Artemisia* spp., chitosan has also been shown to act as a metabolic modulator, enhancing the synthesis of bioactive compounds (Sun et al., 2023). This provides an integrated overview of the physiological mechanisms induced by chitosan-based biostimulants and their positive effects on plant growth, yield, and stress tolerance in different crops, highlighting their potential as a tool for sustainable agriculture.

Table 4 Mechanisms and plant responses associated with chitosan-based biostimulants in crop systems

Crop	Chitosan-based biostimulant	Main mechanism(s)	Key plant response	Reference
<i>Solanum lycopersicum</i>	Chitosan (300 mg L ⁻¹)	Defense signaling activation (SA/JA); antioxidant regulation	Increased plant growth, fruit number, and yield without affecting fruit quality	Reyes-Pérez et al., 2020
<i>Abelmoschus esculentus</i> / <i>Solanum lycopersicum</i>	Chitin-enriched amendments	Elicitor-mediated growth stimulation; improved nutrient assimilation	Enhanced vegetative growth compared with untreated plants	Rajalakshmi et al., 2025
<i>Mentha</i> spp. / <i>Artemisia</i> spp.	Chitosan and nano-formulations	Induction of secondary metabolism; stress-response signaling	Increased phenolic and flavonoid accumulation; improved stress tolerance	Sun et al., 2023
Horticultural crops	Chitosan	Antioxidant activation; improved photosynthetic performance	Increased chlorophyll content and reduced dependency on agrochemical inputs	Baviskar et al., 2025
Multiple crop systems	Chitosan	Hormonal modulation; nutrient chelation; osmotic and redox regulation	Improved plant growth and stress resilience across environmental conditions	Rojas-Pirela et al., 2024

Inorganic compounds

Particularly silicon (Si) and, to a lesser extent, selenium (Se), have gained increasing attention as plant biostimulants due to their capacity to enhance plant growth, physiological performance, and stress tolerance beyond their conventional nutritional role. Although Si is not considered an essential element for most plant species, it is widely recognized as a beneficial or *quasi* essential element because of its contribution to structural reinforcement and stress resilience, especially when supplied as silicates, stabilized silicic acid, or nanoparticle based formulations (Khan, 2025; Kumar et al., 2025; López-Serrano et al., 2026).

One of the main mechanisms underlying the biostimulant effect of Si is biosilicification, whereby absorbed silicon is deposited in plant tissues as amorphous silica, reinforcing cell walls and acting as a physical barrier against pathogens, herbivory, and excessive water loss (Khan, 2025; Kumar et al., 2025). In addition, under abiotic stress conditions, Si contributes to ionic homeostasis by reducing Na⁺ accumulation and promoting K⁺ uptake, while also enhancing antioxidant defenses and preserving photosynthetic integrity, thereby mitigating oxidative damage (Kumar et al., 2025; Verma et al., 2024). Its efficacy may be further influenced by interactions with mineral nutrition and the rhizosphere microbiome, as co-application with nutrients such as boron or with silicate-solubilizing bacteria has been shown to improve its bioavailability and plant uptake (Da Silva Liber Lopes et al., 2023; Raza et al., 2023).

Similarly, selenium (Se) has been associated with improved stress tolerance through the activation of enzymatic antioxidants, including glutathione peroxidase, catalase, and ascorbate peroxidase, as well as through the accumulation of non-enzymatic metabolites such as phenolics, glutathione, ascorbic acid, vitamins, and photosynthetic pigments (Saed-Moucheshi and Rezaei, 2023). Moreover, Se metabolism is closely linked to sulfur and nitrogen homeostasis, suggesting broader effects on plant ionomics and metabolic acclimation under stress conditions.

Although inorganic elements have not always been strictly categorized as biostimulants, increasing evidence supports the inclusion of Si, Se, and, in some cases, Zn, Cu, and Fe based nanomaterials within the framework of inorganic or nanobiostimulants, provided that they are applied at non-nutritional doses and elicit physiological responses consistent with current functional and regulatory definitions of plant biostimulation (López-Serrano et al., 2026). Nevertheless, their classification remains highly dependent on dose, chemical form, mode of application, and target response, highlighting the need for more standardized criteria to distinguish nutritional from true biostimulant effects.

Edaphoclimatic Factors and Their Influence on Biostimulants

Understanding the effectiveness of biostimulants necessitates examining the interactions among plants, soil, microorganisms, and climate. Soil pH regulates nutrient availability and microbial activity, directly affecting the efficiency of several PBs (Halpern et al., 2015). For example, Xia et al. (2024) demonstrated that

soils with moderately neutral pH conditions favor the beneficial effects of PBs a by promoting greater physiological activity.

The effectiveness of biostimulants is also significantly affected by the content of organic matter. Organic matter content contributes to enhanced water retention, better physical structure, and increased microbial diversity (Heinonsalo et al., 2021). Also, soil texture and structure influence the persistence and mobility of biostimulants. Backer et al. (2022) reported that plant growth promoting bacteria require adequate oxygen conditions to maintain metabolic activity and effectively colonize the rhizosphere.

Regarding climatic factors, Hernández-Figueroa et al., (2022) evaluated biostimulants in green bean crops under water deficit conditions and found significant improvements in growth and water use efficiency. Similarly, Bulgari et al. (2019) reported that seaweed extracts and amino acid-based biostimulants improved the physiological stability of crops subjected to moderate drought stress.

In relation to temperature factors, Colla et al. (2017) reported that certain biostimulants stimulate antioxidant systems and promote the synthesis of protective proteins, thereby reducing the negative effects of heat stress. Similarly, some plant extracts help maintain membrane stability during low temperature episodes.

However, biostimulant effectiveness is highly context dependent, with responses varying according to crop species, environmental conditions, soil properties, and management practices, as recent meta analyses by Li et al. (2022) reported considerable variability in yield responses among field studies, highlighting the importance of genotype, environment, biostimulant interactions when evaluating agronomic performance.

Omics Strategies for Evaluating Biostimulants

The use of molecular biology, metagenomics, and plant physiology tools has enabled a more precise understanding of the mechanisms underlying plant responses to biostimulants. Metagenomics, transcriptomics, proteomics and metabolomics facilitate the identification of genes, proteins, metabolites, and physiological responses associated with the use of PBs applications, providing a system

level understanding of cellular processes and enabling accurate characterization of their mechanisms of action (Zuluaga et al., 2023).

Metagenomics is a valuable tool for characterizing shifts in rhizosphere and endophytic microbial communities following biostimulant application. This approach enables the identification of microbial taxa and functional genes associated with nutrient cycling, plant growth promotion, and stress mitigation, thereby improving our understanding of plant microbiome interactions under biostimulation strategies (Baltazar et al., 2021; Kaushal et al., 2023).

To date, transcriptomics is one of the most widely used approaches for evaluating the molecular responses induced by PBs. RNA-Seq and microarray technologies are the main tools that have allowed the analysis of changes in gene expression associated with specific physiological processes. Numerous studies have demonstrated that biostimulants derived from seaweed extracts, humic substances, amino acids, and microorganisms can induce genes involved in energy metabolism, phytohormone synthesis, nutrient uptake, antioxidant mechanisms, and tolerance to drought, salinity, and oxidative stress (Ertani et al., 2013).

Proteomics enables the evaluation of changes in protein abundance and functionality in response to biostimulant application. Mass spectrometry-based techniques, such as LC-MS/MS, allow the identification of proteins involved in photosynthesis, carbon metabolism, cellular respiration, reactive oxygen species detoxification, and defense compound biosynthesis. In addition, proteomics facilitates the analysis of post-translational modifications, such as phosphorylation and glycosylation, which are essential for regulating metabolic pathways and cellular signaling mechanisms (Colla et al., 2014; Zuluaga et al., 2023).

Among omics approaches, metabolomics is one of the most relevant tools for characterizing the complete metabolic effects of biostimulants, as it directly analyzes the metabolites accumulated in plant tissues. This approach provides insights into how biostimulants alter the metabolic pathways involved in antioxidant synthesis, osmotic

regulation, energy metabolism, and secondary metabolite production associated with plant defense. Metabolomics also facilitates the identification of metabolic biomarkers linked to favorable physiological responses, contributing to the development of more efficient and targeted biostimulant products (Halpern et al., 2015; Zuluaga et al., 2023).

The integration of metagenomics, transcriptomics, proteomics, and metabolomics has markedly enhanced our comprehension of the intricate biological processes initiated by plant biostimulants. Although each omics approach yields valuable insights at distinct biological levels, their combined application furnishes a comprehensive systems biology perspective. This perspective interconnects microbial dynamics, gene expression, protein regulation, and metabolic responses, thereby facilitating the identification of molecular markers linked to plant growth promotion and stress tolerance. Furthermore, it supports the development of more effective, targeted, and scientifically validated biostimulant formulations.

Future Perspectives and Research Directions

The use of PBs has expanded rapidly in both scientific research and commercial agriculture, creating significant opportunities for more efficient and resilient crop production, while also posing important challenges for their agronomic consolidation. One of the main challenges lies in advancing the understanding of their mechanisms of action at the molecular, physiological, and ecological levels, since many of their effects remain highly dependent on crop species, edaphoclimatic conditions, and agronomic management practices. In this context, it is essential to integrate omics based approaches, including transcriptomics, metabolomics, and proteomics, with field validation trials in order to identify key bioactive compounds, response biomarkers, and the conditions under which their efficacy can be maximized (Mashabela et al., 2025).

In parallel, the integration of PBs with precision agriculture technologies represents one of the most promising avenues for their rational application. The use of remote

sensing, real time monitoring, the Internet of Things (IoT), and predictive models could enable biostimulation strategies tailored to genotype, phenological stage, nutrient availability, and environmental conditions, thereby optimizing dose, timing, and formulation while reducing variability in agronomic responses (Khoulati et al., 2025; Mashabela et al., 2025).

Another critical challenge is the need to move toward more harmonized and evidence based regulatory frameworks capable of establishing clear criteria for product characterization, quality, safety, and efficacy. Figure 3 highlights the importance of considering the practical implications for the successful use of biostimulants, including environmental conditions, agronomic management practices, crop specific responses, biostimulant composition and formulation, and economic and regulatory constraints. The primary objective of biostimulants is to enhance plant growth, improve stress tolerance, increase nutrient use efficiency, and improve crop quality. They are not intended to replace fertilizers or pesticides but rather to enhance plant physiological and biochemical processes. Therefore, the effectiveness of PBs application is inherently multifactorial.

The heterogeneity of formulations, together with the lack of standardized methodologies for their evaluation, continues to limit comparability among studies and their large scale adoption. Therefore, strengthening validation schemes under real production conditions and developing more robust and reproducible protocols will be essential to support functional claims and facilitate regulatory acceptance (Khoulati et al., 2025). Overall, the future of the sector points toward the development of next generation, multifunctional PBs designed to simultaneously modulate nutrient use, plant growth, stress tolerance, and plant microbiome interactions. From this perspective, progress in the field will depend on truly interdisciplinary approaches integrating plant physiology, microbiology, biotechnology, natural product chemistry, soil science, and applied agronomy. If this transition is successfully consolidated, PBs may play a strategic role in the design of more sustainable, resilient, and resource efficient agricultural systems.

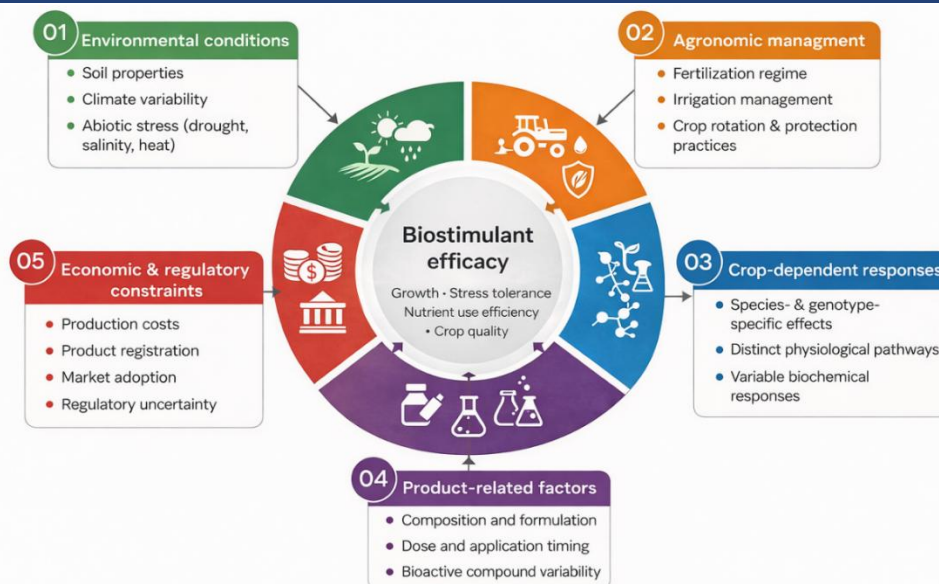


Figure 3. Main factors that determine the performance of plant biostimulants in agricultural systems.

Conclusion

Plant biostimulants have emerged as key components of sustainable agricultural systems because of their capacity to enhance nutrient use efficiency, crop productivity, and resilience to environmental stress. This review highlights that microbial biostimulants including arbuscular mycorrhizal fungi, *Trichoderma* spp., PGPR, endophytes, and microbial consortia primarily enhance plant performance through nutrient acquisition, hormonal modulation, and rhizosphere-mediated interactions. In parallel, non-microbial biostimulants such as humic substances, protein hydrolysates, seaweed and plant extracts, chitosan, and certain inorganic compounds act through multifactorial mechanisms involving nutrient assimilation, redox regulation, osmotic adjustment, and stress signaling pathways. The evidence analyzed also indicates that the effectiveness of biostimulants is strongly influenced by edaphoclimatic conditions, crop genotype, and management practices, underscoring the need for context-specific validation. Furthermore, the integration of omics approaches, including metagenomic, transcriptomic, proteomic and metabolomic analyses, offers powerful tools to identify bioactive compounds, molecular targets, and physiological biomarkers associated with biostimulant responses. Finally, future progress in the field will require

interdisciplinary efforts that combine plant physiology, microbiology, soil science, biotechnology, and precision agriculture. Such integration will be critical for developing next generation biostimulants with improved efficacy, reproducibility, and adaptability, thereby contributing to more sustainable, resilient, and resource efficient agricultural systems.

Author contributions

MGCB & GASF: first authors, investigation, analysis, and writing – original draft & review. CFF: methodology, investigation, data analysis, editing and writing – original draft & review. SAJ: conceptualization and writing – review & editing. SHL: writing – review & editing. OAC: conceptualization, writing – review & editing, and project administration.

Referencias

- Adedayo, A. A., & Babalola, O. O. (2023). The potential of biostimulants on soil microbial community: A review. *Frontiers in Industrial Microbiology*, 1, 1308641.
- Ali, S., Akhtar, M. S., Siraj, M., & Zaman, W. (2024). Molecular Communication of Microbial Plant Biostimulants in the Rhizosphere Under Abiotic Stress Conditions. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(22), 12424. <https://doi.org/10.3390/ijms252212424>.

Ali, S., Charles, T. C., & Glick, B. R. (2022). Endophytic phytohormones and their role in plant growth promotion under stress conditions. *Frontiers in Plant Science*, 13, 897456.

Aloo, B. N., et al. (2022). The potential role of microbial biostimulants in the amelioration of climate change-associated abiotic stresses on crops. *Frontiers in Microbiology*.

Alsudays, I. M., Alshammary, F. H., Alabdallah, N. M., Alatawi, A., Alotaibi, M. M., Alwutayd, K. M., Alharbi, M. M., Alghanem, S. M. S., Alzuair, F. M., Gharib, H. S., & Awad-Allah, M. M. A. (2024). Applications of humic and fulvic acid under saline soil conditions to improve growth and yield in barley. *BMC Plant Biology*, 24(1), 191. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-04863-6>

Ampong K, Thilakaranthna M.S., and Gorim L.Y. (2022). Understanding the Role of Humic Acids on Crop Performance and Soil Health. *Front. Agron.* 4:848621. doi: 10.3389/fagro.2022.848621

Arioli, T., Mattner, S. W., Islam, M. T., Tran, T. L. C., Weisser, M., Winberg, P., & Cahill, D. M. (2024). Applications of seaweed extracts in agriculture: An Australian perspective. *Journal of Applied Phycology*, 36(2), 713–726. <https://doi.org/10.1007/s10811-023-03120-x>

Ávila-Pozo, P., Parrado, J., Martín-Presas, L., Orts, J. M., & Tejada, M. (2023). Application of a Protein Hydrolysate-Based Biostimulant Obtained from Slaughterhouse Sludge on Pepper Crops. *Horticulturae*, 9(10), 1147. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9101147>

Baltazar, M., Correia, S., Guinan, K. J., Sujeeth, N., Bragança, R., & Gonçalves, B. (2021). Recent Advances in the Molecular Effects of Biostimulants in Plants: An Overview. *Biomolecules*, 11(8), 1096. <https://doi.org/10.3390/biom11081096>

Backer, R., Rokem, J. S., Ilangumaran, G., et al. (2022). Plant growth-promoting microorganisms in sustainable agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106, 635–654.

Banerjee, S., Walder, F., Büchi, L., et al. (2023). *Keystone taxa as drivers of microbiome structure and functioning*. *Nature Reviews Microbiology*, 21, 407–420.

Baviskar, S. B., Raut, R. A., Shende, P. V., Madke, V., Kamdi, S., Mahentesh, V., & Shivran, A. (2025). CHITOSAN IS AN EFFICIENT TOOL FOR PRECISION AGRICULTURE AND SUSTAINABILITY: A REVIEW. *Plant Archives*, 25(1). <https://doi.org/10.51470/PLANTARCHIVE.S.2025.v25.no.1.244>

Begum, N., Qin, C., Ahanger, M. A., Raza, S., Khan, M. I., Ashraf, M., Ahmed, N., & Zhang, L. (2019). Role of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Plant Growth Regulation: Implications in Abiotic Stress Tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1068. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01068>

Bergstrand, K. J. (2022). Organic fertilizers in greenhouse production systems – a review. *Scientia Horticulturae*, 295, 110855. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110855>

Bulgari, R., Franzoni, G., & Ferrante, A. (2019). Biostimulants application in horticultural crops under abiotic stress conditions. *Agronomy*, 9(6), 306. <https://doi.org/10.3390/agronomy9060306>

Bulgari, R., Morgutti, S., Cocetta, G., Negrini, N., Farris, S., Calcante, A., Spinardi A., Ferrari E., Mignani I., Oberti R., Ferrante, A. (2017). Evaluation of borage extracts as potential biostimulant using a phenomic, agronomic, physiological, and biochemical approach. *Frontiers in Plant Science*, 8, 935. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00935>

Artículos

Calvo, P., Nelson, L., & Kloepper, J. W. (2014). Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and soil*, 383(1), 3-41. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2131-8>

Canellas, L. P., Canellas, N. O. A., Da Silva, R. M., Spaccini, R., Mota, G. P., & Olivares, F. L. (2022). Biostimulants Using Humic Substances and Plant-Growth-Promoting Bacteria: Effects on Cassava (*Manihot esculentus*) and Okra (*Abelmoschus esculentus*) Yield. *Agronomy*, 13(1), 80. <https://doi.org/10.3390/agronomy13010080>

Canellas, L. P., Da Silva, R. M., Busato, J. G., & Olivares, F. L. (2024). Humic substances and plant abiotic stress adaptation. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 11(1), 66. <https://doi.org/10.1186/s40538-024-00575-z>

Chaudhary, P., Singh, S., Chaudhary, A., Sharma, A., & Kumar, G. (2022). Overview of biofertilizers in crop production and stress management for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 13, 930340. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.930340>

Chen, D., Saeed, M., Ali, M. N. H. A., Raheel, M., Ashraf, W., Hassan, Z., Hassan, M. Z., Farooq, U., Hakim, M. F., Rao, M. J., Naqvi, S. A. H., Moustafa, M., Al-Shehri, M., & Negm, S. (2023). Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Arbuscular Mycorrhizal Fungi Combined Application Reveals Enhanced Soil Fertility and Rice Production. *Agronomy*, 13(2), 550. <https://doi.org/10.3390/agronomy13020550>

Colla, G., Hoagland, L., Ruzzi, M., Cardarelli, M., Bonini, P., Canaguier, R., & Rouphael, Y. (2017). Biostimulant action of protein hydrolysates: Unraveling their effects on plant physiology and microbiome. *Frontiers in plant science*, 8, 327435. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02202>

Colla, G., Nardi, S., Cardarelli, M., Ertani, A., Lucini, L., Canaguier, R., & Rouphael, Y. (2015). Protein hydrolysates as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 28-38. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.08.037>

Compant, S., Samad, A., Faist, H., & Sessitsch, A. (2021). The plant microbiome in sustainable agriculture. *Journal of Advanced Research*, 40, 81-95.

Da Silva Liber Lopes, P. M., Campos, C. N. S., Teodoro, P. E., Costa, M. G., De Souza Júnior, J. P., & De Mello Prado, R. (2023). The synergistic effects of soil-applied boron and foliar-applied silicon on cotton fiber quality and yield. *BMC Plant Biology*, 23(1), 520. <https://doi.org/10.1186/s12870-023-04542-y>

da Silva, M. d. G. C., de Medeiros, A. O., Roque, B. A. C., dos Santos, M. R., Bezerra, K. G. O., de Almeida, F. C. G., & Sarubbo, L. A. (2026). Next-Generation Bioinputs: A Systematic Review of Biosurfactants in Sustainable Agriculture and Research Frontiers with Bacterial Cellulose. *Processes*, 14(3), 398. <https://doi.org/10.3390/pr14030398>

Dhanasekaran Solairaj, Lisha Liang, Yaqi Chen, Jingwei Chen, Shuaiying Guo, Xiaoyun Zhang, Lina Zhao, Hongyin Zhang. (2025). Alginate oligosaccharide induces resistance against *Penicillium expansum* in pears by priming defense responses. *Plant Physiology and Biochemistry*. Volume 220. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2025.109531>.

Debasmita B., Jesna F., Noori M., Sohrab Z. Talib M., Abbas A., Pritha C, Ponnusami, V., Brian P., Ruiz Espinoza J. (2026). Sustainable agriculture through environmental adaptation engineering for waste management. *Green Technologies and Sustainability*. Vol 4, Issue 1. <https://doi.org/10.1016/j.grets.2025.100242>.

Du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, 196, 3–14.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>

El Boukhari, M. E. M., Barakate, M., Bouhia, Y., & Lyamlouli, K. (2020). Trends in Seaweed Extract Based Biostimulants: Manufacturing Process and Beneficial Effect on Soil-Plant Systems. *Plants*, 9(3), 359.
<https://doi.org/10.3390/plants9030359>

Engel, D. C. H., Feltrim, D., Rodrigues, M., Baptistella, J. L. C., & Mazzafera, P. (2024). Application of Protein Hydrolysate Improved the Productivity of Soybean under Greenhouse Cultivation. *Agriculture*, 14(8), 1205.
<https://doi.org/10.3390/agriculture14081205>

Ertani, A., Schiavon, M., Muscolo, A., & Nardi, S. (2013). Alfalfa plant-derived biostimulant stimulate short-term growth of salt stressed Zea mays L. plants. *Plant and soil*, 364(1), 145-158.

Farfán-Flores, C., López-Pérez, P. A., Lucho-Constantino, C. A., Armenta-Jaime, S., Hernández-León, S., & Arce-Cervantes, O. (2025). Applications of sheep's wool in the fertilization of agricultural crops: A strategy for its valorization.
<https://doi.org/10.30973/aap/2025.10.0111019>

Fasusi, O. A., Babalola, O. O., & Adejumo, T. O. (2023). Harnessing of plant growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystem sustainability. *CABI Agriculture and Bioscience*, 4(1), 26.
<https://doi.org/10.1186/s43170-023-00168-0>

Fatima, M. M. (2024). Maize response to mineral fertilizers and seaweed extract for growth and yield related traits. *SABRAO Journal of Breeding and Genetics*, 56(4), 1738–1748.
<https://doi.org/10.54910/sabrao2024.56.4.39>

Franzoni, G., Cocetta, G., Prinsi, B., Ferrante, A., & Espen, L. (2022). Biostimulants on Crops: Their Impact under Abiotic Stress Conditions. *Horticulturae*, 8(3), 189.
<https://doi.org/10.3390/horticulturae8030189>

Hernández-Figueroa, K. I., Sánchez-Chávez, E., Ojeda-Barrios, D.L., Chávez-Mendoza, C., Muñoz-Márquez, E., & Palacio-Márquez, A. (2022). Effectiveness of the application of biostimulants in snap bean under water stress. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 13, 149-160.
<https://doi.org/10.29312/remexca.v13i28.3270>

García-Sánchez, F., Simón-Grao, S., Navarro-Pérez, V., & Alfosea-Simón, M. (2022). Scientific Advances in Biostimulation Reported in the 5th Biostimulant World Congress. *Horticulturae*, 8(7), 665.
<https://doi.org/10.3390/horticulturae8070665>

Gen-Jiménez A, Flores-Félix J.D, Rincón-Molina C.I, Manzano-Gómez L.A., Villalobos-Maldonado J.J, Ruiz-Lau N, Roca-Couso R, Ruíz-Valdiviezo V.M., Rincón-Rosales R., (2025). Native *Rhizobium* biofertilization enhances yield and quality in *Solanum lycopersicum* under field conditions. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. 41(4):126. DOI: 10.1007/s11274-025-04349-z. PMID: 40189708

Halpern, M., Bar-Tal, A., Ofek, M., Minz, D., Muller, T., & Yermiyahu, U. (2015). The use of biostimulants for enhancing nutrient uptake. *Advances in agronomy*, 130, 141-174.
<https://doi.org/10.1016/bs.agron.2014.10.001>

Hamid, B., Zaman, M., Farooq, S., Fatima, S., Sayyed, R. Z., Baba, Z. A., Sheikh, T. A., Reddy, M. S., El Enshasy, H., Gafur, A., & Suriani, N. L. (2021). Bacterial Plant Biostimulants: A Sustainable Way towards Improving Growth, Productivity, and Health of Crops. *Sustainability*, 13(5), 2856.

<https://doi.org/10.3390/su13052856>

Heinonsalo, J., Peltokangas, K., Barré, P., Baudin, F., Cécillon, L., Kalu, S., Kanerva, S., Karhu, K., Kulmala, L., Liski, J., Salonen, A.-R., Shrestha, R., Soinne, H., Virtanen, E., Huusko, K., Sietiö, O.-M. (2025). Effects of biochar, ligneous soil amendments, and a microbial stimulant on soil biological activity, and carbon content and stability after two-years of their application in a boreal cropland, *Heliyon*, 11:12.

<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2025.e43536>.

Jin, S., and Alberti, F. (2025). Advances in the discovery and study of *Trichoderma* natural products for biological control applications. *Natural Product Reports*. DOI: 10.1039/d5np00017c rsc.li/npr

Kaushal, P., Ali, N., Saini, S., Pati, P. K., & Pati, A. M. (2023). Physiological and molecular insight of microbial biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1041413. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1041413>

Khan, A. L. (2025). Silicon: A valuable soil element for improving plant growth and CO₂ sequestration. *Journal of Advanced Research*, 71, 43–54. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2024.05.027>

Khoulati, A., Ouahhoud, S., Taibi, M., Ezrari, S., Mamri, S., Merah, O., Hakkou, A., Addi, M., Maleb, A., & Saalaoui, E. (2025). Harnessing biostimulants for sustainable agriculture: Innovations, challenges, and future prospects. *Discover Agriculture*, 3(1), 56. <https://doi.org/10.1007/s44279-025-00177-9>

Kumar, A., Singh, S., Gaurav, A. K., Srivastava, S., & Verma, J. P. (2023). Endophytic microbiome and its potential applications in sustainable agriculture. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1187652.

Kumar, A., Choudhary, A., Kaur, H., Singh, K., Guha, S., Choudhary, D. R., Sonkar, A., Mehta, S., & Husen, A. (2025). Exploring the role of silicon in enhancing

sustainable plant growth, defense system, environmental stress mitigation and management. *Discover Applied Sciences*, 7(5), 406. <https://doi.org/10.1007/s42452-025-06866-w>

Li, J., Van Gerrewey, T., & Geelen, D. (2022). A Meta-Analysis of Biostimulant Yield Effectiveness in Field Trials. *Frontiers in Plant Science*, 13, 836702. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.836702>

López-Serrano, L., Scalschi, L., Simeón, R., San Bautista, A., & González-Hernández, A. I. (2026). Harnessing the Power of Biostimulants: A Comprehensive Review of Their Role in Enhancing Agricultural Productivity and Sustainability. *Applied Sciences*, 16(4), 1924.

<https://doi.org/10.3390/app1604192>

Lv, X., Li, Q., Deng, X., Ding, S., Sun, R., Chen, S., Yun, W., Dai, C., & Luo, B. (2024). Fulvic acid application increases rice seedlings performance under low phosphorus stress. *BMC Plant Biology*, 24(1), 703. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05435-4>

Maffia, A., Oliva, M., Marra, F., Mallamaci, C., Nardi, S., & Muscolo, A. (2025). Humic Substances: Bridging Ecology and Agriculture for a Greener Future. *Agronomy*, 15(2), 410. <https://doi.org/10.3390/agronomy15020410>

Malécange, M., Sergheraert, R., Teulat, B., Mounier, E., Lothier, J., & Sakr, S. (2023). Biostimulant Properties of Protein Hydrolysates: Recent Advances and Future Challenges. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(11), 9714. <https://doi.org/10.3390/ijms24119714>

Martins, E. M., Pillajo, J. Q., & Jones, M. L. (2024). Humic and Fulvic Acids Promote Growth and Flowering in Petunias at Low and Optimal Fertility. *HortScience*, 59(2), 235–244. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI17554-23>

Mashabela, M. D., Terefe, T., Kerchev, P., Sitole, L., & Mhlongo, M. I. (2025). Next-generation biostimulants: Molecular insights, digital integration, and regulatory frameworks for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 16, 1710899. <https://doi.org/10.3389/fpls.2025.1710899>

Mendes, R., de Barros, I., D'Andréa, P. A., D'Andréa-Kühl, M. S. C., & Rodrigues, G. S. (2023). A multi-attribute approach to evaluating the impact of biostimulants on crop performance. *Frontiers in plant science*, 14, 1214112. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1214112>

Nabi, F., Sarfaraz, A., Kama, R., Kanwal, R., & Li, H. (2025). Structure-based function of humic acid in abiotic stress alleviation in plants: a review. *Plants*, 14(13), 1916. <https://doi.org/10.3390/plants14131916>

Nadeem, S. M., Imran, M., Naveed, M., et al. (2021). Synergistic use of endophytic microorganisms as biofertilizers and biostimulants under abiotic stress. *Sustainability*, 13, 11495

Negi, R., Kumari, A., Singh, J., et al. (2024). Microbial Consortia: Promising Tool as Plant Bioinoculants for Agricultural Sustainability. *Current Microbiology*, 81, 222.

Orozco-Mosqueda, M. D. C., Santoyo, G., & Glick, B. R. (2021). Recent advances in the bacterial ACC deaminase activity and plant growth promotion. *Plants*, 10, 1018.

Orozco-Mosqueda, M.D. C., Ayomide, E.F., Olubukola O. B., Bernard R. G., Santoyo, G. (2022). Rhizobiome engineering: Unveiling complex rhizosphere interactions to enhance plant growth and health. *Microbiological Research*. Vol 263. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127137>.

Pérez-Aguilar, H., Lacruz-Asaro, M., & Arán-Ais, F. (2023). Evaluation of Biostimulants Based on Recovered Protein Hydrolysates from Animal By-products as Plant Growth Enhancers. *Journal of Plant Science and*

Phytopathology, 7(2), 042–047. <https://doi.org/10.29328/journal.jpssp.1001104>

Pichyangkura, R., & Chadchawan, S. (2015). Biostimulant activity of chitosan in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 49-65. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.031>

Quijia Pillajo, J., Chapin, L. J., Martins, E. M., & Jones, M. L. (2024). A Biostimulant Containing Humic and Fulvic Acids Promotes Growth and Health of Tomato 'Bush Beefsteak' Plants. *Horticulturae*, 10(7), 671. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10070671>

Rajalakshmi, G., Balan, S., K, R., & Sankaran, G. B. (2025). Marine Derived Chitin as a Promising Bio- Stimulant for Sustainable Agriculture. *The Trout Journal of Atatürk University*, 3(1), 19–28. <https://doi.org/10.62425/tjau.1709307>

Rathor, P., Upadhyay, P., Ullah, A., Gorim, L. Y., & Thilakarathna, M. S. (2024). Humic acid improves wheat growth by modulating auxin and cytokinin biosynthesis pathways. *AoB PLANTS*, 16(2), plae018. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plae018>

Raza, T., Abbas, M., Amna, Imran, S., Khan, M. Y., Rebi, A., Rafie-Rad, Z., & Eash, N. S. (2023). Impact of Silicon on Plant Nutrition and Significance of Silicon Mobilizing Bacteria in Agronomic Practices. *Silicon*, 15(9), 3797–3817. <https://doi.org/10.1007/s12633-023-02302-z>

Regulation of the European Parliament and of the Council Laying down Rules on the Making Available on the Market of EU Fertilising Products and Amending Regulations (EC) No 1069/2009 and (EC) No 1107/2009 and Repealing Regulation (EC) No 2003/2003, Regulation (EU) 2019/1009 (2019). https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=oj:JOL_2019_170_R_TOC

Reyes-Pérez, J., Enríquez-Acosta, E. A., Ramírez-Arrebato, M. Á., Zúñiga Valenzuela, E., Lara-Capistrán, L., & Hernández-Montiel, L. G. (2020). Efecto del quitosano sobre variables del crecimiento, rendimiento y contenido nutricional del tomate. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(3), 457–465. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i3.2392>

Roche, D., Rickson, J. R., & Pawlett, M. (2024). Moving towards a mechanistic understanding of biostimulant impacts on soil properties and processes: A semi-systematic review. *Frontiers in Agronomy*, 6, 1271672. <https://doi.org/10.3389/fagro.2024.1271672>

Rojas-Pirela, M., Carillo, P., Lárez-Velásquez, C., & Romanazzi, G. (2024). Effects of chitosan on plant growth under stress conditions: Similarities with plant growth promoting bacteria. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1423949. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1423949>

Rouphael, Y., & Colla, G. (2020). Editorial: Biostimulants in Agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 11, 40. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00040>

Ruzzi, M., & Aroca, R. (2015). Plant growth-promoting rhizobacteria act as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 124–134. doi: 10.1016/j.scienta.2015.08.042.

Saed-Moucheshi, A., & Rezaei M. E. (2023). A Review on Selenium Function under Oxidative Stress in Plants Focusing on ROS Production and Detoxification, *Phyton-International Journal of Experimental Botany*. 92: 7. <https://doi.org/10.32604/phyton.2023.027810>.

Sagar, A., Rathore, P., Ramteke, P. W., Ramakrishna, W., Reddy, M. S., & Pecoraro, L. (2021). Plant Growth Promoting Rhizobacteria, Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Their Synergistic Interactions to Counteract the Negative Effects of Saline Soil on Agriculture: Key Macromolecules and Mechanisms.

Microorganisms, 9(7), 1491. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071491>

Santoyo, G., Guzmán-Guzmán, P., Parra-Cota, F. I., et al. (2021). Plant growth-promoting bacterial endophytes as biostimulants of agricultural crops. *Microbiological Research*, 255, 126919. Sariñana-Aldaco, O., Benavides-Mendoza, A., Robledo-Olivo, A., & González-Morales, S. (2022). The Biostimulant Effect of Hydroalcoholic Extracts of Sargassum spp. In Tomato Seedlings under Salt Stress. *Plants*, 11(22), 3180. <https://doi.org/10.3390/plants11223180>

Segonzac, C., & Monaghan, J. (2019). Modulation of plant innate immune signaling by small peptides. *Current opinion in plant biology*, 51, 22–28. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2019.03.007>

Sun, W., Shahrajabian, M. H., Kuang, Y., & Wang, N. (2024). Amino Acids Biostimulants and Protein Hydrolysates in Agricultural Sciences. *Plants*, 13(2), 210. <https://doi.org/10.3390/plants13020210>

Sun, W., Shahrajabian, M. H., Petropoulos, S. A., & Shahrajabian, N. (2023). Developing Sustainable Agriculture Systems in Medicinal and Aromatic Plant Production by Using Chitosan and Chitin-Based Biostimulants. *Plants*, 12(13), 2469. <https://doi.org/10.3390/plants12132469>

Tabacchioni, S., Passato, S., Ambrosino, P., Huang, L., Caldara, M., Cantale, C., Hett, J., Del Fiore, A., Fiore, A., Schlüter, A., Sczyrba, A., Maestri, E., Marmioli, N., Neuhoff, D., Nesme, J., Sørensen, S. J., Aprea, G., Nobili, C., Presenti, O., ... Bevivino, A. (2021). Identification of Beneficial Microbial Consortia and Bioactive Compounds with Potential as Plant Biostimulants for a Sustainable Agriculture. *Microorganisms*, 9(2), 426. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020426>

Trivedi, P., Leach, J. E., Tringe, S. G., Sa, T., & Singh, B. K. (2020). Plant–microbiome interactions: From community

assembly to plant health. *Nature Reviews Microbiology*, 18, 607–621.

Trivedi, P., Delgado-Baquerizo, M., Anderson, I. C., & Singh, B. K. (2023). Plant microbiome interactions and sustainable agriculture. *Nature Reviews Microbiology*, 21, 227–242.

Verma, K. K., Song, X.-P., Liang, Q., Huang, H.-R., Bhatt, R., Xu, L., Chen, G.-L., & Yang, R.L.. (2024). Unlocking the role of silicon against biotic stress in plants. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1430804.

<https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1430804>

Verma, K.K., Song, X., Singh, M., Tian D., Rajput V., Minkina T.& Yang, R.L., (2023). Association of silicon and soil microorganisms induces stress mitigation, increasing plant productivity. *Benefits Silicon Nutr. Plantspp*, 299–328. doi: 10.1007/978-3-031-26673-7_17

Wang, R., Zhang, Y., Cui, H., Fu, W., Tan, D., Liu, Q. , Ji, X., Zhu, L., Wang, S. (2026).Comprehensive assessment of

hydrolyzed pig hoof keratin (HPHK) as a potential food ingredient: Stability, techno-functional properties, in vitro, and in silico bioactivities. *Food Chemistry*. 508, Part A,148312.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2026.148312>.

Xia Y, Feng J, Zhang H, Xiong D, Kong L, Seviour R, Kong Y. (2024). Effects of soil pH on the growth, soil nutrient composition, and rhizosphere microbiome of *Ageratina adenophora*. *Peer J*. 16;12: e17231.

doi: 10.7717/peerj.17231.

Yakhin, O. I., Lubyantsev, A. A., Yakhin, I. A., & Brown, P. H. (2017). Biostimulants in Plant Science: A Global Perspective. *Frontiers in Plant Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02049>

Zuluaga, M. Y. A., Milani, K. M. L., Miras-Moreno, B., Lucini, L., & Valentinuzzi, F. (2023). Omics approaches for understanding the mode of action of biostimulants in plants. *Plants*, 12, 580.

Revolucionando el Compostaje Domiciliario: Una Solución para los Residuos Orgánicos Complejos

Diego Bustos, Gabriela Elgueta, Viviana Chávez, Jorge Parodi

Sociedad laboratorio de investigación y educación Chávez Ltda, Temuco, Chile
Autor de correspondencia: Jorge Parodi Soc. Lab. Inv. y Edu. Chavez Ltd. Temuco, Chile
jparodi@tonalli-ltda.com

Resumen

El manejo de residuos orgánicos ha sido un problema en los últimos años, junto con la pérdida de un recurso. Las soluciones de compostaje han sido un gran desarrollo, pero tienen el problema de tomar tiempo, generar olores y no poder incorporar todo tipo de proteínas. Pretendemos presentar una innovación en compostaje domiciliario mediante un catalizador que permite compostar residuos orgánicos complejos como proteínas animales, neutralizando olores, evitando plagas, mejorando la estabilidad del proceso y produciendo un compost seguro y nutritivo. Para esto generamos un modelo de compostaje domiciliario en diversas condiciones, donde incorporamos proteínas naturales con y sin catalizador, y medimos la generación de óleo, gasa y cambios en componente orgánico. El proceso de catalización consistió en agregar las proteínas animales en una proporción 1:1 con un reactivo denominado DOCRO, que corresponde a una mezcla compleja de catalizadores químicos, y luego agregar esa materia a la composta. Nuestros resultados indican que se genera una reducción del olor, sin generar gases y modificando los valores de nitrógeno, fósforo y potasio, lo que sugiere que este catalizador permite ir superando las limitaciones del compostaje tradicional y ofreciendo una alternativa ecológica superior a la disposición en vertederos.

Introducción

La gestión de residuos sólidos domiciliarios se ha convertido en uno de los desafíos ambientales más apremiantes en los entornos urbanos (Wei et al., 2017). En este contexto, la gestión individual en el hogar emerge como una estrategia fundamental para mitigar la presión sobre los sistemas de recolección y disposición final (Shurson, 2020). El compostaje, un proceso natural de descomposición biológica, se presenta como una herramienta extraordinariamente eficaz, pero sus limitaciones tradicionales han constituido una barrera significativa para maximizar su impacto a nivel doméstico (Bouchtaoui et al., 2024; Woods et al., 2025). El potencial del compostaje domiciliario es inmenso; es capaz de reducir el volumen total de residuos generados por un hogar hasta en un 50% mediante la revalorización de la materia orgánica (Tao et al., 2023). Sin embargo, el problema central del compostaje convencional radica en la exclusión necesaria de ciertos materiales orgánicos complejos, como proteínas animales no se puede usar (Wei et al., 2017). Esta restricción limita su alcance y disuade a muchos de adoptarlo como una solución integral (Wei et al., 2017). Tradicionalmente, se recomienda evitar la

inclusión de los siguientes tipos de residuos en las composteras domésticas por razones científicas bien definidas: Residuos de Proteína Animal (carnes, lácteos): Su descomposición en sistemas no controlados tiende a generar olores fuertes y desagradables (Scaglia et al., 2011). Esto se debe a que la degradación de proteínas puede producir compuestos nitrogenados y sulfurosos volátiles, como el amoníaco y los mercaptanos, que además actúan como un potente atrayente para insectos, roedores y otras plagas no deseadas (International Humic Substances Society et al., 2013; Tao et al., 2023). Este es una gran desventaja porque complica el uso de todos los desechos orgánicos en la compostera, domiciliarias y reduce su aceptación e incorporación (Vodounnou et al., 2016; Zhang et al., 2020). En modelos más industriales ha obligado a usar materiales para reducir los olores, mejorar los procesos de degradación de proteínas y mantener el equilibrio carbono-nitrogeno, en las comunidades de bacterias presentes en las pilas de compostaje (Aycan Dümenci et al., 2023; Bouchtaoui et al., 2024; Zhang et al., 2020). La incapacidad de compostar estos materiales en casa tiene consecuencias ambientales directas. Cuando

estos residuos se desechan con la basura común, terminan en vertederos donde, debido a la compactación y la falta de oxígeno, se descomponen de manera anaeróbica (Devi et al., 2025). Este proceso es fundamentalmente distinto del compostaje aeróbico y controlado. La descomposición anaeróbica en vertederos genera metano (CH_4), un gas de efecto invernadero, y compuestos de sulfuro, responsables de malos olores, lo que contribuye significativamente al cambio climático (Min et al., 2025; Woods et al., 2025). Además, produce lixiviados contaminantes que pueden infiltrarse en el suelo y contaminar fuentes de agua subterránea (Ferreira et al., 2023). A un nivel más industrial y de manejo de lodos industriales, hemos demostrado que el uso de catalizadores químicos puede generar en forma rápida la degradación de este tipo de materia orgánica sin la generación de olores (Plaza et al., 2022). Además, compuestos similares fueron usados para el manejo de mortalidad de peces y disposición a suelo sin requerir compostaje, manejando proteínas animales, sin olor y contaminación (Parodi et al., 2022). Recientemente, mediante la modificación de este catalizador, se ha logrado gestionar residuos de bivalvos e incorporarlos al suelo sin producir olores ni atraer vectores. (Bustos, 2024) Superar estas limitaciones representa un avance fundamental para convertir el compostaje domiciliario en una solución integral y universal para la gestión de residuos orgánicos. Para ello, hemos desarrollado un catalizador químico que puede utilizarse como aditivo en el manejo de composteras, permitiendo la inclusión de proteínas animales en el proceso y mitigando los problemas asociados al compostaje doméstico mediante el uso de este catalizador de residuos orgánicos.

Materiales y Métodos

Desarrollo catalizador

El catalizador, Docro compost, es un producto registrado como aditivo para composteras a base de detergente enzimático según norma de productos en la legislación nacional. Es una mezcla compleja de compuestos químicos y el surfactante aniónico sodio dodecilmecano sulfonato (SDBS), con un 10 % de surfactante natural de saponina como principio activo, en un ambiente alcalino. El compuesto ha sido reportado al servicio nacional de medio ambiente en Chile y

presentado al Servicio Agrícola Ganadero (SAG), para su uso en suelo en composteras. Para validar su efectividad, se diseñó un experimento comparativo utilizando tres sistemas de compostaje idénticos. Las composteras fueron armadas según manual de compostaje domiciliario de la FAO (Manual de Compostaje del Agricultor), es un sistema no comercial, recomendado para zonas urbanas y rurales, que consiste en dos recipientes de 20 litros comunicados, el superior funciona como recepción de sólidos y el inferior como receptáculo para líquidos. Este tipo de compostaje se mueve cada vez que se incorpora material, monitoreados de manera simultánea: **Compostera Control:** Contenía únicamente residuos orgánicos tradicionalmente aceptados, como restos de frutas y hortalizas.

Compostera sin Catalizador: Incorporaba proteína animal (pollo, jamón) además de los residuos vegetales, pero los residuos complejos solo eran tratados con agua antes de su mezcla.

Compostera con Catalizador: Incorporaba la misma mezcla de residuos vegetales y proteína animal, pero los residuos complejos eran pretratados con la solución catalítica. Este montaje experimental permitió evaluar de forma rigurosa los beneficios demostrables que el catalizador ofrece al usuario doméstico, sentando las bases para un análisis detallado de su rendimiento.

Evaluación de olor

Se pidió a observadores independientes que indicaran desagradable en una escala subjetiva de 0 a 4; esto se registró antes del tratamiento, una vez aplicado el tratamiento y en muestras mantenidas por el mismo tiempo sin tratamiento, según las consideraciones de la norma NCh 3190 sobre observaciones estáticas o de terreno para la evaluación ambiental de olores.

Sistema de gases cerrado

Se usó un tanque de plástico de volumen total de 1,5 litros, donde se agregaron 500 mL de materia orgánica, en condiciones de catálisis o degradación. Estos tanques fueron cerrados con un acceso bidireccional en sus tapas, que permitió el acceso de una manguera de silicona para conectar a un sensor la concentración de gases al interior. En casos

de gases pesados, el acceso por la tapa se logró gracias a una forma semicónica de los envases que permitió concentrar las atmósferas en el fondo.

Detectores de gases

Los gases fueron medidos por equipos diseñados para medir metano, CO₂ y amoníaco, en valores de ppm y bajo condiciones controladas en un modelo de gases cerrados de la compostera. Los equipos se usaron en la compostera, a una distancia de 15 cm, con acceso por la tapa superior. Para reducir la dilución en la atmósfera, se usaron los siguientes equipos: SNDWAY Detector de gas 4 parámetro modelo SW-7500D y verificados para las normas JJG915-2008 de monóxido, JJG695-2003 de sulfídico norma China y europea de calidad

(<https://www.chinesestandard.net/PDF.aspx/JJG695-2003>)

Un equipo BTMETER para NH₃, calibrado para norma de gases de la comunidad europea (NECD 2001/81/EC) que es para gases contaminantes incluyendo el NH₃

Un equipo SNDWAY para medición de CO₂ modelo SW723, como probador industrial para la norma NECD 2001/81/EC de gases contaminantes de la Comunidad Europea, certificación CE. Estos equipos nos permiten evaluar la generación de gases o el control de los mismos dentro del proyecto de compostera, junto con el sistema de medición de olor según la norma NCh 3190, permitiendo cuantificar en algunos parámetros esta reducción del olor, además de los gases

Medición de nitritos y nitratos

Se usó un espectrofotómetro Hanna instrumento modelo HI83399-02 para la medición. Se usó una serie de reactivos HANNA; estos reactivos siguen una adaptación del método del sulfato ferroso, en el cual la reacción entre el nitrito y el reactivo provoca un cambio de color en la muestra. Para el nitrato se usó una adaptación del método de reducción de cadmio. La reacción entre nitrato-nitrógeno y el reactivo causó un tono ámbar en la muestra. En ambos casos, la intensidad del color se determinó mediante un fotómetro compatible y la concentración se mostró en mg/L (ppm) de nitrito o nitrato.

Medición de Nitrógeno, Potasio y Fosfato

Se usó un espectrómetro Hanna, modelo HI83399-02, para la medición; se utilizaron técnicas bioquímicas recomendadas por Hanna Instrumentos, según la norma EPA. Para el potasio se usó una modificación de las técnicas de turbimetría basada en tetrafenilborato. Para el nitrógeno se usaron las técnicas del método cromatográfico ácido, como medida indirecta de nitritos y nitratos. Para el fosfato, se usó un método adaptado del ácido ascórbico y se estimó indirectamente la concentración de fósforo. En todos los casos, la intensidad del color se determinó mediante un fotómetro compatible y la concentración se mostró en mg/L (ppm) de los distintos metabolitos.

Prueba de ecotoxicología

Las pruebas de ecotoxicidad se realizaron a los residuos de materia orgánica tratados con el catalizador en forma diluida en % V/V. Por la posibilidad de que material catalizado pudiera ser lixiviado a napas de agua en los terrenos, fue importante evaluar que el material siguiera siendo inocuo en el ambiente. Los especímenes *Daphnia magna* se utilizaron de acuerdo con la norma NCh 2083, con temperatura constante de 16 °C y con un ciclo luz/oscuridad de 12 h/12 h. El agua de cultivo para *D. magna* se preparó con 25 mL de soluciones salinas (cloruro de calcio: 11,76 gr/L; sulfato de magnesio: 4,93 gr/L; bicarbonato sódico: 2,59 gr/L; cloruro de potasio: 0,23 gr/L), y se llenó hasta 1000 mL con agua filtrada destilada. Luego, el agua se aireó durante 24 horas antes de su uso. La densidad de cultivo fue de 10 a 15 organismos de *D. magna* por 200 mL de agua; se colectaron neonatos y se sembraron 10 por envase, en 3 réplicas. Se mantuvo a 15 °C durante el experimento y se evaluaron las formas móviles como vivas después de 24 h.

Medición de bacterias por luminometría

Se usó una medición alternativa a la de turbimetría en caldo según la norma NCh-ISO17728:2015 y modificando el protocolo descrito para el estudio de UFC del ISP manual recomendación Control Calidad bacteriología y del SAG D-GF-CGP-PT-030 al usar un sistema de medición de luminometría, de la degradación de ATP al ADP, como un indicador de las UFC presentes, usando un kit de lucipac Aqua, en un equipo de iluminómetro kikkoman PD-30 luminotester.

Análisis de datos

Los datos se graficaron y fueron tratados con pruebas estadísticas de normalidad, con una prueba de ANOVA de dos vías con un post test de bonferroni, usando el programa Prism graphpad versión 5, los datos son presentado en promedio más menos SEM, un $p > 0.5$ se considerada como significativo

Resultados

Control ambiental de Docro compost

Usamos referencias previas para desarrollar una mezcla de compuesto surfactante, para degradar materia orgánica (Parodi et al.,

2022). Desarrollamos un compuesto para compostar usando como base surfactante y lo desarrollamos más orgánico con el uso de saponina. En la figura 1 evaluamos la presencia de un reportero químico del surfactante principal SBDSS, con una medición en colorimetría, para evaluar si persiste en el ambiente. La figura 1 muestra que el principio activo decae a las 24 hrs, en agitación y que no permanece en el ambiente, al seguirlo en una curva temporal. Los datos nos permiten indicar que no permanece en el ambiente el principio activo y que se puede usar.

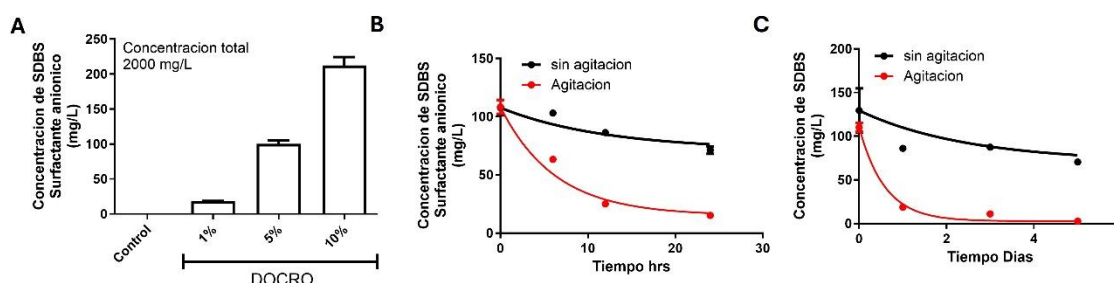


Figura 1 Estudio de decaimiento, efecto temporal, La figura muestra la concentración del principio activo de DOCRO en diversas condiciones. En A, la concentración del principio activo DOCRO, en tres diluciones de la solución. B el estudio del decaimiento de una solución de DOCRO al 5% a diversas horas, sin y con agitación. En C el estudio del decaimiento de una solución al 5% de DOCRO en diferentes condiciones, sin y con agitación. Los puntos y barras son representativos del promedio $\pm$ SEM de tres experimentos independientes.

Cambios en valores de materia orgánica

El catalizador desarrollado tiene como característica romper macromoléculas orgánicas, como lípidos, azúcares y proteínas; en el caso de las proteínas, al romperse se liberan nitritos, los cuales pudimos medir y observar que se incrementan al usar concentraciones crecientes de catalizador. Asimismo, al medir compuestos orgánicos del suelo, que se ven elevados al ser

catabolizadas las macromoléculas orgánicas, pudimos observar que el catalizador Docro compost fue capaz de liberar compuestos de NPK en solución y que varían los niveles según el sustrato utilizado, como se muestra en la tabla I de la figura 2. Estos datos indicarían que el compuesto Docro compost es capaz de romper moléculas, dejando disponibles materias orgánicas en el suelo.

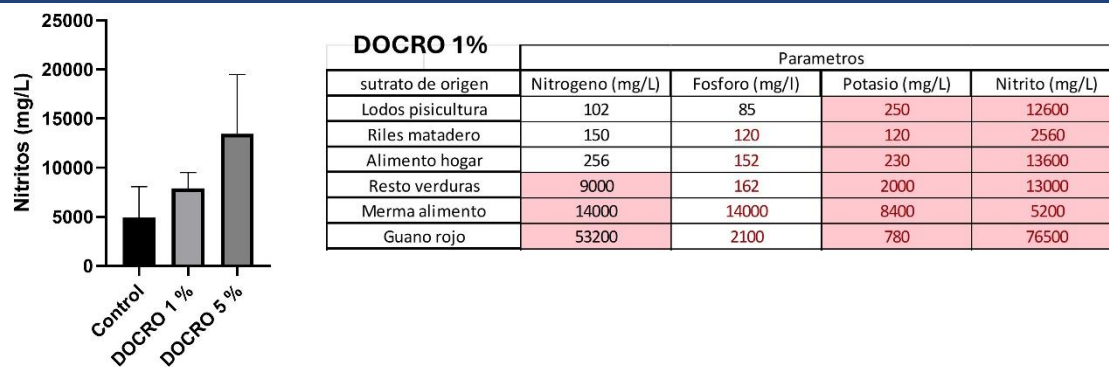


Figura 2, gráfico de generación de nitritos desde proteínas animales, en la presencia de concentraciones crecientes de DOCRO. Las barras son promedio $\pm$ SEM de 3 experimentos independientes. Tabla I de generación de biomoléculas desde distintas fuentes de desechos orgánicos con una concentración de 1% del catalizador DOCRO por 24 hrs de incubación

Observación de olor y carga bacteriana

El compostaje bien llevado, según las recomendaciones internacionales, no debe de generar olor, pero esto incluye el no poder usar proteínas animales en el proceso. En la figura 3A, podemos observar el registro del olor en las diferentes condiciones del compostaje desarrollada y podemos observar cómo el Docro compost reduce la percepción del olor y es dependiente de la concentración usada. En la figura 3B, exploramos un

mecanismo que explique el efecto, es descrito que los modelos de descomposición de la carga de bacterias anaerobias son responsables de la generación de ácidos orgánicos volátiles, responsables del olor. Por eso evidenciamos si Docro compost es capaz de reducir la carga bacteriana, en el estudio en un fómite. Los datos de la figura 3 indican que el aditivo Docro compost a reduce la generación de olor por alterar la carga bacteriana en el compostaje.

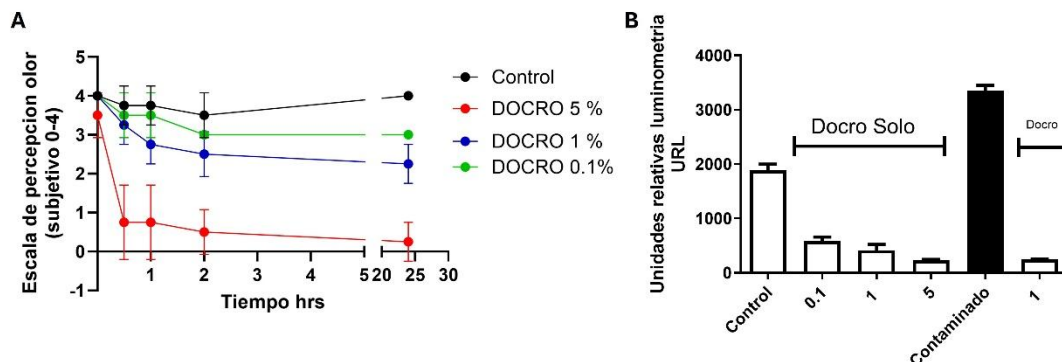


Figura 3 control de olor. La figura muestra el control del olor y su mecanismo, en A un curva de progreso en el tiempo de la percepción de olor en concentraciones crecientes de olor en B la medición por luminometría de la concentración de bacterias en una superficie. Los gráficos son mediciones por triplicados, en tiempos diferentes en las tres condiciones.

Degradación de macromoléculas

Si bien los datos indicarían que el aditivo Docro compost es capaz de reducir la carga bacteriana y el olor, no dan cuenta de cómo genera cambios en el compostaje. En ese sentido, en los procesos de descomposición, la fase anaeróbica inicial es clave para catalizar macromoléculas, dejándolas disponibles para el desarrollo aeróbico. En la figura 4 evaluamos el efecto del Docro

compost en macromoléculas; en la figura 4A observamos el efecto sobre una proteína de albúmina y, en la figura 4B, el efecto sobre ADN de plásmido bacteriano. La figura muestra que es capaz de romper las moléculas, generando fragmentos de menor peso molecular y sugiriendo la liberación de compuestos que pueden ser utilizados por bacterias aerobias que continúen el proceso de descomposición.

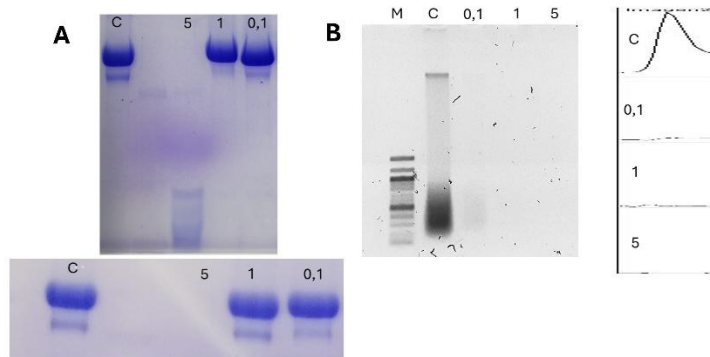


Figura 4 Medición de macromoléculas, en A se observan estudios de fragmentación de albumina, con la presencia de concentraciones crecientes del catalizador, en B se midió un DNA plasmidal, en presencia de concentraciones crecientes del catalizador. Los gráficos son mediciones por triplicados, en tiempos diferentes en las tres condiciones.

Cambios físico composteras

El proceso de compostaje es un proceso de descomposición controlada, por lo que sus cambios físicos y químicos son importantes para generar un buen resultado. Al agregar un aditivo y alterar su equilibrio, este puede verse afectado en sus parámetros. En la figura 5 registramos diferentes parámetros físicos de las composteras y evidenciamos que, al agregar material, todas las composteras se

comportan de manera similar, sin generar cambios en sus valores físicos reportados. En la figura 5C, la medición de pH fluctúa y parece responder a los momentos de agregar material, pero en todas las condiciones responde en forma similar. Estos datos nos indican que el aditivo Docro compost media sus acciones en forma independiente de los cambios físicos en la compostera.

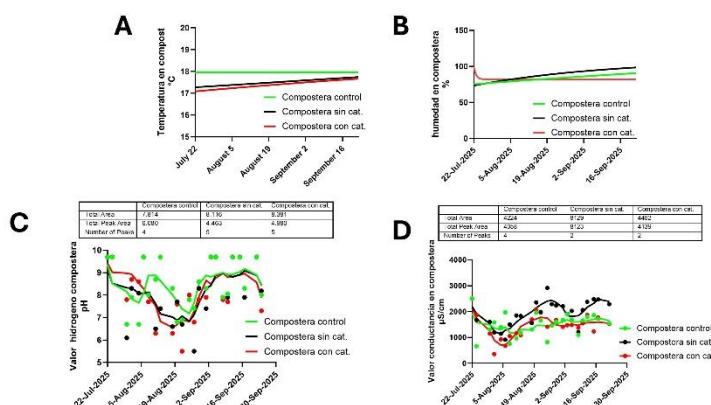


Figura 5 Medición de cambios fisicoquímicos, en A se observan estudios de la temperatura, en B se medición de humedad, en C se medición del pH y en D se medición de conductancias. Los gráficos son mediciones por triplicados, en tiempos diferentes en las tres condiciones.

Cambios materia orgánica

En suelo se define como materia orgánica el componente de concentración de nitrógeno, potasio y fosfato, nutrientes importantes para el desarrollo de plantas y que deben estar en equilibrio. En la figura 6 seguimos este componente denominado NPK y observamos fluctuaciones. En la figura 6A observamos la medición de nitrógeno, en 6B la de fósforo y en 6C la de potasio; todas presentan fluctuaciones en función del momento de

agregar material a las composteras y presentan frecuencias similares, asociadas a los cambios de ingreso de material, pero la amplitud de estas es distinta. En el caso de las composteras con Docro compost, estas fueron menores, lo que sugiere una mantención de los valores en el tiempo, indicando una concentración más constante de NPK en el compostaje al usar este material para ingresar proteínas animales.

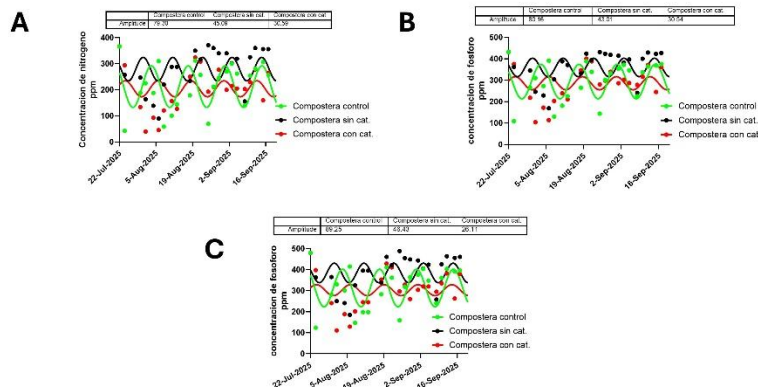


Figura 6 Medición de cambios fisicoquímicos, en A se observan estudios de concentración de nitrógeno, en B se medición de concentración de fósforo, en C se medición de la concentración de potasio. Los gráficos son mediciones por triplicados, en tiempos diferentes en las tres condiciones.

Cambios en los gases de las composteras

Si bien observamos que el olor está reducido al usar Docro compost a diferentes concentraciones, esta es una observación en norma subjetiva. Para evaluar mejor el cambio, usamos la medición de algunos gases y comparamos los cambios en olor entre los diferentes composteros. En la figura 7 observamos que las composteras se comportan distinto cuando tienen Docro compost como aditivo para agregar proteínas. Podemos observar en 7A que el amonio fluctúa en forma similar, pero en el caso de la

compostera con Docro compost la amplitud fue menor y significativamente diferente. En el caso del dióxido de carbono, se observa que agregar proteína animal con y sin Docro compost disminuyó la amplitud de la concentración, indicando un cambio en ese gas, pero que no afecta el olor. Interesantemente, el oxígeno no se vio afectado en ninguna forma, considerando los cambios de poblaciones aerobias y, en 7D, podemos observar que incorporar proteínas naturales sin Docro compost generó un aumento en la percepción del olor.

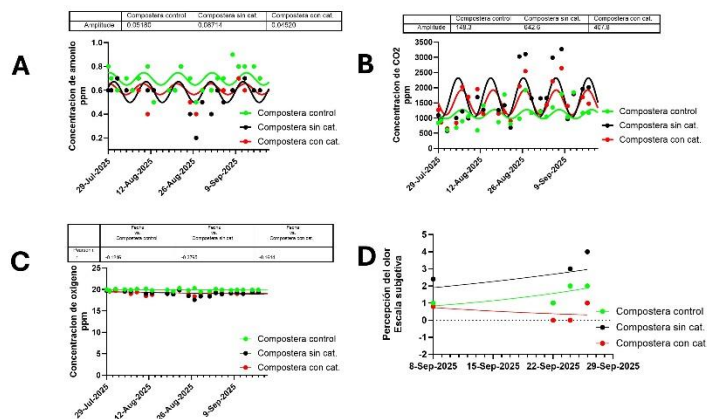


Figura 7 Medición de cambios fisicoquímicos, en A se observan estudios de gases de amonio, en B se medición de CO₂, en C observación del oxígeno y en D se muestra la percepción del olor. Los gráficos son mediciones por triplicados, en tiempos diferentes en las tres condiciones.

Discusión

La clave para desbloquear el potencial completo del compostaje domiciliario reside en la innovación tecnológica. Como respuesta directa a los desafíos de olores y atracción de plagas, se ha desarrollado una solución basada en un catalizador especializado, diseñado para optimizar el proceso de descomposición y neutralizar sus efectos negativos. El objetivo principal de este catalizador, identificado en los estudios como Docro compost, es permitir la inclusión segura y eficiente de residuos orgánicos complejos, como las proteínas de origen animal, que tradicionalmente se excluyen del compostaje casero. Su función primordial es actuar sobre la materia orgánica para disminuir drásticamente la emisión de olores desagradables, eliminando así la principal barrera para un compostaje más inclusivo. Aunque DOCRO no corresponde a un compuesto biodegradable en sentido estricto, los resultados indican que no presenta estabilidad ambiental prolongada bajo las condiciones evaluadas. En particular, el principio activo surfactante mostró una disminución temporal de su señal hasta decaer dentro de las primeras 24 h, lo que sugiere pérdida de persistencia química en el medio. Por tanto, más que una biodegradación completa, el comportamiento observado corresponde a una inestabilidad ambiental operativa, probablemente asociada a procesos de dilución, transformación química, adsorción a la materia orgánica o pérdida de actividad en la matriz de compostaje. En este contexto, puede sostenerse que DOCRO no permanece activo ni estable en el ambiente por tiempos prolongados, lo que reduce su potencial de acumulación bajo las condiciones de uso estudiadas.

Como observamos en la figura 1, este control del olor se mide en forma dependiente de la concentración y por un mecanismo que involucra la reducción de bacterias (Figura 3B). Los valores de **N, P y K** se modifican porque el catalizador **Docro compost** rompe macromoléculas orgánicas, como proteínas, lípidos y azúcares, liberando estos nutrientes al medio. Además, el texto indica que **varían según el sustrato utilizado** y que, con el catalizador, sus fluctuaciones son **menores y más estables en el tiempo**.

La eficacia del catalizador no es una propuesta teórica, sino un resultado demostrado mediante el monitoreo sistemático de parámetros físicos, químicos y biológicos clave. El análisis de estos datos revela una serie de ventajas tangibles que transforman la experiencia del compostaje en el hogar. El principal obstáculo para compostar proteínas en casa es la generación de olores intensos (Tao et al., 2023), en gran parte asociados a la liberación de amoníaco (NH_3) y otros compuestos nitrogenados volátiles (Scaglia et al., 2011). Los resultados del monitoreo de emisiones de amonio son concluyentes. Sucede que los nutrientes **N, P y K** quedan **más disponibles en el compost/suelo** y sus concentraciones se mantienen **más constantes** cuando se usa el catalizador. En especial, el nitrógeno se conserva mejor, evitando que se pierda como amoníaco en la atmósfera.

De manera contraintuitiva, la compostera control (conteniendo solo materia vegetal) registró los picos más altos de emisiones de amoníaco, como se ve en la figura 8A. Esto sugiere que, en ausencia de proteínas complejas, el ciclo de nitrógeno del sistema era menos estable, lo que se traduciría en una mayor pérdida de nutrientes por volatilización. La compostera con catalizador exhibió las concentraciones de amonio más bajas y estables durante todo el período de estudio, figura 8A. Esta drástica reducción en la emisión de amonio se traduce directamente en una neutralización efectiva de los olores desagradables. Al controlar la volatilización del nitrógeno, el catalizador elimina la principal molestia y riesgo asociados al compostaje de carnes y lácteos, haciendo el proceso limpio y apto para cualquier hogar (Scaglia et al., 2011; Wei et al., 2017). Al resolver de manera eficiente el problema de los olores, el catalizador elimina la restricción más importante del compostaje domiciliario como se ve en la figura 8D. Las mediciones de gases mostraron que tanto la compostera con catalizador una menor producción de CO_2 y un similar consumo de O_2 en comparación con el control, como se ve en la figura 8, lo que indica una actividad microbiana aeróbica más intensa, necesaria para descomponer las proteínas (Kaplowsky, 1957). Es interesante, que la producción de CO_2 que es una desventaja en el compostaje a gran escala y que se incrementa con el uso de proteínas

animales (Woods et al., 2025). Los datos de nutrientes (N, P, K) demuestran que la compostera tratada con el catalizador mantuvo los niveles de nitrógeno más estables, como se puede ver en la figura 7.

Esta estabilidad en el sustrato se correlaciona directamente con las menores emisiones de amoníaco gaseoso, demostrando que el catalizador no solo enmascara olores, sino que altera fundamentalmente el ciclo del nitrógeno, reteniendo este valioso nutriente en el material sólido en lugar de perderlo en la atmósfera como un compuesto volátil

Finalmente en la figura 1, podemos observar que el aditivo no presentara un impacto ambiental al ser usado en las dosis recomendadas y que terminado el proceso de compostaje, ahora con proteínas animales, estas pueden ser incorporadas a suelos. Es interesante ver también que este efecto es medido por la degradación de macromoléculas, como se ve en figura 2A y en la figura 5, mostrando que el aditivo puede romper moléculas dejándolas más disponibles y que esto ocurre en diversos sustratos, como se ve en la tabla I de la figura 2

El compostaje domiciliario mejorado con catalizador representa un avance significativo en las estrategias de gestión de residuos. Esta innovación cambia el paradigma, pasando de un modelo de simple descarte de desechos a uno de revalorización efectiva de recursos a escala individual. Permite a cada hogar convertirse en un pequeño centro de reciclaje biológico, cerrando el ciclo de los nutrientes de manera local y sostenible.

Referencias

Aycan Dümenci, N., Aydın Temel, F., & Turan, N. G. (2023). Role of different natural materials in reducing nitrogen loss during industrial sludge composting: Modelling and optimization. *Bioresource Technology*, 385, 129464.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129464>

Bouchtaoui, E. M., Haouas, A., Dababat, A. A., Lahlali, R., Benali, A., Fahr, M., Smouni, A., Azim, K., Liu, Z., Li, J., & Mokri, F. (2024). Exploring mechanisms of compost-mediated suppression of plant pathogens: A critical review. *Applied Soil Ecology*, 203, 105644.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2024.105644>

Bustos, D. O.-F., Pamela; Chavez, Viviana; Herrera, Hector; Parodi, J. (2024). Mejora en el manejo de residuos organicos desde una planta de biblavos M. chilensis para su directa disposicion en suleos, catalisis de residuos organicos. *REvista Mexicana de Biotecnología*, 28(3).

Devi, K. O., Devi, A. S., & Singh, A. P. (2025). Variation in physicochemical characteristics during co-composting of vegetable waste with animal manure using different composting techniques. *Cleaner Waste Systems*, 12, 100398.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.clwas.2025.100398>

Ferreira, J. G., Bernard-Jannin, L., Cubillo, A., Lencart e Silva, J., Diedericks, G. P. J., Moore, H., Service, M., & Nunes, J. P. (2023). From soil to sea: An ecological modelling framework for sustainable aquaculture. *Aquaculture*, 577, 739920.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739920>

International Humic Substances Society, M., Xu, J., Xu, J., Wu, J., He, Y., & SpringerLink. (2013). *Functions of natural organic matter in changing environment* (1st edition 2013. ed.). Springer

Zhejiang University Press Springer Netherlands

<http://link.springer.com/10.1007/978-94-007-5634-2>

https://discover.gcu.ac.uk/discovery/openurl?institution=44GLCU_INST&vid=44GLCU_INST:44GLCU_VU2&u.ignore_date_coverage=true&rft.mms_id=991002608749103836

<https://doi.org/10.1007/978-94-007-5634-2>

https://eu01.alma.exlibrisgroup.com/view/uresolver/44NLS_INST/openurl?u.ignore_date_coverage=true&portfolio_pid=53638517610004341&Force_direct=true

https://eu04.alma.exlibrisgroup.com/view/uresolver/44LIV_INST/openurl?u.ignore_date_coverage=true&portfolio_pid=53274673050007351&Force_direct=true

https://eu04.alma.exlibrisgroup.com/view/uresolver/44LIV_INST/openurl?u.ignore_date_coverage=true&portfolio_pid=53370771880007351&Force_direct=true

https://eu04.alma.exlibrisgroup.com/view/uresolver/44LIV_INST/openurl?u.ignore_date_coverage=true&portfolio_pid=53381732180007351&Force_direct=true

https://manchester.primo.exlibrisgroup.com/discovery/openurl?institution=44MAN&vid=44MAN_INST:MU_NUI?u.ignore_date_coverage=true&rft.mms_id=992976872948001631

https://napier.primo.exlibrisgroup.com/openurl/44NAP_INST/44NAP_INST:44NAP_ALMA_VU1?u.ignore_date_coverage=true&rft.mms_id=9923553267002111

https://suprimo.lib.strath.ac.uk/openurl/SU/SU_VU01?u.ignore_date_coverage=true&rft.mms_id=9912528680602996

https://www.bath.ac.uk/library/openurl/?u.ignore_date_coverage=true&rft.mms_id=991003946888702761

https://www.open.ac.uk/library/openurl?u.ignore_date_coverage=true&rft.mms_id=9952383751802316

Kaplovsky, A. J. (1957). Activity of microorganisms in organic waste disposal. III. Anaerobic decomposition of waste solids. *Appl Microbiol*, 5(3), 175-179.
<https://doi.org/10.1128/am.5.3.175-179.1957>

Min, H., Ko, H., Jung, S. H., Han, J. Y., Lee, C. W., An, S., Kim, Y.-J., Kim, T., Ham, J., Kim, W., & Park, Y.-T. (2025). Thermophilic composting of dewatered sewage sludge under subzero temperatures using a full-scale pre-fermentation reactor: A 10-day valorisation strategy for year-round operation. *Journal of Environmental Management*, 395, 127997.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2025.127997>

Parodi, J., Scott, I., Chavez, V., & Vega, I. (2022). Catalysis of stranded material on beaches in Arauco, Chile: experience with stranded sardines as fertilizer with a chemical solution. *Green Technology, Resilience, and Sustainability*, 2(1), 7.
<https://doi.org/10.1007/s44173-022-00008-w>
 Plaza, T., Scott, I., Vega, I., Chavez, V., &

Parodi, J. (2022). Management of industrial slurries with a chemical catalyst: generation of organic sustainable solution. *Green Technology, Resilience, and Sustainability*, 2(1), 6.
<https://doi.org/10.1007/s44173-022-00006-y>

Scaglia, B., Orzi, V., Artola, A., Font, X., Davoli, E., Sanchez, A., & Adani, F. (2011). Odours and volatile organic compounds emitted from municipal solid waste at different stage of decomposition and relationship with biological stability. *Bioresour Technol*, 102(7), 4638-4645.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.01.016>

Shurson, G. C. (2020). "What a Waste"—Can We Improve Sustainability of Food Animal Production Systems by Recycling Food Waste Streams into Animal Feed in an Era of Health, Climate, and Economic Crises? *Sustainability*, 12(17), 7071.

Tao, X., Xiang, F., Ahmad Khan, F. Z., Yan, Y., Ma, J., Xu, B., & Zhang, Z. (2023). Decomposition and humification process of domestic biodegradable waste by black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae from the perspective of dissolved organic matter. *Chemosphere*, 317, 137861.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.137861>

Vodounnou, D. S. J. V., Kpogue, D. N. S., Tossavi, C. E., Mennsah, G. A., & Fiogbe, E. D. (2016). Effect of animal waste and vegetable compost on production and growth of earthworm (*Eisenia fetida*) during vermiculture. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 5(1), 87-92.
<https://doi.org/10.1007/s40093-016-0119-5>

Wei, Y., Li, J., Shi, D., Liu, G., Zhao, Y., & Shimaoka, T. (2017). Environmental challenges impeding the composting of biodegradable municipal solid waste: A critical review. *Resources, Conservation and Recycling*, 122, 51-65.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2017.01.024>

Woods, E., Berlin, P., Daystar, J., & Sagues, W. J. (2025). Gaseous carbon dioxide removal from composting of biomass and cotton textile waste. *Waste Management*, 207, 115108.

Artículos

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.wasman.2025.115108>

Zhang, S., Wei, Z., Zhao, M., Chen, X., Wu, J., Kang, K., & Wu, Y. (2020). Influence of malonic acid and manganese dioxide on

humic substance formation and inhibition of CO₂ release during composting. *Bioresource Technology*, 318, 124075.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124075>

Avances biotecnológicos en el diagnóstico y tratamiento del cordoma de Clivus: una revisión bibliográfica

Mariamalia Murillo^{1*}, Valentina Montero¹, Mónica Murillo¹, Alejandro Rodríguez¹, José Daniel Amador¹

¹Ingeniería en Biotecnología, Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Cartago, Costa Rica. Dirección de correo: m.murillo.5@estudiantec.cr

*Autora responsable de la publicación

Resumen

El cordoma de Clivus es un tumor óseo maligno poco frecuente, originado de restos de la notocorda embrionaria y caracterizado por su crecimiento lento, infiltrativo y alta tasa de recurrencia local. Su diagnóstico y tratamiento representan un desafío debido a su localización en la base del cráneo y resistencia a la quimioterapia. Los avances biotecnológicos han permitido una mejor comprensión molecular del tumor mediante técnicas como la secuenciación de nueva generación (NGS), la proteómica cuantitativa y la identificación de biomarcadores como Brachyury, CDKN2A/2B (genes supresores de tumores), SMARCB1 (gen regulador de la cromatina) y ASNS (Asparagina sintetasa), que facilitan la detección y clasificación de los pacientes según riesgo. En el ámbito terapéutico, se han desarrollado estrategias dirigidas a receptores tirosina-quinasa como EGFR (receptor del factor de crecimiento epidérmico) y PDGFR (receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas) y vías PI3K (fosfoinositido 3-quinasa) /AKT/mTOR, así como inmunoterapias basadas en inhibidores de PD-1 (proteína de muerte programada 1) así como su ligando PD-L1 y vacunas anti-Brachyury. Modelos preclínicos como organoides y xenoinjertos han agilizado la validación de fármacos y la comprensión de la heterogeneidad tumoral. Además, la inteligencia artificial se ha incorporado para optimizar el diagnóstico por imágenes y la predicción del pronóstico. A pesar de los avances, la baja incidencia del cordoma limita los estudios multicéntricos y la definición de estrategias terapéuticas óptimas. La integración de la biotecnología, las ciencias ómicas permiten mejorar la supervivencia y calidad de vida de los pacientes.

Palabras Claves: Tumor óseo maligno, diagnóstico molecular, proteómica, notocorda embrionaria, terapias dirigidas.

Abstract

Clivus chordoma is a rare malignant bone tumor that originates from remnants of the embryonic notochord and is characterized by slow, infiltrative growth and high rate of local recurrence. Its diagnosis and treatment are challenging due to its location at the skull base and its resistance to chemotherapy. Biotechnological advances have enabled a deeper molecular understanding of the tumor through techniques such as next-generation sequencing (NGS), quantitative proteomics, and the identification of biomarkers including Brachyury, CDKN2A/2B (tumor suppressor genes), SMARCB1 (chromatin-regulatory gene), and ASNS (Asparagine Synthetase), which facilitate the detection and classification of patients according to risk. In the therapeutic field, strategies targeting receptor tyrosine kinases such as EGFR (epidermal growth factor receptor) and PDGFR (platelet-derived growth factor receptor), as well as PI3K (phosphoinositide 3-kinase)/AKT/mTOR signaling pathways have been developed, along with immunotherapies based on PD-1 (programmed death protein 1) and its ligand PD-L1 inhibitors, and anti-Brachyury vaccines. Preclinical models such as organoids and xenografts have accelerated drug validation and understanding of tumor heterogeneity. Moreover, artificial intelligence has been incorporated to optimize diagnostic imaging and prognostic prediction. Despite these advances, the low incidence of chordoma limits multicenter studies and the definition of optimal therapeutic strategies. The integration of biotechnology, omics sciences, and biomedical informatics offers a path toward more precise and personalized treatments that improve patient survival and quality of life.

Key Words: Malignant bone tumor, molecular diagnosis, proteomics, embryonic notochord, targeted therapies.

Introducción

El cáncer se define como un conjunto de enfermedades provocadas por células que han perdido su respuesta a los mecanismos normales de regulación del crecimiento y desarrollan la capacidad de invadir otros tejidos del organismo (Bermúdez Garcell et al., 2019). Estas masas tumorales pueden presentar diferentes grados de agresividad biológica y capacidad invasiva, lo que determina su comportamiento clínico y por ende su pronóstico (Patel, 2020).

Los cordomas son neoplasias óseas que se originan a partir de restos de la notocorda embrionaria en la base del cráneo o en la columna vertebral (Chávez Sevillano et al., 2015). La notocorda es una estructura transitoria del desarrollo que guía la formación de las vértebras y que desaparece tras cumplir su función, cuando eso pasa, permanece solamente el núcleo pulposo de los discos intervertebrales. Cuando estas células remanentes sobreviven fuera de lo usual, pierden su equilibrio fisiológico y pueden transformarse en tejido tumoral con un crecimiento lento, pero agresivo (Slouma et al., 2025).

El cordoma de Clivus, se caracteriza por un crecimiento lento pero infiltrativo, que destruye hueso e invade estructuras neurovasculares cercanas (Arbolay et al., 2020; Munari et al., 2020). Su aparición se asocia de manera directa al factor de transcripción Brachyury (TBXT, por sus siglas en inglés), que es un regulador esencial de la notocorda durante la embriogénesis. Normalmente su expresión desaparece tras el nacimiento, pero en los cordomas permanece activa de forma anómala, lo cual favorece la proliferación y la supervivencia celular. Además, se han descrito duplicaciones germinales y polimorfismos en TBXT que predisponen a la enfermedad, así como alteraciones cromosómicas en la región 6q donde se localiza el gen (Bai, et al., 2021b; Chen et al., 2020).

Epidemiológicamente, los cordomas representan entre el 1 y 4% de los tumores óseos malignos, con una incidencia de 0,18 a 0,84 casos por millón de habitantes al año, según estudios poblacionales internacionales, afectando principalmente a personas de la tercera edad, con un leve predominio en

hombres (Amit et al., 2014; Ronai & Varga, 2021; Ullah et al., 2024). Además, su ubicación profunda y cercana al tronco encefálico y nervios craneales condiciona tanto los síntomas como el abordaje quirúrgico. La resección completa representa un procedimiento complejo de alto riesgo, ya que comprometer estructuras neurológicas esenciales impacta directamente la calidad de vida del paciente (Yoo et al., 2023). Además, aunque los cordomas son capaces de metastatizar, la recurrencia local es la principal causa de mortalidad y representa el mayor reto terapéutico (Bai, et al., 2021a; Welch & Hurst, 2019; Zhou et al., 2019).

El tratamiento estándar combina cirugía con radioterapia, dado que los cordomas son resistentes a la quimioterapia. No obstante, las limitaciones de estas intervenciones han impulsado la búsqueda de nuevas estrategias. Se han identificado secuencias repetitivas del gen Brachyury en la mayoría de los cordomas esporádicos, así como mutaciones en receptores tirosina-quinasa que generan desequilibrio proteico. Estos hallazgos sugieren que análisis moleculares e inmunohistoquímicos podrían ayudar a identificar inhibidores y dianas terapéuticas más específicas (Erazo et al., 2018; Yang et al., 2023).

Finalmente, el propósito de la presente revisión es analizar los avances recientes en el diagnóstico y tratamiento del cordoma de Clivus desde una perspectiva biotecnológica. Más que analizar técnicas individuales, se busca resaltar la biotecnología como una disciplina integradora, en la que convergen diversas áreas como la biología molecular, la proteómica, el desarrollo de modelos preclínicos, la inmunología y la nanotecnología. Por lo tanto, se pretende mostrar el rol de la biotecnología como eje articulador entre la investigación básica y la aplicación clínica, dando paso a protocolos más efectivos y menos invasivos para mejorar la calidad de vida de los pacientes con esta condición.

Síntomas y progresión clínica

Por lo general, el cordoma de Clivus se manifiesta clínicamente en fases avanzadas, debido a que los síntomas aparecen solo cuando el tumor alcanza un tamaño suficiente para comprimir estructuras neurológicas importantes. Entre las manifestaciones más

frecuentes destacan las alteraciones oculares, como la diplopía producida por la compresión de los nervios encargados del movimiento ocular, así como dolor facial o pérdida de sensibilidad (hipoestesia) asociados al compromiso del nervio trigémino y sus ramas (Hong et al., 2022). La extensión tumoral hacia el tronco encefálico y el cerebelo puede ocasionar vértigo, ataxia, disartria y pérdida de coordinación. Asimismo, cuando el tumor afecta pares craneales bajos (IX, X y XII) se observa disfagia, disfonía y debilidad lingual, con repercusiones directas en la movilidad y la función del habla y la deglución (Noya et al., 2023).

En cuanto a la progresión, aunque el cordoma de Clivus tiene bajo potencial metastásico, la recurrencia local continúa siendo el principal desafío clínico. En una serie de 284 casos, más del 50% de los pacientes presentó recurrencia en el seguimiento, y la supervivencia libre de progresión disminuyó significativamente a los 3-5 años (Bai, et al., 2021a). Los casos de metástasis son poco frecuentes, en esta serie, su tasa fue del 3,2%, y su presencia se asoció con un pronóstico desfavorable (Bai, et al., 2021a).

Aunque la presencia de metástasis implica un pronóstico desfavorable, esta no representa la principal causa de mortalidad en el cordoma de Clivus. La mayoría de los pacientes fallecen por progresión local de la enfermedad, lo que refuerza la importancia del control local como objetivo terapéutico prioritario (Bai, et al., 2021a).

Por último, el subtipo menos diferenciado muestra un comportamiento más agresivo y una mayor tendencia a la metástasis y recurrencia temprana. Aunque el seguimiento de los cordomas se centra principalmente en el control local, los pacientes con subtipos de alto riesgo podrían beneficiarse de una vigilancia más estrecha (Soule et al., 2021).

Avances en el diagnóstico

La biotecnología ha sido fundamental en las investigaciones sobre el cordoma de Clivus, debido a que ha contribuido en la mejora de su diagnóstico, por ejemplo, mediante la identificación molecular de la enfermedad por secuenciación de nueva generación (NGS, por sus siglas en inglés). La NGS ha permitido

realizar una descripción de las características genéticas, transcriptómicas y epigenéticas de este tumor (Hung et al., 2020), lo que representa un avance prometedor hacia la mejora del diagnóstico diferencial y la clasificación de pacientes según su riesgo, a pesar de que su aplicación clínica aún se encuentra en desarrollo.

Sobre la misma línea de diagnóstico, se han logrado identificar alteraciones genéticas relacionadas con el cordoma, como la eliminación homocigota de los genes CDKN2A y CDKN2B codificantes de un inhibidor de quinasas dependiente de ciclinas o por sus siglas en inglés CDKs que controlan el ciclo celular y suprimen tumores. También se han identificado mutaciones del complejo SWI/SNF (Switch/Sucrose Non-Fermentable), que se encarga de remodelar la cromatina y por ende de la regulación de la expresión génica. Asimismo, se documentó una baja carga mutacional tumoral (TMB, por sus siglas en inglés), junto con una extensa cantidad de alteraciones en el número de copias cromosómicas (CNA) que incluyen las regiones de CDKN2A, CDKN2B y PBRM1 (proteína polibromo-1, igualmente es un gen supresor de tumores) relacionadas con la remodelación de la cromatina, asimismo, SETD2 (Dominio SET Contenedor 2, gen supresor de tumores encargado de regular la metilación de histonas) y el cromosoma 22q donde se localiza el Regulador de Cromatina Relacionado con SWI/SNF, Asociado a la Matriz, Dependiente de Actina, Subfamilia B, Miembro 1 (por sus siglas en inglés SMARCB1) (Bai, et al., 2021b). Estos factores facilitan el diagnóstico del cordoma y abren la posibilidad de implementar estrategias de medicina de precisión, aunque el tratamiento sigue siendo un desafío.

De igual manera, el consorcio internacional de datos genómicos oncológicos de la Asociación Americana de Investigaciones sobre cáncer (AACR) creó un proyecto llamado AACR GENIE, con el fin de recolectar y compartir datos reales de pacientes con cáncer. Con el uso de NGS en este proyecto, se pudo detectar con mayor eficacia la frecuencia de las alteraciones genómicas. Asimismo, para la detección eficaz del cordoma se instó al uso de paneles dirigidos que notifiquen las pérdidas o modificaciones de los genes CDKN2A, SMARCB1. Con

ayuda de técnicas de biología molecular y ensayos genómicos se ha observado la frecuencia de alteraciones en CDKN2A y CDKN2B, donde las deleciones de ambos genes fueron más frecuentes en tumores con comportamiento metastásico, lo que indica una menor actividad supresora tumoral y, por ende, una mayor proliferación celular. Adicionalmente, las mutaciones identificadas en CDKN2A/B difieren entre niños y adultos (Hsia et al., 2025).

Como se mencionó anteriormente, el TBXT se encarga de regular diferentes genes durante el desarrollo embrionario, funcionando como un marcador de detección. Su expresión predomina en el cordoma, donde la totalidad de los casos analizados demuestra positividad, lo que le confiere alta especificidad como marcador diagnóstico. Sin embargo, su expresión también se ha documentado en tumores de células germinales testiculares, por lo que se sugiere como método complementario a NGS para diferenciarlo de tumores mimetizadores (Caneve et al., 2025). La especificidad de TBXT ha sido estudiada a profundidad, confirmando efectivamente que este puede tener un papel tanto de “*driver gene*” como en la adicción oncogénica.

Por otro lado, se han desarrollado avances relacionados con la proteómica y el descubrimiento de biomarcadores para el diagnóstico clínico del tumor. Por ejemplo, con la proteómica cuantitativa y la espectrometría de masas es posible medir los niveles de proteínas expresadas en el tumor, lo que se relaciona con la condición del paciente (Yin et al., 2024). Asimismo, se han definido subtipos proteómicos que tienen rutas metabólicas diferenciales, casos tales como remodelación cromática o subtipos mediados por transición mesenquimal a epitelial (MET, por sus siglas en inglés), que juegan un papel fundamental en la interpretación del diagnóstico, ya que contempla mayor cantidad de variables biológicas y personalizaciones para cada paciente, (Yin et al., 2024). En relación con la proteómica subcelular, se identificó a PLA2R1 (receptor de fosfolipasa A2 tipo 1) como una proteína superficial que se enriquece en el cordoma; a mayor expresión de PLA2R1, peor pronóstico. Su silenciamiento mediante siRNA (RNA de interferencia pequeño, la cual es una herramienta molecular que bloquea la

expresión de genes específicos) y CRISPR (en español, repeticiones Palindrómicas Cortas Agrupadas y Regularmente Interespaciadas, la cual es una tecnología de edición génica) inhibe el crecimiento tumoral tanto *in vivo* como *in vitro*, por lo que esta proteína funciona como un biomarcador con valor de pronóstico/diagnóstico y potencial de terapia (Khan et al., 2024).

Entre los biomarcadores de cordoma revisados sistemáticamente, algunos son consistentes a nivel de inmunohistoquímica, transcriptoma y proteómica y con base en esto se busca diseñar paneles que sean convenientes a nivel clínico. Entre los biomarcadores resalta el Asparagina sintetasa (ASNS) (Rubino et al., 2022), que es muy recurrente y que funciona adecuadamente en su detección. Por otro lado, estudios de 187 casos diferentes de cordoma en la base del cráneo revelaron frecuente inestabilidad cromosómica, la cual proponen que se utilice como marcador del pronóstico del tumor y como diana terapéutica (Zhang et al., 2024).

En adición a los diagnósticos, los modelos preclínicos pueden funcionar para validar la presencia de este tumor, ya que pueden convertir diferentes herramientas ómicas en sistemas de diagnóstico como los organoides derivados del paciente (PDO). Se ha aprobado que los organoides de cordoma son capaces de emular la histología, la expresión de Brachyury y la heterogeneidad tumoral observada entre pacientes. Por ello, su uso ha sido validado para realizar pruebas de fármacos o combinaciones de estos a partir de células tumorales del propio paciente, permitiendo identificar el tratamiento más favorable para cada caso (Al Shihabi et al., 2022).

Dentro de este marco, los modelos *in vitro* mediante xenoinjertos (PDX) permiten una exploración sobre las vías relevantes, por ejemplo, la ruta c-MET, activada por el receptor de tirosina-quinasa MET. Al activarse permite identificar subtipos agresivos, que podrían desarrollar tratamientos dirigidos o personalizados (Zhao et al., 2022). Asimismo, el trabajo interdisciplinario en áreas como medicina y tecnologías de la información ha dado como resultado un repositorio disponible para todos los usuarios. Por otro lado, CRISPR permite identificar dependencias

moleculares específicas de Brachyury, TBXT o de otros genes como ADAR, PRKRA y HEATR3 (Sharifnia et al., 2023), priorizando biomarcadores que cuenten con relevancia biológica y utilidad diagnóstica.

Todos estos métodos diagnósticos para la detección de cordoma podrían combinarse entre sí para obtener resultados más precisos, y en consecuencia poder ofrecer tratamientos más dirigidos o personalizados. La mayoría de los métodos mencionados implican la medición de la expresión de genes o la proteómica.

Avances en el tratamiento de cordoma

La investigación en cordoma ha abierto la posibilidad de transformar el manejo terapéutico a través del desarrollo de terapias dirigidas y al refinamiento de modelos preclínicos, planteando estrategias distintas a la resección quirúrgica completa, ya que no siempre es factible, y a la quimioterapia convencional, que ha mostrado una eficacia muy limitada (Meng et al., 2019; Stacchiotti & Sommer, 2015). En el plano de las dianas moleculares, destaca el factor de transcripción Brachyury (T), característico de las células del cordoma y esencial durante la notocordogénesis, cuyo silenciamiento en líneas celulares (JHC7 y UCH-1) induce diferenciación, senescencia y detención completa del crecimiento (Ozair et al., 2020), lo que se perfila como objetivo terapéutico selectivo con potencial de baja toxicidad fuera del tumor. En paralelo, la activación aberrante de receptores tirosina-quinasa (RTK) y de vías convergentes como PI3K, AKT y mTOR sustenta el uso de estrategias de inhibición farmacológica como cetuximab, gefitinib y erlotinib, que apoyan el bloqueo del receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico (EGFR, por sus siglas en inglés) (Meng et al., 2019; Peng et al., 2022). Mientras que imatinib ha logrado una estabilización del cordoma en un porcentaje relevante de casos pese a reducidas respuestas volumétricas (Casali et al., 2004; Stacchiotti et al., 2012), posiblemente por la sobreexpresión de PDGFR (receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas) en el estroma tumoral (Tamborini et al., 2006).

A nivel *downstream*, el uso de rapamicina y análogos enfrenta retroactivación de la vía

AKT, lo que ha motivado el uso de compuestos de doble acción como PI-103, capaces de inhibir simultáneamente PI3K y mTOR, desencadenando apoptosis en modelos celulares de cordoma. El avance de estas aproximaciones depende, no obstante, de superar limitaciones propias de una condición poco común, como la escasez de líneas celulares y xenoinjertos representativos, así como de fortalecer consorcios coordinados por iniciativas públicas y fundaciones dedicadas que faciliten la secuenciación y los ensayos multicéntricos orientados a validar nuevas combinaciones de fármacos, acelerando la traducción clínica (Di Maio et al., 2013). Bajo este contexto, la biotecnología también representa una vía para superar estas limitaciones, puesto que el uso de PDOs permite generar modelos tumorales que conservan la morfología y perfil molecular del tumor original, ampliando así la disponibilidad de modelos preclínicos más fieles. Además, la creación de biobancos de dichos organoides facilita la comparación de respuestas farmacológicas, fortaleciendo las plataformas colaborativas necesarias para validar nuevas terapias (Vlachogiannis et al., 2018).

Gracias a la secuenciación genómica y al uso de herramientas computacionales de cribado de alto rendimiento, ha sido posible identificar combinaciones farmacológicas con efectos sinérgicos como es el palbociclib y AZD2014, que demuestran potencial para contrarrestar la resistencia intrínseca del cordoma de Clivus. Así mismo, el reposicionamiento racional aislado ha permitido explorar el valor terapéutico de agentes previamente aprobados, como metformina, bajo nuevas perspectivas moleculares. El establecimiento de modelos preclínicos innovadores, especialmente el de los PDO, constituye otra contribución esencial, pues reproducen con mayor fidelidad la heterogeneidad tumoral y permiten un cribado farmacológico más rápido y coste-efectivo que los sistemas tradicionales (Zhao et al., 2022).

Los métodos basados en inmunoterapia representan otra opción relevante en el tratamiento del cordoma de Clivus. Se han explorado inhibidores de puntos de control inmunitario como durvalumab y pembrolizumab, mostrando respuestas parciales y beneficios sintomáticos, aunque

con limitaciones en la duración del efecto. También se ha ensayado vacunas dirigidas contra Brachyury, con resultados prometedores en fase I, pero posteriormente cuestionados por la falta de diferencias significativas en estudios de fase II. De manera experimental, se ha reportado que la combinación de inmunoterapia con un virus oncológico (AdAPT-001) podría potenciar la respuesta antitumoral en pacientes refractarios (Golding et al., 2024).

En la misma línea, diversos reportes de ensayos clínicos sugieren que los bloqueadores de la interacción PD-1 (proteína de muerte programada 1), así como su ligando PD-L1 pueden inducir regresión tumoral y mejoría clínica, aunque la mayoría de los pacientes experimenta progresión tras algunos meses, lo que resalta la necesidad de enfoques combinados que generen respuestas más sostenibles. La caracterización del microambiente tumoral ha demostrado la expresión de PD-L1 en linfocitos infiltrantes y de galectina-9 en células de cordoma, favoreciendo la evasión inmune. Esto plantea la importancia de integrar estudios genómicos y transcriptómicos unicelulares para modular de mejor forma la respuesta inmune. Asimismo, se han propuesto otras dianas tumorales como S100 (proteína de unión a calcio), EMA (antígeno de membrana epitelial) y antígenos asociados a melanoma, que podrían emplearse en futuras vacunas o inmunoterapias combinadas. No obstante, la baja incidencia del cordoma, la falta de biomarcadores validados y la heterogeneidad molecular limitan el diseño de ensayos clínicos de gran escala, lo que refuerza la necesidad de fortalecer modelos preclínicos y colaboraciones multicéntricas para evaluar de forma robusta estas aproximaciones biotecnológicas (Alexander et al., 2024).

La complejidad de las resecciones quirúrgicas y la heterogeneidad biológica del cordoma han impulsado el uso de la inteligencia artificial como recurso emergente para optimizar la planificación terapéutica. Modelos basados en aprendizaje automático, en particular redes neuronales convolucionales, demostraron utilidad para distinguir al cordoma de otros tumores morfológicamente similares mediante resonancia magnética y tomografías computarizadas. De igual

manera, algoritmos como máquinas de vectores de soporte y regresión logística se han empleado para tareas de clasificación y predicción de supervivencia, permitiendo estratificar a los pacientes según el riesgo de recurrencia, orientando programas de vigilancia postoperatoria. Los estudios revisados reportan métricas de desempeño alentadoras, con valores de Área Bajo la Curva (ABC) cercanos a 0,93 que respaldan el potencial de estas herramientas en la toma de decisiones clínicas. Sin embargo, la rareza del cordoma limita la disponibilidad de grandes bases de datos, lo que restringe la generalización de los modelos y subraya la necesidad de investigaciones multicéntricas con cohortes más amplias (Guo et al., 2025).

Perspectivas futuras

El futuro de la investigación clínica del cordoma de Clivus tiene una relación estrecha con el campo de la biotecnología y sus innovaciones. Se espera que, a futuro, se amplíe la información disponible sobre este padecimiento para mejorar la eficacia en sus tratamientos y diagnósticos tempranos a pesar de la rareza de este tumor, lo que lo hace un gran desafío.

Dependiendo del estado del paciente y del avance del cordoma, la intervención quirúrgica es una opción para tratar este padecimiento. Debido a la complejidad de estas resecciones y la poca efectividad en el uso de quimioterapias convencionales, se debe de implementar el uso de herramientas tecnológicas para mejorar el planeamiento perioperatorio y terapéutico. Se espera que en el futuro estas cirugías presenten innovaciones tanto en técnicas, como en tecnología durante las intervenciones y terapias para mejorar la efectividad del procedimiento, además de una mejor recuperación del paciente.

Por otro lado, la información disponible respecto a este padecimiento sigue en aumento, y se espera que esto repercuta en la implementación de nuevas técnicas más efectivas y menos invasivas, para el diagnóstico, terapias dirigidas, y modelos preclínicos, entre otros aspectos. Esto indica la relevancia de un enfoque interdisciplinario, motivado por la rareza del cordoma de Clivus, y la falta de un tratamiento estándar debido su heterogeneidad biológica.

Conclusiones

El cordoma de Clivus representa un desafío científico y clínico considerable debido a su localización anatómica, bases de datos insuficientes, su heterogeneidad entre pacientes y la falta de implementación de técnicas alternativas para el tratamiento y diagnóstico del padecimiento.

En años recientes, el uso de herramientas biotecnológicas en el estudio de este tumor, han permitido generar posibles alternativas médicas personalizadas según el perfil molecular y genómico del paciente. La implementación de técnicas como la NGS, proteómica cuantitativa y la identificación de biomarcadores específicos como Brachyury, eliminación homocigota de CDKN2A/2B, SMARCB1 y ASNS han mejorado el diagnóstico y entendimiento de las causas de la tumorigénesis.

El abordaje científico del cordoma de Clivus requiere estudios interdisciplinarios y multicéntricos. La combinación de diversos campos de estudio resulta en un desarrollo considerable en la futura aplicación de los avances biotecnológicos para la atención de pacientes afectados.

Referencias

Al Shihabi A, Davarifar A, Lam Nguyen HT, Tavanaie N, Nelson SD, Yanagawa J, Federman N, Bernthal N, Hornicek F, Soragni A (2022) Personalized chordoma organoids for drug discovery studies. *Science Advances*, 8(1). <https://doi.org/10.1126/sciadv.abl3674>

Alexander AY, Dhawan S, Venteicher AS (2024). Role of immunotherapy in treatment refractory chordomas: review of current evidence. *Frontiers in Surgery*, 11:1375567. <https://doi.org/10.3389/FSURG.2024.1375567>

[BIBTEX](#)

Amit M, Na'Ara S, Binenbaum Y, Billan S, Sviri G, Cohen JT, Gil Z (2014). Treatment and Outcome of Patients with Skull Base Chordoma: A Meta-analysis. *Journal of Neurological Surgery. Part B, Skull Base*, 75(6), 383. <https://doi.org/10.1055/S-0034-1376197>

Arbolay OL, Ortiz Machín M, Rosales AEC, Cruz Pérez PO, Pablo P, Crespo G, López O, Jefe A, Hha N (2020). Cordomas del clivus. Consideraciones del tratamiento quirúrgico

endoscópico. *Revista Chilena de Neurocirugía*, 46(2), 70–74. <https://doi.org/10.36593/REVCHILNEUROCIR.V46I2.224>

Bai J, Li M, Shi J, Jing L, Zhai Y, Zhang S, Wang J, Zhao P, Li C, Gui S, Zhang Y (2021a). Mid-term follow-up surgical results in 284 cases of clival chordomas: the risk factors for outcome and tumor recurrence. *Neurosurgical Review*, 45(2), 1451. <https://doi.org/10.1007/S10143-021-01576-4>

Bai J, Shi J, Li C, Wang S, Zhang T, Hua X, Zhu B, Koka H, Wu HH, Song L, Wang D, Wang M, Zhou W, Ballew BJ, Hicks B, Mirabello L, Parry DM, Zhai Y, Li M, Yang XR (2021b). Whole genome sequencing of skull-base chordoma reveals genomic alterations associated with recurrence and chordoma-specific survival. *Nature Communications*, 12(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/S41467-021-21026-5>;TECHMETA

Bermúdez A, Serrano N, Teruel R, Leyva M, Naranjo A (2019). Biología del cáncer. *Correo Científico Médico*, 23(4), 1394-1416., de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S156043812019000401394&lng=es&tlng=es.

Casali PG, Messina A, Stacchiotti S, Tamborini E, Crippa F, Gronchi A, Orlandi R, Ripamonti C, Spreafico C, Bertieri R, Bertulli R, Colecchia M, Fumagalli E, Greco A, Grosso F, Olmi P, Pierotti MA, Pilotti S (2004) Imatinib mesylate in chordoma. *Cancer* 101(9): 2086-2097. <https://doi.org/10.1002/cncr.20618>.

Caneve P, Schrap N, Möller K, Büyücek S, Lutz F, Chirico V, Viehweger F, Reisch V, von Bargen C, Kind S, Menz A, Kluth M, Hübner C, Bernreuther C, Sauter G, Marx AH, Simon R, Krech T, Steurer S, Luebke AM (2025). Brachyury expression is highly specific for chordoma: A tissue microarray study involving 14,976 cancers from 135 different tumor types and subtypes. *Annals of Diagnostic Pathology*, 76. <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2025.152448>

Chávez Sevillano MG, Cláudia Rossi A, Freire A, Carranza C, Arieta Miranda J, Bevilacqua

Artículos

Prado F (2015). Procesos pterigoideos y la sincondrosis eseno-occipital en la disyunción palatina. *Odontología Sanmarquina*, ISSN-e 1609-8617, ISSN 1560-9111, Vol. 18, No. 1, 2015, 18(1), 9.

<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9382485&info=resumen&idioma=ENG>

Chen M, Wu Y, Zhang H, Li S, Zhou J, Shen J (2020). The Roles of Embryonic Transcription Factor BRACHYURY in Tumorigenesis and Progression. *Frontiers in Oncology*, 10, 538464.

<https://doi.org/10.3389/FONC.2020.00961/BTEX>

Di Maio S, Kong E, Yip S, Rostomily R (2013). Converging paths to progress for skull base chordoma: Review of current therapy and future molecular targets. *Surgical Neurology International*, 4(1), 72.

<https://doi.org/10.4103/2152-7806.112822>

Erazo IS, Galvis CF, Aguirre LE, Iglesias R, Abarca LC (2018). Clival Chondroid Chordoma: A Case Report and Review of the Literature. *Cureus*, 10(9).

<https://doi.org/10.7759/cureus.3381>.

Golding R, Abuqubo R, Pansa CJ, Bhatta M, Shankar V, Mani K, Kleinbart E, Gelfand Y, Murthy S De R Ramos G, Krystal J, Eleswarapu A, Yassari R, Mostafa E, Fourman MS, Schlumprecht A (2024). Clinical Medicine Immunologic and Targeted Molecular Therapies for Chordomas: A Narrative Review. *J. Clin. Med*, 13, 5679.

<https://doi.org/10.3390/jcm13195679>

Guo E, Sanguinetti RD, Boone L, Deng J, Shakil H, Gupta M (2025). Artificial intelligence and chordoma: A scoping review of the current landscape and future directions. *Brain and Spine*, 5, 104271.

<https://doi.org/10.1016/J.BAS.2025.104271>

Hong S, Laack N, Mahajan A, O'Brien EK, Stokken JK, Janus JR, Choby G, Van Gompel JJ (2022). Mayo Clinic Clival Chordoma Case Series: Impact of Endoscopic Training on Clinical Care. *Cancers* 14(20): 5104.

<https://doi.org/10.3390/CANCERS14205104>

Hsia B, Bitar G, Alshaka SA, Kim JD, Valencia-Sanchez BA, Faraji F, Brandel MG, Sato M,

Crawford JR, Levy ML, Patel VA, Polster SP (2025). Genomic Characterization of Chordoma: Insights from the AACR Project GENIE Database. *Cancers* 17(5):536.

<https://doi.org/10.3390/cancers17030536>

Hung YP, Diaz-Perez JA, Cote GM, Wejde J, Schwab JH, Nardi V, Chebib IA, Deshpande V, Selig MK, Bredella MA, Rosenberg AE, Petur Nielsen G (2020). Dedifferentiated chordoma: Clinicopathologic and molecular characteristics with integrative analysis. *American Journal of Surgical Pathology*, 44, 1213–1223.

<https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000001501>

Khan S, Zuccato JA, Ignatchenko V, Singh O, Govindarajan M, Waas M, Mejia-Guerrero S, Gao A, Zadeh G, Kislinger T (2024). Organelle resolved proteomics uncovers PLA2R1 as a novel cell surface marker required for chordoma growth. *Acta Neuropathologica Communications*, 12.

<https://doi.org/10.1186/s40478-024-01751-w>

Meng T, Jin J, Jiang C, Huang R, Yin H, Song D, Cheng L (2019) Molecular targeted therapy in the treatment of chordoma: a systematic review. *Frontiers in Oncology* 9: 30.

<https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00030>.

Munari S, Colangeli R, Ramacciotti G, Zanoletti E (2020). Clivus Chordoma: Case Report and Current Considerations on Treatment Strategies. *The Journal of International Advanced Otolaryngology*, 16(2), 286.

<https://doi.org/10.5152/IAO.2020.7494>

Noya C, D'Alessandris QG, Doglietto F, Pallini R, Rigante M, Mattogno PP, Gessi M, Montano N, Parrilla C, Galli J, Olivi A, Lauretti L (2023). Treatment of Clival Chordomas: A 20-Year Experience and Systematic Literature Review. *Cancers* 15(18):4493,

<https://doi.org/10.3390/cancers15184493>

Ozair MZ, Shah P, Mathios D, Lim M, Moss NS (2020) New prospects for molecular targets for chordomas. *Neurosurgery Clinics of North America* 31(2): 289-300.

<https://doi.org/10.1016/j.neco.2019.11.004>.

Patel A (2020). Benign vs Malignant Tumors. *JAMA Oncology*, 6(9): 1488.

<https://doi.org/10.1001/JAMAONCOL.2020.2592>

Peng Y, Wang Y, Zhou C, Mei W, Zeng C (2022) PI3K/Akt/mTOR pathway and its role in cancer therapeutics: are we making headway? *Frontiers in Oncology* 12: 819128.

<https://doi.org/10.3389/fonc.2022.819128>.

Ronai M, Varga PP (2021). Cordoma. *EMC – Aparato Locomotor*, 54(1), 1–8.

[https://doi.org/10.1016/S1286-935X\(21\)44904-X](https://doi.org/10.1016/S1286-935X(21)44904-X)

Rubino F, Alvarez-Breckenridge C, Akdemir K, Conley AP, Bishop AJ, Wang WL, Lazar AJ, Rhines LD, DeMonte F, Raza SM (2022). Prognostic molecular biomarkers in chordomas: A systematic review and identification of clinically usable biomarker panels. In *Frontiers in Oncology* 12: 997506 Frontiers Media S.A.

<https://doi.org/10.3389/fonc.2022.997506>

Sharifnia T, Wawer MJ, Goodale A, Lee Y, Kazachkova M, Dempster JM, Muller S, Levy J, Freed DM, Sommer J, Kalfon J, Vazquez F, Hahn WC, Root DE, Clemons PA, Schreiber SL (2023). Mapping the landscape of genetic dependencies in chordoma. *Nature Communications*, 14(1).

<https://doi.org/10.1038/s41467-023-37593-8>

Slouma M, Achoura S, Zarati S, Ammar H, Tlili K, Slouma M, Achoura S, Zarati S, Ammar H, Tlili K (2025). Sacrococcygeal Chordoma: A Diagnostic Challenge. *Cureus* 17(7).

<https://doi.org/10.7759/CUREUS.88799>

Soule E, Baig S, Fiester P, Holtzman A, Rutenberg M, Tavanaiepour D, Rao D (2021). Current Management and Image Review of Skull Base Chordoma: What the Radiologist Needs to Know. *Journal of Clinical Imaging Science*, 11:46

https://doi.org/10.25259/JCIS_139_2021

Stacchiotti S, Longhi A, Ferraresi V, Grignani G, Comandone A, Stupp R, Bertuzzi A, Tamborini E, Pilotti S, Messina A, Spreafico C, Gronchi A, Casali PG (2012) Phase II study of imatinib in advanced chordoma. *Journal of Clinical Oncology* 30(9): 914-

920.

<https://doi.org/10.1200/JCO.2011.35.3656>.

Stacchiotti S, Sommer J (2015) Building a global consensus approach to chordoma: a position paper from the medical and patient community. *The Lancet Oncology* 16(2): e71-e83.

[https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)71190-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)71190-8).

Tamborini E, Miselli F, Negri T, Lagonigro MS, Stauregno S, Dagrada GP, Stacchiotti S, Pastore E, Gronchi A, Perrone F, Carbone A, Pierotti MA, Casali PG, Pilotti S (2006) Molecular and biochemical analyses of platelet-derived growth factor receptor (PDGFR) B, PDGFRA, and KIT receptors in chordomas. *Clinical Cancer Research* 12(22): 6920-6928.

<https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-1584>.

Ullah A, Kenol GS, Lee KT, Yasinzai AQK, Waheed A, Asif B, Khan I, Sharif H, Khan J, Heneidi S, Karki NR, Tareen TK (2024) Chordoma: demographics and survival analysis with a focus on racial disparities and the role of surgery, a U.S. population-based study. *Clin Transl Oncol* 26(1):109-118.

<https://doi.org/10.1007/s12094-023-03227-0>

Vlachogiannis G, Hedayat S, Vatsiou A, Jamin Y, Fernández-Mateos J, Khan K, Lampis A, Eason K, Huntingford I, Burke R, Rata M, Koh DM, Tunariu N, Collins D, Hulkki-Wilson S, Ragulan C, Spiteri I, Moorcraft SY, Chau I, Valeri N (2018). Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers. *Science*, 359(6378), 920–926.

<https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAO2774;PAGE:STRING:ARTICLE/CHAPTER>

Welch DR, Hurst DR. (2019). Defining the Hallmarks of Metastasis. *Cancer Research*, 79(12), 3011–3027.

<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-19-0458/661418/P/DEFINING-THE-HALLMARKS-OF-METASTASISHALLMARKS-OF>

Yang X, Li P, Kang Z, Li W (2023). Targeted therapy, immunotherapy, and chemotherapy for chordoma. *Current Medicine* 2(1): 1–6.

Artículos

<https://doi.org/10.1007/S44194-022-00017-8>

Yin H, Hu J, Gao J, Su T, Jin J, Jiang C, Yin W, Xu X, Chang Z, Sun W, Cai Z, Zhou W, Wang P, Lin, J, Song D, Meng T (2024). Clinical-proteomic classification and precision treatment strategy of chordoma. *Cell Reports Medicine*, 5(10):101757.

<https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2024.101757>

Yoo HD, Chung JC, Park KS, Chung SY, Park MS, Ryu S, Kim SM (2023). Long-Term Outcomes after Multimodal Treatment for Clival Chordoma: Efficacy of the Endonasal Transclival Approach with Early Adjuvant Radiation Therapy. *Journal of Clinical Medicine*, 12(13): 4460.

<https://doi.org/10.3390/JCM12134460/S1>

Zhang Q, Xu Z, Han R, Wang Y, Ye Z, Zhu J, Cai Y, Zhang F, Zhao J, Yao B, Qin Z, Qiao N, Huang R, Feng J, Wang Y, Rui W, He F, Zhao Y, Ding C (2024). Proteogenomic

characterization of skull-base chordoma.

Nature Communications, 15:8338.

<https://doi.org/10.1038/s41467-024-52285-7>

Zhao C, Tan T, Zhang E, Wang T, Gong H, Jia Q, Liu T, Yang X, Zhao J, Wu Z, Wei H, Xiao J, Yang C (2022). A chronicle review of new techniques that facilitate the understanding and development of optimal individualized therapeutic strategies for chordoma. *Frontiers in Oncology*, 12: 1029670.

<https://doi.org/10.3389/FONC.2022.1029670/FULL>

Zhou Y, Hu B, Wu Z, Cheng H, Dai M, Zhang B, Staeger MS (2019). The clinical outcomes for chordomas in the cranial base and spine: A single center experience. *Medicine*, 98(23).

<https://doi.org/10.1097/MD.0000000000001598>

[Q](#)

Evaluación de sustratos por fermentación líquida, sólida y bifásica para la producción de *Trichoderma asperellum*

Rómulo García-Velasco¹, Dulce María Cortes de-León¹, Grisel Domínguez-Arizmendi¹, Martha Elena Mora-Herrera^{1*}, Barbarita Companioni-González², Jesús Ricardo Sánchez-Pale³

¹Universidad Autónoma del Estado de México, Centro Universitario Tenancingo, México. Carretera Tenancingo–Villa Guerrero Km 1.5, Tenancingo, Estado de México C.P. 52400.

²Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila. Calzada Antonio Narro No. 1923, Colonia Buenavista Saltillo, Coahuila, México. C.P. 25315. ³Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Ciencias Agrícolas, Carretera Toluca - Ixtlahuaca Kilómetro 15.5, El Cerrillo. El Cerrillo Piedras Blancas, 50200 Toluca de Lerdo, Méx.

*e mail marthaelenam@gmail.com

Resumen

Un grave problema en los cultivos agrícolas, son las enfermedades causadas por microorganismos fitopatógenos, cuyo principal método es el control químico, que es costoso y perjudicial tanto para el ambiente como para la salud humana. Por ello, es necesario proponer alternativas sustentables, como el biocontrol mediante microorganismos antagonistas nativos, como *Trichoderma* sp., lo cual implica su producción a gran escala con fines de aplicación en campo. Por lo que, el objetivo de esta investigación fue evaluar el potencial de granos de cereales enteros y triturados como sustratos para la producción de biomasa utilizando técnicas de fermentación líquida, sólida y bifásica; para esto se utilizó melaza y levadura en la fermentación líquida; para la sólida se emplearon granos enteros o triturados de trigo, sorgo y arroz, y para la fermentación bifásica se combinaron la líquida y la sólida. En todos los tratamientos, se inocularon 3 mL de una suspensión de *Trichoderma asperellum* con una concentración de 1×10^7 conidios mL⁻¹. La mayor producción de biomasa de *T. asperellum*, fue con el sustrato de arroz entero en la fermentación bifásica alcanzando 7.2025×10^8 UFC conidios g⁻¹, y con la fermentación sólida 6.98125×10^8 g⁻¹, con viabilidad de conidios de 91.1 y 89.4%, respectivamente. En fermentación líquida se obtuvo 1.593×10^7 conidios mL⁻¹ y 85.8% de viabilidad. El tiempo para la producción de biomasa fue de 14 días en fermentación líquida, 31 días en fermentación sólida y 45 días en bifásica.

Palabras Claves: antagonista, biomasa, sustentable, sustrato.

Abstract

Agricultural crops are affected by diseases caused by phytopathogenic microorganisms. Until now, the main method for their management has been chemical control, which is costly and harmful to both the environment and human health. Therefore, it is necessary to propose sustainable alternatives, such as biocontrol using native antagonistic microorganisms, such as *Trichoderma* sp. This implies their mass reproduction for field application. The objective of this research was to evaluate the potential of whole and crushed grains as substrates for biomass production using liquid, solid, and biphasic fermentation techniques. For this, molasses and yeast were used in liquid fermentation; for solid fermentation, whole and crushed grains of wheat, sorghum, and rice were used, and for biphasic fermentation, liquid and solid fermentation were combined. In all cases, inoculation with *Trichoderma asperellum* consisted of 3 mL of a 1×10^7 mL⁻¹ conidia suspension. The best substrate for *T. asperellum* production, was whole rice, reaching 7.2025×10^8 g⁻¹ of biomass with biphasic fermentation, and 6.98125×10^8 g⁻¹ with solid fermentation, with conidia viability of 91.1 and 89.4%, respectively. In liquid fermentation, 1.5930×10^7 mL⁻¹ and 85.8% viability were obtained. The time for biomass production was 14 days in liquid fermentation, 31 days in solid fermentation and 45 days in biphasic fermentation.

Key Words: antagonist, biomass, sustainable, substrate.

Introducción

La agricultura es una de las actividades primarias que desarrolla el ser humano para la supervivencia, esto ha llevado al uso excesivo de plaguicidas para combatir plagas y enfermedades que atacan a los cultivos poniendo en riesgo la inocuidad alimentaria, ocasionando altos costos de producción, y perjudicando en general a los ecosistemas, por la generación de residuos químicos. Por ello en los últimos años se buscan biocontroles como una alternativa para una producción agrícola sostenible (Tanaka & Kahmann, 2021). En este sentido, se ha demostrado que existen hongos antagonistas como los del género *Trichoderma* spp., que pueden controlar fitopatógenos como hongos y oomicetos a través de diversos mecanismos de acción como micoparasitismo, antibiosis, competencia por nutrientes y espacio; así como la inducción de resistencia sistémica de las plantas (Li *et al.*, 2019). Este género es cosmopolita y se adapta a diferentes condiciones edafoclimáticas, además, se ha demostrado que favorecen la producción de metabolitos, enzimas, compuestos promotores de crecimiento, entre otras funciones biológicas (Hernández-Melchor *et al.*, 2019), lo que los hace una posibilidad para el diseño de estrategias de manejo integrado de los cultivos.

Un criterio para la selección de hongos utilizados como agentes de control biológico, radica en su capacidad para la producción de propágulos (conidios, microesclerocios, clamidosporas) sobre sustratos líquidos, sólidos o la combinación de estos (bifásico) que sean de fácil acceso y de bajo costo; además, otro aspecto relevante es que las cepas sean nativas de donde se pretende utilizarlas. La aplicación en el campo requiere de un escalamiento para una producción masiva. Al respecto, Hernández-Melchor *et al.* (2019) señalan que además de los diversos métodos de reproducción es necesaria la evaluación de sustratos para favorecer el desarrollo del antagonista; de manera particular, Antomarchi *et al.* (2023), refieren que para la producción de *Trichoderma* spp., los sustratos deben ser recursos de fácil disponibilidad, ricos en nutrientes y que no generen altos costos de producción, lo que resultará en la producción de suficiente biomasa que contenga propágulos viables y tolerantes para la inoculación en campo.

Con el objetivo de encontrar el mejor sustrato para el desarrollo que promueva una alta producción de propágulos de *Trichoderma* spp., se han realizado estudios que han demostrado que esto depende tanto de la cepa evaluada como de los sustratos empleados. En general, se han evaluado diferentes sustratos como: grano entero de arroz, cascarilla de arroz, cáscaras obtenidas de productos como tomate, ajo, cacao, ajonjolí, cacahuete, café, rastrojo de soya y maíz, olote de maíz y maíz quebrado, vaina de frijol, granos de sorgo y alpiste, con resultados que además dependen de otros factores como la especie, el tiempo, etc. (Pineda-Insuasti *et al.*, 2017).

Para la selección del sustrato son esenciales las técnicas de fermentación; las cuales, de acuerdo con Ipiales *et al.* (2021), consisten en el proceso mediante el cual los sustratos líquidos o sólidos son metabolizados por microorganismos lo que proporcionan nutrientes y soporte a *Trichoderma* spp., para su crecimiento micelial y posterior generación masiva de propágulos como conidios, microesclerocios y clamidosporas. La fermentación en estado sólido (SSF) es un proceso mediante el cual se fermenta un sustrato insoluble con suficiente humedad, pero sin agua libre. Por el contrario, en la fermentación en estado líquido (LSF) o también conocida como fermentación sumergida (FS), el sustrato se solubiliza o se mantiene en suspensión en forma de partículas finas dentro de un gran volumen de agua. En la mayoría de los procesos de LSF, se emplean concentraciones de sustrato que oscilan entre el 0.5 y el 6 %, dependiendo de la densidad del propio sustrato. La SSF no requiere controles complejos y presenta numerosas ventajas frente a la LSF; no obstante, conlleva sus propios problemas inherentes (Chahal, 1985; Pandey, 2003; Singhania *et al.*, 2009). La fermentación bifásica se desarrolla secuencialmente en dos etapas: una fase líquida y una fase sólida. En este proceso, el hongo se cultiva inicialmente en un medio líquido hasta alcanzar el final de la fase de crecimiento exponencial; posteriormente, la biomasa obtenida se transfiere a un sustrato sólido, donde continúa su desarrollo y producción de estructuras reproductivas.

Por lo que el objetivo del presente trabajo fue evaluar el potencial de los granos de trigo,

sorgo y arroz, como sustratos para la producción de biomasa de *Trichoderma asperellum* cepa TFR3, mediante las técnicas de fermentación líquida, sólida y bifásica.

Materiales y métodos

La investigación se desarrolló en el Laboratorio de Fitopatología del Centro Universitario UAEM Tenancingo, ubicado en la Carretera Estatal Libre Tenancingo-Villa Guerrero Km. 1.5, Santa Ana Ixtlahuatzingo, Tenancingo, Estado de México; con latitud 18° 58' 07" N y longitud 99° 36' 42" O.

Selección y reactivación de *T. asperellum* cepa TFR3

Trichoderma asperellum cepa TFR3 pertenece de una colección del Laboratorio de Fitopatología del Centro Universitario UAEM Tenancingo; que fue aislada a partir de suelo proveniente de un cultivo de *Rosa* sp., infectado con *Rosellinia necatrix* en el Municipio de Tenancingo, Estado de México, México. Esta cepa ha demostrado en condiciones *in vitro* su acción antagónica frente a patógenos del rosal, como; *R. necatrix* (García-Velasco *et al.*, 2021a); *V. dahliae* y *B. cinerea* (García-Velasco *et al.*, 2021b); además, de tolerancia en condiciones *in vitro* a fungicidas como; tiofanato metílico, benomilo, captan, quintozeno + thiram, fluazinam (García-Velasco *et al.*, 2021c).

La cepa TFR3 de *Trichoderma asperellum* se cultivó previamente en medio PDA durante siete días. Posteriormente, se preparó una

suspensión con una concentración de 1×10^7 conidios mL^{-1} , la cual se utilizó como fuente de inóculo.

Fermentación líquida

Este tipo de fermentación se llevó a cabo en un medio compuesto por agua destilada suplementada con melaza de caña de azúcar (25 mL L^{-1}). El pH del medio se ajustó a 5.5 con NaOH (2 N) y posteriormente se distribuyeron a 200 mL en frascos de vidrio con capacidad de 500 mL. Los frascos se cerraron con tapones de algodón cubiertos con papel aluminio y se esterilizaron en autoclave a 121 °C y 15 psi durante 20 min. Tras 24 h de enfriamiento y bajo condiciones asépticas, se adicionaron 10 g de *Saccharomyces cerevisiae* a cada frasco, seguidos de la inoculación con 3 mL de una suspensión de conidios de la cepa TFR3 de *Trichoderma asperellum* ajustada a una concentración de 1×10^7 conidios mL^{-1} . Finalmente, los cultivos se incubaron a 25 ± 2 °C en oscuridad durante 14 días, con agitación manual cada tercer día (García *et al.*, 2006).

Cuantificación de la producción de conidios

La cuantificación de los conidios se realizó de una dilución 1:10, sobre una cámara de Neubauer en el mm^2 central; cuatro grupos de las esquinas y en el central, en un microscopio compuesto (objetivo 40x). Se utilizó la fórmula propuesta por Troya & Vaca (2014):

$$\text{Cuantificación de conidios} = \frac{\text{Total de conidios en los dos campos}}{\text{Superficie recontada } \text{mm}^2 \times \text{Profundidad mm} \times \text{Dilución}}$$

Fermentación sólida

Para la fermentación sólida se utilizaron como sustratos granos enteros o triturados de arroz, trigo y sorgo; los cuales se lavaron tres veces con agua potable, seguido de un proceso de hidratación en una solución de agua + cloranfenicol (500 ppm) por 30-45 min, el exceso de humedad fue retirado mediante escurrimiento, de cada sustrato se tomaron 250 g y se depositaron en bolsas de polipapel de alta densidad, se sellaron y se esterilizaron a 121 °C y 15 psi durante 20 min; se dejaron enfriar durante 24 h en condiciones asépticas.

Posteriormente, los sustratos correspondientes a cada tratamiento se inocularon con 3 mL de una suspensión de conidios de la cepa TFR3 (1×10^7 conidios mL^{-1}). Los cultivos se incubaron a 25 ± 2 °C bajo iluminación con luz blanca durante 21 días. Con el propósito de favorecer la distribución homogénea del inóculo y mejorar la aireación del cultivo, las bolsas se mezclaron manualmente cada tercer día durante todo el periodo de incubación (López, 2018).

Obtención de la biomasa

Para cuantificar la biomasa y producción de conidios por tratamiento, se llevó a cabo un proceso de secado de los sustratos, estos se colocaron en bandeja de aluminio y durante 10 días se mantuvieron a 25 ± 3 °C, y se removió cada tercer día. La biomasa se obtuvo haciendo uso de un tamiz del número 100 y mediante frotación y agitación se desprendieron los conidios; la biomasa se recolectó, pesó y depositó en bolsas de aluminio para su almacenamiento a 2-4°C (López, 2018).

Cuantificación de conidios y determinación de su viabilidad y la pureza

Se realizó una suspensión de conidios utilizando 0.1 g de biomasa con 9.9 mL de agua destilada estéril con Tween 20 (0.1%), se agitó en un vortex y se realizó el conteo de conidios en una cámara de Neubauer visualizada bajo microscopio compuesto con

el objetivo 40x. Los datos se extrapolaron a conidios g⁻¹ de biomasa.

La viabilidad de los conidios se determinó con base al porcentaje de germinación; para tal efecto se ajustó la suspensión a una concentración de 1×10^5 conidios mL⁻¹, de la que se sembraron tres cajas de Petri colocando 50 µL en cinco puntos equidistantes (250 µL en cada caja) y se incubaron a 25 ± 3 °C durante 16-20 horas. Después, se colocó un portaobjetos sobre en cada uno de los puntos de siembra para su revisión bajo microscopio compuesto (objetivo 40x) y se contabilizaron 100 conidios clasificándolos como germinados o no germinados. El criterio para considerar a los conidios germinados fue aquellos que han desarrollado un tubo germinativo con longitud del doble del diámetro de los conidios (Figura 1) (Cardona *et al.*, 2014). El porcentaje de viabilidad se calculó mediante la fórmula propuesta por Agus *et al.* (2015).

$$\% \text{ de viabilidad} = \frac{a}{(a + b)} \times 100$$

Donde:

a= Número de conidios germinados

b= Número de conidios no germinados

Pureza de la biomasa

El porcentaje de pureza de la biomasa (%P) se determinó utilizando las mismas siembras empleadas para la evaluación de la viabilidad de los conidios. La pureza se calculó como la

proporción de unidades formadoras de colonias (UFC), correspondientes a conidios viables, de acuerdo con la ecuación propuesta por Cardona *et al.* (2014).

$$\% P = \frac{\text{Conidios del hongo de interés}}{\text{Conidios totales}} \times 100$$

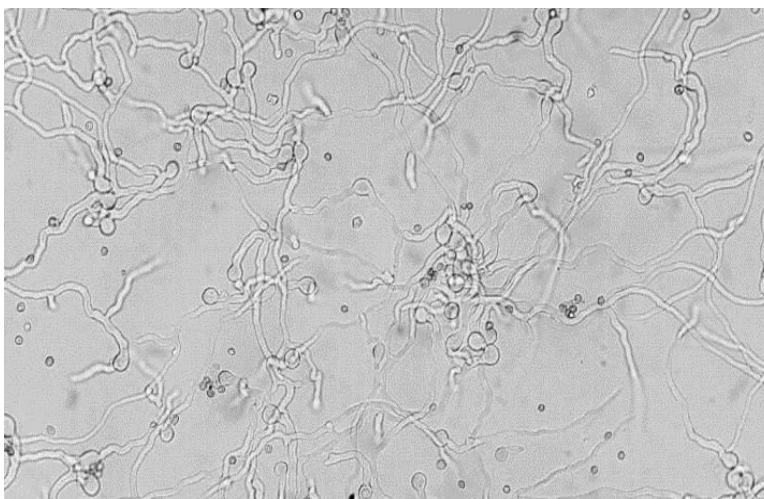


Figura 1. Germinación de conidios y pureza de la biomasa de la cepa TFR3, sobre medio PDA. Vista a microscopio compuesto con el objetivo 40x.

Fermentación bifásica

La fermentación bifásica (fermentación líquida seguida de fermentación sólida) se llevó a cabo utilizando los procedimientos previamente descritos para cada etapa. Los sustratos correspondientes a cada tratamiento fueron lavados y esterilizados conforme a la metodología empleada en la fermentación sólida. Como inóculo se utilizaron los conidios obtenidos durante la fermentación líquida, realizada durante 14 días. La suspensión de conidios se ajustó a una concentración de 1×10^7

conidios mL^{-1} , y de esta se inocularon 3 mL en bolsas que contenían los sustratos previamente esterilizados. Posteriormente, los cultivos se incubaron durante 21 días bajo las condiciones establecidas para la fermentación sólida y, al término de este periodo, el sustrato se secó durante 10 días. Finalmente, se recuperó la biomasa y se evaluaron las mismas variables cuantificables descritas para la fermentación sólida (Figura 2).



Figura 2. Fermentación bifásica para la reproducción de biomasa de la cepa TFR3. A) Lavado y pesado de los sustratos sólidos, B) fermentación líquida, C) inoculación del medio líquido en el medio sólido estéril, D) incubación de los sustratos inoculados, E) secado del sustrato para la obtención de la biomasa y F) biomasa.

Diseño experimental y análisis estadístico

Para los experimentos de fermentación sólida y bifásica se empleó un diseño completamente al azar con seis tratamientos: arroz entero (AE), sorgo entero (SE), trigo entero (TE), arroz triturado (AT), sorgo triturado (ST) y trigo triturado (TT), cada uno con cinco repeticiones. Las variables evaluadas fueron: a) peso de la biomasa, b) producción de conidios (conidios g^{-1} de biomasa), c) porcentaje de viabilidad y d) pureza de la biomasa. Los datos se sometieron a las pruebas de Shapiro-Wilk y Levene para verificar los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, respectivamente. Cuando dichos supuestos no se cumplieron, los datos se transformaron antes del análisis estadístico. Posteriormente, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y

las medias se compararon mediante la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$), utilizando el software InfoStat v. 2020 (versión estudiantil). En el experimento de fermentación líquida no se utilizó un diseño experimental; por lo tanto, no se realizó un análisis inferencial y únicamente se cuantificó la producción de conidios, expresada como conidios mL^{-1} .

Resultados y discusión

Fermentación líquida

En la fermentación líquida se obtuvieron en promedio 1.593×10^7 conidios mL^{-1} , en 14 días; con una viabilidad promedio de 85.8%, y una pureza del 100%, ya que no se observó el crecimiento de microorganismos diferentes a la cepa TFR3 en el medio de cultivo PDA (Tabla 1). Y, aunque estos resultados difieren por la baja producción de conidios en

comparación con los reportados en trabajos relacionados con esta técnica de fermentación es importante destacar que se realiza en un espacio reducido y se requiere un mínimo de recursos de agua destilada, melaza y levadura. Las ventajas de esta metodología para la producción de *Trichoderma* spp., fue confirmada en este trabajo, por esta razón es la técnica más utilizada debido a su fácil proceso y bajos costos de producción, además de ventajas en el tiempo de cultivo corto, control riguroso de los parámetros de fermentación, menos espacio físico, bajo nivel de contaminación y menor cantidad de mano de obra (Locatelli *et al.*, 2022). A través de esta técnica Becker *et al.* (2024), reportaron concentraciones de $3.8 \times 10^7 \pm 1.4 \times 10^7$ conidios mL⁻¹ utilizando melaza + 0.5% de extracto de levadura y de $6.7 \times 10^7 \pm 1.7 \times 10^7$ conidios mL⁻¹ utilizando como medio únicamente la melaza, señalando que el extracto de levadura no aportó beneficio alguno para mejorar el crecimiento de *Trichoderma* spp., por lo que aseveran que utilizar levadura puede representar un incremento innecesario en los costos de producción en esta técnica.

Son varios los estudios en los que se ha evaluado la fermentación líquida con algunas variantes, así se reporta que para la producción *T. asperelloides* LQC-96, a pH de 3.5, relación carbono nitrógeno 160:1, sin glicerol e incubada durante siete días a 30 °C bajo luz constante, se obtuvo una concentración de hasta 8.35×10^7 conidios mL⁻¹ (Castro *et al.*, 2020). Aplicando esas mismas condiciones, García *et al.* (2006) evaluaron 10 cepas de *T. harzianum* mediante la técnica de fermentación líquida estática, utilizando melaza fresca y levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) con lo cual obtuvieron una producción de conidios de 1.8×10^9 mL⁻¹ en ocho días y 2.6×10^8 al día 14 posterior a la inoculación, evidenciando que la respuesta de producción de conidios es dependiente de la especie y del tiempo.

La fermentación líquida permite el uso de diversas fuentes de carbono y nutrientes que favorecen el crecimiento micelial y la esporulación. En este contexto, Locatelli *et al.* (2022) demostraron que un medio compuesto por sacarosa y levadura autolizada promovió la formación de microesclerocios en dos cepas de *T. asperellum* tras siete días de incubación. Asimismo, un medio formulado con 2% de pulpa de papa + 2% de azúcar sin

refinar permitió alcanzar una producción de 10.20×10^7 conidios mL⁻¹ en el mismo periodo (Rai *et al.*, 2023). En conjunto, estos resultados muestran que la composición del medio de cultivo desempeña un papel determinante en la productividad de *Trichoderma* bajo condiciones de fermentación líquida.

La ventaja que se le puede atribuir a esta técnica es que al tener un alto volumen de fermentación líquido se puede inocular altos volúmenes de sustrato sólido, tal y como lo mencionan García *et al.* (2006) al señalar que con este proceso se acelera la obtención de inóculo del hongo para el proceso de producción de conidios.

Fermentación sólida

La mayor cantidad de biomasa de *Trichoderma asperellum* se obtuvo mediante la técnica de fermentación sólida con el sustrato de arroz entero (Sólida-AE) con 1.61 g, seguido con 1.38 g mediante la técnica Bifásica-AT. Los tratamientos AE (arroz entero) y TE (trigo entero), incrementaron significativamente la producción de conidios por g de biomasa siendo de 6.98125×10^8 y 6.40625×10^8 respectivamente seguidos por los sustratos de SE y ST con una producción de 1.94625×10^8 y 1.945×10^8 , respetivamente. El tratamiento que produjo la menor cantidad de conidios fue TT con 2.8×10^6 (Tabla 1).

El mayor porcentaje de viabilidad de los conidios ocurrió en los que procedían del sustrato en el AT 93.5%, y el AE de 89.4%, aunque no fue significativo entre estos. En contraste, los tratamientos TE y TT presentaron estadísticamente el menor porcentaje de conidios germinados. Con relación a la pureza de la biomasa, los datos indican el 100% para todos los tratamientos a excepción de TT en el que la pureza fue de 89% (Tabla 1).

La reproducción de *Trichoderma* spp., varía considerablemente según la especie y los sustratos utilizados para su cultivo, en este trabajo con la fermentación sólida utilizando arroz como sustrato se obtuvo la mayor cantidad de conidios, similar a lo encontrado por López (2018), que reportó una producción de 8.845×10^8 conidios g⁻¹ en *T. asperellum* con arroz entero en 28 días, producción relativamente mayor que lo encontrado en este trabajo, posiblemente por la sensibilidad de estas especies a las variables en la

producción. En contraste en otra investigación en la que también utilizó arroz como sustrato y tras 21 días de la incubación de *T. harzianum*, se obtuvo una producción de 3.30×10^6 hasta 1.03×10^8 conidios en 0.5 g de sustrato, mientras que para *T. longibrachiatum* y *Trichoderma* spp. fue de 2.44×10^7 y 7.525×10^6 conidios, respectivamente (López *et al.*, 2022), que es menos producción que lo encontrado en este trabajo aún en condiciones similares. En la especie *T. asperelloides* se obtuvo una producción de 1×10^7 hasta 1×10^9 conidios g^{-1} de sustrato en un periodo de 12 a 14 días (Ceballos-Chávez *et al.*, 2025).

En este trabajo los granos utilizados como sustrato presentan diferentes respuestas, como el sorgo entero o triturado en las técnicas sólida y bifásica generan una producción estable de conidios y con mayor pureza y viabilidad a los obtenidos con el trigo (Tabla 1). Aunque, López (2018) reporta que al utilizar granos de sorgo entero obtiene mayor número de conidios g^{-1} de *T. asperellum*; y Naeimi *et al.* (2020) obtuvieron 6.4×10^{10} conidios g^{-1} para *T. harzianum* AS12-2. Por otro lado; Rai *et al.* (2023) reportaron que siete días después de la inoculación con *T. asperellum*, se tuvo una producción de 5.24×10^8 conidios g^{-1} de sustrato, aumentando hasta 8.31×10^8 al adicionar 2% de azúcar sin refinar; lo que demuestra que el tiempo y variables como el tipo de grano usado como sustrato y la especie es determinante para incrementar el número de conidios.

Fermentación bifásica

En el caso de la fermentación bifásica el sustrato con arroz entero (AE) presentó la mayor producción de 7.2025×10^8 conidios g^{-1} de biomasa respecto a los otros tratamientos, aunque el peso de biomasa fue de los más bajos de tan solo 0.56 g, sin embargo, el tratamiento AT (arroz triturado) que tuvo estadísticamente la menor producción de conidios, fue la que presentó el mayor peso de biomasa de 1.38 g. También el tratamiento AE presentó el más alto porcentaje de viabilidad (91.1%) y el

tratamiento TT el menor (63.5%), con respecto a los otros tratamientos (Tabla 1).

En lo que respecta a la fermentación bifásica, autores como Pineda-Insuasti *et al.*, (2017) destacan que es una técnica rápida de reproducción, ya que primero se produce el inóculo mediante fermentación líquida para posteriormente utilizarlo como inóculo para fermentar sustratos en medio sólido; complementariamente, los autores consideran que la selección de sustratos debe estar en función de su disponibilidad en la zona que se pretende hacer la reproducción de *Trichoderma* spp. En este sentido, se difiere con la rapidez señalada por los autores, ya que por medio de esta técnica tomó 45 días obtener la biomasa como producto final (14 días fase líquida + 21 días fase sólida + 10 días de secado de los sustratos). En lo relativo a la producción de conidios por esta técnica, la mayor concentración se obtuvo con AE como sustrato, con el que se alcanzó una concentración de 7.2025×10^8 conidios g^{-1} de biomasa; mientras que por fermentación sólida en el sustrato en 28 días se produjo una concentración de 6.98125×10^8 conidios g^{-1} de biomasa, siendo ambos resultados no diferentes estadísticamente ($p < 0.05$).

De acuerdo con lo anterior se refuerza la teoría de que, para la producción de biomasa en la formulación de biopreparados con *Trichoderma* spp., es primordial evaluar sustratos, técnicas de fermentación, condiciones de temperatura, luz y humedad de los sustratos, los cuales estarán determinados por la especie y cepa de *Trichoderma* spp. Los resultados generados contribuyen a la toma de decisiones con relación a sustratos y técnicas para la obtención de biomasa con fines de formulación de bioproductos. Al respecto Pineda-Insuasti *et al.* (2017) señalan, que, de manera comercial, las presentaciones de los biopreparados pueden ser variables para una mejor manipulación del producto; en este sentido mencionan que es preferible la fermentación sólida para la formulación de polvos húmedos, polvos secos, formulaciones en aceite y encapsulados de esporas de *Trichoderma* spp.

Artículos

Tabla 1. Producción de conidios, viabilidad y pureza de la cepa TFR3 obtenidos mediante las técnicas de fermentación líquida, sólida y bifásica.

Fermentación – Sustrato	Peso de biomasa en g	Conidios g ⁻¹ de biomasa	% de viabilidad	% de pureza
Líquida	-----**	15 930 000.0**	85.8abc	100
Sólida - AE	1.61a	698 125 000.0a	89.4ab	100
Sólida - TE	0.29de	640 625 000.0a	77.3bcd	100
Sólida - SE	0.42cde	194 625 000.0c	86.0abc	100
Sólida - ST	0.37de	194 500 000.0c	82.0abc	100
Sólida - AT	0.87b	46 625 000.0d	93.5a	100
Sólida - TT	0.10e	2 800 000.0e	1.9e	89
Bifásica - AE	0.56bcd	720 250 000.0a	91.1ab	100
Bifásica - SE	0.75bc	379 506 666.6b	84.4abc	100
Bifásica - ST	0.36de	343 387 500.0b	81.4abc	100
Bifásica - TT	0.59bcd	323 676 666.6b	63.5d	100
Bifásica - TE	0.88b	293 483 333.4b	75.3cd	100
Bifásica - AT	1.38a	152 595 833.3c	87.3abc	100

Los valores representan las medias; letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas (Tukey, $p \leq 0.05$). AE= arroz entero, SE= sorgo entero, TE= trigo entero, AT= arroz triturado, ST= sorgo triturado y TT= trigo triturado.

**Para esta técnica los conidios fueron cuantificados en 1 mL de la muestra líquida ya que no se obtuvo biomasa.

Conclusiones

La producción de *Trichoderma asperellum* cepa TFR3 estuvo influenciada por el sistema de fermentación y el tipo de sustrato. El arroz entero destacó como el sustrato más favorable, ya que en fermentación sólida permitió obtener la mayor cantidad de biomasa (**1.61 g**) y una elevada producción de conidios (**6.98125×10^8 conidios g⁻¹ de biomasa**) con una viabilidad del 89.4%, mientras que la fermentación bifásica con este mismo sustrato alcanzó la mayor producción de conidios (**7.2025×10^8 conidios g⁻¹ de biomasa**) y 91.1% de viabilidad. En conjunto, estos resultados demuestran el potencial del arroz entero para la producción de biomasa y conidios de *T. asperellum* TFR3.

Referencias

Agus N, Saranga AP, Rosmana A, Sugiarti A (2015) Viability and conidial production of entomopathogenic fungi *Penicillium* sp. International Journal of Scientific and Technology Research 4(1): 193-195 <https://www.ijstr.org>.

Antomarchi OY, Tamayo RE, Guerra BJL, Siannah MMD, Barrera AAL (2023) Producción de hongo *Trichoderma harzianum* a-34 en sustratos sólidos alternativos. Revista Científica Arbitrada Multidisciplinaria Pentaciencias 5(1): 259-267 <http://editorialalema.org/index.php/pentaciencias/article/view/440/572>

Becker P, Esker P, Umaña-Rojas G (2024) Fermentation of *Trichoderma* for biological control using local inputs in Costa Rica. Agronomía Mesoamericana 35(1):A55761. <https://doi.org/10.15517/am.2024.55761>

Cardona NL, Borrego DA, Fernández EP, Sánchez J, Cardona V, Montoya G (2014) Evaluación microbiológica y patogenicidad de una bioformulación líquida del hongo *Purpureocillium* sp. (cepa UdeA 0109) sobre estadios de *Meloidogyne incognita-javanica*. Biotecnología aplicada 31(3):1-6. <https://www.researchgate.net/publication/330523185>

Castro DRL, De Andrade CAL, Costa LB, De Almeida HVB, Guedes SL, Vegette PZ, Boechat MMA, Vasconcelos De MFH, Moura MG, Bettiol W (2020) Optimizing mass production of *Trichoderma asperelloides* by submerged liquid fermentation and its antagonism against *Sclerotinia sclerotiorum*. World J Microbiol Biotechnol 36(8):113. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11274-020-02882-7>

Ceballos-Chávez ÁR, López-Valenzuela BE, Valenzuela-Escoboza FA, López-Bautista E, Marquez-Lujan H, Chávez-García LE (2025) Reproducción conidial de *Trichoderma asperelloides*, en medios de cultivo y sustratos orgánicos. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 16(1): e3510 <https://doi.org/10.29312/remexca.v16i1.3510>

Artículos

Chahal SD (1985) Solid-Sate fermentation with *Trichoderma* cellulase producción. Applied and Environmental Microbiology 49(1): 205-210.

García-Velasco R, Alonso-Baena A, Domínguez-Arismendi G, Aguilar-Medel S, Mora-Herrera ME, Companioni-González B (2021a) Antagonismo de cepas nativas de *Trichoderma* spp. para el control de *Rosellinia necatrix* en el cultivo de la rosa. Agronomía Tropical 71(1):1-15.

<https://doi.org/10.5281/zenodo.4605221>

García-Velasco R, Alonso-Baena A, Domínguez-Arismendi G, Aguilar-Medel S, Mora-Herrera ME, Companioni-González B (2021b) Antagonismo *in vitro* de cepas nativas de *Trichoderma* spp. contra *Verticillium dahliae* y *Botrytis cinerea* en el Estado de México. Agronomía Tropical 71(1): 1-13.

<https://doi.org/10.5281/zenodo.5091830>

García-Velasco R, Rojas-Tapia G, Domínguez-Arismendi G, Companioni-González B (2021c) Sensibilidad *in vitro* de cinco cepas nativas de *Trichoderma* spp. a diferentes fungicidas. Agronomía Tropical 71(1):1-12

<https://doi.org/10.5281/zenodo.5515702>

García R, Durán MA, Riera R (2006) Producción de biomasa de *Trichoderma harzianum* por fermentación líquida. Fitosanidad 10(4):295-298.

<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=209116183008>

Hernández-Melchor DJ, Ferrera-Cerrato R, Alarcón A (2019) *Trichoderma*: Importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. Chilean Journal of Agricultural and Animal Sciences 35(1):98-112.

<http://dx.doi.org/10.4067/S0719-38902019005000205>

Ipiates JJP, Pineda IJA, Barrigas RDA, Muñoz PFA, Pineda SCA (2021) Producción del hongo-moho (*Trichoderma harzianum*): una revisión. Revista Biorefinería 4(4):1-16.

<https://cebaecuador.org/wp-content/uploads/2022/01/14.pdf>

Li N, Islam MT, Kang S (2019) Secreted

metabolite-mediated interactions between rhizosphere bacteria and *Trichoderma* biocontrol agents. PLOS ONE 14(12).

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227228>

Locatelli GO, Pimentel MF, Bueno LA, Júnior ML, Mascarín GM, Luna Frinkler CL (2022) Production of microsclerotia by *Trichoderma asperellum* through submerged liquid fermentation using low-cost nitrogen and carbon sources. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 44. 102455.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1878818122001827>

López AYM (2018) Producción y formulación de *Trichoderma asperellum* para el manejo de patógenos de la raíz de caña de azúcar. Tesis Maestría en Biología y Química. Universidad Autónoma del Estado de Morelos Centro De Investigaciones Biológicas. Cuernavaca Morelos. pp. 1-108.

<http://riaa.uaem.mx/xmlui/handle/20.500.12055/646>

López MTA, Páramo ALA, Delgado SHD, Delgado SHD (2022) Reproducción masiva de hongos *Trichodermas* previamente identificados de suelos nicaragüenses en diferentes sustratos orgánicos. Revista Científica Nexa 35(03):700-712

<https://doi.org/10.5377/nexo.v35i03.15000>

Naeimi S, Khosravi V, Varga A, Vágvolgyi C, Kredics L (2020) Screening of organic substrates for solid-state fermentation, viability and bioefficacy of *Trichoderma harzianum* AS12-2, a biocontrol strain against rice sheath blight disease. Agronomy 10(9):1258.

<https://doi.org/10.3390/agronomy10091258>

Pandey A (2003) Solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 13(2-3): 81-84. DOI [10.1016/S1369-703X\(02\)00121-3](https://doi.org/10.1016/S1369-703X(02)00121-3)

Pineda-Insuasti JA, Benavides-Sotelo EN, Duarte-Trujillo AS, Burgos-Rada CA, Soto-Arroyave CP, Pineda-Soto CA, Fierro-Ramos FJ, Mora-Muñoz ES, Álvarez-Ramos SE (2017) Producción de biopreparados de *Trichoderma* spp: una revisión. ICIDCA. Sobre los derivados de la caña de azúcar 51(1):47-52

<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223153894008>

Rai PD, Ranjan RK, Kumar RM (2023)

Artículos

Evaluation of local solid and liquid substrates for growth and sporulation of *Trichoderma asperellum*. The Pharma Innovation Journal 12(3):15-18.

<https://doi.org/10.22271/tpi.2023.v12.i3a.19268>

[Singhania](#) RR, [Patel](#) KA, [Socco](#) RC, [Pandey](#) A (2009) Recent advances in solid-state fermentation. [Biochemical Engineering Journal](#) 44(1): 13-18.

<https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.10.019>

Tanaka S, Kahmann R (2021) Cell Wall-associated effectors of plant-colonizing fungi.

Micology 113(2):247-260.

<https://doi.org/10.1080/00275514.2020.1831293>

Troya C, Vaca GL (2014) Protocolo para la producción de cepas nativas de *Trichoderma* spp. en laboratorios artesanales. Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca. Ed. Planta Central MAGAP. Ecuador. 42.

<https://www.agricultura.gob.ec/wp-content/uploads/2016/01/MANUAL-labos-para-web.pdf>. Consultado en 2024.



www.smbb.com.mx