



UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ
EXTENSIÓN EL CARMEN

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

Creada Ley No 10 – Registro Oficial 313 de noviembre 13 de 1985

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**TRABAJO EXPERIMENTAL PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO AGROPECUARIO**

**“Influencia de sustratos orgánicos líquidos en la multiplicación de
Trichoderma spp. bajo condiciones de laboratorio”**

AUTORA: JARAMILLO SANCHEZ KAREN ELIANA

DOCENTE TUTOR: Ing. MARCO DE LA CRUZ, Mg.

El Carmen, 2026

	NOMBRE DEL DOCUMENTO: CERTIFICADO DE TUTOR(A).	CÓDIGO: PAT-04-F-004
	PROCEDIMIENTO: TITULACIÓN DE ESTUDIANTES DE GRADO BAJO LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR	REVISIÓN: 1 Página 1 de 1

CERTIFICACIÓN

En calidad de docente tutor(a) de la Extensión El Carmen de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, CERTIFICO;

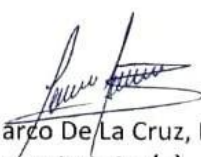
Haber dirigido, revisado y aprobado preliminarmente el Trabajo de Integración Curricular bajo la autoría de la estudiante Jaramillo Sánchez Karen Eliana, legalmente matriculado/a en la carrera de la Ingeniería Agropecuaria periodo académico 2026(1), cumpliendo el total de 384 horas, cuyo tema del proyecto es "Influencia de sustratos orgánicos líquidos en la multiplicación de *Trichoderma spp.* Bajo condiciones de laboratorio".

La presente investigación ha sido desarrollada en apego al cumplimiento de los requisitos académicos exigidos por el Reglamento de Régimen Académico y en concordancia con los lineamientos internos de la opción de titulación en mención, reuniendo y cumpliendo con los méritos académicos, científicos y formales, y la originalidad del mismo, requisitos suficientes para ser sometida a la evaluación del tribunal de titulación que designe la autoridad competente.

Particular que certifico para los fines consiguientes, salvo disposición de Ley en contrario.

El Carmen, 03 de agosto de 2026

Lo certifico,



Ing, Marco De La Cruz, Mg
Docente tutor(a)

Área: Agricultura, Silvicultura, Pesca y Veterinaria.

CERTIFICADO DEL TRIBUNAL

UNIVERSIDAD LAICA "ELOY ALFARO" DE MANABÍ

EXTENSIÓN EL CARMEN

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

TÍTULO:

“Influencia de sustratos orgánicos líquidos en la multiplicación de *Trichoderma spp.*
bajo condiciones de laboratorio”

AUTOR: Jaramillo Sánchez Karen Eliana

TUTOR: Ing. Marco De La Cruz, Mg.

**TRABAJO EXPERIMENTAL PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE INGENIERO AGROPECUARIA**

TRIBUNAL DE TITULACIÓN

MIEMBRO Mg. Mejía Chanaluisa Kleber Fernando



MIEMBRO Mg. González Dávila Ricardo Paul



MIEMBRO PhD. López Mejía Francel Xavier



DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Yo, Jaramillo Sánchez Karen Eliana con cedula de ciudadanía 2350373367, estudiante de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí Extensión El Carmen, de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria, declaro que soy autora de la tesis titulada “Influencia de sustratos orgánicos líquidos en la multiplicación de *Trichoderma spp.* Bajo condiciones de laboratorio”, esta obra es original y no infringe derechos de propiedad intelectual. Asumo la responsabilidad total en su contenido y afirmo que todos los conceptos, ideas, textos y resultados que no son de mi autoría están debidamente citados y referenciados.

Atentamente

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Karen Eliana Jaramillo', is written over a horizontal dashed line.

Jaramillo Sánchez Karen Eliana

CI:2350373367

DEDICATORIA

A Dios, fuente de fortaleza y sabiduría, porque nada de esto tendría sentido sin tu compañía constante en cada paso de este camino.

A mi querida madre Maritza Sánchez, a quién le debo gran parte de la persona que soy, que es lo único verdadero y sincero que tengo en la vida, con su mayor sacrificio y apoyo he logrado una meta más, cada página de esta tesis lleva tu esfuerzo, gracias por estar en cada etapa de mi vida y por darme la seguridad de que nunca camino sola.

A mis tías Mayra y Mirella, quienes con sus palabras, consejos y apoyo incondicional me enseñaron que estudiar y prepararme profesionalmente era una de las mejores decisiones para mi futuro y cada ayuda que me brindaron fueron importantes para llegar hasta aquí. Hoy, al alcanzar esta meta quiero que sepan que este logro también lleva una parte de ustedes.

A la institución, por darme a una de las personas importante en mi vida, llegando de una manera inesperada desde el primer día se convirtió en alguien muy especial para mí, gracias por su cariño y por su espacio en su vida. Me alegra saber que este proceso universitario no solo me dejó conocimientos y aprendizajes, sino también personas que llevaré siempre en mi corazón.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por no dejarme rendir en esos momentos que uno quiere tirar todo, él siempre fue la guía necesaria para superar cada obstáculo y por permitirme llegar a este día tan esperado.

A mi madre, quiero agradecerle profundamente por todo lo que ha hecho por mí a lo largo de mi vida. Gracias por cada sacrificio, por cada palabra de ánimo, por tus consejos y por nunca dejar de confiar en mis capacidades. En los momentos en que sentí que no podía más, tu apoyo me dio la fuerza necesaria para continuar. Hoy culmino esta etapa con la satisfacción de haber alcanzado una meta, pero también con la certeza de que detrás de ella estuvo siempre tu amor.

A mis amigas Karen Muñoz y Gema Mendoza, por llegar a mi vida en una etapa que hoy está llegando a su fin y convertirse en una parte importante de ella. Gracias por compartir conmigo sueños, preocupaciones, alegrías, viajes y aprendizajes. Juntas vivimos momentos que quedarán para siempre en mi memoria. Más que compañeras de universidad, se convirtieron en amigas que espero seguir teniendo a mi lado en cada nueva etapa que venga.

A mis compañeros de clase, gracias por cada todas las veces que me ayudaron, por la paciencia en los momentos de estrés, por las horas de trabajo compartidas y por motivarme a continuar cuando el cansancio aparecía.

A mi tutor, por su guía, conocimientos y orientación durante la elaboración de este trabajo.

A mis docentes, mi profundo agradecimiento por haber acompañado mi formación durante estos años. Gracias por compartir sus conocimientos, experiencias y consejos, y por exigirme siempre dar lo mejor de mí. Cada enseñanza recibida contribuyó a prepararme para esta nueva etapa de mi vida profesional. Me llevo de cada uno de ustedes aprendizajes que trascienden las aulas y que serán parte de mi camino como profesional.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

PORTADA	I
CERTIFICADO DE TUTOR	II
TRIBUNAL DE TITULACIÓN.....	III
DECLARACIÓN DE AUTORÍA.....	IV
DEDICATORIA.....	V
AGRADECIMIENTO	VI
ÍNDICE DE CONTENIDO	VII
ÍNDICE DE TABLAS.....	X
ÍNDICE DE FIGURAS	XI
ÍNDICE DE ANEXO	XIII
RESUMEN.....	XIV
ABSTRACT	XV
CAPITULO I.....	1
TÍTULO.....	1
1.1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
1.3 JUSTIFICACIÓN	4
1.4 OBJETIVOS.....	5
i. Objetivo general.....	5
ii. Objetivos específicos	5
iii. Hipótesis	5
1.5 METODOLOGÍA.....	6
1.5.1 Localización de la investigación.....	6
1.5.2 Caracterización agroecológica de la zona	6
1.5.3 Materiales, equipos e insumos.....	6
a) Materiales.....	6
b) Equipos	7
c) Insumos	7
1.5.4 Diseño experimental	8
a) Factor de estudio	8

b) Niveles	8
1.6 TRATAMIENTOS	8
1.7 CARACTERÍSTICA DE LAS UNIDADES EXPERIMENTALES	9
1.8 DISTRIBUCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS EN EL LABORATORIO.....	9
1.8.1 Variables.....	9
a) Variables Independientes	9
Sustratos orgánicos líquidos para la multiplicación de <i>Trichoderma</i> spp.....	9
b) Variables dependientes	9
1.8.2 Métodos de evaluación de las variables	9
i. Variables dependientes.....	9
1.9 MANEJO DEL ENSAYO	10
1.9.1 Inoculación de <i>Trichoderma</i> spp.....	10
1.9.2 Distribución de los tratamientos en el laboratorio	10
1.9.3 Toma de datos	11
1.9.4 Tabulación de datos.....	11
1.9.5 Análisis e interpretación de los resultados	11
CAPÍTULO II.....	12
2. MARCO TEÓRICO	12
2.1 Antecedentes.....	12
2.2 Historia de <i>Trichoderma</i> spp.....	12
2.3 Importancia de <i>Trichoderma</i> spp.....	12
2.4. <i>Trichoderma</i> spp.....	13
2.4.1. Micoparasitismo	17
2.4.2 Producción de enzimas líticas	18
2.4.3 Competencia por espacio y nutrientes	18
2.4.4 Antibiosis.....	18
2.5 Sustratos en la Multiplicación de <i>Trichoderma</i> spp.....	19
2.5.1 Arroz como sustrato orgánico	19
2.5.2 Melaza como fuente de carbono y energía	20
2.5.3 Humus de lombriz líquido disuelto (H.L.D.)	20
2.5.4 Agua como medio de dilución y soporte.....	21
2.5.5 Combinación de sustratos y su efecto en la multiplicación de <i>Trichoderma</i>	21
2.6 Importancia agronómica de los sustratos orgánicos	21
2.7 Importancia del Laboratorio en la Producción de <i>Trichoderma</i>	22
2.8 Usos de <i>Trichoderma</i> en la Agricultura.....	23

2.8.1 Plagas y Patógenos que Controla <i>Trichoderma</i>	24
2.9 Trabajos relacionados	28
CAPÍTULO III.....	31
3. DESARROLLO DE LA PROPUESTA	31
3.1. Descripción del sistema o proceso	31
3.1.1. Antecedentes.....	31
3.2. Diseño y selección de tecnologías, herramientas o equipos a implementar	32
3.2.1 Metodología de la propuesta	32
Fase I: Diseño e implementación de la unidad de aislamiento.....	32
Fase II: Evaluación del desempeño microclimático.....	32
Fase III: Análisis de viabilidad y eficiencia biotecnológica.....	33
3.2.2 Esquema de la cámara de aislamiento microbiológico	34
3.3 Resultados y discusiones	35
3.3.1 Evaluación de la estabilidad experimental de <i>Trichoderma spp.</i> en el laboratorio	35
3.3.2 Determinación del sustrato orgánico líquido óptimo para la multiplicación masiva	36
CAPÍTULO IV	39
4.1 CONCLUSIONES.....	39
4.2 RECOMENDACIONES.....	40
CAPITULO V.....	XVI
5.REFERENCIAS BIBLIOGRAFÍAS	XVI
ANEXOS.....	XXI

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características meteorológicas	6
Tabla 2. Tratamientos para la evaluación de la influencia de la propagación de la <i>Trichoderma</i> spp. en sustratos líquidos	8
Tabla 3. Características de las unidades experimentales	9
Tabla 4. Distribución de los tratamientos en el laboratorio	11
Tabla 7. Prueba de comparación de medias de Tukey ($\alpha = 0,05$) para la densidad poblacional de <i>Trichoderma</i> spp.	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación de la granja experimental “Río Suma”	6
Figura 2. Morfología de colonias y estructuras de reproducción asexual de <i>Fusarium oxysporum</i> Schltdl. obtenido de raíces de <i>Pinus spp.</i> con síntomas de pudrición de raíz	14
Figura 3. Características macroscópicas y microscópicas de <i>Rhizoctonia solani</i> (AG2-1 y AG-3).....	14
Figura 4. Patrones de colonias de <i>Pythium huanghuaiense</i>	15
Figura 5. (a) Morfología de colonia de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> y (b) gotas de rocío en esclerocios en desarrollo.....	16
Figura 6. Aspecto de una colonia de <i>Phytophthora</i> de un cultivo puro, el micelio no presenta color ya que no posee pigmentos. El patrón de crecimiento de la colonia puede variar.....	16
Figura 7. Características morfológicas de <i>Macrophomina phaseolina</i> : (A) colonias en agar dextrosa de papa tras 10 días de incubación a 25 ± 1 °C en oscuridad; (B, C) microsclerocios en madera de pistacho y en agar de agua; (D) conidios producidos a partir de picnidios maduros.....	17
Figura 8. <i>Trichoderma spp.</i> observado en contexto de control biológico y biofertilizante	19
Figura 9. Crecimiento de colonias fúngicas en placas de Petri observado en el contexto del estudio sobre <i>Trichoderma spp.</i> como agente biocontrolador frente a <i>Fusarium spp.</i> en berenjena.	25
Figura 10. Cultivo in vitro de <i>Trichoderma spp.</i> , y su antagonismo frente a <i>Moniliophthora roreri</i>	26
Figura 11. Huevo de <i>Meloidogyne incognita</i> raza 2 parasitado por <i>Trichoderma asperellum</i> (cepa Ta.90), observado a 1000× de aumento. Se evidencia la colonización micelial de <i>Trichoderma</i> sobre la estructura del huevo del nematodo, lo que provoca la degradación de la pared y la inhibición del desarrollo embrionario.....	26
Figura 12. Efecto parasítico de <i>Trichoderma spp.</i> sobre larvas de <i>Spodoptera littoralis</i> . (a) Larva sana sin tratamiento; (b) colonización del cuerpo larval por <i>Trichoderma asperellum</i> (MNF-NAH-Tricho5), resaltada dentro del recuadro amarillo; (c) crecimiento de <i>Trichoderma harzianum</i> (MNF-NAH-Tricho30) sobre la superficie larval, indicado mediante flechas amarillas; (d, e) imágenes obtenidas con estereomicroscopio que muestran un crecimiento micelial extenso de <i>Trichoderma spp.</i> sobre el cuerpo de la larva	27
Figura 13. Modelo en 3D del laboratorio agrícola en la Granja Experimental Río Suma	34

Figura 14. Variabilidad de la densidad poblacional de <i>Trichoderma spp.</i> (U.F.C./mL ⁻¹) en cuatro repeticiones por tratamiento bajo condiciones de laboratorio.	35
Figura 15. Concentración promedio de Unidades Formadoras de Colonias (U.F.C./mL ⁻¹) de <i>Trichoderma spp.</i> en función del sustrato orgánico líquido evaluado.....	37

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Análisis de varianza (ANOVA) para el diámetro del halo de crecimiento / micelial (mm) de <i>Trichoderma spp.</i> según los sustratos orgánicos evaluados.....	XXI
Anexo 2. Acondicionamiento de techo para protección de laboratorio de microbiología	XXI
Anexo 3. Diseño y armado de cámara de aislamiento microbiológico.	XXI
.....	XXI
Anexo 4. Pesaje de la biomasa/inóculo de <i>Trichoderma spp.</i> en balanza analítica para la dosificación de los tratamientos	XXII
Anexo 5. Medición volumétrica y preparación de las mezclas líquidas en los reactores experimentales	XXII
Anexo 6. Inoculación del agente de biocontrol (<i>Trichoderma spp.</i>) en las unidades experimentales con sustrato orgánico.	XXII
Anexo 7. Formación del micelio blanco en la fase inicial de colonización de <i>Trichoderma spp.</i> sobre la superficie líquida	XXII
Anexo 8. Esporulación densa (tonos verdosos) y desarrollo micelial de <i>Trichoderma spp.</i> en el medio orgánico.	XXIII
Anexo 9. Monitoreo de parámetros fisicoquímicos (pH, conductividad eléctrica y temperatura) en las muestras obtenidas	XXIII
Anexo 10. Verificación microbiológica y observación de estructuras miceliales en el microscopio óptico.	XXIII
Anexo 11. Conteo y estimación de la concentración de esporas/conidios de <i>Trichoderma spp.</i> utilizando la cámara de Neubauer.	XXIII
Anexo 12. Microfotografía de la cristalización / microestructuras presentes en el extracto analizado.	XXIV
Anexo 13. Certificado de Análisis de Similitud Plagium/Compilatio.....	XXV

RESUMEN

El estudio evaluó la influencia de sustratos orgánicos líquidos en la multiplicación de *Trichoderma spp.* bajo condiciones de laboratorio en la Granja Experimental "Río Suma", El Carmen, Manabí. Se empleó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones: T1 (arroz + melaza), T2 (arroz solo), T3 (arroz + humus de lombriz disuelto - H.L.D.) y T4 (arroz + melaza + H.L.D.), diluidos a 1000 mL. El objetivo fue determinar la formulación que optimice la densidad poblacional y tasa de multiplicación del biocontrolador, cuantificada en cámara de Neubauer (U.F.C. mL⁻¹). El Análisis de Varianza y la prueba de Tukey ($\alpha = 0,05$) evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,01$) entre tratamientos. El Tratamiento 1 (T1) obtuvo el desempeño óptimo con la mayor concentración promedio (46 937,50 U.F.C. mL⁻¹), ubicándose independientemente en el rango estadístico superior (A). T1 superó en 22,5 % al arroz solo (T2: 38 312,50 U.F.C. mL⁻¹) y en más del 34 % a las formulaciones con humus líquido (T3: 34 812,50 U.F.C. mL⁻¹; T4: 34 187,50 U.F.C. mL⁻¹), las cuales conformaron el grupo B sin diferencias significativas entre sí. Se concluye que la combinación de arroz y melaza genera una sinergia metabólica óptima entre carbohidratos y azúcares solubles, maximizando la esporulación de *Trichoderma spp.* Esta formulación constituye una alternativa biotecnológica eficiente, accesible y reproducible para la producción masiva de bioinoculantes en el sector agropecuario regional.

Palabras clave: bioinoculante, biocontrolador, esporulación, microorganismos, bioprocesos.

ABSTRACT

This study evaluated the influence of liquid organic substrates on the multiplication of *Trichoderma* spp. under laboratory conditions at the "Río Suma" Experimental Farm in El Carmen, Manabí. A Completely Randomized Design (CRD) with four treatments and four replications was utilized: T1 (rice + molasses), T2 (rice alone), T3 (rice + dissolved vermicompost - D.V.C.), and T4 (rice + molasses + D.V.C.), diluted to 1000 mL. The objective was to determine the formulation that optimizes the population density and multiplication rate of the biocontrol agent, quantified using a Neubauer chamber (C.F.U. mL⁻¹). Analysis of Variance and Tukey's test ($\alpha=0.05$) revealed statistically significant differences ($p<0.01$) among treatments. Treatment 1 (T1) achieved optimal performance with the highest average concentration (46,937.50 C.F.U. mL⁻¹), placing independently in the highest statistical rank (A). T1 outperformed the rice-only treatment (T2: 38,312.50 C.F.U. mL⁻¹) by 22.5% and surpassed the liquid vermicompost formulations (T3: 34,812.50 C.F.U. mL⁻¹; T4: 34,187.50 C.F.U. mL⁻¹) by over 34%, which formed group B with no significant differences between them. It is concluded that combining rice and molasses generates optimal metabolic synergy between carbohydrates and soluble sugars, maximizing *Trichoderma* spp. sporulation. This formulation represents an efficient, accessible, and reproducible biotechnological alternative for mass production of liquid bioinoculants in regional agricultural systems.

Keywords: bioinoculant, biocontrol agent, sporulation, microorganisms, bioprocesses.

CAPITULO I

TÍTULO

” Influencia de sustratos orgánicos líquidos en la multiplicación de *Trichoderma spp.* bajo condiciones de laboratorio”

1.1 INTRODUCCIÓN

La llegada de *Trichoderma* a la agricultura es la tan esperada respuesta al daño acumulado en los suelos por el manejo de químicos en las últimas décadas, el siglo pasado nos enfocamos en producir a cualquier costo, abusamos del uso de fertilizantes sintéticos y plaguicidas, si bien esto elevó las cosechas al inicio, pero se degradó drásticamente la materia orgánica, también redujo la microfauna nativa y generó plagas resistentes, tras estos efectos, la agronomía al fin comprendió que el suelo es un sistema vivo y que su salud biológica es lo que sostiene realmente la producción agrícola (FAO, 2020; Yadav et al., 2023).

Por esta razón, nuestra investigación volcó su atención hacia el microbioma para recuperar el equilibrio edáfico, es ahí donde los hongos del género *Trichoderma spp.* toman protagonismo, se dejó atrás la vieja postura de catalogarlos como simples microorganismos saprófitos, aunque conocemos que, desde hace un siglo, su despegue biotecnológico es reciente, pasó al comprobarse que colonizan la raíz, estimulan el crecimiento de la planta y mejoran la absorción de nutrientes esenciales, bajando el uso desmedido de insumos químicos (Mulatu et al., 2021).

En el campo, estos hongos habitan de forma nativa en el suelo y los rastros, compiten directamente por espacio y nutrientes con los fitopatógenos, al ocupar estos nichos, frenan enfermedades y recuperan la fertilidad de suelos agotados, su capacidad para acoplarse a climas variables y asociarse a las raíces sin dañarlas es la ventaja clave que la agricultura actual busca aprovechar mediante aplicaciones dirigidas (Guzmán-Guzmán et al., 2019; Kumar et al., 2023).

Hay que considerar que la eficiencia varía entre cepas, los ensayos demuestran diferencias marcadas en su comportamiento, aislados de *T. harzianum*, *T. asperellum*, *T. virens* y *T. atroviride* sobresalen por su agresividad contra hongos dañinos y su rápida esporulación (Mulatu et al., 2021; Woo et al., 2014). Por ello, elegir una cepa exige ver más allá del laboratorio, hay que asegurar que el hongo sobreviva a la formulación, mantenga viabilidad en percha y responda de forma eficiente al aplicarse directamente en el campo.

La gran ventaja de este hongo *Trichoderma spp.* es que actúa mediante varios mecanismos simultáneos, funciona como biocontrolador, produce fitohormonas que aceleran el desarrollo vegetal y solubiliza nutrientes bloqueados en el suelo (Guzmán-Guzmán et al., 2019). Su inoculación constante mejora los rendimientos y activa las defensas de la planta ante el estrés ambiental (Martínez-Medina et al., 2013; Woo et al., 2014). Esto los convierte en una de las herramientas técnicas clave para la producción agrícola sustentable.

Evaluar sustratos orgánicos líquidos para la multiplicación de *Trichoderma spp.* aporta datos científicos relevantes y ofrece alternativas aplicables a la agricultura sostenible en nuestro sector, El Carmen -Manabí, la fuente de nutrientes del medio de cultivo determina de forma directa el desarrollo del micelio y su capacidad para formar esporas, según el balance nutricional de cada residuo o preparado líquido, se consiguen diferencias claras en la rapidez de crecimiento y en la concentración final de conidias, en un medio con una composición bien equilibrada permite obtener un inóculo vigoroso y estable, indispensable para elaborar bioinsumos que mejoren la salud del suelo y la productividad de los cultivos (Błaszczuk et al., 2014).

Cultivar *Trichoderma spp.* en el laboratorio es un proceso que va más allá de lograr que el hongo crezca: la clave está en asegurar que lo haga con fuerza, buena capacidad de esporulación y estabilidad en sus propiedades, en este sentido, los sustratos orgánicos líquidos ofrecen una salida técnica muy práctica y accesible, permitiendo un control bastante preciso de variables clave como el pH, la temperatura, la agitación y el oxígeno disponible, además, al formularse con insumos locales como melaza de caña o extractos vegetales, se reducen los costos de producción y se promueve el aprovechamiento sostenible de residuos agroindustriales (Verma et al., 2007; Khan et al., 2018)

Multiplicar *Trichoderma spp.* con éxito requiere un medio de cultivo con los nutrientes exactos y un ambiente controlado, en el sector agrícola ecuatoriano, los sustratos orgánicos líquidos son una opción real y económica, permitiendo aprovechar recursos de la zona como melaza, extractos vegetales, suero de leche o lixiviados de compost (Sriram et al., 2011; Guapi-Alba et al., 2023). Estos medios líquidos hacen algo más que asegurar el crecimiento del micelio y las esporas, al aplicarse en el campo, inyectan carbono orgánico al suelo lo cual mejora su estructura física y optimiza la nutrición de los cultivos (Singh et al., 2014).

El trabajo de laboratorio es la columna vertebral de este proceso, este es el único espacio donde se garantiza la pureza del hongo y se estandariza la concentración del inóculo, también

sirve para medir cómo reacciona el microorganismo ante variables controladas, el rigor en esta fase es lo que asegura que el bioinsumo final no se contamine, mantenga su viabilidad en percha y funcione al aplicarse en los cultivos (Kumar et al., 2014). Mediante ensayos experimentales, es posible probar mezclas de sustratos locales para acelerar la reproducción de *Trichoderma spp.* de esta forma, se desarrollan tecnologías accesibles para el agricultor local.

Toda esta evidencia marca un giro drástico en el manejo agronómico actual, nuestro objetivo es romper la dependencia hacia los insumos sintéticos tradicionales, se busca integrar herramientas biológicas que recuperen la actividad microbiológica del suelo y aumenten la resiliencia de las fincas productivas.

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Ecuador enfrenta un desgaste crítico en sus suelos agrícolas debido a décadas de monocultivo e intensificación química, el Ministerio del Ambiente confirmó que la degradación ya afecta al 47 % de todo el territorio continental, impulsada principalmente por la deforestación y el cambio de uso del suelo (MAATE, 2020). No es un problema reciente, los datos de monitoreo histórico ya advertían que, entre 1982 y 2003, el país perdió la capacidad productiva del 14,2 % de su superficie arable, lo cual equivale a dejar inutilizable unos 34 686 km² de tierra (Morales, 2010).

El síntoma más grave en estas zonas es el colapso de la vida microbiana edáfica, hoy en día, muchos terrenos producen cultivos únicamente porque reciben dosis masivas de fertilizantes sintéticos, pero biológicamente están muertos, este déficit de microorganismos rompe funciones vitales del ecosistema, sin una microbiota activa, se frena la transformación del carbono, se bloquea el reciclaje de nutrientes, se destruye la estructura física del suelo y se pierde por completo la capacidad de retención de agua (FAO, 2020), cuando esta red de vida se debilita, el suelo se vuelve menos fértil, menos resiliente y más dependiente de insumos externos.

La agricultura intensiva y las labores tradicionales han ido desgastando la vida microbiana del suelo, el paso constante del arado, sembrar lo mismo año tras año, incorporar poca materia orgánica y abusar de los fertilizantes sintéticos terminan alterando el hábitat de los microorganismos, impidiendo que se establezcan comunidades estables (Gupta et al., 2022; Tibbett et al., 2020). Al perderse esa diversidad en la tierra, la productividad cae, pues se frenan

procesos clave como la descomposición de rastros, la liberación de nutrientes y la capacidad natural del suelo para frenar a las enfermedades (Fabián et al., 2024).

A esto se le sumamos la aplicación continua de agroquímicos, cuando se acumulan residuos de distintos plaguicidas en un mismo lote, la población de microorganismos benéficos en la zona de las raíces sufre un impacto negativo directo, afectando su papel en el reciclaje de elementos nutricionales (Ni et al., 2025). Pasa algo similar con la fertilización mineral sin aporte orgánico: altera el balance químico del suelo, reduce la biomasa microbiana y rompe el equilibrio en la red trófica edáfica (FAO, 2020).

Así, el uso desmedido de insumos químicos creó una dependencia donde los suelos necesitan cada vez más fertilizantes para responder, perdiendo su capacidad natural de recuperación, frente a este desgaste biológico del suelo, el uso de inoculantes a base de hongos del género *Trichoderma* surge como una opción técnica real para devolverle la actividad biológica al suelo y apoyar el control de fitopatógenos (Woo et al., 2023).

1.3 JUSTIFICACIÓN

El uso correcto de bioinoculantes con *Trichoderma spp.* se consolida como una salida práctica para recuperar la biología de suelos degradados, al ser un hongo antagonista, ayuda a reducir las aplicaciones de agroquímicos de síntesis, lo que nos permite un manejo más limpio del suelo en los sistemas productivos.

Desafortunadamente la mayoría de los suelos agrícolas que antes sostenían la producción local hoy muestran signos claros de agotamiento, el uso intensivo de la tierra hizo que la fertilidad natural fuera cayendo, afectando directamente la economía de los agricultores, por eso es necesario probar alternativas de manejo que sostengan los rendimientos sin depender tanto de fertilizantes o plaguicidas químicos, en nuestro medio, la pérdida de las propiedades físicas y químicas del suelo sigue siendo uno de los mayores problemas para mantener la agricultura a largo plazo (Jiménez Torres et al., 2022).

En este punto, *Trichoderma spp.* funciona como biocontrolador y estimulante del cultivo, cuando se establece en la rizósfera, promueve el crecimiento de las raíces, mejora el desarrollo vegetativo y reduce el ataque de patógenos del suelo (Asghar et al., 2024). Sin embargo, reproducir este hongo en el laboratorio no es tan simple; exige controlar bien la temperatura, la humedad y darle los nutrientes adecuados, formular medios líquidos con

subproductos de la agroindustria local resulta una opción económica y efectiva, estos sustratos no solo sirven para multiplicar el hongo de forma masiva, sino que al momento de aplicarlos al campo aportan materia orgánica y ayudan a poner nutrientes a disposición de la planta (Guapi-Alba et al., 2023; Kopuri et al., 2025).

Para quienes estudiamos Ingeniería Agropecuaria, este tema es más importante que solo la técnica o el laboratorio, es como un enlace entre la ciencia y la vida en el campo, este estudio nos deja usar lo que sabemos de microbiología y cómo cuidar la tierra para lograr algo real, con la esperanza de que se note en las cosechas, en cómo está el agricultor y en la salud del ambiente, de igual manera crea saberes nuevos, hechos para las condiciones de la provincia de Manabí, así cada campesino puede tener provecho de una tecnología fácil, barata y útil, en resumen, la razón de ser de este trabajo viene de una necesidad muy clara: crear maneras sencillas, que funcionen bien y que se ajusten a la zona para fabricar bioinoculantes con *Trichoderma spp.*

Con ello se busca apoyar la recuperación de suelos degradados, reducir los costos de producción y fortalecer una agricultura que no solo extraiga, sino que también devuelva, una agricultura que mira al suelo no como una herramienta, sino como un organismo vivo que respira, se fatiga y necesita ser cuidado para seguir sosteniendo la vida.

1.4 OBJETIVOS

i. Objetivo general

Evaluar la influencia de sustratos orgánicos líquidos en la multiplicación de *Trichoderma spp.* bajo condiciones de laboratorio.

ii. Objetivos específicos

- Implementar un área para la multiplicación de *Trichoderma spp.*
- Determinar el sustrato orgánico líquido que favorece la mayor tasa de multiplicación de *Trichoderma spp.* bajo condiciones de laboratorio.

iii. Hipótesis

Los sustratos orgánicos líquidos elaborados a base de arroz, melaza y humus de lombriz sí influyen significativamente en la multiplicación de *Trichoderma spp.* bajo condiciones de

laboratorio, generando diferencias en la producción de biomasa y concentración de esporas entre los tratamientos evaluados.

1.5 METODOLOGÍA

1.5.1 Localización de la investigación

La investigación se realizó en la Granja Experimental “Río Suma” ($0^{\circ}15'34.2''$ S; $79^{\circ}27'04''$ O), dependiente de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, extensión El Carmen, en el laboratorio de microbiología ubicado dentro de las instalaciones de la granja.

Figura 1. Ubicación de la granja experimental “Río Suma”



Fuente. Google Maps (2024)

1.5.2 Caracterización agroecológica de la zona

Tabla 1. Características meteorológicas

Características	El Carmen
Clima	Trópico Húmedo
Temperatura (°C)	24
Humedad Relativa (%)	86
Heliofanía (Horas luz año ⁻¹)	1026,2
Precipitación media anual (mm)	2659
Altitud (msnm)	249

Fuente: Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI, 2022)

1.5.3 Materiales, equipos e insumos

a) Materiales

- Cajas Petri
- Matraz Erlenmeyer de 250 ml
- Tubos Falcon

- Pipetas
- Puntas estériles
- Papel aluminio
- Algodón
- Gasa
- Servilletas
- Cuaderno de laboratorio
- Esfero

b) Equipos

- Cabina de flujo laminar
- Autoclave
- Incubadora (25–28 °C)
- Cámara de Neubauer
- Agitador orbital (150 rpm)
- Balanza analítica
- Hemocitómetro (Neubauer)
- Espectrofotómetro (OD₆₀₀)
- Estufa de secado (60–65 °C)
- Mechero de alcohol

c) Insumos

- Cepa de *Trichoderma spp.*
- PDA (Potato Dextrose Agar)
- Agua destilada
- Arroz
- Melaza
- Humus de lombriz
- Solución salina al 0,85 %
- Alcohol al 70 %
- Hipoclorito de sodio al 0,5 %

1.5.4 Diseño experimental

El estudio se desarrollará bajo un diseño completamente al azar (DCA), con 4 tratamientos y 4 repeticiones, dando un total de 16 unidades experimentales donde se medirá la U.F.C y la velocidad de crecimiento de la población de *Trichoderma spp.*

a) Factor de estudio

Factor A: Sustratos líquidos

b) Niveles

S1: Arroz + Melaza + Agua

S2: Arroz + Agua

S3: Arroz + Humus de lombriz disuelto (H.L.D.)

S4: Arroz + Melaza + Humus de lombriz disuelto (H.L.D.)

1.6 TRATAMIENTOS

Tabla 2. Tratamientos para la evaluación de la influencia de la propagación de la *Trichoderma spp.* en sustratos líquidos

N.º	Tratamiento	Nivel	Descripción
<u>1</u>	<u>T1</u>	<u>S1</u>	<u>Arroz 100g + Melaza 50ml+ completar con agua hasta 1000 mL</u>
<u>2</u>	<u>T2</u>	<u>S2</u>	<u>Arroz 100g + completar con agua hasta 1000 mL</u>
<u>3</u>	<u>T3</u>	<u>S3</u>	<u>Arroz 100g+ (H.L.D.), completar con agua hasta 1000 mL</u>
<u>4</u>	<u>T4</u>	<u>S4</u>	<u>Arroz100 g + 0,05 mL (H.L.D.) + 50 mL de melaza, completar con agua hasta 1000 mL</u>

Los tratamientos consistieron en la preparación de diferentes sustratos orgánicos líquidos a base de arroz, melaza y humus líquido, formulados en un volumen final de 1000 mL cada uno.

1.7 CARACTERÍSTICA DE LAS UNIDADES EXPERIMENTALES

Tabla 3. Características de las unidades experimentales.

Características de las unidades experimentales	Datos
Número de unidades experimentales	16 UE
Área total del ensayo en laboratorio	1,78m ²
Forma del ensayo en laboratorio	Evaluar la influencia de la <i>Trichoderma spp.</i>
Repeticiones netas por la investigación	16

1.8 DISTRIBUCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS EN EL LABORATORIO

1.8.1 Variables

a) Variables Independientes

Sustratos orgánicos líquidos para la multiplicación de *Trichoderma spp.*

b) Variables dependientes

- Unidades Formadoras de Colonias (U.F.C.) de *Trichoderma spp.*
- Velocidad de crecimiento de la población de *Trichoderma spp.*

1.8.2 Métodos de evaluación de las variables

i. Variables dependientes

- **Número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC ml⁻¹):**

El número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC mL⁻¹) se determinará mediante conteo directo utilizando la cámara de Neubauer, con el fin de cuantificar la concentración microbiana presente en cada uno de los tratamientos evaluados.

Para ello, se tomará una muestra líquida representativa de cada tratamiento, la cual será previamente homogeneizada mediante agitación, en caso de observarse una alta concentración de microorganismos, la muestra será diluida en agua destilada estéril hasta obtener una concentración adecuada para el conteo microscópico.

Luego, se colocará una alícuota de la muestra (aproximadamente 10 µL) en la cámara de Neubauer, previamente limpia y cubierta con un cubreobjetos, el conteo se realizará bajo

microscopio óptico, contabilizando los microorganismos presentes en los cuadrantes establecidos de la cámara.

- **Incremento de UFC en el tiempo (UFC/mL/día):**

El número de UFC por mililitro se calculará a partir del promedio de células contadas en los cuadrantes observados, considerando el volumen de la cámara y el factor de dilución aplicado, mediante la siguiente expresión:

$$\text{UFC mL}^{-1} = \text{Promedio de células contadas} \times \text{factor de dilución} \times 10^4$$

El cálculo de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC·mL⁻¹) se realizó multiplicando el promedio de colonias contadas por el factor de dilución y el volumen sembrado, conforme a metodologías estándar de recuento microbiológico (APHA, 2015).

1.9 MANEJO DEL ENSAYO

1.9.1 Inoculación de *Trichoderma spp.*

La inoculación de *Trichoderma spp.* se realizará utilizando un inóculo previamente activado y homogéneo, para cada tratamiento se preparará el sustrato correspondiente según la formulación establecida, el cual será esterilizado previamente para evitar contaminación por microorganismos no deseados.

Una vez que el sustrato alcance la temperatura ambiente, se procederá a inocular una cantidad uniforme del cultivo de *Trichoderma spp.* en cada tratamiento, garantizando que todos reciban la misma concentración inicial del microorganismo. Posteriormente, los recipientes serán rotulados y colocados en condiciones controladas dentro del laboratorio, permitiendo el desarrollo y multiplicación del hongo

1.9.2 Distribución de los tratamientos en el laboratorio

Los tratamientos se distribuirán bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA), debido a que las condiciones ambientales dentro del laboratorio son homogéneas, cada tratamiento contará con sus respectivas repeticiones, las cuales serán colocadas aleatoriamente en el área de incubación del laboratorio para evitar sesgos experimentales.

Tabla 4. Distribución de los tratamientos en el laboratorio

Unidad experimental	Columna 1	Columna 2	Columna 3	Columna 4
Fila 1	T1 (S1)	T2 (S2)	T3 (S3)	T4 (S4)
Fila 2	T3 (S3)	T4 (S4)	T1 (S1)	T2 (S2)
Fila 3	T2 (S2)	T1 (S1)	T4 (S4)	T3 (S3)
Fila 4	T4 (S4)	T3 (S3)	T2 (S2)	T1 (S1)

1.9.3 Toma de datos

La toma de datos se realizará en intervalos de tiempo previamente establecidos a partir de la inoculación de *Trichoderma spp.*

En cada fecha de muestreo se tomará una muestra líquida homogénea de cada unidad experimental, la cual será utilizada para el conteo de microorganismos mediante cámara de Neubauer. Los datos obtenidos corresponderán al número de Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFC mL⁻¹), los cuales permitirán evaluar la dinámica de crecimiento del microorganismo en cada tratamiento.

1.9.4 Tabulación de datos

Los datos obtenidos en cada muestreo serán registrados en hojas de cálculo (Microsoft Excel), organizándolos por tratamiento, repetición y tiempo de evaluación.

Se elaborarán tablas donde se presenten los valores individuales y los promedios de UFC mL⁻¹ para cada tratamiento, así como los incrementos de UFC en el tiempo. Esta tabulación facilitará el análisis estadístico y la posterior interpretación de los resultados.

1.9.5 Análisis e interpretación de los resultados

Los resultados obtenidos serán analizados mediante estadística descriptiva, utilizando medidas como promedio y variación. Posteriormente, se realizará un análisis comparativo entre tratamientos para determinar el efecto de la melaza y del humus de lombriz líquido disuelto, de forma individual o combinada, sobre la multiplicación de *Trichoderma spp.* La interpretación de los resultados se realizará considerando la dinámica de crecimiento microbiano observada en cada tratamiento, relacionándola con la disponibilidad de fuentes de carbono y nutrientes presentes en los sustratos evaluados.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

El uso de microorganismos benéficos en la agricultura surge como respuesta a los problemas generados por la intensificación agrícola y el uso indiscriminado de fertilizantes y plaguicidas químicos, los cuales han provocado degradación del suelo, pérdida de biodiversidad microbiana y resistencia de patógenos (FAO, 2020). En este contexto, los hongos del género *Trichoderma* han cobrado especial importancia por su capacidad de restaurar procesos biológicos del suelo y contribuir a la sostenibilidad de los sistemas productivos (Asghar et al., 2024).

Diversos estudios han demostrado que *Trichoderma spp.* actúa como agente de control biológico, biofertilizante y promotor del crecimiento vegetal, posicionándose como uno de los microorganismos más estudiados y utilizados a nivel mundial en la agricultura sostenible (Kumar et al., 2023).

2.2 Historia de *Trichoderma spp.*

El género *Trichoderma* fue descrito por primera vez en el siglo XIX como un grupo de hongos saprófitos presentes en el suelo y en residuos vegetales en descomposición, sin embargo, no fue sino hasta la década de 1920 cuando se reconoció su capacidad antagonista frente a hongos fitopatógenos, marcando el inicio de su estudio como agente de control biológico (Guzmán-Guzmán et al., 2025).

Durante las últimas décadas, los avances en microbiología, biotecnología y biología molecular han permitido identificar nuevas especies y comprender los mecanismos de acción de *Trichoderma*, lo que ha favorecido su aplicación comercial en forma de bioinoculantes agrícolas (Contreras-Cornejo et al., 2024). Actualmente, este hongo es considerado una herramienta clave dentro del manejo integrado de enfermedades del suelo.

2.3 Importancia de *Trichoderma spp.*

La importancia de *Trichoderma spp.* radica en su multifuncionalidad dentro del agroecosistema, este hongo posee la capacidad de colonizar rápidamente la rizosfera, competir

por espacio y nutrientes, producir enzimas hidrolíticas y metabolitos secundarios que inhiben el desarrollo de patógenos del suelo (Kumar et al., 2023).

De igual manera, *Trichoderma* contribuye a la mejora de la salud del suelo al estimular la actividad microbiana, aumentar la disponibilidad de nutrientes y promover el crecimiento radicular de las plantas, lo que se traduce en mayores rendimientos agrícolas y una reducción en el uso de agroquímicos (Asghar et al., 2024). Por estas razones, su uso es altamente valorado en sistemas de producción sostenible y agroecológica.

2.4. *Trichoderma spp.*

Trichoderma spp. son hongos filamentosos saprófitos ampliamente distribuido en ecosistemas agrícolas y naturales, su hábitat principal es el suelo, donde se encuentra asociado a la rizósfera de numerosas especies vegetales, así como en restos orgánicos en descomposición, residuos de cosecha, compost y sustratos ricos en celulosa; su elevada adaptabilidad le permite sobrevivir y multiplicarse en una amplia variedad de condiciones edafoclimáticas, incluyendo suelos ácidos y neutros, con diferentes niveles de humedad y contenido de materia orgánica (Harman et al., 2004).

En regiones tropicales y subtropicales, como la provincia de Manabí, presenta un alto potencial de establecimiento debido a las temperaturas cálidas (25–35 °C) y a la alta disponibilidad de residuos orgánicos, condiciones que favorecen su crecimiento y competitividad frente a microorganismos fitopatógenos del suelo (Hernández-Melchor et al., 2019; Méndez, 2015). *Trichoderma spp.* posee un amplio espectro de acción contra hongos fitopatógenos responsables de enfermedades radiculares y vasculares en diversos cultivos agrícolas (Guzmán-Guzmán et al., 2019).

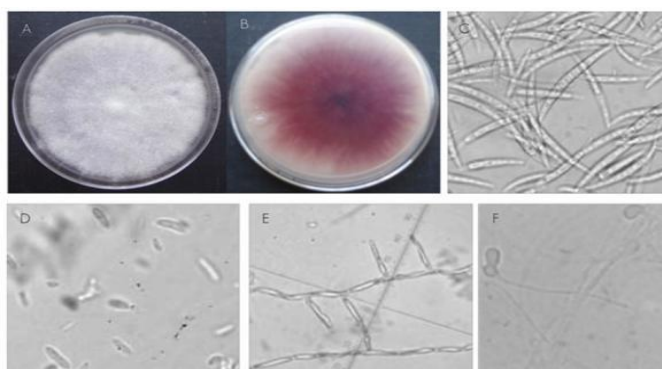
Entre los principales patógenos controlados se encuentran:

Fusarium spp. (marchitez vascular y pudriciones radiculares)

El género *Fusarium spp.* comprende hongos fitopatógenos del suelo responsables de enfermedades vasculares y pudriciones radiculares en una amplia gama de cultivos, estos patógenos ingresan a la planta principalmente a través de heridas en las raíces, colonizando el sistema vascular y bloqueando el flujo de agua y nutrientes, lo que provoca marchitez, clorosis y, en casos severos, la muerte de la planta (Agrios, 2005). *Trichoderma spp.* controla *Fusarium*

spp. mediante micoparasitismo directo, producción de enzimas líticas y competencia por espacio y nutrientes en la rizósfera, reduciendo significativamente la colonización del patógeno (Harman et al., 2004).

Figura 2. Morfología de colonias y estructuras de reproducción asexual de *Fusarium oxysporum* Schltdl. obtenido de raíces de *Pinus spp.* con síntomas de pudrición de raíz.

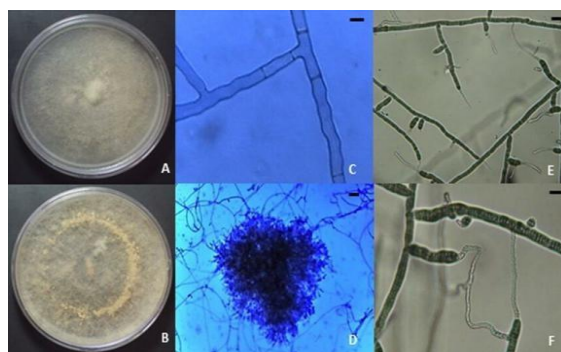


Fuente: Robles Yerena et al. (2016)

- *Rhizoctonia solani* (mal del talluelo y dumpin-off)

Rhizoctonia solani es un hongo habitante del suelo que afecta principalmente plántulas y plantas jóvenes, causando enfermedades como el mal del talluelo y el damping-off. este patógeno ataca los tejidos basales del tallo y las raíces, provocando lesiones oscuras, estrangulamiento del tallo y colapso de la planta (Agrios, 2005). El control de *R. solani* por *Trichoderma spp.* se basa en el micoparasitismo, la producción de antibióticos naturales y la rápida colonización del suelo, lo que impide el establecimiento del patógeno en la zona radicular (Benítez et al., 2004).

Figura 3. Características macroscópicas y microscópicas de *Rhizoctonia solani* (AG2-1 y AG-3).



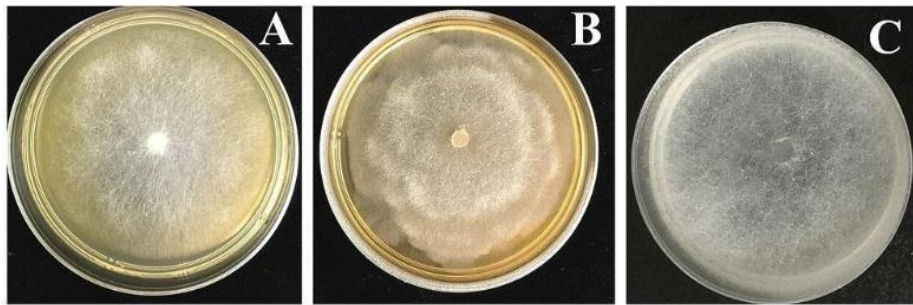
Fuente: Chavarro Mesa, Herrera-Blanco y Beltrán-Acosta (2021).

- *Pythium spp.* (pudrición de raíces y semillas)

Pythium spp. pertenece al grupo de los oomicetos y es uno de los principales causantes de pudrición de semillas, raíces y damping-off, especialmente en condiciones de alta humedad y suelos mal drenados, este patógeno infecta tejidos jóvenes y suculentos, afectando la germinación y el establecimiento de las plantas (Agrios, 2005).

Trichoderma spp. actúa contra *Pythium spp.* mediante la producción de metabolitos antifúngicos, competencia por nutrientes y la inducción de resistencia sistémica en la planta, reduciendo la incidencia de la enfermedad (Lorito et al., 2010).

Figura 4. Patrones de colonias de *Pythium huanghuaiense*.



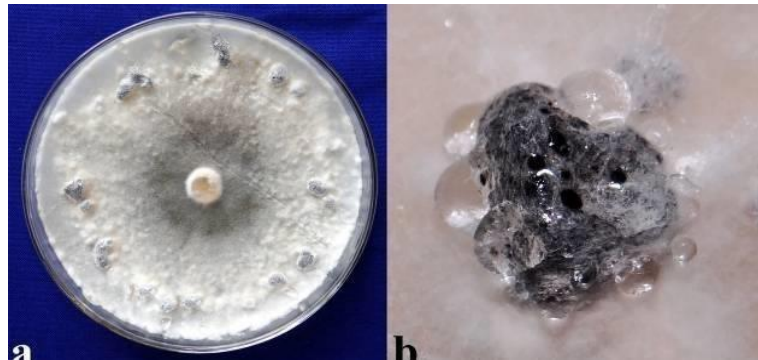
Fuente: Chen J-J, Feng H, Yu J, Ye W, Zheng X (2021).

- *Sclerotinia sclerotiorum* (moho blanco)

Sclerotinia sclerotiorum es un hongo necrotrófico que causa el moho blanco en numerosos cultivos agrícolas, se caracteriza por la formación de estructuras de resistencia llamadas esclerocios, que le permiten sobrevivir largos periodos en el suelo. el patógeno infecta tejidos aéreos y subterráneos, provocando pudriciones blandas y cubriendo las lesiones con un micelio blanco algodonoso (Boland y Hall, 1994).

Trichoderma spp. controla este patógeno mediante la degradación de esclerocios, micoparasitismo y producción de enzimas hidrolíticas que destruyen las estructuras de resistencia del hongo, disminuyendo su persistencia en el suelo (Benítez et al., 2004).

Figura 5. (a) Morfología de colonia de *Sclerotinia sclerotiorum* y (b) gotas de rocío en esclerocios en desarrollo.



Fuente: Ponnusamy et al. (2015).

- *Phytophthora spp.* (pudriciones radicales y del cuello)

El género *Phytophthora spp.*, perteneciente a los oomicetos, es responsable de graves enfermedades radicales y del cuello de la planta, especialmente en ambientes con exceso de humedad, estos patógenos producen zoosporas móviles que facilitan su dispersión en el agua del suelo y su rápida infección de las raíces (Erwin y Ribeiro, 1996). *Trichoderma spp.* reduce la actividad de *Phytophthora spp.* al competir por el nicho ecológico, producir metabolitos antifúngicos y estimular mecanismos de defensa en la planta, lo que limita la penetración y el avance del patógeno (Harman et al., 2004).

Figura 6. Aspecto de una colonia de *Phytophthora* de un cultivo puro, el micelio no presenta color ya que no posee pigmentos. El patrón de crecimiento de la colonia puede variar.



Fuente: Soto et al. (2017).

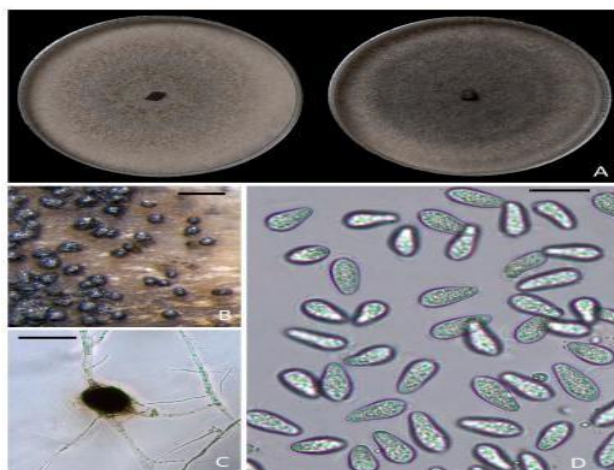
- *Macrophomina phaseolina* (pudrición carbonosa)

Macrophomina phaseolina es un hongo del suelo que causa la pudrición carbonosa en cultivos de importancia económica, especialmente bajo condiciones de estrés hídrico y altas

temperaturas, el patógeno infecta raíces y tallos, produciendo microesclerocios que obstruyen los tejidos vasculares y generan síntomas de marchitez, debilitamiento y muerte de la planta (Kaur et al., 2012).

Trichoderma spp. actúa contra *M. phaseolina* mediante micoparasitismo, degradación de microesclerocios y competencia por nutrientes, además de mejorar la tolerancia de la planta al estrés, reduciendo la severidad de la enfermedad (Lorito et al., 2010).

Figura 7. Características morfológicas de *Macrophomina phaseolina*: (A) colonias en agar dextrosa de papa tras 10 días de incubación a 25 ± 1 °C en oscuridad; (B, C) microesclerocios en madera de pistacho y en agar de agua; (D) conidios producidos a partir de picnidios maduros.



Fuente: Nouri et al. (2020), ResearchGate.

El control de estos patógenos ha sido documentado en cultivos como cacao, banano, plátano, arroz, maíz, hortalizas y frutales, lo que convierte a *T. spp.* en una herramienta clave dentro de los programas de manejo integrado de enfermedades (Martínez et al., 2013; Harman et al., 2004). El éxito de *Trichoderma spp.* como agente de control biológico se debe a la combinación de varios mecanismos de acción que actúan de manera simultánea:

2.4.1. Micoparasitismo

Trichoderma spp. reconoce químicamente a los hongos fitopatógenos, enrolla sus hifas alrededor de ellos y penetra su pared celular, provocando su degradación y muerte (Guzmán-Guzmán et al., 2019).

2.4.2 Producción de enzimas líticas

Produce enzimas hidrolíticas como quitinasas, β -1,3-glucanasas y proteasas, capaces de degradar los principales componentes de la pared celular de los hongos patógenos (Kou et al., 2024).

2.4.3 Competencia por espacio y nutrientes

Su rápido crecimiento y alta capacidad de colonización de la rizósfera le permiten desplazar a microorganismos patógenos, limitando su desarrollo (Harman et al., 2004).

2.4.4 Antibiosis

Produce metabolitos secundarios con efecto antifúngico que inhiben la germinación de esporas y el crecimiento micelial de patógenos del suelo (Woo et al., 2014).

Además de su acción antagonista, *Trichoderma spp.* actúa como microorganismo promotor del crecimiento vegetal (PGPM). Diversos estudios indican que este hongo (Contreras-Cornejo et al., 2024; Santiago-Velasco et al., 2026):

- Estimula el crecimiento y ramificación del sistema radicular.
- Mejora la absorción y solubilización de nutrientes como fósforo y micronutrientes.
- Induce resistencia sistémica en las plantas.
- Incrementa la tolerancia al estrés biótico y abiótico (salinidad, sequía y patógenos).

Estos efectos se traducen en un mejor desarrollo vegetativo y mayor vigor de las plantas tratadas (Asghar et al., 2024), debido a su eficacia, bajo impacto ambiental y compatibilidad con prácticas agroecológicas, *Trichoderma spp.* es considerada una de las especies más importantes en la agricultura sostenible moderna, su uso reduce la dependencia de fungicidas químicos, contribuye a la conservación del suelo y mejora la sanidad de los cultivos.

Figura 8. *Trichoderma spp.* observado en contexto de control biológico y biofertilizante.



Fuente: Namesny (2025).

2.5 Sustratos en la Multiplicación de *Trichoderma spp.*

La multiplicación eficiente de *Trichoderma spp.* requiere sustratos que aporten fuentes adecuadas de carbono, nitrógeno y minerales esenciales, tradicionalmente, se han utilizado sustratos sólidos como arroz, maíz y cebada, debido a su alto contenido de almidón y fácil disponibilidad (Naeimi et al., 2020).

En los últimos años, los sustratos orgánicos líquidos han ganado relevancia por permitir un mayor control de las condiciones de cultivo, facilitar la producción de biomasa y esporas, y reducir costos de producción, entre los más utilizados se encuentran la melaza, extractos vegetales, humus de lombriz líquido y lixiviados de compost, los cuales favorecen el crecimiento micelial y la esporulación del hongo (Sorathiya et al., 2023; Kopuri et al., 2025).

La composición del sustrato influye directamente en la velocidad de crecimiento y viabilidad del inóculo, por lo que su evaluación bajo condiciones controladas de laboratorio resulta fundamental para el desarrollo de bioinoculantes eficientes (Mulatu et al., 2021).

2.5.1 Arroz como sustrato orgánico

El arroz constituye un sustrato orgánico ampliamente utilizado en la multiplicación de hongos benéficos debido a su disponibilidad, bajo costo y adecuada composición nutricional, este material aporta principalmente carbohidratos complejos, los cuales actúan como fuente de carbono para el metabolismo microbiano, además de servir como soporte físico que favorece la colonización y el crecimiento micelial de especies del género *Trichoderma* (Rini y Sulochana, 2007).

Diversos estudios han demostrado que los sustratos derivados del arroz, como granos enteros, paja o subproductos, permiten una adecuada aireación y retención de humedad, condiciones fundamentales para el desarrollo de hongos filamentosos (Harman et al., 2004). En procesos de fermentación sólida y semi-líquida, el arroz ha mostrado ser un medio eficiente para la producción de biomasa y esporas de *Trichoderma*, lo que lo convierte en un sustrato idóneo para ensayos experimentales de laboratorio (Martínez et al., 2013).

2.5.2 Melaza como fuente de carbono y energía

La melaza de caña de azúcar es un subproducto de la industria azucarera caracterizado por su alto contenido de azúcares simples, principalmente sacarosa, glucosa y fructosa, estos compuestos son fácilmente asimilables por los microorganismos, lo que convierte a la melaza en una fuente inmediata de energía que estimula la multiplicación y actividad metabólica de hongos benéficos (Abhiram, 2018).

En estudios microbiológicos, la melaza ha sido ampliamente utilizada como suplemento energético para acelerar el crecimiento microbiano y mejorar la producción de metabolitos y biomasa (Asghar et al., 2024). En el caso de *Trichoderma*, la incorporación de melaza al sustrato favorece una rápida colonización, incrementa la densidad poblacional y puede potenciar la producción de enzimas y compuestos antagonistas frente a hongos fitopatógenos del suelo (Harman et al., 2004).

2.5.3 Humus de lombriz líquido disuelto (H.L.D.)

El humus de lombriz líquido disuelto es un producto orgánico obtenido a partir del vermicompostaje, el cual contiene nutrientes minerales, compuestos húmicos y una elevada carga de microorganismos benéficos, su composición incluye nitrógeno, fósforo, potasio, micronutrientes y sustancias bioactivas que favorecen la actividad biológica del medio donde se aplica (Asghar et al., 2024).

Diversos autores señalan que el humus líquido actúa como un bioestimulante, mejorando la disponibilidad de nutrientes y promoviendo interacciones microbianas positivas en el sustrato (Gómez et al., 2025). En ensayos con *Trichoderma*, el humus de lombriz líquido puede favorecer el crecimiento del hongo al aportar nutrientes adicionales y crear un ambiente

biológicamente activo, lo que incrementa su capacidad de colonización y antagonismo frente a patógenos del suelo (Martínez et al., 2013).

2.5.4 Agua como medio de dilución y soporte

El agua cumple una función fundamental como medio de disolución y transporte de nutrientes, permitiendo la homogeneización del sustrato y facilitando la distribución de los microorganismos, en sistemas semi-líquidos, el agua contribuye a mantener la humedad necesaria para el desarrollo micelial y la actividad metabólica de *Trichoderma spp.* (Harman et al., 2004). La correcta proporción de agua en los sustratos experimentales garantiza condiciones adecuadas de oxigenación y evita limitaciones hídricas que puedan afectar el crecimiento del hongo, especialmente en ensayos de laboratorio bajo condiciones controladas.

2.5.5 Combinación de sustratos y su efecto en la multiplicación de *Trichoderma*

La combinación de arroz, melaza, humus de lombriz líquido y agua genera un sustrato orgánico nutricionalmente balanceado, que integra fuentes de carbono complejo y simple, nutrientes minerales y microorganismos benéficos, esta concurrencia favorece la multiplicación de *Trichoderma spp.*, incrementando la densidad poblacional y acelerando su crecimiento (Rini y Sulochana, 2007).

El arroz actúa como soporte y fuente de carbono estructural, la melaza estimula la actividad metabólica inicial, el humus líquido aporta nutrientes y microbiota benéfica, y el agua permite la adecuada disolución y disponibilidad de estos componentes, estas características convierten al sustrato combinado en un medio apropiado para evaluar variables como el número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC mL⁻¹) y el incremento de UFC en el tiempo (Martínez et al., 2013).

2.6 Importancia agronómica de los sustratos orgánicos

El uso de sustratos orgánicos en la multiplicación de *Trichoderma spp.* se alinea con los principios de la agricultura sostenible, al aprovechar subproductos agrícolas, reducir costos y disminuir la dependencia de insumos químicos, además, estos sustratos permiten obtener bioinsumos con potencial aplicación en sistemas productivos locales, contribuyendo al manejo integrado de enfermedades del suelo y a la mejora de la salud del agroecosistema (Asghar et al., 2024).

2.7 Importancia del Laboratorio en la Producción de *Trichoderma*

El laboratorio tiene un papel determinante en la producción de bioinoculantes microbianos, puesto que permite controlar y optimizar cada etapa del proceso de multiplicación, desde la obtención de cultivos puros hasta la estandarización de la concentración del inóculo para su uso experimental o aplicación agrícola (Martínez-López et al., 2026). Esto es esencial especialmente cuando se trabaja con microorganismos benéficos como *Trichoderma spp.*, cuyo desempeño antagonista y bioestimulante depende directamente de la calidad del cultivo preparado en condiciones controladas.

Una de las principales funciones del laboratorio es asegurar la pureza del cultivo, eliminando contaminaciones de otros hongos o bacterias que podrían reducir la eficacia del bioinoculante, la pureza microbiológica permite que la respuesta observada en los ensayos no esté sesgada por microorganismos indeseables, lo que es fundamental para establecer conclusiones confiables (Martínez-López et al., 2026). Además, el laboratorio facilita el mantenimiento de condiciones estériles de trabajo, mediante el uso de campanas de flujo laminar, autoclaves y materiales libres de contaminantes, lo cual es indispensable para cualquier cultivo microbiológico.

El control de variables ambientales, como pH, temperatura y oxigenación, es otro aspecto clave que solo puede lograrse con precisión en el laboratorio, la optimización de estos parámetros es fundamental para maximizar la proliferación celular y la producción de metabolitos importantes (por ejemplo, enzimas y antibióticos naturales) en microorganismos beneficiosos (Hernández-Melchor et al., 2019; Khan et al., 2018).

El pH influye en la actividad enzimática y la absorción de nutrientes por parte de los microorganismos, y mantenerlo en rangos óptimos favorece tanto la producción de biomasa como la síntesis de compuestos con efecto antagonista frente a patógenos (Hernández-Melchor et al., 2019). De forma similar, la temperatura afecta la actividad metabólica y la viabilidad de las células; temperaturas fuera del rango óptimo reducen el crecimiento o, incluso, pueden inactivar el hongo (Khan et al., 2018).

La oxigenación es crítica en cultivos aeróbicos como los de *Trichoderma spp.*, ya que la disponibilidad de oxígeno afecta directamente la respiración celular, la eficiencia metabólica y la producción de metabolitos bioactivos (Hernández-Melchor et al., 2019). En condiciones

de laboratorio, la oxigenación se puede controlar mediante agitación y sistemas de aireación en medios líquidos o bien mediante el diseño de fermentaciones adecuadas, lo que no es posible lograr de manera uniforme en condiciones de campo o en sustratos caseros sin equipamiento especializado (Khan et al., 2018).

Además, el laboratorio permite estandarizar la concentración del inóculo, que es un paso fundamental para asegurar que cada aplicación experimental o de campo utilice la misma cantidad de microorganismos viables, esto se logra mediante técnicas cuantitativas validadas, como el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC), recuento en cámara de Neubauer o espectrofotometría, garantizando reproducibilidad en los ensayos y confiabilidad en los resultados (Martínez-López et al., 2026). La estandarización permite comparar tratamientos y determinar la dosis más efectiva para el control biológico o estimulación del crecimiento.

El laboratorio es esencial para optimizar condiciones de fermentación como la composición del medio, el tamaño de partícula de los sustratos, la humedad y el volumen de inóculo, los cuales maximizan la productividad microbiana y la calidad final del bioinoculante (Bautista et al., 2018; Kumar et al., 2014). El ajuste fino de estos parámetros es crítico para incrementar la viabilidad y la eficacia del inoculante en aplicaciones posteriores

Finalmente, la producción de bioinoculantes en condiciones controladas contribuye al desarrollo de tecnologías limpias y sostenibles, ya que los inoculantes microbianos reducen la dependencia de fungicidas químicos y promueven prácticas agrícolas que mejoran la salud del suelo y la productividad de los cultivos a largo plazo (Kumar et al., 2014).

2.8 Usos de *Trichoderma* en la Agricultura

En agricultura, *Trichoderma spp.* se utiliza principalmente como agente de control biológico de enfermedades del suelo, bioestimulante del crecimiento vegetal y mejorador de la fertilidad del suelo, su aplicación puede realizarse en tratamientos de semillas, suelo, sustratos y sistemas de riego (Kumar et al., 2023).

Además, este hongo favorece la absorción de nutrientes como nitrógeno, fósforo y micronutrientes, mejora la tolerancia de las plantas al estrés hídrico y salino, y contribuye a la regeneración de suelos degradados (Yao et al., 2023). Estas características lo convierten en un componente esencial dentro del manejo integrado de cultivos.

2.8.1 Plagas y Patógenos que Controla *Trichoderma*

El género *Trichoderma spp.* es ampliamente reconocido como uno de los agentes de control biológico más eficientes en sistemas agrícolas, debido a su capacidad para suprimir patógenos del suelo, reducir la incidencia de enfermedades y mejorar la sanidad de los cultivos, su acción se enfoca principalmente en el control de hongos fitopatógenos, aunque también presenta efectos indirectos y directos sobre nematodos, insectos y otros organismos fitoparásitos, lo que lo convierte en un microorganismo clave dentro del manejo integrado de plagas y enfermedades (Harman et al., 2004; Guzmán-Guzmán et al., 2025).

El éxito de *Trichoderma* como agente de biocontrol se debe a su rápida colonización del suelo y la rizósfera, su alta capacidad competitiva y la activación de múltiples mecanismos de antagonismo que actúan de forma simultánea, estos mecanismos incluyen el micoparasitismo, la producción de enzimas líticas, la síntesis de metabolitos antifúngicos, la competencia por nutrientes y espacio, y la inducción de defensas en la planta hospedera (Lorito et al., 2010; Harman et al., 2004).

El proceso de ataque de *Trichoderma* inicia con el reconocimiento químico del patógeno, mediante señales liberadas por las hifas del hongo fitopatógeno en el suelo. Una vez detectado, *Trichoderma* crece de forma dirigida hacia el patógeno, lo rodea y se adhiere a su pared celular, iniciando el proceso de micoparasitismo (Benítez et al., 2004).

Posteriormente, *Trichoderma* secreta enzimas hidrolíticas como quitinasas, β -1,3-glucanasas y proteasas, las cuales degradan la pared celular del patógeno, provocando la ruptura de las hifas, pérdida del contenido celular y muerte del hongo (Lorito et al., 2010). De forma paralela, libera metabolitos secundarios antifúngicos que inhiben la germinación de esporas y el crecimiento micelial del patógeno, reforzando su control (Guzmán-Guzmán et al., 2025).

2.8.1.1 Acción de *Trichoderma* sobre *Fusarium spp.*

Fusarium spp. es uno de los principales hongos fitopatógenos del suelo, causante de marchitez vascular y pudriciones radiculares, *Trichoderma* actúa contra *Fusarium* mediante micoparasitismo directo, envolviendo las hifas del patógeno y degradando su pared celular a través de quitinasas y glucanasas (Harman et al., 2004).

Además, *Trichoderma* compite agresivamente por nutrientes y espacio en la rizósfera, limitando el establecimiento de *Fusarium* en las raíces, a esto se suma la inducción de resistencia sistémica en la planta, fortaleciendo los tejidos vegetales y reduciendo la colonización vascular del patógeno (Benítez et al., 2004). Como resultado, se observa una disminución significativa en la severidad de la enfermedad y una mejora en el desarrollo radicular.

Figura 9. Crecimiento de colonias fúngicas en placas de Petri observado en el contexto del estudio sobre *Trichoderma* spp. como agente biocontrolador frente a *Fusarium* spp. en berenjena.



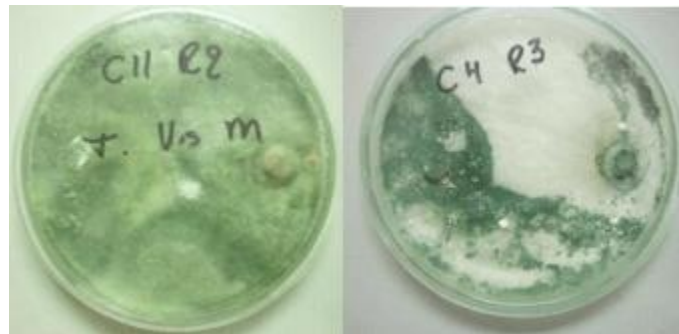
Fuente: Rodríguez Pinto et al. (2021). SciELO Colombia.

2.8.1.2 Acción de *Trichoderma* sobre *Moniliophthora roreri*

En patógenos como *Moniliophthora roreri*, agente causal de la moniliasis del cacao, *Trichoderma* actúa principalmente mediante antagonismo y antibiosis, las cepas de *Trichoderma* producen metabolitos antifúngicos que inhiben la germinación de esporas de *M. roreri* y afectan el crecimiento del micelio, reduciendo la capacidad infecciosa del patógeno (Bailey et al., 2008).

Asimismo, *Trichoderma* coloniza superficies vegetales y restos orgánicos, ocupando el espacio que *M. roreri* necesita para desarrollarse, lo que disminuye la presión de inóculo en el agroecosistema, este control se complementa con la activación de mecanismos defensivos en la planta de cacao, lo que reduce la severidad de la enfermedad en campo (Guzmán-Guzmán et al., 2025).

Figura 10. Cultivo *in vitro* de *Trichoderma* spp., y su antagonismo frente a *Moniliophthora roreri*.



Fuente: Engormix. (2015).

2.8.1.3 Acción de *Trichoderma* sobre nematodos fitoparásitos

Aunque *Trichoderma* no es un nematicida clásico, ha demostrado efectos significativos contra nematodos fitoparásitos como *Meloidogyne* spp, su acción se basa en la producción de enzimas y metabolitos tóxicos que afectan los huevos y juveniles de los nematodos, reduciendo su eclosión y movilidad (Affokpon et al., 2011).

Adicionalmente, *Trichoderma* induce resistencia sistémica en la planta, fortaleciendo las paredes celulares y activando mecanismos de defensa que dificultan la penetración y establecimiento del nematodo en las raíces, como resultado, se observa una disminución en la formación de agallas y una mejora en el desarrollo radicular (Affokpon et al., 2011).

Figura 11. Huevo de *Meloidogyne incognita* raza 2 parasitado por *Trichoderma asperellum* (cepa Ta.90), observado a 1000× de aumento. Se evidencia la colonización micelial de *Trichoderma* sobre la estructura del huevo del nematodo, lo que provoca la degradación de la pared y la inhibición del desarrollo embrionario.



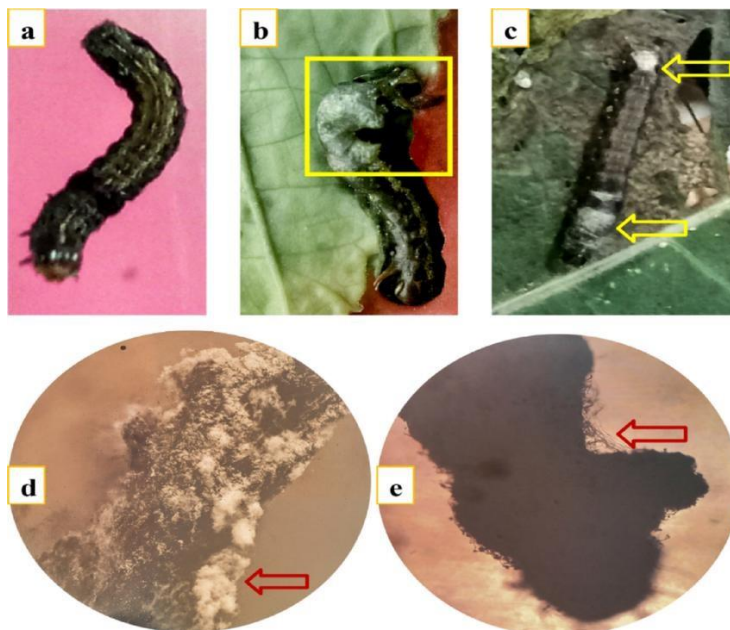
Fuente: Hernández et al. (2015).

2.8.1.4 Acción de *Trichoderma* sobre insectos y otros fitoparásitos

En el caso de insectos plaga, *Trichoderma* actúa principalmente de manera indirecta, la colonización de la rizósfera mejora la nutrición y vigor de la planta, haciéndola menos susceptible al ataque de insectos. Además, algunos metabolitos producidos por *Trichoderma* pueden afectar el desarrollo larval de insectos del suelo y alterar su comportamiento alimenticio (Harman et al., 2004).

Respecto a otros fitoparásitos, *Trichoderma* contribuye al equilibrio microbiano del suelo, desplazando microorganismos patógenos y reduciendo la disponibilidad de nichos ecológicos para organismos dañinos, este efecto ecológico convierte a *Trichoderma* en una herramienta clave para la sanidad del suelo y la sostenibilidad agrícola (Lorito et al., 2010).

Figura 12. Efecto parasítico de *Trichoderma* spp. sobre larvas de *Spodoptera littoralis*. (a) Larva sana sin tratamiento; (b) colonización del cuerpo larval por *Trichoderma asperellum* (MNF-NAH-Tricho5), resaltada dentro del recuadro amarillo; (c) crecimiento de *Trichoderma harzianum* (MNF-NAH-Tricho30) sobre la superficie larval, indicado mediante flechas amarillas; (d, e) imágenes obtenidas con estereomicroscopio que muestran un crecimiento micelial extenso de *Trichoderma* spp. sobre el cuerpo de la larva.



Fuente: El-Hadad et al. (2021), ResearchGate.

2.9 Trabajos relacionados

El uso de hongos benéficos del género *Trichoderma spp.* ha sido ampliamente estudiado en las últimas décadas debido a su importancia como agente de control biológico, biofertilizante y promotor del crecimiento vegetal, diversos trabajos de investigación han abordado su comportamiento, mecanismos de acción y métodos de multiplicación, tanto en medios sólidos como líquidos, con el objetivo de optimizar su producción y aplicación en la agricultura sostenible.

Un tema recurrente en los estudios relacionados con *Trichoderma spp.* es la evaluación de diferentes sustratos para su multiplicación, en este sentido, Naeimi et al. (2020), en su investigación titulada “*Evaluación de sustratos orgánicos para la fermentación en estado sólido, viabilidad y bioeficacia de Trichoderma harzianum.*”, analizaron distintos sustratos orgánicos para la producción del hongo, concluyendo que los materiales ricos en carbono, como cereales y subproductos agrícolas, favorecen significativamente el crecimiento micelial y la producción de esporas, además de mantener una alta viabilidad del inóculo.

De manera similar, Mulatu et al. (2021), en el estudio “*Optimización de las condiciones de cultivo y producción de biofungicidas a partir de especies de Trichoderma.*”, evaluaron la influencia de diferentes condiciones de cultivo y sustratos sobre la producción de biomasa y esporas de *Trichoderma spp.*, los autores reportaron que la composición del medio de cultivo, especialmente la fuente de carbono y nitrógeno, influye directamente en la eficiencia de multiplicación del hongo, destacando la importancia de optimizar los sustratos para obtener biofungicidas de alta calidad.

En relación con el uso de sustratos líquidos, Sorathiya et al. (2023) señalan que los medios líquidos elaborados a partir de melaza, extractos orgánicos y residuos agroindustriales permiten un mayor control de variables como pH, temperatura y oxigenación, lo que favorece una multiplicación más rápida y uniforme de *Trichoderma spp.*, estos autores destacan que los sustratos líquidos representan una alternativa económica y eficiente para la producción a pequeña y mediana escala, especialmente en regiones agrícolas con acceso a insumos locales.

Por su parte, Kopuri et al. (2025), en el trabajo “*Aprovechamiento de Trichoderma spp. para la salud del suelo y de los cultivos y la agricultura sostenible.*”, enfatizan que la producción eficiente de *Trichoderma* depende en gran medida del tipo de sustrato utilizado,

indicando que la combinación de fuentes orgánicas como melaza y humus de lombriz mejora la disponibilidad de nutrientes y favorece tanto el crecimiento micelial como la esporulación del hongo, asimismo, los autores resaltan que estos sustratos contribuyen indirectamente a mejorar la calidad del suelo cuando el bioinoculante es aplicado en campo.

En el contexto latinoamericano, varios estudios han evaluado el uso de *Trichoderma spp.* como alternativa biológica frente a los agroquímicos tradicionales. Investigaciones realizadas en sistemas agrícolas tropicales reportan que la aplicación de *Trichoderma* producido en sustratos orgánicos mejora la sanidad de los cultivos, reduce la incidencia de enfermedades del suelo y fortalece el desarrollo radicular, especialmente en cultivos hortícolas y frutales (Asghar et al., 2024; Kumar et al., 2023).

Mishra y Barolia (2020) destacan la importancia del laboratorio en los procesos de multiplicación de *Trichoderma spp.*, señalando que las condiciones controladas permiten garantizar la pureza del cultivo, la estabilidad del inóculo y la reproducibilidad de los resultados, estos autores concluyen que la estandarización de sustratos y condiciones de cultivo es fundamental para desarrollar bioinoculantes eficientes y confiables para su uso agrícola.

Diversos estudios han profundizado en la capacidad de *Trichoderma spp.* para adaptarse a diferentes fuentes orgánicas, destacando su eficiencia en sistemas de producción sostenibles. En este sentido, Harman et al. (2019) analizaron los mecanismos fisiológicos y metabólicos de *Trichoderma*, señalando que la disponibilidad de carbono fácilmente asimilable en los sustratos favorece no solo la multiplicación del hongo, sino también la producción de metabolitos secundarios responsables de su acción antagonista contra fitopatógenos del suelo.

Asimismo, Poveda et al. (2020) evaluaron el efecto de bioinoculantes formulados a base de *Trichoderma* cultivado en sustratos orgánicos sobre el crecimiento vegetal y la resistencia inducida en plantas, concluyendo que los sustratos ricos en materia orgánica mejoran la colonización radicular y potencian la interacción benéfica hongo-planta, incrementando la eficiencia del biocontrol.

Por otro lado, Montealegre et al. (2022) estudiaron la producción masiva de *Trichoderma spp.* utilizando residuos agroindustriales en fermentación sólida, destacando que el uso de subproductos agrícolas locales no solo reduce los costos de producción, sino que

también permite obtener inóculos con alta concentración de esporas y estabilidad biológica, aptos para su aplicación en campo.

Finalmente, Vinale et al. (2021) resaltan que la selección adecuada del sustrato influye directamente en la expresión de genes relacionados con el crecimiento, la esporulación y la producción de enzimas líticas en *Trichoderma spp.*, lo que determina su eficacia como agente de control biológico y promotor del crecimiento vegetal en diferentes sistemas agrícolas.

CAPÍTULO III

3. DESARROLLO DE LA PROPUESTA

3.1. Descripción del sistema o proceso

3.1.1. Antecedentes

El uso de cámaras de aislamiento microbiológico en el área de multiplicación responde a una problemática recurrente en la producción sobre sustratos orgánicos: la alta vulnerabilidad ante la competencia interespecífica, los medios con alta densidad nutricional son propensos a la colonización acelerada por agentes contaminantes si no se dispone de una barrera de exclusión física efectiva (Zin y Badaluddin, 2020). Esta unidad tecnológica no solo previene el ingreso de esporas anemófilas, sino que estabiliza la presión de vapor. Para el caso de los sustratos líquidos, este control es vital, ya que evita la evaporación excesiva que derivaría en una concentración irregular de solutos, afectando directamente la presión osmótica y el crecimiento radial del micelio.

Por otra parte, los sistemas de aislamiento modernos integran una gestión eficiente del intercambio gaseoso (Alfiky y Weisskopf, 2021). Dado que *Trichoderma* es un microorganismo estrictamente aeróbico, la acumulación de dióxido de carbono (CO₂) en espacios confinados inhibe su esporulación, el diseño contemporáneo de la cámara seleccionada permite una ventilación controlada y filtrada que asegura la asepsia mientras optimiza la disponibilidad de oxígeno, esta estabilidad atmosférica es fundamental para estandarizar la producción de conidias, garantizando que el biopreparado final mantenga una carga infectiva constante, reproducible y de alta calidad.

Finalmente, en concordancia con la transición hacia la bioeconomía circular mediante el aprovechamiento de subproductos orgánicos, el proceso exige el manejo riguroso de variables críticas como el fotoperiodo y la temperatura (Sood et al., 2020). En este contexto, la implementación de la cámara de aislamiento no constituye un elemento periférico, sino el componente de ingeniería indispensable para transicionar de una escala artesanal a un proceso de multiplicación estandarizado, esto asegura que el hongo preserve su potencial metabólico y su pureza microbiológica antes de su posterior aplicación en campo.

3.2. Diseño y selección de tecnologías, herramientas o equipos a implementar

3.2.1 Metodología de la propuesta

El desarrollo de la presente propuesta técnica se articula mediante un diseño experimental de carácter descriptivo y aplicativo, estructurado en fases secuenciales que garantizan la trazabilidad del proceso biotecnológico, la metodología abarca desde el diseño paramétrico e instalación del área de multiplicación de microorganismos en el laboratorio agrícola de la universidad laica Eloy Alfaro de Manabí, extensión el Carmen, hasta la evaluación de su eficiencia en el mantenimiento de la homeostasis ambiental adecuada para el crecimiento y desarrollo de *Trichoderma spp.* en sustratos orgánicos líquidos.

Asimismo, se ejecutará un análisis técnico-argumentativo orientado a valorar la viabilidad operativa del sistema, este análisis se centrará en la capacidad del área propuesta para mitigar riesgos de contaminación cruzada y su sostenibilidad en la producción masiva de inóculos, contrastando los resultados obtenidos bajo condiciones controladas frente a los métodos de incubación convencionales.

Fase I: Diseño e implementación de la unidad de aislamiento

Esta etapa comprendió la configuración física del área de multiplicación, garantizando que los materiales utilizados permitieran mantener condiciones estrictas de asepsia y un control eficiente de las variables abióticas, se otorgó especial importancia a la hermeticidad y a la disposición de los sistemas de intercambio gaseoso, considerados elementos críticos para favorecer el crecimiento adecuado de los hongos en estudio y prevenir el exceso de humedad ambiental, principal factor asociado al desarrollo de contaminantes microbiológicos perjudiciales para la producción de bioinsumos.

Fase II: Evaluación del desempeño microclimático

Durante esta fase se verificó la operatividad de la infraestructura mediante el monitoreo continuo de la temperatura y la humedad relativa interna, con el propósito de evaluar las condiciones microclimáticas generadas en el área experimental, este control permitió garantizar que los parámetros ambientales se mantuvieran dentro de los rangos óptimos requeridos para el crecimiento radial y la esporulación de las cepas de *Trichoderma spp.* evaluadas

Fase III: Análisis de viabilidad y eficiencia biotecnológica

Finalmente, se realizó una valoración de la relación costo-beneficio asociada a la implementación del sistema y su incidencia en la calidad del bioproducto obtenido, se evaluó la disminución de la tasa de contaminantes y la uniformidad en la concentración de unidades formadoras de colonias (UFC), lo que permitió sustentar la propuesta como una alternativa técnica escalable para la producción a gran escala de bioinsumos bajo estándares de calidad profesional.

La implementación de la infraestructura experimental se realizó mediante el acondicionamiento e instalación de una cámara de aislamiento biológico en un área total de 200 m², estructurada con perfiles de aluminio blanco y paneles combinados de vidrio transparente y opaco, la obra se diseñó con el fin de asegurar condiciones microbiológicas estériles y controladas, aislando el área de corrientes de aire y reduciendo el riesgo de contaminación cruzada durante la preparación de los caldos y la incubación de *Trichoderma spp.*

El área de trabajo interna se equipó con un mesón de 3,85 m de largo por 0,60 m de ancho, construido sobre una base sólida de mampostería (bloques de concreto y varillas de hierro de 10 mm) y revestido con planchas de granito, esta superficie lisa y no porosa facilita la desinfección química frecuente del área, adicionalmente, el laboratorio se protegió externamente con una cubierta de láminas de acero galvanizado tipo duratecho de 4,15 m de longitud, lo que garantiza el aislamiento térmico y la protección frente a factores climáticos externos.

El ensayo se distribuyó bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA) conformado por 4 tratamientos y 4 repeticiones, completando 16 unidades experimentales colocadas dentro del área limpia, en este espacio se evaluaron los cuatro niveles de sustratos líquidos a base de arroz (100 g), agua y sus respectivas combinaciones con melaza (50 mL) y humus de lombriz disuelto (H.L.D.), con el propósito de medir la concentración de unidades formadoras de colonias (U.F.C./mL⁻¹) y la velocidad de crecimiento micelial de *Trichoderma spp.*, para garantizar la conservación de los insumos y cultivos madre, se integró un equipo de refrigeración y termohigrómetros para el monitoreo continuo de la temperatura.

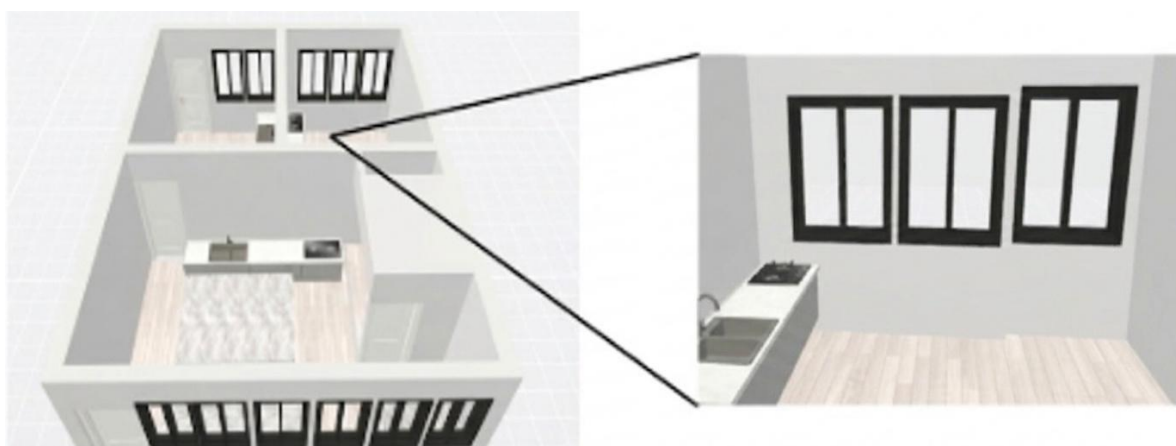
En la elección de los materiales constructivos se dio prioridad a insumos de alta durabilidad y resistencia al uso constante de desinfectantes, como perfiles de aluminio anodizado, cristales, pernos autoperforantes y selladores sintéticos, la integración de esta infraestructura proporciona un espacio funcional, seguro y apto para la investigación biotecnológica a nivel universitario.

Esta cámara de aislamiento representa una capacidad instalada duradera para el laboratorio, orientada a masificar la formulación de bioinoculantes líquidos de bajo costo utilizando insumos locales para el sector agrícola de El Carmen, de esta forma, la implementación aporta al desarrollo de la investigación aplicada, promueve prácticas de manejo biológico y reafirma el compromiso institucional con la sostenibilidad agrícola.

3.2.2 Esquema de la cámara de aislamiento microbiológico

El laboratorio agrícola incluirá una sección específica para aislar y multiplicar el hongo, configurada de forma práctica para asegurar un flujo de trabajo dinámico, la Figura 13 ilustra el diseño espacial que se aplicará en la Granja Experimental Río Suma, distinguiendo zonas esenciales para el control del entorno y el cumplimiento de las normas de bioseguridad, la zona de aislamiento se utilizará para manejar las muestras bajo parámetros estrictos, previniendo la contaminación entre cultivos y asegurando la confiabilidad de los resultados biológicos.

Figura 13. *Modelo en 3D del laboratorio agrícola en la Granja Experimental Río Suma*



3.3 Resultados y discusiones

3.3.1 Evaluación de la estabilidad experimental de *Trichoderma spp.* en el laboratorio

Como paso previo a la consolidación de los promedios tratamientos, se examinó el comportamiento de la concentración esporular de *Trichoderma spp.* a través de las cuatro repeticiones (R_1, R_2, R_3, R_4) para cada medio de cultivo líquido formulado.

Figura 14. Variabilidad de la densidad poblacional de *Trichoderma spp.* (U.F.C./mL⁻¹) en cuatro repeticiones por tratamiento bajo condiciones de laboratorio.



Nota. Comportamiento individual de las unidades experimentales (R1, R2, R3 y R4 = Repeticiones 1 a 4) según la concentración de Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (U.F.C./mL⁻¹). T1: Arroz (100 g) + Melaza (50 mL) + Agua c.s.p. 1000 mL; T2: Arroz (100 g) + Agua c.s.p. 1000 mL; T3: Arroz (100 g) + Humus de Lombriz Disuelto c.s.p. 1000 mL; T4: Arroz (100 g) + Melaza (50 mL) + H.L.D. (0,05 mL) + Agua. c.s.p. = cantidad suficiente para completar. H.L.D. = Humus de Lombriz Disuelto.

En la Figura 14 se evidencia una alta homogeneidad en las lecturas esporulares correspondientes al Tratamiento 1 (T1: Arroz + Melaza), manteniéndose de forma consistente en el estrato superior de la gráfica con valores que oscilaron entre 44 750 y 50 000 U.F.C./mL⁻¹. Por su parte, el Tratamiento 2 (T2: Arroz solo) evidenció un comportamiento intermedio y estable (alrededor de 37 250 a 40 750 U.F.C./mL⁻¹), mientras que los tratamientos complementados con Humus de Lombriz Disuelto (T3 y T4) presentaron fluctuaciones más marcadas en las repeticiones finales, registrando descensos de hasta 27 500 U.F.C./mL⁻¹.

Esta estabilidad observada en el T1 responde a la homogeneización efectiva que ofrece la melaza en fase líquida sumergida, la cual evita precipitación de solutos y permite un

gradiente nutricional constante para las hifas en proliferación, la estabilidad observada en el tratamiento con melaza puede atribuirse a la disponibilidad constante de carbohidratos fácilmente asimilables, lo que favorece el crecimiento y la producción de conidios de *Trichoderma spp.*, tal como señalan Harman (2006) y Verma et al. (2007).

3.3.2 Determinación del sustrato orgánico líquido óptimo para la multiplicación masiva

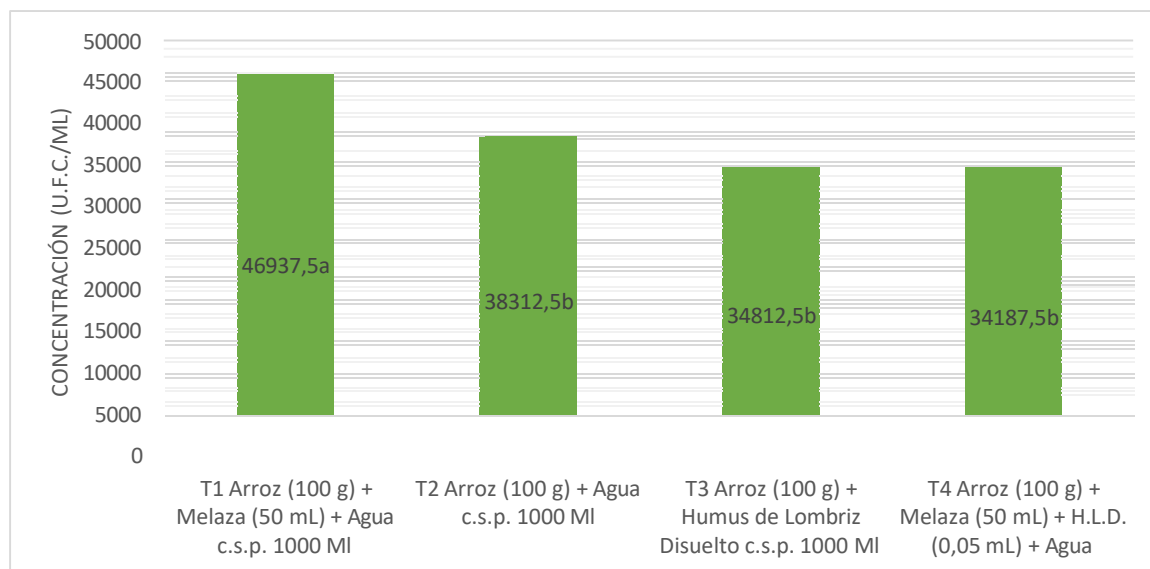
Para dar respuesta definitiva al objetivo general del estudio y determinar qué sustrato orgánico promueve la mayor tasa de reproducción del biocontrolador, se procedió al Análisis de Varianza (ANOVA) y a la separación de medias mediante la prueba de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Tabla 7. Prueba de comparación de medias de Tukey ($\alpha = 0,05$) para la densidad poblacional de *Trichoderma spp.*

Tratamiento	Sustrato Orgánico Evaluado	Concentración (U.F.C./mL ⁻¹)	Error Estándar (E.E.)	Rango Estadístico ($\alpha=0,05$)
T1	Arroz (100 g) + Melaza (50 mL) + Agua c.s.p. 1000 mL	46 937,50	1 898,12	a
T2	Arroz (100 g) + Agua c.s.p. 1000 mL	38 312,50	1 898,12	b
T3	Arroz (100 g) + Humus de Lombriz Disuelto c.s.p. 1000 mL	34 812,50	1 898,12	b
T4	Arroz (100 g) + Melaza (50 mL) + H.L.D. (0,05 mL) + Agua	34 187,50	1 898,12	b

Nota. Medias con letras distintas expresan diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$). Error Estándar (E.E.) = 1 898,12 U.F.C./mL⁻¹. c.s.p. = cantidad suficiente para completar. H.L.D. = Humus de Lombriz Disuelto.

Figura 15. Concentración promedio de Unidades Formadoras de Colonias (U.F.C./mL⁻¹) de *Trichoderma spp.* en función del sustrato orgánico líquido evaluado.



Nota. Barras cargadas con letras distintas (a, b) indican diferencias significativas ($\alpha = 0,05$). Las etiquetas sobre las barras representan la media poblacional obtenida en cámara de conteo.

El análisis bioestadístico confirmó la existencia de diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre los sustratos orgánicos evaluados, la prueba de Tukey posicionó al Tratamiento 1 (T1: Arroz 100 g + Melaza 50 mL + Agua c.s.p. 1000 mL) en el Rango A de manera categórica e independiente, con una concentración promedio de 46 937,50 U.F.C./mL⁻¹, superando estadísticamente a todos los demás tratamientos evaluados.

El T1 logró superar al sustrato a base de arroz simple (T2) en un 22,5 % (+8 625 U.F.C./mL⁻¹), y a los tratamientos T3 y T4 en un 34,8 % y 37,3 %, respectivamente. Los tratamientos T2, T3 y T4 compartieron el Rango B, demostrando que no existen diferencias estadísticamente significativas entre utilizar únicamente arroz o combinarlo con humus de lombriz disuelto.

La respuesta superior observada en el T1 se fundamenta en la sinergia metabólica de sus componentes, el arroz aporta carbohidratos complejos mientras que la melaza suministra azúcares simples, favoreciendo el metabolismo energético y la esporulación del hongo (Howell, 2003; Verma et al., 2007), mientras que la melaza proporciona disacáridos y monosacáridos solubles (sacarosa, glucosa y fructosa) de absorción inmediata. Esta disponibilidad de carbono de rápido acceso permite acortar la fase de latencia (*lag phase*) del hongo e induce una potente fase exponencial de esporulación.

Diversos estudios indican que la disponibilidad de fuentes de carbono de rápida utilización incrementa la producción de biomasa y conidios de *Trichoderma spp.* (Harman, 2006; Papavizas, 1985).

Por el contrario, el rendimiento inferior registrado en los tratamientos con Humus de Lombriz Disuelto (T3 y T4) sugiere que, aunque el humus posee minerales y aminoácidos, carece de la densidad de azúcares libres y carbohidratos simples requerida para sostener tasas elevadas de esporulación biomasa en periodos de incubación reducidos. Tal como lo discuten Harman (2006) y Howell (2003), la multiplicación de este biocontrolador está supeditada a la calidad nutricional del sustrato; el uso de compuestos complejos o de menor contenido energético ralentiza los procesos de proliferación celular.

Esto explica por qué el tratamiento T4 (que incluía melaza y H.L.D.) no superó al T1, debido probablemente a la interferencia mecánica o competencia osmótica generada por la saturación de sólidos disueltos en el caldo, limitando la viabilidad final de la biomasa en comparación con formulaciones limpias de carbohidratos solubles (Kubicek & Harman, 2002).

CAPÍTULO IV

4.1 CONCLUSIONES

La adecuación del espacio experimental bajo parámetros controlados de laboratorio permitió la multiplicación eficiente de *Trichoderma* spp., demostrando que la infraestructura adaptada garantiza la bioseguridad del proceso y la viabilidad técnica para la obtención de biofertilizantes de alta calidad.

La combinación de sustrato de arroz más melaza (T1) constituyó el medio líquido óptimo para la producción masiva de *Trichoderma* spp., alcanzando la mayor tasa de multiplicación con una concentración promedio de 46 937,50 UFC/mL. El análisis estadístico ($p < 0,05$) y la prueba de Tukey ubicaron a T1 en el rango A de manera independiente, superando en un 22,5 % al arroz solo (T2) y en más del 34 % a las formulaciones con humus de lombriz (T3 y T4), demostrando que la disponibilidad inicial de carbohidratos solubles maximiza de forma eficiente la esporulación del hongo.

4.2 RECOMENDACIONES

- Se recomendó adoptar el Tratamiento 1 (sustrato de arroz más melaza) como la mezcla base óptima para la producción masiva de *Trichoderma* spp., promoviendo el uso continuo del área de laboratorio implementada para mantener la estandarización de las condiciones de aireación, humedad y temperatura, lo cual garantiza la estabilidad, viabilidad y reproducibilidad del bioinsumo.
- Se recomendó mantener el protocolo de asepsia y el uso exclusivo del área de laboratorio acondicionada para la preparación de medios y reactores de incubación, evitando la contaminación cruzada con otros microorganismos saprófitos y asegurando la pureza del cultivo líquido de *Trichoderma* spp. antes de su inoculación.
- Se recomendó realizar ensayos experimentales en campo para validar la efectividad biológica del bioinsumo líquido producido, evaluando su capacidad de biocontrol contra fitopatógenos del suelo y su efecto promotor de crecimiento vegetativo en cultivos de interés agrícola regional

CAPITULO V

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Affokpon, M., Coyne, D. L., Lawouin, L., Togola, A., Coosemans, J., & Sikora, R. A. (2011). Biocontrol potential of native *Trichoderma* isolates against root-knot nematodes in West African vegetable production systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(3), 600–608. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.11.029>
- Agrios, G. N. (2005). *Plant pathology* (5.^a ed.). Elsevier Academic Press.
- American Public Health Association, American Water Works Association, & Water Environment Federation. (2015). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (22.^a ed.). American Public Health Association.
- Arias, F. G. (2012). *El proyecto de investigación: Introducción a la metodología científica* (6.^a ed.). Editorial Episteme.
- Asghar, W., Craven, K. D., Kataoka, R., Mahmood, A., Asghar, N., Raza, T., & Iftikhar, F. (2024). The application of *Trichoderma spp.*, an old but new useful fungus, in sustainable soil health intensification: A comprehensive strategy for addressing challenges. *Plant Stress*, 12, Artículo 100455. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2024.100455>
- Bautista, J. A., Martínez, L., & Ortega, M. (2018). *Protocolo para la producción masiva y control de calidad de Trichoderma spp.* Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA).
- Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C., & Codón, A. C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, 7(4), 249–260.
- Błaszczuk, L., Siwulski, M., Sobieralski, K., Lisiecka, J., & Jędryczka, M. (2014). *Trichoderma spp.* application and prospects for use in agriculture. *Folia Microbiologica*, 59(5), 397–444. <https://doi.org/10.1007/s12223-014-0314-2>
- Boland, G. J., & Hall, R. (1994). Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 16(2), 93–108. <https://doi.org/10.1080/07060669409500766>
- Cedeño-Moreira, J. R., Vera-Arroyo, J. R., & Castro-Solís, L. A. (2023). Evaluación de bioinsumos basados en *Trichoderma spp.* como alternativa agroecológica en cultivos de ciclo corto de la provincia de Manabí. *Revista Técnica de Agroindustria Ecuatoriana*, 5(1), 22–31.

- Contreras-Cornejo, H. A., Schmoll, M., Esquivel-Ayala, B. A., González-Esquivel, C. E., Rocha-Ramírez, V., & Larsen, J. (2024). Abiotic plant stress mitigation by *Trichoderma* species. *Soil Ecology Letters*, 6(4), 45–58.
- Erwin, D. C., & Ribeiro, O. K. (1996). *Phytophthora diseases worldwide*. American Phytopathological Society (APS Press).
- Fabián, J., Delgado-Baquerizo, M., & Yuan, M. (2024). Effects of agricultural intensification on soil microbial diversity and its relationship with ecosystem multifunctionality. *Frontiers in Plant Science*, 15, Artículo 1366821. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1366821>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations, Intergovernmental Technical Panel on Soils, Global Soil Biodiversity Initiative, Secretariat of the Convention on Biological Diversity, & European Commission. (2020). *State of knowledge of soil biodiversity: Status, challenges and potentialities*. FAO. <https://doi.org/10.4060/cb1928en>
- Gallegos-Morales, M. A., Castro-Solís, L. A., & Vera-Arroyo, J. R. (2022). Dinámica poblacional y persistencia de *Trichoderma asperellum* en suelos de zonas tropicales bajo diferentes regímenes de humedad. *Revista Técnica de Agroindustria Ecuatoriana*, 4(1), 12–21.
- Guapi-Alba, J. E., Masapanta-Gallegos, M. A., & Castro-Solís, L. A. (2023). Optimización de medios de cultivo líquidos económicos para la multiplicación masiva de *Trichoderma spp.* con insumos locales. *Revista Técnica de Agroindustria Ecuatoriana*, 5(2), 45–54.
- Gupta, R., Kumar, A., & Singh, V. (2022). Linking soil microbial diversity to modern agriculture practices: A review. *Environmental Management*, 19(5), 3141–3156.
- Guzmán-Guzmán, P., Etesami, H., & Santoyo, G. (2025). *Trichoderma*: A multifunctional agent in plant health and microbiome interactions. *BMC Microbiology*, 25, Artículo 434. <https://doi.org/10.1186/s12866-025-04158-y>
- Guzmán-Guzmán, P., Porras-Troncoso, M. D., Olmedo-Monfil, V., & Herrera-Estrella, A. (2019). *Trichoderma* species: Versatile plant symbionts. *Phytopathology*, 109(1), 6–16. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-18-0218-RVW>
- Hamui-Sutton, A., & Varela-Ruiz, M. (2013). La técnica de los grupos focales. *Investigación en Educación Médica*, 2(5), 55–60.
- Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species—opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 2(1), 43–56. <https://doi.org/10.1038/nrmicro797>

- Hernández-Melchor, D. J., Ferrera-Cerrato, R., & Alarcón, A. (2019). *Trichoderma*: Importancia agrícola, biotecnológica y sistemas de producción. *Idesia (Arica)*, 37(1), 89–96. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292019000100089>
- Hernández-Sampieri, R., & Mendoza, C. P. (2018). *Metodología de la investigación: Las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta*. McGraw-Hill Editores.
- Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología. (2022). *Anuario meteorológico del Ecuador 2022*. INAMHI.
- Jiménez Torres, A. del C., Castillo-Acaro, E., Jiménez-Jiménez, L., & Pucha-Cofrep, D. (2022). Adaptación de sistemas naturales y sociales al cambio climático en el Ecuador: Una revisión. *Bosques Latitud Cero*, 12(1), 54–71.
- Kaur, S., Dhillon, G. S., Brar, S. K., Vallad, G. E., Chand, R., & Chauhan, V. B. (2012). Emerging phytopathogen *Macrophomina phaseolina*: Biology, economic importance and current diagnostic trends. *Critical Reviews in Microbiology*, 38(2), 136–151. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2011.640977>
- Khan, S., Gupta, A., & Ahmad, M. (2018). Mass multiplication and shelf life of liquid fermented final product of *Trichoderma viride* in different formulations. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(5), 3229–3233.
- Kopuri, A., Kodali, S., Pulapaka, S., Sayala, P., Dasu, R. S. V., & Kotamraju, V. K. (2025). Exploitation of *Trichoderma spp.* for soil and crop health in sustainable agriculture. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 14(1), 60–71.
- Kou, X., Wang, J., Liu, L., & Li, J. (2024). Hydrolytic enzymes involved in *Trichoderma* mycoparasitism and cell wall degradation of phytopathogens. *Fungal Biology Reviews*, 42, 112–125.
- Kumar, S., Thakur, M., & Rani, A. (2014). *Trichoderma*: Mass production, formulation, quality control, delivery and its scope in commercialization in India for the management of plant diseases. *African Journal of Agricultural Research*, 9(53), 3829–3838.
- Kumar, V., Singh, P., Sharma, A., & Yadav, S. (2023). *Trichoderma spp.* as plant growth-promoting fungi and biological control agents: Recent advances and future prospects. *Journal of Fungi*, 9(2), Artículo 239. <https://doi.org/10.3390/jof9020239>
- Lorito, M., Woo, S. L., Harman, G. E., & Monte, E. (2010). Translational research on *Trichoderma*: From laboratory to field. *Annual Review of Phytopathology*, 48, 395–417. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-073009-114314>
- Martínez, B., Infante, D., & Reyes, Y. (2013). *Trichoderma spp.* y su función en el control biológico de patógenos de cultivos. *Revista de Protección Vegetal*, 28(1), 1–11.

- Martínez-Medina, A., Fernandez, I., Lokgbury, J., & Pozo, M. J. (2013). Shifting from priming of salicylic acid- to jasmonic acid-regulated defences by *Trichoderma* protects tomato against spider mites. *New Phytologist*, 199(3), 754–765. <https://doi.org/10.1111/nph.12290>
- Méndez, B. C. (2015). *Evaluación de cepas de Trichoderma spp. sobre el comportamiento agronómico del cultivo de arroz* [Tesis de grado, Universidad Agraria del Ecuador].
- Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica. (2020). *Estrategia Nacional de Neutralidad en la Degradación de la Tierra*. MAATE.
- Morales, M. (2010). *Evaluación de la degradación de tierras en el Ecuador: Tendencias y estado actual*. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE).
- Mulatu, A., Mekonnen, S., & Alemu, T. (2021). Biological control of soil-borne plant pathogens using *Trichoderma*. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 128(1), 67–78. <https://doi.org/10.1007/s41348-020-00370-9>
- Ni, X., Feng, Y., Tang, J., & Fenner, K. (2025). Structural effect of chemical pesticides on the rhizosphere microbiome: Cumulative residues and functional degradation. *Environmental Microbiology*, 27(2), 115–128.
- Nouri, M. T., Lawrence, D. P., Holland, L. A., Doll, D. A., & Trouillas, F. P. (2020). Morphological and molecular characterization of *Macrophomina phaseolina* associated with pistachio. *Plant Disease*, 104(2), 512–520. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-19-1068-RE>
- Ponnusamy, P., Singh, S., Kaur, J., & Kaur, J. (2015). Morphological and molecular characterization of *Sclerotinia sclerotiorum* infecting oilseed crops. *Journal of Plant Pathology*, 97(3), 519–526.
- Rini, C. R., & Sulochana, K. K. (2007). Substrate evaluation for mass multiplication of *Trichoderma spp.* *Journal of Tropical Agriculture*, 45(1–2), 58–60.
- Santiago-Velasco, M., Rodriguez-Guerra, R., Gonzalez, E., & Jimenez, J. F. (2026). Mechanisms of *Trichoderma*–mediated plant growth promotion: From metabolites to plant responses. *Plants*, 15(14), Artículo 2180. <https://doi.org/10.3390/plants15142180>
- Singh, A., Shukla, N., Kashyap, P. L., & Sarma, B. K. (2014). Organic amendments enhance the biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum* against *Sclerotium rolfsii* in chickpea. *Biological Control*, 70, 31–38. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.11.011>

- Sriram, S., Roopa, K. P., & Savitha, M. J. (2011). Extended shelf-life of liquid formulations of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride*. *Journal of Biological Control*, 25(3), 214–221.
- Tibbett, M., Fraser, T. D., & Sizmur, T. (2020). Identifying potential threats to soil biodiversity. *PeerJ*, 8, Artículo e9271. <https://doi.org/10.7717/peerj.9271>
- Verma, M., Brar, S. K., Tyagi, R. D., Surampalli, R. Y., & Valéro, J. R. (2007). Antagonistic fungi, *Trichoderma spp.*: Applications and prospects. *Bioresource Technology*, 98(12), 2320–2330. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.08.035>
- Woo, S. L., Hermosa, R., Lorito, M., & Monte, E. (2023). *Trichoderma*: A multipurpose bioinoculant for biotic and abiotic stress alleviation and sustainable agriculture. *Biological Control*, 178, 105–119. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2022.105119>
- Woo, S. L., Ruocco, M., Vinale, F., & Lorito, M. (2014). *Trichoderma*-microbe-plant interactions for proactive agriculture. *Phytopathology*, 104(12), 1270–1280. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-14-0048-FI>
- Yadav, A. N., Verma, P., Kumar, S., & Singh, B. (2023). Plant growth-promoting fungi: Current perspectives and sustainable agricultural applications. *Journal of Fungi*, 9(6), Artículo 617. <https://doi.org/10.3390/jof9060617>
- Yao, X., Wang, Y., & Zhang, L. (2023). Microbial-mediated mechanisms of *Trichoderma* species in nutrient mobilization, soil restoration, and plant abiotic stress tolerance. *Microbiological Research*, 266, Artículo 127274. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127274>
- Yin, R. K. (2018). *Case study research and applications: Design and methods* (6.^a ed.). SAGE Publications.

ANEXOS

Anexo 1. *Análisis de varianza (ANOVA) para el diámetro del halo de crecimiento / micelial (mm) de Trichoderma spp. según los sustratos orgánicos evaluados.*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	413625000	3	137875000	9,57**	0,0017
tratamiento	413625000	3	137875000	9,57**	0,0017
Error	172937500	12	14411458,33		
Total	586562500	15			

Nota: ** Altamente significativo ($p < 0,01$).

Anexo 2. *Acondicionamiento de techo para protección de laboratorio de microbiología.*



Anexo 3. *Diseño y armado de cámara de aislamiento microbiológico.*



Anexo 4. Pesaje de la biomasa/inóculo de *Trichoderma* spp. en balanza analítica para la dosificación de los tratamientos.



Anexo 6. Inoculación del agente de biocontrol (*Trichoderma* spp.) en las unidades experimentales con sustrato orgánico.



Anexo 5. Medición volumétrica y preparación de las mezclas líquidas en los reactores experimentales.



Anexo 7. Formación del micelio blanco en la fase inicial de colonización de *Trichoderma* spp. sobre la superficie líquida.



Anexo 8. *Esporulación densa (tonos verdosos) y desarrollo micelial de Trichoderma spp. en el medio orgánico.*



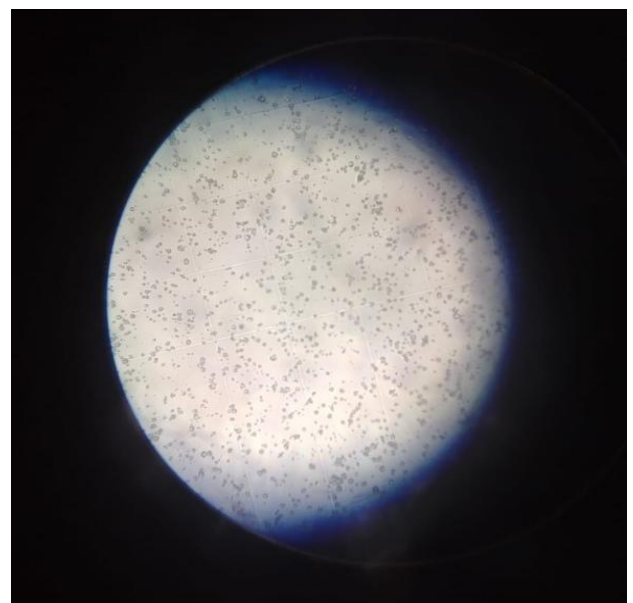
Anexo 9. *Monitoreo de parámetros fisicoquímicos (pH, conductividad eléctrica y temperatura) en las muestras obtenidas.*



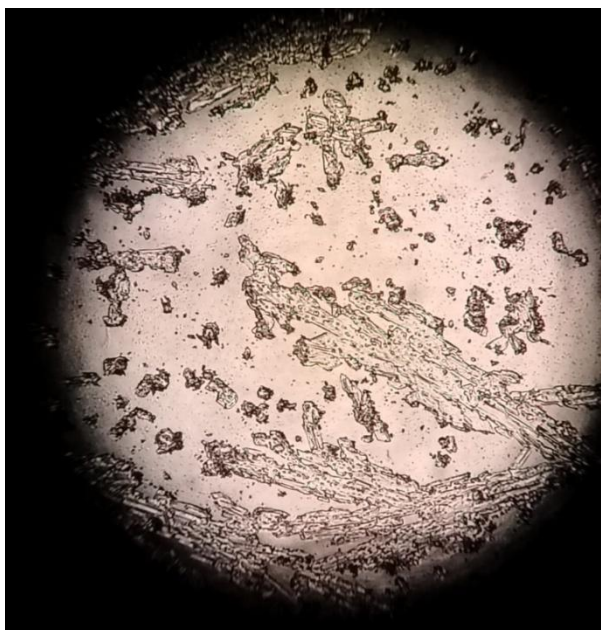
Anexo 10. *Verificación microbiológica y observación de estructuras miceliales en el microscopio óptico.*



Anexo 11. *Conteo y estimación de la concentración de esporas/conidios de Trichoderma spp. utilizando la cámara de Neubauer.*



Anexo 12. *Microfotografía de la cristalización / microestructuras presentes en el extracto analizado.*



Anexo 13. Certificado de Análisis de Similitud Plagium / Compilatio:



Certificado de análisis
Compilatio Magister+ | ULEAM-ECU

Tesis KÁren Jaramillo

ID : 903a9b8d7f64ab5b983e0e72fbd2843455de45ed



5%

Textos sospechosos

Nombre del fichero : Tesis KÁren Jaramillo.txt
Tamaño del archivo original : 7,44 MB
Número de palabras : 16.720

Depositante : Marco De la Cruz Chicaiza
Fecha de depósito : 3 de agosto de 2026
Tipo de carga : interface
fecha de fin de análisis : 3 de agosto de 2026

Resumen (sección 1/2)

Localización de los textos sospechosos en el documento :



Incluido en el porcentaje de textos sospechosos :



Similitudes

5%

Pasajes con similitudes a fuentes encontradas en diferentes colecciones.



Detección de IA

7%

Textos estilísticamente próximos a un texto generado por una IA.

Este índice es un indicador y no una prueba. Comprueba con el autor si domina los conocimientos mencionados en el documento.



Idiomas no reconocidos

10%

Pasajes en los que parte del vocabulario utilizado no forma parte del diccionario de la lengua.
Puede tratarse de un intento del autor de modificar el texto para evitar ser detectado.



No incluido en el porcentaje de textos sospechosos :



Textos entre comillas

<1%

Pasajes entre comillas, a menudo indicativos de una cita.