



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 del pH de sustratos líquidos sobre la multiplicación de *Trichoderma spp* bajo condiciones de laboratorio”

AUTOR: REVELO SANTACHIMBO MARCO ANTONIO.

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

El Carmen, 2025

	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 del estudiante Revelo Santachimbo Marco Antonio, 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 del pH de sustratos líquidos sobre 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, 3 de agosto de 2026

Lo certifico,


 Ing, Marco Vinicio De La Cruz, Mg

Docente tutor(a)

Área: Agricultura, Silvicultura, Pesca y Veterinaria.

UNIVERSIDAD LAICA "ELOY ALFARO" DE MANABÍ
EXTENSIÓN EN EL CARMEN
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

TÍTULO:

**"Influencia del pH de sustratos líquidos sobre la multiplicación de
Trichoderma spp bajo condiciones de laboratorio"**

AUTOR: REVELO SANTACHIMBO MARCO ANTONIO

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

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

TRIBUNAL DE TITULACIÓN

MIEMBRO _____

Mg. Kleber Fernando Mejía Chanaluisa

MIEMBRO _____

PhD. Cedeño Zambrano Jose Randy

MIEMBRO _____

PhD. López Mejía Francel Xavier

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Yo, **Revelo Santachimbo Marco Antonio** con cédula de ciudadanía **235035581-0**, 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 del pH de sustratos líquidos sobre 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,



Revelo Santachimbo Marco

DEDICATORIA

A **Dios**, por guiar mis pasos y darme la fortaleza para llegar hasta aquí.

A mi madre, **Sandra Santachimbo**:

Dedico este triunfo entero a ti, que has sido mi refugio, mi fuerza y mi mayor bendición. Gracias por cada oración en silencio, por tus sacrificios invisibles y por enseñarme a no rendirme jamás. Este título no es solo mío, es el fruto de tu amor incondicional y de todo lo que has dado por mí. Todo lo que soy y lo que he logrado, te lo debo a ti.

A mi padre, **Marco Revelo**, por su ejemplo, apoyo y enseñanzas en este camino.

A mi amada hija, **Alitza Maileth Revelo Moreira**, mi motor, mi luz y la razón de cada uno de mis esfuerzos.

A mi pareja, **Dayana Melissa Moreira Zambrano**, por su paciencia, su amor y por estar a mi lado en cada paso.

A mis hermanos, **Javier, Mauricio y Alisson**, por su compañía y cariño incondicional

A todas las personas que de una u otra forma me brindaron una palabra de aliento y creyeron en mí.

Revelo Santachimbo Marco Antonio

AGRADECIMIENTOS

Al Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí extensión el Carmen que me brindó la oportunidad de culminar mis estudios en esta bella institución, agradezco a los ingenieros que a través de su experiencia y conocimiento tuvimos una enseñanza excelente de aprendizaje.

En forma especial agradezco a mi tutor al Ing. Marco de la Cruz, Mg. por darnos la oportunidad de realizar este trabajo de investigación con nosotros, por los años de enseñanza, dedicación a sus materias.

De la misma manera agradecer al Ing. Gonzales Paul por la ayuda y confianza que nos brindó en este trabajo de investigación, el cual fue muy grato haber trabajado y aprendido.

Revelo Santachimbo Marco Antonio

INDICE DE CONTENIDO

CAPITULO I.....	3
1.1 INTRODUCCIÓN	3
1.2 PROBLEMÁTICA	4
1.3 JUSTIFICACIÓN	5
1.4 OBJETIVOS.....	6
1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	6
1.5 HIPÓTESIS	6
1.5.1 Ha:.....	6
1.6 METODOLOGIA	6
1.6.1 Ubicación del ensayo	6
1.6.2 Caracterización agroecológica de la zona.....	7
1.6.3 Materiales, equipos e insumos.....	8
1.6.3.1 Materiales	8
1.6.3.2 Equipos	8
1.6.3.3 Insumos	9
1.6.4 Diseño experimental.....	9
1.6.4.1 Área del ensayo	10
1.6.4.2 Distribución.....	10
1.6.4.3 Variables	11
1.6.4.4 Manejo del ensayo	12
1.6.4.5 Toma de datos	13
1.6.4.6 Análisis estadísticos	14
1.7 Métodos.....	15
1.8 Técnicas.....	15
CAPITULO II.....	17
2.1 MARCO TEÓRICO	17
2.2 Tipos de trichoderma:.....	18
2.2.1 Trichoderma harzianum	18
2.2.2 Trichoderma viride	20

2.2.3	Trichoderma asperellum	21
2.2.4	Trichoderma koningii	23
2.3	Antecedentes.....	24
2.4	Trabajos relacionados	26
CAPÍTULO III		29
DESARROLLO DE LA PROPUESTA		29
3.1	DESCRIPCIÓN DEL SISTEMA O PROCESO	29
3.2	DISEÑO Y SELECCIÓN DE TECNOLOGÍAS, HERRAMIENTAS O EQUIPOS A IMPLEMENTAR	30
3.2.1.	Ubicación de la propuesta	30
3.2.	Metodología Experimental y Preparación del Sustrato	30
3.3	Plan de implementación	32
3.3.1	Diseño del are a implementar	32
3.3.2	Cronograma de actividades	33
3.4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
CAPITULO IV.....		35
4.1	CONCLUSIÓN.....	35
4.2	RECOMENDACIÓN	36
4.3	BIBLIOGRAFÍAS.....	37
4.5	ANEXOS.....	42

INDICE DE ILUSTRACIÓN

Ilustración 1. Localización de la Granja Experimental Río Suma.....	7
Ilustración 2 Esperas de <i>Trichoderma harzianum</i> en caja Petri	18
Ilustración 3. Esperas de <i>Trichoderma viride</i> en caja Petri	20
Ilustración 4. Esperas de <i>Trichoderma asperellum</i> en caja Petri	21
Ilustración 5 Esperas de <i>Trichoderma koningii</i> en caja Petri	23
Ilustración 6 Modelo en 3D del laboratorio agrícola en la Granja Experimental Río Suma.	32

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla: 1 Características agroecológicas de la localidad.....	7
Tabla: 2 Tratamientos para la evaluación de Influencia del pH de sustratos líquidos sobre la multiplicación de Trichodermas spp bajo condiciones de laboratorio.	10
Tabla: 3 Distribución aleatoria de los tratamiento y repeticiones	11
Tabla: 4 Comparación de medias y significancia estadística para la concentración de Trichoderma spp. por tratamiento.....	¡Error! Marcador no definido.
Tabla: 5 Variable de coeficiente de variación.	42
Tabla: 6 Comparación de medias y significancia estadística para la concentración de Trichoderma spp. por tratamiento.....	42

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexos: 1: Realización de la implementación.	43
Anexos: 2 Elaboración de sustrato líquido.	43
Anexos: 3 Colocación del biol en cada recipiente.	43
Anexos: 4 Sustrato líquido ajustado a un pH 4.	44
Anexos: 5 Sustrato líquido ajustado a un pH 6.....	44
Anexos: 6 Sustrato líquido ajustado a un pH 7.....	44
Anexos: 7 Sustrato líquido ajustado a un pH 8.	45
Anexos: 8 Cámara neubauer	45
Anexos: 9 Toma de datos.	45

RESUMEN

Esta investigación tuvo como objetivo evaluar la influencia del pH de sustratos líquidos sobre la multiplicación de *Trichoderma* spp. bajo condiciones controladas de laboratorio. El estudio se desarrolló en el Laboratorio Agrícola de la Granja Experimental Río Suma, perteneciente a la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, extensión El Carmen. Se empleó un diseño completamente al azar (DCA), integrado por cinco tratamientos y cuatro repeticiones, utilizando sustratos elaborados a partir de arroz, melaza y agua, ajustados a diferentes niveles de pH.

La variable evaluada fue la concentración de unidades formadoras de colonias (UFC/mL), determinada mediante el uso de la cámara de Neubauer. La toma de datos se realizó a los 21 días de incubación, con el propósito de establecer la influencia del pH sobre la multiplicación del hongo. Los resultados evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados, siendo el tratamiento con pH 4 el que presentó la mayor concentración de esporas y el mejor desarrollo del microorganismo. Se concluye que el pH constituye un factor determinante en la actividad metabólica, la esporulación y la multiplicación de *Trichoderma* spp., favoreciendo la obtención de bioinsumos de mayor calidad para su aplicación en sistemas de producción agrícola sostenible.

Palabras clave: *Trichoderma* spp., pH, sustratos líquidos, esporulación, bioinsumos, agricultura sostenible.

ABSTRACT

This research aimed to evaluate the influence of pH in liquid substrates on the multiplication of *Trichoderma spp.* under controlled laboratory conditions. The study was conducted at the Agricultural Laboratory of the Río Suma Experimental Farm, which belongs to the Eloy Alfaro University of Manabí (ULEAM), El Carmen campus. A completely randomized design (CRD) was used, consisting of five treatments and four replicates, employing substrates prepared from rice, molasses, and water adjusted to different pH levels.

The variable evaluated was the concentration of colony-forming units (CFU/mL), which was determined using a Neubauer counting chamber. Data collection was carried out after 21 days of incubation to establish the influence of pH on fungal multiplication. The results showed statistically significant differences among the treatments evaluated, with the pH 4 treatment presenting the highest spore concentration and the best microbial development. It was concluded that pH is a determining factor in the metabolic activity, sporulation, and multiplication of *Trichoderma spp.*, promoting the production of higher-quality bioinputs for their application in sustainable agricultural production systems.

Keywords: *Trichoderma spp.*, pH, liquid substrates, sporulation, bioinputs, sustainable agriculture.

CAPITULO I

1.1 INTRODUCCIÓN

El estudio de *Trichoderma spp.* ha cobrado importancia desde finales del siglo XIX por su capacidad para degradar materia orgánica y antagonizar hongos patógenos, gracias a la biotecnología agrícola, se consolidó como un microorganismo clave en la producción de bioinsumos por su alta esporulación y rápido crecimiento, investigaciones globales demuestran que factores fisicoquímicos, especialmente el pH, influyen directamente en su desarrollo, ajustar el pH se ha convertido en un parámetro esencial para mejorar su multiplicación en laboratorio, países como India, Brasil y Colombia aplican esta regulación para obtener biocontroladores más eficientes y sostenibles.

La elaboración de bioinsumos con microorganismos benéficos es clave para la agricultura sostenible en Ecuador, especialmente en zonas como Manabí donde se busca reducir agroquímicos y fortalecer el control integrado de plagas, dentro de estos organismos, *Trichoderma spp.*, sobresale por su capacidad de estimular el crecimiento vegetal, generar resistencia en los cultivos y controlar fitopatógenos del suelo, no obstante, su desempeño depende en gran medida de las condiciones físico y químicas del cultivo, siendo el pH del sustrato líquido un factor decisivo para lograr una multiplicación eficiente en laboratorio (Harman et al., 2021; Hoyos-Carvajal et al., 2020).

El desempeño sobresaliente de las cepas de *Trichoderma spp.*, como agentes de control biológico se atribuye a su elevada tasa de esporulación, su capacidad de persistencia bajo condiciones ambientales restrictivas y su eficiencia metabólica en la asimilación de recursos nutricionales, estas características, junto con su habilidad para modular las interacciones de la rizosfera, les permiten ejercer una fuerte actividad antagonista contra hongos fitopatógenos, adicionalmente presentan una alta efectividad en la estimulación del desarrollo vegetal y en la activación de rutas fisiológicas asociadas a la resistencia inducida en plantas (Fraga, 2023).

Desde una perspectiva técnica, el estudio del pH en los sustratos líquidos utilizados para la multiplicación de *Trichoderma* permite establecer protocolos de producción más eficientes y reproducibles, justar este parámetro dentro de rangos óptimos favorece la viabilidad celular

y la uniformidad del cultivo, contribuyendo a la generación de bioinsumos de alta calidad para la agricultura sostenible, de esta manera, se fortalece el desarrollo de la agroecología y la biotecnología nacional, orientadas a reducir la dependencia de productos químicos y promover el uso de microorganismos benéficos adaptados a las condiciones locales (FAO, 2023).

Trichoderma spp, en laboratorio se consolidó a finales del siglo XIX tras identificarse su capacidad saprofítica y su agresividad frente a fitopatógenos, con el perfeccionamiento y técnicas de aislamiento, se comprendieron mejor sus requerimientos fisiológicos, especialmente el pH y la disponibilidad de nutrientes el uso de herramientas moleculares permitió diferenciar especies y seleccionar cepas con mayor eficiencia en esporulación y producción de metabolitos (Benítez et al., 2004), su cultivo en sistemas líquidos evolucionó hacia procesos más estandarizados, favoreciendo una multiplicación homogénea actualmente es un microorganismo clave en biocontrol y formulación de bioinsumos.

1.2 PROBLEMÁTICA

En la mayoría de las comunidades agrícolas existe un limitado entendimiento sobre el papel de *Trichoderma* la nula información hace que los productores no consideren su uso dentro de los programas de manejo integrado, esto ocasiona que continúen utilizando métodos convencionales y prácticas poco sostenibles, la ausencia de capacitación técnica impide que reconozcan que el hongo incrementa la disponibilidad de nutrientes y fortalece la resistencia natural de los cultivos (Harman et al., 2021).

Los agricultores en el uso prolongado de agroquímicos provoca deterioro del suelo, disminución de microorganismos benéficos y resistencia de plagas y patógenos, la desinformación genera una dependencia de insumos químicos que incrementan los costos y afectan la salud ambiental y humana, sin conocimiento de alternativas como *Trichoderma*, los productores continúan empleando dosis elevadas sin criterios técnicos, esta situación perpetúa problemas de fitotoxicidad y pérdida de fertilidad natural del suelo (FAO, 2020).

En la producción agrícola incrementa la presencia de residuos químicos en los alimentos, lo que expone al consumidor a riesgos toxicológicos como alteraciones, más probabilidad a riesgos cancerígenos, la ingesta repetida de estos compuestos supera la

capacidad de detoxificación del organismo, acumulándose en tejidos y causando efectos crónicos, esta contaminación alimentaria reduce la inocuidad y compromete la salud pública (Mostafalou y Abdollahi, 2017).

1.3 JUSTIFICACIÓN

La incorporación de *Trichoderma spp* en los sistemas agrícolas modernos, es de suma importancia ya que por su alta eficiencia como los biofertilizantes son beneficioso en la agricultura ya que mejora en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo lo que mejora la calidad suelo por ende una mejor producción en todo tipo de cultivo a su vez incrementa la tolerancia de las plantas a condiciones de estrés abiótico, elevando el rendimiento y la seguridad alimentaria (Hernández, et al. 2019).

La aplicación de *Trichoderma* genera un impacto positivo en la sociedad al reducir la dependencia de pesticidas químicos, lo que disminuye riesgos para la salud humana y promueve una producción agrícola más segura, su acción regeneradora en los suelos incrementa la biodiversidad microbiana, mejora la estructura edáfica y favorece la sostenibilidad de los sistemas productos orgánicos además, su uso contribuye a mitigar la contaminación ambiental asociada al abuso de agroquímicos, fortaleciendo modelos de agricultura responsable (Woo, et al. 2014).

La incorporación de *Trichoderma spp* y otros microorganismos benéficos constituye una alternativa sostenible para reducir el uso intensivo de agroquímicos que degradan el suelo y generan resistencia en plagas, estos agentes biológicos actúan como biofertilizantes y biocontroladores, mejorando la disponibilidad de nutrientes y disminuyendo la carga química en los cultivos, implementación responde a la necesidad de restaurar la actividad microbiana perdida y promover sistemas productivos ambientalmente seguros. Además, su uso reduce costos al disminuir la dependencia de pesticidas sintéticos de esta manera, reemplazar agroquímicos con microorganismos mejora la resiliencia del agroecosistema (FAO, 2020).

La agricultura basada en microorganismos benéficos reduce la presencia de residuos químicos en alimentos, garantizando productos más inocuos y seguros para el consumidor. Al disminuir el uso de pesticidas, se evita la acumulación de compuestos tóxicos asociados a enfermedades crónicas y alteraciones metabólicas justifica esta transición es esencial para

fortalecer la salud del consumidor y promover sistemas alimentarios sostenibles. Además, los cultivos manejados con biocontroladores presentan mayor estabilidad fisiológica y resistencia natural. Por ello, la agricultura microbiana contribuye directamente a mejorar la calidad y seguridad de los alimentos (Mostafalou y Abdollahi, 2017).

En base a los problemas antes mencionados se plantea el siguiente trabajo de integración curricular en la investigación: Influencia del pH de sustratos líquidos sobre la multiplicación de *Trichoderma spp*, bajo condiciones de laboratorio, ubicado en la granja experimental “río suma” perteneciente a los predios de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí extensión el Carmen.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 OBJETIVO GENERAL

- Evaluar la Influencia del pH de sustratos líquidos sobre la multiplicación de *Trichoderma spp*, bajo condiciones de laboratorio.

1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Implementar la cámara de flujo laminar con finalidad de ~~t~~Tabla 1 tratar más variedad de patógenos.
- Identificar el rango óptimo de pH en sustratos líquidos que favorece la mayor tasa de multiplicación de *Trichoderma spp*. bajo condiciones controladas de laboratorio.

1.5 HIPÓTESIS

1.5.1 Ha:

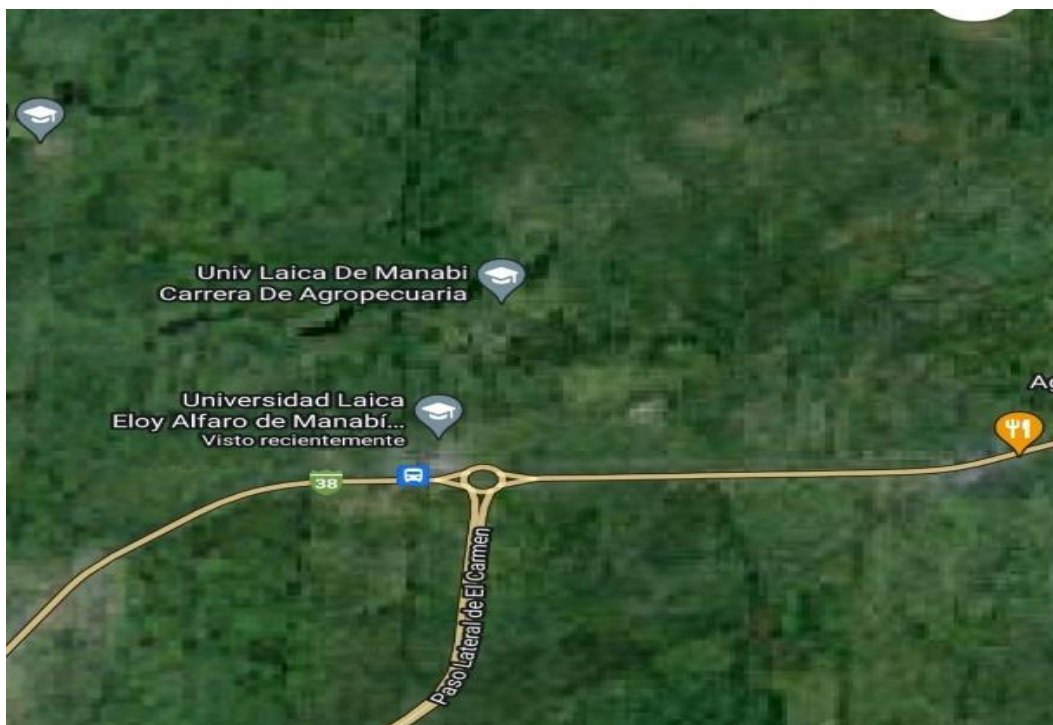
El pH del sustrato líquido influye significativamente en la tasa de multiplicación de *Trichoderma spp.*, presentándose mayor crecimiento en rangos de pH específicos bajo condiciones de laboratorio.

1.6 METODOLOGIA

1.6.1 Ubicación del ensayo

El presente trabajo de investigación se desarrollará en la granja experimental “Río Suma” perteneciente a los predios de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, ubicada en el km 35, cantón El Carmen, provincia de Manabí.

Ilustración 1. Localización de la Granja Experimental Río Suma



1.6.2 Caracterización agroecológica de la zona

Tabla: 1 Características agroecológicas de la localidad.

Características	El Carmen
Clima	Trópico Húmedo
Temperatura (°C)	20, 4°– 29, 2°
Humedad Relativa (%)	87,45
Precipitación media anual (mm)	233,83
Altitud (msnm)	260

Topografía	Irregular
Tipo de suelo	Franco arenoso
Pluviosidad	60%
Heliofanía	1283,80 horas de brillo solar

Fuente: Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI, 2017)

1.6.3 Materiales, equipos e insumos

1.6.3.1 Materiales

- Cemento
- Vidrio de 4 pulgadas
- Láminas de aluminio
- Silicona
- Pala
- Cajas Petri
- Tubos Falcon
- Pipetas
- Puntas estériles
- Placas Petri
- Bandejas de aluminio

1.6.3.2 Equipos

- Computadora
- Cámara de Neubauer para el conteo de esporas
- Autoclave
- pH-metro

- Balanza digital
- Estufa
- Mechero

1.6.3.3 Insumos

- Arroz, melaza y agua destilada
- Medio de cultivo PDA (Papa Dextrosa Agar)
- Alcohol
- Cepa pura de *Trichoderma spp.*
- Agente antibacterial

1.6.4 Diseño experimental

Este proyecto se utilizó un diseño completamente aleatorizado (DCA) con cinco tratamientos y cuatro replicas, con un total de 20 unidades experimentales donde se medirá las unidades de formación de colonia y la velocidad de crecimiento de la población de *Trichoderma spp.*

Factor de estudio:

Sustratos químicos

Se evaluarán cinco sustratos:

- **S1:** Arroz + Melaza + Agua (pH sin ajustar).
- **S2:** Arroz + Melaza + Agua ajustado a pH 4.
- **S3:** Arroz + Melaza + Agua ajustado a pH 6.
- **S4:** Arroz + Melaza + Agua ajustado a pH 7.
- **S5:** Arroz + Melaza + Agua ajustado a pH 8.

Tratamientos:

Tabla: 2 **Tratamientos para la evaluación de Influencia del pH de sustratos líquidos sobre la multiplicación de *Trichoderma* spp bajo condiciones de laboratorio.**

N*	Tratamiento	Nivel	Descripción
1	T1	S1	Arroz (100 g) + Melaza (50 ml) + Agua (850 ml) pH sin ajustar.
2	T2	S2	Arroz (100 g) + Melaza (50 ml) + Agua (850 ml) ajustado a pH 4 .
3	T3	S3	Arroz (100 g) + Melaza (50 ml) + Agua (850 ml) ajustado a pH 6 .
4	T4	S4	Arroz (100 g) + Melaza (50 ml) + Agua (850 ml) ajustado a pH 7 .
5	T5	S5	Arroz (100 g) + Melaza (50 ml) + Agua (850 ml) ajustado a pH 8 .

Los sustratos se dispondrán en un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones.

1.6.4.1 Área del ensayo

El área del ensayo se realizará en el laboratorio de microbiología de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, extensión El Carmen, ubicado en la granja experimental “Río Suma”, en la provincia de Manabí, el laboratorio dispone de condiciones adecuadas de higiene, bioseguridad y control ambiental, en este espacio se prepararon los sustratos líquidos, se inoculó *Trichoderma* spp. y se monitoreó su crecimiento bajo condiciones controladas.

1.6.4.2 Distribución

Las unidades experimentales se dispusieron bajo un diseño completamente al azar, considerando cinco tratamientos correspondientes a niveles de pH y cuatro repeticiones, para un total de 20 unidades experimentales, los sustratos líquidos se acondicionaron en recipientes individuales, correctamente rotulados y ubicados en el área de incubación del laboratorio, durante el ensayo se mantuvieron condiciones controladas y homogéneas, con el fin de asegurar la confiabilidad y comparabilidad de los resultados obtenidos en la multiplicación de *Trichoderma* spp.

Tabla: 3 **Distribución aleatoria de los tratamiento y repeticiones**

Repeticiones	Tratamientos				
	T3-R2	T1-R4	T5-R1	T2-R3	T4-R2
	T2-R1	T4-R3	T1-R2	T5-R4	T3-R1
	T5-R3	T3-R4	T4-R1	T1-R3	T2-R4
	T4-R4	T2-R2	T3-R3	T4-R1	T1-R1

T1: Arroz + Melaza + Agua (pH sin ajustar)

T2: Arroz + Melaza + Agua (pH 4)

T3: Arroz + Melaza + Agua (pH 6)

T4: Arroz + Melaza + Agua (pH 7)

T5: Arroz + Melaza + Agua (pH 8)

1.6.4.3 Variables

Independientes

- Sustratos orgánico-líquidos

Dependientes

- Unidad de formación de colonias
- Velocidad de crecimiento

Variables dependientes:

Unidad de formación de colonias (UFC)

La unidad de formación de colonias (UFC) en *Trichoderma spp.* permite estimar la cantidad de esporas viables presentes en una muestra, basándose en su capacidad de germinar y formar colonias visibles en medios de cultivo como PDA (Potato Dextrose Agar) (Harman et al., 2021). Este método incluye diluciones seriadas, siembra en placas Petri e incubación a temperaturas controladas entre 25 y 28 °C. El conteo de colonias formadas permite expresar

los resultados en UFC/mL, lo cual es fundamental para evaluar la calidad y concentración de formulaciones biológicas con fines agrícolas (Papavizas & Lumsden, 2020).

➤ **Velocidad de crecimiento**

La velocidad de crecimiento de *Trichoderma spp.* describe la rapidez con la que el micelio se expande en un medio de cultivo sólido, generalmente evaluada mediante la medición del diámetro de la colonia a intervalos regulares de tiempo (Mukherjee et al., 2022). Este parámetro depende de factores como la temperatura, el pH, la disponibilidad de nutrientes y la humedad. La evaluación de la velocidad de crecimiento permite seleccionar cepas con mayor potencial antagonista y capacidad de colonización en suelos agrícolas (Woo et al., 2021).

1.6.4.4 Manejo del ensayo

Selección del área de instalación del ensayo:

El ensayo se desarrolló en el laboratorio de microbiología de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, extensión El Carmen, específicamente en el área de laboratorio agrícola, la cual cuenta con condiciones controladas de temperatura, higiene y bioseguridad, necesarias para el manejo de cultivos microbiológicos como *Trichoderma spp.*

Inspección del área de trabajo:

Se realizó una inspección previa del laboratorio con el fin de verificar la disponibilidad y correcto funcionamiento de los equipos requeridos, tales como autoclave, estufa, pH-metro y balanza digital, así como la adecuada distribución del espacio para la manipulación de los sustratos líquidos y el manejo aséptico de las cepas.

Inoculación del *Trichoderma spp.*

La inoculación de *Trichoderma spp.* consiste en aplicar estas especies de hongos beneficiosos al suelo o directamente sobre las raíces de las plantas para mejorar su crecimiento y salud, estas especies colonizan la rizosfera (zona alrededor de las raíces) y pueden promover el desarrollo vegetal mediante la producción de fitohormonas como

auxinas que estimulan la elongación y ramificación de raíces, mejoran la absorción de nutrientes y modulan el metabolismo vegetal, además, *Trichoderma* puede inducir resistencia sistémica en la planta frente a patógenos y suelos con estrés biótico, lo que contribuye a una mayor vigorosidad y rendimiento de cultivos (Wang & et al, 2024)

Zhang & et al, (2020) además de promover el crecimiento, la inoculación de *Trichoderma spp.* actúa como agente de biocontrol frente a hongos patógenos y mejora la disponibilidad de nutrientes en el suelo, las especies de *Trichoderma* pueden solubilizar nutrientes esenciales como nitrógeno, fósforo y micronutrientes, y producir compuestos antagonistas que inhiben el crecimiento de patógenos fitopatógenos mediante mecanismos como competencia, antibiosis y parasitismo. En muchos cultivos, su aplicación ha demostrado reducir la incidencia de enfermedades de raíz y aumentar la longitud y biomasa de las plantas en comparación con condiciones sin inoculación.

1.6.4.5 Toma de datos

La toma de datos se realizará de manera sistemática y controlada durante el desarrollo del experimento, con el fin de evaluar la influencia del pH de los sustratos líquidos sobre la multiplicación de *Trichoderma spp.* Las evaluaciones se efectuarán a los 7, 14 y 21 días de incubación, considerando estos intervalos como tiempos representativos para observar el crecimiento y la esporulación del hongo bajo condiciones de laboratorio. En cada tratamiento y repetición se registrarán los valores correspondientes a la unidad de formación de colonias (UFC/mL) y a la velocidad de crecimiento, garantizando uniformidad en los tiempos de medición y en las condiciones de evaluación.

Para la determinación de la unidad de formación de colonias, se realizarán diluciones seriadas de las muestras y el conteo de esporas viables mediante el uso de la cámara de Neubauer, bajo condiciones asépticas, asegurando la precisión y confiabilidad de los datos obtenidos. La velocidad de crecimiento de *Trichoderma spp.* se evaluará mediante observaciones directas del desarrollo micelial, registrando los cambios en cada tratamiento durante el período experimental. Todos los datos recolectados serán anotados en fichas de registro previamente diseñadas y posteriormente organizados en tablas, lo que permitió su análisis estadístico y la comparación del efecto de los diferentes niveles de pH sobre la multiplicación del hongo.

1.6.4.6 Análisis estadísticos

Los datos obtenidos de las variables unidad de formación de colonias (UFC/mL) y velocidad de crecimiento micelial de *Trichoderma spp.* fueron organizados en base al Diseño Completamente al Azar (DCA), en el que cada tratamiento (niveles de pH) se asigna de forma aleatoria a las unidades experimentales, en un DCA, la aleatorización de las pruebas permite que los efectos ambientales o no controlados se repartan equitativamente entre los tratamientos, lo que favorece comparaciones más objetivas de los promedios entre grupos (Jaime , 2024). Este tipo de diseño es uno de los más utilizados en investigación experimental cuando se desea evaluar un solo factor con múltiples niveles bajo condiciones homogéneas.

Para determinar si existieron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, los datos fueron analizados mediante Análisis de Varianza (ANOVA), técnica que separa la variación total en componentes atribuibles a los tratamientos y al error experimental, El ANOVA compara las medias de los grupos y, cuando se rechaza la hipótesis nula (que todas las medias son iguales), se procede con pruebas de comparación múltiple (como Tukey) para identificar qué tratamientos difieren entre sí, este procedimiento es fundamental para interpretar los efectos del pH sobre las respuestas biológicas del hongo evaluado y es ampliamente recomendado en estudios experimentales. (Morillo & et al , 2020)

Preparación de los sustratos líquidos:

Los sustratos líquidos fueron preparados a base de arroz, melaza y agua destilada, ajustando el pH a los niveles previamente establecidos mediante el uso de soluciones reguladoras, posteriormente los sustratos fueron esterilizados en autoclave para garantizar condiciones libres de contaminantes.

Inoculación e incubación:

Una vez esterilizados y enfriados los sustratos, se procedió a la inoculación con la cepa pura de *Trichoderma spp.*, bajo condiciones asépticas los cultivos fueron incubados en estufa a temperatura controlada, permitiendo el desarrollo y multiplicación del hongo durante el período experimental establecido.

Seguimiento y toma de datos:

La toma de datos se realizó de forma periódica con el fin de evaluar el crecimiento y la multiplicación de *Trichoderma spp.* en los diferentes niveles de pH establecidos en los sustratos líquidos. Las evaluaciones se efectuaron a los 7, 14 y 21 días de incubación, mediante observaciones directas y el conteo de esporas utilizando la cámara de Neubauer. Los registros obtenidos en cada intervalo de tiempo permitieron comparar el efecto del pH sobre la multiplicación del hongo bajo condiciones controladas de laboratorio.

1.7 Métodos

Método de investigación:

La presente investigación se enmarca en el método experimental, ya que se manipuló de manera controlada la variable independiente (pH de los sustratos líquidos) para analizar su efecto sobre la variable dependiente (multiplicación de *Trichoderma spp.*), bajo condiciones de laboratorio.

1.8 Técnicas

Observación:

La técnica de la observación permite registrar de manera sistemática los cambios en el crecimiento y comportamiento de *Trichoderma spp.* durante el desarrollo del ensayo. Esta técnica se aplicó mediante el uso de fichas de observación para supervisar la evolución de los cultivos en los diferentes niveles de pH.

Investigación documental o bibliográfica:

La investigación documental se utilizó para la construcción del marco teórico, mediante la recopilación y análisis de información científica relacionada con el pH, sustratos líquidos y la multiplicación de *Trichoderma spp.*, sustentando el estudio con fuentes bibliográficas confiables y actualizadas.

Entrevistas:

La técnica de la entrevista fue empleada para obtener información especializada por parte de profesionales y docentes con experiencia en microbiología y control biológico, con el fin de reforzar criterios técnicos relacionados con el manejo de cultivos fúngicos en laboratorio.

Grupos de enfoque:

De acuerdo con Calderón-Cascante (2013), se consideraron los siguientes enfoques:

a. Enfoque técnico: evaluación de las condiciones de laboratorio y del control del pH como factor determinante en la multiplicación del hongo.

b. Enfoque económico: análisis del potencial uso de sustratos líquidos de bajo costo para la producción masiva de *Trichoderma spp.*

c. Enfoque científico: generación de conocimiento aplicable al área de la microbiología agrícola y el control biológico.

Estudio de caso:

El estudio de caso se aplicó como parte de la investigación experimental, permitiendo analizar de manera detallada el comportamiento de *Trichoderma spp.* frente a diferentes niveles de pH en sustratos líquidos, con el objetivo de identificar las condiciones óptimas para su multiplicación bajo condiciones controladas de laboratorio.

CAPITULO II

2.1 MARCO TEÓRICO

La agricultura moderna enfrenta serias limitaciones derivadas del uso intensivo de agroquímicos, entre ellas la degradación del suelo, la pérdida de biodiversidad microbiana y la contaminación ambiental, frente a este panorama, los bioinsumos microbianos han surgido como una alternativa sostenible que permite mantener la productividad agrícola sin comprometer los recursos naturales ni la salud humana (FAO, 2020).

El interés científico en la *Trichoderma* spp, se debe a su amplio potencial como agente biológico multifuncional, capaz de mejorar la sanidad del suelo, reducir la incidencia de enfermedades y estimular el crecimiento vegetal, estudios recientes resaltan que su eficacia depende en gran medida de condiciones controladas durante su producción, especialmente en la fase de multiplicación en laboratorio (Yao et al., 2023).

El género *Trichoderma* fue identificado inicialmente como un hongo saprofítico con rápida capacidad de colonización, asociado principalmente a la descomposición de materia orgánica, con el tiempo, investigaciones demostraron su capacidad antagonista frente a hongos fitopatógenos, marcando un punto clave en su aprovechamiento agrícola (Howell, 2003), con el desarrollo de la microbiología aplicada, se logró aislar y caracterizar diferentes especies del género, permitiendo comprender mejor su fisiología, metabolismo y requerimientos de crecimiento, estos avances facilitaron su incorporación progresiva en programas de control biológico a nivel mundial (Kubicek et al., 2011).

La importancia de *Trichoderma* spp. radica en su capacidad para mejorar la fertilidad biológica del suelo y estimular el crecimiento vegetal mediante interacciones benéficas en la rizosfera, estas funciones contribuyen a incrementar la eficiencia productiva y la estabilidad fisiológica de los cultivos (Contreras-Cornejo et al., 2016), desde una perspectiva sanitaria, el uso de microorganismos benéficos permite reducir la acumulación de residuos químicos en los alimentos, disminuyendo los riesgos asociados a enfermedades crónicas en el consumidor este enfoque fortalece la seguridad alimentaria y la sostenibilidad de los sistemas agrícolas (Mostafalou & Abdollahi, 2017).

El género *Trichoderma* comprende más de 300 especies descritas a nivel mundial, las cuales se diferencian por sus características morfológicas, fisiológicas y genéticas. No todas las especies presentan el mismo potencial agrícola; por ello, la selección de cepas se basa en su capacidad antagonista, adaptación ambiental y eficiencia metabólica, estudios taxonómicos modernos, apoyados en herramientas moleculares, han permitido una clasificación más precisa de este género (Druzhinina et al., 2018).

Entre la amplia diversidad del género, cuatro especies destacan por su uso frecuente en la agricultura, debido a su eficacia como agentes de control biológico y promotores del crecimiento vegetal. Estas especies son *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride*, *Trichoderma asperellum* y *Trichoderma koningii*, las cuales han sido ampliamente estudiadas y utilizadas en formulaciones comerciales y ensayos experimentales (Bissett et al., 2015).

2.2 Tipos de trichoderma:

2.2.1 *Trichoderma harzianum*

Es una de las especies más estudiadas y utilizadas dentro del género *Trichoderma*, debido a su notable capacidad para colonizar rápidamente la rizosfera y establecer relaciones benéficas con las raíces de las plantas. Esta colonización eficiente le permite formar una barrera biológica que limita el desarrollo de microorganismos patógenos presentes en el suelo además, su rápido crecimiento micelial y elevada tasa de esporulación facilitan su dispersión y persistencia en diferentes ambientes agrícolas estas características hacen que *T. harzianum* sea ampliamente empleado en programas de control biológico y agricultura sostenible, reduciendo significativamente la dependencia de fungicidas químicos (Harman et al., 2004).



Ilustración 2 *Esperas de Trichoderma harzianum en caja Petri*

Uno de los principales mecanismos de acción de *T. harzianum* es el micoparasitismo, proceso mediante el cual el hongo detecta, rodea y degrada la pared celular de los patógenos utilizando enzimas hidrolíticas especializadas entre estas enzimas destacan las quitinasas, glucanasas y proteasas, las cuales permiten la lisis de hongos como *Fusarium*, *Rhizoctonia* y *Sclerotium* este mecanismo proporciona un control directo y altamente eficiente de enfermedades radicales y del cuello de la plantas, asimismo, contribuye a disminuir la densidad poblacional de patógenos en el suelo, fortaleciendo la sanidad del agroecosistema (Howell, 2003).

Además de su acción directa, *T. harzianum* produce una amplia gama de metabolitos secundarios con propiedades antifúngicas, los cuales inhiben el crecimiento y desarrollo de diversos patógenos fitosanitarios estos compuestos incluyen peptaiboles, pironas y poliquétidos, capaces de alterar la permeabilidad de las membranas celulares de los hongos patógenos esta actividad antibiótica contribuye al establecimiento de un entorno microbiológico favorable para el desarrollo vegetal asimismo, estos metabolitos favorecen el equilibrio biológico del suelo, mejorando la estabilidad de los sistemas productivos agrícolas (Vinale et al., 2008).

Otro efecto relevante de *T. harzianum* es la inducción de resistencia sistémica en las plantas, estimulando la activación de genes relacionados con la defensa vegetal esta activación incrementa la producción de fitoalexinas, compuestos fenólicos y proteínas relacionadas con la patogénesis, lo que fortalece la respuesta inmunológica de los cultivos como resultado, las plantas desarrollan una mayor tolerancia frente a infecciones fúngicas y bacterianas, así como frente a condiciones ambientales adversas este mecanismo defensivo representa una estrategia clave en la protección fitosanitaria sostenible (Shoresh et al., 2010).

Finalmente, la aplicación continua de *T. harzianum* promueve el desarrollo del sistema radicular, incrementa la absorción de nutrientes y mejora la eficiencia en el uso del agua. Estos efectos se traducen en un crecimiento vegetal más vigoroso, mayor productividad y mejor calidad de los productos cosechados, asimismo, su incorporación en sistemas agrícolas sostenibles permite reducir costos de producción y minimizar el impacto ambiental. Por estas razones, esta especie es considerada una herramienta fundamental en el manejo integrado de plagas y enfermedades (Lorito et al., 2010).

2.2.2 *Trichoderma viride*

Se distingue por su elevada producción de enzimas hidrolíticas, principalmente quitinasas y glucanasas, que le permiten degradar eficientemente la pared celular de numerosos hongos patógenos esta capacidad enzimática le confiere una alta efectividad como agente de control biológico, particularmente frente a patógenos causantes de enfermedades radiculares además, su rápido crecimiento y elevada capacidad de colonización le permiten establecerse con facilidad en diversos tipos de suelo estas propiedades posicionan a *T. viride* como un microorganismo clave en programas de manejo fitosanitario sostenible (Benítez et al., 2004).

El micoparasitismo constituye uno de los principales mecanismos mediante los cuales *T. viride* ejerce su acción antagonista durante este proceso, el hongo se adhiere a las hifas del patógeno, las penetra y provoca su degradación estructural, ocasionando la muerte celular este mecanismo ha demostrado ser altamente eficaz contra patógenos como *Sclerotinia*, *Fusarium* y *Pythium*, reduciendo la incidencia de enfermedades en numerosos cultivos asimismo, contribuye a disminuir la carga patogénica del suelo, favoreciendo la sanidad vegetal (Papavizas, 1985).



Ilustración 3. *Esperas de Trichoderma viride en caja Petri*

Además de su acción biocontroladora, *T. viride* desempeña un papel fundamental en la descomposición de residuos orgánicos, facilitando la mineralización de la materia orgánica presente en el suelo este proceso libera nutrientes esenciales como nitrógeno, fósforo y potasio, los cuales son aprovechados por las plantas para su desarrollo la mejora en la fertilidad del suelo favorece un crecimiento vegetal más equilibrado y sostenido de esta

manera, *T. viride* contribuye al mantenimiento de la productividad agrícola a largo plazo (Samuels, 2006).

Asimismo, esta especie presenta un notable efecto bioestimulante sobre el crecimiento vegetal, promoviendo la germinación de semillas y el desarrollo temprano de las plántulas estos efectos están asociados a la producción de metabolitos bioactivos y reguladores del crecimiento vegetal, que favorecen la elongación celular y el desarrollo radicular como resultado, las plantas presentan mayor vigor y tolerancia al estrés ambiental. Este efecto positivo resulta especialmente relevante en etapas iniciales del ciclo productivo (Altomare et al., 1999).

Finalmente, la incorporación de *T. viride* en sistemas agrícolas sostenibles fortalece la biodiversidad microbiana del suelo y reduce significativamente la necesidad de insumos químicos su aplicación regular promueve la estabilidad ecológica, mejora la calidad del suelo y contribuye a la conservación del medio ambiente estas características consolidan su importancia dentro de las estrategias de agricultura ecológica y manejo integrado de enfermedades (Chet & Inbar, 1994).

2.2.3 *Trichoderma asperellum*



Ilustración 4. *Esperas de Trichoderma asperellum en caja Petri*

Es reconocida por su notable capacidad de adaptación a una amplia variedad de condiciones edafoclimáticas, lo que le permite desarrollarse eficientemente en suelos con distintos rangos de pH, humedad y temperatura, esta plasticidad ecológica facilita su aplicación en diferentes

sistemas agrícolas y regiones geográficas además, su rápida colonización del suelo favorece el establecimiento temprano de interacciones benéficas con las raíces de las plantas estas propiedades la convierten en una especie altamente versátil dentro del manejo biológico de cultivos (Błaszczuk et al., 2014).

Su acción como agente de biocontrol se fundamenta en la competencia por espacio y nutrientes, el micoparasitismo y la producción de metabolitos antifúngicos estos mecanismos permiten inhibir eficazmente el crecimiento de patógenos como *Phytophthora*, *Fusarium* y *Rhizoctonia*, reduciendo la severidad de las enfermedades asimismo, la producción de compuestos volátiles contribuye a crear un entorno protector alrededor de la rizosfera este conjunto de acciones refuerza la sanidad del sistema radicular (Mendoza-Mendoza et al., 2015).

Además, *T. asperellum* actúa como bioestimulante vegetal, promoviendo la producción de fitohormonas tales como auxinas y giberelinas, las cuales favorecen la elongación celular y el desarrollo de raíces laterales este efecto incrementa la capacidad de absorción de agua y nutrientes, fortaleciendo el crecimiento vegetativo como resultado, los cultivos presentan mayor vigor, uniformidad y rendimiento estas propiedades son altamente valoradas en sistemas agrícolas intensivos y sostenibles (Contreras-Cornejo et al., 2016).

Otro aspecto relevante de esta especie es su capacidad para inducir resistencia sistémica en las plantas, activando rutas metabólicas relacionadas con la defensa vegetal esta activación fortalece la producción de compuestos antimicrobianos y antioxidantes, incrementando la tolerancia frente al ataque de patógenos además, mejora la respuesta fisiológica ante condiciones de estrés hídrico y salino este mecanismo defensivo resulta fundamental para la estabilidad productiva de los cultivos (Hermosa et al., 2012).

Finalmente, el uso continuo de *T. asperellum* contribuye a mejorar la estructura física, química y biológica del suelo, promoviendo la sostenibilidad de los agroecosistemas su aplicación favorece la biodiversidad microbiana, incrementa la disponibilidad de nutrientes y reduce el impacto ambiental asociado al uso de agroquímicos estas ventajas consolidan su papel dentro de las estrategias modernas de manejo agrícola sostenible (Woo et al., 2014).

2.2.4 **Trichoderma koningii**

Es una especie destacada por su rápida colonización de la rizosfera, lo que le permite establecer relaciones simbióticas con las raíces de las plantas desde las primeras etapas de desarrollo esta colonización temprana favorece la competencia por espacio y nutrientes, limitando el establecimiento de microorganismos patógeno además, su capacidad de adaptación a suelos tropicales lo convierte en un recurso valioso para la agricultura en regiones cálidas y húmedas (Kubicek et al., 2011).

El principal mecanismo de acción de *T. koningii* es la competencia ecológica, mediante la cual reduce la disponibilidad de nutrientes esenciales para los patógenos, restringiendo su crecimiento este mecanismo resulta altamente eficaz en la prevención de enfermedades radiculares, especialmente en suelos con alta carga patogénica asimismo, contribuye al establecimiento de comunidades microbianas equilibradas, fortaleciendo la estabilidad biológica del suelo (Hjeljord & Tronsmo, 1998).

Además, esta especie produce metabolitos antifúngicos capaces de inhibir el desarrollo de diversos patógenos del suelo, contribuyendo a la reducción de la incidencia de enfermedades estos compuestos actúan alterando la permeabilidad de las membranas celulares de los hongos patógenos, provocando su desorganización estructural este efecto antimicrobiano refuerza su valor como agente de control biológico (Elad et al., 1983).



Ilustración 5 Esperas de Trichoderma koningii en caja Petri

También desempeña un papel importante en la degradación de residuos orgánicos, favoreciendo el reciclaje de nutrientes y la formación de materia orgánica estable este proceso mejora la estructura del suelo, incrementa su capacidad de retención hídrica y promueve la actividad biológica como resultado, se fortalecen las condiciones edáficas necesarias para el crecimiento saludable de los cultivos (Gams & Bissett, 1998).

Su aplicación en sistemas agrícolas tropicales ha demostrado mejorar el crecimiento vegetal, aumentar el rendimiento productivo y contribuir a la restauración de suelos degradados. Estas ventajas permiten reducir el impacto ambiental, mejorar la sostenibilidad productiva y fortalecer la resiliencia de los agroecosistemas frente al cambio climático por estas razones, *T. koningii* representa una alternativa biológica eficiente y ecológicamente responsable (Druzhinina et al., 2011).

2.3 Antecedentes

La *Trichoderma* spp, se utiliza ampliamente como agente de control biológico y bioestimulante del crecimiento vegetal, favoreciendo el desarrollo radicular y la absorción de nutrientes, su aplicación contribuye a mejorar el rendimiento y la sanidad de los cultivos. (Woo et al., 2014), además, su incorporación en programas de manejo integrado de plagas permite reducir el uso de fungicidas químicos, promoviendo sistemas agrícolas más sostenibles y ambientalmente responsables (Harman y Uphoff, 2019).

Diversos estudios han demostrado que *Trichoderma* spp. controla hongos fitopatógenos del suelo como *Fusarium*, *Rhizoctonia* y *Sclerotium*, mediante mecanismos como micoparasitismo, antibiosis y competencia por espacio y nutrientes (Benítez et al., 2004), investigaciones realizadas en Ecuador evidencian la eficacia de cepas nativas de *Trichoderma* frente a patógenos agrícolas de importancia económica, resaltando su potencial en sistemas productivos locales (INIAP, 2017).

La multiplicación de *Trichoderma* spp. puede realizarse en sustratos sólidos o líquidos, siendo estos últimos más eficientes para procesos controlados los sustratos líquidos permiten una mayor homogeneidad y control del crecimiento del hongo (Rossi-Rodrigues et al., 2009), el uso de arroz y melaza como fuentes de carbono favorece la multiplicación del

hongo, siempre que se mantengan condiciones fisicoquímicas adecuadas durante el cultivo. (Noboa Guerra, 2015).

Un sustrato líquido es un medio nutritivo diseñado para el cultivo y multiplicación de microorganismos bajo condiciones controladas de laboratorio, el cual permite una adecuada disponibilidad de nutrientes, oxígeno y humedad, este tipo de medio facilita la fermentación sumergida, promoviendo el crecimiento micelial uniforme y una mayor producción de biomasa y esporas, además, el sustrato líquido permite el control preciso de variables como el pH, la temperatura y la aireación, factores determinantes para el desarrollo fisiológico de los hongos por estas características, su uso es ampliamente recomendado para la producción masiva de *Trichoderma* spp. con fines agrícolas y biotecnológicos (Pelczar et al., 2020; Madigan et al., 2021).

La selección del arroz, la melaza y el agua como componentes del sustrato líquido para la multiplicación de *Trichoderma* spp. se basa en su alto valor nutricional, disponibilidad y bajo costo el arroz aporta carbohidratos complejos y minerales que favorecen el crecimiento micelial, mientras que la melaza proporciona azúcares simples que estimulan la actividad metabólica y la esporulación, el agua permite la disolución de nutrientes y el ajuste del pH, facilitando condiciones óptimas de fermentación estos materiales han demostrado ser eficaces en la producción de biomasa fúngica en condiciones controladas (Sánchez y Ríos, 2019; Pérez et al., 2021).

El sustrato líquido ajustado a diferentes niveles de pH permite evaluar la respuesta fisiológica de *Trichoderma* spp. y determinar su rango óptimo de crecimiento. Estudios indican que pH ligeramente ácidos favorecen la germinación de conidios, la expansión micelial y la producción de esporas viables, asimismo, el control del pH mejora la estabilidad metabólica y la eficiencia del proceso fermentativo por ello, su regulación constituye un factor clave para optimizar la multiplicación del hongo en laboratorio (Gómez et al., 2020; Ramírez y Torres, 2022)

El cultivo de *Trichoderma* spp. en laboratorio permite controlar variables críticas como esterilidad, temperatura, humedad y pH, garantizando resultados reproducibles y confiables este control es fundamental para investigaciones experimentales (Becker, 2024), estudios recientes indican que la regulación del pH influye directamente en la velocidad de

crecimiento y esporulación del hongo, justificando su evaluación como variable determinante en procesos de multiplicación en sustratos líquidos (Ceballos-Chávez et al., 2025).

2.4 Trabajos relacionados

Según Fraga Pilataxi (2023), se evaluó la multiplicación de *Trichoderma spp.* bajo diferentes condiciones físico-químicas en laboratorio, determinando que los medios líquidos ajustados a un pH ligeramente ácido, entre 5,0 y 6,0, favorecieron significativamente la producción de esporas viables los tratamientos con este rango de pH mostraron mayor crecimiento micelial, mayor densidad de colonias y mejor uniformidad en la esporulación asimismo, se concluyó que valores de pH inferiores a 4,5 reducen la actividad metabólica, mientras que pH superiores a 7,5 afectan negativamente la germinación de conidios estos resultados evidencian que el control del pH es un factor determinante para maximizar la eficiencia reproductiva del hongo en sistemas líquidos.

Sánchez (2018) evaluó la propagación de *Trichoderma spp.* en distintos sustratos orgánicos y concluyó que los tratamientos con pH entre 5,5 y 6,5 lograron la mayor concentración de esporas, destacando la cáscara de naranja como el sustrato con mejores resultados la investigación demostró que ambientes ácidos moderados promueven una mejor asimilación de nutrientes, acelerando el crecimiento micelial y la formación de conidios. Además, se observó que pH neutros y alcalinos redujeron significativamente la capacidad reproductiva del microorganismo, por tanto, el ajuste adecuado del pH se considera una estrategia fundamental para optimizar la multiplicación de *Trichoderma* en medios líquidos.

Según Mena (2023) analizaron la influencia de factores físico-químicos sobre la producción de conidios de *Trichoderma spp.*, determinando que el pH ácido favorece una mayor actividad metabólica y esporulación los resultados mostraron que sustratos con pH cercano a 5,8 generaron una mayor biomasa fúngica y concentración de conidios, en comparación con medios neutros asimismo, se evidenció que valores de pH extremos afectan la integridad celular y disminuyen la viabilidad del micelio en sus conclusiones, se recomienda establecer condiciones controladas de pH para incrementar la eficiencia productiva del hongo en sistemas fermentativos líquidos.

Rivera Flores y Bellido Quispe (2023) evaluaron el crecimiento micelial de *Trichoderma sp.* en medios de cultivo sometidos a variaciones físico-químicas, determinando que el pH ácido favoreció la expansión micelial en menor tiempo los tratamientos con pH entre 5,0 y 6,2 alcanzaron diámetros superiores a 41 mm en 10 días, mientras que los tratamientos con pH neutro requirieron mayor tiempo para lograr resultados similares. Estas observaciones permitieron concluir que el pH influye directamente en la tasa de crecimiento y eficiencia metabólica del microorganismo la investigación recomienda emplear medios líquidos ligeramente ácidos para potenciar la reproducción masiva del hongo.

Vaillant Flores et al. (2022) estudiaron el establecimiento de *Trichoderma spp.* en sustratos orgánicos, concluyendo que el pH ácido moderado favorece la colonización y el desarrollo micelial los resultados indicaron que en ambientes con pH inferior a 6,5 se observó una mayor densidad de micelio y producción de esporas además, se determinó que el pH influye en la disponibilidad de nutrientes, mejorando la absorción de carbono y nitrógeno, elementos clave para el crecimiento fúngico por tanto, se establece que el control del pH constituye una herramienta esencial para optimizar la multiplicación del hongo en medios líquidos de cultivo.

Campos-Ocampo (2009) evaluó el comportamiento de *Trichoderma spp.* en diferentes sustratos, encontrando que los tratamientos con pH ajustado entre 5,5 y 6,0 promovieron un desarrollo micelial uniforme y constante en sus conclusiones, se destaca que el pH adecuado favorece la estabilidad enzimática y la actividad fisiológica del microorganismo, permitiendo una rápida colonización del medio asimismo, se observó que valores alcalinos retrasaron la germinación de conidios y redujeron la biomasa producida estos resultados refuerzan la importancia del pH como factor crítico en la producción eficiente de *Trichoderma* bajo condiciones controladas.

Estudios recientes sobre fermentación líquida de *Trichoderma spp.* indican que el rango óptimo de pH oscila entre 5,0 y 6,5, permitiendo una máxima producción de biomasa y conidios bajo estas condiciones, se registraron incrementos superiores al 60 % en la esporulación en comparación con medios no regulados además, se observó que el pH influye directamente sobre la actividad respiratoria y la síntesis de metabolitos secundarios estos

resultados confirman que el ajuste del pH es determinante para la obtención de cultivos altamente viables y funcionales en laboratorio.

Según Zambrano (2022) se demuestran que el tratamiento más eficiente para la multiplicación de *Trichoderma spp.* en sustratos líquidos consiste en mantener el pH en rangos ligeramente ácidos, principalmente entre 5,5 y 6,0 este tratamiento favorece la germinación de esporas, el crecimiento micelial y la producción masiva de conidios, logrando mayores concentraciones viables asimismo, el control del pH reduce el riesgo de inhibición metabólica y contaminación microbiana por lo tanto, se concluye que la regulación del pH es un factor clave para optimizar los procesos biotecnológicos de producción de *Trichoderma* en laboratorio.

CAPÍTULO III

DESARROLLO DE LA PROPUESTA

3.1 DESCRIPCIÓN DEL SISTEMA O PROCESO

3.1.1 Antecedentes

El género *Trichoderma* constituye uno de los microorganismos de mayor relevancia en la agricultura sostenible, gracias a su capacidad para promover el crecimiento vegetal, inducir resistencia frente a fitopatógenos y solubilizar nutrientes en el suelo (Cortés-Hernández et al., 2023) no obstante, la eficiencia de este hongo durante su multiplicación depende de variables fisicoquímicas críticas.

Entre estas variables, el pH desempeña un papel determinante al influir directamente sobre la actividad metabólica, el crecimiento micelial, la biosíntesis de metabolitos y la esporulación (Cortés-Hernández et al., 2023) en consecuencia, un control riguroso del pH durante el cultivo de *Trichoderma* spp. resulta indispensable para optimizar la producción masiva de bioinsumos en laboratorio.

Para su desarrollo óptimo, *Trichoderma* spp. requiere una adecuada disponibilidad de fuentes de carbono y nitrógeno, temperatura controlada y un intervalo de pH entre 4,5 y 7,5 (Flores-Córdova et al., 2023) estas condiciones estimulan la rápida colonización del sustrato y la producción de conidias viables, mientras que variaciones fuera de este rango reducen su eficiencia reproductiva, asimismo la nutrición, la matriz del sustrato y el ambiente de incubación actúan como factores complementarios en el éxito de la multiplicación del hongo (Flores-Córdova et al., 2023) por otra parte, la calidad final del bioinsumo no depende solo de la especie seleccionada, sino también de la viabilidad, pureza y concentración de propágulos alcanzados en la fermentación (Viera et al., 2018).

En las formulaciones líquidas, esto exige un monitoreo estricto de parámetros como el pH, la concentración de nutrientes y la temperatura de almacenamiento (Viera et al., 2018) dicho control permite preservar la estabilidad microbiológica del inoculante y asegurar un rendimiento agronómico adecuado al momento de su aplicación en campo.

La fase experimental de la presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio Agrícola de la Granja Experimental Río Suma, perteneciente a la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí (ULEAM), extensión El Carmen. En este laboratorio se desarrollaron todas las actividades relacionadas con la preparación del sustrato líquido, la fermentación del medio de cultivo, el ajuste de los niveles de pH, la inoculación de *Trichoderma spp*, y el seguimiento del experimento, bajo condiciones controladas que garantizaron la confiabilidad de los resultados.

3.2 DISEÑO Y SELECCIÓN DE TECNOLOGÍAS, HERRAMIENTAS O EQUIPOS A IMPLEMENTAR

3.2.1. Ubicación de la propuesta

Latitud: 0°15' S

Longitud: 79°26' O

3.2. Metodología Experimental y Preparación del Sustrato

La fase experimental inició con la preparación del sustrato líquido para la multiplicación de *Trichoderma spp*, en primer lugar, se calentaron 80 L de agua a ebullición para reducir la carga microbiana autóctona posteriormente, el agua se trasvasó a un tanque de 200 L para su enfriamiento a temperatura ambiente a continuación, se incorporó arroz precocido (sin sal ni azúcar), melaza como fuente de carbono y estiércol bovino fresco como

inóculo microbiano digestor para favorecer la degradación y fermentación inicial de la materia orgánica la mezcla se homogenizó mediante agitación constante.

Obtenida la suspensión nutritiva, se distribuyeron alícuotas de 4 L en 20 recipientes plásticos con capacidad nominal de 6 L cada unidad experimental se acondicionó con un sello hidráulico (trampa de agua conectada mediante una manguera de silicona) para permitir el escape de los gases de fermentación y evitar la contaminación externa al sistema se mantuvo en reposo durante un periodo de digestión previa de dos meses.

Transcurrido el tiempo de fermentación del sustrato, se midió el pH inicial de la fase líquida y se procedió al ajuste correspondiente según los tratamientos definidos la acidificación del medio se realizó con ácido acético comercial (vinagre), mientras que la alcalinización se efectuó con carbonato de calcio (CaCO_3) hasta alcanzar los niveles meta.

El diseño experimental contempló cinco tratamientos de regulación de pH:

- **T1:** Arroz + melaza + agua (sustrato testigo, sin ajuste de pH)
- **T2:** Arroz + melaza + agua (ajustado a pH 4,0)
- **T3:** Arroz + melaza + agua (ajustado a pH 6,0)
- **T4:** Arroz + melaza + agua (ajustado a pH 7,0)
- **T5:** Arroz + melaza + agua (ajustado a pH 8,0)

Cada tratamiento contó con cuatro repeticiones, constituyendo un total de 20 unidades experimentales. A las 48 horas posteriores a la estabilización del pH, se realizó la inoculación de *Trichoderma* spp., adicionando 8 g de inóculo fúngico por cada recipiente de 4 L, las

unidades experimentales se incubaron bajo condiciones ambientales controladas para promover la colonización micelial.

Finalmente, la evaluación experimental se llevó a cabo a los 21 días post-inoculación. En esta etapa se registraron las variables de respuesta microbiológicas con el fin de determinar el efecto de los distintos niveles de pH sobre la tasa de multiplicación y viabilidad de *Trichoderma* spp. en medio líquido.

3.3 Plan de implementación

3.3.1 Diseño del are a implementar

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.. 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.



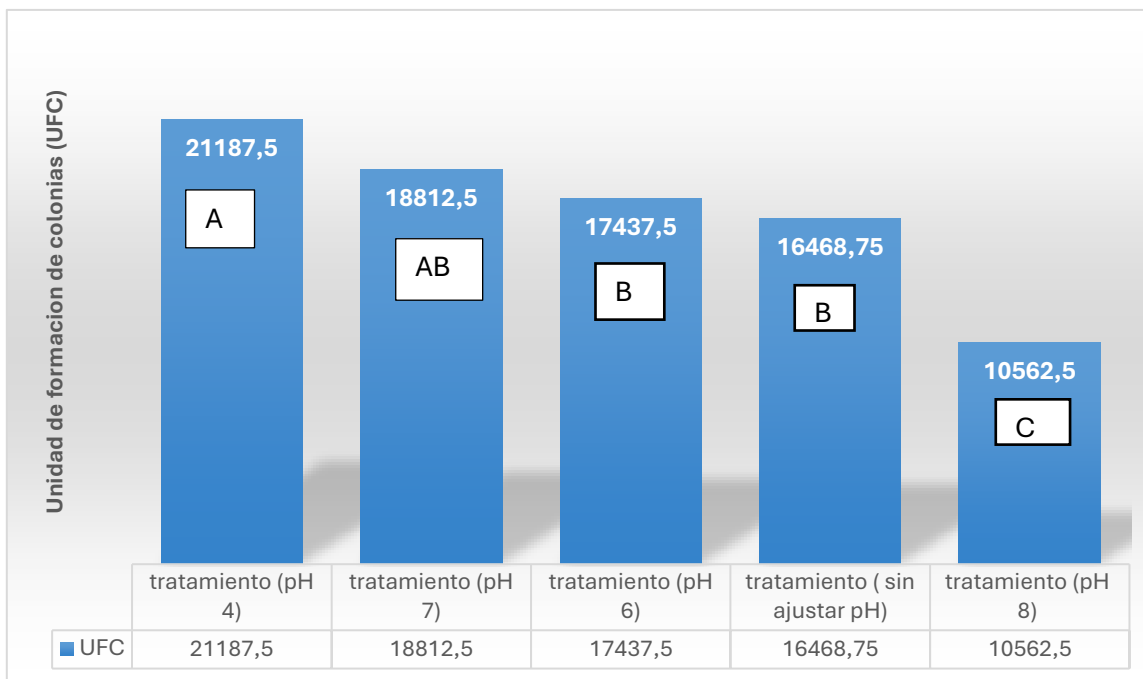
Ilustración 6 Modelo en 3D del laboratorio agrícola en la Granja Experimental Río Suma.

3.3.2 Cronograma de actividades

[illegible][illegible]

3.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

- **Concentración de unidades formadoras de colonias (UFC) de *Trichoderma* spp. en diferentes niveles de pH.**



El gráfico muestra que el hongo *Trichoderma spp.* crece de manera muy distinta según la acidez del medio el mayor crecimiento celular se logra en un ambiente bastante ácido, demostrando que estas condiciones benefician su desarrollo, cuando la acidez disminuye hacia un nivel neutro o sin ajustar, la cantidad de hongo empieza a bajar poco a poco por el contrario, un entorno alcalino reduce fuertemente su población, funcionando como un freno para su multiplicación, estos resultados coinciden con lo explicado por Sánchez-López y Ramírez-Gómez (2020), quienes indican que la acidez ayuda al hongo a absorber nutrientes y crecer mejor, mientras que la baja respuesta en alcalinidad apoya lo señalado por García y Pineda (2018) sobre cómo este ambiente frena su crecimiento.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIÓN

La implementación de la cámara de flujo laminar permitió acondicionar un área aséptica estandarizada en el laboratorio, garantizando la manipulación y la inoculación de la cepa pura de *Trichoderma spp.* en condiciones estrictas de esterilidad y libres de contaminación cruzada.

Se determinó que el rango óptimo para la multiplicación en sustrato líquido corresponde a condiciones ácidas de pH 4.0, alcanzando la máxima biomasa viable con 21,187.50 UFC/mL⁻¹. Por el contrario, la alcalinización a pH 8.0 ejerció un efecto inhibitorio, reduciendo la población fúngica en un 50.15% (10,562.50 UFC/mL).

4.2 RECOMENDACIÓN

- Se recomienda equipar el laboratorio agrícola con un microscopio óptico con cámara digital e iluminación Kohler, dotado de un sistema de micrometría ocular, con el fin de optimizar la cuantificación de microconidias, evaluar la viabilidad de propágulos en tiempo real y realizar la caracterización morfotaxonómica de los aislados fúngicos.
- Se sugiere réplica de la metodología de optimización de sustratos y regulación de pH en cultivos líquidos con otros microorganismos de importancia agronómica, tales como los hongos entomopatógenos (*Beauveria bassiana*) o las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (*Bacillus subtilis*), a fin de estandarizar sus parámetros cinéticos de multiplicación *in vitro*.

4.3 BIBLIOGRAFÍAS

- Altomare, C., Norvell, W. A., Björkman, T., & Harman, G. E. (1999). Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(7), 2926–2933.
- Becker, J. (2024). Laboratory cultivation of filamentous fungi under controlled conditions. *Journal of Applied Microbiology*, 136(2), 415–428.
<https://doi.org/10.1111/jam.16121>
- Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C., & Codón, A. C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, 7(4), 249–260.
- Bissett, J., Gams, W., Jaklitsch, W., & Samuels, G. J. (2015). Accepted species of *Trichoderma*. *Studies in Mycology*, 80, 1–28.
<https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.12.001>
- Błaszczuk, L., Siwulski, M., Sobieralski, K., Lisiecka, J., & Jedryczka, M. (2014). *Trichoderma* spp. – Application and prospects for use in organic farming and industry. *Journal of Plant Protection Research*, 54(4), 309–317.
- Calderón-Cascante, E. (2013). Metodologías de investigación científica aplicadas al análisis de estudios de caso. *Revista Educación*, 37(1), 1–20.
- Campos-Ocampo, M. (2009). Evaluación del crecimiento de *Trichoderma* spp. en diferentes sustratos orgánicos. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 11(2), 45–53.
- Ceballos-Chávez, J., Martínez-Hernández, J. L., & Gómez-Rodríguez, O. (2025). Influence of pH on growth kinetics of *Trichoderma* spp. under laboratory conditions. *Biotechnology Reports*, 35, e00821.
- Chet, I., & Inbar, J. (1994). Biological control of fungal pathogens. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 48(1), 37–43.

- Contreras-Cornejo, H. A., Macías-Rodríguez, L., Cortés-Penagos, C., & López-Bucio, J. (2016). *Trichoderma* interactions with plants: Effects on growth and plant defense. *Microbiological Research*, 181, 15–24.
- Druzhinina, I. S., et al. (2018). Massive lateral gene transfer in *Trichoderma*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(15), 3785–3790.
- Druzhinina, I. S., Kopchinskiy, A. G., Kubicek, C. P., & Bissett, J. (2011). An integrated approach to species delimitation in *Trichoderma*. *Mycologia*, 103(2), 265–276.
- Elad, Y., Chet, I., & Henis, Y. (1983). Biological control of *Rhizoctonia solani* by *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*, 73(1), 85–88.
- FAO. (2020). *Biofertilizers and biopesticides for sustainable agriculture*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- FAO. (2023). *Microbial biotechnologies for sustainable food systems*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- Fraga Pilataxi, M. (2023). *Evaluación de la multiplicación de Trichoderma spp. bajo diferentes condiciones físico-químicas en laboratorio* [Tesis de grado]. Universidad Técnica de Ambato.
- Gams, W., & Bissett, J. (1998). Morphology and identification of *Trichoderma*. *Canadian Journal of Botany*, 76(2), 268–282.
- García, A., & Pineda, J. (2018). *Efecto del pH y la temperatura en el crecimiento in vitro y esporulación de cepas nativas de Trichoderma spp.* (Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Agraria). Repositorio Institucional UNA, Managua, Nicaragua.
- Gómez, L., Pérez, M., & Torres, A. (2020). Effect of pH on submerged fermentation of *Trichoderma* spp. *Journal of Fungi*, 6(4), 320.
- González, R., López, A., & Martínez, K. (2020). *Inhibición de la carga microbiana mediante la alteración del potencial de hidrógeno (pH)*. Tesis de Grado, Universidad Nacional.

- Harman, G. E., & Uphoff, N. (2019). Symbiotic root-endophytic soil microbes improve crop productivity. *Plant and Soil*, 435, 1–12.
- Harman, G. E., et al. (2021). Advances in *Trichoderma* research. *Journal of Plant Pathology*, 103(4), 1091–1108.
- 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.
- Hermosa, R., et al. (2012). Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and their genes. *FEMS Microbiology Letters*, 337(1), 1–12.
- Howell, C. R. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases. *Plant Disease*, 87(1), 4–10.
- Hoyos-Carvajal, L., Orduz, S., & Bissett, J. (2020). Growth stimulation in plants by *Trichoderma*. *Biological Control*, 151, 104378.
- Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). (2017). *Uso de microorganismos benéficos en la agricultura ecuatoriana*. INIAP.
- Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI). (2017). *Boletín climatológico nacional*. INAMHI.
- Kubicek, C. P., Komon-Zelazowska, M., & Druzhinina, I. S. (2011). Fungal genus *Trichoderma*. *FEMS Microbiology Reviews*, 35(4), 751–779.
- Lorito, M., Woo, S. L., Harman, G. E., & Monte, E. (2010). Translational research on *Trichoderma*. *Nature Reviews Microbiology*, 8(11), 775–786.
- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2021). *Brock biology of microorganisms* (16th ed.). Pearson.
- Mena, H. C. G., Jaramillo-Aguilar, E. E., & Rivera-Intriago, L. M. (2023). Efecto de sustratos orgánicos en la producción de conidios de *Trichoderma spp.* *Polo del Conocimiento*, 8(11), 306–319.

- Morillo, E., et al. (2020). Statistical analysis of experimental designs in agricultural sciences. *Revista Científica Agropecuaria*, 14(2), 55–63.
- Mostafalou, S., & Abdollahi, M. (2017). Pesticides and human chronic diseases. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 268(2), 157–177.
- Mukherjee, P. K., et al. (2022). Growth kinetics of *Trichoderma* spp. *Fungal Biology*, 126(1), 1–12.
- Noboa Guerra, J. (2015). *Producción de Trichoderma spp. en sustratos orgánicos líquidos* [Tesis de grado]. Universidad de Guayaquil.
- Papavizas, G. C. (1985). *Trichoderma* and *Gliocladium*. *Annual Review of Phytopathology*, 23, 23–54.
- Papavizas, G. C., & Lumsden, R. D. (2020). Biological control of soilborne diseases. *Plant Disease*, 64(1), 29–37.
- Pelczar, M. J., Chan, E. C. S., & Krieg, N. R. (2020). *Microbiology* (5th ed.). McGraw-Hill.
- Pérez, J., & Rodríguez, M. (2021). *Efecto del pH y la temperatura en la cinética de crecimiento microbiano*. *Revista de Microbiología Aplicada*, 15(2), 45–58.
- Rivera Flores, E. L., & Bellido Quispe, R. E. (2023). *Población de Trichoderma sp. en diferentes niveles de profundidad del suelo* [Tesis de pregrado]. Universidad Nacional de Huancavelica.
- Rossi-Rodrigues, B., et al. (2009). Submerged cultivation of *Trichoderma*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40(3), 681–686.
- Samuels, G. J. (2006). *Trichoderma*: Systematics and evolution. *Mycological Research*, 110(1), 1–13.
- Sánchez, A. N. (2018). *Evaluación de sustratos orgánicos para la propagación de Trichoderma spp.* [Trabajo de titulación]. Universidad Politécnica Salesiana.
- Sánchez-López, A., & Ramírez-Gómez, C. (2020). *Efecto de las condiciones de pH y temperatura sobre el crecimiento in vitro y la conidogénesis de aislamientos del género Trichoderma spp.* *Revista Argentina de Microbiología*, 52(3), 215–223.

- Shoresh, M., Harman, G. E., & Mastouri, F. (2010). Induced systemic resistance by *Trichoderma*. *Phytopathology*, 100(11), 1219–1230.
- Vaillant Flores, D. I., et al. (2016). Establecimiento de *Trichoderma* spp. en sustratos orgánicos. *Fitosanidad*, 20(1).
- Wang, X., et al. (2024). Growth-promoting mechanisms of *Trichoderma*. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1414193.
- Woo, S. L., et al. (2014). *Trichoderma*-based products. *Biological Control*, 77, 1–12.
- Woo, S. L., et al. (2021). *Trichoderma* in sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 12, 730978.
- Yao, X., et al. (2023). Optimization of *Trichoderma* fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107(6), 2487–2499.
- Zambrano Pacheco, F. J. (2022). *Efecto de la aplicación de Saccharomyces y Trichoderma en la descomposición de residuos del cultivo de guanábana* [Trabajo de titulación]. Universidad Agraria del Ecuador.

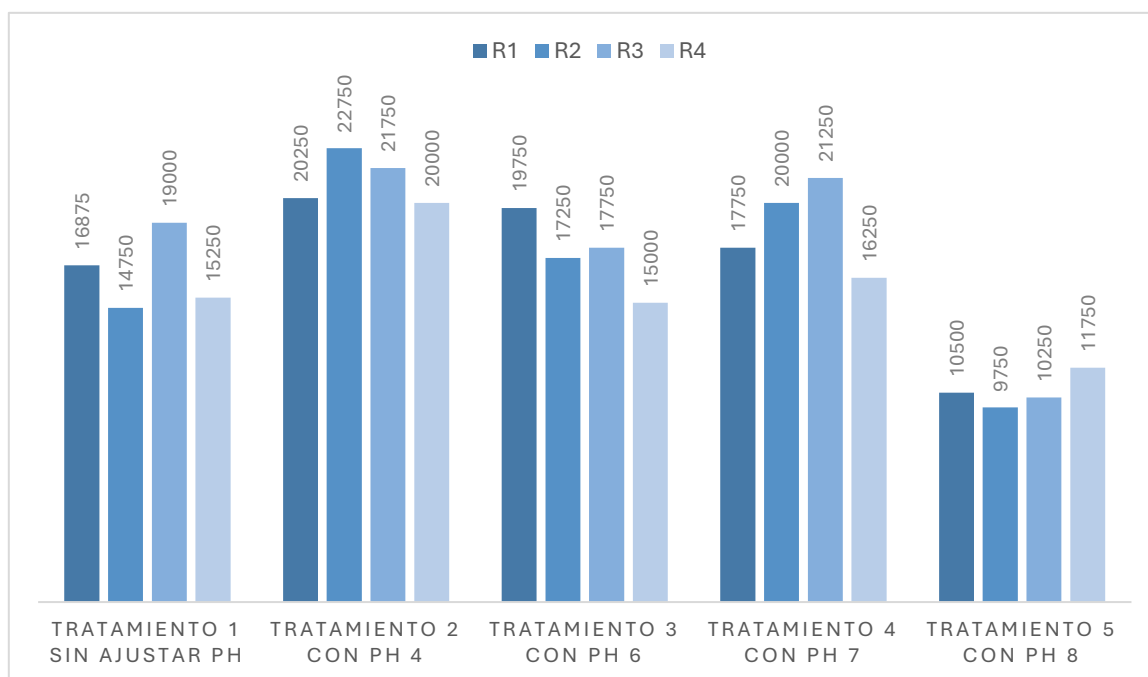
4.5 ANEXOS

VARIABLE	N	R ²	R ² AJ	CV
UFC	20	0,85	0,81	10,22

Tabla: 4 *Variable de coeficiente de variación.*

Tratamiento	Medias	n	Error Estadístico.	Grupos
2	21 187,50	4	863,13	A
4	18 812,50	4	863,13	A B
3	17 437,50	4	863,13	A B
1	16 468,75	4	863,13	B
5	10 562,50	4	863,13	C

Tabla: 5 *Comparación de medias y significancia estadística para la concentración de Trichoderma spp. por tratamiento.*





Anexos: 1: Realización de la implementación.



Anexos: 2 Elaboración de sustrato líquido.



Anexos: 3 Colocación del biol en cada recipiente.



Anexos: 4 Sustrato liquido ajustado a un pH 4.



Anexos: 5 Sustrato liquido ajustado a un pH 6.



Anexos: 6 Sustrato liquido ajustado a un pH 7.



Anexos: 7 Sustrato liquido ajustado a un pH 8.



Anexos: 8 Cámara neubauer



Anexos: 9 Toma de datos.



Tesis Marco Revelo

ID : db3ce583b8ff04b8fd0bb8537f8f30477c1cb360

5%

Textos sospechosos

Nombre del fichero : Tesis Marco Revelo.txt

Tamaño del archivo original : 1,91 MB

Número de palabras : 10.234

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

<1%

Pasajes con similitudes a fuentes encontradas en diferentes colecciones.



Detección de IA

4%

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.

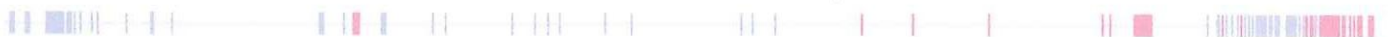


Idiomas no reconocidos

5%

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

0%

Pasajes entre comillas, a menudo indicativos de una cita.