



# UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

## FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

### PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**Título:**

---

**“EVALUACIÓN DE *Trichoderma spp* COMERCIAL Y NATIVO EN FORMA LÍQUIDO Y SÓLIDO PARA EL INCREMENTO DE LA ACTIVIDAD MICROBIOLÓGICA SOBRE UN SUELO EROSIONADO EN CEYPSA, SECTOR SALACHE, CANTÓN LATACUNGA, PROVINCIA DE COTOPAXI 2021”**

---

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de Ingeniera  
Agrónoma

**AUTORA:**

Olivo Molina Shirley Patricia

**TUTOR:**

Quimbiulco Sánchez Klever Mauricio Ing. Mg.

**LATACUNGA-ECUADOR**

**Agosto 2021**

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Shirley Patricia Olivo Molina, con cedula de ciudadanía No. 0503998213, declaro ser autora del presente proyecto de investigación: “Evaluación de *Trichoderma spp* comercial y nativo en forma líquido y sólido para el incremento de la actividad microbiológica sobre un suelo erosionado en CEYPSA, Sector Salache, Cantón Latacunga, Provincia de Cotopaxi 2021”, siendo el Ingeniero Mg. Klever Mauricio Quimbiulco Sánchez, Tutor del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Latacunga, 13 de agosto del 2021

Shirley Patricia Olivo Molina  
0503998213

Ing. Mg. Klever Quimbiulco Sánchez  
1709561102

## **CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR**

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte Olivo Molina Shirley Patricia, identificada con C.C. N° 0503998213, de estado civil casada y con domicilio en Salcedo, a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, el Ing. Ph.D Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez Barrio El Ejido Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

**ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA.- LA CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de **Ingeniería Agronómica**, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “**Evaluación de *Trichoderma spp* comercial y nativo en forma líquido y solido para el incremento de la actividad microbológica sobre un suelo erosionado en CEYPSA, Sector Salache, Cantón Latacunga, Provincia de Cotopaxi 2021**” la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad según las características que a continuación se detallan:

### **Historial Académico**

Inicio de la carrera: Octubre 2016 – Marzo 2017

Finalización de la carrera: Abril 2021 - Agosto 2021.

Aprobación en consejo directivo: 20 de mayo del 2021

Tutor. - Ing. Mg. Klever Mauricio Quimbiulco Sánchez

Tema: “Evaluación de *Trichoderma spp* comercial y nativo en forma líquido y solido para el incremento de la actividad microbológica sobre un suelo erosionado en CEYPSA, Sector Salache, Cantón Latacunga, Provincia de Cotopaxi 2021”

**CLÁUSULA SEGUNDA. - LA CESIONARIA** es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

**CLÁUSULA TERCERA.** - Por el presente contrato, **LA CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

**CLÁUSULA CUARTA. - OBJETO DEL CONTRATO:** Por el presente contrato **LA CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- f) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

**CLÁUSULA QUINTA.** - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LA CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

**CLÁUSULA SEXTA.** - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

**CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD.** - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **LA CEDENTE** podrá utilizarla.

**CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. - LA CESIONARIA** podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **LA CEDENTE** en forma escrita.

**CLÁUSULA NOVENA.** - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

**CLÁUSULA DÉCIMA.** - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

**CLÁUSULA UNDÉCIMA.** - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 13 días del mes de agosto del 2021.

Shirley Patricia Olivo Molina  
**LA CEDENTE**

Ing. Ph.D. Cristian Tinajero Jiménez  
**LA CESIONARIA**

## **AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

“Evaluación de *Trichoderma spp* comercial y nativo en forma líquido y sólido para el incremento de la actividad microbiológica sobre un suelo erosionado en CEYPSA, Sector Salache, Cantón Latacunga, Provincia de Cotopaxi 2021”, de Olivo Molina Shirley Patricia, de la carrera de Ingeniería Agronómica, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la Pre defensa.

Latacunga, 13 agosto del 2021

Ing. Mg. Klever Mauricio Quimbiulco Sánchez

**DOCENTE TUTOR**

C.I: 1709561102

## **AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

En calidad de Tribunal de Lectores, aprobamos el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi; y, por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, la postulante: Olivo Molina Shirley Patricia, con el título del Proyecto de Investigación: “Evaluación de *Trichoderma spp* comercial y nativo en forma líquido y solido para el incremento de la actividad microbiológica sobre un suelo erosionado en CEYPSA, Sector Salache, Cantón Latacunga, Provincia de Cotopaxi 2021”, ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del trabajo de titulación.

Por lo antes expuesto, se autoriza realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Latacunga, 13 de agosto del 2021

### **Lector 1 presidente**

Ing. Mg. Jorge Troya Sarzosa  
CC: 0501645568

### **Lector 2**

Ing. M.Sc. Nelly Déleg Quichimbo  
CC: 0102013999

### **Lector 3**

Ing. Ph.D. Edwin Chancusig Espín  
CC: .0501148837

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios y la vida por haberme permitido llegar a culminar y alcanzar satisfactoriamente mi objetivo de concluir mi trayectoria universitaria llenándome de conocimientos, aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad de momentos inolvidables.

A mi esposo y a mi hija quienes han sido un pilar primordial, esforzándose y dándome la oportunidad de estudiar una carrera universitaria, crecer como personal y futura profesional brindándome su amor, cariño, apoyo, paciencia, deseando cumplir mi deseo y sueño de superación tanto en el ámbito personal como en el desenvolvimiento profesional.

A mis abuelos y a mi tía quienes han sido una parte muy importante dándome muchas vibras positivas para seguir adelante pese a las adversidades que se presentan en el camino, además de ser una parte fundamental en la culminación de esta etapa. Con su amor, cariño, comprensión incondicional hacia mí, por esa voz de aliento y de apoyo absoluto ante cualquier situación difícil de mi vida.

A la Ing. Tannya Llanos quien ha sido un apoyo constante e incondicional con sus consejos, enseñanzas y mucha paciencia en toda la elaboración de este proyecto de investigación.

**Shirley Olivo**



## **DEDICATORIA**

A mi esposo e hija, quiero dedicar este proyecto de investigación, ya que son personas importantes en mi vida, y a la vez han sido mi fortaleza e inspiración para seguir avanzando con amor, dedicación y entrega hacia a mí.

A mi amado abuelo Carlos mi mayor orgullo que esta vez desde el cielo me cuida y guía mis pasos en todo momento.

A mi adorada abuela Mercedes por criarme como una hija, seguirme apoyándome en los momentos más difíciles, por sus consejos, comprensión, amor, y sobre todo ayudarme con los recursos necesarios para continuar estudiando.

A mí querida tía Nelly una gran persona que, además de acompañarme asimismo enseñarme siempre a ser mejor cada día, ha sido mi más grande motivación, fuente de perseverancia, y lucha constante por alcanzar mis sueños, conjuntamente ayudándome con lo necesario para seguir estudiando.

A la Ing. Tannya Llanos por su tiempo, paciencia y conocimientos transmitidos durante el desarrollo del proyecto investigativo.

**Shirley Olivo**

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

**TÍTULO: “EVALUACIÓN DE *TRICHODERMA SPP* COMERCIAL Y NATIVO EN FORMA LÍQUIDO Y SÓLIDO PARA EL INCREMENTO DE LA ACTIVIDAD MICROBIOLÓGICA SOBRE UN SUELO EROSIONADO EN CEYPSA, SECTOR SALACHE, CANTÓN LATACUNGA, PROVINCIA DE COTOPAXI 2021”.**

**AUTORA**  
Olivo Molina Shirley Patricia

**RESUMEN**

El presente proyecto de investigación se lo realizó en los laboratorios de Agronomía de la Universidad Técnica de Cotopaxi centro experimental CEYPSA (Latitud 00°59'47,68" Norte; Longitud 78°37'19,16" Oeste; Altitud 2750 msnm), donde se evaluó *Trichoderma spp* comercial y nativo en forma líquido y sólido para el incremento de la actividad microbiológica sobre un suelo erosionado en CEYPSA, se recogieron muestras de suelo y se realizó trampas de arroz para la captura de microorganismos, para ello se procedió con una azada hacer un pequeño agujero para poder introducir el vaso con el sustrato ya preparado, ahí se dejó las trampas por aproximadamente quince días para su posterior retiro de las mismas. Además, se planteó un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial de (2x2+1) con 3 repeticiones, dando un total de 13 unidades experimentales. Se evaluó lo siguiente: población de hongos 10<sup>-3</sup>, hongos 10<sup>-4</sup>, bacterias 10<sup>-3</sup>, bacterias 10<sup>-4</sup>, y CO<sub>2</sub>. Con estos datos se realizó el análisis estadístico de varianza (ADEVA), y prueba de significancia Tukey al 5%, teniendo los siguientes resultados, 7 días después de la inoculación de *Trichodermas* en población de hongos 10<sup>-3</sup> con 881,33 UFC fue para *Trichoderma* nativo sólido que se ubicó en el rango “A”, mientras que el testigo con 361 UFC se ubicó en el rango “D”, siendo así el peor tratamiento, dentro de los 14 días después de la inoculación de *Trichodermas* en población de hongos 10<sup>-3</sup> con 956 UFC fue para *Trichoderma* nativo sólido que se ubicó en el rango “A”, mientras que el testigo con 457 UFC se ubicó en el rango “D”. En cuanto a bacteria 7 días después de la inoculación de *Trichodermas* en población de bacterias 10<sup>-3</sup> con 556,33 UFC fue para *Trichoderma* nativo sólido que se ubicó en el rango “A”, mientras que el testigo con 294 UFC se ubicó en el rango “B”, siendo así el peor tratamiento, dentro de los 14 días después de la inoculación de *Trichodermas* en población de bacterias 10<sup>-3</sup> con 626 UFC fue para *Trichoderma* nativo sólido que se ubicó en el rango “A”, mientras que el testigo con 300 UFC se ubicó en el rango “B”. Por último, tenemos el resultado para el CO<sub>2</sub> 7 días después de la inoculación de *Trichodermas* este no presento ninguna significancia estadística debido a que los valores se encontraban similares, dentro de los 14 días después de la inoculación de *Trichodermas* se obtuvo los siguiente valores con 5,87 mg/100gr fue para *Trichoderma* nativo sólido que se ubicó en el rango “A”, mientras que el testigo con 2,64 mg/100gr que se ubicó en el rango “C”.

**Palabras claves:** Microorganismos, CO<sub>2</sub>, bacterias

**TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI**  
**FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES**

**TITLE: "EVALUATION OF COMMERCIAL AND NATIVE TRICHODERMA SPP IN LIQUID AND SOLID FORM FOR THE INCREASE OF MICROBIOLOGICAL ACTIVITY ON AN ERODED SOIL IN CEYPSA, SALACHE SECTOR, LATACUNGA CANTON, COTOPAXI PROVINCE 2021".**

**AUTHOR**

Olivo Molina Shirley Patricia

**ABSTRACT**

This research project was carried out in the Agronomy laboratories of the Technical University of Cotopaxi CEYPSA experimental center (Latitude  $00^{\circ} 59' 47.68''$  North; Longitude  $78^{\circ} 37' 19.16''$  West; Altitude 2750 masl), where commercial and native *Trichoderma* spp was evaluated in liquid and solid form to increase the microbiological activity on an eroded soil in CEYPSA, soil samples were collected and rice traps were made to capture microorganisms, for this we proceeded with a Hoe make a small hole to be able to insert the glass with the already prepared substrate, the traps were left there for approximately fifteen days for their subsequent removal. In addition, a completely randomized design (DCA) was proposed with a factorial arrangement of  $(2 \times 2 + 1)$  with 3 repetitions, giving a total of 13 experimental units. The following were evaluated: population of fungi  $10^{-3}$ , fungi  $10^{-4}$ , bacteria  $10^{-3}$ , bacteria  $10^{-4}$ , and  $\text{CO}_2$ . With these data, the statistical analysis of variance (ADEVA) was performed, and Tukey significance test at 5%, having the following results, 7 days after inoculation of *Trichodermas* in a population of fungi  $10^{-3}$  with 881.33 CFU was for Solid native *Trichoderma* that was located in the "A" range, while the control with 361 CFU was located in the "D" range, thus being the worst treatment, within 14 days after the inoculation of *Trichodermas* in the fungal population.  $10^{-3}$  with 956 CFU was for solid native *Trichoderma* that was in the "A" rank, while the control with 457 CFU was in the "D" rank. Regarding bacteria 7 days after the inoculation of *Trichodermas* in a population of bacteria  $10^{-3}$  with 556.33 CFU, it was for solid native *Trichoderma* that was located in the "A" range, while the control with 294 CFU was located in the range "B", thus being the worst treatment, within 14 days after the inoculation of *Trichodermas* in a population of bacteria  $10^{-3}$  with 626 CFU was for solid native *Trichoderma* that was located in the range "A", while the Witness with 300 CFU was in rank "B". Finally, we have the result for  $\text{CO}_2$  7 days after *Trichodermas* inoculation, it did not present any statistical significance because the values were similar, within 14 days after *Trichodermas* inoculation, the following values were obtained with 5,87 mg / 100gr was for solid native *Trichoderma* that was located in the "A" range, while the control with 2.64 mg / 100gr that was located in the "C" range.

**Keywords:** Microorganisms,  $\text{CO}_2$ , bacteria

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN DE AUTORÍA .....	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	iii
AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	vi
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN .....	vii
AGRADECIMIENTO .....	viii
DEDICATORIA .....	ix
RESUMEN.....	x
ABSTRACT .....	xi
ÍNDICE DE CONTENIDOS .....	xii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xvii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xix
1. INFORMACIÓN GENERAL.....	1
2. RESUMEN DEL PROYECTO.....	3
3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO .....	4
4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN .....	5
4.1. Beneficiarios directos: .....	5
4.2. Beneficiarios indirectos: .....	5
5. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	6
6. OBJETIVOS.....	7
6.1. Objetivo General .....	7
6.2. Objetivos Específicos .....	7
7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS .....	8
8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA .....	10

8.1.	Microorganismos del suelo .....	10
8.2	Importancia de microorganismos .....	10
8.3	Hongos .....	11
8.4	Que es Trichoderma .....	11
8.5	Taxonomía del Trichoderma .....	12
8.6	Generalidades.....	12
8.7	Morfología .....	13
8.7.1.	Características macroscópicas:.....	13
8.7.2.	Características microscópicas: .....	13
8.8	Fisiología .....	13
8.9	Condiciones de crecimiento .....	13
8.9.1.	Temperatura de crecimiento .....	13
8.9.2	Condiciones de luz.....	14
8.9.3	Aireación.....	14
8.10	Habitad del Trichoderma .....	14
8.11	Mecanismos de acción.....	15
8.12	Modos de acción del Trichoderma.....	15
8.13	Capturas de microorganismos .....	16
8.14	Identificación y caracterización de microorganismos .....	16
8.15	Aislamientos Nativos.....	17
8.16	Cepas de Trichoderma .....	17
8.17	Reproducción.....	18
8.18	Medios de Multiplicación de Trichodermas.....	18
8.19	Propagación del Trichoderma .....	19
8.20	Conservación de cepas de Trichoderma.....	19
8.20.1	Conservación en medio de cultivo .....	19

8.21	Agar papa dextrosa.....	20
8.22	Sustratos .....	20
8.23	Producción de Trichoderma spp.....	21
8.24	Inoculación del Trichoderma .....	21
8.25	El suelo.....	22
8.26	Que es un suelo erosionado.....	22
8.27	Actividad microbiana .....	22
8.28	Como medir CO2.....	23
8.29	Respiración microbiana .....	23
9.	VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS.....	24
9.1	Hipótesis Alternativa = H1 .....	24
9.2	Hipótesis Nula = H0 .....	24
9.3	Operacionalización de variables .....	24
10.	METODOLOGÍA.....	26
10.1	Enfoque. ....	26
10.2	Modalidad.....	26
10.2.1	De Campo.....	26
10.2.2	Experimental.....	26
10.2.3	Bibliográfica - documental .....	26
10.3	Tipo de investigación.....	26
10.4	Ubicación del ensayo.....	27
10.5	Condiciones Agroecológicas.....	27
10.6	Materiales y equipos.....	28
10.7	Manejo del experimento .....	29
10.7.1	Fases del ensayo.....	29
10.8	Diseño Experimental. ....	35

10.9	Análisis funcional.....	35
10.10	Factores en estudio.....	36
10.11	Tratamientos.....	36
10.12	Diseño experimental DCA:.....	36
10.13	Esquema de ADEVA .....	37
11.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....	38
11.1	Población de hongos $10^{-3}$ siete días después de la inoculación .....	38
11.2	Población de hongos $10^{-3}$ catorce días después de la inoculación .....	39
11.3	Población de hongos $10^{-4}$ siete días después de la inoculación .....	41
11.4	Población de hongos $10^{-4}$ catorce días después de la inoculación .....	42
11.5	Población de bacterias $10^{-3}$ siete días después de la inoculación.....	44
11.6	Población de bacterias $10^{-3}$ catorce días después de la inoculación.....	45
11.7	Población de bacterias $10^{-4}$ siete días después de la inoculación.....	46
11.8	Población de bacterias $10^{-4}$ catorce días después de la inoculación.....	47
11.9	CO <sub>2</sub> siete días después de la inoculación .....	48
11.10	CO <sub>2</sub> catorce días después de la inoculación.....	48
12.	IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS) ....	51
12.1	Impacto Técnico.....	51
12.2	Impacto Social .....	51
12.3	Impacto Ambiental .....	51
13.	PRESUPUESTO.....	52
13.1	Presupuesto general.....	52
13.2	Análisis económico .....	53
14.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	54
15.	REFERENCIAS .....	55
16.	ANEXOS.....	59

16.1	Anexo 1: Fotografías del Manejo del ensayo .....	59
16.2	Anexo 2: Aval de traducción.....	63



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Cronograma de actividades por objetivos.....	8
Tabla 2: Taxonomía del <i>Trichoderma spp</i> .....	12
Tabla 3: Operacionalización de las variables .....	24
Tabla 4: Ubicación política.....	27
Tabla 5: Ubicación geográfica .....	27
Tabla 6: Material biológico.....	28
Tabla 7: Equipo de laboratorio.....	28
Tabla 8: Materiales agregados químicos.....	28
Tabla 9: Material en general .....	28
Tabla 10: Material de oficina .....	28
Tabla 11: códigos y descripción.....	36
Tabla 12: Esquema de ADEVA .....	37
Tabla 13: Resultados del análisis de varianza para población de hongos $10^{-3}$ siete días después de la inoculación .....	38
Tabla 14: Prueba de Tukey al 5% para población de hongos $10^{-3}$ siete días después de la inoculación .....	38
Tabla 15: Resultados del análisis de varianza para población de hongos $10^{-3}$ catorce días después de la inoculación .....	39
Tabla 16: Prueba de Tukey al 5% para población de hongos $10^{-3}$ catorce días después de la inoculación .....	40
Tabla 17: Resultados del análisis de varianza para población de hongos $10^{-4}$ siete días después de la inoculación .....	41
Tabla 18: Prueba de Tukey al 5% para población de hongos $10^{-4}$ siete días después de la inoculación .....	41
Tabla 19: Resultados del análisis de varianza para población de hongos $10^{-4}$ catorce días después de la inoculación .....	42
Tabla 20: Prueba de Tukey al 5% para población de hongos $10^{-4}$ siete días después de la inoculación .....	42
Tabla 21: Resultados del análisis de varianza para población de bacterias $10^{-3}$ siete días después de la inoculación .....	44

Tabla 22: Prueba de Tukey al 5% para población de bacterias $10^{-3}$ siete días después de la inoculación .....	44
Tabla 23: Resultados del análisis de varianza para población de bacterias $10^{-3}$ catorce días después de la inoculación .....	45
Tabla 24: Prueba de Tukey al 5% para población de bacterias $10^{-3}$ catorce días después de la inoculación .....	45
Tabla 25: Resultados del análisis de varianza para población de bacterias $10^{-4}$ siete días después de la inoculación .....	46
Tabla 26: Prueba de Tukey al 5% para población de bacterias $10^{-4}$ siete días después de la inoculación .....	46
Tabla 27: Resultados del análisis de varianza para población de bacterias $10^{-4}$ siete días después de la inoculación .....	47
Tabla 28: Prueba de Tukey al 5% para población de bacterias $10^{-4}$ siete días después de la inoculación .....	47
Tabla 29: Resultados del análisis de varianza para Trichodermas y presentaciones en CO <sub>2</sub> primera toma. ....	48
Tabla 30: Resultados del análisis de varianza para Trichodermas y presentaciones en CO <sub>2</sub> segunda toma. ....	48
Tabla 31: Prueba de Tukey al 5% para comparación entre Trichodermas comercial líquido y sólido como Trichoderma nativo líquido y sólido .....	49
Tabla 32: Presupuesto de materiales de laboratorio.....	52
Tabla 33: Presupuesto materiales en general.....	52
Tabla 34: Presupuesto total.....	52
Tabla 35:Costo Inicial .....	53
Tabla 36: Costo Reproducción <i>Trichoderma</i> Sólido .....	53
Tabla 37: Costo Reproducción <i>Trichoderma</i> Líquido .....	53

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Ubicación geográfica.....	27
Implementado en el laboratorio para el desarrollo del proyecto investigativo.....	36
<b>Figura 2:</b> Diseño del experimento .....	36
<b>Figura 3:</b> Poblacion de hongos $10^{-3}$ siete y catorce días después de la inoculación.....	39
<b>Figura 4:</b> Poblacion de hongos $10^{-3}$ siete y catorce días después de la inoculación.....	40
<b>Figura 5:</b> Población de hongos $10^{-4}$ siete y catorce días después de la inoculación.....	43
<b>Figura 6:</b> CO <sub>2</sub> 14 DDI.....	49
Figura 7: Toma de muestras de suelo .....	59
Figura 9: Colocación de trampas de arroz.....	59
Figura 11: Aislamiento de microorganismos .....	60
Figura 13: Trichoderma comercial líquido.....	60
Figura 15: Identificación de Trichoderma.....	61
Figura 17: Trichoderma nativo líquido .....	61
Figura 19: Inoculación de Trichodermas .....	62
Figura 21: Implementación para CO <sub>2</sub> .....	62

## **1. INFORMACIÓN GENERAL.**

### **Título**

“Evaluación de *Trichoderma spp* comercial y nativo en forma líquido y solido para el incremento de la actividad microbiológica sobre un suelo erosionado en CEYPSA, Sector Salache, Cantón Latacunga, Provincia de Cotopaxi 2021”.

### **Fecha de inicio:**

Abril 2021

### **Fecha de Finalización:**

Agosto 2021

### **Lugar de ejecución:**

Salache-Eloy Alfaro-Latacunga-Cotopaxi.

### **Facultad Académica que auspicia:**

Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

### **Carrera que auspicia:**

Ingeniería Agronómica.

### **Proyecto de investigación vinculado:**

Proyecto “Bioinsumos y Biocontroladores”

### **Equipo de Trabajo:**

**Autor del proyecto:** Shirley Patricia Olivo Molina

**Tutor:** Ing. Mg. Klever Mauricio Quimbiulco Sánchez

### **Área de Conocimiento:**

Agricultura, silvicultura y pesca.

**Línea de investigación:**

Análisis, conservación y aprovechamiento de la biodiversidad local.

**Sub línea de investigación de la Carrera:**

Caracterización de la biodiversidad.

## 2. RESUMEN DEL PROYECTO

El presente proyecto de investigación se lo realizó en los laboratorios de Agronomía de la Universidad Técnica de Cotopaxi centro experimental CEYPSA (Latitud 00°59'47,68" Norte; Longitud 78°37'19,16" Oeste; Altitud 2750 msnm), donde se evaluó *Trichoderma spp* comercial y nativo en forma líquido y sólido para el incremento de la actividad microbiológica sobre un suelo erosionado en CEYPSA, se recogieron muestras de suelo y se realizó trampas de arroz para la captura de microorganismos, para ello se procedió con una azada hacer un pequeño agujero para poder introducir el vaso con el sustrato ya preparado, ahí se dejó las trampas por aproximadamente quince días para su posterior retiro de las mismas. Además, se planteó un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial de (2x2+1) con 3 repeticiones, dando un total de 13 unidades experimentales. Se evaluó lo siguiente: población de hongos  $10^{-3}$ , hongos  $10^{-4}$ , bacterias  $10^{-3}$ , bacterias  $10^{-4}$ , y  $\text{CO}_2$ . Con estos datos se realizó el análisis estadístico de varianza (ADEVA), y prueba de significancia Tukey al 5%, teniendo los siguientes resultados, 7 días después de la inoculación de *Trichodermas* en población de hongos  $10^{-3}$  con 881,33 UFC fue para *Trichoderma* nativo sólido que se ubicó en el rango "A", mientras que el testigo con 361 UFC se ubicó en el rango "D", siendo así el peor tratamiento, dentro de los 14 días después de la inoculación de *Trichodermas* en población de hongos  $10^{-3}$  con 956 UFC fue para *Trichoderma* nativo sólido que se ubicó en el rango "A", mientras que el testigo con 457 UFC se ubicó en el rango "D". En cuanto a bacteria 7 días después de la inoculación de *Trichodermas* en población de bacterias  $10^{-3}$  con 556,33 UFC fue para *Trichoderma* nativo sólido que se ubicó en el rango "A", mientras que el testigo con 294 UFC se ubicó en el rango "B", siendo así el peor tratamiento, dentro de los 14 días después de la inoculación de *Trichodermas* en población de bacterias  $10^{-3}$  con 626 UFC fue para *Trichoderma* nativo sólido que se ubicó en el rango "A", mientras que el testigo con 300 UFC se ubicó en el rango "B". Por último, tenemos el resultado para el  $\text{CO}_2$  7 días después de la inoculación de *Trichodermas* este no presento ninguna significancia estadística debido a que los valores se encontraban similares, dentro de los 14 días después de la inoculación de *Trichodermas* se obtuvo los siguiente valores con 5,87 mg/100gr fue para *Trichoderma* nativo sólido que se ubicó en el rango "A", mientras que el testigo con 2,64 mg/100gr que se ubicó en el rango "C".

**Palabras claves:** Microorganismos,  $\text{CO}_2$ , bacterias

### 3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

El presente proyecto de investigación nos permitirá contribuir de manera científica técnica mediante revisiones bibliográficas de aportes que genera el *Trichoderma spp* comercial y nativo en forma líquido y sólido sobre el suelo erosionado, además de aportar a través de la experimentación, resultados confiables sobre el mismo, con el propósito de difundir y utilizar conocimientos que permitan abordar de mejor manera al problema de la recuperación de suelos erosionados.

Esto sería de gran ayuda debido a que se podría empezar a utilizar más microorganismos benéficos como es el caso del *Trichoderma* ayudando a la reducción de la utilización de productos químicos y más en suelos erosionados, generando conciencia entre las personas y agricultores para impulsar alternativas ecológicas que contribuyan de manera limpia al suelo generando mejores resultados con microorganismos de la zona, muy fáciles de obtener.

Debido a que los microorganismos en especial el *Trichoderma* es una especie de hongo antagonista muy versátil el cual contribuye de varias maneras a mitigar los daños causados por las diferentes acciones generadas por cambios climáticos generando erosiones y degradaciones en suelos donde antes quizás exista condiciones favorables para el crecimiento, desarrollo de estos microorganismos. (Eraso Insuasty et al., 2014)

Es importante tener en cuenta la producción de *Trichoderma* nativo y la adquisición de productos comerciales a base de *Trichoderma* debido a las diferentes propiedades que ofrece como es el caso de ser regulador de población de hongos fitopatógenos, recuperador metabólico, compensador de biomasa, etc. Además de que es muy beneficioso para uso en agricultura es muy importante hoy en día seguir cuidando el medio ambiente. Por esa razón se debe tener en cuenta varios aspectos muy importantes para obtener la eficacia que necesita en el momento de aplicar en el suelo así tener un excelente resultado.

#### **4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

Como beneficiarios del presente proyecto de investigación van a ser los diferentes usuarios que requiera de esta información en sus diferentes niveles de conocimiento. Para ello tenemos dos tipos de beneficiarios.

- 4.1. Beneficiarios directos:** Los estudiantes y docentes de la Universidad Técnica de Cotopaxi, así también las diferentes personas con sus distintos niveles de conocimiento e interés que tomen por el tema: pequeños, medianos y grandes agricultores, investigadores que quieran seguir con el proyecto.
- 4.2. Beneficiarios indirectos:** Los profesionales de la carrera de Ingeniería Agronómica de la Universidad Técnica de Cotopaxi en conjunto con la Coordinación de Investigación. Todos los estudiantes de los diferentes niveles académicos de la Carrera de Ingeniería Agronómica serán beneficiados con el aporte de esta investigación.



## 5. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

De acuerdo a los datos publicados por el Instituto Nacional de Estadística y Censos, (INEC, 2013), existe amplio uso de agroquímicos en las actividades agrícolas en el Ecuador, causando así grandes problemas en el suelo como la pérdida de fertilidad, poca actividad microbiológica y la erosión del mismo.

En el 2016, el uso de químicos en cultivos permanentes fue de un 50% de los productores, mientras que apenas un 2% realizó un tipo de aplicación con insumos orgánicos. Por otro lado, en los cultivos transitorios incremento notablemente el uso de químicos a un 78% mientras que el uso de insumos orgánicos tiene un incremento de 2,66%. Esto se realiza con el fin de combatir rápidamente las diferentes plagas y enfermedades, deteriorando más rápido las capas del suelo (INEC, 2016).

En el cantón Latacunga se muestra una marcada zona de suelos erosionados con un porcentaje del 12%, el tipo de erosión que hay en el cantón es moderada de tipo laminar y en microsurcos, principalmente en los taludes asociados a las pendientes fuertes y cobertura vegetal escasa. (Municipio Cantonal de Latacunga, 2019)

De esta manera tenemos que en la parte alta del CEYPSA con sus terrenos con marcadas pendientes se dispone a pasos muy acelerados a su erosión y degradación debido a los negativos cambios climáticos que sufre este sector, afectando así a la productividad en el campo con el arrastre del suelo fértil en el área dañada, lo que reduce considerablemente el rendimiento. (Freire, 2013)

A pesar de conocer sobre los suelos erosionados no se ha hecho el intento por regenerar la actividad microbiología y por el contrario se ha seguido explotando el suelo con productos químicos que siguen acabando con los pocos microorganismos presentes en el suelo, son muy pocas las personas y productores que están utilizando nuevas alternativas de productos orgánicos como es el *Trichoderma* que contribuye a un incremento de la población microbiológica.

## 6. OBJETIVOS

### 6.1. Objetivo General

“Evaluar *Trichoderma spp* comercial y nativo en forma líquido y sólido para el incremento de la actividad microbiológica sobre un suelo erosionado en CEYPSA, Parroquia Eloy Alfaro, Cantón Latacunga, Provincia de Cotopaxi 2021”

### 6.2. Objetivos Específicos

- Recolectar muestras de suelo erosionado y de microorganismos para aislamiento, multiplicación y propagación de *Trichoderma spp*.
- Evaluar el aumento de la actividad del *Trichoderma spp* en el suelo erosionado.
- Comparar costos de producción entre *Trichoderma spp* comercial y nativo en forma líquido y sólido.

## 7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS

**Tabla 1:** Cronograma de actividades por objetivos

OBEJTIVO	ACTIVIDAD	RESULTADO	MEDIO DE VERIFICACION
Recolectar muestras de suelo erosionado y de microorganismos para aislamiento, multiplicación y propagación de <i>Trichoderma spp.</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Delimitación del ensayo.</li> <li>• Análisis microbiológico inicial.</li> <li>• Recolección de muestras.</li> <li>• Aislamiento en laboratorio.</li> <li>• Propagación en medios de cultivo.</li> <li>• Introducción en arroz de cepas nativas.</li> <li>• Aplicación de <i>Trichoderma spp</i> comercial y nativo en forma líquido y sólido.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Croquis del experimento.</li> <li>• Resultados del análisis.</li> <li>• Reproducción de las cepas nativas.</li> <li>• Observación en el microscopio.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fotografías.</li> <li>• Registro de datos.</li> <li>• Libro de campo.</li> <li>• Libreta de laboratorio.</li> </ul>
Evaluar el incremento de la actividad del <i>Trichoderma spp</i> en el suelo erosionado.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Conteo de colonia de bacterias.</li> <li>• Monitoreo del incremento de la actividad del <i>Trichoderma spp.</i></li> <li>• Conteo de colonia de hongos.</li> <li>• Conteo de CO<sub>2</sub>.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• % de colonias.</li> <li>• incremento del <i>Trichoderma spp.</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Registro de datos.</li> <li>• Libreta de laboratorio.</li> <li>• Registro de datos.</li> </ul>
Comparar costos de producción entre <i>Trichoderma spp</i> comercial y nativo en forma (líquido y solido).	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Establecimiento de costos fijos, costos variables, relación costo beneficio.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Resultado del análisis económico de los tratamientos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Registro de datos.</li> <li>• Matriz de Cálculo.</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"><li>• Tabulación de datos y análisis de resultados.</li></ul>		
--	---	--	--

**Elaborado por:** Shirley Olivo

## **8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA**

### **8.1. Microorganismos del suelo**

En muchas partes del planeta podemos encontrar un sin número de microorganismos tanto benéficos como perjudiciales, inclusive se los puede encontrar en algunas condiciones desfavorables para el crecimiento de cualquier microbiota edáfica o un distinto tipo de organismos. Estos microorganismos pueden llegar a pasar descuidados debido a su tamaño tan reducido; no obstante, son muy competentes a la hora de realizar diversas acciones y modificar su entorno. En el suelo se puede llegar a encontrar un número inigualable al igual que una gran variedad de estos. Se calcula que, de las 4000 especies bacterianas, 4000 especies de virus, 72000 de hongos y 40000 de protozoos de las cuales solo se tiene una idea concreta son de aquellos que realizan interacciones o simbiosis con otros microorganismos. (Torsvik et al., 1990)

Los microorganismos constituyen un enorme reservorio natural aún no totalmente explotado para el control de enfermedades de las plantas. Aunque la exploración inicial en el área del control biológico se inició a comienzos del siglo XX, la investigación tecnológica comenzó a desarrollarse intensivamente recién en los últimos 30 a 40 años. Diferentes hongos filamentosos, levaduras y bacterias han sido citados y utilizados como antagonistas; los mecanismos de antagonismo inicialmente detectados en la rizósfera son antibiosis, hiperparasitismo y competencia. (Guerron, 2015)

### **8.2 Importancia de microorganismos**

En el Ecuador se viene trabajando en el análisis de microorganismos que contrarresten las enfermedades fúngicas de los cultivos prescindiendo del uso de productos químicos. En la provincia de Tungurahua se ha desarrollado un estudio de tres géneros del hongo *Trichoderma* como organismo benéfico para uso en la agricultura conociendo que este hongo antagonista actúa como controlador de enfermedades, aumenta el desarrollo radicular y aumenta la microbiota del suelo. (Nugra, 2018)

*Trichoderma* es un género de hongos que tiene bastante importancia para la vida humana y la funcionalidad de un ecosistema, descomponedor de la materia orgánica, esencial en la recirculación de nutrientes en el medio ambiente. Algunos miembros de este género tienen asociaciones

simbióticas con plantas, leguminosas, gramíneas, compuestas, solanáceas y otras, mientras otras son utilizadas como biocontroladores contra organismos patógenos como *Fusarium* y *Rizoctonia*, además la producción de enzimas industriales como los pigmentos de antraquinona y otros metabolitos secundarios (MS) como antibióticos y promotores del crecimiento de plantas (PGP: Plant Growth Promoting), ideales para la agricultura. *Trichoderma* spp. Uno de los hongos que está presente en todo tipo de suelos agrícolas y ecosistemas, su versatilidad, adaptación y fácil manipulación. (Ortuño et al., 2013)

### 8.3 Hongos

Los hongos son microorganismos unicelulares, como las levaduras y los quitridiomicetos, o bien pluricelulares, como sucede en la mayoría. Esta célula o conjunto de células forma el talo, estructura funcionalmente dividida en talo vegetativo o somático y talo reproductor. En la mayoría de los hongos, el talo está formado por hifas microscópicas (gr. *Hyphe* = tejido), divididas por tabiques transversales llamados septos (l. *sptum* = barrera, cerco) que pueden presentar uno o más poros por los cuales se interrelacionan los citoplasmas de las diferentes células que forman el talo y cada célula puede presentar uno, dos o más núcleos. El micelio suele diferenciarse a medida que madura el hongo en micelio vegetativo somático que puede estar dentro del sustrato del que se nutre (también se lo denomina micelio administrativo) y en micelio aéreo o reproductivo, donde se forman las esporas características de cada especie. (Guerron, 2015)

Los hongos son microorganismos heterótrofos que extraen su fuente de carbono y electrones del medio que les rodea, por ello en muchos casos son capaces de degradar los contaminantes orgánicos presentes en el ambiente. Este hecho, junto con sus peculiaridades de crecimiento, formación de biofilms, así como la producción de enzimas, los hacen candidatos apropiados a utilizar en procesos de biorremediación. (Bermeo, 2018)

### 8.4 Que es *Trichoderma*

Las especies del género *Trichoderma* es un hongo cosmopolita que pertenecen a uno de los grupos más útiles de microbios y tienen muchas aplicaciones. Por ello han sido ampliamente utilizados como bio-fungicidas y modificadores del crecimiento de las plantas. Además, de ser fuente de enzimas para uso industrial. En suelo, las especies de *Trichoderma* se utilizan en la biorremediación de desechos orgánicos, incluidos metales pesados. Pueden colonizar partes de plantas en

incluyendo tallos, hojas, frutos y raíces; se han mostrado algunas especies crecer endofíticamente. (Ike et al., 2009)

### 8.5 Taxonomía del *Trichoderma*

Las especies de hongos que pertenecen al género *Trichoderma* spp han sido plenamente caracterizadas por tener aplicación en el ámbito agrícola, principalmente para el control biológico de otros organismos patógenos que atacan a los cultivos. (Vallejo, 2014)

**Tabla 2:** Taxonomía del *Trichoderma* spp

Reino	Fungí
División	Ascomycota
Clase	Sordariomycetes
Orden	Hypocreales
Familia	Hypocreaceae
Genero	<i>Trichoderma</i>
Especie	spp
Nombre científico	<i>Trichoderma</i> spp

**Fuente:** Rifai, 1969

### 8.6 Generalidades

Las especies del género *Trichoderma* son los antagonistas más utilizados para el control de enfermedades de plantas producidas por hongos, debido a su ubicuidad, a su facilidad para ser aisladas y cultivadas, a su crecimiento rápido en un gran número de sustratos y a que no atacan a plantas superiores. (Rey et al., 2000)

El género *Trichoderma* es un grupo de hongos aislados comúnmente del suelo que se reproducen asexualmente por conidios. *Trichoderma* es un hongo filamentoso anamórfico, heterótrofo, aerobio, con una pared celular compuesta de quitina y glucano, de rápido crecimiento que puede utilizar una gran variedad de sustratos complejos como celulosa, quitina, pectina y almidón como fuente de carbono. (Tsahouridou & Thanassouloupoulos, 2001)

El género *Trichoderma* spp comprende un conjunto de especies sin fase sexual evidente. Presentan micelio septado, conidias generalmente ovaladas, conidióforo hialino no verticilado, fiálides

singulares o en grupos, conidias unicelulares coloreadas, de rápido desarrollo en medios sintéticos, la colonia se muestra de color verde, básicamente es saprofito. (Vallejo, 2014)

## **8.7 Morfología**

### **8.7.1. Características macroscópicas:**

Las colonias se reconocen fácilmente por su crecimiento rápido y su coloración, blancas - verdes, amarillo – verdosas; las áreas con conidias se presentan con anillos concéntricos. El revés de las colonias es usualmente no coloreado, amarillo, ámbar o amarillo- verde, y muchas especies producen grandes cantidades de clamidosporas en cultivos sumergido. (Chavez Garcia, 2011)

### **8.7.2. Características microscópicas:**

Los conidióforos son erectos, hialinos, en su mayoría ramificados, no verticilados, los cuales pueden ser solitarios o en grupos. Las fiálides son en forma de botella, únicas o en grupos, hinchadas en la región central pero delgadas hacia el ápice; son hialinas y en ángulo recto con respecto a los conidióforos. Las conidias son unicelulares subglobosas u oblongas, lisas o equinuladas, hialinas o verdes y ocurren en masas en los ápices de las fiálides. (Chavez Garcia, 2011)

## **8.8 Fisiología**

Trichoderma es un hongo aeróbico, con capacidad para resistir un amplio intervalo de temperaturas así, por ejemplo, aislaron una cepa en suelo de Alaska, con crecimiento a 4°C y que toleró hasta 33°C. (Martínez et al., 2013)

## **8.9 Condiciones de crecimiento**

Dentro de los factores que afectan el crecimiento Trichoderma se encuentran los de tipo físico y de tipo nutricional como:

### **8.9.1. Temperatura de crecimiento**

La relación entre la temperatura y el desarrollo de Trichoderma, al parecer depende de la especie y del propio aislamiento. Se conoce que *T. pseudokoningii* y *Trichoderma saturnisporum* Hammill toleran de 40 a 41° C, las especies *T. koningii* y *T. hamatum*: 35°C, *T. viride* y *T. polysporum*: 31°C, mientras *T. harzianum* hasta 38°C. Para esta última, en algunos aislamientos la temperatura



óptima para el crecimiento fue de 20°C, aunque de manera general esta varía entre 25 y 30°C. Sin embargo, a 30°C, la actividad antagónica de esta especie fue casi nula. Todo lo cual constituyen evidencias de que la temperatura óptima para el crecimiento, no necesariamente coincide con la de su actividad antagónica, y que existe estrecha relación entre aislamiento, antagonismo y temperatura. (Martínez et al., 2013)

### **8.9.2 Condiciones de luz**

La luz y su espectro influyen en el desarrollo de *Trichoderma*, fundamentalmente sobre la esporulación. Las colonias del hongo que se desarrollaron bajo condiciones de luz alterna, fueron blancas y algodonosas al inicio y después sonadas concéntricas, alternando una banda delgada hialina con otra ancha de color verde oscuro, mientras que bajo la luz continua fueron uniformemente de color verde oscuro. La luz influye, además, en la producción de metabolitos secundarios. (Martínez et al., 2013)

### **8.9.3 Aireación**

Dos componentes del aire son esenciales para los hongos: el oxígeno y el dióxido de carbono. Las especies de *Trichoderma*, como anaerobios facultativos, tienen la habilidad para crecer en hábitats como suelos profundos donde el oxígeno es relativamente insuficiente. Sin embargo, en los cultivos de estos organismos es necesario tener en cuenta que altas concentraciones de dióxido de carbono resultado de la respiración celular se pueden acumular en ambientes cerrados y de esta forma inhibir el crecimiento de este microorganismo, los hongos usualmente son inhibidos en concentraciones de dióxido de carbono mayores de 10 a 15%. (Chavez Garcia, 2011)

## **8.10 Hábitat del *Trichoderma***

Este hongo se encuentra ampliamente distribuido en el mundo, y se presenta naturalmente en diferentes rangos de zonas de vida y hábitats, especialmente en aquellos que contienen materia orgánica o desechos vegetales en descomposición, así mismo en residuos de cultivos, especialmente en aquellos que son atacados por hongos. Su desarrollo se ve favorecido por la presencia de altas densidades de raíces, las cuales son colonizadas rápidamente por estos microorganismos. Esta capacidad de adaptación a diversas condiciones medioambientales y sustratos le confiere a este hongo la posibilidad de ser utilizado en la industria biotecnológica. (Chavez Garcia, 2011)

Es por ello que el estudio de la diversidad de especies de *Trichoderma* en diversos hábitats naturales, permite ampliar el conocimiento sobre su aporte biotecnológico, y su importancia ecológica y agrícola. (Hernández-Melchor et al., 2019)

### **8.11 Mecanismos de acción**

Los mecanismos por los que las cepas del género *Trichoderma* desplazan al fitopatógeno son fundamentalmente de tres tipos: competición directa por el espacio o por los nutrientes, producción de metabolitos antibióticos, ya sean de naturaleza volátil o no volátil y micoparasitismo directo de determinadas especies de *Trichoderma* sobre el hongo fitopatógeno. Durante el micoparasitismo, el antagonista localiza al patógeno y se enrolla alrededor de las hifas de éste, provocando su muerte. Estos tres mecanismos no son excluyentes, sino que actúan sinérgicamente en el control de los patógenos. La importancia relativa de cada uno de ellos depende de cada pareja de antagonista patógeno y de las condiciones ambientales. Además, ejerce su acción como antagonista y colonizador de las raíces (Rey et al., 2000)

Los mecanismos por los que las cepas del género *Trichoderma* desplazan al fitopatógeno son fundamentalmente de tres tipos: competición directa por el espacio o por los nutrientes, producción de metabolitos antibióticos, ya sean de naturaleza volátil o no volátil y parasitismo directo de determinadas especies de *Trichoderma* sobre el hongo fitopatógeno. (Rey et al., 2000)

### **8.12 Modos de acción del *Trichoderma***

Las especies del género *Trichoderma* por lo general son agentes de control biológico en especial por sus cualidades de antagonistas, estas se sustentan principalmente en la generación de diversos mecanismos, entre ellos tenemos los más utilizados para el control de enfermedades de plantas producidas por hongos, su facilidad para ser aisladas y cultivadas, a su crecimiento rápido en un gran número de sustratos y a que no atacan a plantas superiores. (Rey et al., 2000)

A la acción parasítica que ejerce un hongo sobre otro se le llama hiperparasitismo, esto es común en el suelo, debido a que algunos hongos producen celulosa y antibióticos, y pueden metabolizar quitina; *Trichoderma viridae* y *Trichoderma lignorum*, son empleados en el control biológico de hongos fitopatógenos como *Rhizoctonia solani*, *Pythium spp*, *Alternaria solani*, *Rhizopus arrhizus*,

Rhizoctonia endophytica y otros hongos patógenos que abaten la producción agrícola. (Guerron, 2015)

De forma general, entre las cualidades que favorecen la competencia de este antagonista se encuentran, la alta velocidad de crecimiento que posee gran parte de sus aislamientos y la secreción de metabolitos de diferente naturaleza, que frenan o eliminan a los competidores en el microambiente. Este modo de acción influye en bloquear el paso al patógeno y resulta importante para la diseminación del antagonista. (Martínez et al., 2013)

### **8.13 Capturas de microorganismos**

El *Trichoderma* spp es un tipo de hongo anaerobio facultativo que se encuentra de manera natural en un número importante de suelos agrícolas y otros tipos de medios. Pertenece a la subdivisión Deuteromycetes que se caracterizan por no poseer, o no presentar un estado sexual determinado. De este microorganismo existen más de 30 especies, todas con efectos benéficos para la agricultura y otras ramas. Manual de producción y utilización de *Trichoderma* spp. (Vallejo, 2014)

El *Trichoderma* spp posee aislamientos con poderes antibióticos, los cuales actúan contra varios microorganismos fitopatógenos. Se comporta como saprofito en la rizosfera, siendo capaz de destruir residuos de plantas infectadas por patógenos. Se considera que su acción es antagonista, siendo capaz de sacar el mejor provecho por su alta adaptación al medio y por competir por el sustrato y por espacio. La importancia del hombre en esta relación radica en saber manejar las especificidades de cada uno para lograr que prevalezca la interacción a favor de la planta y el antagonista. Manual de producción y utilización de *Trichoderma* spp. (Vallejo, 2014)

### **8.14 Identificación y caracterización de microorganismos**

Para la identificación de las especies de *Trichoderma* spp se usarán un tipo código taxonómico con el motivo de no confundirse con el resto de *Trichodermas* encontrados y ya verificados. En cuanto el aislamiento de *Trichoderma* spp de las muestras de suelo, se realizará diferentes medios de cultivos. Por otro lado, colonias de *Trichoderma* spp se reconocerán en base a su morfología las cuales fueron observados bajo el microscopio. Además, de la identificación de los diferentes aislados de *Trichoderma* se realizará mediante estudios de morfología de cada una de las colonias creciendo sobre los distintos medios de cultivo. También se debe tomar en cuenta que, para

observación de las características de las conidias y conidióforos o esporas, asimismo, se utiliza la ayuda de un microscopio, igualmente es necesario las técnicas de campo, y contraste de fases. (Guigón-lópez et al., 2010)

### **8.15 Aislamientos Nativos**

El desarrollo de una tecnología para la producción de un agente de control biológico debe dar énfasis a la obtención de aislamientos nativos, ya que estos presentan un comportamiento que se adecua a las condiciones agroecológicas regionales. Esta búsqueda se organizará en base a recorridos de campo, que permitan la obtención de muestras en lugares donde los patógenos de interés se manifiesten con un bajo índice de infección. Como ejemplo de esto es recomendable buscar en ecosistema con baja intervención humana, como quebradas, rodales de bosques nativos y regiones apartadas de los campos agrícolas, así como en zonas rurales que no utilizan agroquímicos y el manejo de la nutrición se base en el uso materia orgánica. La toma de muestras se puede realizar en bosque nativo, corteza vegetal y madera en descomposición. En algunos casos es posible identificar colonias de *Trichoderma* en distintos estados de crecimiento. La toma de muestra se realiza en bolsas de polipropileno, cerrándolas para evitar su desecamiento. El procesamiento de ellas se efectúa, tomando submuestras de 20 a 30 gramos que se distribuyen en placas en cámara húmeda por un período de 7 a 10 días, con observaciones diarias hasta la aparición de colonias de hongos con crecimientos similares a los de *Trichoderma*. Cuando la toma de muestra se realiza a nivel de suelo, estas se extraen entre los 10-30 cm. de profundidad. (Vallejo, 2014)

### **8.16 Cepas de *Trichoderma***

Muchas cepas crecen eficientemente en medios sólidos o líquidos y en un amplio rango de temperaturas, además son relativamente tolerantes a humedades bajas y tienden a crecer en suelos ácidos. Las cepas de *Trichoderma* crecen rápidamente cuando se inoculan en el suelo, porque son naturalmente resistentes a muchos compuestos tóxicos, incluidos herbicidas, fungicidas, pesticidas, y compuestos fenólicos, y debido a que las cepas se recuperan muy rápidamente después de la adición de dosis subletales de algunos de estos compuestos. La resistencia a compuestos tóxicos puede ser asociado con la presencia en las cepas de *Trichoderma*. (Benítez et al., 2004)

Las cepas de *Trichoderma* a menudo son rápidamente identificadas en su género por sus características morfológicas distintivas, que incluye rápido crecimiento, el color de las conidias es

verde intenso o blanco y una gran cantidad de ramificaciones, pero de manera diferente una pobre estructura de conidióforos. (Vallejo, 2014)

Por esta razón, las cepas de *Trichoderma* spp. han adquirido un alto valor comercial, abarcando nuevas tecnologías para la producción masiva de productos de este hongo. Aunque su uso través de productos donde se tiene como componente activo esporas de *Trichoderma* spp. en diferentes medios de crecimiento, ya sea de forma sólida o líquida, se tiene como dependencia la capacidad de crecimiento y supervivencia del hongo en el sustrato inoculado y la competencia con otros microorganismos de suelo. (Ortuño et al., 2013)

### **8.17 Reproducción**

*Trichoderma* sp., se reproduce de forma asexual, emplea sustratos de elevada complejidad como: almidón, celulosa, quitina, y pectina que son asimilados durante el metabolismo como fuente de carbono. El medio en que se desarrolla *Trichoderma* sp., varía debido a que pueden crecer en medios sólidos, así como en medios líquidos o caldos de cultivo, se caracteriza por tolerar diferentes temperaturas y adaptarse a humedades muy bajas e incluso pueden desarrollarse en medios ligeramente ácidos. (Bermeo, 2018)

### **8.18 Medios de Multiplicación de Trichodermas.**

En los hongos, se necesita que la fuente C esté en exceso en el medio o sustrato y el contenido de N sea el factor limitante del crecimiento, lo que desencadena el proceso esporulativo. Los inóculos se preparan a partir de subcultivos de preinóculos a una concentración final en el sustrato inoculado de propágulos/g. Los preinóculos pueden desarrollarse sobre sustratos sólidos (grano arroz, grano trigo, cáscara de trigo, cáscara de arroz, harina de maíz, etc. ) incluyendo los medios agarizados de cultivo o por cultivos líquido estático o agitado (compuestos por combinaciones de materias primas carbonadas y nitrogenadas como melaza de caña de azúcar, licor de maíz, almidón de maíz, sacarosa, extracto de levadura, extracto de levadura cervecera, etc.) siendo el objetivo fundamental la obtención de una biomasa homogénea. La relación carbono (C): Nitrógenos (N) es esencial y de este balance en lo fundamental dependerá el que se logre la formación de los propágulos deseados. (Vallejo, 2014)

### **8.19 Propagación del Trichoderma**

La propagación del hongo en sustratos se la realiza con el fin de mantener activas las cepas del hongo para que puedan ser procesadas dentro de un producto agrícola, estas una vez purificadas en cajas Petri en medio PDA, son colocadas dentro de sustratos como arroz o arrocillo, que cumplen con sus necesidades nutricionales como almidón, pectina y celulosa. (Nugra, 2018)

### **8.20 Conservación de cepas de Trichoderma**

Hay diversas maneras o técnicas sencillas de conservar cepas de Trichoderma entre ellas tenemos algunas:

- Conservación en medio de cultivo
- Conservación en arroz
- Conservación en sílica gel
- Conservación en nitrógeno líquido

Todos los aislamientos se mantendrán en un cepario de conservación, aún aquellos que no tengan un grado de antagonismo alto, pues pudieran servir en el futuro para otros estudios. Una técnica muy efectiva de conservación consiste en separar los conidios del sustrato donde se reprodujo el antagonista y obtener de este modo los conidios puros, los conidios así obtenidos, con un contenido de humedad entre 5-10%, pueden ser almacenados por un tiempo prolongando conservando su viabilidad. (Herrera-Estrella & Chet, 2003)

#### **8.20.1 Conservación en medio de cultivo**

Los aislamientos que resulten promisorios una vez realizadas las pruebas de antagonismo se destinarán al cepario de trabajo El cepario de trabajo se mantendrá en tubos de cultivo, en cuñas de PDA, Saboraud dextrosa agar, Agar malta, cualquier medio rico en nutrientes es suficiente para su mantenimiento. Para preservar el hongo por un período de tiempo mayor se utilizan medios no inclinados sobre los que se siembra el hongo (7-10 días), posteriormente se cubre con aceite mineral, este método tiene como ventaja que no necesita renovar la cepa con tanta frecuencia como las mantenidas en cuñas de agar, el hongo puede mantener una mayor longevidad y estabilidad, aunque el método sea más laborioso. (Vallejo, 2014)

### **8.21 Agar papa dextrosa**

El Agar Papa Dextrosa (Potato Dextrose Agar, PDA, por sus siglas en inglés) es un medio de propósito general para levaduras y mohos que puede ser suplementado con ácidos o antibióticos para inhibir el crecimiento bacteriano. El PDA está compuesto por infusión de papa deshidratada y dextrosa que fomentan el crecimiento exuberante de los hongos. El agar es adicionado como agente solidificante. Muchos procedimientos estándares usan una cantidad específica de ácido tartárico estéril (10%) para reducir el pH de este medio a 3,5 + o - 0,1, y así inhibir el crecimiento bacteriano. (Bermeo, 2018)

### **8.22 Sustratos**

Los sustratos empleados para la producción de microorganismos, en lo posible deben contener todos los elementos necesarios para una adecuada síntesis del material celular y para la producción de metabolitos, cuando son requeridos.

#### **8.22.1 Arroz**

El arroz es el cereal más rico en almidón, en torno al 70%. Su contenido en proteína es bajo (7,3%) pero es rico en lisina (4,1%). Su contenido en cenizas es muy escaso y su aporte en macrominerales prácticamente despreciable. El arroz original es rico en aceite que a su vez es rico en vitamina E. Este aceite tiene un alto contenido en ácido linoléico por lo que se enrancia muy fácilmente. El contenido en energía del grano de arroz es elevado, debido a su alto contenido en almidón y a la ausencia de factores antinutricionales. (Chavez Garcia, 2011)

#### **8.22.2 Melaza**

La melaza es un líquido denso y negruzco constituido por el residuo que permanece en las cubas después de la extracción de la mayor parte de los azúcares de caña por cristalización y centrifugación. Las melazas son concentrados de hidratos de carbono. Los azúcares representan del orden del 80% de su contenido en materia seca. Como consecuencia, son muy palatables y su contenido energético es apreciable. Este sub producto de la industria azucarera posee un alto contenido de sacarosa (32%), oligosacáridos (rafinosa) y ácidos orgánicos (málico, oxálico, láctico, acotínico y cítrico). (Chavez Garcia, 2011)

### **8.23 Producción de Trichoderma spp**

En cuanto a la producción que puede llegar a ser semi industrial o industrial de *Trichoderma* spp esto resultaría ser una gran opción tecnológica tremendamente eficiente visto desde otra perspectiva en el caso productivo y económico como para obtener biofunguicidas de gran calidad; claro esto involucra procesos más nivelados como en el control de variables como humedad, temperatura y flujo de aireación. Todo lo antes mencionado es muy importante debido a que se puede mejorar tanto la cantidad como la calidad de las esporas que se vayan a producir. (Zaremba & Smoleński, 2000)

### **8.24 Inoculación del Trichoderma**

Se puede llegar a inocular los productos de las cepas de *Trichoderma* seleccionadas bajo diferentes condiciones que se deben tener en cuenta un ambiente favorable (temperatura, humedad, presencia de oxígeno, pH), condiciones del suelo (estructura, contenido de materia orgánica y nutrientes) y horario de aplicación. Además, el *Trichoderma* pueden llegar a ser inoculado en sustrato para semilleros o directamente al suelo en semilleros o campo abierto. (Martínez et al., 2013)

Los antagonistas además de ser incorporados al suelo junto con la materia orgánica (compost) o aplicados directamente por aspersión, como en los casos anteriores, también pueden ser inoculados a las semilla, revistiéndolas con *Trichoderma* como alternativa para introducir el agente al suelo, producir el establecimiento y multiplicación del antagonista en las raicillas y de esta forma reducir el damping-off producido por *R. solani*, *S. rolfsii*, *S. sclerotiorum*, *P. cactorum*, *P. cinnamomi*, *Fusarium* spp y *Pythium* spp . (Vallejo, 2014)

La aplicación de *Trichoderma* spp., al suelo tiene varias ventajas, pero hay que tener en cuenta que un solo método de control no basta para erradicar una enfermedad de forma eficaz y duradera. Es necesario integrar varias prácticas, para obtener cultivos sanos y económicamente rentables. (Chiriboga et al., 2015)

Entre los principales beneficios de *Trichoderma* spp. se encuentran los siguientes:

- Se propaga en el suelo, aumentando su población y ejerciendo control duradero en el tiempo, sobre hongos fitopatógenos.



- Ayuda a descomponer la materia orgánica, haciendo que los nutrientes se conviertan en formas disponibles para la planta, por lo tanto, tiene un efecto indirecto en la nutrición del cultivo.
- Favorece la proliferación de organismos benéficos en el suelo, como otros hongos antagónicos.
- Al reemplazar agroquímicos sintéticos por microorganismos benéficos, el productor ahorra en sus costos de producción.

### **8.25 El suelo**

El suelo es el lugar donde alberga un almacén de toda vida tanto macroscópica como microscópica y es la estancia en donde surgen cambios además de procesos que permiten que la vida continúe. En el suelo, la vida de animales, plantas y microorganismos están en constante equilibrio debido a los cambios bioquímicos en que participa la vida microbiana. En estos cambios, los hongos desempeñan un papel muy significativo en la descomposición de materia orgánica, así como en la liberación de nutrimentos inorgánicos a través a través de la mineralización, participando en conversiones inorgánicas en interacciones con otros microorganismos. (Guerron, 2015)

### **8.26 Que es un suelo erosionado**

La erosión del suelo consiste en la remoción, arranque y transporte de los materiales que constituyen la capa más superficial del suelo, sea cual sea el agente responsable: agua, viento, hielo, actuaciones humanas, etc. En este capítulo se va a incidir expresamente en los efectos on site de la erosión, es decir los efectos directos sobre la degradación del suelo en los campos de cultivo; y no se consideran los posibles efectos off site de dicha erosión, tales como el aterramiento de embalses o la acumulación de sedimentos en infraestructuras viales. (Alba et al., 2011)

### **8.27 Actividad microbiana**

Con relación a la temperatura, la ley de Van't Holf (en la que  $Q_{10}$ , relación entre las velocidades de reacción a las temperaturas  $T$  y  $T+10$ , en grados centígrados, tiene un valor comprendido entre 2 y 3) se aproxima a la descomposición de la materia orgánica en el suelo en un rango de temperatura variable entre 10 y 40°C. (Ricardo & Delgado, 2006)

### **8.28 Como medir CO<sub>2</sub>**

La mayoría de las mediciones que relacionan la actividad microbiana con la temperatura muestran que el crecimiento en la actividad es nulo a 0°C, sólo algunas bacterias psicófilas son capaces de crecer a temperatura de congelamiento. A los 10°C de temperatura la actividad microbiana se dispara hasta llegar a un tope entre los 25-35 °C donde se encuentra el óptimo de temperatura para el crecimiento de la mayoría de microorganismos. Una observación interesante es que la temperatura ejerce un efecto pronunciado sobre la liberación de CO<sub>2</sub> del suelo proveniente de la respiración microbiana. (Ricardo & Delgado, 2006)

### **8.29 Respiración microbiana**

En cuanto a la respiración microbiana se puede realizar un proceso para poder medir y cuantificar la producción de CO<sub>2</sub> que esto se emite o se presume que va de acuerdo con la presencia de muchos microorganismos los cuales generan esta reacción. (Mamani et al., 2014)

## 9. VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS

### 9.1 Hipótesis Alternativa = H1

*Trichoderma spp* comercial y nativo inciden en la aumento de la actividad microbiológica en un suelo erosionado.

### 9.2 Hipótesis Nula = H0

*Trichoderma spp* comercial y nativo no inciden en la aumento de la actividad microbiológica en un suelo erosionado.

### 9.3 Operacionalización de variables

Se tomará en cuenta las variables en las cuales se especifica los indicadores, unidad de medida, instrumento tecnológico, instrumento metodológico, técnica.

#### Variable independiente:

*Trichoderma spp* Comercial (Sólido y líquido)

*Trichoderma spp* Nativo (Sólido y líquido)

#### Variable Dependiente

Suelo

Análisis microbiológico

#### Variables Independiente.

**Tabla 3:** Operacionalización de las variables

VARIABLES	UNIDAD DE MEDIDA	INSTRUMENTO TECNOLÓGICO	INTRUMENTO METODOLÓGICO	TECNICA
Comercial Sólido	<ul style="list-style-type: none"> <li>• UFC % de población microbiana</li> <li>• Número de conidios activos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Microscopio.</li> <li>• Contador de colonias.</li> <li>• Cámara de Neubauer.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Libro de campo.</li> <li>• Libreta de laboratorio.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Método directo (Pearson Hall)</li> </ul>

Comercial Líquido	<ul style="list-style-type: none"> <li>• UFC % de población microbiana</li> <li>• Número de conidios activos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Microscopio.</li> <li>• Contador de colonias.</li> <li>• Cámara de Neubauer.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Libro de campo.</li> <li>• Libreta de laboratorio.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Método directo (Pearson Hall)</li> </ul>
Nativo sólido	<ul style="list-style-type: none"> <li>• UFC % de población microbiana</li> <li>• Número de conidios activos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Microscopio.</li> <li>• Contador de colonias.</li> <li>• Cámara de Neubauer.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Libro de campo.</li> <li>• Libreta de laboratorio.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Método directo (Pearson Hall)</li> </ul>
Nativo líquido	<ul style="list-style-type: none"> <li>• UFC % de población microbiana</li> <li>• Número de conidios activos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Microscopio.</li> <li>• Contador de colonias.</li> <li>• Cámara de Neubauer.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Libro de campo.</li> <li>• Libreta de laboratorio.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Método directo</li> </ul>

**Elaborado por:** Shirley Olivo

## **10. METODOLOGÍA**

### **10.1 Enfoque.**

Para este proyecto de investigación se basó en un enfoque cualitativo y cuantitativo, debido a que a través de la utilización de sustratos trata de capturar colonias de *Trichoderma* spp y aislados en los diferentes medios de cultivo trata de caracterizar y clasificar microorganismos benéficos (*Trichoderma* spp) además, que se cuantificó la cantidad de esporas del *Trichoderma* nativo y se realizó una verificación de esporas de *Trichoderma* comercial (líquido y sólido), mediante la cual se obtuvo y se analizó datos cuantitativos que fueron obtenidos de las variables en estudio en este proyecto.

### **10.2 Modalidad**

#### **10.2.1 De Campo**

Para este proyecto de investigación su técnica fue de campo, debido a que las primeras prácticas de la investigación se las realizó en el campo donde se obtuvo muestras de suelo erosionado y las capturas de los microorganismos, además se recogió información mediante la técnica de observación y un registro de datos.

#### **10.2.2 Experimental**

El proyecto alcanzó la modalidad de investigación experimental; debido a que se llevó a cabo la realización del proyecto en el laboratorio, que se basó en aislamiento, propagación e inoculación del *Trichoderma* spp comercial y nativo (líquido y sólido), además del conteo de colonias tanto de hongos como de bacterias y conteo de CO<sub>2</sub>.

#### **10.2.3 Bibliográfica - documental**

Para el principio y la culminación del proyecto de investigación se buscó argumentos bibliográficos, como artículos científicos, revistas, libros, folletos, tesis en internet para corroborar la información que se obtuvo durante el desarrollo del proyecto de investigación.

### **10.3 Tipo de investigación**

La investigación fue de tipo experimental-explicativo, en la que se analizó las relaciones entre variables independientes y dependientes.

## 10.4 Ubicación del ensayo

El lugar del ensayo se detalló a continuación en la siguiente tabla:

**Tabla 4:** Ubicación política

Ubicación política	
Provincia	Cotopaxi
Cantón	Latacunga
Parroquia	Eloy Alfaro
Sector	Salache

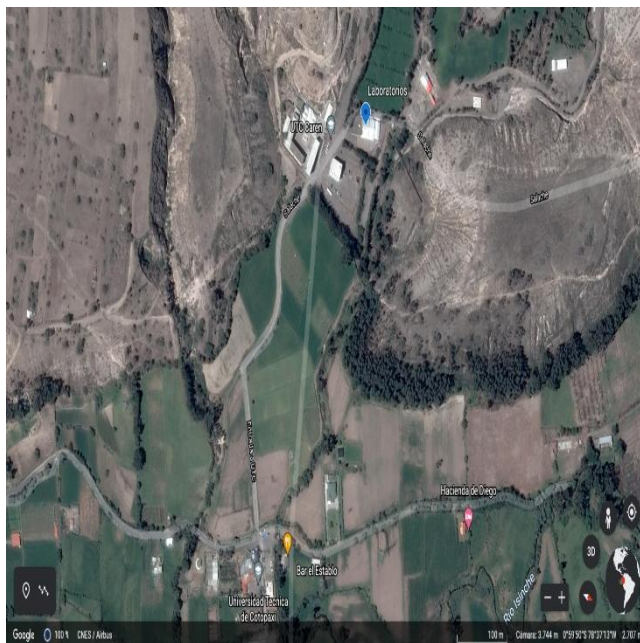
**Elaborado por:** Shirley Olivo

**Tabla 5:** Ubicación geográfica

Ubicación geográfica	
Latitud	00°59'47,68" Norte
Longitud	78°37'19,16" Oeste
Altitud	2750 msnm

**Elaborado por:** Shirley Olivo

**Figura 1:** Ubicación geográfica



**Fuente:** Google earth

## 10.5 Condiciones Agroecológicas

Las condiciones climáticas como precipitación, heliofanía y viento, no se tomó en cuenta de manera directa debido a que la investigación se evaluó bajo condiciones controladas (laboratorio de agronomía).

## 10.6 Materiales y equipos.

Los materiales y equipos que se utilizarán para este proyecto de investigación.

**Tabla 6:** Material biológico

<b>Material biológico</b>	
<i>Trichoderma spp</i> comercial	líquido y sólido
<i>Trichoderma spp</i> nativo	líquido y sólido

**Elaborado por:** Shirley Olivo

**Tabla 7:** Equipo de laboratorio

<b>Equipos de laboratorio</b>	
Microscopio	Contador de colonias
Autoclave	Cámara de Neubauer
Cámara de flujo laminar	Asas para sembrar
Incubadora	Tubo de ensayo
Balanza digital	Probeta
Pinzas	Pipetas
Gradilla	Lámpara de alcohol
Cubre objetos	Porta objetos
Bisturí	

**Elaborado por:** Shirley Olivo

**Tabla 8:** Materiales agregados químicos

<b>Materiales agregados químicos</b>	
Agar PDA	Cloruro de bario
Agar PCA	Hidróxido de sodio
Sacarosa	Fenolftaleina
Ácido clorhídrico (HCl)	Antibiótico

**Elaborado por:** Shirley Olivo

**Tabla 9:** Material en general

<b>Material en general</b>	
Cajas Petri	Fundas ziploc
Papel Parafilm	Baldes
Agua destilada	Vasos plásticos
Tarrinas	Atomizador

**Elaborado por:** Shirley Olivo

**Tabla 10:** Material de oficina

<b>Material de oficina</b>	
Computadora	Lápiz
Impresora	Marcador
Hojas de papel bond A4	Calculadora
Esferos	Libreta
Cámara fotográfica	

**Elaborado por:** Shirley Olivo

## **10.7 Manejo del experimento**

Se cumplió con los objetivos de la investigación la cual se dividió en diferentes fases, las mismas que se detalló a continuación.

### **10.7.1 Fases del ensayo**

**Fase I:** Delimitación del área para toma de suelo y adecuación del ensayo en el laboratorio

En la primera semana, con la ayuda de un GPS (Latitud: 1000585 Norte y Longitud: 78625151 Este) se determinó las coordenadas del terreno en la Universidad Técnica de Cotopaxi el lugar donde se recogió una cantidad de suelo el cual se mandó hacer un análisis microbiológico, con el resto del suelo se armó el proyecto de investigación en el laboratorio de agronomía. Para la adecuación del ensayo se compró tarrinas de 1lt sin tapa, se procedió a pesar 700gr de suelo se colocó en cada una de las tarrinas y se empezó a rotular como en el diseño completamente al azar (DCA) lo indica.

**Fase II:** Preparación del sustrato para la captura y colocación de trampas y captura de microorganismos

A los catorce días, se cocinó arroz máximo tres minutos o (dependiendo de la cantidad de arroz se podría demorar hasta cinco minutos), se dejó enfriar en un recipiente, se puso en papel aluminio se cerró bien para esterilizarlo por 35 minutos en la autoclave a 121°C, una vez transcurrido ese tiempo se retiró de la autoclave se dejó enfriar un poco, se procedió a pesar 20 gramos de arroz y poner en unos vasos plásticos desechables transparentes a los cuales se le puso por encima una gasa limpia sujeta con ligas. Según la técnica y metodología utilizada para la captura, multiplicación y conteo de conidios es el descrito por Falconi (2013a). (Alberto & Cañarte, 2013)

En la Universidad Técnica de Cotopaxi campus experimental CEYPSA lote número 10 se tomó coordenadas con un GPS (Latitud: 0999042 Norte y Longitud: 78625163 Este) donde se pusieron las trampas para la captura de microorganismos, con una azada se hizo un hoyo y coloco el vaso con el sustrato preparado, se dejó las trampas por aproximadamente quince días. Según la técnica y metodología utilizada para la captura, multiplicación y conteo de conidios es el descrito por Falconi (2013a). (Alberto & Cañarte, 2013)



**Fase III:** Recolección de las trampas y aislamiento de *Trichoderma spp* nativo

A los veintidós días se retiró las trampas que fueron llevadas al laboratorio donde se aisló los mejores arroces con el posible *Trichoderma spp*. Nativo, se utilizó pinzas para ir separando los mejores arroces, se pesó PDA (Papa Dextrosa Agar) 19.5 gr en 500 ml de agua destilada, se puso en un frasco de vidrio, se agitó y se obtuvo una mezcla homogénea se llevó al esterilizador por 35 minutos a 121°C, pasado ese tiempo se dejó enfriar y mientras tanto se limpió la cámara de flujo laminar con alcohol para desinfectar. Una vez frío el medio PDA se llevó cajas Petri, papel film, lámpara de alcohol a la cámara de flujo laminar y se agregó un tanto de medio a cada caja Petri cerca de la lámpara de alcohol para evitar que se contamine, se dejó reposar por unos minutos hasta que se forme el medio. Se empezó a poner los granos de arroz y se cerró cuidadosamente las cajas Petri con papel film, se etiquetó cada caja con la fecha, por último, se llevó todas las cajas a la incubadora a 23°C con una humedad del 40 % por siete días.

**Fase IV:** Revisión y purificación de cajas con posible *Trichoderma spp* nativo.

Dentro de veintiocho días se regresó al laboratorio se revisó las cajas Petri, estas presentaron contaminación, para ello se preparó nuevamente medio de cultivo PDA y se esterilizaron cajas, como siguiente paso, se escogió las mejores cajas, se aplicó dos formas de sembrar la una fue cortando con un bisturí pedazos de zona con medio y pasando a la nueva caja, la otra forma fue con la ayuda de una asa de sembrar se raspo la zona donde se apreció el *Trichoderma* y en forma de zigzag se fue sembrando, se cerraron con papel film se llevó a la incubadora a 23 °C con una humedad del 40 % por otros siete días.

A los treinta y cinco días se regresó al laboratorio se revisó las cajas, estas presentaron contaminación nuevamente para ello se preparó nuevamente el medio, se esterilizaron cajas. Se realizó siembra. Además, se sembró en arroz zonas donde se apreció el *Trichoderma* de las mejores cajas, se le agregó un poco de sacarosa líquida, con el fin de que continúe desarrollando.

**Fase V:** Aislamiento de *Trichoderma spp*. comercial líquido y sólido

A los cuarenta y dos días, se preparó medio PDA para el aislamiento de *Trichoderma spp*. comercial líquido y sólido, se midió y comprobó la cantidad de esporas que viene marcado en la etiqueta de los *Trichoderma spp*. comercial. Una vez listo el medio PDA y plaqueado en las cajas,

se agregó en la caja 5 ml de *Trichoderma spp.* líquido (DINAMICS), en otra caja se agregó 2 gr de *Trichoderma spp.* sólido (TRICHOEB 5WP), se selló con papel film y se llevaron a la incubadora a 23 °C con una humedad del 40 % por siete días.

**Fase VI:** Observación de conidios y comprobación de UFC de *Trichoderma spp.* comercial líquido y sólido.

A los cuarenta y nueve días, se aforo 100 ml de agua destilada, se destinó una cantidad tanto para una caja que contenía *Trichoderma spp.* comercial líquido como para sólido, se empezó a raspar cuidadosamente con un asa el *Trichoderma* se lavó la caja con el resto del agua para sacar la mayor cantidad de *Trichoderma* se pasó a un vaso de precipitación para tener una mejor manipulación. Se procedió a tomar una muestra con una micropipeta la cantidad de 10 uL, se puso en la cámara de Neubauer y observo al microscopio se contó en zigzag el número de esporas y se confirmó cantidad marcada de UFC en la etiqueta. Una vez contado el número de conidios para ello se utilizó la fórmula para determinar la cantidad de UFC. La fórmula es la siguiente:

*Trichoderma spp* comercial líquido

$$\frac{\text{N}^{\circ}\text{conidios X disolución}}{\text{volumen}} = \frac{188 \times 10 \times 10 \times 10 \times 10 \times 10}{1} = 18800000$$

$$= 1,88 \times 10^7$$

*Trichoderma spp* comercial sólido

$$\frac{\text{N}^{\circ}\text{conidios X disolución}}{\text{volumen}} = \frac{211 \times 10 \times 10 \times 10 \times 10 \times 10}{1} = 21100000$$

$$= 2,11 \times 10^7$$

**Fase VII:** Purificación de *Trichoderma spp.* nativo en arroz

A los cincuenta y seis días, se revisó las cajas y el arroz con *Trichoderma spp.* Nativo, se obtuvo cajas y fundas más puras se procedió a pasar a nuevas cajas y fundas para que no se contaminen, se pesó 200 gr y 100 gr de arroz respectivamente para cada tamaño de funda. Además, se realizó una solución de 50 ml de agua destilada más 5 gr de sacarosa, esa solución se agregó un 1ml a cada una de las fundas ziploc donde se puso el arroz y cepas del *Trichoderma spp.* nativo. Finalmente, se cerró bien las fundas y las cajas con papel film para evitar contaminación.

**Fase VIII:** Reproducción de *Trichoderma spp.* nativo líquido y sólido

A los sesenta y tres días, se revisó el crecimiento del *Trichoderma* en el arroz, a los cinco días hubo un incremento del 75 %, considerándose apto para continuar reproduciéndose. Mientras en siete días hubo un incremento del 100 % quedando listo para aumentar la producción de *Trichoderma spp.* nativo.

**Fase IX:** Elaboración y observación de conidios de *Trichoderma spp.* nativo en estado líquido y sólido

A los setenta días, se aforo 100 ml de agua destilada, se destinó una cantidad para las cajas que contenía *Trichoderma spp.* nativo, este para el estado líquido y se empezó a raspar cuidadosamente con un asa, se hizo lavados a la caja con el resto del agua para sacar la mayor cantidad de *Trichoderma*. Se aforó 100 ml de agua destilada para el lavado de las fundas de arroz, para estado sólido, el arroz se filtró obteniendo *Trichoderma spp.* nativo sólido.

En la observación y ajuste de los conidios, se procedió a tomar con una micropipeta 10 uL de *Trichoderma* nativos líquido y sólido en la cámara de Neubauer. A continuación, se observó al microscopio y se contó en zigzag el número de esporas de cada *Trichoderma*. Una vez contado el número de conidios, se utilizó la fórmula para determinar el número de conidios. La fórmula es la siguiente:

*Trichoderma spp* nativo líquido

$$\frac{\text{N}^\circ \text{conidios X disolución}}{\text{volumen}} = \frac{198 \times 10 \times 10 \times 10 \times 10 \times 10}{1} = 19800000 = 1,98 \times 10^7$$

*Trichoderma spp* nativo sólido

$$\frac{\text{N}^\circ \text{conidios X disolución}}{\text{volumen}} = \frac{163 \times 10 \times 10 \times 10 \times 10 \times 10}{1} = 16300000 = 1,63 \times 10^7$$

**Fase X:** Preparación de *Trichoderma spp.* comercial líquido y sólido

A los setenta y siete días se efectuó la preparación de *Trichoderma spp.* comercial líquido, se tomó como referencia la etiqueta y se realizó el cálculo obteniendo la cantidad adecuada a mezclar con el agua destilada. Se aforo 1 lt de agua destilada y 4cc de *Trichoderma spp* líquido (DINAMICS),

se agito hasta tener una mezcla homogénea. Para la preparación de *Trichoderma spp* comercial sólido se tomó como referencia las indicaciones de la etiqueta se realizó el cálculo obteniendo la cantidad apropiada que se va a mezclar con el agua destilada. En un frasco de vidrio se puso 1lt de agua destilada y 2 gr de *Trichoderma spp.* sólido (TRICHOEB 5WP), se agito hasta tener una mezcla homogénea.

Cálculo de *Trichoderma spp* comercial líquido según las recomendaciones:

$$\begin{array}{r}
 4 \text{ lts} \text{ -----} 200\text{ lts de H}_2\text{O} \text{ -----} 1 \text{ Ha (10000m}^2\text{)} \\
 4000 \text{ lts} \text{ -----} 200\text{ lts} \\
 X \qquad \qquad 200 \text{ ml} \\
 X = 4 \text{ cc}
 \end{array}$$

Cálculo de *Trichoderma spp* comercial sólido según las recomendaciones:

$$\begin{array}{r}
 50 \text{ gr} \text{ -----} 200\text{ lts de H}_2\text{O} \text{ -----} 1 \text{ Ha (10000m}^2\text{)} \\
 50 \text{ gr} \text{ -----} 200\text{ lts} \\
 X \qquad \qquad 200 \text{ ml} \\
 X = 2 \text{ gr}
 \end{array}$$

**Fase XI:** Inoculación de *Trichoderma spp.* comercial líquido y sólido, *Trichoderma spp.* nativo líquido y sólido en suelo

A los ochenta y cuatro días, se efectuó la primera inoculación, los suelos no se encontraban en capacidad de campo, se humedeció con un rociador 40 ml de agua destilada. A continuación, se roció 6 ml con cada uno de los *Trichodermas*.

**Fase XII:** Primera toma de suelo inoculado y adecuación para medir CO<sub>2</sub>

A los noventa y uno días, se evaluó cada siete días para constatar el incremento de la actividad microbiana en el suelo. Para ello, se saco 100 gr de suelo para la siembra en cajas Petri con diferentes medios (PDA y PCA) y 10 gr de suelo para la medición de CO<sub>2</sub>. Se adquirió envases de boca ancha con tapa y vasos transparentes, se agregó 10 ml de suelo, con un probeta se aforo 10 ml de hidróxido de sodio (NaOH) en cada uno de los vasos y se puso dentro del envase, se tapó y

selló con papel Parafilm evitando la salida de CO<sub>2</sub>. Se realizó blancos de medios (PDA y PCA) y para el CO<sub>2</sub> con el propósito de comprobar que no tienen ninguna reacción.

**Fase XIII:** Preparación de medios (PDA y PCA) y siembra de suelo de la primera inoculación

A los noventa y ocho días, se preparó medio PDA se aforo 400 ml de agua destilada y se pesó 17,55 gr de PDA, se agitó para homogeneizar la mezcla, del mismo modo se aforo 400 ml de agua destilada y se pesó 11 gr de PCA y se agitó para que se mezcle. Una vez listo los dos medios se llevó a la autoclave a 121°C por 35 minutos. Se preparó el suelo para el posterior sembrado. En una probeta se aforo 90 ml de agua destilada se agregó los 100 gr de suelo y se mezcló con una varilla de vidrio. Se colocó una gradilla con cuatro tubos de ensayo se aforaron 9 ml de agua destilada, con una pipeta se tomó 1 ml de solución madre, el mismo que se puso en el primer tubo de ensayo se agitó y se volvió a tomar 1 ml de suelo pero del primer tubo ( $10^{-1}$ ) se colocó en el segundo tubo ( $10^{-2}$ ) se agitó, se volvió a tomar 1 ml de suelo pero del segundo tubo y se colocó en el tercer tubo ( $10^{-3}$ ) se agitó, se volvió a tomar 1 ml de suelo pero del tercer tubo y se colocó en el cuarto tubo ( $10^{-4}$ ) y se agitó, se descartó las dos primeras diluciones y nos quedamos con las dos últimas ( $10^{-3}$ ) y ( $10^{-4}$ ).

Una vez listo este proceso me dirijo a la cámara de flujo laminar la cual previamente se limpió y desinfecto para evitar alguna contaminación. Además, se preparó un antibiótico (Benzoside 2'400.000) en una probeta se aforo 25 ml de agua destilada y se agregó el antibiótico se lo mezcló bien y el cual sirvió para evitar contaminación en el medio PDA debido a que este medio es exclusivo para reproducción de hongos, en cuanto al medio PCA no se colocó ningún antibiótico debido a que este medio es exclusivo para reproducción de bacterias. Una vez listo los medios se procedió a llevarlos a la cámara de flujo laminar donde se agregó el antibiótico en el medio PDA se cerró y se agitó para que se mezcle y se pueda plaquear las cajas Petri y del mismo modo con el medio PCA se dejó por unos minutos hasta que esté listo el medio para poder sembrar las disoluciones de suelo. Se empezó a poner las disoluciones ( $10^{-3}$ ) y ( $10^{-4}$ ) en cada una de las cajas se selló con papel film para evitar contaminación, se rotularon las cajas, por último, se llevaron a la incubadora a 37°C.

**Fase XIV:** Conteo de colonias (hongos y bacterias) y conteo de CO<sub>2</sub>

Para el conteo de bacterias se debió esperar 24 horas, después de la siembra en suelo inoculado, no es recomendable dejar pasar más tiempo debido a que se reproducen más y se vuelve complicado el conteo.

En cuanto a hongos se debió esperar 48 horas después de la siembra del suelo inoculado y para ello se utilizó el contador de colonias, el nos ayuda a llevar mejor el conteo. En el caso del conteo de CO<sub>2</sub> también requirió esperar 48 horas a partir de su instalación, una vez transcurrido 48 horas y con la ayuda de una bureta a la cual se la lleno de ácido clorhídrico (HCl) se procedió abrir los envases un por uno evitando así que se escape CO<sub>2</sub>, con una pipeta tomar 1ml de cloruro de bario y agregar en el vaso que se sacó del envase el cual contuvo hidróxido de sodio (NaOH), agregar 3 gota de Fenolftaleina esto (cambio a un color morado) mezclar un poco y agregar ácido clorhídrico (HCl) hasta que quede blanco lechoso y se procedió a medir el pH. Una vez que nos arrojó los datos se procedió a realizar un cálculo con la ayuda de una fórmula para determinar cuál es el porcentaje de CO<sub>2</sub> que cada tratamiento contiene. Según el "Manual de Métodos Analíticos de Laboratorio de Suelos" del IGAC (1990).(Ricardo & Delgado, 2006)

Cálculo de CO<sub>2</sub>

$$R = (B - M) \times N \times E$$

B= Volumen del acido necesario

M= Volumen de HCl

N= Normalidad

E= Peso equivalente del CO<sub>2</sub>

$$R = (B - M) \times 0,2 \frac{\text{equi}}{\text{L}} \times 44,01 \frac{\text{gr}}{\text{equi}}$$

### 10.8 Diseño Experimental.

Se utilizará el método experimental el que consistirá en validar las diferentes metodologías mediante un análisis estadístico del DCA (Diseño completamente al azar) con arreglo factorial de (2x2+1) con 3 repeticiones.

### 10.9 Análisis funcional

Para el análisis funcional se procederá a realizar un análisis mediante el uso del modelo estadístico de ADEVA. Luego se realizará la prueba de significancia de Tukey al 5%.

### 10.10 Factores en estudio

#### Factor A: *Trichodermas*

- a1 Trichoderma Comercial
- a2 Trichoderma Nativo

#### Factor B: Presentaciones

- b1 Líquido
- b2 Sólido

### 10.11 Tratamientos

Los tratamientos en estudio serán 4 como se detalla en el cuadro más 1 testigo.

**Tabla 11:** códigos y descripción

Tratamientos	Códigos	Descripción
T1	a1b1	Trichoderma comercial líquido
T2	a1b2	Trichoderma comercial sólido
T3	a2b1	Trichoderma nativo líquido
T4	a2b2	Trichoderma nativo sólido
T5	Testigo	Sin Trichoderma

**Elaborado por:** Shirley Olivo

### 10.12 Diseño experimental DCA:

Implementado en el laboratorio para el desarrollo del proyecto investigativo.

**Figura 2:** Diseño del experimento

<b>Tratamiento</b>	<b>Repetición I</b>	<b>Repetición II</b>	<b>Repetición III</b>
<b>Trichoderma Comercial Líquido</b>	Testigo	T N L	T N S
<b>Trichoderma Comercial Sólido</b>	T N L	T N S	Testigo
<b>Trichoderma Nativo Líquido</b>	T C S	Testigo	T C L
<b>Trichoderma Nativo Sólido</b>	T N S	T C L	T C S
<b>Testigo</b>	T C L	T C S	T N L

**Elaborado por:** Shirley Olivo

### 10.13 Esquema de ADEVA

**Tabla 12:** Esquema de ADEVA

<b>F.V.</b>	<b>GL.</b>
Tratamiento	4
Factor a	1
Factor b	1
Factor a*Factor b	1
Tratamientos vs Testigo	1
Error	10
Total	13
CV	

**Elaborado por:** Shirley Olivo



## 11. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

### 11.1 Población de hongos $10^{-3}$ siete días después de la inoculación

**Tabla 13:** Resultados del análisis de varianza para población de hongos  $10^{-3}$  siete días después de la inoculación

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor	
Tratamiento	554978,27	4	138744,57	769,66	<0,0001	*
Tricho Com y Nat	193802,08	1	193802,08	1075,07	1,6425E-11	*
Presen Líq y Sól	16060,08	1	16060,08	89,09	2,6921E-06	*
Tricho * Present	4760,08	1	4760,08	26,41	0,00043865	*
Testigo vs resto	340356,02	1	340356,02	1888,07	<0,0001	*
Error	1802,67	10	180,27			
Total	556780,93	14				
<b>CV</b>	<b>2,03</b>					

En la Tabla 13. Según el análisis de varianza (ADEVA) en referencia a la evaluación de los factores que determinaron la tasa de incremento de la población de hongos  $10^{-3}$  siete días después de inoculación para todas las variable se observó diferencia estadística significativa entre estos grupos, el coeficiente de variación (cv) fue de 2,03 %

**Tabla 14:** Prueba de Tukey al 5% para población de hongos  $10^{-3}$  siete días después de la inoculación

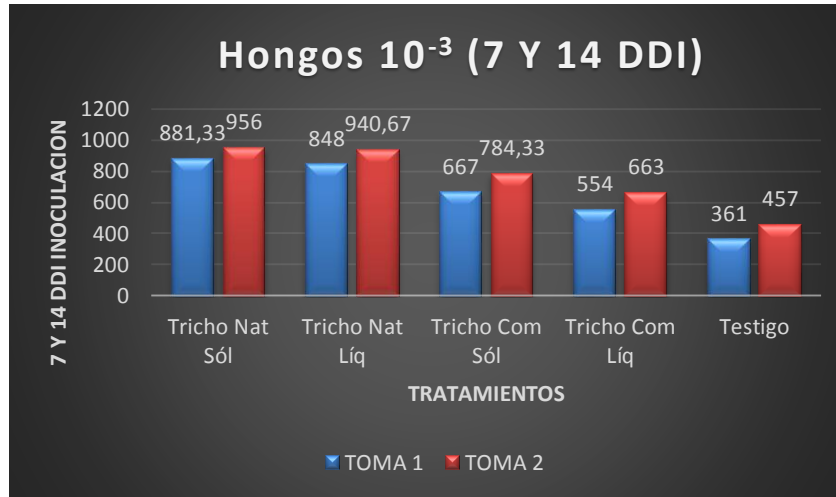
Tratamiento	Medias	Rango
Tricho Nat Sól	881,33	A
Tricho Nat Líq	848	A
Tricho Com Sól	667	B
Tricho Com Líq	554	C
Testigo	361	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

En la tabla 14. Se observó el resultado obtenido en 4 rangos de significación para población de hongos  $10^{-3}$  siete días después de inoculación, donde *Trichoderma* nativo sólido con 881,33 UFC

se ubicó en el rango “A” dando así que significativamente es un buen tratamiento en comparación con el testigo que se ubicó en el rango “D”, con 361 UFC mostrando que no es un buen tratamiento.

**Figura 3:** Poblacion de hongos  $10^{-3}$  siete y catorce días después de la inoculación



Según la figura 3 demuestra que existe un mayor aumento de la población de hongos  $10^{-3}$  14 días después de la inoculación teniendo la mayor cantidad de UFC siendo así que para *Trichoderma* nativo solido 956 UFC, seguido por *Trichoderma* nativo líquido con 940,67 UFC, continuando con *Trichoderma* comercial solido 784,33 UFC, además el *Trichoderma* comercial líquido 633 UFC, y por último tenemos el testigo con 457 UFC.

Es así que (Martín Juárez, 2005) señala que la mejor disolución es a la  $10^{-3}$  debido a que se puede tener un mejor manejo y conteo de la población microbiana, además que esta disolución no aglutina muchos microorganismos ni tampoco se pierden cantidades de los mismos.

### 11.2 Población de hongos $10^{-3}$ catorce días después de la inoculación

**Tabla 15:** Resultados del análisis de varianza para población de hongos  $10^{-3}$  catorce días después de la inoculación

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor
Tratamiento	518599,07	4	129649,77	186,89	<0,0001 *
Tricho Com y Nat	151425,33	1	151425,33	218,28	4,045E-08 *
Presen Líq y Sól	14008,33	1	14008,33	20,19	1,154E-03 *
Tricho * Present	8427	1	8427	12,15	5,869E-03 *
Testigo vs resto	344738,4	1	344738,4	496,93	<0,0001 *

Error	6937,33	10	693,73
Total	525536,4	14	
<b>CV</b>	3,46		

En la Tabla 15. Según el análisis de varianza (ADEVA) en referencia a la evaluación de los factores que determinaron la tasa de incremento de la población de hongos  $10^{-3}$  catorce días después de inoculación todas las variables presentan diferencia estadística significativa, el coeficiente de variación (cv) fue de 3,46 %

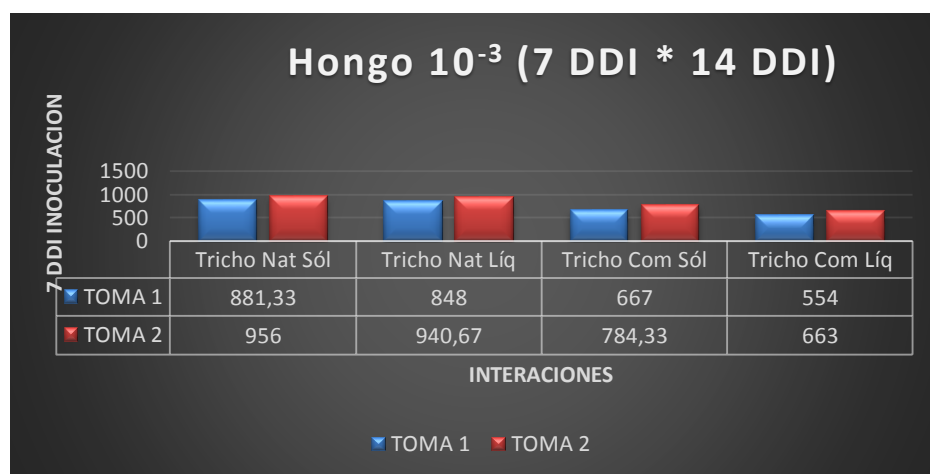
**Tabla 16:** Prueba de Tukey al 5% para población de hongos  $10^{-3}$  catorce días después de la inoculación

Tratamiento	Medias	Rangos
Tricho Nat Sól	956	A
Tricho Nat Líq	940,67	A
Tricho Com Sól	784,33	B
Tricho Com Líq	663	C
Testigo	457	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

En la tabla 16. Se observó el resultado obtenido en cuatro rangos de significación para población de hongos  $10^{-3}$  siete días después de inoculación, donde el *Trichoderma* nativo sólido con 956 UFC se ubicó en el rango “A”, fue evidente el incremento de la población de hongos siendo así el mejor tratamiento en cuanto el testigo se ubicó en el rango “D” con 457 UFC, dándonos como resultado el peor tratamiento.

**Figura 4:** Poblacion de hongos  $10^{-3}$  siete y catorce días después de la inoculación



Según la figura 4 se puede apreciar que existe una diferencia entre la población de hongos  $10^{-3}$  de los siete días después de la inoculación siendo así que para *Trichoderma* nativo solido 881,33 UFC y de catorce días después de la inoculación 956 UFC, teniendo un mayor aumento de la población de hongos  $10^{-3}$  en la segunda inoculación esto demuestra que es el mejor tratamiento versus *Trichoderma* comercial líquido 554 UFC dentro de los siete días después de la inoculación y 633 UFC dentro de los 14 días después de la inoculación teniendo así que no es el mejor tratamiento.

Es así que (Martín Juárez, 2005) señala que la mejor disolución es a la  $10^{-3}$  debido a que se puede tener un mejor manejo y conteo de la población microbiana, además que esta disolución no aglutina muchos microorganismos ni tampoco se pierden cantidades de los mismos.

### 11.3 Población de hongos $10^{-4}$ siete días después de la inoculación

**Tabla 17:** Resultados del análisis de varianza para población de hongos  $10^{-4}$  siete días después de la inoculación

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor	
Tratamiento	389014,93	4	97253,73	16,08	0,0002	*
Tricho Com y Nat	112133,33	1	112133,33	18,54	0,0015	*
Presen Líq y Sól	25025,33	1	25025,33	4,14	0,0693	ns
Tricho * Present	432	1	432	0,07	0,7947	ns
Testigo vs resto	251424,27	1	251424,27	41,57	0,0001	*
Error	60488	10	6048,8			
Total	449502,93	14				
<b>CV</b>	<b>14,75</b>					

En la Tabla 17. Según el análisis de varianza (ADEVA) en referencia a la evaluación de los factores que determinaron la tasa de incremento de la población de hongos  $10^{-4}$  siete días después de inoculación para las variables Tratamiento, *Trichoderma* comercial y nativo y Testigo vs resto presentan diferencia estadística significativa en comparación con Presentación líquido y sólido y *Trichoderma* \* presentación, que no se observó diferencia estadística significativa y el coeficiente de variación (cv) fue de 14,75 %

**Tabla 18:** Prueba de Tukey al 5% para población de hongos  $10^{-4}$  siete días después de la inoculación

Tratamiento	Medias	Rango
Tricho Nat Sól	433,33	A

Tricho Nat LÍq	320	A	B
Tricho Com Sól	297		B
Tricho Com LÍq	245,67		B
Testigo	205		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

En la tabla 18. Se observó el resultado obtenido dos rangos de significación para población de hongos  $10^{-4}$  siete días después de inoculación, el *Trichoderma* nativo sólido con 433,33 UFC se ubicó en el rango “A”, fue evidente el incremento de la población de hongos siendo así el mejor tratamiento en cuanto el testigo se ubicó en el rango “B” con 205 UFC, dándonos como resultado el peor tratamiento.

#### 11.4 Población de hongos $10^{-4}$ catorce días después de la inoculación

**Tabla 19:** Resultados del análisis de varianza para población de hongos  $10^{-4}$  catorce días después de la inoculación

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor	
Tratamiento	373181,73	4	93295,43	5,54	0,013	*
Tricho Com y Nat	72385,33	1	72385,33	4,30	0,065	ns
Presen LÍq y Sól	82336,33	1	82336,33	4,89	0,051	ns
Tricho * Present	2700	1	2700	0,16	0,697	ns
Testigo vs resto	215760,07	1	215760,07	12,82	0,005	*
Error	168278	10	16827,8			
<b>Total</b>	541459,73	14				
<b>CV</b>	<b>20,79</b>					

En la Tabla 19. Según el análisis de varianza (ADEVA) en referencia a la evaluación de los factores que determinaron la tasa de incremento de la población de hongos  $10^{-4}$  catorce días después de inoculación en cuanto la variable Tratamiento y Testigo vs resto si se observó diferencia estadística significativa por otro lado para *Trichoderma* comercial y nativo, Presentación líquido y sólido y *Trichoderma* \* presentación, no presentan significancia estadística, y el coeficiente de variación (cv) fue de 20,79 %

**Tabla 20:** Prueba de Tukey al 5% para población de hongos  $10^{-4}$  siete días después de la inoculación

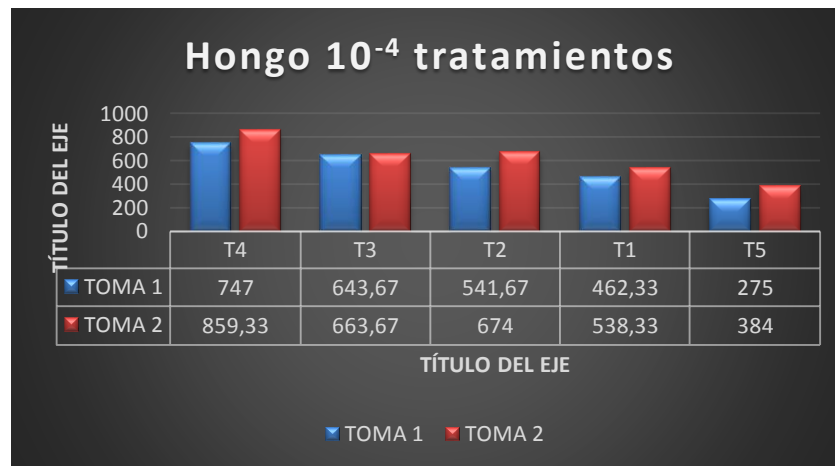
Tratamiento	Medias	Rango
Tricho Nat Sól	859,33	A

Tricho Nat LÍq	674	A	B
Tricho Com Sól	663,67	A	B
Tricho Com LÍq	538,33	A	B
Testigo	384		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

En la tabla 20. Se observó el resultado obtenido dos rangos de significación para población de hongos  $10^{-4}$  catorce días después de inoculación, el *Trichoderma* nativo sólido con 859,33 UFC se ubicó en el rango “A”, fue evidente el incremento de la población de hongos siendo así el mejor tratamiento en cuanto el testigo se ubicó en el rango “B” con 384 UFC, dándonos como resultado el peor tratamiento.

**Figura 5:** Población de hongos  $10^{-4}$  siete y catorce días después de la inoculación



Según la figura 5 se puede apreciar que existe una diferencia entre la población de hongos  $10^{-4}$  de los siete días después de la inoculación siendo así que para *Trichoderma* nativo sólido 747 UFC y de catorce días después de la inoculación 859,33 UFC, teniendo un mayor aumento de la población de hongos  $10^{-3}$  en la segunda inoculación esto demuestra que es el mejor tratamiento versus el testigo 275 UFC dentro de los siete días después de la inoculación y 384 UFC dentro de los 14 días después de la inoculación teniendo así que no es el mejor tratamiento.

### 11.5 Población de bacterias $10^{-3}$ siete días después de la inoculación

**Tabla 21:** Resultados del análisis de varianza para población de bacterias  $10^{-3}$  siete días después de la inoculación

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor	
Tratamiento	117925,73	4	29481,43	6,9	0,0062	*
Tricho Com y Nat	36080,33	1	36080,33	8,45	0,0157	*
Presen Líq y Sól	28812	1	28812	6,75	0,0266	*
Tricho * Present	19521,33	1	19521,33	4,57	0,0582	ns
Testigo vs resto	33512,07	1	33512,07	7,85	0,0188	*
Error	42704	10	270,4			
Total	160629,73	14				
CV	16,82					

En la Tabla 21. Según el análisis de varianza (ADEVA) en referencia a la evaluación de los factores que determinaron la tasa de incremento de la población de bacterias  $10^{-3}$  siete días después de inoculación para las variables Tratamiento, *Trichoderma* comercial y nativo, Presentación líquido y sólido y el Testigo vs el resto se observó diferencia estadística significativa en cuanto la variable *Trichoderma* \* presentación no presenta significancia estadística, el coeficiente de variación (cv) fue de 16,82 %

**Tabla 22:** Prueba de Tukey al 5% para población de bacterias  $10^{-3}$  siete días después de la inoculación

Tratamiento	Medias	Rangos
Tricho Nat Sól	556,33	A
Tricho Nat Líq	377,67	B
Tricho Com Sól	366	B
Tricho Com Líq	348,67	B
Testigo	294	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

En la tabla 22. Se observó el resultado obtenido dos rangos de significación para población de bacterias  $10^{-3}$  siete días después de inoculación, el *Trichoderma* nativo sólido con 556,33 UFC se ubicó en el rango “A”, fue evidente el incremento de la población de bacterias siendo así el mejor tratamiento en cuanto el testigo se ubicó en el rango “B” con 294 UFC, dándonos como resultado el peor tratamiento.

### 11.6 Población de bacterias $10^{-3}$ catorce días después de la inoculación

**Tabla 23:** Resultados del análisis de varianza para población de bacterias  $10^{-3}$  catorce días después de la inoculación

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor	
Tratamiento	160745,07	4	40186,27	5,75	0,0115	*
Tricho Com y Nat	27552,08	1	27552,08	3,94	0,0752	ns
Presen Líq y Sól	14770,08	1	14770,08	2,11	0,1767	ns
Tricho * Present	24570,75	1	24570,75	3,51	0,0903	ns
Testigo vs resto	93852,15	1	93852,15	13,42	0,0044	*
Error	69915,33	10	6991,53			
Total	230660,4	14				
CV	18,25					

En la Tabla 23. Según el análisis de varianza (ADEVA) en referencia a la evaluación de los factores que determinaron la tasa de incremento de la población de bacterias  $10^{-3}$  catorce días después de inoculación para las variables Tratamiento y Testigo vs resto se observó diferencia estadística significativa en cuanto a las variables *Trichoderma* comercial y nativo, Presentación líquido y la variable *Trichoderma* \* presentación no presenta significancia estadística, el coeficiente de variación (cv) fue de 18,25 %

**Tabla 24:** Prueba de Tukey al 5% para población de bacterias  $10^{-3}$  catorce días después de la inoculación

Tratamiento	Medias	Rango	
Tricho Nat Sól	626	A	
Tricho Nat Líq	465,33	A	B
Tricho Com Sól	460	A	B
Tricho Com Líq	439,67	A	B
Testigo	300		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

En la tabla 24. Se observó el resultado obtenido dos rangos de significación para población de bacterias  $10^{-3}$  catorce días después de inoculación, el *Trichoderma* nativo sólido con 626 UFC se ubicó en el rango “A”, fue evidente el incremento de la población de bacterias siendo así el mejor tratamiento en cuanto el testigo se ubicó en el rango “B” con 300 UFC, dándonos como resultado el peor tratamiento.



### 11.7 Población de bacterias $10^{-4}$ siete días después de la inoculación

**Tabla 25:** Resultados del análisis de varianza para población de bacterias  $10^{-4}$  siete días después de la inoculación

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor	
Tratamiento	90491,07	4	22622,77	8,95	0,0024	*
Tricho Com y Nat	2883	1	2883	1,141	0,3106	ns
Presen Líq y Sól	20336,33	1	20336,33	8,048	0,0176	*
Tricho * Present	33285,33	1	33285,33	13,172	0,0046	*
Testigo vs resto	33986,4	1	33986,4	13,45	0,0043	*
Error	25269,33	10	2526,93			
Total	115760,4	14				
CV	19,12					

En la Tabla 25. Según el análisis de varianza (ADEVA) en referencia a la evaluación de los factores que determinaron la tasa de incremento de la población de bacterias  $10^{-4}$  siete días después de inoculación las variables Tratamiento, Presentación líquido y sólido, *Trichoderma* \* presentación y la variable testigo vs el resto se observó diferencia estadística significativa en cuanto para la variante *Trichoderma* comercial y nativo no presenta significancia estadística, el coeficiente de variación (cv) fue de 19,12%

**Tabla 26:** Prueba de Tukey al 5% para población de bacterias  $10^{-4}$  siete días después de la inoculación

Tratamiento	Medias	Rango
Tricho Nat Sól	433,33	A
Tricho Nat Líq	320	A B
Tricho Com Sól	297	B
Tricho Com Líq	245,67	B
Testigo	205	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

En la tabla 26. Se observó el resultado obtenido dos rangos de significación para población de bacterias  $10^{-4}$  catorce días después de inoculación, el *Trichoderma* nativo sólido con 433,33 UFC se ubicó en el rango “A”, fue evidente el incremento de la población de bacterias siendo así el mejor tratamiento en cuanto el testigo se ubicó en el rango “B” con 205 UFC, dándonos como resultado el peor tratamiento.

### 11.8 Población de bacterias $10^{-4}$ catorce días después de la inoculación

**Tabla 27:** Resultados del análisis de varianza para población de bacterias  $10^{-4}$  siete días después de la inoculación

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor	
Tratamiento	112561,33	4	28140,33	8,88	0,0025	*
Tricho Com y Nat	14981,33	1	14981,33	4,73	0,0547	ns
Presen Líq y Sól	9861,33	1	9861,33	3,11	0,1081	ns
Tricho * Present	28812	1	28812	9,10	0,0130	*
Testigo vs resto	58906,67	1	58906,67	18,6	0,0015	*
Error	31676	10	3167,6			
Total	144237,33	14				
CV	16,25					

En la Tabla 27. Según el análisis de varianza (ADEVA) en referencia a la evaluación de los factores que determinaron la tasa de incremento de la población de bacterias  $10^{-4}$  catorce días después de inoculación para las variables Tratamiento, *Trichoderma* \* presentación, y la variable Testigo vs resto se observó diferencia estadística significativa, en cuanto a las variables *Trichoderma* comercial y nativo y *Trichoderma* \* presentación no presenta significancia estadística, el coeficiente de variación (cv) fue de 16,25 %

**Tabla 28:** Prueba de Tukey al 5% para población de bacterias  $10^{-4}$  siete días después de la inoculación

Tratamiento	Medias	Rango
Tricho Nat Sól	490,67	A
Tricho Nat Líq	362,67	A B
Tricho Com Sól	335,33	B
Tricho Com Líq	322	B
Testigo	221	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

En la tabla 28. Se observó el resultado obtenido dos rangos de significación para población de bacterias  $10^{-4}$  catorce días después de inoculación, el *Trichoderma* nativo sólido con 490,67 UFC se ubicó en el rango “A”, fue evidente el incremento de la población de bacterias siendo así el mejor tratamiento en cuanto el testigo se ubicó en el rango “B” con 221 UFC, dándonos como resultado el peor tratamiento.

### 11.9 CO<sub>2</sub> siete días después de la inoculación

**Tabla 29:** Resultados del análisis de varianza para Trichodermas y presentaciones en CO<sub>2</sub> primera toma.

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor
Tratamiento	1,86	4	0,46	sd	sd
Tricho Com y Nat	0	1	0	sd	sd
Presen Líq y Sól	0	1	0	sd	sd
Tricho * Present	0	1	0	sd	sd
Testigo vs resto	1,86	1	1,86	sd	<0,0001 *
Error	0	10	0		
Total	1,86	14			
CV	0				

En la Tabla 29. Se muestra el análisis de varianza (ADEVA) en referencia a la evaluación de los factores que determinaron la tasa de incremento siete días después de la inoculación de los *Trichodermas* comercial y nativo no presentan significancia alguna, debido a que los primeros datos dieron como resultado igual para todos los tratamientos, razón por la cual no existe significancia alguna, solo hubo diferencia significativa en Testigo vs resto y el coeficiente de variación (cv) fue de 0. Además de eso no hay prueba de Tukey al 5% por la razón antes mencionada.

### 11.10 CO<sub>2</sub> catorce días después de la inoculación

**Tabla 30:** Resultados del análisis de varianza para Trichodermas y presentaciones en CO<sub>2</sub> segunda toma.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	17,24	4	4,31	16,7	0,0002 *
Tricho Com y Nat	6,45	1	6,45	24,81	0,0006 *
Presen Líq y Sól	2,32	1	2,32	8,92	0,0136 *
Tricho * Present	1,03	1	1,03	3,96	0,0746 ns
Testigo vs resto	7,43	1	7,43	28,8	0,0003 *
Error	2,58	10	0,26		
Total	19,82	14			
CV	12,55				

En la Tabla 29. Se muestra el análisis de varianza (ADEVA) en referencia a la evaluación de los factores que determinaron la tasa de incremento de actividad microbiana catorce días después de

la inoculación teniendo así que de las variables Tratamiento, *Trichoderma* comercial y nativo, Presentación líquido y sólido y la variable Testigo vs resto presentan significancia estadística en comparación con el *Trichoderma* \* presentación, y el coeficiente de variación (cv) fue de 12,55.

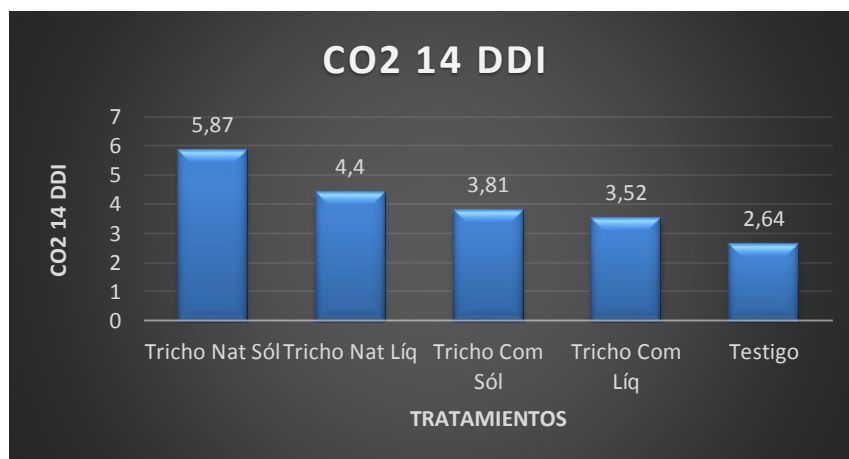
**Tabla 31:** Prueba de Tukey al 5% para comparación entre *Trichodermas* comercial líquido y sólido como *Trichoderma* nativo líquido y sólido

Tratamiento	Medias	Rango	
Tricho Nat Sól	5,87	A	
Tricho Nat Líq	4,4	B	
Tricho Com Sól	3,81	B	C
Tricho Com Líq	3,52	B	C
Testigo	2,64	C	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

En la tabla 30. El resultado obtenido en la segunda toma de CO<sub>2</sub> muestra que existe tres grupos bien definidos el cual para el *Trichoderma* nativo solido con 5,87 se ubicó en el rango “A”, que está por encima del resto de tratamientos dando así que es un buen tratamiento en comparación de los demás, por último, tenemos al testigo que tuvo un valor de 2,64 se ubicaron en el rango “C”, lo que quiere decir que este último no presenta mucha actividad microbiana.

**Figura 6:** CO<sub>2</sub> 14 DDI



Como se puede apreciar en el grafico el cual demuestra que mientras más cantidad de CO<sub>2</sub> se puede asociar con la presencia de microorganismos presentes el suelo que se inoculo con los diferentes *Trichodermas* dando así un resultado del 5,87 mg/100gr de suelo para el *Trichoderma* nativo solido

considerado así un buen tratamiento en cuanto al incremento de actividad microbiana. Teniendo en cuenta que el testigo apenas tuvo un resultado de 2,64 mg/100gr de suelo.

Es así que (Mamani et al., 2014) demuestra estudios realizados en suelos del altiplano la respiración microbiana se midió por la cuantificación de la producción de CO<sub>2</sub>. Siendo así que a los 14 días fue medido después de la inoculación obteniendo buenos resultados.

## **12. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS)**

### **12.1 Impacto Técnico**

Con el desarrollo de este proyecto de investigación, nos ha aportado con una gran y marcada alternativa en la recuperación de suelos erosionados aplicando *Trichoderma* nativo que incrementa la actividad microbiana del suelo. Además de que permite transmitir a los agricultores y estudiantes de la carrera de ingeniería agrónoma un conocimiento de una manera fácil y sencilla en la captura, aislamiento y multiplicación, el mismo que pueden encontrar un video de tutorial.

### **12.2 Impacto Social**

Con este proyecto de investigación tenemos un impacto social positivo y efectivo debido a que con los resultados de la investigación se creara conciencia en el equipo de docentes, estudiantes, agricultores y campesinos para seguir promoviendo el uso de *Trichoderma* para recuperar suelos erosionados.

### **12.3 Impacto Ambiental**

Este proyecto de investigación genero varios impactos positivos ya que ofrece una recuperación de suelo, mejor calidad del mismo, aumento de la vida microbiana, fertilidad y la disminución de utilización de agroquímicos.

### 13. PRESUPUESTO

#### 13.1 Presupuesto general

**Tabla 32:** Presupuesto de materiales de laboratorio

<b>Materiales de laboratorio</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Unidad</b>	<b>Valor unitario \$</b>	<b>Valor total \$</b>
<i>Trichoderma spp</i> comercial líquido	1	Litro	16,00	16,00
<i>Trichoderma spp</i> comercial sólido	1	Gramos	8,0	8,0
Agar PDA	1	Unidad	71,68	71,68
Agar PCA	1	Unidad	79,52	79,52
Ácido clorhídrico	1	Unidad	9,00	9,00
Cloruro de bario	1	Unidad	4,00	4,00
Hidróxido de sodio	1	Unidad	8,50	8,50
Fenolftaleina	1	Unidad	2,50	2,50
Antibiótico	2	Cajas	2,40	4,80
Papel Parafilm	1	Caja	60,00	60,00
Cajas Petri de cristal	10	Unidades	2,50	25,00
Cajas Petri de plástico	6	Paquetes	6,00	36,00
Sacarosa	1	Frasco	3,70	3,70
Pipetas	10	Unidades	0,25	2,50
Porta objetos	10	Unidades	0,25	2,50
Cubre objetos	10	Unidades	0,25	2,50
Bisturís	10	Unidades	0,25	2,50
<b>Subtotal</b>			<b>\$ 274,80</b>	<b>X</b>
<b>Total</b>				<b>\$ 338,70</b>

**Tabla 33:** Presupuesto materiales en general

<b>Material en general</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Unidad</b>	<b>Valor unitario \$</b>	<b>Valor total \$</b>
Fundas ziploc	2	Cajas	2,00	4,00
Baldes	14	Unidades	0,50	7,00
Vasos plásticos	1	Funda	0,50	0,50
Arroz	4	Libras	0,50	2,00
Gasas	10	Unidades	0,10	1,00
Ligas	10	Unidades	0,05	0,50
Tarrinas	50	Unidades	1,75	1,75
Atomizador	4	Unidades	0,50	2,00
Análisis microbiológico	1	Unidad	33,60	33,60
<b>Subtotal</b>			<b>\$ 39,30</b>	<b>X</b>
<b>Total</b>				<b>\$ 51,55</b>

**Tabla 34:** Presupuesto total

<b>Descripción</b>	<b>Valor unitario \$</b>	<b>Valor total \$</b>
--------------------	--------------------------	-----------------------

<b>Materiales de laboratorio</b>	\$ 274,80	\$ 338,70
<b>Material en general</b>	\$ 39,30	\$ 51,55
<b>Subtotal</b>	<b>\$ 314,10</b>	<b>X</b>
<b>Total</b>		<b>\$ 390,25</b>

### 13.2 Análisis económico

**Tabla 35:** Costo Inicial

<b>Costo Inicial</b>				
<b>Materiales</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Unidad</b>	<b>Costo Unitario</b>	<b>Costo Total</b>
Vasos plásticos	1	Funda	0,5	0,5
Gasas	10	Unidades	0,1	1
Ligas	10	Unidades	0,05	0,5
Arroz	4	Libras	0,5	2
Cajas Petri	1	Paquete	6	6
Medio PDA	1	Unidad	71,68	71,68
Papel Parafilm	1	Rollo	60	60
Fundas ziploc	1	Caja	1,5	1,5
Bisturís	5	Unidades	0,25	1,25
<b>Total</b>				<b>\$144,43</b>

**Tabla 36:** Costo Reproducción *Trichoderma* Sólido

<b>Costo Reproducción <i>Trichoderma</i> Sólido</b>				
<b>Materiales</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Unidad</b>	<b>Costo Unitario</b>	<b>Costo Total</b>
Arroz	2	Libras	0,5	1
Fundas ziploc	3	Caja	1,5	4,5
<b>Total</b>				<b>\$5,5</b>

**Tabla 37:** Costo Reproducción *Trichoderma* Líquido

<b>Costo Reproducción <i>Trichoderma</i> Líquido</b>				
<b>Materiales</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Unidad</b>	<b>Costo Unitario</b>	<b>Costo Total</b>
Cajas Petri	1	Paquete	6	6
Medio PDA	19,5	gr	0,15	2,925
<b>Total</b>				<b>\$8,925</b>



## 14. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### Conclusiones

- En cuanto al aislamiento, multiplicación y propagación de *Trichoderma* nativo se obtuvo con éxito las cepas teniendo buen resultado la reproducción en arroz, de la cual se elaboraron *Trichoderma* nativo líquido y sólido esto sirvió para su posterior inoculación en el suelo y la evaluación del aumento de la actividad tanto del *Trichoderma* como de microorganismos que se encontraban presentes en el suelo.
- En cuanto al aumento de la actividad microbiana se pudo constatar que el CO<sub>2</sub> en el suelo fue aumentando gradualmente días después de cada inoculación demostrando así que el *Trichoderma* y el resto de microorganismos generan respiración y por ende forman más CO<sub>2</sub>.
- Por otro lado, en cuanto a la comparar costos de producción entre *Trichoderma* spp comercial y nativo en forma líquido y sólido, se constató que el *Trichoderma* nativo tuvo costos bajos en cuanto a producir un litro de *Trichoderma* en relación a los costos del *Trichoderma* comercial.

### Recomendaciones

- En el sector de Salache, es importante llegar con procesos nuevos a los agricultores con inoculantes biológicos de excelente calidad, además que estos son amigables con medioambiente no generan daño en la salud de sus pobladores, no degradan el suelo y que estos sean económicamente accesibles.
- Es importante hacer aplicaciones de *Trichoderma* spp tanto comercial como nativo en forma líquido y sólido, en el campo para realizar pruebas de efectividad y comprobar las ventajas de la aplicación de este hongo en diferentes suelos y cultivos.
- Mediante el análisis de costo-beneficio se sugiere que el *Trichoderma* nativo sólido es menos costoso que el resto de *Trichodermas* comerciales pudiendo así que los agricultores puedan acceder a realizar su propio inoculante biológico a un costo bajo.

## 15. REFERENCIAS

- Alba, S., Alcázar, M., Cermeño, F., & Barbero, F. (2011). Erosión Y Manejo Del Suelo. Importancia Del Laboreo Ante Los Procesos Erosivos Naturales Y Antrópicos. *Agricultura Ecológica*, 7, 13–38. [http://digital.csic.es/bitstream/10261/60833/1/Capitulo13\\_38.pdf](http://digital.csic.es/bitstream/10261/60833/1/Capitulo13_38.pdf)
- Alberto, C., & Cañarte, N. (2013). *Previa a la Obtención del Título de*.
- Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C., & Codón, A. C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, 7(4), 249–260. <https://doi.org/10.2436/im.v7i4.9480>
- Bermeo, Y. (2018). *Biodegradación de residuos procedentes de una línea de producción de laminados empleando Trichoderma sp.* <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/15742/1/UPS-CT007725.pdf>
- Chavez Garcia, M. P. (2011). *Produccion de Trichoderma sp y evaluacion de su efecto en cultivo de crisantemo*. 1–9.
- Chiriboga, H., Gómez, G., & Garcés, K. (2015). *Trichoderma spp. para el control biológico de enfermedades: Trichoderma spp. para el control biológico de enfermedades. Instituto Interamericano de Cooperación Para La Agricultura (IICA)*, 15. <https://repositorio.iica.int/bitstream/handle/11324/2647/BVE17038725e.pdf;jsessionid=FAE20E917A88F674C3FCEC4837B98B67?sequence=1>
- Eraso Insuasty, C., Acosta Rodríguez, J., Salazar González, C., & Betancourth García, C. (2014). Evaluación de cepas de *Trichoderma* spp. para el manejo del amarillamiento de arveja causado por *Fusarium oxysporum*. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 15(2), 237. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol15\\_num2\\_art:363](https://doi.org/10.21930/rcta.vol15_num2_art:363)
- Freire, C. C. (2013). *Recuperación de cárcavas con agave (penco azul) para la protección biológica ambiental del estadio Ceypsa, parroquia Eloy Alfaro, cantón Latacunga, provincia de*.
- Guerron, J. (2015). *RESPUESTA DEL SUELO Y DEL CULTIVO DE TOMATE HORTÍCOLA (Lycopersicon esculentum) A LA APLICACIÓN DE LACTOFERMENTOS ENRIQUECIDOS*. 152. file:///D:/DECIMO/TESIS/BIBLIOGRAFIAS/Tesis-115 Ingeniería

Agronómica -CD 370.pdf

Guigón-lópez, C., Guerrero-prieto, V., Investigación, C. De, Cuauhtémoc, P. C., Cp, M., Vargas-albores, F., Carvajal-millán, E., Investigación, C. De, Hermosillo, U., Hermosillo, A. P., Cp, M., Ávila-quezada, G. D., Investigación, C. De, Unidad, D. A. C., Ave, D., Desierto, V., México, M. C. P., Bravo-, L., Desarrollo, C. De, ... Correspondencia, I. (2010).

Identificación Molecular de Cepas Nativas de *Trichoderma* spp. su Tasa de Crecimiento in vitro y Antagonismo contra Hongos Fitopatogenos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 28(2), 87–96.

Hernández-Melchor, D. J., Ferrera-Cerrato, R., & Alarcón, A. (2019). Trichoderma: IMPORTANCIA AGRÍCOLA, BIOTECNOLÓGICA, Y SISTEMAS DE FERMENTACIÓN PARA PRODUCIR BIOMASA Y ENZIMAS DE INTERÉS INDUSTRIAL. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences, ahead*, 0–0. <https://doi.org/10.4067/s0719-38902019005000205>

Herrera-Estrella, A., & Chet, I. (2003). *The Biological Control Agent Trichoderma From Fundamentals To Applications. February 2004.* <https://doi.org/10.1201/9780203913369.ch13>

Ike, V., Miranti, R., Brian, F., Monika, S., & Julie, F. (2009). Trichoderma: Ganoderma Disease Control in Oil Palmn A Manual. In C. Brian P. ETAL (Ed.), *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11), 951–952. [https://cloudflare-ipfs.com/ipfs/bafykbzaceat6h2ii4quincrtjwaqzykrq3nznostxisojgdp552ngctud7x3y?filename=%28Techniques in Plantation Science Ser%29 Caligari%2C Peter D. S.\\_ Flood%2C Julie\\_ Forster%2C Brian\\_ Rahmaningsih%2C Miranti\\_ Virdiana%2C Ike - Trich](https://cloudflare-ipfs.com/ipfs/bafykbzaceat6h2ii4quincrtjwaqzykrq3nznostxisojgdp552ngctud7x3y?filename=%28Techniques%20in%20Plantation%20Science%20Ser%29%20Caligari%20Peter%20D.%20S.%20Flood%20Julie%20Forster%20Brian%20Rahmaningsih%20Miranti%20Virdiana%20Ike%20Trich)

INEC. (2013). Uso de plaguicidas en la agricultura. *Ecuadorencifras*, 1–15.

Mamani, A. C., Casas, R. M., & Mamani, J. C. (2014). Nitrógeno mineral y actividad microbiana en suelos del altiplano central boliviano. *RIIARn*, 1(1), 65–72.

Martín Juárez, B. (2005). *Estudio de las comunidades microbianas de embutidos fermentados ligeramente acidificados mediante técnicas moleculares. Estandarización, seguridad y mejora tecnológica.* <http://www.tdx.cat/handle/10803/7790>

- Martínez, B., Infante, D., & Reyes, Y. (2013). Trichoderma spp. and their role in the control of crop pests. *Rev. Protección Veg*, 28(1), 1–11. file:///C:/Users/usuario/Documents/Control Biologico de Trichoderma.pdf
- Municipio Cantonal de Latacunga. (2019). Actualización del plan de desarrollo y ordenamiento territorial del cantón LATACUNGA. *Gad Latacunga*, 2013, 399–404.
- Nugra, A. (2018). *Evaluación de sustratos orgánicos para la propagación del Trichoderma spp.* (p. 76).
- Ortuño, N., Miranda, C., & Mayra, C. (2013). Selecting strains of Trichoderma spp. generating secondary metabolites of interest for use as a growth promoter in plants grown. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 1(1), 16–32.
- Rey, M., Delgado-Jarana, J., Rincón, A. M., Limón, M. C., & Benítez, T. (2000). Mejora de cepas de Trichoderma para su empleo como biofungicidas. *Revista Iberoamericana de Micología*, 17(1), 31–36. <http://www.reviberoammicol.com/2000-17/S31S36.pdf>
- Ricardo, J., & Delgado, M. (2006). *lunazul . ucaldas . edu . co - LA ACTIVIDAD MICROBIANA : UN INDICADOR INT ...* Página 1 de 6 *LA ACTIVIDAD MICROBIANA : UN INDICADOR INTEGRAL DE LA CALIDAD DEL SUELO ( 1 )*. 1, 1–6. [http://lunazul.ucaldas.edu.co/downloads/Lunazul5\\_6\\_9.pdf](http://lunazul.ucaldas.edu.co/downloads/Lunazul5_6_9.pdf)
- Torsvik, V., Goksoyr, J., & Daae, F. L. (1990). High diversity in DNA of soil bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(3), 782–787. <https://doi.org/10.1128/aem.56.3.782-787.1990>
- Tsahouridou, P. C., & Thanassoulopoulos, C. C. (2001). Trichoderma koningii as a potential parasite of sclerotia of Sclerotium rolfsii. *Cryptogamie, Mycologie*, 22(4), 289–295. [https://doi.org/10.1016/S0181-1584\(01\)01073-9](https://doi.org/10.1016/S0181-1584(01)01073-9)
- Vallejo, I. M. T. (2014). “Caracterización Y Clasificación De Trichodermas Nativos Aplicando Diferentes Medios De Cultivo a Nivel De Laboratorio Artesanal”. In *Universidad Técnica De Ambato* (p. 118). [http://repo.uta.edu.ec/bitstream/handle/123456789/5301/Mg.DCEv.Ed.1859.pdf?sequence=](http://repo.uta.edu.ec/bitstream/handle/123456789/5301/Mg.DCEv.Ed.1859.pdf?sequence=3)

Zaremba, L. S., & Smoleński, W. H. (2000). Optimal portfolio choice under a liability constraint. *Annals of Operations Research*, 97(1–4), 131–141. <https://doi.org/10.1023/A>

## 16. ANEXOS

### 16.1 Anexo 1: Fotografías del Manejo del ensayo

Figura 7: Toma de muestras de suelo



Figura 8: Adecuación del ensayo



Figura 9: Colocación de trampas de arroz



Figura 10: Captura de microorganismos



Figura 11: Aislamiento de microorganismos



Figura 12: Purificación de Trichoderma

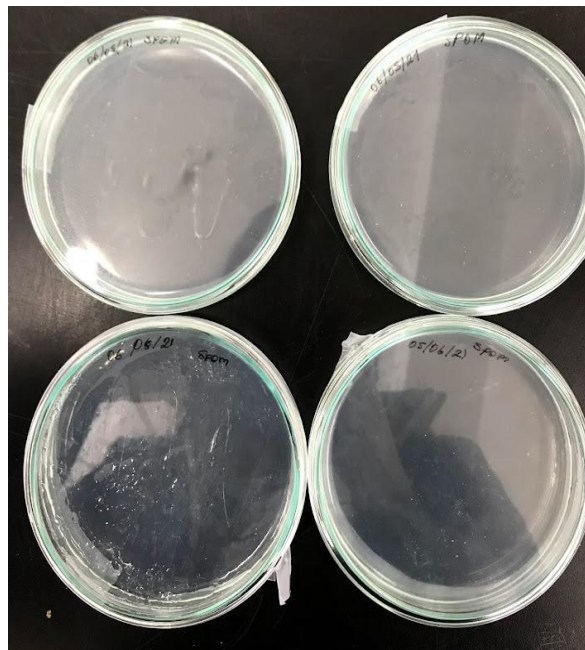


Figura 13: Trichoderma comercial líquido



Figura 14: Trichoderma comercial sólido



Figura 15: Identificación de Trichoderma

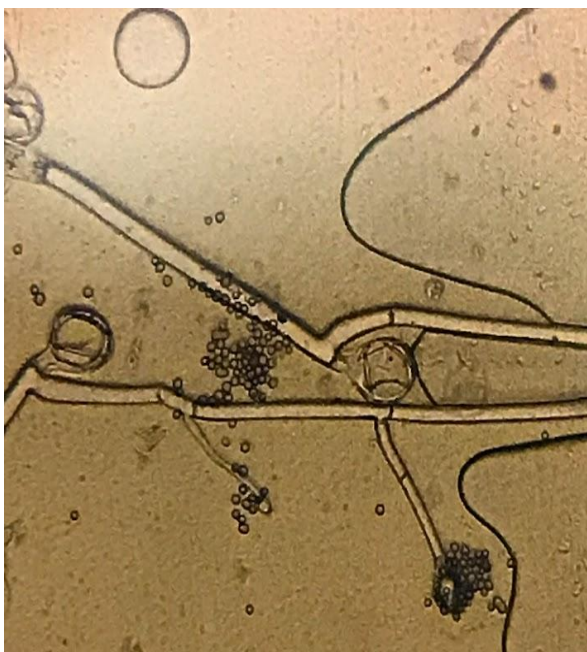


Figura 16: Producción de Trichoderma



Figura 17: Trichoderma nativo líquido

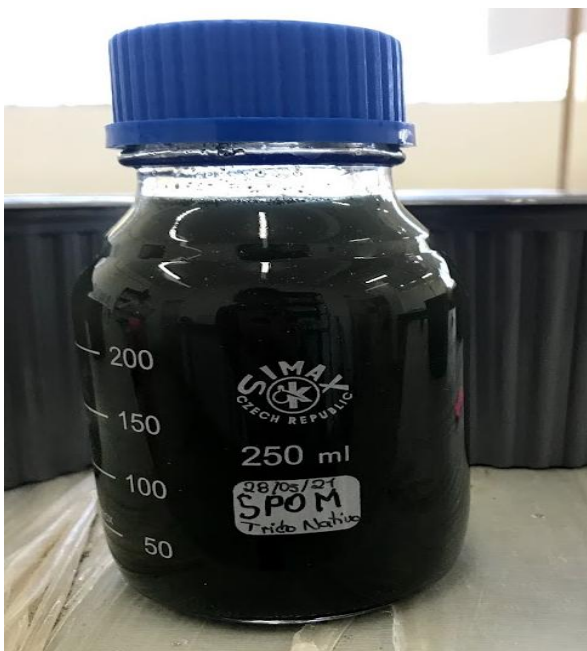


Figura 18: Trichoderma nativo salido

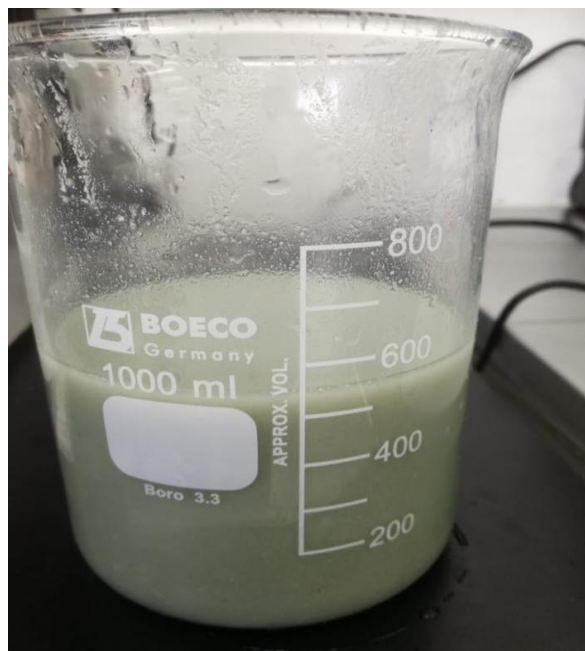




Figura 19: Inoculación de Trichodermas



Figura 20: Conteo de colonias

Figura 21: Implementación para CO<sub>2</sub>Figura 22: Conteo de CO<sub>2</sub>

## 16.2 Anexo 2: Aval de traducción



### *AVAL DE TRADUCCIÓN*

En calidad de Docente del Idioma Inglés del Centro de Idiomas de la Universidad Técnica de Cotopaxi; en forma legal **CERTIFICO** que:


La traducción del resumen al idioma Inglés del proyecto de investigación cuyo título versa: **“EVALUACIÓN DE *TRICHODERMA SPP* COMERCIAL Y NATIVO EN FORMA LÍQUIDO Y SOLIDO PARA EL INCREMENTO DE LA ACTIVIDAD MICROBIOLÓGICA SOBRE UN SUELO EROSIONADO EN CEYPSA, SECTOR SALACHE, CANTÓN LATACUNGA, PROVINCIA DE COTOPAXI 2021”** presentado

por: **Olivo Molina Shirley Patricia**, egresada de la Carrera de **Ingeniería Agronómica** perteneciente a la **Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales**, lo realizó bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical del Idioma.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo a la peticionaria hacer uso del presente aval para los fines académicos legales.

Latacunga, Agosto del 2021

Atentamente,

  
MSc. Alison Mena Barthelotty

DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS-UTC



Firmado electrónicamente por:  
MARCO PAUL  
BELTRAN LACUNGA - ECUADOR  
SEMBLANTES



CENTRO  
DE IDIOMAS