



Universidad
Nacional
de Loja

Universidad Nacional de Loja

Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables

Carrera de Agronomía

Caracterización de aislados de *Trichoderma* spp. procedentes del fitobioma en la provincia de Loja y su antagonismo frente a microorganismos fitopatógenos.

Trabajo de Titulación, previo a la obtención del título de Ingeniera Agrónoma.

AUTORA:

Karen Lisseth Jiménez Armijos

DIRECTOR:

Ing. Ángel Rolando Robles Carrión. PhD.

Loja – Ecuador

2024

Certificación

Loja, 20 de Febrero de 2024

Ing. Ángel Rolando Robles Carrión, PhD.

DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

C E R T I F I C O:

Que he revisado y orientado todo el proceso de elaboración del Trabajo de Titulación denominado: **Caracterización de aislados de *Trichoderma* spp. procedentes del fitobioma en la provincia de Loja y su antagonismo frente a microorganismos fitopatógenos**, previo a la obtención del título de **Ingeniera Agrónoma**, de la autoría de la estudiante **Karen Lisseth Jiménez Armijos**, con cédula de identidad Nro. **1105410722**, una vez que el trabajo cumple con todos los requisitos exigidos por la Universidad Nacional de Loja, para el efecto, autorizo la presentación del mismo para su respectiva sustentación y defensa



Ing. Ángel Rolando Robles Carrión. PhD.

DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Autoría

Yo, **Karen Lisseth Jiménez Armijos**, declaro ser autora del presente Trabajo de Titulación y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido del mismo. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi Trabajo de Titulación, en el Repositorio Digital Institucional – Biblioteca Virtual.

Firma: 

Cédula de identidad: 1105410722

Fecha: 02/04/2024

Correo electrónico: karen.l.jimenez@unl.edu.ec

Teléfono: 0980668904

Carta de autorización por parte de la autora para la consulta, reproducción parcial o total, y/o publicación electrónica de texto completo, del Trabajo de Titulación.

Yo, **Karen Lisseth Jiménez Armijos**, declaro ser autora del Trabajo de Titulación denominado: **Caracterización de aislados de *Trichoderma* spp. procedentes del fitobioma en la provincia de Loja y su antagonismo frente a microorganismos fitopatógenos**, como requisito para optar por el título de **Ingeniera Agrónoma**, autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del Trabajo de Titulación que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, suscribo, en la ciudad de Loja, a los dos días del mes de abril de dos mil veinticuatro.

Firma: 

Autora: Karen Lisseth Jiménez Armijos

Cédula de identidad: 1105410722

Dirección: Isidro Ayora y 18 de Agosto, Catamayo

Correo electrónico: karen.l.jimenez@unl.edu.ec

Teléfono: 0980668904

DATOS COMPLEMENTARIOS

Director del Trabajo Titulación: Ing. Ángel Rolando Robles Carrión. PhD.

Dedicatoria

A mi madre Cecilia Armijos, quien ha sido mi fuente de inspiración en este trayecto. Tus consejos, amor y decisión me han enseñado a enfrentarme a los retos de la vida.

A mi gran ejemplo, mi padre Manuel Jiménez por animarme a seguir adelante. Sin ti este esfuerzo no valdría la pena.

A mis tíos Esperanza, Rosario, Wilmer, Josefina por estar siempre presentes durante mi etapa de estudio brindándome apoyo moral y económico.

A mis hermanos Alexis, Stalin, Cindy, José por ser mi compañía y alegría en todo momento y Jorge (+) que a pesar que no se encuentra físicamente, siempre está presente en mi corazón.

Y finalmente este logro le dedico a la mujer que ahora soy, quien no se ha rendido y ha podido alcanzar la meta.

“Por muchos sueños más por cumplir”.

Karen Lisseth Jiménez Armijos

Agradecimiento

Mi agradecimiento a Dios primeramente porque ha sido el pilar fundamental de mi vida, quien ha puesto todo en mi camino en el momento perfecto y me ha regalado el don de la sabiduría, la fuerza y el coraje para poder culminar con éxito este trabajo.

A mis queridos padres y familia en general quienes han sido mi motor y mi apoyo incondicional en todo momento, gracias por enseñarme el valor de la perseverancia.

A la prestigiosa Universidad de Loja, Facultad Agropecuaria de Recursos Naturales Renovables, a la planta docente de la Carrera de Agronomía quienes me han impartido sus conocimientos durante mi formación académica. De manera especial a mi tutor Ing. Ángel Robles, PhD. por su dedicación y asesoramiento durante la ejecución de mi trabajo. Al Dr. Santiago Vásquez y Ing. Marlon Pineda por sus directrices y correcciones en la redacción de la tesis. Así mismo al Ing. Byron Becerra técnico del Laboratorio de Sanidad Vegetal que con su paciencia me ha guiado durante todo el proceso práctico de esta investigación.

Y como no agradecer a mis compañeros y amigos de manera particular al grupo que se formó desde inicio de la carrera y que me han venido acompañando a Ramiro, Jairo, Angie, Fernando, Cristina, Lenin, Aurilia y Damarys.

Karen Lisseth Jiménez Armijos

Índice de Contenidos

Portada	i
Certificación	ii
Autoría	iii
Carta de autorización	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Índice de Contenidos	vii
Índice de Tablas	ix
Índice de Figuras	x
Índice de Anexos	xi
1. Título	1
2. Resumen	2
Abstract	3
3. Introducción	4
Objetivo General:	6
Objetivos Específicos	6
4. Marco Teórico	7
4.1. El Suelo y sus componentes microbianos (fitobioma)	7
4.2. Origen, diversidad ecológica y uso de <i>Trichoderma</i>	7
4.2.1. Taxonomía	7
4.2.2. Morfología	8
4.2.3. Biología.....	8
4.3. Factores que influyen en el crecimiento	9
4.4. Mecanismos de acción de <i>Trichoderma</i>	9
4.4.1. Competencia	10
4.4.2. Micoparasitismo.....	10
4.4.3. Antibiosis	10

4.4.4.	Resistencia sistémica	11
4.5.	Especies de <i>Trichoderma</i>	11
4.6.	Trabajos realizados en <i>Trichoderma</i>	11
4.6.1.	Aislamiento de <i>Trichoderma</i>	11
4.6.2.	Caracterización de <i>Trichoderma</i>	12
4.6.3.	Antagonismo de <i>Trichoderma</i>	13
5.	Metodología.....	14
5.1.	Ubicación	14
5.2.	Metodología General.....	14
5.3.	Diseño Experimental	14
5.4.	Análisis Estadístico	15
5.5.	Metodología para el primer objetivo. “Aislar y caracterizar morfológica y cultural especies nativas de <i>Trichoderma</i> spp. procedentes del fitobioma de Loja.” ..	15
5.5.1.	Colecta de muestras	15
5.5.2.	Aislamiento	15
5.5.3.	Caracterización morfo-cultural de <i>Trichoderma</i> spp.....	17
5.6.	Metodología para el segundo objetivo. “Evaluar el antagonismo de <i>Trichoderma</i> frente a hongos fitopatógenos”.....	18
5.6.1.	Prueba de antagonismo	18
5.6.2.	Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR)	19
6.	Resultados.....	20
6.1.	Caracterización morfológica y cultural de especies nativas de <i>Trichoderma</i> procedentes del fitobioma.....	20
6.2.	Antagonismo de <i>Trichoderma</i> frente a hongos fitopatógenos	24
7.	Discusión.....	27
8.	Conclusiones.....	30
9.	Recomendaciones.....	31
10.	Bibliografía.....	32
11.	Anexos.....	43

Índice de Tablas

Tabla 1. Sitios de recolección de los diferentes aislados de <i>Trichoderma</i> spp., en la provincia de Loja, Ecuador.	20
Tabla 2. Características cultural-morfológicas de los aislados de <i>Trichoderma</i> spp., procedentes de suelos rizosféricos tomadas de huertos orgánicos de la provincia de Loja, Ecuador.....	23
Tabla 3. Porcentaje de Inhibición del crecimiento radial de <i>Fusarium</i> spp., <i>Colletotrichum</i> spp., y <i>Alternaria</i> spp., frente a cuatro aislados de <i>Trichoderma</i> spp., en condiciones in vitro durante 288 h de evaluación.....	26

Índice de Figuras

Figura 1. Esquema del diseño experimental en condiciones de laboratorio en cajas de Petri.....	15
Figura 2. Representación gráfica de cultivos duales para evaluar la capacidad antagónica de <i>Trichoderma</i> . (Fuente: Autora)	19
Figura 3. Microscopía en el objetivo 40x, en azul de metileno de los aislados de <i>Trichoderma</i> , C2M2 (a), O1Y1 (b), C1M2 (c), Z1L1 (d). (Fuente: Autora).	21
Figura 4. Anverso (a) y reverso (b) del aislado C2M2, en medio PDA. (Fuente: Autora).....	21
Figura 5. Anverso y reverso del aislado O1Y1, en medio de cultivo PDA. (Fuente: Autora).....	22
Figura 6. Anverso y reverso del aislado C1M2, en medio de cultivo PDA. (Fuente: Autora).....	22
Figura 7. Anverso (a) y reverso (b) del aislado Z1L1, en medio de cultivo PDA. (Fuente: Autora).....	23
Figura 8. Antagonismo in vitro a las 288 horas de especies de <i>Trichoderma</i> spp., contra hongos fitopatógenos. (Fuente: Autora).	24

Índice de Anexos

Anexo 1. Datos de la Tasa de Crecimiento Radial (TCR).....	43
Anexo 2. Resultados del Análisis de Varianza para la TCR	43
Anexo 3. Datos del tamaño de conidias	43
Anexo 4. Resultados del Análisis de Varianza para la medición de conidias	46
Anexo 5. Datos del conteo de conidias.....	47
Anexo 6. Resultados del Análisis de Varianza para el conteo de conidias	47
Anexo 7. Porcentajes de inhibición de <i>Trichoderma</i> frente a los fitopatógenos.....	47
Anexo 8. Resultados del Análisis de Varianza para PICR%	49
Anexo 9. Muestras del suelo de las distintas localidades	50
Anexo 10. Siembra de <i>Trichoderma</i>	50
Anexo 11. Procedimiento para el conteo de conidias en la Cámara de Neubauer.....	50
Anexo 12. Observación en el microscopio de las estructuras reproductivas y medición de conidias.	51
Anexo 13. Medición de los cultivos duales	51
Anexo 14. Certificado de la traducción del resumen.....	52

1. Título

Caracterización de aislados de *Trichoderma* spp. procedentes del fitobioma en la provincia de Loja y su antagonismo frente a microorganismos fitopatógenos.

2. Resumen

El principal reto de la agricultura es producir, para satisfacer la población a nivel mundial, con el uso eficiente de recursos. No obstante, comúnmente se utiliza de manera excesiva e inadecuada agroquímicos para control de patógenos lo que genera resistencia y cambios en la diversidad microbiana. Para aminorar las consecuencias se puede implementar biocontroladores a base de *Trichoderma*. Sin embargo, en Ecuador poco se ha hecho para introducir estas técnicas. Por tal razón, lo que se busca en el presente estudio es identificarlo, conocer su morfología y comportamiento como antagonista de *Fusarium* spp., *Colletotrichum* spp. y *Alternaria* spp., y de esta forma brindar a los productores una alternativa para control de fitopatógenos que sea amigable con el ambiente. Para lo cual se recolectaron muestras de suelo de huertos orgánicos a una profundidad de 10 cm y se trasladaron para ser analizadas en el laboratorio de Sanidad Vegetal de la Universidad Nacional de Loja. Se utilizó la técnica de diluciones seriadas, dichas diluciones se sembraron en medio PDA y se incubaron a temperatura de 25 ° C. Las muestras que presentaban características de *Trichoderma* se purificaron y se realizaron repiques para luego efectuar una caracterización cultural (aspecto, superficie, color) y morfológica (TCR, UFC, Tamaño de conidias). Adicionalmente se ejecutaron pruebas de antagonismo mediante cultivos duales en la caja de Petri donde se consideró a los cuatro aislados de *Trichoderma* frente a los tres fitopatógenos. Como resultados se obtuvo 4 aislados de *Trichoderma* que presentaron características propias del hongo, con una tasa de crecimiento radial rápida de 1,25 mm/día, un tamaño de 3,92 (largo) x 2,61 mm (ancho) y $9,26 \times 10^7$ conidios/ml. El aislado C2M2 controló a *Fusarium* spp. en un porcentaje de 82,33%, Z1L1 destacó con 88,91% frente a *Colletotrichum* spp. y C1M2 con *Alternaria* spp. en un 76,84%.

Palabras claves: microorganismos, caracterización morfocultural, *Trichoderma* spp, antagonista.

Abstract

The main challenge of agriculture is to produce, to satisfy the world's population, with the efficient use of resources. However, agrochemicals are commonly used excessively and inadequately to control pathogens, which generates resistance and changes in microbial diversity. To mitigate the consequences, bio-controllers based on *Trichoderma* can be implemented. However, little has been done in Ecuador to introduce these techniques. For this reason, the aim of the present study is to identify it, to know its morphology and behavior as an antagonist of *Fusarium* spp., *Colletotrichum* spp. and *Alternaria* spp. and, in this way, to offer growers an environmentally friendly alternative for the control of phytopathogens. Soil samples were collected from organic farms at a depth of 10 cm and taken to the Plant Health Laboratory of the National University of Loja for analysis. The technique of serial dilutions was used, these dilutions were sown in PDA medium and incubated at a temperature of 25°C. The samples that presented characteristics of *Trichoderma* were purified and replicated for cultural (appearance, surface, color) and morphological (TCR, CFU, size of conidia) characterization. Additionally, antagonism tests were carried out by means of dual cultures in the Petri dish where the four isolates of *Trichoderma* were considered against the three phytopathogens. As results, 4 isolates of *Trichoderma* were obtained that presented characteristics typical of the fungus, with a rapid radial growth rate of 1.25 mm/day, a size of 3.92 (length) x 2.61 mm (width) and 9.26 x 10⁷ conidia/ml. Isolate C2M2 controlled *Fusarium* spp. by 82.33%, Z1L1 stood out with 88.91% against *Colletotrichum* spp. and C1M2 with *Alternaria* spp. by 76.84%.

Key words: microorganisms, morphocultural characterization, *Trichoderma* spp, antagonist.

3. Introducción

En las últimas décadas, varios estudios comenzaron a reconocer el papel clave de los microorganismos en los ecosistemas naturales y manejados. Donde una planta ya no se ve como un individuo, sino como una entidad más grande u “holobionte” denominado fitobioma vegetal (Tosi et al., 2020), que comprende los cultivos, virus, bacterias, hongos, oomicetos, algas y animales; así como su entorno (Smiley, 2021). Logra un progreso significativo en la comprensión de las capacidades funcionales de miembros seleccionados de la microbiota, en su mayoría aquellos con alto potencial agronómico, tal es el ejemplo de *Trichoderma* (Pozo et al., 2021).

Trichoderma son hongos filamentosos aislados como saprófitos del suelo, la hojarasca y la rizosfera. Se encuentran ampliamente distribuidos en todo el mundo (Zhou et al., 2019), crecen en los esporóforos maduros de otros hongos (micoparasitismo necrotrófico), aunque algunos también se encuentran en la madera en descomposición (Druzhinina et al., 2012), se adaptan a una gran variedad de medios (Abbas et al., 2023). Son investigados a nivel mundial gracias a sus propiedades biológicas (Tseng et al., 2020) entre ellas el aumento del suministro de nutrientes que mejoran la producción agrícola (Zuñiga et al., 2022), como la solubilización de fósforo y potasio (Bononi et al., 2020), y la oxidación de azufre en el suelo además de la producción de sideróforos. Tienen un alto potencial antagónico ya que disminuye la severidad de enfermedades mediante la inhibición de fitopatógenos (Stocco et al., 2019). Además de que ayuda a la planta a generar tolerancia al estrés biótico/abiótico y mitiga eventos de contaminación ambiental (Cruz et al., 2021).

El papel fundamental del sector agrícola es proveer alimentación segura y confiable para satisfacer a la población en todo el mundo. Por lo que, el principal reto que enfrenta es producir a gran escala, de modo que se aproveche de forma eficiente los recursos. No obstante, en la actualidad confrontamos otra realidad, pues comúnmente se hace un uso excesivo de agroquímicos para controlar plagas y enfermedades que perturban el equilibrio de los ecosistemas. Es así que en América Latina, pese a ser considerada como una región rica en flora y fauna, tiene limitaciones en la producción de sus cultivos, de igual forma Ecuador, al ser un país megadiverso cuyas características climáticas, suelos y ubicación geográfica llega a ser perjudicial porque beneficia el desarrollo de patógenos. Una de las provincias afectadas es Loja, donde el uso inadecuado de productos químicos es la solución (Nishikawa et al., 2023), sin tomar en cuenta que desencadena resistencia, cambios en la diversidad microbiana edáfica y por ende contaminación ambiental (Del Prado et al., 2022).

Por ende, para aminorar las consecuencias provocadas por los plaguicidas se requiere buscar otras alternativas, como los hongos benéficos existentes en nuestro medio. Tal es el caso de *Trichoderma*, pues se demostró en varios estudios, que protegen a las plantas contra patógenos mediante la secreción de antibióticos, y permite activar su mecanismo de defensa (Viera et al., 2020). También son agentes de biocontrol, con más de 250 biofungicidas comerciales. Así, en un estudio se evaluó como antagonista a *T. atroviride*, frente a *Fusarium solani* donde se redujo significativamente la severidad de la enfermedad (Muñoz et al., 2021). Debido al rápido crecimiento y esporulación su aislamiento es posible por todos los métodos convencionales disponibles. Se detectó que está relacionado con plantas epífitas (aéreas, musgos, líquenes, orquídeas, helechos, bromelias) y endófitas. Varían según los entornos de vida, por ejemplo, se identificaron 9 especies a partir de raíces de pino, 3 grupos específicos en banano, y obtuvo 20 aislamientos de la rizosfera de tomate (Liu et al., 2019).

Aunque los resultados son prometedores, es preciso ahondar en estudios futuros y conocer la diversidad de *Trichoderma* spp. Dada su importancia biológica, actualmente existe gran interés por encontrar nuevas especies en diferente hábitat (Barboza et al., 2022). Sin embargo, en Ecuador poco se ha hecho para introducir técnicas de biocontrol a base del hongo y no se efectúa muchos estudios que hagan uso y análisis de aislados nativos para aprovechar sus múltiples funciones. Por tal razón el objetivo del presente trabajo es identificar *Trichoderma*, además de conocer su morfología y comportamiento como antagonista de fitopatógenos como *Fusarium* spp., *Colletotrichum* spp. y *Alternaria* spp., lo que es una alternativa para los agricultores que es amigable con el medioambiente y que mejora sus producciones y su economía, a través de la proporción de un controlador biológico.

El presente trabajo está relacionado con “Sanidad Vegetal y manejo integrado de plagas y enfermedades agrícolas en diferentes procesos y sistemas productivos”, pues tiene como finalidad lograr mitigar los efectos de agroquímicos para control de patógenos mediante el uso sustentable de las riquezas disponibles en la zona de influencia. Lo cual va de la mano con las líneas de investigación de la Universidad Nacional de Loja de sistemas agropecuarios sostenibles para la soberanía alimentaria y el aprovechamiento de los recursos de la biodiversidad (UNL, 2023), mediante el décimo segundo objetivo ODS que es Producción y Consumo responsable (ONU, 2022). Para ello se plantea los siguientes objetivos:

Objetivo General:

Caracterizar aislados de *Trichoderma* spp. procedentes del fitobioma de la provincia de Loja y su antagonismo frente a microorganismos fitotógenos.

Objetivos Específicos

- Aislar y caracterizar morfológica y cultural especies nativas de *Trichoderma* spp. procedentes del fitobioma de la provincia de Loja.
- Evaluar el antagonismo de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos.

4. Marco Teórico

4.1. El Suelo y sus componentes microbianos (fitobioma)

En el suelo se encuentran una amplia gama de microorganismos como arqueas, hongos, actinomicetos, protistas y otras entidades vivas, sobreviven en diferentes hábitats es decir en condiciones edafoclimáticas distintas, lo que compone un entorno natural denominado fitobioma vegetal. Los microbiomas influyen en la funcionalidad de la planta en múltiples direcciones, como la cadena de suministro de nutrientes esenciales, la determinación de la fertilidad del suelo, la estimulación del crecimiento, el mantenimiento de la salud de las plantas al competir contra los hongos fitopatógenos e inducción de resistencia a enfermedades (Tosi et al., 2020).

4.2. Origen, diversidad ecológica y uso de *Trichoderma*

El género *Trichoderma* se describió por primera vez en 1794 por Persoon (Zhang et al., 2021), son microorganismos de suelos ubicuos, cosmopolitas que presentan esporas con una coloración verdosa (Leiva, 2022), ecológicamente exitosos debido a su rápida tasa de crecimiento y esporulación, así como por la capacidad de secretar una gran diversidad de compuestos con efectos antibióticos (Bader et al., 2019). Se encuentran en regiones templadas y tropicales (Tyśkiewicz et al., 2022), sobreviven en diversos ambientes como cultivos, praderas, bosques marismas y hasta desiertos; se adaptan a diferentes contenidos de nutrientes, materia orgánica y condiciones de temperatura, humedad y pH. Según Amerio et al., (2020) se caracterizan por ser saprófitos y por aportar innumerables beneficios para la agricultura.

4.2.1. Taxonomía

Reino: Mycetae (fungi)

División Eumycota

Subdivisión Ascomycotina

Clase Eucomycetes

Orden Hypocreales

Familia Hypocreaceae

Género *Trichoderma* spp.

(Noboa, 2022; Ipiates et al., 2021).

4.2.2. Morfología

La morfología de los hongos filamentosos es compleja, ya que tiene distintas formas según su crecimiento superficial y sumergido, así como varía en medios de cultivo y ambientes físicos (Dong et al., 2018). *Trichoderma* spp. forman zonas conidiales circulares. Los estados conidiales (imperfectos) son incapaces de reproducirse sexualmente, así como en estados perfectos, como *Hypocrea*; en cuyo caso, la reproducción sexual es posible. Las esporas en germinación, o clamidosporas, se desarrollan formando conidióforos simples o ramificados, cuyas esporas conidiales tienen forma esférica o elipsoidal. La esporulación depende de la disponibilidad de nutrientes y la luz, la temperatura y la competencia de otros microorganismos (Andrzejak & Janowska, 2022).

La fase sexual se caracteriza por la formación de cuerpos fructíferos como peritecios, donde se forman ascos cilíndricos los cuales contienen ocho ascosporas bicelulares que se fragmentan en 16 esporas verdosas o hialinas. En cambio, en la asexual se forman conidióforos que se agregan comúnmente en pústulas extendidas por toda la colonia a partir del micelio vegetativo con un eje central y ramas laterales, terminan en fiálides como verticilos divergentes de células conidiogénicas (Monte et al., 2019). En las fiálides se producen conidios típicos unicelulares, esféricos, ovalados o alargados con una coloración verde o varía de blanco verdoso en la mayoría de las especies (Abreu & Pfenning, 2022; Andrzejak & Janowska, 2022).

4.2.3. Biología

El género *Trichoderma* en su mayoría no se han asociado con un estado sexual, por lo que se supone son mitóticos y clonales, muestran una notable gama de estilos de vida e interactúan con otros organismos (microorganismos, animales o plantas). Entre sus funciones, Mesa et al., (2019) menciona la capacidad enzimática que tiene para degradar sustratos, metabolismo variable y resistencia a inhibidores microbianos.

Las especies de *Trichoderma* son micoparásitos necrotróficos eficientes, lo que los convierte en candidatos idóneos para el control biológico de enfermedades de las plantas es decir atacan y lisan otras células fúngicas y se alimentan de su contenido de células muertas. Las diferentes etapas durante el ataque de los micoparásitos incluyen la detección de los fitopatógenos, la unión a las hifas, la degradación de la pared celular y, en última instancia, la muerte (Atanasova et al., 2021).

4.3. Factores que influyen en el crecimiento

Trichoderma se desarrolla en diversos sustratos, lo cual facilita su producción masiva (Esquivel & Mas, 2021). Por lo general habitan naturalmente en un número importante de suelos agrícolas, con abundante materia orgánica en descomposición (Agamez et al., 2008); las condiciones óptimas para su crecimiento y la producción de esporas son temperaturas que oscilan entre 25 y 40 °C y una actividad del agua de hasta 0,98 (Modrzewska et al., 2022). La humedad también influye de forma significativa en el crecimiento microbiano porque según la humedad del medio va a depender la actividad metabólica del hongo, así como la biosíntesis y la secreción de diferentes metabolitos. Es decir, en una humedad baja limita la difusión de los nutrientes mientras que, a altos valores, disminuye la porosidad del sustrato y dificulta la transferencia de oxígeno. Por lo tanto, lo adecuado es conocer sobre el nivel óptimo de humedad con el objeto de optimizar el crecimiento de microorganismos, tal es el caso de los hongos filamentosos que prefieren una humedad que oscila entre el 20 % y el 70 % (Poalacin, 2015).

Muestran una mayor plasticidad ecológica, dado que por lo general son aeróbicos (Morocho & Leiva, 2019), pero también en determinadas condiciones, pueden ser anaerobios facultativos (Amerio et al., 2020), la conidiación en la fermentación sumergida es un fenómeno difícil, ofrece varias ventajas sobre la fermentación en estado sólido, la fermentación es un proceso aeróbico y, por lo tanto, la transferencia de masa de oxígeno es un obstáculo importante. Además, en la esporulación y la producción de compuestos antimicrobianos se ven muy afectadas por la transferencia de oxígeno (Verma et al., 2023). Sobrevive a un rango de pH relativamente amplio, pero presenta un mayor crecimiento a valores comprendidos entre 2.0 y 9.0, por tanto, el valor óptimo para desarrollo y formación de conidióforos pH cercanos a 6.0 (Cabral et al., 2022).

La mayor parte de las especies del género *Trichoderma* son fotosensibles, es decir, presenta bastante esporulación cuando son expuestas a la luz. No obstante, cuando se someten a períodos alternados de luz y oscuridad, lo que favorece es la colonización del hongo en diferentes sustratos sólidos (Poalacin, 2015).

4.4. Mecanismos de acción de Trichoderma

Como ya se ha mencionado anteriormente, *Trichoderma* se caracteriza por su actividad antagonica, lo que implica distintos mecanismos de acción como micoparasitismo, antibiosis, competencia por nutrientes, entre otros; además, de demostrar una acción

bioreguladora de forma indirecta que promueven defensa fisiológica y bioquímica en la planta para inducir resistencia sistémica a enfermedades, es decir, la vuelven tolerante a diferentes estrés no solo patológicos sino que también nutritivos que en su forma original no son accesibles, de esta manera mejoran el crecimiento y desarrollo (Michel et al., 2019).

4.4.1. Competencia

El antagonismo es la competencia que existe entre dos organismos frente a un nutriente, lo cual genera la reducción sobre la disponibilidad del espacio para el otro individuo. De esta manera, es un tipo de antagonismo que está favorecido por el controlador biológico que tiene una velocidad de crecimiento y desarrollo más rápido, y, por otro lado, por factores externos en este caso edafoclimáticos (Cevallos, 2019).

Trichoderma son hongos con rápido crecimiento micelial y fuerte adaptabilidad al medio ambiente. Puede apoderarse de la parte invasora de los hongos patógenos en la raíz de una planta. A través de su rápido crecimiento y reproducción, puede aprovechar los nutrientes y el espacio cerca de la rizosfera de la planta, consumir oxígeno en el aire y debilitar el crecimiento de hongos patógenos de plantas. La tasa de crecimiento de *Trichoderma* es mucho más rápida que la de los fitopatógenos de plantas; por lo tanto, puede inhibir eficazmente su crecimiento (Yao et al., 2023).

4.4.2. Micoparasitismo

Evita el crecimiento del patógeno para lo cual penetra en el micelio y provoca que las células se deformen, acorten o encojan el protoplasma y rompan la pared celular. Yao et al., (2023) sustentan que en su estudio se demostró que *Trichoderma* parasita cerca de 18 géneros de *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia* y *Peronospora* secreta enzimas que degradan la quitina, para invadir de forma más efectiva el interior de los hongos patógenos, una vez dentro del huésped forma una gran cantidad de ramas y estructuras sexuales lo que inhibe la aparición de los síntomas.

4.4.3. Antibiosis

Trichoderma inhibe el crecimiento de fitopatógenos mediante la secreción de metabolitos secundarios como tricomicina, gelatinomicina, clorotricomicina; los cuales pueden actuar como agentes antibacterianos, además que promueve el crecimiento de las plantas y su mecanismo de defensa lo que proporciona materiales ricos para el desarrollo de antibióticos agrícolas (Yao et al., 2023).

4.4.4. Resistencia sistémica

La resistencia sistémica inducida (ISR) es un mecanismo de defensa indirecto, favorece a la planta mediante la activación de su sistema inmunitario y producción de proteínas, debido a los compuestos naturales producidos por *Trichoderma* esto hace aumentar la resistencia vegetal a los patógenos invasores y tolerar situaciones de estrés. Además, ayuda a solubilizar elementos nutritivos que no están disponibles y crea un ambiente beneficioso para el desarrollo radicular. Existen muchos metabolitos secundarios para diferentes condiciones de cultivos y la mejora en la producción de compuestos diana mediante ingeniería genética para aumentar los mismos (Chóez et al., 2023).

4.5. Especies de *Trichoderma*

En la actualidad están vigentes más de 250 especies de este género, que se identificaron mediante filogenia molecular. La mayoría de ellas aparte de ser habitantes del suelo con una amplia distribución geográfica, también tienen una distribución restringida compuesta por especies capaces de parasitar hongos y alimentarse de biomasa fúngica muerta lo cual representa una característica propia compartida por la mayoría de su clase (Nascente et al., 2022).

4.6. Trabajos realizados en *Trichoderma*

4.6.1. Aislamiento de *Trichoderma*

Liu et al., (2019) explican en el estudio que realizaron que, para obtener el recurso *Trichoderma* contra el mildiú polvoroso, se recolectaron 16 muestras de suelo de la rizosfera de *Syringa oblata* en ocho distritos de la ciudad de Harbin, China. Se realizó el aislamiento mediante diluciones y se cultivó en medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) e identificaron los aislados de *Trichoderma*. Para estudiar el efecto de control biológico de *Trichoderma* sobre el mildiú polvoroso de *S. oblata*, se determinaron los contenidos de ácido abscísico, H₂O₂, malondialdehído y actividad de catalasa de las hojas infectadas.

Los resultados que se obtuvieron fue un total de 181 aislados de *Trichoderma* aisladas, las cuales se identificaron mediante métodos morfológicos y moleculares, donde se ubicaron en cuatro secciones e involucradas en seis clados, a lo igual que el árbol filogenético *T. afro harzianum* , *T. pseudo harzianum* y *T. velutinum* pertenecen al clado Harzianum; y *T. virens* pertenece al clado *Virens*. Las características morfológicas de este grupo son gráciles

de conidióforos dentados, las ramas no son ramas compactas y es raro que más de tres ramas se unen en un arreglo rotativo.

Para la preparación del biofertilizante se seleccionaron los aislados TpseT1, TafrT52 y TaspT57. Lo cual da como resultado la caída de hojas enfermas y el crecimiento de nuevas hojas sanas al duodécimo día.

4.6.2. Caracterización de *Trichoderma*

La identificación de los aislados de *Trichoderma* crecidas en cajas de Petri con PDA (Kim et al., 2019; Guigón et al., 2010), son cotejadas con las claves de identificación de géneros de Deuteromycetes para especies de *Trichoderma* (Acurio & España, 2016). Donde mediante la observación macroscópica es decir color, forma y crecimiento del micelio; y microscópica se reconoce las estructuras como hifas, esporas y clamidosporas, se caracteriza al hongo.

Así, en un estudio en Baja California Sur, México se aisló *Trichoderma* spp. de seis sitios, Las Pocitas, El Cajete, El Saltito, Los Encinos, El Triunfo y Los Barriles. Cada muestra que se colectó fue a una profundidad de 30 cm del suelo rizosférico de *Pachycereus pringlei* y *Jatropha cinerea*. El aislamiento e identificación fue en el laboratorio de Fitopatología del área, luego de 5 días se cuantificaron las unidades formadoras de colonias y se realizaron resiembras en medio PDA para la obtención de cultivos puros, para su posterior identificación con las claves taxonómicas propuestas por Barnett & Hunter (1972). Las características morfológicas macroscópicas que se analizaron van desde el color de micelio, textura y formación de anillos concéntricos y para las características microscópicas la forma de conidios, fiálides y presencia de clamidosporas.

Los resultados que se obtuvieron fue siete especies con conidios globosos a subglobosos entre las cuales están *T. atroviride*, *T. viride*, *T. longibrachiatum* y *Trichoderma* spp.; elipsoidal en *T. asperellum*, *T. harzianum* y *T. koningii*. Y cinco especies indicaron de dos a tres zonas concéntricas de conidiación, sin mencionar que las fiálides se agrupaban en 2-3 verticilos, excepto *T. harzianum* y *T. longibrachiatum* que tendían a mostrar disposición solitaria (Savín et al., 2021).

4.6.3. Antagonismo de *Trichoderma*

De 8 aislamientos de *Trichoderma*, se evaluó la capacidad antagónica frente al patógeno *Drechslera teres* mediante cultivos duales, para lo cual se registró el porcentaje de inhibición micelial, en donde se observó que producía una pigmentación rojo-anaranjada, justo en la interrelación con *Trichoderma* spp. Luego se extrajo los pigmentos mediante medidas de absorbancia en el espectro UV visible y caracterización de las mismas, además de purificación por Cromatografía Líquida de Alta Performance y Resonancia Magnética para determinar sus identidades. Los resultados obtenidos fue que todos los aislados pertenecientes a *Trichoderma* inhibieron en un gran porcentaje del 18 %-54 %, el crecimiento de *D. teres* (Moya, 2016).

5. Metodología

5.1. Ubicación

El trabajo experimental se realizó en las instalaciones de la Universidad Nacional de Loja, en el laboratorio de Sanidad Vegetal correspondiente a la Carrera de Agronomía de la Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables.

5.2. Metodología General

La investigación planteada es de carácter cualitativo y cuantitativo, ya que se midieron parámetros como color de colonias, forma, entre otros, además de la tasa de crecimiento radial (TCR). Es descriptivo porque se detalla las características de crecimiento de *Trichoderma* y su antagonismo contra hongos fitopatógenos. Las muestras del suelo fueron recolectadas de diferentes zonas de la provincia de Loja, se trasladó a laboratorio y se llevó a cabo los análisis respectivos.

5.3. Diseño Experimental

Para el segundo objetivo específico se utilizó un diseño experimental con estructura bifactorial completamente al azar, como factor A se designó al patógeno con tres niveles y como factor B *Trichoderma* con cuatro niveles; es decir 12 tratamientos correspondientes a 4 aislados de *Trichoderma* como antagonistas frente a tres fitopatógenos *Fusarium* spp., *Colletotrichum* spp. y *Alternaria* spp., cada aislado de *Trichoderma* frente a un fitopatógeno.

Los tratamientos son **T1**= C2M2 + *Fusarium* spp, **T2**=O1Y1 + *Fusarium* spp, **T3**=C1M2 + *Fusarium* spp, **T4**=Z1L1 + *Fusarium* spp, **T5**= C2M2 + *Colletotrichum* spp, **T6**= C3M2 + *Colletotrichum* spp **T7**= C1M2 + *Colletotrichum* spp, **T8**= Z1L1 + *Colletotrichum* spp **T9**= C2M2 + *Alternaria* spp, **T10**= O1Y1 + *Alternaria* spp, **T11**= C1M2 + *Alternaria* spp **T12**= Z1L1 + *Alternaria* spp. Las réplicas serán 6 por tratamientos, incluido el control, lo que nos da 90 unidades experimentales (figura 1). Los valores obtenidos en el Porcentaje de Inhibición se transformaron para obtener una mejor distribución de los datos: $PICR_t = \arcseno(\sqrt{PICR})$.

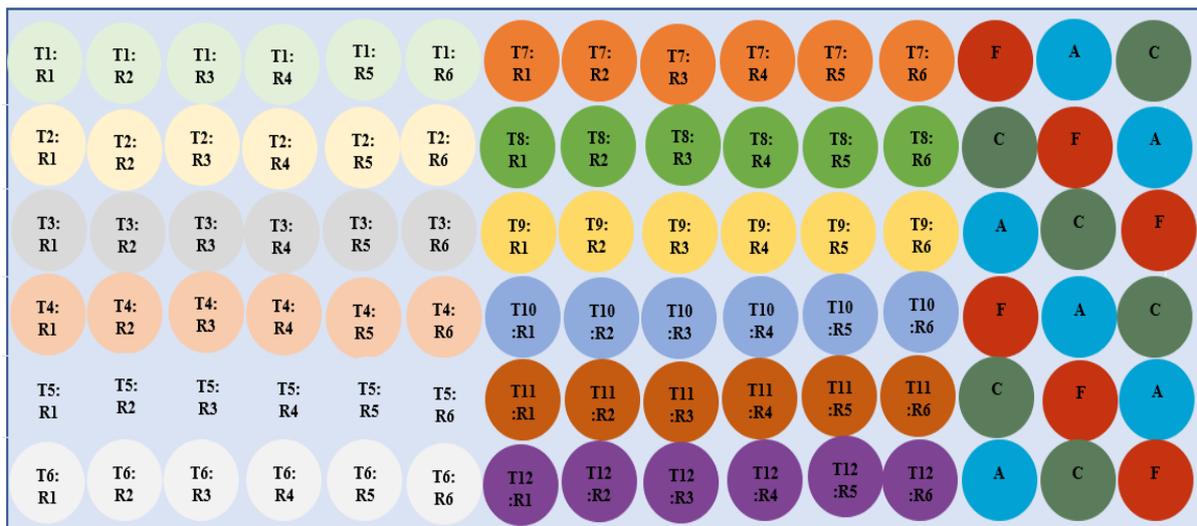


Figura 1. Esquema del diseño experimental en condiciones de laboratorio en cajas de Petri.

5.4. Análisis Estadístico

Se utilizó el software InfoStat versión 2020 para las pruebas de ANOVA, pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas, para las variables en las que se encontraba significancias estadísticas, se aplicaron pruebas de comparación múltiple de Tukey (95 %) p-valor menor al 0,05.

5.5. Metodología para el primer objetivo. “Aislar y caracterizar morfológica y cultural especies nativas de *Trichoderma* spp. procedentes del fitobioma de Loja.”

5.5.1. Colecta de muestras

Se recolectaron 10 muestras de suelo rizosférico de huertos orgánicos de la provincia de Loja, con ayuda de una pala a una profundidad de 15 cm. Por cada sitio se colectó 2 submuestras de 1 kg de tierra para luego transportarlas en bolsas de plástico (ziploc) (Anexo 9) al Laboratorio de Sanidad Vegetal de la Universidad Nacional de Loja, donde se conservaron a temperatura ambiente para su posterior análisis.

5.5.2. Aislamiento

En el estudio se utilizó un protocolo para el aislamiento de microorganismos rizosféricos propuesto por Covacevich & Consolo, (2014):

Luego de la colecta de muestras se procedió al aislamiento de las mismas mediante la técnica de diluciones seriadas, la cual consistió en retirar cualquier desecho y homogeneizar el

suelo, después se pesó una submuestra de 1 g en una balanza analítica y se colocó en un tubo de ensayo que contenía 9 ml de agua destilada estéril para después agitar durante 20 a 30 segundos con un vórtex. Con una micropipeta se colectó 1 ml y se diluyó en otro tubo de ensayo con 9 ml de agua destilada, de igual forma se agitó durante 30 segundos aproximadamente. Se repitió el procedimiento de dilución al menos 5 veces consecutivas hasta obtener soluciones 10^{-4} y 10^{-5} .

Del tubo 4 y 5 se colectó una alícuota de 0,1 ml y se depositó en una caja de Petri que contenía medio de cultivo selectivo para *Trichoderma* spp (TSM). Posterior se incubó a temperatura de laboratorio hasta que se observó crecimiento, después se verificó mediante el color y montajes para observar las estructuras (Anexo 12) y cuáles colonias fúngicas presentaban color verdoso y características propias de *Trichoderma*. Se desechó las colonias con otros tipos de hongos.

Composición del medio TSM

- Nitrato de Amonio (NO_3NH_4) 1,00 g
- Fosfato ácido de potasio (K_2HPO_4) 0,90 g
- Sulfato de magnesio heptahidratado ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 0,20 g
- Cloruro de potasio (KCl) 0,15 g
- Cloranfenicol 0,05 g
- Glucosa 3,00 g
- Agar 25,00 g/l
- Agua destilada 1,00 l
- Alcohol etílico (0,50 ml/l)

Preparación del Medio PDA

La preparación del medio PDA es de 39 g por 1 litro de agua destilada, para cada caja de Petri 20 ml. Se realizó las conversiones correspondientes según el número de cajas que se ocupó, luego se calentó a 300°C hasta alcanzar el punto de ebullición, inmediatamente se esterilizó por 20 minutos y se dispensó en las cajas en un ambiente estéril como es la cámara de flujo laminar.

5.5.2.1. Purificación

Para obtener los aislados puros de *Trichoderma* se purificó las colonias de los hongos cuyas características correspondieron a la especie de interés, con una Asa bacteriológica en placas de Petri con medio PDA (Anexo 10) y se incubó a 25° C, de 7 a 10 días, hasta que el crecimiento de cada purificación completo la dimensión de la caja Petri.

5.5.3. Caracterización morfo-cultural de *Trichoderma* spp.

Para la caracterización cultural y morfológica se realizó repiques a partir de cultivos monospóricos con ayuda de un sacabocados con discos de 15,22 mm de diámetro en 6 cajas con medio de cultivo PDA, y se incubó a 25-28 °C para revisar sus características.

5.5.3.1. Caracterización cultural de *Trichoderma*

En cuanto a las características macroscópicas, se tomó en cuenta el color tanto en el anverso como el reverso de la placa mediante la tabla de colores de <https://encycolorpedia.es/> diámetro, textura de la colonia (Lezcano et al., 2010), y parámetros del micelio como:

- Superficie: lisa, acuminada, radiada y umblicada.
- Borde: liso, radiado, festoneado, lobulado.
- Consistencia: blanda, filante, adherente, y leñosa.
- Aspecto: cremoso, yesoso, algodonoso afelpado y terciopelado.
- Desarrollo: pobre, regular y abundante

5.5.3.2. Caracterización morfológica de *Trichoderma*

Con un calibrador digital tipo pie de rey, se midió el diámetro de las colonias hasta que la caja está completamente llena. Las mediciones se realizaron a las 48 h, 96 h y 144 h. Con los valores correspondientes se calculó la tasa de crecimiento radial (TCR) expresado en mm/día (Baldrian & Gabriel, 2002) de cada aislamiento:

$$TCR = \frac{(Df - Di)}{(Tf - Ti)}$$

Dónde:

TCR: Tasa de crecimiento radial; **Df:** Diámetro final (mm); **Di:** Diámetro inicial (mm);

Tf: Tiempo final (días); **Ti:** Tiempo inicial (días)

Para la caracterización morfológica se realizó microcultivos en portaobjetos con medio PDA y se incubó a una temperatura de 20 ° C durante 72 horas, después se midió largo y ancho de las estructuras reproductivas es decir de 100 conidias (Anexo 3) de cada uno de los aislados elegidos al azar para saber su tamaño promedio. Se observaron las muestras al estereoscopio en el objetivo de 40X (Castaño, 1998) y se utilizó el programa ImageJ (Anexo 12).

También se realizó el conteo de conidias por cada uno de los aislados, para lo cual se utilizó el medio Difco™ Potato Dextrose Broth cuya composición es de 24 g en un litro, se pesó 7,2 g para 300 ml y se calentó hasta alcanzar el punto de ebullición para luego esterilizar y dispensar en tubos de ensayo. Posteriormente, se sembró los cuatro aislados de *Trichoderma* y se incubó en un agitador Shaker análogo por 7 días. Pasado el tiempo de incubación con una pipeta se colocó 0,1 ml en la cámara Neubauer doble (Depth, Alemania) para el método de conteo por cuadrantes con un aumento de 40X (Anexo 11).

A fin de calcular la concentración final de unidades formadoras de colonias (UFC) se utilizó la fórmula descrita por Rojas, (2011).

$$CCN = \sum n (5 \times 10\ 000)$$

Dónde: CCN = Concentración en la cámara de Neubauer; $\sum n$ = Suma del conteo de celdas en los cinco cuadrantes en la cámara de Neubauer; (5 X 10 000) = Constante.

5.6. Metodología para el segundo objetivo. “Evaluar el antagonismo de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos”.

5.6.1. Prueba de antagonismo

La capacidad antagonica de *Trichoderma* se evaluó mediante cultivos duales del hongo con cada uno de los aislados de los fitopatógenos, en este caso fueron *Fusarium* spp., *Colletotrichum* spp. y *Alternaria* spp. Para lo cual se colocó en cajas de Petri, medio de cultivo PDA, micelio activo de alrededor de 4 mm de diámetro de *Trichoderma* y del fitopatógeno. El micelio se ubicó al mismo tiempo en sentido opuesto a una distancia de 40 mm, de tal forma que el patógeno quede frente al antagonista (figura 2). Y los tratamientos control que consistió

en sembrar 4 mm del micelio del patógeno. Finalmente, se rotuló con los nombres correspondientes cada una de las cajas, se selló con Parafilm y se incubó a 27-29 ° C.

Se midió el crecimiento del patógeno en el cultivo dual cada 48 horas con un calibrador digital (Anexo 13) con los valores expresados en milímetros y la toma de datos culminó una vez que el patógeno colonizó toda la caja de Petri en el control.

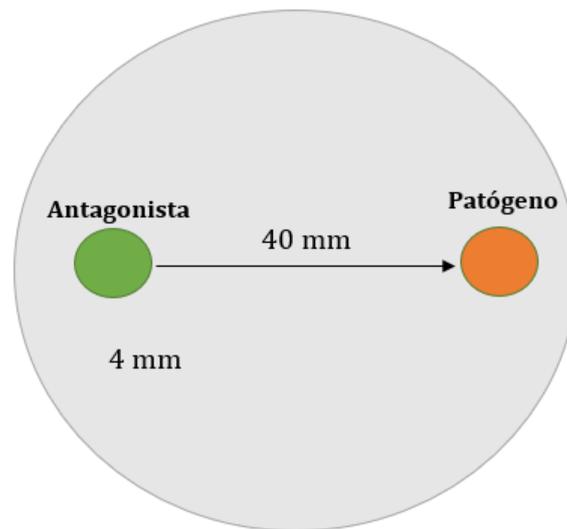


Figura 2. Representación gráfica de cultivos duales para evaluar la capacidad antagonista de *Trichoderma*. (Fuente: Autora)

5.6.2. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR)

La capacidad antagonista y el efecto del biocontrol sobre el crecimiento micelial del hongo fitopatógeno se calculó a través del Porcentaje de Inhibición (Ezziyani et al., 2004) del Crecimiento Radial (PICR) con la fórmula utilizada por Ru & Di, (2012):

$$PI = \frac{(R1 - R2)}{R1} \times 100\%$$

Dónde:

R1 = Es el crecimiento radial de la colonia del patógeno (Tratamiento testigo) y

R2 = Es el crecimiento radial del patógeno en cultivo dual con el tratamiento.

6. Resultados

6.1. Caracterización morfológica y cultural de especies nativas de *Trichoderma* procedentes del fitobioma.

Las muestras fueron recolectadas de diferentes localidades de la provincia de Loja, las cuales fueron contrastantes en las ubicaciones geográficas, en un rango altitudinal de 1244 msnm a 2238 msnm según se indica en la Tabla 2, donde se recolectó suelo de huertos orgánicos. Se obtuvieron dos muestras del cantón Catamayo, una muestra del cantón Olmedo y otra de Zalapa.

Tabla 1. Sitios de recolección de los diferentes aislados de *Trichoderma* spp., en la provincia de Loja, Ecuador.

 AISLADO	 LUGAR	 SECTOR	 ALTITUD	 LATITUD	 LONGITUD
 C2M2	Catamayo	Trapichillo	1267 msnm	3° 58' 16.03" S	79° 22' 2.41" O
 O1Y1	Olmedo	Yamalaca	1244 msnm	3° 54' 40.26"S	79° 38' 33.42" O
 C1M2	Catamayo	Los Rosales	1278 msnm	3° 59' 9.85" S	79° 21' 21.63" O
 Z1L1	Zalapa	Zalapa bajo	2238 msnm	3° 55 '1.26" S	79° 14' 34.95" O

Todos los aislados pertenecen a *Trichoderma* de manera particular C2M2, O1Y1, C1M2 y S1L1, los cuales fueron identificados taxonómicamente a nivel de género mediante la observación de sus estructuras (figura 3), y luego caracterizados cultural y morfológicamente.

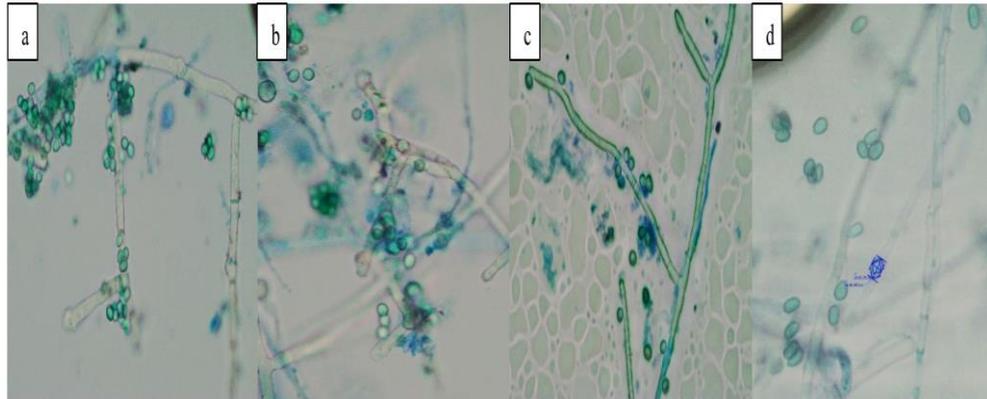


Figura 3. Microscopía en el objetivo 40x, en azul de metileno de los aislados de *Trichoderma*, C2M2 (a), O1Y1 (b), C1M2 (c), Z1L1 (d). (Fuente: Autora).

El aislado C2M2 presenta coloraciones verdes oliva en el anverso, y en el reverso verde amarillento, además de presentar una superficie acuminada, bordes radiados, consistencia blanda de aspecto afelpado y desarrollo regular. La medida aproximada de la colonia es de 7,8 cm de largo y 7,5 cm de ancho. Las estructuras vegetativas son micelio septado, las propagativas conidias y las reproductivas conidióforos.

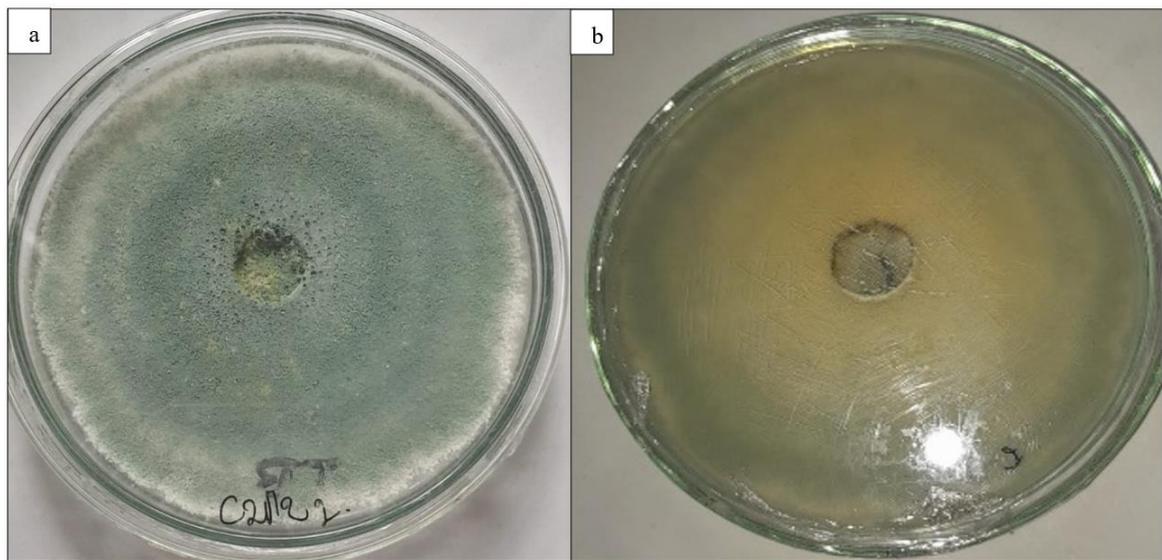


Figura 4. Anverso (a) y reverso (b) del aislado C2M2, en medio PDA. (Fuente: Autora)

O1Y1 presenta coloraciones blanquecinas en el anverso, y en el reverso blanquecino verdoso, además de presentar una superficie lisa, bordes lisos, consistencia blanda de aspecto algodónoso y desarrollo abundante como se observa en la figura 1. La medida aproximada de la colonia es de 8,1 cm de largo y 8 cm de ancho.

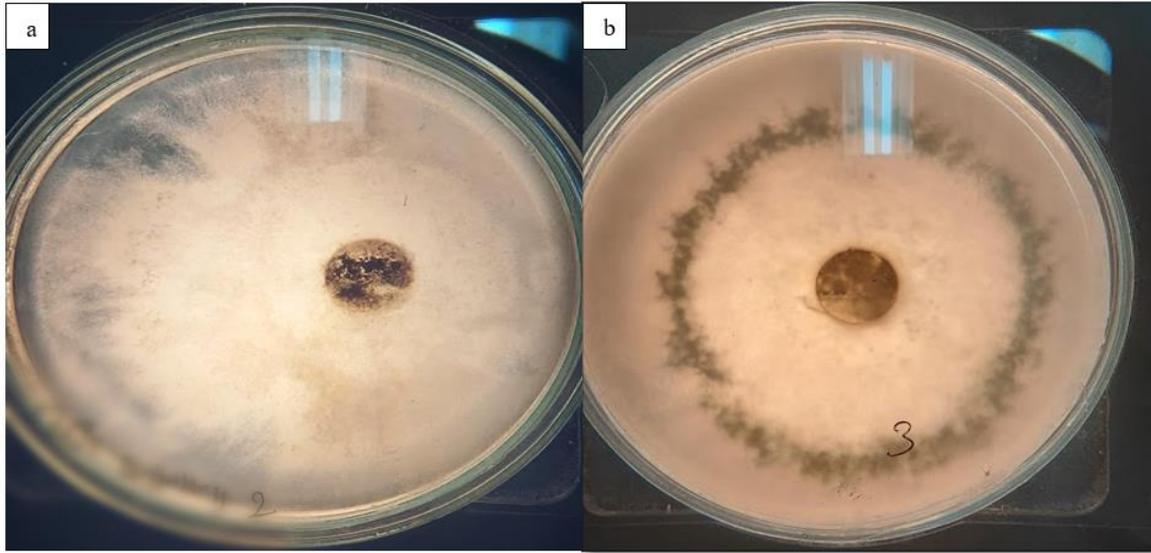


Figura 5. Anverso y reverso del aislado O1Y1, en medio de cultivo PDA. (Fuente: Autora).

El aislado C1M2 presenta coloraciones blanquecinas verdosas en el anverso y en el reverso blanquecino, presenta una superficie lisa, bordes lisos, consistencia blanda de aspecto algodónoso y desarrollo abundante. La medida aproximada de la colonia es de 8 cm de largo y 7,9 cm de ancho.

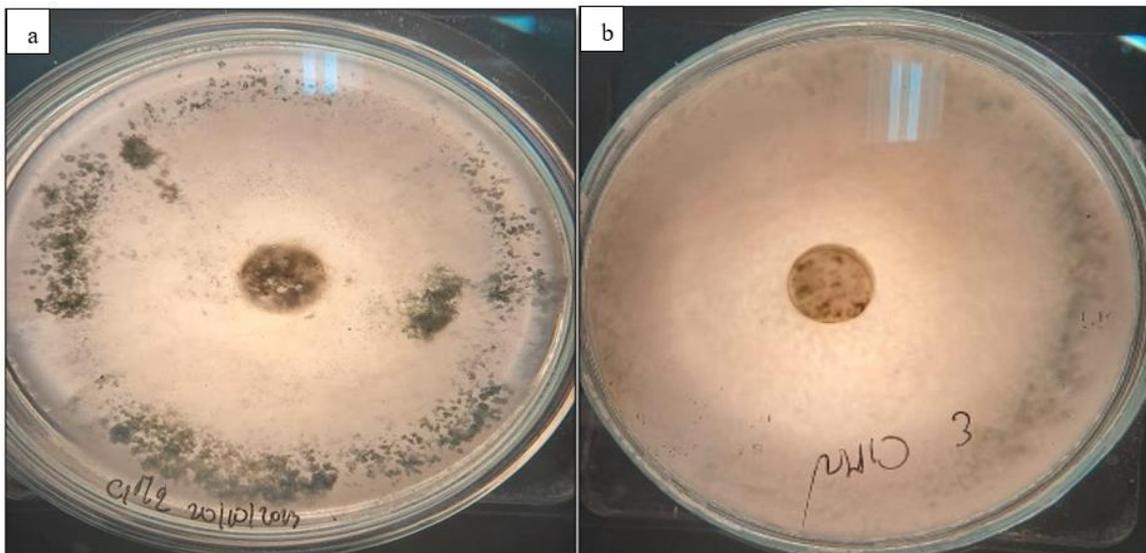


Figura 6. Anverso y reverso del aislado C1M2, en medio de cultivo PDA. (Fuente: Autora).

Por último, el aislado Z1L1 presenta coloraciones verde brillante en el anverso y en el reverso verdosas, presenta una superficie acuminada, bordes lobulados, consistencia filante de

aspecto algodonoso y desarrollo regular. La medida aproximada de la colonia es de 7,8 cm de largo y 7,7 cm de ancho.

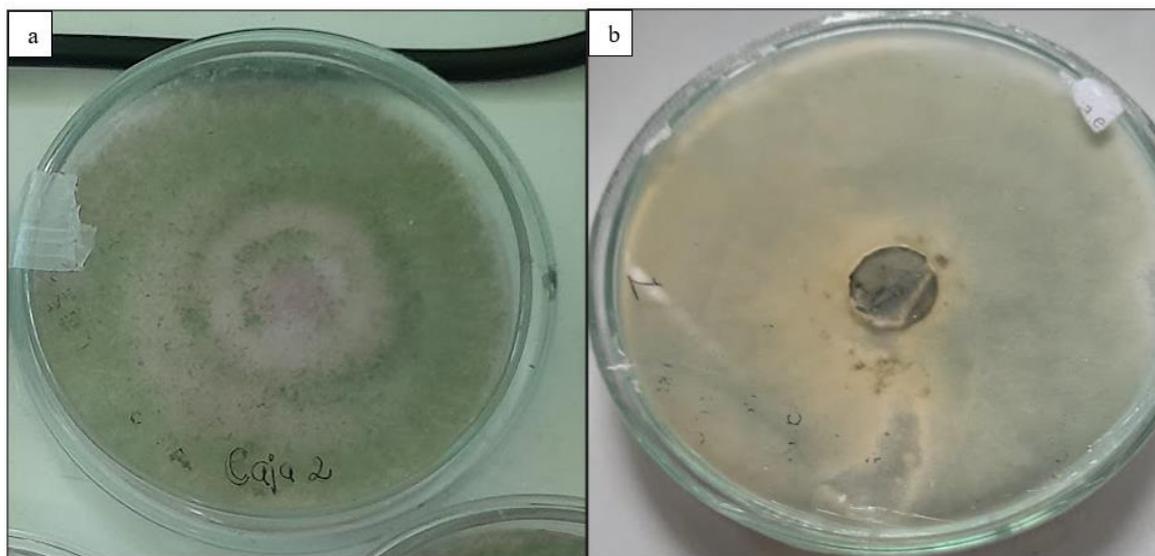


Figura 7. Anverso (a) y reverso (b) del aislado Z1L1, en medio de cultivo PDA. (Fuente: Autora).

Los aislados de *Trichoderma* presentaron una expansión rápida, su crecimiento a las 144 h después de ser sembrado a 28 °C con una TCR (Anexo 1 y 2) que fue entre 1,06 a 1,25 mm/día de las 4 colonias como se observa en la Tabla 2. En la medición de los conidios si hay diferencias significativas (Anexo 4) donde las esporas del aislado Z1L1 tienen un mayor tamaño, ya que midieron 3,92 de largo y 2,61 mm de ancho, seguido del aislado C2M2 con 3,68 de largo y 3,32 mm de ancho. En cuanto al número de conidios si existe diferencias significativas (Anexo 6) donde se evidencia que el mejor valor es del aislado C2M2 donde muestra un mayor número de esporas con $9,26 \times 10^7$ conidios/mL.

Tabla 2. Características cultural-morfológicas de los aislados de *Trichoderma* spp., procedentes de suelos rizosféricos tomadas de huertos orgánicos de la provincia de Loja, Ecuador.

AISLADO	CUALITATIVO		CUANTITATIVOS	
	Color	Tasa de crecimiento radial (mm/día)	Tamaño de Conidios (µm)	Número de Conidios (conidios/mL)
C2M2	Verde pálido	1,06	3,68 x 3,32 c	$9,26 \times 10^7$ b
O1Y1	Verde esmerada	1,17	3,58 x 3,29 bc	$4,21 \times 10^8$ a

C1M2	Blanquecino	1,25	3,44 x 3,21 b	1,59 x 10 ⁸ a
Z1L1	Verde Brillante	1,19	3,92 x 2,61 a	4,80 x 10 ⁷ a

Leyenda: C2M2 (Catamayo), O1Y1 (Olmedo, sector Yamalaca), C1M2 (Catamayo) y Z1L1 (Zalapa). Medias con letras distintas en cada columna difieren según la prueba de Tukey ($\alpha < 0,05$).

6.2. Antagonismo de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos

El antagonismo de las cuatro especies de *Trichoderma* frente a *Fusarium* spp., *Colletotrichum* spp y *Alternaria* spp fue determinado por cultivos duales (figura 8), cuyas mediciones se dejaron de realizar hasta que los patógenos cubrieron completamente la placa de Petri, los aislados que se utilizaron para que se lleve a cabo el antagonismo son C2M2, O1Y1, C1M2 y Z1L1.

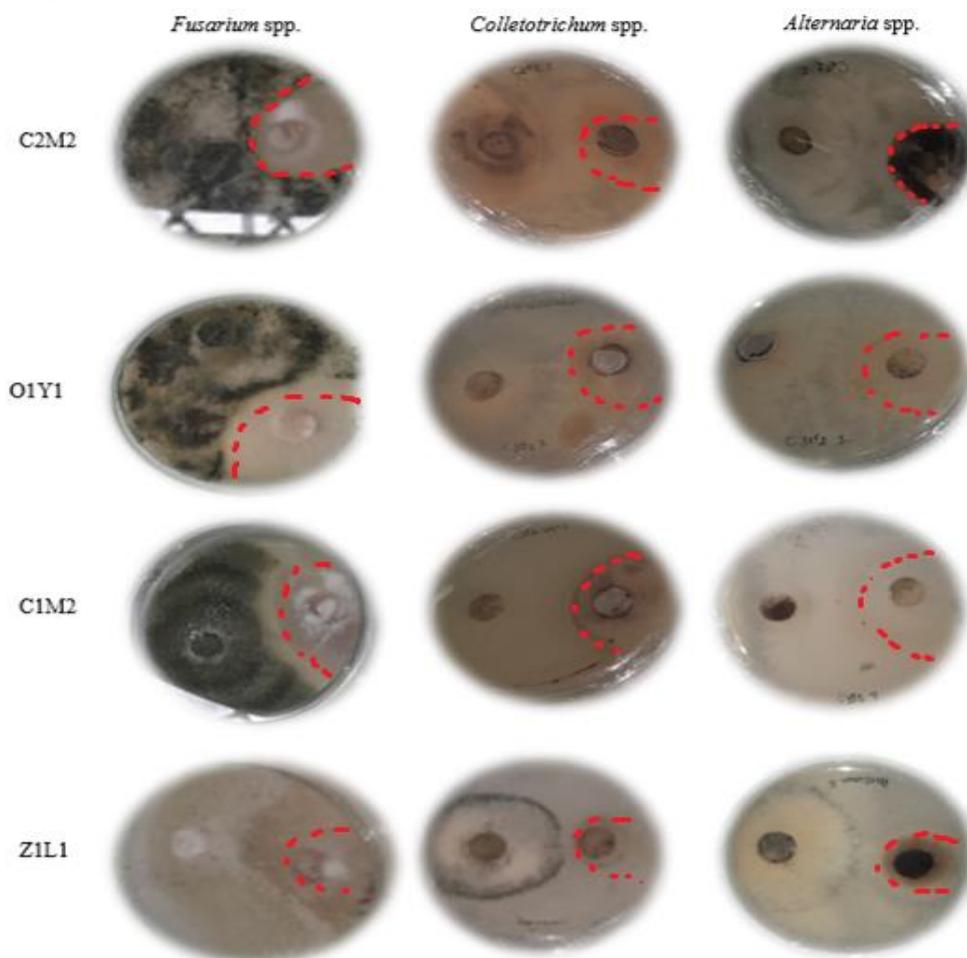


Figura 8. Antagonismo in vitro a las 288 horas de especies de *Trichoderma* spp., contra hongos fitopatógenos. (Fuente: Autora).

A continuación, se describe la interacción entre los 4 aislados frente a los tres fitopatógenos para observar el porcentaje de inhibición de *Trichoderma* frente a los patógenos, además de la medición en mm de todos los tratamientos incluidos el control. En la primera medición a las 48 horas destacó el tratamiento 6 de O1Y1 frente a *Colletotrichum* spp. con el mayor porcentaje de inhibición con 49,99% y se diferencia del tratamiento 10 de O1Y1 frente a *Alternaria* spp. con un valor bajo de 8,22%. El aislado C2M2 inhibió el crecimiento radial de *Fusarium* spp., a las 96 horas con un valor de 54,37% diferenciándose estadísticamente del tratamiento 3 de C1M2 + *Fusarium* spp. con 26,94%. En la tercera medición a las 144 horas se observa diferencias notorias entre los tratamientos 1 y 9 donde destaca T1= C2M2 + *Fusarium* spp. sobre T9 = C2M2 frente a *Alternaria* spp. con un PICR de 68,42% y 45,51% respectivamente, es decir que C2M2 inhibe el crecimiento de *Fusarium* spp. pero el mismo aislado no controla a *Alternaria* spp. A las 192 horas el tratamiento 1 C2M2 frente a *Fusarium* spp. presento mayor porcentaje de biocontrol con 78,32%. Por el contrario, pasadas las 240 horas el aislado Z1L1 inhibió en un mayor porcentaje a *Fusarium* spp. (tratamiento 4) con 84,87 % seguido del tratamiento 1 de C2M2 frente a *Fusarium* spp., con 82,33 %. Respecto a la última medición que se realizó, el tratamiento con mejor potencial biocontrolador es el tratamiento 8 de Z1L1 frente a *Colletotrichum* spp. con 81,52 %. Es necesario recalcar que en los períodos de evaluación todos los tratamientos presentaron diferencias significativas y a las 288 h no se muestra datos de los cuatro aislados frente a *Fusarium* spp porque en el ensayo control *Fusarium* spp. colonizo toda la caja de Petri.

El crecimiento radial de todos los tratamientos no supera los 30 mm en comparación con los controles, donde a las 288 h alcanzaron un desarrollo de 44,33 y 39,36 mm para *Colletotrichum* spp. y *Alternaria* spp.

Tabla 3. Porcentaje de Inhibición del crecimiento radial de *Fusarium* spp., *Colletotrichum* spp., y *Alternaria* spp., frente a cuatro aislados de *Trichoderma* spp., en condiciones in vitro durante 288 h de evaluación.

Tratamientos	48 h		96 h		144 h		192 h		240 h		288 h	
	(mm)	PICR (%)	(mm)	PICR (%)	(mm)	PICR (%)	(mm)	PICR (%)	(mm)	PICR (%)	(mm)	PICR (%)
T1=C2M2 + F	10,87	34,67 bc	12,52	54,37 b	11,91	68,42 cd	11,25	78,32 c	10,12	82,33 bcd	-	-
T2= O1Y1 + F	14,85	13,62 ab	16,90	38,70 ab	16,80	55,88 abcd	14,69	71,83 bc	11,69	79,58 bc	-	-
T3=C1M2 + F	15,77	9,74 ab	20,51	26,94 a	19,64	48,94 ab	19,14	63,49 ab	16,14	71,88 ab	-	-
T4= Z1L1+ F	12,04	28,33 abc	13,57	49,67 ab	12,51	66,13 bcd	11,51	77,34 c	8,51	84,87 cd	-	-
T5=C2M2 + C	11,90	26,58 abc	14,75	39,22 ab	14,80	52,93 abcd	15,37	55,22 a	14,22	69,63 abc	12,64	76,91 ab
T6= O1Y1 + C	12,10	37,39 c	13,03	42,48 ab	12,50	56,36 abcd	12,78	58,69 ab	12,30	69,37 bcd	10,20	78,89 bc
T7=C1M2 + C	10,70	33,71 abc	13,27	43,15 ab	12,94	57,10 abcd	13,01	59,71 ab	12,18	69,45 bcd	10,71	79,40 b
T8= Z1L1 + C	11,04	33,31 abc	11,16	45,57 b	9,55	59,96 d	9,57	62,50 bc	8,66	71,40 d	6,05	81,52 c
T9=C2M2 + A	10,49	20,61 ab	12,78	33,37 ab	13,14	45,51 a	13,30	50,55 a	12,78	58,79 a	12,47	67,61 a
T10= O1Y1 + A	12,09	8,82 a	12,08	37,66 ab	12,70	47,67 a	12,85	51,97 a	11,83	62,44 ab	10,60	72,82 ab
T11=C1M2 + A	11,67	12,00 ab	12,08	36,81 ab	12,01	49,80 ab	11,54	56,78 a	10,17	66,77 abc	8,91	76,84 ab
T12= Z1L1 + A	10,89	17,88 ab	11,93	37,74 ab	11,79	50,66 abc	12,08	54,57 a	11,26	63,13 ab	10,61	72,58 ab
<i>Fusarium</i> spp.	17,72	-	28,30	-	39,10	-	52,80	-	57,56	-	-	-
<i>Colletotrichum</i> spp.	16,50	-	24,72	-	31,80	-	34,43	-	40,33	-	44,33	-
<i>Alternaria</i> spp.	13,30	-	19,41	-	24,66	-	27,47	-	31,19	-	39,36	-

Leyenda: T1= C2M2 (Catamayo) + *Fusarium* spp., T2=O1Y1 (Olmedo, sector Yamalaca) +*Fusarium* spp., T3=C1M2 (Catamayo) + *Fusarium* spp., T4=Z1L1 (Zalapa) + *Fusarium* spp., T5= C2M2 + *Colletotrichum* spp., T6= C3M2 + *Colletotrichum* spp., T7= C1M2 + *Colletotrichum* spp., T8= Z1L1 + *Colletotrichum* spp., T9= C2M2 + *Alternaria* spp., T10= O1Y1 + *Alternaria* spp., T11= C1M2 + *Alternaria* spp., T12= Z1L1 + *Alternaria* spp. Medias con letras distintas en cada columna difieren según la prueba de Tukey ($\alpha < 0,05$).

7. Discusión

7.1. Caracterización morfológica y cultural de especies nativas de *Trichoderma* procedentes del fitobioma.

Según los resultados que se obtuvieron en Catamayo, Olmedo y Zalapa pertenecientes a la provincia de Loja se encontró *Trichoderma* de forma natural en la rizosfera de huertos orgánicos, lo cual indica no existe una relación entre el hongo y su origen donde esté presente. Esto se ajusta con Bai et al., (2023) quienes mencionan que las especies de *Trichoderma* se adaptan en una gran diversidad de medios ecológicos, entre ellos cultivos, materia en descomposición, entornos agrícolas, sustratos, suelos naturales, etc.

Durante su crecimiento, las colonias al inicio presentan un aspecto de terciopelo con una coloración blanquecina y después se torna de color verde oliva, hasta llegar a la coloración verdosa que es típica de *Trichoderma* así como la formación de anillos concéntricos ondulatorios de color verde que denota las conidias y blanco en el alrededor, el cual es el micelio. Lo cual concuerda con descripciones realizadas por Chaverri & Samuels, (2003). En cuanto a su tamaño fue de 7,5 a 8,1 cm lo cual se corrobora con Acurio & España, (2016) donde mencionan que las cajas presentaban un radio entre 5 a 6 cm, y en algunos hasta 9 cm después de 7 días de incubación a una temperatura de 26°C

Referente a la caracterización morfológica, el crecimiento radial y la tasa de crecimiento de aislados de *Trichoderma* spp. se obtuvo un valor entre 1,06 a 1,25 mm/día mientras que en el estudio de Alwadaï et al., (2022) varían mucho, oscila entre 9,2 cm y 84 cm, entre tanto la tasa de crecimiento fue entre 1,4 cm/día y 11,9 cm/día a 28 ° C, esto debido a que la siembra la realizaron en medio TSM y no en medio PDA, también depende del estrés salino que pudo haberse enfrentado *Trichoderma* en el suelo, pese a que presenta tolerancia, si afecta a su crecimiento. En otro estudio a 25 ° C la tasa de crecimiento radial de *Trichoderma* fue de 0,8 mm/día. Cabe señalar que la respuesta diferencial en el crecimiento depende del aislado examinada, más que de la especie *Trichoderma* (Pérez et al., 2022). Mientras que en un ensayo la tasa de desarrollo y la velocidad de crecimiento tuvieron diferencias significativas con 2,17 mm/hora y 1,32 mm/día respectivamente (Martínez et al., 2021).

Por lo general las conidias de *Trichoderma* spp. son monocelulares con formas globosa, esféricas o elipsoidales, con un tamaño de 5 µm tanto de largo como de ancho. No

obstante en el presente estudio destacó el aislado Z1L1 con 3,92 de largo y 2,61 mm de ancho. Así mismo, dichos valores se asemejan a los que menciona Gong et al., (2024) el cual en ciertos ensayos han alcanzado un tamaño de 3,7 μm de largo y 4,5-5,9 μm de ancho, de un total de 100 esporas y de 50 esporas valores de 1,6-2,1 y 2,33-3,3 μm (Shu et al., 2023). Por otra parte, para el número de esporas sobresalió el aislado C2M2 con $9,26 \times 10^7$ conidios/mL cuya concentración es alta en comparación a Michel et al., (2008) quienes citan que obtuvo una producción variada desde 0,25 a $4,43 \times 10^8$ esporas/ml. Pero si corresponde a otro estudio donde se obtuvo una concentración de UFC con valores de $9,053 \times 10^5$ con el uso de sustratos como fibra de coco la cual promovió mayor esporulación, y $7,406 \times 10^5$ con palma aceitera como medios de inoculación para la multiplicación del hongo. Aunque también va desde $1,24 \times 10^5$ y $2,69 \times 10^2$ ufc/g del suelo (Chammem et al., 2021; Iturralde et al., 2020). En definitiva, *Trichoderma* tiene gran potencial de producir esporas, pero estas suelen disminuir en función del tiempo de incubación en relación a la concentración inicial (Hasan et al., 2020).

Las características anteriormente mencionadas, si bien ayudan a identificar a *Trichoderma* morfológicamente, no permite reconocer a nivel de especie de forma acertada ya que según Kim et al., (2019) se debe hacer mediante análisis moleculares.

7.2. Antagonismo de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos

Los hongos del género *Trichoderma* spp. son reconocidos como microorganismos benéficos que ejercen un efecto de controlador biológico, mediante la producción de sustancias antibióticas y de enzimas como quitinasas, pectinasas, proteasas, etc. Su resiliencia le permite tolerar a los agroquímicos, estrés y a su vez competir por nutrientes con los fitopatógenos tanto en condiciones de invernadero como de campo, por lo que son una excelente estrategia para el manejo integrado (Andrade et al., 2023) de enfermedades no solo del suelo sino también foliares (Ren et al., 2022).

El comportamiento de *Trichoderma* en los cultivos duales fue bueno, donde se obtuvo que el aislado C2M2 controló a *Fusarium* spp. en un 82,33%; lo cual se asemeja con el trabajo de Guédeza et al., (2012) donde el aislado T121 presentó mayores diferencias significativas frente a *F. oxysporum* en un 80%. Así mismo el aislado Z1L1 controló a *Colletotrichum* spp. en un 81,52% a los 288 h (12 días) lo cual es mayor a lo que señala Savín et al., (2021), debido a que en su estudio especies diferentes de *Trichoderma* controlaron a *Colletotrichum gloeosporioides* en 62%, además *Alternaria alternata* en un 56%, a *Fusarium oxysporum* en un 75% y a *Fusarium Solani* en un 73%; es oportuno mencionar que las mediciones se realizó

pasados los 5 días por lo que, para comparar con nuestro ensayo tomando el porcentaje de inhibición a las 144 h (6 días) presentó un valor de 59,96% que se asemeja al estudiado antes mencionado.

Por otra parte, en el biocontrol de los cuatro aislados de *Trichoderma* spp. frente a *Alternaria* spp. no hubo diferencia significativa, en cambio, Matas et al., (2022) indica en su investigación realizada en México que *T. asperellum* inhibió significativamente el crecimiento de *Alternaria* spp. entre 50 a 93%. La capacidad diferencial de cada aislado o especie en el biocontrol de patógenos se debe a los distintos mecanismos antagónicos así como a la producción de compuestos, la velocidad de reacción ante los distintos factores, habilidad de adaptación y su crecimiento bajo diversos sustratos (Hewedy et al., 2020).

Al analizar los resultados obtenidos, se puede observar que son favorables ya que *Trichoderma* como antagonista si coloniza a patógenos, pero para ello los aislados deben tener un conjunto de características favorables como una buena tasa de crecimiento, adaptación a los medios donde se los utiliza y también ciertos parámetros óptimos para su desarrollo como temperatura y humedad (Khalikova et al., 2021).

8. Conclusiones

- Se identificaron cuatro aislados de *Trichoderma* procedente de la localidad de Catamayo, Olmedo y Zalapa, las cuales presentaron características propias del género como su coloración verdosa. En la morfología del hongo, el desarrollo de las colonias fue de 7 a 8 cm, mientras que la tasa de crecimiento radial fue de 1,06 a 1,25 mm/día. El aislado Z1L1 presentó un mayor tamaño de esporas, en cambio el aislado C2M2 tiene una mayor concentración de conidios
- En la evaluación de la capacidad antagónica de *Trichoderma*, resultó el tratamiento 1 de C2M2 frente a *Fusarium* spp. el que presentó un alto porcentaje de biocontrol. Por otra parte, el aislado Z1L1 inhibió en un mayor porcentaje a *Colletotrichum* spp., mientras que ningún aislado obtuvo el mejor porcentaje de inhibición estadísticamente significativo para *Alternaria* spp. aunque el aislado que presentó un mayor valor fue la C1M2. El PICR ayuda a reconocer que aislado es ideal para utilizarlo como controlador biológico, lo que es una buena opción para los agricultores.

9. Recomendaciones

- Para trabajos futuros es necesario que se realice análisis a nivel molecular para identificar a que especie de *Trichoderma* pertenece cada aislado.
- Se puede realizar más pruebas de antagonismo frente a fitopatógenos diferentes para continuar con la siguiente fase que es evaluar en otras condiciones como invernadero y después en campo.

10. Bibliografía

- Abreu, L., & Pfenning, L. (2022). El género *Trichoderma*. In *Trichoderma su uso en la agricultura* (Primera Edición ed., p. 547). Embrapa Soja. ISBN 978-65-89957-14-0
- Acurio, R., & España, C. (2016). Isolation, Characterization and Evaluation of *Trichoderma* spp. as promoter of plant growth in pastures of raygrass (*Lolium perenne*) and white clover (*Trifolium repens*). *La Granja:Revista de Ciencias de La Vida*, 25(1), 53. <http://dx.doi.org/10.17163/lgr.n25.2017.05>
- Agamez, E., Zapata, R., Oviedo, L., & Barrera, J. (2008). Evaluación de sustratos y procesos de fermentación sólida para la producción de esporas de *Trichoderma* sp. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 10(2)23-34. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-34752008000200004
- Alwadai, A. S., Perveen, K., & Alwahaibi, M. (2022). The Isolation and Characterization of Antagonist *Trichoderma* spp. from the Soil of Abha, Saudi Arabia. *Molecules*, 27(8), 2525. <https://doi.org/10.3390/molecules27082525>
- Amerio, N., Castrillo, M., Bich, G., Zapata, P., & Villalba, L. (2020). *Trichoderma* en la Argentina: Estado del arte. *Ecología austral*, 30(1). http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1667782X2020000100015&script=sci_arttext&tlng=en
- Andrade-Hoyos, P., Rivera-Jiménez, M. N., Landero-Valenzuela, N., Silva-Rojas, H. V., Martínez-Salgado, S. J., & Romero-Arenas, O. (2023). Beneficios ecológicos y biológicos del hongo cosmopolita *Trichoderma* spp. en la agricultura: una perspectiva en el campo mexicano. *Revista Argentina de Microbiología*, 55(4), 366–377. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2023.06.005>

- Andrzejak, R., & Janowska, B. (2022). Trichoderma spp. Improves Flowering, Quality, and Nutritional Status of Ornamental Plants. *International Journal of Molecular Sciences*. 10.3390/ijms232415662
- Atanasova, L., Moreno, D., Grünwald, C., Hell, V., & Zeilinger, S. (2021). The GPI-Anchored GH76 Protein Dfg5 Affects Hyphal Morphology and Osmoregulation in the Mycoparasite *Trichoderma atroviride* and Is Interconnected With MAPK Signaling. *Frontiers in Microbiology*, 12(601113). 10.3389/fmicb.2021.601113
- Abbas, A., Mubeen, M., Zheng, H., Sohail, M., Shakeel, Q., Solanki, M., Iftikhar, Y., Sharma, S., Kashyap, B., Hussain, S., Zuñiga, M., Moya, E., & Zhou, L. (2022). Trichoderma spp. Genes Involved in the Biocontrol Activity Against *Rhizoctonia solani*. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.884469>
- Bader, A., Salerno, G., Covacevich, F., & Consolo, V. (2019). Bioformulación de *Trichoderma harzianum* en sustrato sólido y efectos de su aplicación sobre plantas de pimiento - Bader, Araceli Natalia I. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata*, 119.
- Bai, B., Liu, C., Zhang, C., He, X., Wang, H., Peng, W., & Zheng, C. (2023). Trichoderma species from plant and soil: An excellent resource for biosynthesis of terpenoids with versatile bioactivities. *Journal of Advanced Research*, 49.
- Baldrian, P., & Gabriel, J. (2002). Intraspecific variability in growth response to cadmium of the wood-rotting fungus *Piptoporus betulinus*. *Mycologia*, 94(3), 428–436. <https://doi.org/10.1080/15572536.2003.11833208>
- Barboza, A., Pérez, A., & Anaya, L. (2022). Especies nativas de *Trichoderma* aisladas de plantaciones de aguacate con actividad inhibitoria contra *Phytophthora cinnamomi*. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 20(2). <https://doi.org/10.18684/rbsaa.v20.n2.2022.1852>

- Barnett, H. & Hunter, B. (1972) *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. 3rd Edition, Burgess Publishing Co., Minneapolis, 241 p.
- Bononi, L., Barros, J., Cristiane, C., Alves, M., & Soares, I. (2020). Phosphorus-solubilizing *Trichoderma* spp. from Amazon soils improve soybean plant growth. *Scientific Reports*, 10. 10.1038/s41598-020-59793-8
- Cabral, J., Olmedo, V., Lara, M., Zúñiga, E., & Aréchiga,*, E. (2022). Promotion of Plant Growth in Arid Zones by Selected *Trichoderma* spp. Strains with Adaptation Plasticity to Alkaline pH. *Biology*. 10.3390/biology11081206
- Castaño Zapata, J. (1998). *Prácticas de Laboratorio de Fitopatología* (Segunda edición).
- Cevallos, R. (2019). Roberto Cevallos Castells. Repositorio Digital USFQ. <https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/8914/1/107762.pdf>
- Chammem, H., Antonielli, L., Nesler, A., Pindo, M., & Pertot, I. (2021). Effect of a Wood-Based Carrier of *Trichoderma atroviride* SC1 on the Microorganisms of the Soil. *Journal of Fungi*, 7(9), 751. <https://doi.org/10.3390/jof7090751>
- Chaverri, P., & Samuels, G. J. (2003). *Hypocrea/Trichoderma* (Ascomycota, Hypocreales, Hypocreaceae): species with green ascospores. *Studies in Mycology*, 1–114.
- Chóez, I., Espinoza, F., Reyes, D., Manzano, P., Romero, C., Galarza, L., & Sosa, D. (2023). Chemical Characterization of *Trichoderma* spp. Extracts with Antifungal Activity against Cocoa Pathogens. *Molecules*. 10.3390/molecules28073208
- Covacevich, F., & Consolo, V. F. (2014, 11 11). Herramientas para el estudio y manipulación de Hongos Micorrícicos Arbusculares y Trichoderm. *Manual de Protocolos Trichoderma*. https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/108183/CONICET_Digital_Nro.a4735b83-ea20-4ed0-bd08-d4bfaacfe40_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y

- Cruz, C., Zelaya, L., Sandoval, G., Villalobos, S., Rojas, E., Chávez, I., & Ruíz, S. (2021). Utilización de microorganismos para una agricultura sostenible en México: consideraciones y retos Resumen. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 12(5). <https://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v12n5/2007-0934-remexca-12-05-899.pdf>
- Dong, M., Wang, S., Xu, F., Li, Q., & Li, W. (2018). Addition of aluminum oxide microparticles to *Trichoderma viride* My preculture enhances cellulase production and influences fungal morphology. *Engineering in Life Sciences (ELS)*, 18. 10.1002/elsc.201700188
- Del Prado, M., Bernal, S., Gutiérrez, S., Hernández, H., García, I., Reyna, J., Sharifi, J., & Leyva, G. (2022). Stability Phenomena Associated with the Development of Polymer-Based Nanopesticides. *Hindawi*, 2022, 15. <https://doi.org/10.1155/2022/5766199>
- Druzhinina, I., Shelest, E., & Kubicek, C. (2012). Novel traits of *Trichoderma* predicted through the analysis of its secretome. *FEMS Microbiol Lett.* 10.1111/j.1574-6968.2012.02665.x
- Esquivel, R., & Mas, S. (2021). Biological synthesis of silver nanoparticles: review of potential use of *Trichoderma* species. *Revista Cubana de Química*, 33, 23.
- Ezziyyani, M., Sánchez, C., Requena, M., Candela, M.-E., & Rubio, L. (2004). Biocontrol por *Streptomyces rochei*-Ziyani, de la podredumbre del pimiento (*Capsicum annuum* L.) causada por *Phytophthora capsici*. *Anales de Biología, ISSN 1138-3399, N° 26, 0*, 69–78.
- Gong, Z., Yang, Y., Zhang, L., Wang, S., Luo, J., & Luo, Q. (2024). First Report of *Polygonatum cyrtonema* Root Rot Caused by *Trichoderma virens* in China. *Plant Disease*, 108(2), 525. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-23-1647-PDN>
- Guédeza, C., Cañizaleza, L., Castilloa, C., & Olivar, R. (2012). Evaluación in vitro de aislamientos de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani*,

Sclerotium rolfsii y Fusarium oxysporum en plantas de tomate. *Revista de La Sociedad Venezolana de Microbiología*, 32.

Guigón, C., Guerrero, V., Vargas, F., Carvajal, E., Ávila, G., Bravo, L., Ruocco, M., Lanzuise, S., Woo, S., & Lorito, M. (2010). Molecular Identification of *Trichoderma* spp. Strains, in vitro Growth Rate and Antagonism against Plant Pathogen Fungi. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 28(2).

Hasan, Z. A. E., Mohd Zainudin, N. A. I., Aris, A., Ibrahim, M. H., & Yusof, M. T. (2020). Biocontrol efficacy of *Trichoderma asperellum* -enriched coconut fibre against Fusarium wilts of cherry tomato. *Journal of Applied Microbiology*, 129(4), 991–1003. <https://doi.org/10.1111/jam.14674>

Hewedy, O. A., Abdel Lateif, K. S., Seleiman, M. F., Shami, A., Albarakaty, F. M., & M. El-Meihy, R. (2020). Phylogenetic Diversity of *Trichoderma* Strains and Their Antagonistic Potential against Soil-Borne Pathogens under Stress Conditions. *Biology*, 9(8), 189. <https://doi.org/10.3390/biology9080189>

Ipiiales, J., Pineda, J., Barrigas, D., Muñoz, F., & Pineda, C. (2021). Producción del hongo-moho (*Trichoderma harzianum*): una revisión Production of the fungus-mold (*Trichoderma harzianum*): a review. *Revista Biorrefinería*, 4(4), 6. 2602-8530

Iturralde, E. T., Stocco, M. C., Faura, A., Mónaco, C. I., Cordo, C., Pérez-Giménez, J., & Lodeiro, A. R. (2020). Coinoculation of soybean plants with *Bradyrhizobium japonicum* and *Trichoderma harzianum*: Coexistence of both microbes and relief of nitrate inhibition of nodulation. *Biotechnology Reports*, 26, e00461. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00461>

Khalikova, L., Borovkova, N., Semkina, O., & Korchikov, E. (2021). Biologically active fungi of the genus *Trichoderma* as a perspective means of environmentally safe plant

protection. *E3S Web of Conferences*, 285, 02004.

<https://doi.org/10.1051/e3sconf/202128502004>

Kim, J., Kwon, H., Lee, D., Ko, H., & Kim, S. (2019). Isolation and Characterization of Airborne Mushroom Damaging *Trichoderma* spp. from Indoor Air of Cultivation Houses Used for Oak Wood Mushroom Production Using Sawdust Media. *The Plant Pathology Journal*, 35(6), 674–683. <https://doi.org/10.5423/PPJ.FT.10.2019.0261>

Leiva, S. (2022). “Diversidad genética de *Trichoderma* como agente biocontrolador de la Moniliasis (*Moniliophthora roreri*) para la producción sostenible del Cacao Nativo”. Universidad Nacional Agraria La Molina. [file:///D:/Downloads/leiva-espinoza-santos-triunfo%20\(1\).pdf](file:///D:/Downloads/leiva-espinoza-santos-triunfo%20(1).pdf)

Lezcano, J. C., Martínez, B., & Alonso, O. (2010). Caracterización cultural y morfológica e identificación de 12 aislamientos fungosos de semillas de *Leucaena leucocephala* cv. Perú. *Pastos y Forrajes* versión impresa ISSN 0864-0394, 33(1). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942010000100004

Liu, B., Ji, S., Zhang, H., Wang, Y., & Liu, Z. (2019). Isolation of *Trichoderma* in the rhizosphere soil of *Syringa oblata* from Harbin and their biocontrol and growth promotion function. *Microbiological Research*, 235, 10. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944501319312704?via%3Dihub>

Martínez-Salgado, S. J., Andrade-Hoyos, P., Parraguirre Lezama, C., Rivera-Tapia, A., Luna-Cruz, A., & Romero-Arenas, O. (2021). Biological Control of Charcoal Rot in Peanut Crop through Strains of *Trichoderma* spp., in Puebla, Mexico. *Plants*, 10(12), 2630. <https://doi.org/10.3390/plants10122630>

Matas-Baca, M. Á., Urías García, C., Pérez-Álvarez, S., Flores-Córdova, M. A., Escobedo-Bonilla, C. M., Magallanes-Tapia, M. A., & Sánchez Chávez, E. (2022). Morphological and molecular characterization of a new autochthonous *Trichoderma*

- sp. isolate and its biocontrol efficacy against *Alternaria* sp. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(4), 2620–2625. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.12.052>
- Mesa, A., Marin, A., & Calle, J. (2019). Metabolitos secundarios en *Trichoderma* spp. y sus aplicaciones biotecnológicas agrícolas. *Actualidades Biológicas*, 41(111). <https://doi.org/10.17533/udea.acbi.v41n111a02>
- Michel, A., Hernández, J., Toledo, R., Sabino, J., & Romero, T. (2019). Capacidad Antagónica de *Trichoderma* spp. nativa contra *Phytophthora* parasitica y *Fusarium oxysporum* aislados de cultivos de Jamaica. *Revista fitotecnia mexicana versión impresa* ISSN 0187-7380, 42(3). https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018773802019000300235
- Michel–Aceves, A. C., Otero–Sánchez, M. A., Martínez–Rojero, R. D., Rodríguez–Morán, N. L., Ariza–Flores, R., & Barrios–Ayala, A. (2008). *Trichoderma harzianum* Rifai mass production in different organic substrates. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 14.
- Modrzewska, M., Błaszczuk, L., Stępień, Ł., Urbaniak, M., Waśkiewicz, A., Yoshinari, T., & Bryła, M. (2022). *Trichoderma* versus *Fusarium*—Inhibition of Pathogen Growth and Mycotoxin Biosynthesis. *Molecules*, 27. [10.3390/molecules27238146](https://doi.org/10.3390/molecules27238146)
- Monte, E., Bettiol, W., & Hermosa, R. (2019). *Trichoderma* e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas. PARTE 4 - CENÁRIOS: Capítulo 1: Uso atual e perspectivas do *Trichoderma* no Brasil. https://www.researchgate.net/profile/Gustavo-Bezerra2/publication/339031401_Uso_do_Trichoderma_na_cultura_do_arroz/links/5e39b52c458515072d800b99/Uso-do-Trichoderma-na-cultura-do-arroz.pdf#page=181
- Morocho, M., & Leiva, M. (2019). Microorganismos eficientes, propiedades funcionales y aplicaciones agrícolas. SciELO Cuba. http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S025357852019000200093&script=sci_arttet

- Moya, P. (2016). Antagonismo y efecto biocontrolador de *Trichoderma* spp sobre *Drechslera* teres, agente causal de la "mancha en red" de la cebada (*Hordeum vulgare* L. var. vulgare). Naturalis. http://naturalis.fcnym.unlp.edu.ar/repositorio/_documentos/tesis/tesis_1488.pdf
- Muñoz, J., Guerra, B., & Alvarez, J. (2021). Fungal Endophytes of Tahiti Lime (*Citrus × latifolia*) and Their Potential for Control of *Colletotrichum acutatum* J. H. Simmonds Causing Anthracnose. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9. 10.3389/fbioe.2021.650351
- Nascente, A., Santos, A., Matsumura, A., Geraldine, A., Oliveira, A., Alves, A., Riciere, A., Figueredo, Á., Guimarães, A., Pimenta, A., Santa, A., Lanna, A., Rusin, C., Kenji, C., Mitinori, C., Forner, C., Weiler, C., Bruce, C., Rodrigues, C., ...Vegette, Z. (2022). *Trichoderma* su uso en la agricultura. In M. Conrado Meyer, M. Mazaro Sérgio, & J. C. da Silva (Eds.), *Empresa Brasileira de Investigación Agropecuaria Embrapa Soja Ministerio de Agricultura, Ganadería y Abastecimiento* (1st ed., pp. 166–547).
- Noboa, E. (2022). "Sistema Embebido para reconocimiento y conteo de esporas del hongo de género *Trichoderma* mediante técnicas de visión artificial. Repositorio Universidad Técnica Del Norte. <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/12904/2/04%20RED%20301%20TRABAJO%20DE%20GRADO.pdf>
- Nishikawa, M., Cárdenas, F., & Marín, M. (2023). Analysis of environmental DNA in the determination of fertility of agricultural soil in the province of Loja. *Revista de Ciencias de la Ingeniería de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo*, 6(1), 9. <https://doi.org/10.18779/ingenio.v6i1.558>
- Organización de Naciones Unidas. (2022). *Objetivos de desarrollo sostenible*. <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/objetivos-de-desarrollo-sostenible/>

- Poalacin, J. (2015). Estudio del adecuado crecimiento del hongo *Trichoderma Harzianum* y *Trichoderma Hamatum* en sustrato sólido. Universidad Central Del Ecuador Facultad De Ingeniería Química Carrera De Ingeniería Química Estudio Del Adecuado Crecimiento. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/4776/1/T-UCE-0017-128.pdf>
- Pozo, M., Zabalgogeoazcoa, I., Vazquez, B., & Martinez, A. (2021). Untapping the potential of plant mycobiomes for applications in agriculture. *ELSIVIER*, 60. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2021.102034>
- Ren, X., Branà, M. T., Haidukowski, M., Gallo, A., Zhang, Q., Logrieco, A. F., Li, P., Zhao, S., & Altomare, C. (2022). Potential of *Trichoderma* spp. for Biocontrol of Aflatoxin-Producing *Aspergillus flavus*. *Toxins*, 14(2), 86. <https://doi.org/10.3390/toxins14020086>
- Rojas-Triviño, A. (2011). *Conceptos y práctica de Microbiología General*.
- Ru, Z., & Di, W. (2012). *Trichoderma* spp. from rhizosphere soil and their antagonism against *Fusarium sambucinum*. *AFRICAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY*, 11(18). <https://doi.org/10.5897/ajb11.3426>
- Savín, J., Hernández, L., Ceiro, W., Ávila, G., Palacios, A., Ruiz, F., & Romero, M. (2021). Morphological characterization and biocontrol potential of *Trichoderma* species isolated from semi-arid soils. *Revista mexicana de fitopatología*, 39(3). <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2106-7>
- Shu, F., Peng, S., Zhou, X., Lin, W., & Yuan, G. (2023). First Report of *Trichoderma parareesei* Causing Seedling Blight on Eggplant in China. *Plant Disease*, 107(4), 1235. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-22-1642-PDN>

- Smiley, R. (2021). Root-Lesion Nematodes Affecting Dryland Cereals in the Semiarid Pacific Northwest U.S.A. *Plant Disease*, 105(11), 3324–3343. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-21-0883-FE>
- Stocco, M., Lampugnani, G., Zuluaga, S., Abramoff, C., Cordo, C., & Mónaco, C. (2019). Fungicida biológico a base de una cepa del hongo *Trichoderma harzianum*: su supervivencia en el suelo. *Revista de La Facultad de Agronomía*, 118(2), 020. <https://doi.org/10.24215/16699513e020>
- Tosi, M., Kovalski, E., Gaiero, J., & Dunfield, K. (2020). It takes three to tango: the importance of microbes, host plant, and soil management to elucidate manipulation strategies for the plant microbiome. *Canadian Journal of Microbiology*, 66(7). [10.1139/cjm-2020-0085](https://doi.org/10.1139/cjm-2020-0085)
- Tyśkiewicz, R., Nowak, A., Ozimek, E., & Jaroszuk, J. (2022). *Trichoderma*: The Current Status of Its Application in Agriculture for the Biocontrol of Fungal Phytopathogens and Stimulation of Plant Growth. *International Journal of Molecular Sciences*. [10.3390/ijms23042329](https://doi.org/10.3390/ijms23042329)
- Tseng, Y., Rouina, H., Groten, K., Rajani, P., Furch, A., Reichelt, M., Baldwin, I., Nataraja, K., Uma, R., & Oelmüller, R. (2020). An Endophytic *Trichoderma* Strain Promotes Growth of Its Hosts and Defends Against Pathogen Attack. *Frontiers in Plant Science*, 11, 16. [10.3389/fpls.2020.573670/full](https://doi.org/10.3389/fpls.2020.573670/full)
- UNL. (2023). Líneas de Investigación de la Universidad Nacional de Loja 2021. UNL. <https://drive.google.com/file/d/1otGwDagjo2wZEeDGBovtuk31A9IgrTC/view>
- Verma, M., Satinder, K., Tyagi, R., Surampalli, R., & Valéro, J. (2023). Dissolved oxygen as principal parameter for conidia production of biocontrol fungi *Trichoderma viride* in non-Newtonian wastewater. 33, 941. <https://doi.org/10.1007/s10295-006-0164-6>

- Viera, W., Tello, C., Martínez, A., Navia, D., Medina, L., Delgado, A., Perdomo, C., Pincay, A., Báez, F., Vásquez, W. & Trevor, J. (2020). Control Biológico: Una herramienta para una agricultura sustentable, un punto de vista de sus beneficios en Ecuador. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 8(2). 10.36610/j.jsab.2020.080200128
- Yao, X., Guo, H., Zhang, K., Zhao, M., Ruan, J., & Chen, J. (2023). Trichoderma and its role in biological control of plant fungal and nematode disease. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1160551>
- Zhang, J., Tang, W., Huang, Q., Li, Y, Wei, M., Jiang, L., Liu, C., Yu, X., Zhu, H., Chen, G.-Z., & Zhang, X. (2021). Trichoderma: A Treasure House of Structurally Diverse Secondary Metabolites With Medicinal Importance. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.723828>
- Zhou, C., Guo, R., Ji, S., Fan, H., Wang, J., Wang, Y., & Liu, Z. (2019). Isolation of Trichoderma from forestry model base and the antifungal properties of isolate TpsT17 toward *Fusarium oxysporum*. *Microbiological Research*, 231, 11. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.126371>
- Zúñiga, D., Sánchez, A., Ortiz, M., Otero, M., Balcázar, E., Valencia, S., Serrano, M., Coleman, J., Sarmiento, L., De, L., & Folch, J. (2022). Soil Type Influences Novel “Milpa” Isolates of *Trichoderma virens* and *Aspergillus tubingensis* That Promote Solubilization, Mineralization, and Phytoabsorption of Phosphorus in *Capsicum annuum* L. *Journal of Fungi*. Retrieved May 17, 2023, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9699344/>

11. Anexos

Anexo 1. Datos de la Tasa de Crecimiento Radial (TCR)

	Medición 1				Medición 2				Medición 3			
	C2M2	O1Y1	C1M2	Z1L1	C2M2	O1Y1	C1M2	Z1L1	C2M2	O1Y1	C1M2	Z1L1
Caja 5	36,65	60,89	62,96	43,05	60,49	69,12	71,20	85,07	89,60	90,7	72,97	89,74
Caja 4	34,87	57,43	62,37	43,05	64,73	63,45	68,67	86,65	88,90	89,95	90,3	88,81
Caja 3	41,51	53,74	63,74	46,10	68,91	68,20	75,23	81,53	90,30	90,7	90,3	88,24
Caja 2	40,8	50,00	68,02	45,13	68,27	66,78	69,35	80,14	90,30	90,7	86,11	86,9
Caja 1	51,00	60,92	73,02	46,72	77,24	70,00	82,24	85,07	90,30	90,7	90,30	88,66

Anexo 2. Resultados del Análisis de Varianza para la TCR

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
TC	60	0,03	0,00	31,56

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,26	3	0,09	0,64	0,5911
Especies	0,26	3	0,09	0,64	0,5911
Error	7,47	56	0,13		
Total	7,72	59			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,35307
 Error: 0,1333 gl: 56

Especies	Medias	n	E.E.
C2M2	1,06	15	0,09 A
Harzianum	1,15	15	0,09 A
C3M2	1,17	15	0,09 A
C1M2	1,25	15	0,09 A

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

Anexo 3. Datos del tamaño de conidias

N°	C2M2		O1Y1		C1M2		Z1L1	
	Largo	Ancho	Largo	Ancho	Largo	Ancho	Largo	Ancho
1	36,00	36,92	40,63	29,64	46,78	35,69	43,55	26,70
2	34,48	30,77	33,32	38,15	38,17	27,10	39,30	26,35
3	35,69	35,71	33,02	28,41	33,23	27,10	41,90	29,40
4	31,20	29,86	34,46	29,54	30,77	33,25	38,20	26,35
5	29,88	27,10	34,46	45,55	41,84	33,23	38,75	27,40
6	30,79	35,69	35,69	29,56	26,24	39,40	37,85	30,05
7	34,46	39,46	38,23	32,02	28,33	23,41	31,90	23,70

8	36,03	33,43	33,32	32,21	38,33	32,02	32,85	24,00
9	38,15	38,47	32,02	32,09	29,64	30,77	34,90	27,05
10	34,77	34,48	32,02	38,15	29,64	27,10	36,35	23,25
11	34,48	26,11	39,11	39,55	30,77	35,69	34,25	26,05
12	30,77	37,00	35,71	30,77	34,48	25,84	35,60	22,80
13	33,23	30,77	30,77	35,88	35,69	30,77	40,90	25,30
14	38,52	28,30	28,41	35,71	29,54	32,02	37,15	25,80
15	32,00	32,02	39,55	32,00	33,43	28,33	38,05	26,70
16	32,02	29,54	32,37	27,76	35,69	35,69	38,05	32,55
17	30,79	37,00	33,59	25,84	28,63	32,31	40,15	31,45
18	41,84	33,32	29,56	33,32	34,55	29,86	35,75	25,85
19	33,25	29,54	37,43	34,55	36,92	29,56	40,85	25,80
20	40,37	30,46	29,64	36,92	30,79	38,17	33,35	31,75
21	39,38	32,00	30,79	32,00	27,19	33,23	37,15	45,50
22	40,69	29,54	34,55	36,92	32,02	33,57	35,50	19,85
23	35,71	33,25	39,40	32,00	32,32	33,32	45,05	24,10
24	40,98	26,20	39,38	37,00	38,46	32,02	35,60	26,35
25	35,69	35,88	37,43	43,09	34,55	30,77	44,10	28,20
26	39,40	32,09	34,66	33,32	35,71	30,79	42,50	22,05
27	32,02	29,56	41,91	33,11	29,54	38,56	32,95	26,25
28	33,25	34,46	32,21	32,02	36,94	33,25	54,55	24,25
29	36,03	28,33	36,19	22,59	29,77	32,09	35,20	25,35
30	41,86	32,00	33,23	36,44	34,46	27,10	37,10	25,85
31	34,46	28,41	36,94	37,10	28,33	28,33	33,85	22,90
32	34,80	29,54	29,54	28,33	28,33	32,02	33,75	26,05
33	37,26	32,00	35,77	38,17	27,10	30,79	35,10	26,25
34	36,01	28,30	30,86	30,99	36,00	28,33	35,00	31,40
35	40,61	30,86	42,06	28,12	29,64	29,54	43,15	29,00
36	39,46	33,32	41,86	35,88	36,94	41,86	36,90	23,10
37	41,84	33,25	35,88	40,96	39,38	32,09	30,30	25,40
38	34,46	34,48	37,37	25,87	34,46	28,30	28,50	22,35
39	43,07	35,71	35,77	29,64	37,00	34,55	35,05	29,00
40	39,40	34,46	52,28	35,88	39,38	30,79	30,65	22,10
41	35,71	33,43	25,61	35,77	29,64	36,94	48,95	28,05
42	32,00	41,86	32,30	21,77	30,99	27,10	38,20	17,70

43	25,87	37,00	26,88	22,99	29,56	44,46	37,75	29,40
44	36,94	32,02	32,70	32,09	30,99	32,02	39,25	22,45
45	41,86	38,17	32,51	22,19	35,00	33,25	50,95	23,75
46	29,64	42,13	28,30	37,00	37,29	30,86	42,65	23,55
47	36,94	34,48	44,37	27,52	36,92	41,91	37,25	22,35
48	32,02	30,79	34,04	35,77	34,48	39,46	38,50	25,55
49	28,33	37,24	29,74	30,17	45,53	34,46	41,00	27,95
50	38,23	34,48	37,67	29,36	35,71	34,48	37,15	31,20
51	40,78	35,71	34,83	30,84	36,92	24,61	31,65	31,15
52	35,77	29,64	34,81	32,77	35,71	34,46	42,30	30,30
53	48,01	32,02	40,63	28,30	33,25	32,00	43,50	19,40
54	37,00	28,41	32,30	30,57	42,00	29,54	38,80	21,15
55	38,23	33,23	38,64	25,87	40,63	30,77	34,05	26,70
56	42,00	37,00	44,03	24,77	44,30	32,00	34,65	19,20
57	50,47	35,71	33,32	30,77	29,24	27,07	28,90	18,80
58	35,69	38,17	45,28	27,02	40,69	32,09	31,20	21,75
59	26,30	36,94	39,25	35,20	37,00	33,23	38,95	23,35
60	39,46	34,55	33,25	29,64	32,02	42,00	33,75	30,60
61	46,78	35,88	37,99	29,94	33,23	27,07	37,25	22,10
62	36,94	32,21	43,23	36,71	39,38	32,02	41,95	22,35
63	38,15	35,77	37,91	24,18	34,66	34,48	39,45	23,30
64	41,91	33,23	30,77	29,79	30,77	25,84	45,65	28,45
65	32,02	32,00	37,91	31,38	37,00	36,94	48,40	24,30
66	41,84	29,64	35,00	35,77	30,77	45,53	42,65	22,90
67	35,88	34,55	41,86	32,09	35,69	35,71	41,50	22,50
68	35,77	29,56	43,07	32,09	33,25	44,30	40,85	26,45
69	39,38	30,77	48,06	34,48	34,55	37,00	34,70	31,35
70	47,02	38,17	36,92	37,10	34,46	35,77	41,35	22,30
71	32,21	27,19	40,69	34,48	39,38	28,33	45,40	30,30
72	39,46	36,94	40,96	34,33	45,53	30,79	38,30	30,90
73	30,86	35,77	39,40	29,77	34,66	35,77	44,75	25,35
74	42,29	30,86	38,62	32,49	33,25	27,10	41,65	23,45
75	48,14	35,71	35,69	34,66	34,48	35,77	41,45	30,15
76	34,48	39,46	37,10	41,84	38,23	29,64	42,70	28,65
77	39,40	40,61	34,55	35,88	43,14	27,10	37,35	33,40

78	36,94	25,87	40,59	35,00	24,74	29,56	30,10	29,20
79	29,54	29,56	34,81	35,88	30,77	29,64	41,35	21,40
80	30,99	22,99	30,44	29,77	24,24	28,33	46,55	20,50
81	41,28	26,57	38,23	33,25	34,46	30,79	50,85	31,25
82	42,13	33,86	29,97	28,41	34,48	29,54	51,20	25,85
83	39,55	34,33	29,17	38,86	34,55	30,79	44,30	28,90
84	39,11	35,88	32,37	38,86	34,48	29,56	44,65	35,50
85	38,21	29,64	30,86	39,38	38,15	27,67	42,15	27,65
86	36,94	41,91	39,25	31,06	29,64	27,76	37,55	16,80
87	32,37	29,77	45,78	37,99	36,94	34,46	36,35	21,75
88	35,77	43,23	28,83	31,06	34,48	32,00	46,40	26,35
89	50,20	38,17	39,69	31,52	36,92	34,48	43,45	24,00
90	32,02	37,10	38,33	31,76	35,71	31,09	43,70	21,95
91	30,86	34,81	36,22	31,13	28,33	35,69	45,10	27,75
92	38,15	33,23	28,33	41,86	28,41	32,00	38,10	22,05
93	39,55	28,33	31,16	36,92	33,23	30,77	48,65	28,05
94	29,54	33,32	23,51	32,21	36,92	28,33	35,75	25,55
95	28,33	33,25	34,04	36,22	34,46	27,07	41,90	28,60
96	41,13	30,86	41,64	29,97	33,23	36,92	37,65	34,45
97	38,17	32,09	27,32	40,48	38,15	36,92	32,55	27,75
98	38,47	33,25	37,10	33,43	39,38	29,64	37,65	23,85
99	35,24	32,09	41,79	37,43	39,46	27,10	45,00	27,30
100	38,23	33,23	46,52	35,69	35,69	25,87	32,20	27,75
Promedio	36,82	33,24	35,87	32,92	34,48	32,16	39,20	26,10

Anexo 4. Resultados del Análisis de Varianza para la medición de conidias

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
Medición de esporas	389	0,12	0,12	17,86	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2187152,87	3	729050,96	18,21	<0,0001
Especies	2187152,87	3	729050,96	18,21	<0,0001
Error	15414299,55	385	40037,14		
Total	17601452,43	388			
Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=73,84629					
Error: 40037,1417 gl: 385					
Especies	Medias	n	E.E.		
Harzianum	1005,80	97	20,32	A	
C1M	1102,49	99	20,11	B	
C3M	1173,06	97	20,32	B	C
C2M	1200,28	96	20,42	C	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)					

Anexo 5. Datos del conteo de conidias

N° Conteo	C2M2						O1Y1						C1M2						Z1L1													
	A			B			A			B			A			B			A													
1	209	204	164	146	227	196	277	338	1335	1186	998	1163	1098	1121	906	1147	363	275	279	287	449	312	237	292	316	281	73	43	82	55	125	90
2	457	281	474	295	379	237	531	429	1144	1137	1207	1425	1506	1432	1428	1187	921	886	679	864	604	439	1087	597	112	39	253	46	91	63	85	76
3	359	223	284	205	259	265	328	193	1168	1311	1274	1390	943	1072	973	1035	140	175	244	215	692	386	768	774	132	198	198	153	136	116	127	106
4	133	89	101	97	136	120	133	124	1428	1558	1176	1576	1575	1325	1366	1326	368	321	536	368	354	222	254	260	219	182	52	127	92	76	91	71
5	207	133	151	141	204	215	135	182	247	273	259	227	290	337	270	255	142	140	152	160	166	154	153	153	102	97	149	142	146	90	91	73

Anexo 6. Resultados del Análisis de Varianza para el conteo de conidias

Análisis de la varianza						
Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV	
Conteo de esporas	18	0,96	0,95	22,64		
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)						
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	545402010236111000,00	3	181800670078704000,00	113,05	<0,0001	
Especies	545402010236111000,00	3	181800670078704000,00	113,05	<0,0001	
Error	22513105874999500,00	14	1608078991071390,00			
Total	567915116111111000,00	17				
Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=78188030,11309						
Error: 1608078991071394,0000 gl: 14						
Especies	Medias	n	E.E.			
Harzianum	47960000,00	5	17933649,89	A		
C3M2	92610000,00	5	17933649,89	A		
C1M2	122387500,00	4	20050430,11	A		
C2M2	498950000,00	4	20050430,11	B		
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)						

Anexo 7. Porcentajes de inhibición de *Trichoderma* frente a los fitopatógenos

Patógeno	Trichoderma	1	2	3	4	5	6
<i>Fusarium</i> spp.	C2M2	8,16	21,48	39,79	50,89	57,59	
<i>Fusarium</i> spp.	C2M2	9,82	24,31	31,08	42,14	48,37	
<i>Fusarium</i> spp.	C2M2	25,61	37,93	47,23	54,80	58,31	
<i>Fusarium</i> spp.	C2M2	33,09	40,06	49,95	53,48	55,65	
<i>Fusarium</i> spp.	C2M2	40,03	41,63	48,77	55,98	57,56	
<i>Fusarium</i> spp.	C2M2	8,40	34,18	44,21	53,40	55,86	
<i>Fusarium</i> spp.	O1Y1	7,50	20,95	31,22	43,66	52,11	
<i>Fusarium</i> spp.	O1Y1	1,71	11,75	26,41	43,73	52,45	
<i>Fusarium</i> spp.	O1Y1	0,30	19,11	30,94	44,33	51,62	
<i>Fusarium</i> spp.	O1Y1	20,06	33,09	43,34	50,96	56,16	
<i>Fusarium</i> spp.	O1Y1	15,30	28,80	37,89	49,88	55,08	
<i>Fusarium</i> spp.	O1Y1	2,54	23,93	37,11	43,47	49,28	
<i>Fusarium</i> spp.	C1M2	2,28	18,91	29,76	40,36	48,79	
<i>Fusarium</i> spp.	C1M2	1,71	8,64	22,77	36,01	44,81	
<i>Fusarium</i> spp.	C1M2	6,04	20,81	31,65	40,01	47,22	

<i>Fusarium</i> spp.	C1M2	20,66	29,42	39,83	46,43	53,27	
<i>Fusarium</i> spp.	C1M2	0,07	4,69	26,37	39,73	44,23	
<i>Fusarium</i> spp.	C1M2	3,16	12,36	26,33	34,58	40,10	
<i>Fusarium</i> spp.	Z1L1	22,20	34,91	44,22	52,50	60,31	
<i>Fusarium</i> spp.	Z1L1	0,09	3,02	16,56	31,16	40,13	
<i>Fusarium</i> spp.	Z1L1	23,41	37,33	48,06	55,76	63,90	
<i>Fusarium</i> spp.	Z1L1	25,55	37,76	49,92	57,50	63,52	
<i>Fusarium</i> spp.	Z1L1	26,75	37,45	48,45	57,37	63,59	
<i>Fusarium</i> spp.	Z1L1	2,37	31,92	46,74	55,89	62,90	
<i>Colletotrichum</i> spp	C2M2	26,74	32,68	38,32	36,87	55,08	55,08
<i>Colletotrichum</i> spp	C2M2	5,73	23,58	24,83	29,34	44,43	44,43
<i>Colletotrichum</i> spp	C2M2	9,21	24,83	34,75	34,96	52,00	52
<i>Colletotrichum</i> spp	C2M2	18,66	18,06	29,34	33,37	49,46	49,46
<i>Colletotrichum</i> spp	C2M2	13,89	17,46	37,37	37,66	54,10	54,1
<i>Colletotrichum</i> spp	C2M2	18,66	22,95	28,03	29,34	47,73	47,73
<i>Colletotrichum</i> spp	O1Y1	35,45	32,00	35,45	34,75	54,10	54,1
<i>Colletotrichum</i> spp	O1Y1	26,42	26,36	32,00	36,87	47,73	47,73
<i>Colletotrichum</i> spp	O1Y1	34,05	29,34	39,70	40,54	58,21	58,21
<i>Colletotrichum</i> spp	O1Y1	26,10	20,49	34,75	36,15	52,19	52,19
<i>Colletotrichum</i> spp	O1Y1	21,72	22,95	42,84	43,63	59,32	59,32
<i>Colletotrichum</i> spp	O1Y1	37,59	35,03	38,32	41,30	55,08	55,08
<i>Colletotrichum</i> spp	C1M2	21,10	32,68	34,47	34,89	51,26	51,26
<i>Colletotrichum</i> spp	C1M2	1,72	32,68	38,32	43,63	53,13	53,13
<i>Colletotrichum</i> spp	C1M2	16,26	34,06	46,05	46,88	62,87	62,87
<i>Colletotrichum</i> spp	C1M2	9,79	15,07	28,69	33,37	50,35	50,35
<i>Colletotrichum</i> spp	C1M2	13,30	13,89	35,45	36,87	53,13	53,13
<i>Colletotrichum</i> spp	C1M2	25,48	33,36	34,75	36,16	52,19	52,19
<i>Colletotrichum</i> spp	Z1L1	21,10	37,59	42,84	44,43	62,87	62,87
<i>Colletotrichum</i> spp	Z1L1	10,37	33,37	39,80	44,43	57,14	57,14
<i>Colletotrichum</i> spp	Z1L1	14,48	28,69	43,63	45,23	64,64	64,64
<i>Colletotrichum</i> spp	Z1L1	14,30	30,00	45,23	43,63	64,82	64,82
<i>Colletotrichum</i> spp	Z1L1	22,95	28,69	42,84	45,23	64,96	64,96
<i>Colletotrichum</i> spp	Z1L1	28,68	39,05	52,18	55,08	62,87	62,87
<i>Alternaria</i> spp	C2M2	9,15	17,40	28,75	34,06	40,62	40,62
<i>Alternaria</i> spp	C2M2	22,02	23,32	32,41	32,81	47,90	47,9
<i>Alternaria</i> spp	C2M2	7,30	23,58	31,74	36,09	41,91	41,91
<i>Alternaria</i> spp	C2M2	11,77	21,90	28,10	29,34	43,08	43,08
<i>Alternaria</i> spp	C2M2	7,24	21,78	25,79	27,13	47,56	47,56
<i>Alternaria</i> spp	C2M2	14,18	9,49	16,38	23,39	35,17	35,17
<i>Alternaria</i> spp	O1Y1	2,24	23,83	35,17	39,79	47,39	47,39
<i>Alternaria</i> spp	O1Y1	9,15	20,24	29,41	28,75	43,16	43,16
<i>Alternaria</i> spp	O1Y1	1,72	20,98	31,60	38,17	44,11	44,11
<i>Alternaria</i> spp	O1Y1	1,43	22,52	20,79	20,48	39,94	39,94

<i>Alternaria spp</i>	O1Y1	1,32	25,40	32,96	34,26	57,03	57,03
<i>Alternaria spp</i>	O1Y1	14,66	19,82	21,71	27,77	50,62	50,62
<i>Alternaria spp</i>	C1M2	5,22	23,14	34,68	39,49	45,23	45,23
<i>Alternaria spp</i>	C1M2	12,47	23,70	36,44	39,35	56,72	56,72
<i>Alternaria spp</i>	C1M2	7,76	26,42	34,68	40,69	56,82	56,82
<i>Alternaria spp</i>	C1M2	5,97	23,08	29,54	31,80	53,41	53,41
<i>Alternaria spp</i>	C1M2	4,13	24,52	27,77	31,40	51,17	51,17
<i>Alternaria spp</i>	C1M2	5,85	9,26	17,28	25,91	40,09	40,09
<i>Alternaria spp</i>	Z1L1	12,00	27,90	37,51	41,22	48,25	48,25
<i>Alternaria spp</i>	Z1L1	15,49	24,71	37,59	34,96	52,84	52,84
<i>Alternaria spp</i>	Z1L1	13,89	28,62	35,80	40,09	46,05	46,05
<i>Alternaria spp</i>	Z1L1	7,07	21,84	30,20	31,06	46,55	46,55
<i>Alternaria spp</i>	Z1L1	3,10	16,68	21,78	24,08	46,05	46,05
<i>Alternaria spp</i>	Z1L1	10,49	13,95	21,22	28,36	40,24	40,24

Anexo 8. Resultados del Análisis de Varianza para PICR%

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
Observaciones	72	0,48	0,39	58,57	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3569,56	11	324,51	5,04	<0,0001
Patogeno	1527,81	2	763,90	11,87	<0,0001
Trichoderma	543,06	3	181,02	2,81	0,0469
Patogeno*Trichoderma	1498,69	6	249,78	3,88	0,0024
Error	3861,58	60	64,36		
Total	7431,13	71			
Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=15,74848					
Error: 64,3596 gl: 60					
Patogeno	Trichoderma	Medias	n	E.E.	
Alternaria	O1Y1	5,09	6	3,28	A
Fusarium	C1M2	5,65	6	3,28	A B
Alternaria	C1M2	6,90	6	3,28	A B
Fusarium	O1Y1	7,90	6	3,28	A B
Alternaria	Z1L1	10,34	6	3,28	A B
Alternaria	C2M2	11,94	6	3,28	A B
Colletotrichum	C1M2	14,61	6	3,28	A B C
Colletotrichum	C2M2	15,48	6	3,28	A B C
Fusarium	Z1L1	16,73	6	3,28	A B C
Colletotrichum	Z1L1	18,65	6	3,28	A B C
Fusarium	C2M2	20,85	6	3,28	B C
Colletotrichum	O1Y1	30,22	6	3,28	C
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)					

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
Observaciones	72	0,36	0,24	30,18	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1911,79	11	173,80	3,08	0,0025
Patogeno	490,96	2	245,48	4,35	0,0173
Trichoderma	458,36	3	152,79	2,70	0,0533
Patogeno*Trichoderma	962,47	6	160,41	2,84	0,0168
Error	3389,59	60	56,49		
Total	5301,38	71			
Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=14,75467					
Error: 56,4931 gl: 60					
Patogeno	Trichoderma	Medias	n	E.E.	
Fusarium	C1M2	15,81	6	3,07	A
Alternaria	C2M2	19,58	6	3,07	A B
Alternaria	C1M2	21,69	6	3,07	A B
Alternaria	O1Y1	22,13	6	3,07	A B
Alternaria	Z1L1	22,28	6	3,07	A B
Fusarium	O1Y1	22,94	6	3,07	A B
Colletotrichum	C2M2	23,26	6	3,07	A B
Colletotrichum	C1M2	26,96	6	3,07	A B
Colletotrichum	O1Y1	27,70	6	3,07	A B
Fusarium	Z1L1	30,40	6	3,07	A B
Colletotrichum	Z1L1	32,90	6	3,07	B
Fusarium	C2M2	33,27	6	3,07	B
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)					

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
Observaciones	72	0,46	0,37	19,68	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2425,14	11	220,47	4,73	<0,0001
Patogeno	1110,87	2	555,44	11,91	<0,0001
Trichoderma	525,61	3	175,20	3,76	0,0154
Patogeno*Trichoderma	788,66	6	131,44	2,82	0,0175
Error	2798,08	60	46,63		
Total	5223,22	71			
Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=13,40560					
Error: 46,6346 gl: 60					
Patogeno	Trichoderma	Medias	n	E.E.	
Alternaria	C2M2	27,20	6	2,79	A
Alternaria	O1Y1	28,61	6	2,79	A
Fusarium	C1M2	29,45	6	2,79	A B
Alternaria	C1M2	30,07	6	2,79	A B
Alternaria	Z1L1	30,68	6	2,79	A B
Colletotrichum	C2M2	32,11	6	2,79	A B C D
Fusarium	O1Y1	34,49	6	2,79	A B C D
Colletotrichum	C1M2	36,29	6	2,79	A B C D
Colletotrichum	O1Y1	37,18	6	2,79	A B C D
Fusarium	Z1L1	42,33	6	2,79	B C D
Fusarium	C2M2	43,51	6	2,79	C D
Colletotrichum	Z1L1	44,42	6	2,79	D
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)					

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
Observaciones	72	0,66	0,60	14,30	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3780,12	11	343,65	10,66	<0,0001
Patogeno	2608,84	2	1304,42	40,45	<0,0001
Trichoderma	411,01	3	137,00	4,25	0,0087
Patogeno*Trichoderma	760,27	6	126,71	3,93	0,0022
Error	1935,04	60	32,25		
Total	5715,16	71			
Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=11,14810					
Error: 32,2506 gl: 60					
Patogeno	Trichoderma	Medias	n	E.E.	
Alternaria	C2M2	30,47	6	2,32	A
Alternaria	O1Y1	31,54	6	2,32	A
Alternaria	Z1L1	33,30	6	2,32	A
Colletotrichum	C2M2	33,59	6	2,32	A
Alternaria	C1M2	34,77	6	2,32	A
Colletotrichum	C1M2	38,63	6	2,32	A B
Colletotrichum	O1Y1	38,87	6	2,32	A B
Fusarium	C1M2	39,52	6	2,32	A B
Fusarium	O1Y1	46,01	6	2,32	B C
Colletotrichum	Z1L1	46,34	6	2,32	B C
Fusarium	Z1L1	51,70	6	2,32	C
Fusarium	C2M2	51,78	6	2,32	C
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)					

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Observaciones	72	0,58	0,51	9,84

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2194,32	11	199,48	7,66	<0,0001
Patogeno	989,50	2	494,75	19,01	<0,0001
Trichoderma	482,34	3	160,78	6,18	0,0010
Patogeno*Trichoderma	722,49	6	120,41	4,63	0,0006
Error	1561,60	60	26,03		
Total	3755,92	71			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=10,01477
 Error: 26,0266 gl: 60

Patogeno	Trichoderma	Medias	n	E.E.
Alternaria	C2M2	42,71	6	2,08 A
Fusarium	C1M2	46,40	6	2,08 A B
Alternaria	Z1L1	46,66	6	2,08 A B
Alternaria	O1Y1	47,04	6	2,08 A B
Colletotrichum	C2M2	50,47	6	2,08 A B C
Alternaria	C1M2	50,57	6	2,08 A B C
Fusarium	O1Y1	52,78	6	2,08 B C
Colletotrichum	C1M2	53,82	6	2,08 B C D
Colletotrichum	O1Y1	54,44	6	2,08 B C D
Fusarium	C2M2	55,56	6	2,08 B C D
Fusarium	Z1L1	59,06	6	2,08 C D
Colletotrichum	Z1L1	62,88	6	2,08 D

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

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Observaciones	48	0,63	0,57	9,41

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1588,05	7	226,86	9,82	<0,0001
Patogeno	899,17	1	899,17	38,91	<0,0001
Trichoderma	422,34	3	140,78	6,09	0,0016
Patogeno*Trichoderma	266,54	3	88,85	3,85	0,0165
Error	924,25	40	23,11		

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=8,87114
 Error: 23,1063 gl: 40

Patogeno	Trichoderma	Medias	n	E.E.
Alternaria	C2M2	42,71	6	1,96 A
Alternaria	Z1L1	46,66	6	1,96 A B
Alternaria	O1Y1	47,04	6	1,96 A B
Colletotrichum	C2M2	50,47	6	1,96 A B
Alternaria	C1M2	50,57	6	1,96 A B
Colletotrichum	C1M2	53,82	6	1,96 B
Colletotrichum	O1Y1	54,44	6	1,96 B C
Colletotrichum	Z1L1	62,88	6	1,96 C

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

Anexo 9. Muestras del suelo de las distintas localidades

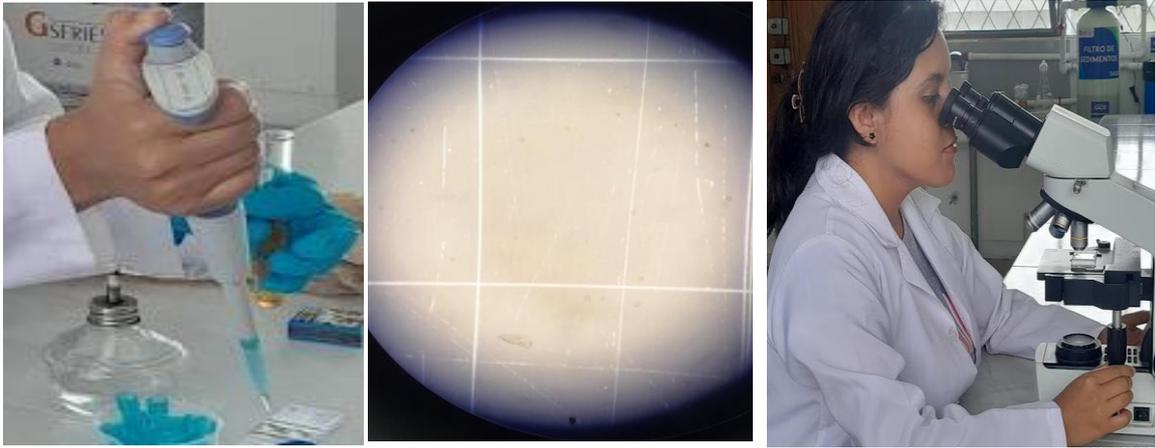


Anexo 10. Siembra de Trichoderma



Anexo 11. Procedimiento para el conteo de conidias en la Cámara de Neubauer

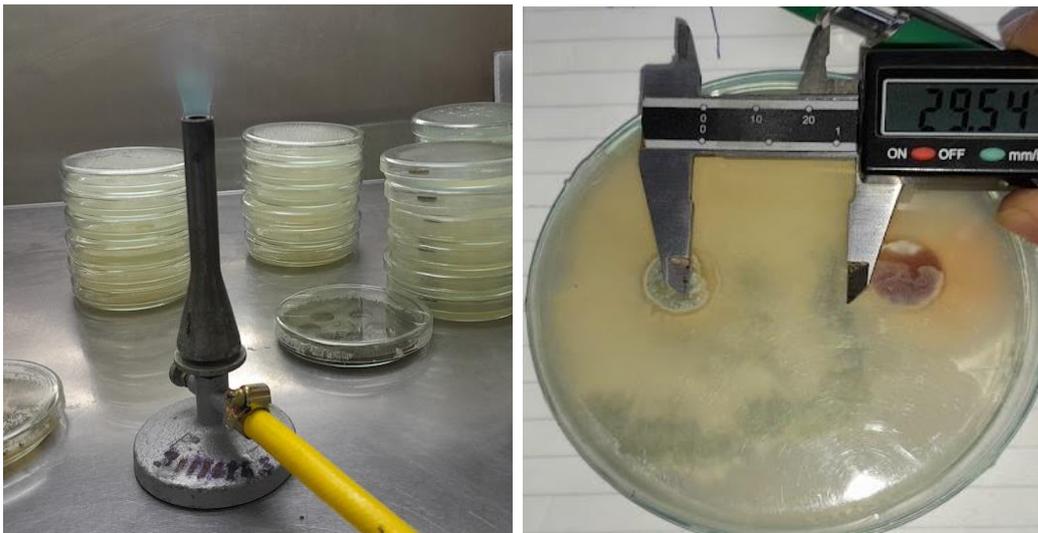




Anexo 12. Observación en el microscopio de las estructuras reproductivas y medición de conidias.



Anexo 13. Medición de los cultivos duales



Anexo 14. Certificado de la traducción del resumen.

CERTIFICADO DEL RESUMEN

Yo, **Maholy Katherine Morocho Merino**, portadora de la cedula de Identidad N°:1104677131. Licenciada en Ciencias de la Educación Especialidad Idioma Inglés. Certifico la traducción al idioma inglés el resumen del Trabajo de Integración Curricular denominada: "**Caracterización de aislados de *Trichoderma* spp. procedentes del fitobioma en la provincia de Loja y su antagonismo frente a microorganismos fitopatógenos**", perteneciente a la señorita **Karen Lisseth Jiménez Armijos**, esta corresponde al texto original en español.

A la parte interesada muy atentamente,



Maholy Katherine Morocho Merino

Licenciada en Ciencias de la Educación Especialidad Idioma Inglés
Registro N° 1008-2016-1695982 SENEYCYT.