

# EVALUACIÓN DE SUSTRATOS ORGÁNICOS PARA LA REPRODUCCIÓN DE *TRICHODERMA* SPP. EN CONDICIONES DE LABORATORIO EN LA AMAZONÍA ECUATORIANA

## EVALUATION OF ORGANIC SUBSTRATES FOR THE CULTIVATION OF *TRICHODERMA* SPP. UNDER LABORATORY CONDITIONS IN THE ECUADORIAN AMAZON

Rodrigo Salazar<sup>1</sup>, Maritza Vega<sup>2</sup>, Sergio Orozco<sup>3</sup>, Keylly Chávez<sup>4</sup>

{[rodrigo.salazar@esPOCH.edu.ec](mailto:rodrigo.salazar@esPOCH.edu.ec)<sup>1</sup>, [maritzavega204@gmail.com](mailto:maritzavega204@gmail.com)<sup>2</sup>, [sergio.orozcocos@esPOCH.edu.ec](mailto:sergio.orozcocos@esPOCH.edu.ec)<sup>3</sup>, [keylly.chavez@esPOCH.edu.ec](mailto:keylly.chavez@esPOCH.edu.ec)<sup>4</sup>}

Fecha de recepción: 23/03/2026 / Fecha de aceptación: 30/03/2026 / Fecha de publicación: 31/03/2026

**RESUMEN:** La presente investigación tuvo como objetivo determinar la eficiencia biotecnológica de tres soportes orgánicos (arroz, cebada y melaza) para la propagación masiva del hongo *Trichoderma* spp. bajo condiciones controladas en la provincia de Orellana, Ecuador. A través de este estudio se analizó alternativas accesibles para todos los agricultores considerando la generación de bio-insumos que disminuyan el uso de agroquímicos en la Amazonía ecuatoriana. A través un Diseño Completamente al Azar (DCA), se valoraron parámetros tanto de crecimiento y capacidad reproductiva. Los resultados obtenidos demostraron una superioridad estadística del sustrato de cebada, el mismo que alcanzó una colonización total del medio en 4 días y una densidad de esporulación máxima de  $1.8 \times 10^9$  conidios/g, lo cual representó una superioridad significativa en comparación con el arroz ( $1.2 \times 10^8$  conidios/g) y con la melaza, esta última presentó un desarrollo bajo con una concentración inferior a  $10^5$  conidios/mL. Estos hallazgos demuestran que la estructura física y composición nutricional de la cebada optimizan la eficiencia reproductiva de *Trichoderma* spp., consolidándose como una estrategia técnica y económicamente viable para la producción local de controladores biológicos. El aprovechamiento de estos residuos orgánicos fortalece la transición hacia modelos de agricultura sostenible y manejo ecológico de cultivos en el ecosistema amazónico.

**Palabras clave:** *Trichoderma* spp., esporulación, sustratos orgánicos, bioinsumos, Amazonía

<sup>1</sup>Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH) Sede Orellana, Ecuador, <https://orcid.org/0000-0001-6194-1638>; +593999444777

<sup>2</sup>Instituto Tecnológico Superior Oriente, Ecuador, <https://orcid.org/0009-0004-9001-7718/print>; +593 93 967 3241

<sup>3</sup>Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH) Sede Orellana, Ecuador, <https://orcid.org/0009-0000-7921-1705>; +593 98 314 6875

<sup>4</sup>Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH) Sede Orellana, Ecuador, <https://orcid.org/0000-0003-0780-6704>; +593998603125

**ABSTRACT:** This research aimed to determine the biotechnological efficiency of three organic substrates (rice, barley, and molasses) for the mass propagation of the fungus *Trichoderma* spp. under controlled conditions in the province of Orellana, Ecuador. The study is grounded in the search for low-cost alternatives for bio-input production to mitigate agrochemical reliance in the Amazon region. Using a Completely Randomized Design (CRD), growth kinetic parameters and reproductive capacity were evaluated. The results revealed a statistical superiority of the barley substrate, which achieved full colonization in only 4 days and a maximum sporulation density of  $1.8 \times 10^9$  conidia/g. This performance significantly outperformed rice ( $1.2 \times 10^8$  conidia/g) and molasses, the latter showing incipient development with a concentration below  $10^5$  conidia/mL. These findings demonstrate that the physical structure and nutritional composition of barley optimize the reproductive efficiency of *Trichoderma* spp., establishing it as a technically and economically viable strategy for local biological control agent production. Leveraging these organic residues strengthens the transition toward sustainable agricultural models and ecological crop management within the Amazonian ecosystem.

**Keywords:** *Trichoderma* spp., sporulation, organic substrates, bio-inputs, Amazon

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años, la agricultura ha venido enfrentando retos de grandes magnitudes considerando que la demanda en el consumo de alimentos ha incrementado en conjunto con la población mundial, sin embargo, se ha buscado la forma de realizar una producción mucho más amigable con el medio ambiente mitigando los posibles efectos en los ecosistemas, a pesar de estos esfuerzos, la dependencia sostenida de fertilizantes químicos y agroquímicos de síntesis han venido generando graves consecuencias desfavorables como la contaminación de suelos, agua, reducción de biodiversidad, cambio de uso de suelo, fragmentación de hábitat, entre otros; esto ha impulsado la transición hacia sistemas productivos más sostenibles (1).

En este contexto, las enfermedades fitopatológicas representan un grave problema dentro de la producción agrícola, lo cual ocasiona pérdidas que pueden llegar a alcanzar hasta el 40 % de la producción mundial (2). Frente a esta situación, el desarrollo y aplicación de bioinsumos surge como una alternativa viable y favorable para el fortalecimiento de la resiliencia dentro de los sistemas agrícolas y buscar minimizar la dependencia de insumos químicos.

Dentro del grupo de los microorganismos, el género *Trichoderma* spp. destaca por su amplio potencial como agentes de control biológico y promotores del crecimiento vegetal (3–5). Su eficacia está asociada a diversos mecanismos de acción, entre los que se incluyen el micoparasitismo, la competencia por espacio y nutrientes, la producción de metabolitos secundarios con actividad antifúngica y la inducción de resistencia sistémica en las plantas (6).

Adicionalmente, *Trichoderma* spp. cumple un rol bioestimulante, favoreciendo el desarrollo del sistema radicular y mejorando la absorción de nutrientes, lo que incrementa la tolerancia de las plantas frente a condiciones de estrés abiótico, como la baja fertilidad del suelo o la escasez

hídrica (7). Diversos estudios señalan que su aplicación no solo mejora los rendimientos agrícolas, sino que también contribuye a la recuperación de las propiedades biológicas del suelo, consolidándose como una herramienta importante en la agricultura sostenible (8,9).

Cabe destacar que en el área productiva se puede aprovechar estos beneficios siempre que se analice la calidad del inóculo y la eficiencia en los procesos de multiplicación, además del tipo del sustrato utilizado, este último juega un rol importante ya que a partir de este se determina la velocidad de crecimiento del micelio, el tiempo de colonización y la capacidad que presente el hongo de esporulación (10), es necesario entonces seleccionar adecuadamente el sustrato verificando el equilibrio físico y nutricional para garantizar la producción de bioinsumos (11).

En la Amazonía ecuatoriana existe una amplia disponibilidad de residuos y subproductos agrícolas que podrían ser empleados como sustratos para la propagación de *Trichoderma* spp. Sin embargo, la falta de estudios que evalúen su comportamiento bajo las condiciones climáticas propias de la región ha limitado su aprovechamiento. Considerando que variables como la relación carbono/nitrógeno, la porosidad y la retención de humedad influyen en la eficiencia reproductiva del hongo, se hace necesario realizar evaluaciones comparativas (12).

El presente estudio buscó evaluar el desempeño de tres diferentes sustratos orgánicos en el proceso de reproducción de *Trichoderma* spp., bajo la supuesta de que la eficiencia en el desarrollo se encuentra limitada por el medio de cultivo en torno a sus propiedades físicas y químicas para lo cual se analizó el desarrollo del micelio, la velocidad de colonización y la capacidad de esporulación bajo los tres sustratos definidos (arroz, cebada y melaza) identificando el sustrato más adecuado.

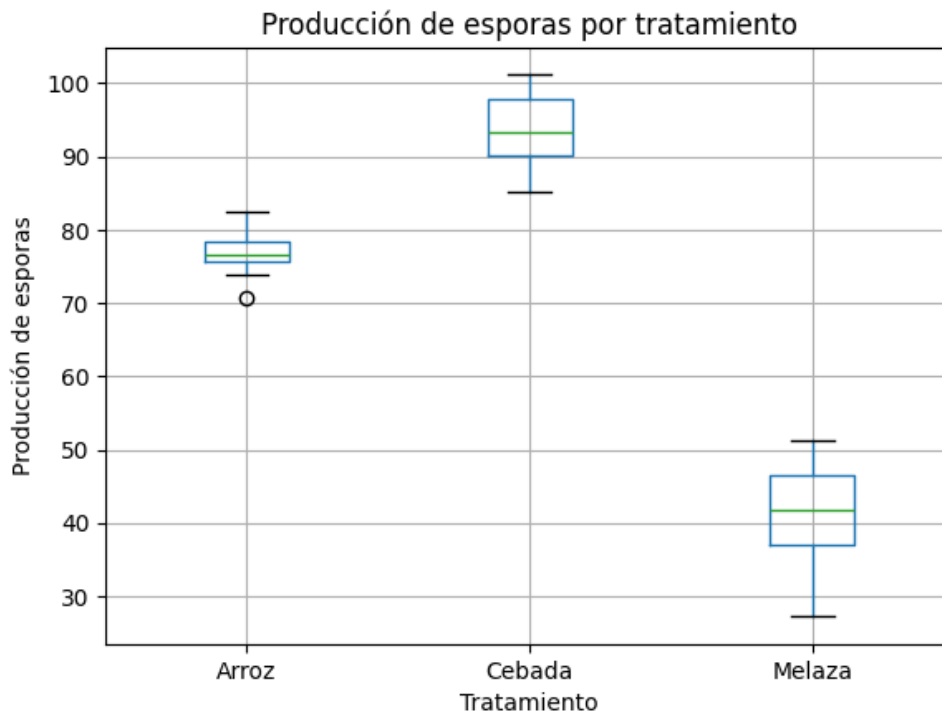
## MATERIALES Y METODOS

### 2.1. Área de estudio y condiciones ambientales

El experimento se llevó a cabo en condiciones de laboratorio en la provincia de Orellana, Ecuador. Esta región presenta un clima tropical húmedo caracterizado por temperaturas promedio entre 24 y 28 °C y una humedad relativa superior al 80%. Estas condiciones ambientales favorecen el crecimiento y la actividad fisiológica de hongos del género *Trichoderma* (13, 3), ya que proporcionan un entorno adecuado para su desarrollo metabólico y proliferación.

### 2.2. Diseño Experimental

Se empleó un Diseño Completamente al Azar (DCA), conformado por tres tratamientos según el tipo de sustrato: arroz (T1), cebada (T2) y melaza (T3). Cada tratamiento tuvo tres repeticiones, sumando un total de nueve unidades experimentales. La selección de los sustratos se fundamentó en su disponibilidad en la región amazónica y en su contenido de carbohidratos, los cuales constituyen una fuente energética importante para el crecimiento del micelio (10, 11). Asimismo, se tomaron en cuenta características físicas como la aireación y la capacidad de retención de humedad, factores que influyen directamente en el desarrollo de los hongos filamentosos (12).



**Figura 1. Producción de esporas por tratamiento.**

### 2.3. Preparación de sustratos e inoculación

Los sustratos sólidos (arroz y cebada) fueron limpiados previamente para eliminar impurezas y luego hidratados con agua destilada hasta alcanzar un nivel adecuado de humedad. Posteriormente, se esterizaron en autoclave a 121 °C y 15 psi durante 20 minutos, con el propósito de eliminar microorganismos contaminantes y asegurar condiciones estériles (14). En el caso del tratamiento con melaza, se preparó una solución acuosa que fue sometida al mismo proceso de esterilización.

La inoculación se realizó dentro de una cámara de flujo laminar para evitar contaminación. Se utilizó una cepa de *Trichoderma spp.* proveniente del banco de germoplasma de la ESPOCH (Sede Orellana), previamente cultivada en Agar Papa Dextrosa (PDA). La suspensión del inóculo se concertó a una concentración de  $1 \times 10^7$  conidios por cada mL, determinada mediante un conteo en cámara de Neubauer (3, 5). Posteriormente, el inóculo se distribuyó de manera uniforme en cada unidad experimental, con el fin de asegurar una colonización homogénea. Los cultivos se incubaron bajo condiciones controladas que favorecieron el crecimiento micelial y la posterior formación de esporas (6).

### 2.4. Variables de respuesta

Durante el desarrollo del experimento se evaluaron diferentes variables relacionadas con el crecimiento y comportamiento del hongo:

- Crecimiento micelial: determinado mediante la expansión del micelio sobre el sustrato en función del tiempo.
- Velocidad de colonización: definida como el tiempo requerido para que el hongo cubra completamente el sustrato (10).
- Producción de esporas: evaluada de forma cualitativa (color e intensidad) y cuantitativa mediante conteo microscópico (15).
- Desarrollo fenológico: registrado como el tiempo transcurrido desde la inoculación hasta alcanzar el máximo crecimiento.

Adicionalmente, se realizaron observaciones periódicas de características macroscópicas como la densidad del micelio, coloración y uniformidad del crecimiento, con el fin de complementar la información cuantitativa obtenida (6).

## 2.5. Análisis estadístico

Una vez obtenidos los datos, estos fueron analizados utilizando el software InfoStat realizando un análisis de varianza (ANOVA) para lo cual se verificó los supuestos de normalidad y la homogeneidad de varianzas, una vez identificadas las diferencias significativas entre los diferentes tratamientos se procedió a realizar una prueba de Tukey considerando un nivel de significancia de 0,5 para realizar la comparación de las medias (15), posterior a esto se generó las correspondientes tablas y representaciones gráficas de los resultados obtenidos facilitando su comprensión e interpretación.

## RESULTADOS

Al analizar las variables previamente definidas: crecimiento del micelio, velocidad de colonización y producción de esporas y realizar el análisis estadístico correspondiente de obtuvieron variaciones significativas en los tratamientos aplicados lo cual comprueba que el tipo de sustrato utilizado en la producción de *trichoderma spp.*, influye directamente en el desempeño biológico del mismo, obteniendo que los sustratos sólidos son aquellos que presentan un mejor comportamiento al comparar con el sustrato líquido.

En torno al crecimiento del micelio, la cebada (T2) presentó un mejor desarrollo. Se observó una colonización continua y rápida además de la alta densidad, alcanzando la cobertura completa del sustrato en menor tiempo. Al observar las primeras etapas de incubación, se tuvo que el micelio se desarrolló y expandió de forma homogénea, lo cual es un indicativo que este sustrato es el que reúne condiciones físicas y nutricionales adecuadas para el desarrollo del hongo, principalmente cuando se trata de procesos de aireación y disponibilidad de humedad.

Para el caso del arroz (T1) se evidenció un comportamiento intermedio debido a que si bien el micelio creció presentó una falta de uniformidad y menor densidad al compararlo con T2, observando incluso zonas con menor cobertura y por ende heterogeneidad en la colonización en

ciertas unidades experimentales, sin embargo es destacable que el sustrato permita un desarrollo del microorganismo.

En el caso de la melaza (T3), el crecimiento fue claramente inferior, con una colonización lenta e incompleta, presentó una baja densidad micelial y una distribución irregular. Esta forma de desarrollo puede asociarse con la naturaleza líquida del sustrato, misma que limita la oxigenación, un factor importante al momento en que se desarrollan los hongos filamentosos, adicional a que carece de una estructura que favorezca la expansión del micelio.

La velocidad de colonización mantuvo la tendencia, considerando que la cebada alcanzó la cobertura total en un tiempo menor, lo cual evidenció la alta capacidad de adaptación del hongo a este medio. En tanto el arroz requirió un mayor periodo para completar la colonización, mientras que la melaza presentó el proceso más lento, confirmando su menor eficiencia como sustrato.

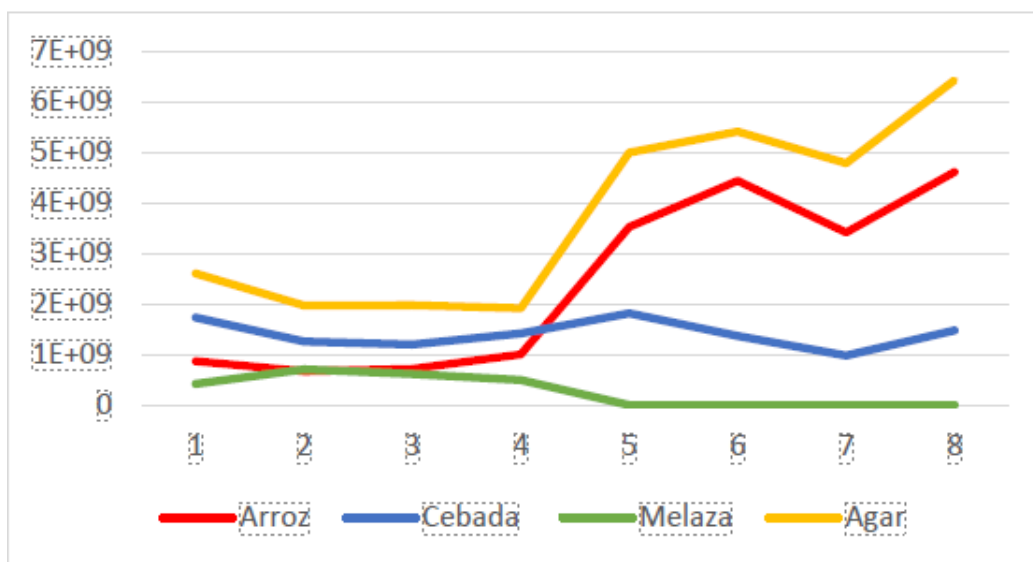


Figura 2. Velocidad de crecimiento.

En cuanto a la producción de esporas, también se observaron diferencias claras entre tratamientos. La cebada registró la mayor esporulación, caracterizada por una coloración verde intensa, indicativa de una alta producción de conidios en *Trichoderma spp.*. Este resultado refleja que el hongo no solo crece adecuadamente en este sustrato, sino que también alcanza eficientemente su fase reproductiva.

Al analizar la producción de esporas en el arroz, este presentó una esporulación moderada con formación de estructuras reproductivas pero en cantidades menores al compararlas con la cebada lo cual evidencia que este sustrato no potencia la reproducción del hongo; contrariamente la melaza tuvo una producción de esporas mínima y en algunos casos nula, lo cual afirma el hecho de que este tipo de sustratos líquidos, no presenta las condiciones necesarias en torno a disponibilidad de oxígeno y soporte para el crecimiento adecuado del hongo.

Al realizar una observación macroscópica se identificó que la cebada presentó una coloración verde intensa característica de *Trichoderma spp.*, además de un crecimiento homogéneo, con alta densidad y compactación, en tanto el arroz presentó una coloración verde clara, con una densidad más baja, mientras que en la melaza el crecimiento fue heterogéneo, con poca densidad en algunos casos nula y una muy baja esporulación.

Además, se evidenciaron diferencias en el tiempo total de desarrollo, presentando un menor tiempo de esporulación la cebada, seguida por el arroz y finalmente obteniendo que la melaza presentó un retraso considerable en su ciclo de crecimiento; con esto se confirma que el sustrato influye tanto en la magnitud como en la velocidad del desarrollo del hongo.

Al realizar el análisis estadístico mediante ANOVA se observaron diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0,05$ ) en todas las variables evaluadas para este experimento, la prueba de Tukey permitió establecer grupos específicos, ubicando a la cebada como el tratamiento de mejor desempeño, seguido del arroz y finalmente la melaza.

**Tabla 1. Prueba de Tukey.**

Tratamiento	Medias	Error estándar	Significancia (> 0.05)
Melaza (T3)	5,60E+08	1,12E+08	A
Arroz (T1)	8,14E+08	1,12E+08	A
Cebada (T2)	1,40E+09	1,12E+08	B
Agar (T4)	2,12E+09	1,12E+08	C

En términos generales, los resultados indican que los sustratos sólidos proporcionan mejores condiciones para el crecimiento y reproducción del hongo en comparación con los medios líquidos. La estructura de estos materiales facilita la aireación y la retención de humedad, factores determinantes en el desarrollo micelial y la esporulación, a diferencia de los sustratos líquidos que presentan más limitaciones al momento del desarrollo.

Se concluye que la cebada se posiciona como el sustrato más favorable para la reproducción de *Trichoderma spp.*, seguida por el arroz, en tanto que la melaza presenta restricciones significativas, considerando entonces que estos resultados son relevantes al realizar producción de bioinsumos, ya que destacan la importancia de realizar una selección previa del sustrato para optimizar los procesos y mejorar la calidad del producto.

## DISCUSIÓN

Los resultados del estudio evidencian que el tipo de sustrato orgánico influye de manera significativa en el crecimiento y la reproducción de *Trichoderma spp.*, lo cual coincide con lo reportado en investigaciones previas que destacan la importancia de las propiedades físicas y químicas del medio en el desarrollo de hongos filamentosos (10–12).

El mejor desempeño observado en la cebada puede explicarse por su composición nutricional y su estructura física, las cuales favorecen una adecuada aireación y retención de humedad, condiciones necesarias para el desarrollo eficiente del micelio (16). El crecimiento acelerado y homogéneo registrado en el sustrato sugiere que este facilita la expansión de oxígeno, un aspecto fundamental para el proceso de respiración celular y el metabolismo fúngico (19). Del mismo modo, la elevada obtención de esporas en la cebada indica que el sustrato a más de favorecer la fase vegetativa del hongo también permite una evolución hacia la fase reproductiva, lo cual es esencial para la elaboración de inoculantes con alta viabilidad biológica.

El arroz que obtuvo un comportamiento intermedio apunta que, aunque permite el desarrollo de *Trichoderma* spp., no brinda todas las condiciones óptimas. Estas diferencias significativas podrían estar relacionadas con ciertas variaciones en torno a su estructura o en la capacidad de retener humedad un factor que influye en la disponibilidad de nutrientes para el crecimiento de los hongos (17). No obstante, la amplia disponibilidad y el desempeño positivo lo convierten en una alternativa factible bajo contextos específicos.

La melaza presentó una evidente limitación al ser utilizada como sustrato para la reproducción del hongo, teniendo que este resultado coincide con reportes que indican que los medios en estado líquido dificultan el proceso de aireación lo cual disminuye la disponibilidad de oxígeno lo cual implica un menor desarrollo del micelio y la esporulación (18). Adicional, la posibilidad de acumulación de metabolitos limita aún más el desarrollo de microorganismos al generar condiciones poco favorables.

Los resultados destacan la necesidad de considerar las características físicas del sustrato y no solo la composición química del mismo ya que estos factores en conjuntos determinan el desarrollo de *Trichoderma* spp., teniendo que los sustratos sólidos presentan mejores condiciones para su crecimiento y reproducción (19).

Cabe destacar que los resultados obtenidos son relevantes al momento de la producción de bioinsumos en sistemas agrícolas sostenibles, debido a que el uso de un sustrato adecuado puede mejorar la eficiencia y eficacia del proceso productivo y a su vez el mejoramiento en la calidad del producto final, lo cual contribuye a la reducción del uso de agroquímicos (20).

## CONCLUSIONES

El estudio demostró que el tipo de sustrato orgánico influye de manera significativa en la eficiencia reproductiva de *Trichoderma* spp. Bajo condiciones de laboratorio en la Amazonía ecuatoriana, la cebada se identificó como el sustrato más eficiente, al favorecer un mayor crecimiento micelial, una rápida colonización y una elevada producción de esporas.

El comportamiento intermedio del arroz sugiere que, si bien no maximiza el proceso de reproducción del hongo, puede ser una alternativa al momento de la producción de bioinsumos, considerando que existen contextos en donde la cebada puede no encontrarse disponible mientras que la melaza quedaría descartada por las limitaciones observadas en torno al desarrollo y reproducción de *Trichoderma* spp.

La aplicación de sustratos orgánicos identificando su viabilidad y disponibilidad en la región representa una estrategia sostenible en la producción de bioinsumos, con lo cual se contribuye a disminuir la utilización de agroquímicos y a la par la reducción de impactos negativos asociados con prácticas agrícolas poco amigables con el medio ambiente.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Biswas C, Das S. Environmental sustainability in agriculture: challenges and prospects. *Environ Sustain*. 2024;7(1):1–12.
2. He DC, He MH, Amalin DM, Liu W, Alvindia DG, Zhan J. Biological control of plant diseases: an evolutionary and eco-economic consideration. *Pathogens*. 2021;10(10):1311
3. Gupta R, Bar M, Varshney R, Sharma A. Trichoderma: a potential fungal antagonist to control plant diseases. *Microorganisms*. 2024;12(2):—.
4. Zin NA, Badaluddin NA. Biological functions of Trichoderma spp. for agriculture applications. *J Fungi*. 2020;6(3):168.
5. Köhl J, Kolnaar R, Ravensberg WJ. Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: relevance beyond efficacy. *Front Microbiol*. 2019;10:845.
6. Poveda J. Trichoderma as biocontrol agent against pests: new uses for a mycoparasite. *Front Plant Sci*. 2021;12:689637.
7. Socol CR, Costa ESF, Letti LAJ, Karp SG, Woiciechowski AL, Vandenberghe LPS. Recent developments and innovations in solid state fermentation. *Microorganisms*. 2021;9(3):—
8. Hermosa R, Viterbo A, Chet I, Monte E. Plant-beneficial effects of Trichoderma. *Microbiology*. 2012;158(1):17–25.
9. Woo SL, Ruocco M, Vinale F, Nigro M, Marra R, Lombardi N, et al. Trichoderma-based products and sustainability. *Front Plant Sci*. 2014;5:1–10.
10. Thomas L, Larroche C, Pandey A. Current developments in solid-state fermentation. *Biochem Eng J*. 2023;188:108652.
11. Kumar V, Bhattacharyya S, Sarma BJ, Jha B. Recent advances in industrial biotechnology for sustainable bioresource utilization. *Bioresour Technol*. 2021;337:125410.
12. Singhanian RR, Patel AK, Socol CR, Pandey A. Recent advances in solid-state fermentation. *Processes*. 2022;10(7):1438.
13. INAMHI. Datos climáticos históricos del Ecuador (Internet). Quito: INAMHI; 2025 (citado 2025 Nov 10). Disponible en: <https://www.inamhi.gob.ec>
14. Madigan MT, Bender KS, Buckley DH, Sattley WM, Stahl DA. Brock biology of microorganisms. 15th ed. New York: Pearson; 2018.
15. Montgomery DC. Design and analysis of experiments. 8th ed. New York: Wiley; 2013.
16. Singh A, Shah P, Gupta R. Influence of substrates on fungal growth. *J Appl Microbiol*. 2017;123(4):1021–30.
17. Thomas L, Larroche C, Pandey A. Current developments in solid-state fermentation. *Biochem Eng J*. 2023;188:108652.
18. Stanbury PF, Whitaker A, Hall SJ. Principles of fermentation technology. 3rd ed. Oxford: Butterworth-Heinemann; 2016.
19. Raimbault M, et al. Solid-state fermentation for sustainable bioprocess development: current status and future perspectives. *Fermentation*. 2021;7(4):—

20. FAO. The future of food and agriculture—Trends and challenges. Rome: FAO; 2017.