

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

El que suscribe, MERCHAN FLORES WILLIAM YANDRICK, en calidad de autor del siguiente trabajo escrito titulado Microbiana del suelo bananero: identificación, selección, propagación y conservación de hongos benéficos., otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

El autor declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

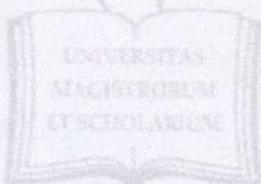
El autor como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 22 de febrero de 2022



MERCHAN FLORES WILLIAM YANDRICK
0706648797



MICROBIOTA DEL SUELO BANANERO: IDENTIFICACIÓN, SELECCIÓN, PROPAGACIÓN Y CONSERVACIÓN DE HONGOS BENÉFICOS.

BANANA SOIL MICROBIOTA: IDENTIFICATION, SELECTION, PROPAGATION AND CONSERVATION OF BENEFICIAL FUNGI.

William Yandrick Merchán Flores

<https://orcid.org/0000-0001-7956-3786>, wmerchan1@utmachala.edu.ec

José Nicasio Quevedo Guerrero, M Sc.,

<https://orcid.org/0000-0002-8974-5628>, jquevedo@utmachala.edu.ec

Rigoberto Miguel García Batista, PhD.,

<https://orcid.org/0000-0003-2403-0135>, rmgarcia@utmachala.edu

Universidad Técnica de Machala, El Oro, Ecuador.

Julio Enrique Chabla Carillo, PhD.,

<https://orcid.org/0000-0002-9761-5890>, jchabla@utmachala.edu

Universidad Técnica de Machala, El Oro, Ecuador.

RESUMEN

Trichoderma spp., perteneciente a las especies fúngicas del suelo, son usadas ampliamente en la agricultura, debido a sus múltiples beneficios, en especial al ser antagonista de plagas y enfermedades que presentan los cultivos. El objetivo del presente trabajo fue seleccionar, caracterizar, identificar, propagar y conservar hongos benéficos del suelo. El estudio se desarrolló en la Finca Nueva Era en la vía la Primavera, sector La Iberia, perteneciente al Cantón El Guabo de la provincia de El Oro, Ecuador. Se identificaron varias especies de *Trichodermas* tales como: *T. asperellum*, *T. theobromicola*, *T. spirales*, *T. reesei*, *T. melanomagna*, *T. harzianum*, *T. viride*. Empleando como variables 12 descriptores, que caracterizan a las especies mediante la observación macro y microscópica de las accesiones, los factores más discriminantes fueron número de anillos, ancho del primer anillo y longitud del septo (Nani, AA1, LSep, R5D), el ANOVA presentó significancia para estos descriptores y en el análisis de componentes principales fueron los que permitieron acumular la mayor varianza. El análisis de conglomerados jerárquicos arrojó un dendrograma que permite la identificación de 4 grupos bien definidos: G1 (*T. asper* (1-6); *T. theob* (1-2); *T. spir* (1-3); *T. rees* (1-2)); G2 (*T. rees* 3; *T. melan*); G3 (*T. harz*); G4 (*T. viride*). La diversidad encontrada de *Trichodermas spp.*, nos demuestra que podemos tener suelos con una microbiota benéfica muy importante si realizamos un buen manejo de este recurso en la producción bananera.

Palabras clave: *Trichoderma spp.*, especies, identificación, variables, dendrograma.

ABSTRACT

Trichoderma spp., Belonging to the fungal species of the soil, are widely used in agriculture, due to its multiple benefits, especially as it is antagonistic to pests and diseases that crops present. The objective of this work was to select, characterize, identify, propagate, and conserve beneficial soil fungi. The study was carried out at the Nueva Era farm on the La Primavera road, La Iberia sector, belonging to the El Guabo Canton of the El Oro province, Ecuador. Several species of *Trichodermas* were identified such as: *T. asperellum*, *T. theobromicola*, *T. spirales*, *T. reesei*, *T. melanomagna*, *T. harzianum*, *T. viride*. Using as variables 12 descriptors, which characterize the species through macro and microscopic observation of the accessions, the most discriminating factors were number of rings, width of the first ring and length of the septum (Nani, AA1, LSep, R5D), the ANOVA I present significance for these descriptors and in the principal component analysis they were the ones that allowed the accumulation of the greatest variance. Hierarchical cluster analysis yielded a dendrogram that allows the identification of 4 well-defined groups: G1 (*T. asper* (1-6); *T. theob* (1-2); *T. spir* (1-3); *T. rees* (1-2)); G2 (*T. rees* 3; *T. melan*); G3 (*T. harz*); G4 (*T. viride*). The diversity of *Trichodermas spp.*, Shows us that we can have soils with a very important beneficial microbiota if we carry out a good management of this resource in banana production.

Keywords: *Trichoderma spp.*, Species, identification, variables, dendrogram.

INTRODUCCIÓN

Los suelos y la actividad microbiana están intrínsecamente relacionados con la productividad de los cultivos, por tal motivo es necesario reforzar la microbiota existente, mediante la incrementación de estos a nivel edáfico, para lo cual se hace necesario levantar un inventario de los géneros y especies presentes en el área de producción.

Los suelos bananeros han sufrido degradación a lo largo del tiempo, a consecuencia de las malas prácticas agrícolas, además de llevar consigo la reducción de la microflora y microfauna cuya presencia es esencial en los procesos de mineralización de la materia orgánica, se debe de buscar mecanismos para evaluar, identificar e incrementar sus poblaciones buscando devolver al suelo sus propiedades, además de ofrecer al sector agropecuario formas innovadoras de implementar estas prácticas a un menor costo, de fácil manejo con óptimos resultados y amigables con el medio (Tuz, 2018).

En el sector bananero según Galecio-Julca, (2020), la aplicación de microorganismos eficientes incrementa el rendimiento del cultivo, además de mejorar las condiciones físicas, químicas y microbiológicas del suelo.

En el suelo, se encuentran grandes especies de hongos y bacterias, un ejemplo es la *Trichoderma spp.*, el mismo presentan un efecto antagónico, debido a esto, el hombre utiliza para el control de patógenos en el suelo.

Dentro de los microorganismos eficientes tenemos las *Trichodermas spp.*, especies fúngicas del suelo, su uso en la agricultura es amplio debido a una alta gama de beneficios que pueden aportar en aplicaciones como biofertilizantes así mismo funciones de control biológico, además de acelerar el proceso de asimilación de nutrientes mediante la degradación de la biomasa, aportando en los cultivos de manera sistémica la resistencia a patógenos (Umadevi et al., 2018).

Al ser una especie que presenta características anaeróbicas facultativas podemos encontrar *Trichoderma spp.*, en la mayoría de cultivos, haciendo esencial su uso, por los diversos beneficios que presenta en el área agrícola, presentando una alta gama de capacidades antagónicas para algunos géneros fúngicos patógenos para los cultivos (Clemencia et al., 2012).

Trichoderma spp., posee una amplia variedad de especies que son usados para el control de patógenos, debido a su funcionamiento antagónico con otros microorganismos que causan enfermedades (Suárez & Cabrales, 2008).

Trichoderma asperellum Samuels conforma una de las especies de hongos entomopatógenos que son utilizados para el control de enfermedades, aumentando el desarrollo de la planta, además de potenciar el mecanismo de defensa interno, es eficaz en el control de *Fusarium spp.*, tal como lo demuestra Cruz, et al., (2015).

Trichoderma theobromicola posee propiedades antagonista para *Moniliophthora roreri*, debido a la producción de ácido nonanoico, mismo que se puede encontrar en las plantas de cacao (Samuels et al., 2006).

Trichoderma reesei, es uno de los microorganismos de gran impacto, aunque comparte características con las demás especies de *Trichodermas spp.*, esta cumple una función esencial como lo es la absorción del cadmio (Cd), según (Romero-bonilla, 1967). Una cualidad que aplicada al agro favorece las zonas cacaoteras, debido a que en sus semillas podemos encontrar la presencia de este metal pesado tóxico en altas cantidades.

Trichoderma melanomagna presentan crecimiento rápido en el medio PDA, alcanzando hasta los 35 mm en tres días aproximadamente. No presentan ningún olor distintivo, apareciendo inconscientemente dentro de la muestra (Siddiquee, 2017).

Trichoderma spirale Bissett es un hongo que podemos encontrar en los troncos de los árboles de cacao, haciendo que las condiciones idóneas para que se desarrollen idóneamente corresponden entre 25 y 30 °C.

Trichoderma harzianum Rifai se encuentra en diversos materiales orgánicos, que se adaptan algunos ambientes los cuales facilitan su distribución, existen otras especies que se ajustan a climas secos o templados, incluso zonas frías (Romero-Arenas et al., 2009).

Trichoderma viride Pers se ha identificado por su rugosidad en sus paredes de los conidios, los mismos presentan diferentes tipos morfológicos, por lo tanto cada uno de ellos tiene un diseño de ADN diferente (Martínez et al., 2013).

El trabajo de investigación tiene como objetivo seleccionar, identificar, propagar y conservar la microbiota benéfica del suelo de la Finca Nueva Era, Sector la Iberia, con la finalidad de crear un banco de germoplasma de *Trichoderma spp.*, plenamente identificado para la utilización de futuros proyectos del Agro.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se desarrolló en la Finca Nueva Era en la vía la Primavera, sector La Iberia, perteneciente al cantón El Guabo, de la provincia El Oro, teniendo como coordenadas geográficas las siguientes, latitud: 3° 14' 39,08"S y longitud: 79° 53' 44.97"O. El área total es de 8.54 ha. Según (Villaseñor et al., 2016) la zona corresponde a un clima tropical semi-húmedo, pudiendo encontrar temperaturas superiores a los 24°C. Además de presentar suelos como Entisoles e inceptisoles, que van desde las llanuras hasta el nivel del mar. (Figura 1)

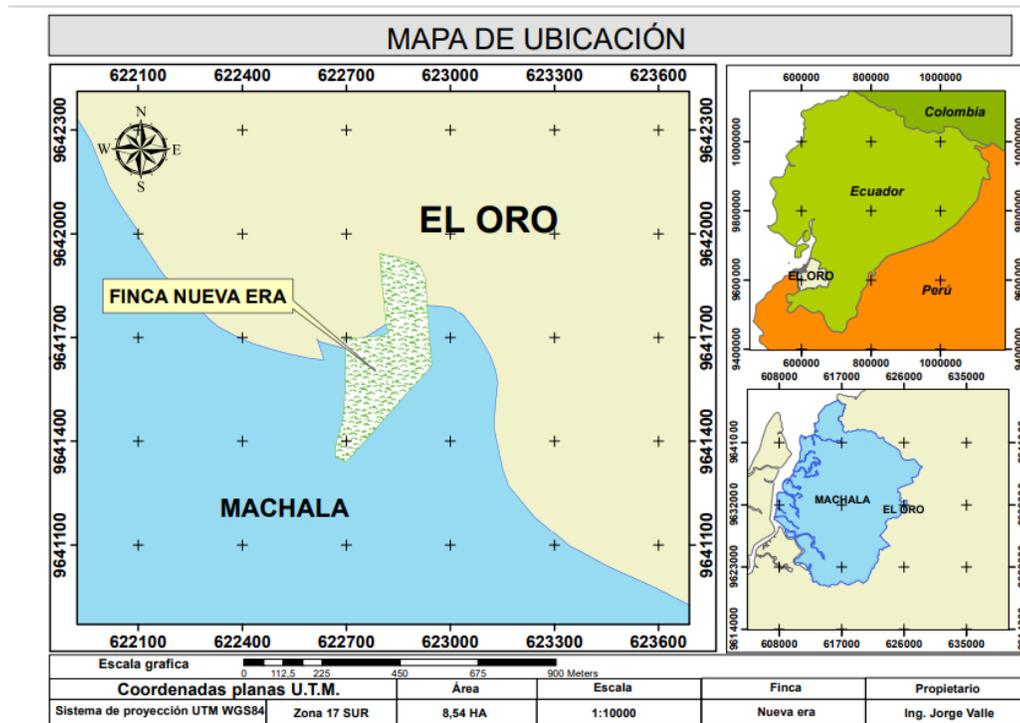


Figura 1. Ubicación del área de estudio

Metodología

Recolección de muestras de suelo

El suelo se recolectó en la banda de fertilización de las plantas de banano, para evitar el daño al sistema radicular, se extrajo de los primeros 25 cm de profundidad en bandejas plásticas perforadas para mantener la aireación y humedad. Estas muestras fueron llevadas hasta los laboratorios de la Universidad Técnica de Machala, Facultad de Ciencias Agropecuarias, para un acceso más fácil y agilizar el proceso.

Captura de microorganismos

Para la captura de microorganismos se hizo uso de trampas de arroz colocadas en vasos descartables, cubiertos con gasas debido a su porosidad que permiten el paso de los agentes fúngicos, logrando que se desarrollen con facilidad.

Al paso de tres días se revisaron las trampas para corroborar la incidencia de la población, es así que podemos encontrar macroscópicamente coloraciones predominantes de hongos, de manera repetitiva se encontraban tinciones verdes, amarillos, blancos, rojo y negro; este último en mayores cantidades que los demás, aunque no en todas las muestras.

Conservación de microorganismos

Los microorganismos benéficos, de forma macroscópica se presentan en los colores amarillo, blanco y verde; de esta forma se seleccionaba los granos de arroz con estas coloraciones lo más puras posibles, aislándolas de las demás en tubos de ensayo plásticos, agregando gel de sílice que cumple la función de absorber la humedad llegando a conservar las muestras hasta por 1 año, manteniendo su viabilidad sin alterar la información genética del mismo. Este procedimiento reduce todo crecimiento fúngico además de ralentizar el metabolismo, una de las ventajas que conlleva el uso de este método es que las especies de *Phytophthora* y *Pythium* no llegan a desarrollarse en este medio (Gato, C, 2010).

Plaqueo

El plaqueo se realiza en la cámara de flujo laminar, que previamente se desinfectó con alcohol y luz Ultravioleta (UV) durante 15 minutos. Se coloca por caja Petri un total de 20 ml de medio, se deja enfriar y se tapa (Rodrigo & Quintero, 2007). Dentro de este equipo permanecen las cajas Petri con la luz UV encendida durante 15 minutos más, al paso de este tiempo se apaga la luz y se dispersan los fotones residuales, asegurando el reingreso a la cámara.

Reactivación de microorganismos

Para proceder a reactivar las cepas, estas tienen que ser llevadas a sembrar en medios de cultivo, recuperando su capacidad de propagación, permitiéndole expresar masivamente el desarrollo de las muestras que con anterioridad se recolectaron.

La temperatura y humedad son factores claves para el crecimiento y reproducción de microorganismos, haciendo posible la conservación de los hongos benéficos (Freire, 2021).

Para la preparación del medio se lo realizó con agar de Malta 33,6 g por litro de agua, se agrega un antibiótico y esto es llevado al microondas alrededor de 3 a 4 minutos hasta que llegue al punto de ebullición, seguidamente es colocada en recipientes de vidrio y sellándolas con papel aluminio aseguradas con cinta de papel, y llevadas al autoclave a una temperatura de 121 °C durante 15 minutos juntos con las asas de siembra y cajas Petri.

Siembra de microorganismos

Las muestras conservadas con el gel de sílice, se les retira una porción del hongo y es inoculado directamente al medio de cultivo haciendo uso de las asas de siembra, adicional a esto se procedió a colocar un punto en la parte posterior de la caja Petri marcando el centro de la misma, que señalará el sitio de siembra y será punto de partida para la toma de futuros datos de mediciones de crecimiento.

En la primera siembra se procedió a observar varias tinciones procedentes de una misma muestra, es así, que para purificarlas se procede a repicar hasta obtener macroscópicamente una colonización más uniforme, tanto en la tonalidad como en la reproducción, las observaciones se las realiza a los 5 y 9 días después de sembrado.

Obtenidas las muestras puras se procede a identificar, para esto se hizo uso de la técnica de la cinta, con mucha delicadeza se procede a tocar la muestra, consiguiendo pequeñas porciones del hongo, esta se pega en el portaobjeto y es llevada directamente al microscopio donde se realiza la observación con una lente de 40x de resolución.

La identificación de *Trichoderma* spp., se realizó con el respaldo de información obtenida de, "Practical Handbook of the Biology and Molecular Diversity of *Trichoderma* Species from Tropical Regions" capítulo 4, relacionado a "Morphology-Based Characterization of *Trichoderma* Species"(Siddiquee, 2017).

En el proceso se realizó la comparación fotográfica de imágenes microscópicas de las muestras, para tener una identificación plena, se hizo uso de la caracterización de conidios por su forma, distribución de conidiosporos e hifas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados derivados del trabajo se muestran a continuación. Dichas observaciones fueron tomadas con una resolución de 40x.

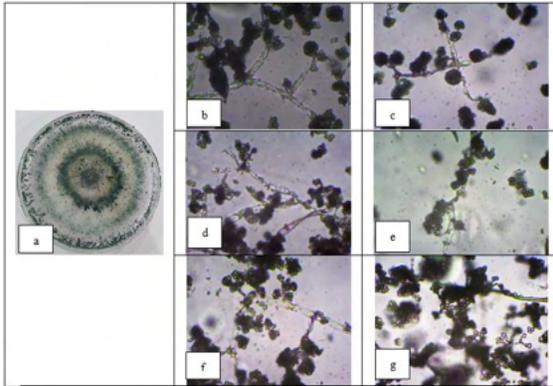


Figura 2: *Trichoderma asperellum* Samuels

a) Observación macroscópica; b-g) Observación microscópica de hifas y esporas.

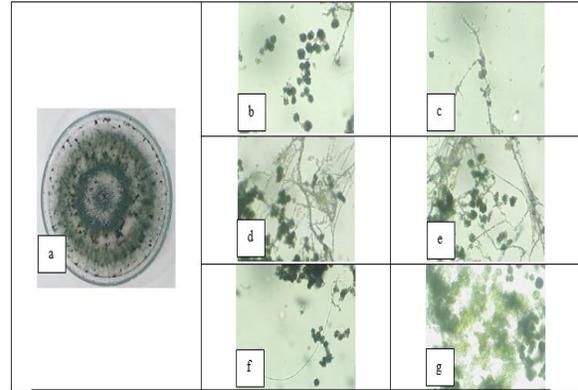


Figura 3: *Trichoderma asperellum* Samuels

a) Observación macroscópica; b-c) Hifas y conidios; d-e) Hifas y conidióforo; f-g) Hifas y conidios.

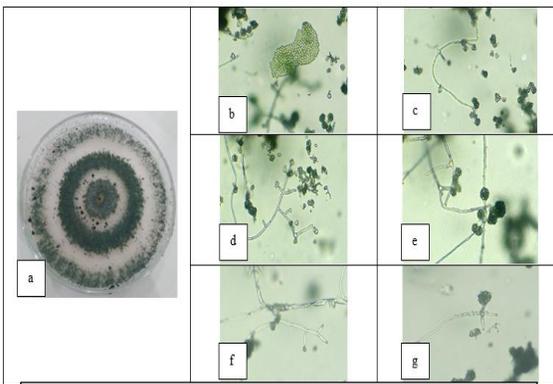


Figura 4: *Trichoderma asperellum* Samuels

a) Observación macroscópica; b-c) Hifas y conidios; d-e) Conidios; f-g) Hifas y conidios.

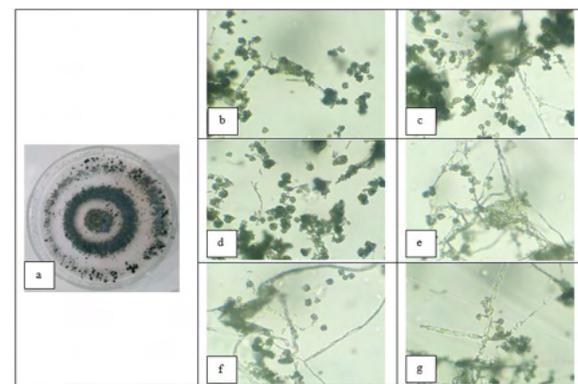


Figura 5: *Trichoderma asperellum* Samuels

a) Observación macroscópica; b) Conjunto de conidios; c-g) Estructuras de hifas y conidios.

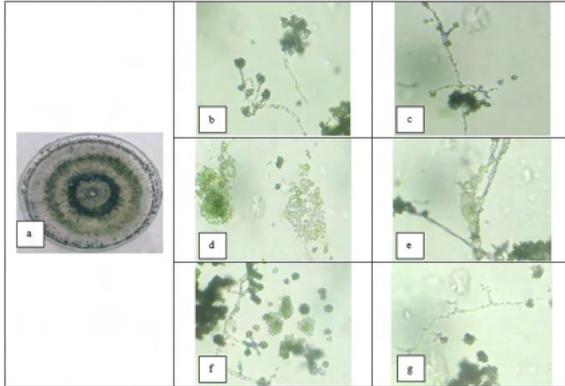


Figura 6: *Trichoderma asperellum* Samuels

a) Observación macroscópica; b) conidios; c-f) Hifas y conidios; g) Agrupación de conidios.

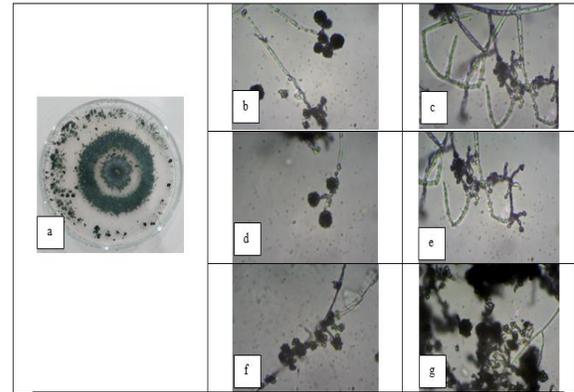


Figura 7: *Trichoderma asperellum* Samuels

a) Observación macroscópica; b-f) Distribución de hifas y conidios; g) Estructura de hifas.

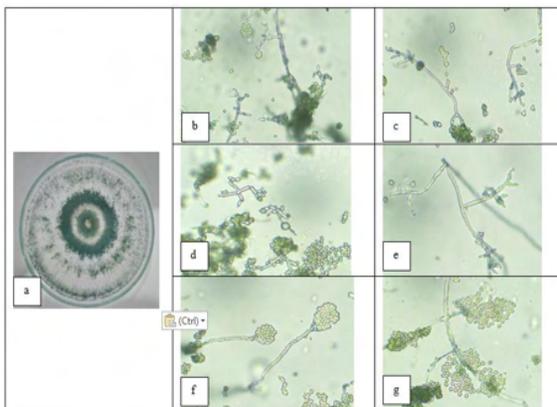


Figura 8: *Trichoderma asperellum* Samuels

a) Observación macroscópica; b-e) Estructura de hifas; d-f) Producción de conidios.

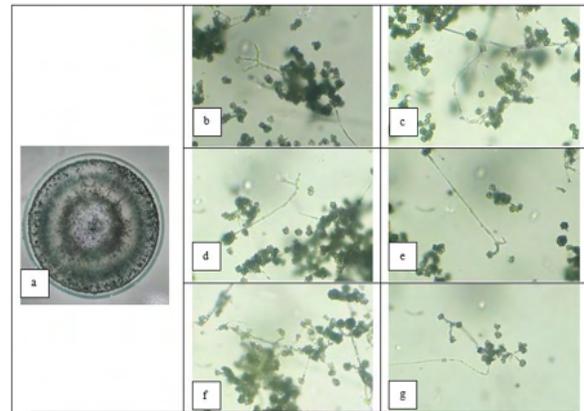


Figura 9: *Trichoderma theobromicola* Samuels

a) Observación macroscópica; b-g) Distribución de hifas, estructuras y conidios.

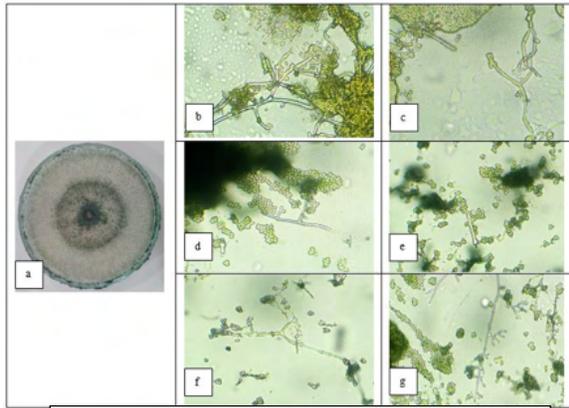


Figura 10: *Trichoderma theobromicola*

a) Observación macroscópica; b-g) Distribución de hifas y conidios, formando estructuras.

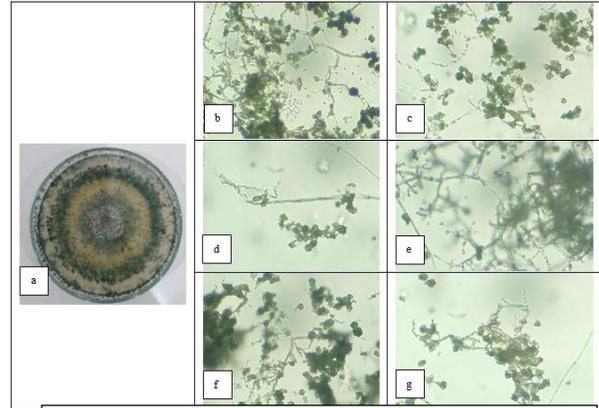


Figura 11: *Trichoderma spirale* Bissett

a) Observación macroscópica; b-c) estructura de hifas y esporas; d-g) Distribución de hifas y conidios.

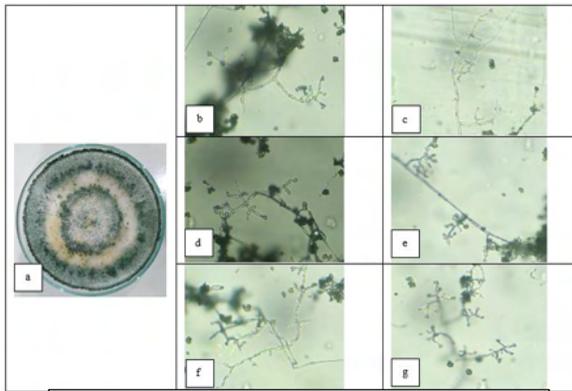


Figura 12: *Trichoderma spirale* Bissett

a) Observación macroscópica; b-c) Distribución de hifas y conidios; d-e) Estructura de hifas; f-g) Agrupación de conidios

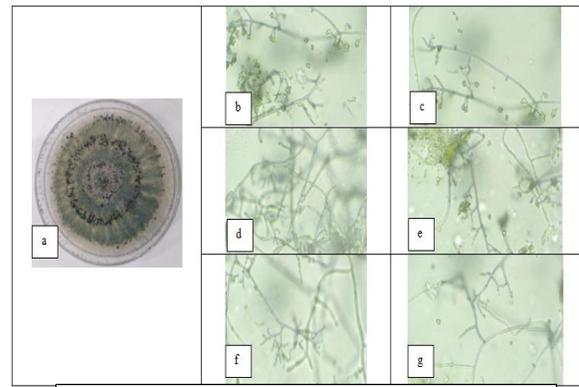


Figura 13: *Trichoderma spirale* Bissett

a) Observación macroscópica; b-f) Estructura de hifas; g) Conidióforo y conidios.

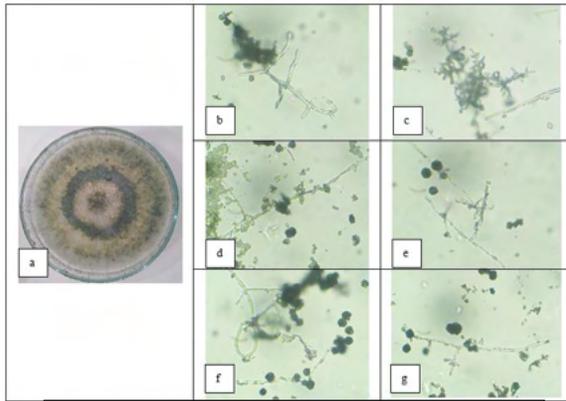


Figura 14: *Trichoderma reesei*

a) Observación macroscópica; b-c) Distribución de hifas; d-g) Distribución de hifas y conidios.

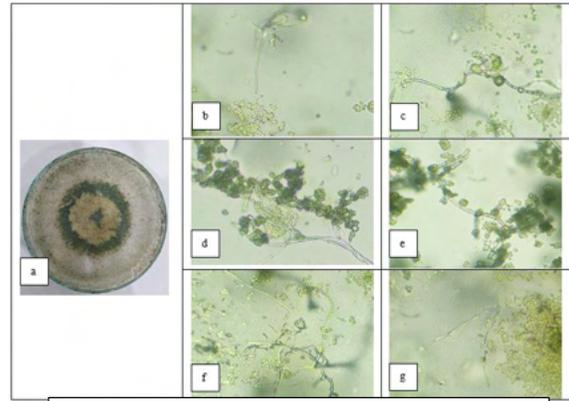


Figura 15: *Trichoderma reesei*

a) Observación macroscópica; b-c) Hifas y producción de conidios; d-f-g) Estructuras de hifas; e) Conidios.

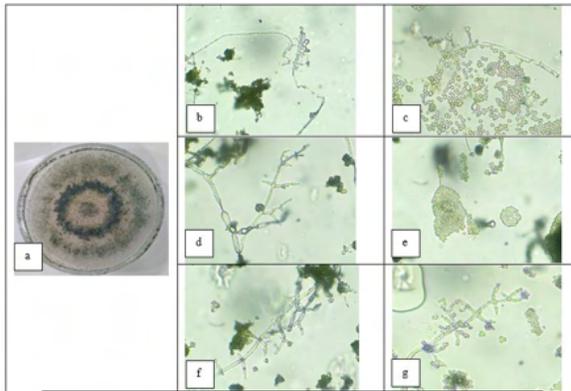


Figura 16: *Trichoderma reesei*

a) Observación macroscópica; b-c) Estructura de hifas, d-g) Hifas y conidios con su distribución.

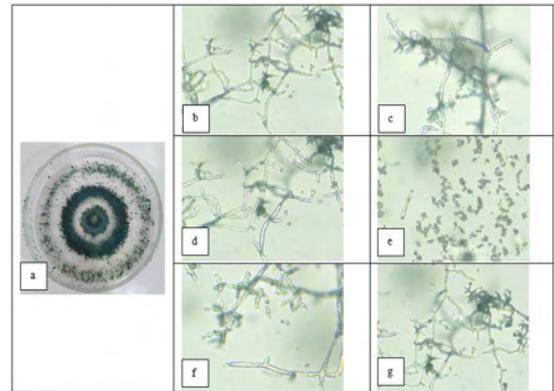


Figura 17: *Trichoderma melanomagna*

a) Observación macroscópica; b-c) Estructura de hifas, d-g) Hifas y conidios.

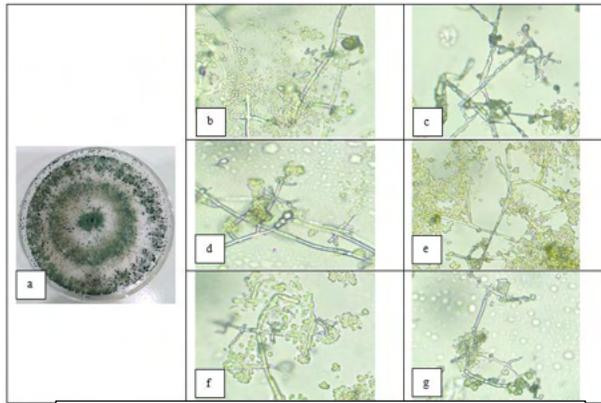


Figura 18: *Trichoderma harzianum* Rifai

a) Observación macroscópica; b-d) Estructura de hifas; e-g) Producción de conidios en altas cantidades.

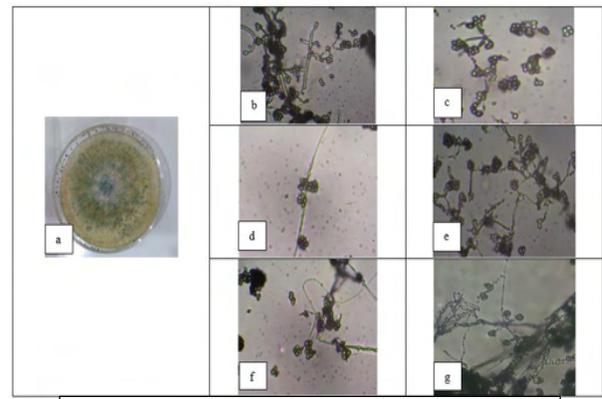


Figura 19: *Trichoderma viride* Pers

a) Observación macroscópica; b-d) Estructura de hifas; e-g) Producción de conidios.

- ***Trichoderma asperellum* Samuels**

Su reproducción en placas Petri es formada por dos a tres anillos concéntricos, de color verde con textura algodonosa, hifas alargadas, en su mayoría presenta esporulación en forma de racimos, además que sus conidios tienden alcanzar medidas de entre 3-4 μm (Siddiquee, 2017).

- ***Trichoderma theobromicola***

Presenta un desarrollo en forma de anillos concéntricos, de color verde característico y textura algodonosa, además presenta hifas alargadas con producción de esporas subglobosas con medidas que van desde los 3-4 μm (Siddiquee, 2017).

- ***Trichoderma spirale* Bissett**

Su desarrollo es en forma de anillos concéntricos de textura algodonosa de color verde, además de presentar una pigmentación amarillenta, presenta hifas alargadas con terminaciones ramificadas, conidios de forma ovoide con medidas de 3-4 μm (Siddiquee, 2017).

- ***Trichoderma reesei***

Su producción está formada por dos anillos concéntricos, no presenta micelios aéreos que dan la textura algodonosa, la hifas primarias son alargadas además de presentar filiades en forma de ramificaciones emparejados, sus conidios son de forma ovoide con paredes lisas, de unas dimensiones de 3 a 5 μm (Siddiquee, 2017).

- ***Trichoderma melanomagna***

Su reproducción en las placas Petri forma tres anillos concéntricos de coloración verde, con textura algodonosa, presenta estructuras en forma piramidal con ramificaciones, el eje principal culmina en una extensión estéril, su esporulación comprende en conidios de forma ovoide con dimensiones de entre 3-4 μm (Siddiquee, 2017).

- ***Trichoderma harzianum* Rifai**

Su reproducción en cajas Petri demuestra la producción de esporulación intensa e forma de anillos concéntricos, con una textura algodonosa. Contiene hifas alargadas con tres o cuatro ramificaciones, presentando una esporulación de forma subglobosa alcanzando medidas de 3-4 μm (Siddiquee, 2017).

- ***Trichoderma viride* Pers.**

Tiene un desarrollo en forma de polvorienta con una tonalidad entre amarilla y anaranjada, presenta conidios de forma subglobosa con medidas que van desde las 3-4 μm (Siddiquee, 2017).

Análisis de componentes principales

Previo al análisis de los componentes principales se estableció el proceso de Estadísticos descriptivos mediante el software IBM SPSS Statistics, con una previa estandarización de los valores, para que estos se encuentren dentro de una misma unidad y se pueda realizar el proceso de manera efectiva (Berlanga-Silvente et al., 2014).

Mediante la implementación de este análisis se establecen los componentes más discriminantes, que son aquellos que permiten la explicación de la información contenida dentro de cada accesión utilizada.

Tabla 1: % de información explicable del análisis factorial

	Comunalidades	
	Inicial	Extracción
Puntuación Z(R5D)	1.000	.816
Puntuación Z(R9D)	1.000	.621
Puntuación Z(Dcol)	1.000	.802
Puntuación Z(Nani)	1.000	.887
Puntuación Z(AA1)	1.000	.819
Puntuación Z(AA2)	1.000	.726
Puntuación Z(AA3)	1.000	.815
Puntuación Z(Lcon)	1.000	.743
Puntuación Z(Acon)	1.000	.764
Puntuación Z(Dcon)	1.000	.703
Puntuación Z(LSep)	1.000	.819
Puntuación Z(Colr)	1.000	.587

Método de extracción: análisis de componentes principales.

Esta tabla representa las correlaciones existentes entre los factores, teniendo en consideración que, si el valor de extracción es bajo, la información explicable del descriptor será baja o no tendrá una

incidencia significativa, caso contrario sucede si el valor de extracción es alto, la información explicable del factor es alta, para los descriptores empleados.

Mediante el análisis de varianza, presento 4 variables que conforman el 75,84% de la varianza, la primera variable explica el 27,248%, la segunda variable explica el 20,218%, la tercera variable explica el 15,710% y la cuarta variable explica el 12,666%.

Tabla 2: Varianza total explicada

Componente	Autovalores iniciales			Sumas de cargas al cuadrado de la extracción			rotación		
	Total	% de varianza	% acumulado	Total	% de varianza	% acumulado	Total	% de varianza	% acumulado
1	3.270	27.248	27.248	3.270	27.248	27.248	3.024	25.200	25.200
2	2.426	20.218	47.466	2.426	20.218	47.466	2.098	17.486	42.687
3	1.885	15.710	63.176	1.885	15.710	63.176	2.005	16.710	59.397
4	1.520	12.666	75.843	1.520	12.666	75.843	1.974	16.446	75.843

Método de extracción: análisis de componentes principales.

Mediante el análisis se establecieron 4 componentes principales que explican un 75.84% (Tabla 2), suficiente para la agrupación de caracteres, facilitando su comprensión teniendo en cuenta que, para dicha interpretación es necesario la selección de componentes principales, aquellos que expliquen como un mínimo del 70% de la variabilidad Cliff, N. (1987).

En la Tabla 3 se observa cuatro componentes principales que son los más discriminantes al momento de la elaboración de un dendrograma en el proceso de agrupación.

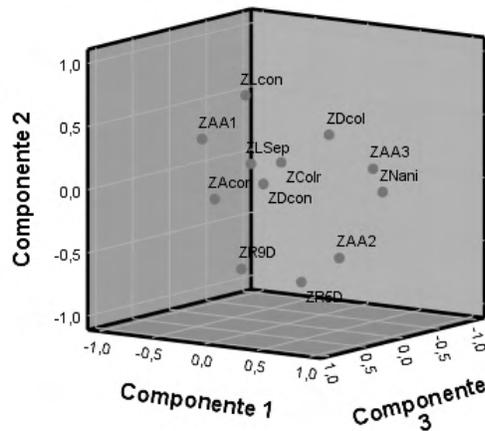


Figura 20: Distribución de los descriptores sobre los tres componentes principales

Estandarizando los valores (representados en una misma unidad), para cada uno de los descriptores, se logra una proyección de los datos sobre los tres componentes observados en los ejes principales, considerando la existencia de dispersión de los descriptores empleados para la caracterización (Figura 20).

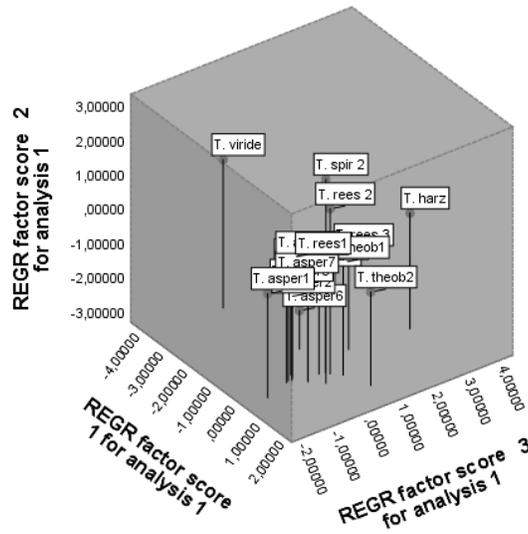


Figura 21: Proyección de los tipos de Trichoderma sobre los tres componentes principales

Análisis de conglomerados

Para establecer diferencia significativa entre los descriptores, se emplea un dendrograma que denota las distancias de similitud como se puede apreciar en la Figura 22, agrupando las diferentes accesiones por sus promedios de los descriptores utilizados dando paso a la formación de 4 grupos.

Con un valor de correlación de 15 se formaron grupos plenamente definidos, además se crease subgrupos conformados de manera independiente, adicionalmente se siguen creando pequeños sub-grupos que van asociando de acuerdo a su similitud de sus descriptores (Figura 22).

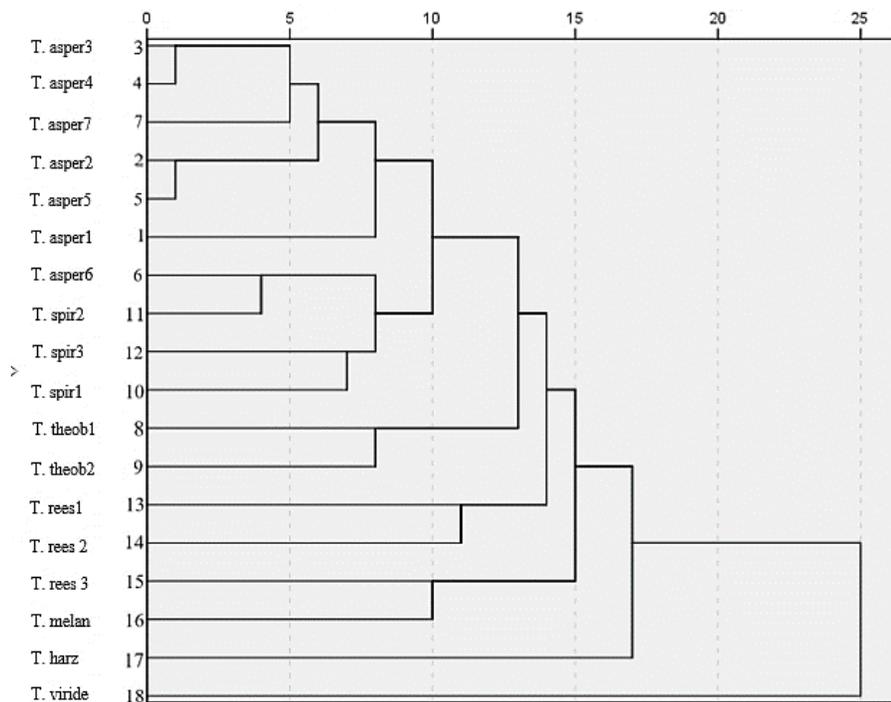


Figura 22: Dendrograma de agrupación de los descriptores utilizados

Grupo 1

Conformado por 14 accesiones de trichoderma, dentro de las cuales se agrupan especies de *T. asperellum*, *T. spirale*, *T. theobromicola*, *T. reesei*; *T. Asperellum* tiene un grupo bastante diferenciado por tener una alta similitud entre las diferentes muestras observadas. Aunque *T. asper* 6, conserva algunas características que tienen una correlación media a *T. spir* 2, pero compartiendo más características con sus aparentados *T. spir* 1 y 3. *T. theob* 1 y 2 se encuentra dentro de estos grupos pero tienen una mayor correlación entre ellas que con los demás grupos

Grupo 2

T. rees 3 y *T. melan*, comparten ciertas similitudes que las asocian dentro de un grupo, aunque su distintivo está en la observación microscópica de sus hifas (Figura 17), que las caracterizan a una especie diferente, siendo *T. rees* 3 quien guarda una mayor relación con sus antecesoras *T. rees* 1 y 2.

Grupo 3

Dentro de este grupo solo se encuentra *T. harz* que no comparte características con las demás especies, haciendo distintivas las observaciones precisadas por los descriptores utilizadas en este estudio.

Grupo 4

Únicamente en este grupo, podemos encontrar a *T. viride* quien no comparte características con las demás especies, haciendo que demuestre notable diferencia en las observaciones macro y microscópicas de la especie empleadas en este estudio.

CONCLUSIONES

La diversidad encontrada de *Trichoderma* spp., nos demuestra que podemos tener suelos con una microbiota benéfica muy importante si realizamos un buen manejo de este recurso.

Es importante la selección de descriptores claves, que permitan una identificación precisa, sea el caso de las observaciones microscópicas, ya que presentan diferencias significativas entre las especies. Los descriptores más discriminantes empleados para la elaboración de los diferentes gráficos y tablas fueron: Nani, AA1, LSep, R5D; Siendo capaces de agrupar especies tales como: *T. asperellum* Samuels, *T. theobromicola*, *T. spirale* Bissett, *T. reesei*, *T. melanomagna*, *T. viride* Pers, *T. harzianum* Rifai.

La propagación a base de sustrato de arroz, permiten su crecimiento y desarrollo debido a la alta cantidad de carbohidratos que contiene, siendo su fuente de alimentación.

Se optó por realizar el proceso de conservación con sálica gel que presenta características de preservación selectiva para el género de *Trichoderma* spp., este absorbe su humedad y las mantiene viables hasta por un año, haciendo posible su uso en futuros proyectos.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

- Berlanga-Silvente, V., Rubio-Hurtado, M. J., Torrado-Fonseca, M., & Vilà-Baños, R. (2014). Cómo aplicar un análisis jerárquico en SPSS. *Revista d'Innovació i Recerca En Educació*, 7(1), 113–127. <http://revistes.ub.edu/index.php/REIRE>
- Chaverri, P., Castlebury, L. A., Overton, B. E., & Samuels, G. J. (2003). Hypocrea/Trichoderma: Species with conidiophore elongations and green conidia. *Mycologia*, 95(6), 1100–1140. <https://doi.org/10.1080/15572536.2004.11833023>
- Clemencia, G., Cañizalez, L., Castillo, C., & Olivar, R. (2012). Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología. *Evaluación in Vitro de Aislamientos de Trichoderma Harzianum Para El Control de Rhizoctonia Solani, Sclerotium Rolfsii y Fusarium Oxysporum En Plantas de Tomate*, 32(1), 44–49. http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562012000100009&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Cliff. (1987). Analyzing multivariate data . Harcourt Brace Jovanovich. <https://psycnet.apa.org/record/1987-97370-000>
- Cruz, Ariel; Rivero, Deyanira; Echevarría, A. et al. (2015). Trichoderma asperellum en el manejo de hongos fitopatógenos en los cultivos de arroz (Oryza sativa L.), frijol (Phaseolus vulgaris L.) y soya (Glycine max L.). *Revista de Protección Vegetal*, 30(30), 4697. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522015000400064
- Freire, A. (2021). *Trichoderma spp en hongos patogenos de suelos dedicados al cultivo de arroz (oryza tutor*. <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/FREIRE%20AREVALO%20SONIA%20ALEXANDRA.pdf>
- Galecio-julca, M. (2020). *Manglar*. 17(4), 301–306. Effect of organic sources and efficient microorganisms on the yield of the organic banana crop (Musa spp.L.) <https://erp.untumbes.edu.pe/revistas/index.php/manglar/article/download/195/332>
- Gato, C, Y. (2010). Métodos De Conservación Y Formulación. *Fitosanidad*, 14, 189–195. MÉTODOS DE CONSERVACIÓN Y FORMULACIÓN DE TRICHODERMA HARZIANUM RIFAI <http://scielo.sld.cu/pdf/fit/v14n3/fit08310.pdf>

- Infante, D., Martínez, B., González, N., & Reyes, Y. (2009). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista de protección vegetal*, 24(1), 14-21.
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522009000100002
- Martínez, B., Infante, D., & Reyes, Y. (2013). *Trichoderma* spp. and their role in the control of crop pests. *Rev. Protección Veg*, 28(1), 1–11.
<http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v28n1/rpv01113.pdf>
- Rodrigo, N., & Quintero, M. (2007). *harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani* en plántulas de pepino (*Cucumis sativa*).
<https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/5281/1/CPA-2007-T055.pdf>
- Romero-Arenas, O., Huerta, L. M., Huato, D. A. M., Hernández, F. D., & Victoria, A. D. A. (2009). The characteristics of *Trichoderma harzianum* as a limiting agent in edible mushrooms. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 11(2), 143–151.
<https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/11759>
- Romero-bonilla, A. Á. (1967). Biosorción de Cadmio mediante conidias de *Trichoderma Reesei*. *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11), 951–952.
<https://investigacion.utmachala.edu.ec/proceedings/index.php/utmach/article/view/292>
- Samuels, G. J., Suarez, C., Solis, K., Holmes, K. A., Thomas, S. E., Ismaiel, A., & Evans, H. C. (2006). *Trichoderma theobromicola* and *T. paucisporum*: two new species isolated from cacao in South America. *Mycological Research*, 110(4), 381–392.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0953756206000797>
- Siddiquee, S. (2017). *Practical handbook of the biology and molecular diversity of Trichoderma species from tropical regions*.
<http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-64946-7>
- Suárez, L., & Cabrales, C. (2008). Identificación de las especies de cepas nativas de *Trichoderma* sp. y *Bacillus* sp. y evaluación de su potencial antagonista in vitro frente al hongo fitopatógeno nativo *M. roleri* en el departamento de Norte de Santander. *Revista Universidad Francisco de Paula Santander*, 13(1), 45–56.
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5461225>

- Tuz, I. G. (2018). Manejo Integrado del Cultivo de Banano (*Musa X Paradisiaca* L.) Clon Williams, usando Biocarbón y Microorganismos eficientes. *Universidad Tecnica De Machala*, 1–91.
http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/13263/1/DE00030_TRABAJODETITULACION.pdf
- Umadevi, P., Anandaraj, M., Srivastav, V., & Benjamin, S. (2018). *Trichoderma harzianum* MTCC 5179 impacts the population and functional dynamics of microbial community in the rhizosphere of black pepper (*Piper nigrum* L.). *Brazilian Journal of Microbiology*, 49(3), 463–470.
<https://www.scielo.br/j/bjm/a/nyBjNTn4zD5TTwySR3bLfSb/?lang=en>
- Villaseñor, D., Chabla, J., & Luna, E. (2016). Caracterización física y clasificación taxonómica de algunos suelos dedicados a la actividad agrícola de la Provincia de El Oro. *Cumbres*, 1(2), 28–34.
<https://investigacion.utmachala.edu.ec/revistas/index.php/Cumbres/article/view/15>