



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
CARRERA AGRONOMÍA

**EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE CUATRO ESPECIES DE
HONGOS NEMATÓFAGOS EN SUSTRATOS LÍQUIDOS Y
SÓLIDOS EN CONDICIONES CONTROLADAS**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA AGRÓNOMA

AUTORA:

ANA MICAELA SÁEZ PAGUAY

Riobamba – Ecuador

2023



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
CARRERA AGRONOMÍA

**EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE CUATRO ESPECIES DE
HONGOS NEMATÓFAGOS EN SUSTRATOS LÍQUIDOS Y
SÓLIDOS EN CONDICIONES CONTROLADAS**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA AGRÓNOMA

AUTORA: ANA MICAELA SÁEZ PAGUAY

DIRECTORA: ING. NORMA SOLEDAD ERAZO SANDOVAL, PhD

Riobamba – Ecuador

2023

© 2023, Ana Micaela Sáez Paguay

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, ANA MICAELA SÁEZ PAGUAY, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados de este son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 12 de mayo del 2023

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Ana Sáez', with a stylized, circular flourish on the left side.

Ana Micaela Sáez Paguay

060580436-8

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
CARRERA AGRONOMÍA

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; tipo: Proyecto de Investigación, **EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE CUATRO ESPECIES DE HONGOS NEMATÓFAGOS EM SUSTRATOS LÍQUIDOS Y SÓLIDOS EN CONDICIONES CONTROLADAS**, realizado por la señorita: **ANA MICAELA SÁEZ PAGUAY**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. Víctor Alberto Lindao Córdova, PhD. PRESIDENTE DEL TRIBUNAL		2023-05-12
Ing. Norma Soledad Erazo Sandoval, PhD. DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		2023-05-12
Bqf. Cristina Nataly Villegas Freire, MSc. ASESORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		2023-05-12

DEDICATORIA

Dedico este trabajo y estos cinco años de estudio a mis amados padres: José Antonio y Ana Lucía los guardianes del hogar fuerte y unido en el que crecí, a mis hermanos: Marco, Teresa y Miguel, los primeros amigos de mi vida y a mi Señor del Buen Suceso, pues a Él ofrecí mi vida y suyos son mis logros, su amor es mi fuerza y protección.

Micaela

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, a la Facultad de Recursos naturales y a la Facultad de Ciencias que me facilitaron la realización de mi Trabajo de Integración Curricular. A la Ing. Norma Erazo por la paciencia y la generosidad que siempre tuvo conmigo, al Ing. Carlos Carpio porque siempre tuvo un espacio para responder mis preguntas, a la Ing. Gabriela Rosero por sus consejos, su ayuda y la amistad que me confió. Al Ing. Marco Vivar porque desde que llegue a la universidad fue mi amigo, como agrónomo siempre me aconsejo y compartió sus conocimientos conmigo él jamás dudo de mis capacidades y por todo eso le estoy infinitamente agradecida. También quiero agradecer a mis buenas amigas Karol y Madison, gracias por su amistad sincera.

Micaela

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xii
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN.....	xiv
SUMMARY / ABSTRACT.....	xv
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	3
1.1 Planteamiento del problema	3
1.2 Objetivos.....	3
1.2.1 <i>General</i>	3
1.2.2 <i>Específicos</i>	3
1.3 Justificación.....	3
1.4 Hipótesis o pregunta de la investigación.....	4
1.4.1 <i>Nula</i>	4
1.4.2 <i>Alternativa</i>	4

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO	5
2.1 Sustratos	5
2.1.1 <i>Características de los sustratos</i>	5
2.1.1.1 <i>Jarabe de Maíz</i>	6
2.1.1.2 <i>Melaza</i>	6
2.1.1.3 <i>Harina Cauca</i>	7

2.1.1.4	<i>Avena</i>	7
2.1.1.5	<i>Harina de Trigo</i>	8
2.1.1.6	<i>Levadura</i>	8
2.2	Hongos nematófagos	8
2.2.1	<i>Órganos trampa</i>	10
2.2.2	<i>El género Arthrobotrys</i>	11
2.2.2.1	<i>Arthrobotrys conoides</i>	11
2.2.2.2	<i>Arthrobotrys oligospora</i>	12
2.2.2.3	<i>Arthrobotrys mussiformis</i>	12
2.2.3	<i>Otras especies nematófagas</i>	13

CAPITULO III

3.	MARCO METODOLÓGICO	14
3.1	Características del lugar	14
3.1.1	<i>Localización del laboratorio</i>	14
3.2	Materiales y equipos	14
3.2.1	<i>Material de laboratorio</i>	14
3.2.2	<i>Material biológico</i>	14
3.2.3	<i>Material de oficina</i>	14
3.3	Equipos	15
3.3.1	<i>Equipo microbiológico</i>	15
3.3.2	<i>Equipo bromatológico</i>	15
3.3.3	<i>Equipo de oficina</i>	15
3.4	Reactivos	15
3.5	Metodología	15
3.5.1	<i>Variables de evaluación</i>	15
3.5.1.1	<i>Tasa de crecimiento</i>	15
3.5.1.2	<i>Porcentaje de crecimiento en botellas</i>	15

3.5.1.3	<i>Formación de biopelículas</i>	16
3.5.1.4	<i>UFC/mL</i>	16
3.5.2	<i>Preparación de los sustratos líquidos y sólidos</i>	16
3.5.2.1	<i>Sustrato de melaza</i>	16
3.5.2.2	<i>Sustrato de jarabe de maíz</i>	16
3.5.2.3	<i>Sustrato enriquecido</i>	16
3.5.2.4	<i>Sustrato de avena</i>	17
3.5.2.5	<i>Sustrato de morocho</i>	17
3.5.2.6	<i>Sustrato de Pellets de Harina</i>	17
3.5.3	<i>Inoculación de los sustratos</i>	17
3.5.4	<i>Evaluación del crecimiento</i>	18
3.5.4.1	<i>Tasa de crecimiento Tc en caja Petri</i>	18
3.5.4.2	<i>Formación de biopelículas</i>	18
3.5.4.3	<i>Porcentaje de crecimiento en botellas</i>	18
3.5.4.4	<i>Recuento de UFC/mL en placa</i>	19
3.5.4.5	<i>Identificación de estructuras propagativas</i>	20
3.5.5	<i>Análisis Físicoquímicos</i>	20
3.5.5.1	<i>Azúcares totales por espectrofotometría UV (Método Fenol-Sulfúrico)</i>	20
3.5.5.2	<i>Humedad</i>	21
3.5.5.3	<i>Cenizas</i>	22
3.5.5.4	<i>Proteínas</i>	23
3.5.5.5	<i>Potencial Hidrógeno</i>	24
3.5.6	<i>Tratamientos</i>	24
3.5.7	<i>Diseño estadístico</i>	24
3.5.8	<i>Análisis de resultados</i>	25

CAPÍTULO IV

4.	MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	26
-----------	---	-----------

4.1	Procesamiento de resultados.....	26
<i>4.1.1</i>	<i>Tasa de crecimiento micelial en medios sólidos</i>	<i>26</i>
<i>4.1.2</i>	<i>Porcentaje de crecimiento micelial en sustratos líquidos.....</i>	<i>27</i>
<i>4.1.3</i>	<i>Formación de biopelículas</i>	<i>28</i>
<i>4.1.4</i>	<i>Recuento de UFC/mL en placa</i>	<i>29</i>
<i>4.1.5</i>	<i>Identificación de estructuras propagativas</i>	<i>31</i>
<i>4.1.6</i>	<i>Análisis fisicoquímicos</i>	<i>32</i>
4.2	Discusión.....	33
4.3	Comprobación de la hipótesis.....	35

CAPÍTULO V

5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	36
5.1	Conclusiones.....	36
5.2	Recomendaciones.....	36

GLOSARIO

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-2:	Clasificación taxonómica del género <i>Arthrobotrys</i>	10
Tabla 2-3:	Proporciones de los ingredientes para sustratos líquidos.....	16
Tabla 3-3:	Materiales para elaborar la solución para pellets.....	17
Tabla 4-3:	Factores de cálculo de proteína a partir del N determinado en alimentos.....	24
Tabla 5-4:	Tasa de crecimiento en cm/día en sustrato sólidos a los 15 días.....	26
Tabla 6-4:	Porcentaje de crecimiento del micelio en sustratos líquidos.....	27
Tabla 7-4:	Tratamientos con formación de biopelículas.....	28
Tabla 8-4:	Número de colonias formadas en sustratos líquidos.....	29
Tabla 9-4:	Número de colonias formadas en sustratos sólidos.....	30
Tabla 10-4:	Observación de estructuras propagativas por cada tratamiento.....	31
Tabla 11-4:	Porcentaje de humedad, cenizas, azúcares totales, proteínas y pH.....	32

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1-3: Crecimiento en botellas.....	19
Ilustración 2-3: Curva de calibración del espectrofotómetro a con cuatro concentraciones de maltosa.....	21

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** TASA DE CRECIMIENTO
- ANEXO B:** PORCENTAJE DE CRECIMIENTO DE MICELIO Y BIOPELÍCULAS EN BOTELLAS
- ANEXO C:** UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS
- ANEXO D:** PREPARACIÓN E INOCULACIÓN DE SUSTRATOS
- ANEXO E:** ANÁLISIS DE AZÚCARES POR MÉTODO FENOL-SULFÚRICO
- ANEXO F:** ANÁLISIS DE HUMEDAD Y CENIZAS
- ANEXO G:** ANÁLISIS DEL PORCENTAJE DE PROTEÍNAS POR EL MÉTODO KJELDAHL.
- ANEXO H:** TRATAMIENTOS DEL DISEÑO EXPERIMENTAL
- ANEXO I:** CERTIFICADO DEL LABORATORIO DE NUTRICIÓN ANIMAL Y BROMATOLOGÍA DE HABER REALIZADO ANÁLISIS DE PROTEÍNAS
- ANEXO J:** CERTIFICADO DEL LABORATORIO DE QUÍMICA INSTRUMENTAL DE HABER REALIZADO ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS
- ANEXO K:** PRUEBA DE KRUSKALWALLIS PARA TASA DE CRECIMIENTO
- ANEXO L:** PRUEBA DE KRUSKALWALLIS PARA PORCENTAJE DE CRECIMIENTO
- ANEXO M:** PRUEBA DE KRUSKALWALLIS PARA NÚMERO DE BIOPELÍCULAS
- ANEXO N:** PRUEBA DE KRUSKALWALLIS PARA UFC/ML EN SUSTRATOS LÍQUIDOS
- ANEXO O:** PRUEBA DE KRUSKALWALLIS PARA UFC/ML EN SUSTRATOS SÓLIDOS

RESUMEN

El presente trabajo de integración curricular tuvo como objetivo determinar el crecimiento de cuatro hongos hematófagos del género *Arthrobotrys* en seis sustratos de formulación orgánica. Los hongos nematófagos utilizados para la evaluación en los seis tipos de sustratos fueron de dos especies de *Arthrobotrys oligospora*, una de *Arthrobotrys mussiformis* y una de *Arthrobotrys conoides*, se determinó cuantitativamente la cantidad de micelio obtenido en cada tratamiento a través de la medida de la tasa de crecimiento y porcentaje de micelio, para evaluar la viabilidad de las colonias después de haber crecido en los sustratos se realizó el análisis de UFC/ml. Paralelamente, se determinaron las características fisicoquímicas de los sustratos a través de análisis fisicoquímicos (cenizas, azúcares totales, proteína bruta, humedad, pH) y se comparó el crecimiento de los hongos con las propiedades de los sustratos. El sustrato de avena favoreció el crecimiento para las especies *A. oligospora* y *A. conoides*, mientras que el sustrato de melaza registró el máximo crecimiento de micelio para *A. mussiformis* y *A. conoides* en el sustrato enriquecido, mediante el análisis de UFC/ml se determinó que la especie *A. conoides* y *A. mussiformis* en sustrato de melaza, *A. conoides* en morocho y *A. oligospora* en avena presentan mayor viabilidad de colonias. Se concluye que los sustratos de avena, sustrato enriquecido y melaza favorecen la propagación de estas especies de hongos nematófagos.

Palabras clave: <BIOFORMULADOS>, <HONGOS NEMATÓFAGOS>, <FORMULADOS ORGÁNICOS>, <ANÁLISIS FISICOQUÍMICO>, <*Arthrobotrys musiformis*>, <*Arthrobotrys conoides*>, <*Arthrobotrys oligospora*>.



Ing. C. A. Castillo



1054-DBRA-UTP-2023

SUMMARY / ABSTRACT

This present research aimed to determine the growth of four nematophagous fungi of the genus *Arthrobotrys* on six organic formulation substrates. Two species of *Arthrobotrys oligospora*, *Arthrobotrys mussiformis* and *Arthrobotrys conoides*, were used for the evaluation in the six types of substrates. The amount of mycelium obtained in each treatment was quantitatively determined through the measurement of the growth rate and percentage of mycelium. The analysis of CFU/ml was carried out to evaluate the viability of the colonies after having grown on the substrates. At the same time, the physicochemical characteristics of the substrates were determined through physicochemical analysis (ash, total sugars, crude protein, humidity, pH) and the growth of the fungi was compared to the properties of the substrates. The oat substrate supported growth for the species *A. oligospora* and *A. conoides*, as the molasses substrate registered the maximum mycelial growth for *A. mussiformis* and *A. conoides* in the enriched substrate. From the analysis of CFU/ml it was determined that the species *A. conoides* and *A. mussiformis* in molasses substrate, *A. conoides* in morocho and *A. oligospora* in oats show greater viability of colonies. It is concluded that oat substrates, enriched substrate and molasses help to spread these species of nematophagous fungi.

Key words: <BIOFORMULATES>, <NEMATOPHAGOUS FUNGI>, <ORGANIC FORMULATES>, <PHYSICOCHEMICAL ANALYSIS>, <*Arthrobotrys musiformis*>, <*Arthrobotrys conoides*>, <*Arthrobotrys oligospora*>.



ESTHELA ISABEL COLCHA GUASHPA

0603020678

INTRODUCCIÓN

El uso de microorganismos antagonistas para el control de enfermedades y plagas de interés agrícola es una alternativa ecológica al control químico que busca ofrecer ventajas a los agricultores (Viera-Arroyo et al., 2020: pp.129-130), entre las que destacan: la prevención del desarrollo de patógenos resistentes a los químicos, contaminación progresiva de suelo/agua, diversificación y enriquecimiento de la flora microbiana del suelo y mayor accesibilidad de productos biológicos (Zavaleta, 2000, pp. 202-204).

La evidencia científica de la efectividad de control de estos organismos está ampliamente documentada en ensayos de laboratorio, además otros organismos como *Trichoderma* spp., ya han probado su efectividad en campo controlando hongos patógenos del suelo al ser incorporados dentro de un manejo integrado de enfermedades por parte de los agricultores dando resultados exitosos (Soto-Muñoz et al., 2020: p.4).

Dentro de los organismos controladores biológicos tenemos al género de hongos *Arthrobotrys* que se caracterizan por poseer especies nematófagas, un nemátodo es un microorganismo pluricelular de forma de una lombriz, está en abundancia en los campos cultivados de nuestro país lo que los convierten en una limitante en la producción agrícola (Triviño, Navia y Velasco, 2013: p.2). Se estima que en el mundo los nemátodos fitoparásitos son causantes del 12,3% de pérdidas en la producción de cultivos, lo que se traduce en pérdidas de 157 000 millones de dólares americanos en productos de consumo diario (Mendoza-De Gives, 2022, pp.10-13).

Los nemátodos fitoparásitos son un problema de difícil control en la producción agrícola, la sintomatología sobre las plantas hospederas son: reducción de la cantidad y longitud de raíces, formación de agallas radiculares, en otros casos necrosis y malformaciones en tallo y bulbos (Lopez-Nicora et al., 2021: pp.23-27), traduciéndose en una reducción de la productividad de las plantas y los rendimientos por la baja calidad de frutos, este problema de nemátodos se ve agravado por actividades como el monocultivo y uso indiscriminado de nematicidas (Ocampo – Gutiérrez, 2021, p.20; Devindrappa et al. 2022: p.6; Grabka et al., 2022: pp.7-9).

El impacto de las investigaciones de hongos nematófagos del género *Arthrobotrys* como alternativa de control biológico a través de la producción de formulados biológicos que faciliten la prevención, eliminación o reducción del daño causado por estos patógenos (Armendaris et al., 2015: p.7), los hongos del género *Arthrobotrys* forman estructuras especializadas para el trameo y

constricción para la depredación de nemátodos en cualquiera de su ciclo de vida, ya sean huevos, juveniles o adultos (Peraza-Padilla et al. 2011: p.234 ; Orozco et al., 2015: p.146).

Los hongos nematófagos poseen dos fases de vida, una saprofítica y una depredadora, en control biológico es importante el estudio de la fase depredadora y las condiciones que las diferentes especies de hongos requieren para “activar” la fase depredadora y conseguir resultados eficientes en la reducción de poblaciones de nemátodos (Orozco et al. 2015: p.143-146; Qing et al., 2022: pp.1236-1248). Por eso el estudio de los sustratos idóneos para la reproducción de estos hongos, ya sean sólidos o líquidos es crucial para la posterior formulación que permitirá al hongo el crecimiento.

Debido a las pocas investigaciones referentes a los beneficios que aportan los sustratos líquidos y sólidos, además de métodos relacionados al crecimiento de hongos nematófagos del género *Arthrobotrys*, esta tesis aborda el estudio de sustratos en los cuales mediante la evaluación del crecimiento del hongo se determina el sustrato que presente mayor número de unidades formadoras de colonias (UFC), además de determinar características físicas y químicas de los sustratos.

CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 Planteamiento del problema

En nuestro país existe poca información referente a las propiedades fisicoquímicas de sustratos líquidos o sólidos que favorezcan el crecimiento de hongos nematófagos del género *Arthrobotrys*, específicamente sustratos de fácil acceso y preparación para una posterior producción en masa de estos hongos y presentarlos al mercado como bioformulados, una alternativa de control biológico de nemátodos.

1.2 Objetivos

1.2.1 General

Evaluar el crecimiento de cuatro especies de hongos nematófagos en sustratos líquidos y sólidos.

1.2.2 Específicos

- a) Determinar el o los sustratos sólidos o líquidos idóneos para el crecimiento de las especies de hongos nematófagos.
- b) Determinar la especie de hongo nematófago que presente el mejor crecimiento en los sustratos.
- c) Analizar las propiedades físicas y químicas de los sustratos líquidos y sólidos.

1.3 Justificación

En búsqueda de nuevos métodos de control de nemátodos fitoparásitos, se están desarrollando diversas propuestas alternativas al control químico como son los bioformulados, que consisten en sustratos accesibles ya sean líquidos o sólidos que permiten a un organismo controlador biológico como hongos el crecimiento. Es por esto por lo que en esta investigación se evaluaron seis sustratos para el crecimiento de hongos nematófagos, y también se estudiaron las características físicas y químicas de dichos sustratos.

Los sustratos difieren en sus componentes y fueron evaluados en relación con el crecimiento de los hongos nematófagos del género *Arthrobotrys*, para finalmente a través de análisis estadísticos, determinar el sustrato en el que se presenta el mayor crecimiento, la metodología para la elaboración de los productos y su información nutricional, todo en aras de contribuir con la producción de conocimiento referente a nuevas técnicas para el control de nemátodos.

1.4 Hipótesis o pregunta de la investigación

1.4.1 Nula

Ninguna especie de hongo nematófago es capaz de crecer en ninguno de los sustratos utilizados.

1.4.2 Alternativa

Al menos una especie de hongo nematófago crece de manera significativa en al menos uno de los sustratos utilizados.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Sustratos

Un sustrato es aquel material biótico o abiótico que facilita la supervivencia de un ser vivo como plantas, animales o microorganismos (Gortari y Hours, 2016: p.241). En agricultura un sustrato es cualquier medio que permita cultivar plantas en contenedores para que las especies sembradas tengan un buen anclaje y soporte, además de garantizar un medio aislado y bien drenado que prevenga problemas de plagas y enfermedades (Yang, Altland y Samarakoon, 2023: pp.1-12; Nunez, Buzzi y Heller, 2023).

Para una producción seriada de controladores biológicos es necesario el uso de sustratos donde sea posible inocular al microorganismo y sea fuente de nutrientes esenciales para su crecimiento, que además de aportar nutrientes al suelo como enmienda sea de fácil acceso en grandes cantidades (Cruz-Crespo et al., 2013: pp.18) como es el caso de la producción de *Trichoderma* como controlador de hongos fitopatógenos en cascarilla de arroz y cascaras de maní como sustrato (Arévalo et al., 2017: pp.137-139) o *Pleurotus* controlador de nemátodos parásitos en sustrato de tuzas de maíz (Infante et al., 2016: p.31).

Es importante seleccionar cuidadosamente los componentes del sustrato, pues este influye directamente en el estilo de vida de los hongos, como el caso de *Arthrobotrys oligospora* que al someterse a la urea secretada por *Pseudomonas aeruginosa* desencadena la producción de micelio y a las 48 horas órganos trampa (Cui et al., 2022: p.1). De ahí la importancia del estudio de las propiedades fisicoquímicas de los sustratos.

2.1.1 Características de los sustratos

Las características fisicoquímicas de los sustratos deben estar en función de los hongos del género *Arthrobotrys* que se pretende estudiar y conocemos de este microorganismo que al verse estresado inicia una serie de mecanismos de supervivencia y ataque como la formación de esporas, micelio y trampas, mecanismos que se ven activados por diversas enzimas de los hongos en respuesta a estímulos (Zhu et al., 2022: pp.2-5).

Para hongos de este género las investigaciones sugieren tener especial cuidado en la elección de las fuentes de carbono a la hora de seleccionar un sustrato no solo porque podría alterar el pH del suelo como sugiere Maheshwari et al. (2023: pp.1-18) sino también porque nos enfrentamos a un hongo selectivo, Orozco et al. (2015: p.143) dice que para estimular el crecimiento micelial se debe procurar escoger sustratos ricos en celulosa, quitina y evitar sustratos a base de leche o cualquier otro producto lácteo pues ralentizan la producción micelial. Esto se ve reforzado por (Noweer y Al-shalaby, 2014: p.193) que sugiere fuentes de azúcares fermentables pues los hongos nematófagos son altamente sensibles a entornos ácidos porque induce mayor actividad de la quinasa AMPK.

La experiencia de (da Silveira et al. 2017: pp.1-5) recomienda que para el cultivo de *Arthrobotrys conoides* y *Arthrobotrys robusta* es necesario que el sustrato tenga un pH cercano a 6,5 y en su composición recomienda una fuente de azúcares como la glucosa y también de nitrógeno como la peptona de extracto de levadura y temperaturas de incubación de 26°C. Con respecto al pH (Gong et al. 2022: p.347) también recomienda pH cercanos al 6 puesto que la enzima AO-801 encargada de degradar quitina en huevos de nemátodos alcanza su máxima eficiencia al pH neutro – ligeramente ácido y con presencia de nutrientes como magnesio (Mg) y potasio (K).

2.1.1.1 Jarabe de Maíz

La información encontrada en (Bellaera et al. 2019: pp.133-134) dice que el jarabe de maíz es un edulcorante líquido que se obtiene de un proceso enzimático a nivel industrial, es una alternativa a la sacarosa que contiene fructosa, se caracteriza por ser económico y estable para alimentos y bebidas.

Según (Valdatta y Sylleros, 2015: pp.6-10) es un edulcorante calórico derivado del maíz que se usa para bebidas carbonatadas, cereales, condimentos y se puede obtener de la molienda húmeda de granos de maíz a través de una hidrólisis ácida del jarabe por acción de la enzima glucosa isomerasa. Dependiendo el tratamiento de los granos previos a la molienda los productos de marcas comerciales pueden contener porcentajes de fructosa de 42% y 55%, como fuente endulzante es más económica que la sacarosa y el consumo para la población es menos nociva.

2.1.1.2 Melaza

La melaza según (CONADESUCA, 2016, p.1) es un subproducto de la molienda de la caña de azúcar de composición: 83% materia seca, 40% sacarosa, 4.5% aspartato y glutamato y 1.5% de nitrógeno. Este producto es considerado un acelerador finito de descomposición para composta

que se debe ser complementado con aceleradores infinitos como son los microorganismos eficientes, contiene celulosa y hemicelulosa con una alta relación C/N (Sanclemente, García y Valencia, 2011: p.13).

Debido al contenido de carbono en su composición la melaza se considera un medio alternativo de bajo costo para producir biomasa a partir de microorganismos y según la investigación de (Cárdenas et al., 2018: pp.17-19) para obtener resultados exitosos una concentración de melaza al 20% por litro de agua es suficiente para dotar a los microorganismos de fuentes de energía para la producción de sus estructuras vegetativas.

2.1.1.3 Harina Cauca

El maíz es un cereal cuya harina es un ingrediente muy popular para los platillos latinoamericanos, no contiene gluten lo que la hace poco apta para fabricar pan, pero si es útil para fabricación de tortillas finas, tamales, arepas, hallacas, entre otras (Fenalce, 2007, p.119). El proceso de preparación de harina cauca inicia con la recepción de granos de maíz blancos de calidad, se limpian y retiran las impurezas, al ser cauca el proceso de degerminación se obvia y pasa a la cocción con vapor de agua, finalizado el proceso se debe prensar a manera de hojuelas para facilitar el secado y finalmente la molienda que lo tritura obteniendo la harina final (Flores-Farías et al., 2002: pp.557-560).

La harina cauca se obtiene del proceso de tostado y molienda de granos de maíz sin descartar el afrecho, por lo que tiene alto contenido de fibras, vitaminas y minerales, su información nutricional es; proteínas 8%, hidratos de carbono 70%, grasa 4%, minerales 4% y celulosa 3%, siendo la zeína el 50% de la proteína total. Generalmente el pH de la harina de buena calidad debe ser igual o menor de 7 (Orozco, 2007, pp.19-23).

2.1.1.4 Avena

La avena es un cereal que posee granos ricos en fibra dietética soluble y libre de gluten en los que incluye: betaglucanos, proteínas, lípidos, vitaminas, minerales y polifenoles. Por a su alta concentración de carbohidratos y proteínas es propenso a ser sustrato para el crecimiento de microorganismos si se dota de humedad y temperatura para su incubación (Vizúete y Anta, 2016: p.127).

Las hojuelas de avena se obtienen a partir del laminado del grano de avena entero y estabilizado (GrupoVida, 2019, p.1). Las hojuelas de avena según la información de Austral Granos (2016, p.1)

contienen un total de 59.8 g de hidratos de carbono por 100 g de hojuelas, de las cuales 59.8g son almidones.

2.1.1.5 Harina de Trigo

El trigo es el cultivo más antiguo sembrado por la humanidad en inmensas extensiones y cantidades, es una planta anual de crecimiento invierno primaveral, posee amplio rango de adaptación, es fuente de proteínas y vitamina B (Moreno, Ramírez y Plana, 2001: p.55). El trigo en forma de harina es el principal constituyente del pan, el alimento más consumido en el mundo y se obtiene a partir de la molturación de granos de trigo (De la Vega, 2009, pp.27-32). Según datos de (Latham, 2002, p.100) el trigo entero posee el 60% de almidones en su composición, 2% de celulosa, 10 al 12% de proteínas lo que significa un aporte calórico de 323 kcal.

2.1.1.6 Levadura

Saccharomyces cerevisiae son levaduras ampliamente usadas como propulsor de la fermentación, muy popular en procesos de elaboración de cerveza, pan y vino. Fueron descubiertas por el francés Louis Pasteur en el siglo XIX. Se dice que son fuente de proteínas pues sus principales constituyentes macromoleculares son proteínas 40-50%, glicoproteínas, polisacáridos 29%, polifosfatos, lípidos y ácidos nucleicos (Suárez-Machín, Garrido-Carralero y Guevara-Rodríguez, 2016: pp.20-28).

Las levaduras son capaces de fermentar azúcares bajo condiciones anaerobias, lo que les ha significado su utilización en la fabricación de bebidas alcohólicas (Uribe, 2007, pp.28-36), ha sido además un producto usado en la elaboración de compost, bocashi, formulaciones orgánicas de control biológico o bioles, siendo adicionados tanto como para la descomposición de azúcares así como una fuente extra de proteínas y otros nutrientes adicionales comparables con los aportados por productos comerciales y sintéticos (Romero et al., 2018: p.397).

2.2 Hongos nematófagos

Los hongos nematófagos son microorganismos de suelo que viven como saprófitos, pero poseen la capacidad de transformarse en depredadores o parásitos de nemátodos modificando su comportamiento fisiológico y metabólico para que sus micelios se transformen en dispositivos trampa para capturar y obtener una fuente adicional de nutrientes (Pérez-Anzúrez et al., 2022: pp.1-16). Pertenecen en su mayoría al grupo de los Hyphomycetes y se clasifican en dos grandes grupos

que son; depredadores y endoparásitos, siendo el grupo de depredadores el más sobresaliente en control biológico (Orozco A et al. 2009; Kumar, Singh y Singh, 2011).

Según la investigación de (Sánchez Portillo et al., 2017: p.183) los hongos nematófagos son habitantes del suelo que usan sus esporas o micelios para infectar nemátodos vermiformes. Los podemos hallar en diferentes sustratos y son capaces de sobrevivir en condiciones climáticas o nutricionales extremas en todas partes del mundo. Dependiendo del tipo de sustrato, condiciones climáticas, geográficas y la presencia de nemátodos hospederos, su abundancia en el suelo es de 1,8 a 150 propágulos/g de suelo (Peraza-Padilla y Zamora-Araya, 2014: pp.233-235).

Los hongos atrapadores capturan al nemátodo móvil con sus órganos trampa especializados y dispuestos a lo largo de las hifas vegetativas, la forma de las trampas depende de la especie y pueden ser: redes adhesivas, botones adhesivos, ramas adhesivas y anillos constrictivos, estos hongos tienen poca especificidad de hospedador y viven en diversos grados de saprofitismo (Wang et al. 2022: pp.1-15; Domingues et al., 2024).

Dichos hongos se agrupan en cuatro clases, dependiendo su mecanismo de acción: hongos endoparásitos, hongos atrapadores, hongos ovo parásitos y hongos productores de toxinas, desarrollan órganos de captura especiales dependiendo el organismo que va a ser devorado, estas estructuras pueden ser: redes, botones, ramas adhesivas y además anillos constrictores (Benítez et al., 2007: pp.147-148).

Finalmente, en el tiempo de penetración, el nemátodo es inmovilizado hasta su muerte, así las hifas crecen dentro de él, y con ayuda de las enzimas excretadas por el mismo hongo degrada el tejido, dejando los nutrientes disponibles y así un nuevo micelio se desplaza fuera del nemátodo y continúa creciendo (Ocampo – Gutiérrez, 2021, p.20).

Los hongos endoparásitos no forman órganos, sino usan sus esporas, móviles o no, para infectar al nemátodo, estos son parásitos obligados de nemátodos y su vida vegetativa la pasan dentro de los nemátodos infectados, estos tienen un rango de huéspedes restringido y limitan su existencia a nivel de esporas en el suelo (Bojanich 2018; Dong y Zhang, 2006: pp.31-45).

Las principales especies que ejercen antagonismo sobre nemátodos están los hongos de los géneros: *Arthrobotrys*, *Dactylella*, *Dactylellina*, *Gamsylella*, *Drechlerella*, *Monacrosporium*, *Monacrosporiella*, *Nematoctonus*, *Stylopage*, *Stropharia* y *Didymozaophaga* (Sánchez Portillo et al., 2017: p.182).

El género *Arthrobotrys* es el más estudiado, tiene entre sus líneas especies que ejercen parasitismo por huevos, producción de toxinas y otras por capturar nemátodos (Dong y Zhang, 2006: pp.31-33). Según (Perdomo, 2018, p.5) la taxonomía del género *Arthrobotrys* es la siguiente:

Tabla 1-2. Clasificación taxonómica del género *Arthrobotrys*.

Reino	Fungi
División	Ascomycota
Subdivisión	Pezizomycotina
Clase	Orbiliomycetes
Orden	Orbiliales
Familia	Orbiliaceae
Género	<i>Arthrobotrys</i>

Fuente: Perdomo, 2018, p.5.

2.2.1 Órganos trampa

Después de varios años de estudio, se ha determinado que la sustancia responsable del cambio de fase de vida de los hongos nematófagos atrapadores de saprofitos a depredadores es un péptido denominado nemin que es producido en la cutícula de los nemátodos y este péptido en los hongos induce la transformación de los micelios en dispositivos de captura (Mendoza-De Gives, 2022, p.10). Los dispositivos de captura o trampas de hongos nematófagos son estructuras distintas a las hifas vegetativas, su formación está vinculada a la reorganización de la membrana plasmática y la pared celular del hongo, que se activan por distintas proteínas durante la percepción de estímulos externos al hongo (Cui et al., 2022: p.8).

Las especies formadoras de trampas adhesivas usan polímeros extracelulares que se acumulan en el sitio de infección, mientras, las especies formadoras de anillos constrictores atrapan al nemátodo por una hinchazón acelerada de las células circundantes del hongo depredador (Zhu et al., 2022: pp.1-14).

Exposición a extractos de nemátodos por más de 10 horas induce al hongo a formar sus dispositivos trampa según la investigación de (Yang et al., 2011: p.179), el extracto de nemátodos debe ser alto en ascarósidos que son moléculas muy pequeñas similares al nemin secretadas por la mayoría de familias de nemátodos del suelo y es más efectiva cuando el hongo está en un estado de estrés por nutrientes, cabe destacar que los ascarósidos también son secretados por *Panagrellus redivivus* en forma de una feromona sexual (Hsueh et al., 2013: p.83).

Respecto a la formación de trampas a partir del micelio, la investigación de (Yang et al., 2011, p.179) concluye que pertenecen a procesos altamente demandantes de energía, debido a la inducción del ciclo del ácido tricarbóxico y el ciclo del glioxilato donde los sustratos realizan un aporte de carbohidratos y de esta manera ocurra la biosíntesis de macromoléculas, por ende, producción de micelio.

2.2.2 *El género Arthrobotrys*

Dentro de las especies de hongos atrapadores de nemátodos, *Arthrobotrys* es el más grande y en la actualidad se registran 118 especies en Species Fungorum (Liu et al., 2022: pp.46-48). Las primeras especies de este género fueron caracterizadas en 1839 por Corda y denominadas *A. superba* Corda, los siguientes años el conocimiento de estos hongos fue limitado, hasta 1933 cuando Drechsler y Duddington mejoraron los métodos de aislamiento y descubrieron un número creciente de nuevas especies (Zhang et al., 2022: pp.1-3).

Las especies de hongos del género *Arthrobotrys* a lo largo de los años han sido aislado de diversos ecosistemas terrestres y también ecosistemas de agua dulce y en cada uno de ellos desempeñan importantes funciones ecológicas ya sea como depredadores de nemátodos o saprofitos de madera muerta y cortezas en descomposición (Masigol et al., 2022: p.3). Las especies de este género poseen gran capacidad saprofita y reproductiva y colonizan rápidamente el suelo, por esto se consideran ideales como agentes de control biológico de nemátodos parásitos (Ji et al., 2020: pp.1-16).

Los estudios morfológicos comparativos sistemáticos definen las características de los hongos del género *Arthrobotrys* como: conidióforos ramificados o simples; conidióforos obovales, elípticos, piriformes, de 0 a 3 septados que crecen asincrónicamente en los nudos o en los dentículos cortos de los conidióforos (Freitas et al., 2021: pp.597-599).

A medida que los hongos se van desarrollando en un sustrato bajo ciertos niveles de estrés o con en la presencia de nemátodos, desarrollan una gran red de hifas y anillos prensores denominados como red tridimensional de captura de nemátodos, que es característica de las especies de este género, además de segregar sustancias adhesivas en la superficie de sus hifas que facilitan la captura (Dávila y Clímaco, 2005: pp.92-94).

2.2.2.1 *Arthrobotrys conoides*

Según el estudio de (Labiadh et al., 2021: pp.1-12) *A. conoides* es un hongo altamente eficiente en el control del nemátodo *Tylenchulus semipenetrans* causante de enfermedad en raíces de cítricos, sin embargo, el mismo estudio informa que *A. conoides* es especialmente sensible a la exposición con la mayoría de las especies del género *Bacillus* por su actividad antifúngica.

Esta especie produce una enzima hidrolítica serina proteasa Ac1 que le permite penetrar las barreras extracelulares de *Panagrellus redivivus* como cutículas y cascaras de huevos que poseen en su composición proteínas y quitina, que combinados con la actividad mecánica de las redes adhesivas resultan en la primera etapa de infección del hongo (Nourani et al., 2018: p.128). *A. conoides* es capaz de degradar una amplia gama de sustratos como: caseína, gelatina, albúmina de suero bovino, colágeno y cutículas de nemátodos por lo que es bien conocido por depredar nemátodos de plantas y de animales (Pandit et al., 2017: p.19).

2.2.2.2 *Arthrobotrys oligospora*

La investigación de (Yang et al., 2011: p. 179) define a *A. oligospora* como uno de los hongos atrapadores de nemátodos mejor estudiados, son cosmopolitas y se han hallado cepas de esta especie en diversos sustratos, produce una estructura depredadora específica que es una red pegajosa para capturar nemátodos potenciada con la secreción de hidrolasas extracelulares serina, proteasas y quitinasas que facilitan la inmovilización del nemátodo mientras invade la cutícula degradando sus células internas (Gong et al. 2022: p.350). Iniciada la etapa depredadora, produce 121 trampas por cm² a las 48 h de exposición (Yang et al. 2022: pp.1-16).

Someter a *A. oligospora* a nemátodos induce la fase depredadora y forma redes tridimensionales complejas para su captura, que incluye métodos de adhesión, penetración e inmovilización de nemátodos (Yang et al., 2011: p.179) todo esto gracias que posee en sus genes de patogenicidad las proteasas subtilinas y K de serina proteasa PII que les permite degradar cutículas y enzimas celulasas, pectinesterasas y celobiohidrolasas activadas por la transcripción de los genes P12 y P186 que se inician al exponer a los hongos a la presencia de nemátodos esto les otorga su carácter infeccioso, además como especie es capaz de producir esporas, pero esta producción es pequeña y disminuye su capacidad en cultivos “viejos” (Mendoza-De Gives, 2022, p.3).

2.2.2.3 *Arthrobotrys mussiformis*

A. mussiformis es un depredador de nemátodos que los degrada a través de un mecanismo enzimático proteolítico, produce los péptidos al estar en su etapa depredadora y dichos bioactivos

son herramientas biotecnológicas para el control de nemátodos (Pérez-Anzúrez et al., 2022: pp.13-15). La investigación de (Mendoza-De Gives, 2022, p.10) los describe con conidióforos erectos coronados por racimos de conidios alargados ovoidales y curvados, redes adhesivas y clamidosporas al ser sometidos a un estrés.

La especie *A. mussiformis* en comparación con *A. oligospora* es de lento crecimiento, mientras *A. oligospora* ya puede ser cuantificado a la tercera semana, *A. mussiformis* posee menos posibilidades de ser hallado en un periodo de observación de tres semanas (Saumell, Padilha y Santos 2000: pp.105-108; Higgins y Pramer, 1967: p.345). Forman estructuras en forma de redes de hifas que capturan nemátodos por adhesión o de manera mecánica (Flórez Castañeda, 2016, pp.19-21), respecto a su virulencia, se ha reportado que la especie produce compuestos extracelulares con actividad proteolítica, como una enzima serina-proteasa asociada al proceso de desenvainado de larvas de *Haemonchus contortus* un nemátodo parásito de ovinos (Ojeda-Robertos et al., 2019: p.317).

2.2.3 Otras especies nematófagas

Existen otras especies importantes en el control de nemátodos como por ejemplo *Humicola fuscoatra* que es productora de toxinas altamente tóxicas para los huevos y juveniles de *Heterodera glycines* y *Meloidogyne arenaria* (Berhanu et al., 2022: pp.1-13). Según (Dong y Zhang, 2006: pp.31-45) también menciona a los hongos endófitos, las micorrizas, ya que tienen una acción nematocida indirecta debido a que al aportar y facilitar la absorción de ciertos nutrientes como el fósforo y K hacen que la planta este sana y desarrolle resistencia y defensas contra el ataque de nemátodos.

Los actinomicetes como *Streptomyces avermitilis* son productores de toxinas avermectina, una lactona macrocíclica, dicha toxina es producida ya de manera sintética y tiene amplios usos en veterinaria para tratar nemátodos bovinos (Pires et al., 2022: pp.1-22). Las bacterias del grupo rizobacteria también son controladoras de nemátodos, al anular el desarrollo de agallas en raíces y así evitar la reproducción de los nemátodos y endoparasitismo, los más importantes son *Kocuria varians* y *Microbacterium esteraromaticum* (Campos-Herrera et al., 2022: pp.1-12).

CAPITULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1 Características del lugar

3.1.1 *Localización del laboratorio*

La preparación de los medios líquidos/sólidos, inoculación y posterior análisis del crecimiento se realizó en el Laboratorio de Ciencias Biológicas de la Facultad de Recursos Naturales perteneciente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, parroquia Lizarzaburu, cantón Riobamba, provincia de Chimborazo.

Los análisis bromatológicos se realizaron en los laboratorios de Química Instrumental y Química Analítica de la Facultad de Ciencias, los análisis de proteínas en el Laboratorio de Bromatología de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, parroquia Lizarzaburu, cantón Riobamba, provincia de Chimborazo.

3.2 Materiales y equipos

3.2.1 *Material de laboratorio*

Cajas Petri, pipetas, parafilm, mandil, guantes, mascarilla, envases estériles, matraces Erlenmeyer estériles, Papa Dextrosa Agar, sacabocados #4, mechero, encendedor, asa de aguja, hemocitómetro, placas porta y cubre objetos, vasos de precipitación, envases de vidrio de 300 mL, tubos de ensayo, papel aluminio, goteros, pinceles, crisoles, pinzas de crisol, papel filtro, termómetro, jarabe de maíz, melaza, sustrato enriquecido de cauca, hojuelas de avena, morocho y pellets de harina de maíz y trigo.

3.2.2 *Material biológico*

Cepas de hongos *A. oligospora* (CH02), *A. conoides* (PG02), *A. musiformis* (CH01), *A. oligospora* (PG01).

3.2.3 *Material de oficina*

Esferos, regla de 30 cm, rotulador, libreta.

3.3 Equipos

3.3.1 Equipo microbiológico

Autoclave, cámara de flujo laminar, incubadora de agitación orbital, microscopio, refrigeradora.

3.3.2 Equipo bromatológico

Estufa, balanza analítica, termobalanza, desecador, mufla, mechero, espectrofotómetro, equipo Kjeldahl.

3.3.3 Equipo de oficina

Cámara fotográfica, computadora, calculadora.

3.4 Reactivos

Hidróxido de sodio (NaOH), ácido sulfúrico (H_2SO_4), fenol (C_6H_6O), sacarosa, catalizadores Kjeldahl, granallas de zinc, ácido bórico (H_3BO_3).

3.5 Metodología

3.5.1 Variables de evaluación

3.5.1.1 Tasa de crecimiento

Se registro el diámetro del micelio de los hongos a los 15 días de incubación para sustratos sólidos (ANEXO A).

3.5.1.2 Porcentaje de crecimiento en botellas

Se registró cualitativamente la cantidad de micelio ocupado por los hongos en las botellas de acuerdo con la Ilustración 2-3 para evaluar el porcentaje de crecimiento de micelio en sustratos líquidos (ANEXO B).

3.5.1.3 *Formación de biopelículas*

Registrar la formación de biopelículas en los tratamientos líquidos (ANEXO B).

3.5.1.4 *UFC/mL*

Contabilizar el número de colonias formadas por el hongo después de haber crecido en los sustratos (ANEXO C).

3.5.2 *Preparación de los sustratos líquidos y sólidos*

Tabla 2-3. Proporciones de los ingredientes para sustratos líquidos.

ME	JM	MR
20 g de melaza	20 g de jarabe de maíz	20 g de melaza
15 g de levadura	15 g de levadura	15 g de levadura 10 g de harina

Realizado por: Sáez Micaela, 2023.

3.5.2.1 *Sustrato de melaza*

En un litro de agua destilada diluir 15g de levadura fresca y 20g de melaza para luego homogeneizar la solución, hervir por cinco minutos.

3.5.2.2 *Sustrato de jarabe de maíz*

En un litro de agua destilada diluir 15 g de levadura fresca y 20 g de jarabe de maíz y homogeneizar, hervir la solución por cinco minutos.

3.5.2.3 *Sustrato enriquecido*

En un litro de agua destilada diluir 15 g de harina de cauca, 20 g de melaza y 15 g de levadura, homogeneizar y hervir la solución por cinco minutos.

3.5.2.4 *Sustrato de avena*

Remojar hojuelones 200g de avena enteros en un litro de agua destilada por dos horas y estilar. Autoclavar de 15 a 20 minutos y adicionar con 100 mL de PDA.

3.5.2.5 *Sustrato de morocho*

Remojar 200g de morocho partido en un litro de agua destilada por 24 horas y estilar. Autoclavar de 15 a 20 minutos y enriquecer con 100 mL de PDA.

3.5.2.6 *Sustrato de Pellets de Harina*

Tamizar 150g de harina de trigo y 150g de harina cauca y mezclar, humedecer con 200mL de solución para pellets cuyos ingredientes están descritos en la tabla, hasta formar una maza flexible para procesarse en el pelletizador, autoclavar los pellets y humedecer con 100 mL de PDA.

Tabla 3-3. Materiales para elaborar la solución para pellets

Ingredientes	Cantidad
Agua destilada	1 L
Melaza	20 mL
Levadura	15 g
Multivitamínico	1 cápsula

Realizado por: Sáez Micaela, 2023.

3.5.3 *Inoculación de los sustratos*

Para realizar la inoculación de las especies de hongos en los sustratos previamente esterilizados se procede en la cámara de flujo laminar de la siguiente manera:

- a) Con ayuda de un sacabocados #4 obtener una porción de micelio de cajas Petri con cultivos puros de *Arthrobotrys oligospora*, *Arthrobotrys mussiformis* y *Arthrobotrys conoides*.
- b) En el caso de los sustratos sólidos, colocar el disco con micelio al centro de la caja Petri que contiene el sustrato y sellar con papel film.

- c) En el caso de los sustratos líquidos, colocar el disco dentro de la botella y sellar con el corcho de esponja y papel de aluminio.
- d) Etiquetar las cajas Petri y las botellas con los sustratos inoculados e incubar a 18°. En el caso de las botellas con medio líquido, incubar en la cámara de agitación orbital por cinco días (ANEXO D).
- e) Registrar datos de crecimiento a partir del quinto día de incubación.

3.5.4 *Evaluación del crecimiento*

3.5.4.1 *Tasa de crecimiento Tc en caja Petri*

Para los medios solidos se registra la tasa de crecimiento por día/cm se realiza mediante la ecuación descrita por (Benítez et al., 2007: p.151):

$$Tc = \frac{Cf - Ci}{Tf - Ti}$$

Donde:

Cf: Crecimiento diametral final expresado en cm.

Ci: Crecimiento diametral inicial (día uno) expresado en cm.

Tf: Tiempo final en el que termina el crecimiento fúngico (día final).

Ti: Tiempo inicial (día uno).

3.5.4.2 *Formación de biopelículas*

Las biopelículas son formaciones de micelio en la superficie del sustrato líquido y su importancia radica en que sobre estas formaciones de micelio se produce esporulación:

- a) Identificar en los medios líquidos la formación de biopelículas, entendiéndose como biopelícula la formación de micelio o “sobrenadante” en la superficie del líquido.
- b) Debido a que, por el peso de la biopelícula, esta tiende a caer al fondo del sustrato, registrar el número de biopelículas a los 15 días de haber iniciado la incubación.

3.5.4.3 *Porcentaje de crecimiento en botellas*

Para evaluar el porcentaje de crecimiento de micelio en botellas utilizamos la ilustración a continuación:

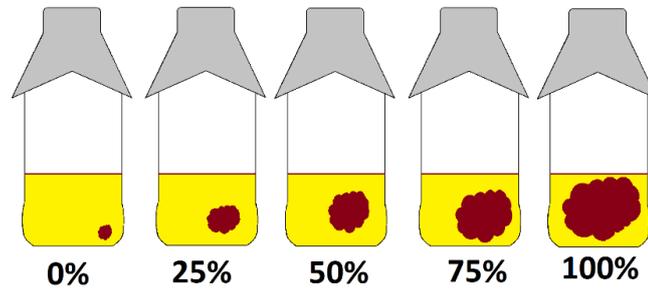


Ilustración 1-3. Porcentaje de crecimiento de micelio en botellas.

Realizado por: Sáez Micaela, 2023.

- Observar con ayuda de una linterna el tamaño del micelio dentro del sustrato líquido.
- Valorar el tamaño del micelio de acuerdo con la imagen y registrar los datos.
- Registrar los datos de porcentaje de crecimiento a los 5 y 15 días de haber iniciado la incubación.

3.5.4.4 Recuento de UFC/mL en placa

Según (Muñoz-Rojas et al., 2016: pp.67-68; Acosta y Leguizamo, 2020: p.27; Sánchez et al., 2017: p.99) el proceso para cuantificar el número de UFC es el siguiente:

- Diluir en factor 1:10 la muestra original del contenido de las botellas (sustratos líquidos) en agua destilada, en el caso de los sustratos sólidos colocar un grano con micelio y agitar.
- Colocar 100 μ l de cada dilución en placas independientes con medio de cultivo (PDA) gelificado usando una micropipeta.
- Extender la gota de 100 μ l con ayuda de una varilla de vidrio o bien con bolitas de vidrio estéril y frío.
- Incubar las placas Petri a 20°C por cinco días.

- e) Después de que las colonias han crecido, seleccionar la placa que contiene colonias que pueden ser distinguidas y que son independientes para poder cuantificarlas.

Hay que considerar que una placa con colonias es cuantificable al contener entre 30 a 300 colonias independientes, para calcular el número de bacterias/hongos presentes en la muestra, se multiplica por 10 al número de colonias presente en la caja contable; debido a que pusimos 100 µl de muestra y esto representa la décima parte de un mililitro.

$$\frac{ufc}{ml} = \frac{\#colonias * FDD}{vi}$$

3.5.4.5 *Identificación de estructuras propagativas*

Según (Cañedo y Ames, 2004; Yin et al., 2003: pp.1009-1012) el procedimiento para identificar las estructuras de los hongos es la siguiente:

- a) En una lámina portaobjetos, colocar una gota de azul de lactofenol u otra solución.
- b) Con una aguja entomológica No. 000 o con un alfiler minutum, tomar una pequeña muestra del tejido hifal y dispersarla en un portaobjetos sobre una gota del colorante y colocarle un cubreobjeto.
- c) También se puede tocar levemente la superficie de una colonia en desarrollo con una cinta adhesiva transparente y pegarla sobre una lámina portaobjetos. Observar al microscopio plano con aceite de inmersión, cuando las estructuras son muy pequeñas y llevar un registro fotográfico.

3.5.5 *Análisis Físicoquímicos*

3.5.5.1 *Azúcares totales por espectrofotometría UV (Método Fenol-Sulfúrico)*

El procedimiento para medir los azúcares totales está descrito por (Dubois et al., 1956: p.352) que consiste en los pasos a continuación:

- a) Preparar un estándar de maltosa, con una curva de calibración en función de cuatro concentraciones 200, 400, 600 y 800 mg/L que se puede observar a continuación:

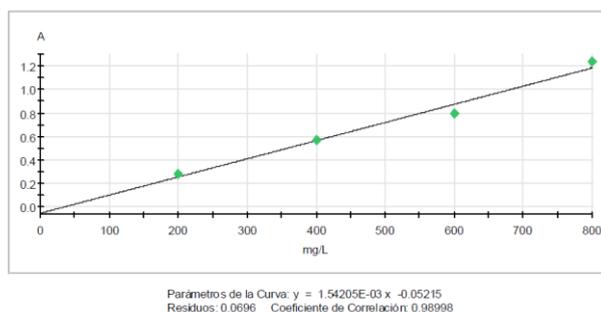


Ilustración 2-3. Curva de calibración del espectrofotómetro a con cuatro concentraciones de maltosa.

Realizado por: Sáez, 2023

- b) Mezclar en tubos de ensayo 2mL de las muestras con 2mL de fenol al 5%.
- c) Adicionar a los tubos de ensayo 5mL de ácido sulfúrico y dejar reposar mínimo 15 minutos (ANEXO E).
- d) Colocar las muestras frías en las celdas limpias y ubicarlas en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 490nm, usando un blanco de agua destilada.
- e) Calcular el porcentaje de azúcares totales multiplicando los valores por 10 000, en caso de haber diluciones utilizar la siguiente fórmula para el cálculo del porcentaje:

$$\%azúcares\ totales = \frac{\text{concentración} * \text{factor de dilución}}{\text{Peso de la muestra}}$$

3.5.5.2 Humedad

Para determinar la humedad de una muestra se debe seguir el proceso según Cañedo y Ames (2004) descrito a continuación:

- a) Pesar en un crisol previamente tarado de 1 a 1.5 g de muestra bien mezclada.
- b) Colocar el crisol con la muestra en la estufa y mantener la temperatura a 105°C durante 4 horas.
- c) El tiempo inicia cuando se tiene la temperatura deseada.

- d) Después del tiempo requerido, transferir el pesafiltro al desecador y esperar a que alcance la temperatura ambiente (aproximadamente 20 minutos).
- e) Pesar en balanza analítica 5. Volver a colocar la muestra en la estufa nuevamente por 30 minutos.
- f) Sacar de la estufa, enfriar y pesar.
- g) Continuar la desecación hasta peso constante
- h) Determinar el contenido de humedad a partir de la pérdida de peso de la muestra utilizando la siguiente fórmula:

$$\%humedad = \frac{(M1 - M2) \times 100}{M}$$

M1 = Peso del crisol más muestra húmeda

M2 = Peso del crisol más muestra seca.

M = Peso de la muestra

Si se cuenta con una termobalanza el análisis de humedad se puede simplificar porque el equipo calcular el porcentaje de humedad directamente (ANEXO F).

3.5.5.3 Cenizas

Para determinar la cantidad de cenizas de una muestra debemos seguir el proceso descrito por Cañedo y Ames (2004) a continuación:

- a) Pesar de 0.5 a 1.5g de muestra (húmeda o seca) en un crisol de peso conocido.
- b) Carbonizar el contenido del crisol lentamente con el mechero para evitar pérdidas.
- c) Cuando cese el desprendimiento de humo, llevar el crisol a la mufla a 550°C.
- d) Incinerar durante una hora, o bien hasta que las cenizas aparezcan blancas o grises.
- e) Enfriar en desecador a temperatura ambiente y pesar.

- f) Si no se logra obtener el color blanco o gris de las cenizas, dejar enfriar, agregar unas gotas de agua destilada, secar nuevamente en el mechero y volver a calcinar.

$$\%cenizas = \frac{(W1 - W2 \times 100)}{W}$$

W1 = Peso del crisol más la muestra calcinada

W2 = Peso del crisol solo

W = Peso de la muestra

3.5.5.4 Proteínas

El procedimiento para realizar el análisis de proteínas según (Pillco, Guzmán y Cuéllar, 2021: pp.14-25) consiste en tres pasos, (ANEXO G):

- a) Digestión: En un matraz Kjeldahl adicionar 25 mL de ácido sulfúrico con una pastilla catalizadora y de 1 a 2 g de muestra en caso de ser líquida 5 mL de muestra.
- b) Someter de 360-380° de temperatura por aproximadamente 40 minutos hasta lograr una completa calcinación de la muestra en el digestor Kjeldahl.
- c) Pasados los 40 minutos dejar reposar las muestras hasta que tomen una coloración verde esmeralda.
- d) Destilación: Colocar los matraces en el destilador Kjeldahl y adicionar a la muestra 200 mL de agua destilada, 100 mL de una solución de NaOH 50% y 2g de granallas de zinc.
- e) En un matraz colocar 100 mL de solución de ácido bórico al 2,5%, dejar destilar las muestras hasta que el matraz con ácido bórico recolecte en total 200 mL de solución.
- f) Titulación: Diluir dos gotas de indicador en los matraces hasta lograr una coloración verde y finalmente titular con HCl hasta que se torne de color verde a un rosa pálido.
- g) Anotar la cantidad de HCl usada y calcular el porcentaje de proteína a través de la siguiente fórmula:

$$\%PB = \frac{(N\ HCl * V\ HCl * F\ N * 0,014)}{Peso\ Muestra} * 100$$

Ojo: el FN o factor de conversión de nitrógeno a proteína ya está determinado para cada alimento consumido por el hombre, siendo la harina de maíz y granos de avena los más usados para las formulaciones el FN usado en la investigación está dado de acuerdo con la siguiente tabla:

Tabla 4-3. Factores de cálculo de proteína a partir del N determinado analíticamente en alimentos.

Alimento	Factor F
Harina de trigo	5,7
Harina de maíz	6,25
Granos de avena	5,36
Granos de maíz	5,65
Todos los demás alimentos	6,25

Fuente: Laurentini A. J. 1994.

3.5.5.5 *Potencial Hidrógeno*

Para medir el pH de las muestras se siguió el proceso descrito por Cañedo y Ames (2004):

- a) En un vaso de 100 mL colocar 1 gramo de sustrato y añadir 50mL de agua destilada y reposar por una hora con agitaciones suaves durante el intervalo de tiempo.
- b) Medir el pH con un potenciómetro previamente calibrado con tres tipos de buffers 4, 7 y 10 para tener mayor precisión.
- c) Reportar los valores con dos decimales.

3.5.6 *Tratamientos*

El trabajo consta de 24 tratamientos que se detallan en el ANEXO H.

3.5.7 *Diseño estadístico*

Se utilizó un diseño completo al azar DCA, con cuatro hongos y seis sustratos (3 líquidos y 3 sólidos), con tres repeticiones.

Número de tratamientos: 24

Número de repeticiones: 3

Total, unidades experimentales: 72

3.5.8 *Análisis de resultados*

Para el análisis de resultados se utilizó el programa InfoStat versión estudiantil 2020.

CAPÍTULO IV

4. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 Procesamiento de resultados

4.1.1 Tasa de crecimiento micelial en medios sólidos

Tabla 5-4. Tasa de crecimiento en cm/día en sustrato sólidos a los 15 días de incubación.

Tratamiento	Medianas cm/día	Grupos
PG02AV	0,57	a
PG01AV	0,57	a
PG02MO	0,5	a
CH01MO	0,5	a
PG01MO	0,47	a b
CH01AV	0,42	a b
CH02AV	0,33	a b
CH02MO	0,33	a b
CH01PT	0	b
PG02PT	0	b
PG01PT	0	b
CH02PT	0	b

Realizado por: Sáez, 2023.

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

De acuerdo con la información de la Tabla 5-4, hubo diferencias significativas entre los tratamientos y al aplicar la prueba a priori (ANEXO K) observamos que los tratamientos se agrupan en dos rangos A y B, donde los valores más altos se observan en el rango A y los más bajos en el rango B.

El tratamiento PG02AV que corresponde a *Arthrobotrys conoides* presentó el crecimiento más rápido en cm por día a los 15 días de haber sido inoculados en avena a una velocidad de 5,7mm por día y colonias de un diámetro final de 8,5 cm al igual que el tratamiento PG01AV correspondiente a *A. oligospora* en avena, seguido de PG02MO *A. conoides* en morocho a una velocidad de 5 mm por día y un diámetro final de 7,5 cm al igual que CH01MO *A. musiformis* en morocho, la cepa de *A. oligospora* CH02 tanto para morocho como para avena presento la menor velocidad de crecimiento 3,3 mm/día y el menor diámetro de colonia 5 cm a los 15 días. Los tratamientos con pellets no presentaron crecimiento a los 15 días.

4.1.2 Porcentaje de crecimiento micelial en sustratos líquidos

Tabla 6-4. Porcentaje de crecimiento del micelio en medios líquidos a los 15 días de incubación.

Tratamiento	Medianas % crecimiento	Grupos	
CH01MR	100	a	
PG02ME	100	a	
PG02MR	100	a	
CH01ME	75	a	b
PG01ME	75	a	b
PG02JM	75	a	b
PG01MR	75	a	b
CH01JM	50		b c
CH02MR	50		b c
CH02ME	50		b c
PG01JM	25		c
CH02JM	25		c

Realizado por: Sáez, 2023.

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

En conformidad a la información de la Tabla 6-4, hubo diferencias significativas entre los tratamientos y al aplicar la prueba a priori (ANEXO L) se evidenció que los tratamientos se agrupan en tres rangos A, B y C, donde los valores más altos se observan en el rango A y los más bajos en el rango C.

A los 15 días de incubación los tratamientos PG02MR, CH01MR y PG02ME correspondientes a *A. conoides* y *A. musiformis* en el sustrato enriquecido y *A. conoides* en melaza alcanzaron el 100% de crecimiento seguidos de los tratamientos CH01ME, PG01ME, PG02JM y PG01MR correspondientes a *A. musiformis* y *A. oligospora* (PG01) en melaza, *A. conoides* en jarabe de maíz y *A. oligospora* (PG01) en sustrato enriquecido con porcentaje de crecimiento del 75% a los 15 días.

Los tratamientos con el menor porcentaje de crecimiento son CH02JM Y PG01JM correspondientes ambos a cepas de *A. oligospora* (CH02 y PG01) cultivados en jarabe de maíz con un porcentaje de crecimiento del 25% a los 15 días de incubación.

4.1.3 Formación de biopelículas

Tabla 7-4. Tratamientos con formación de biopelículas.

Tratamientos	Medias	Grupos		
PG02MR	3	a		
PG01MR	2	a	b	
CH01ME	2	a	b	
PG02ME	2	a	b	
PG02JM	2	a	b	
CH01JM	2	a	b	c
CH01MR	2	a	b	c
PG01ME	1		b	c
CH02JM	0			c
PG01JM	0			c
CH02ME	0			c
CH02MR	0			c

Realizado por: Sáez, 2023.

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

De acuerdo con la información de la Tabla 7-4, hubo diferencias significativas entre los tratamientos y al aplicar la prueba a priori (ANEXO M) se evidenció que los tratamientos se agrupan en tres rangos A, B y C, donde los valores más altos se observan en el rango A y los más bajos en el rango C.

El tratamiento PG02MR con *A. conoides* en el medio enriquecido de maíz formó tres biopelículas, seguido de los tratamientos PG01MR, CH01ME, PG02ME, PG02JM, CH01JM y CH01MR que formaron dos biopelículas a los quince días de incubación. Los tratamientos PG01JM, CH02ME y CH02MR no formaron biopelículas.

4.1.4 Recuento de UFC/mL en placa

Tabla 8-4. Número de colonias formadas al cabo de quince días de incubación en sustratos líquidos.

Tratamientos	UFC/mL	Grupos		
PG02 ME	3,0 * 10 ⁴	a		
CH01 MR	3,0 * 10 ⁴	a		
PG02 JM	2,0 * 10 ⁴	a	b	
PG01 MR	1,9 * 10 ⁴	a	b	
PG01 JM	1,3 * 10 ⁴	a	b	
CH01 ME	1,1 * 10 ⁴	a	b	c
PG01 ME	5,1 * 10 ³	a	b	c
PG02 MR	2,3 * 10 ³		b	c
CH01 JM	0			c
CH02 MR	0			c
CH02 ME	0			c
CH02 JM	0			c

Realizado por: Sáez, 2023.

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

La información de la Tabla 8-4 nos muestra que hubo diferencias significativas entre los tratamientos y al aplicar la prueba a priori (ANEXO N) se evidenció que los tratamientos se agrupan en tres rangos A, B y C donde los valores más altos se observan en el rango A y los más bajos en el rango C.

A los cinco días de incubación los tratamientos PG02ME, CH01MR correspondientes a *A. conoides* en melaza y *A. musiformis* en el sustrato enriquecido obtuvieron el mayor número de unidades formadoras de colonia, donde se observó total crecimiento micelial en la placa Petri.

Los tratamientos CH02JM, CH01JM, CH02ME, CH02MR correspondientes a *A. oligospora* (CH02) y *A. musiformis* en jarabe de maíz, *A. oligospora* (CH02) en melaza y *A. oligospora* (CH02) en medio enriquecido no presentaron unidades formadoras de colonia al momento de la evaluación.

Tabla 9-4. Número de colonias formadas al cabo de cinco días de incubación en sustratos sólidos.

Tratamientos	UFC/mL	Grupos	
PG02MO	9,5 * 10 ³	a	
CH02AV	7,8 * 10 ³	a	
CH01MO	7,5 * 10 ³	a	
PG01AV	6,0 * 10 ³	a	
CH01AV	5,0 * 10 ³	a	
PG02AV	1,7 * 10 ³	a	b
PG01MO	1,2 * 10 ³	a	b
CH01PT	0		b
PG02PT	0		b
PG01PT	0		b
CH02PT	0		b
CH02MO	0		b

Realizado por: Sáez, 2023.

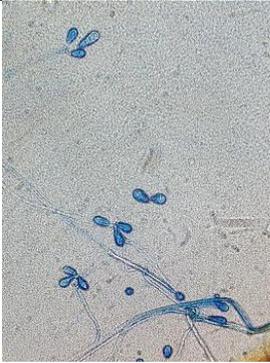
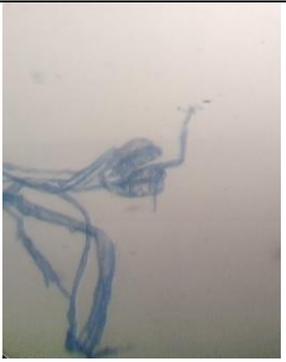
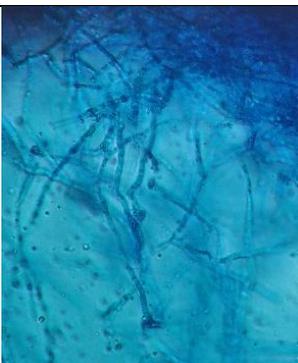
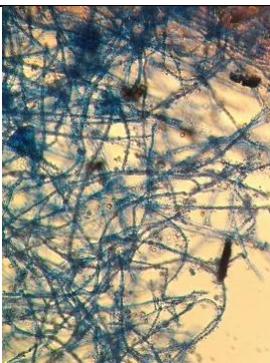
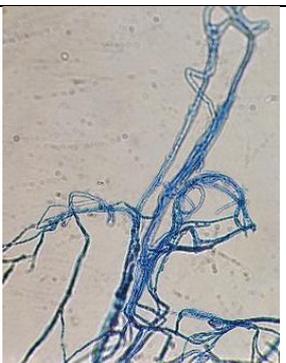
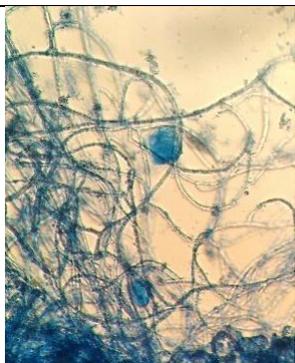
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

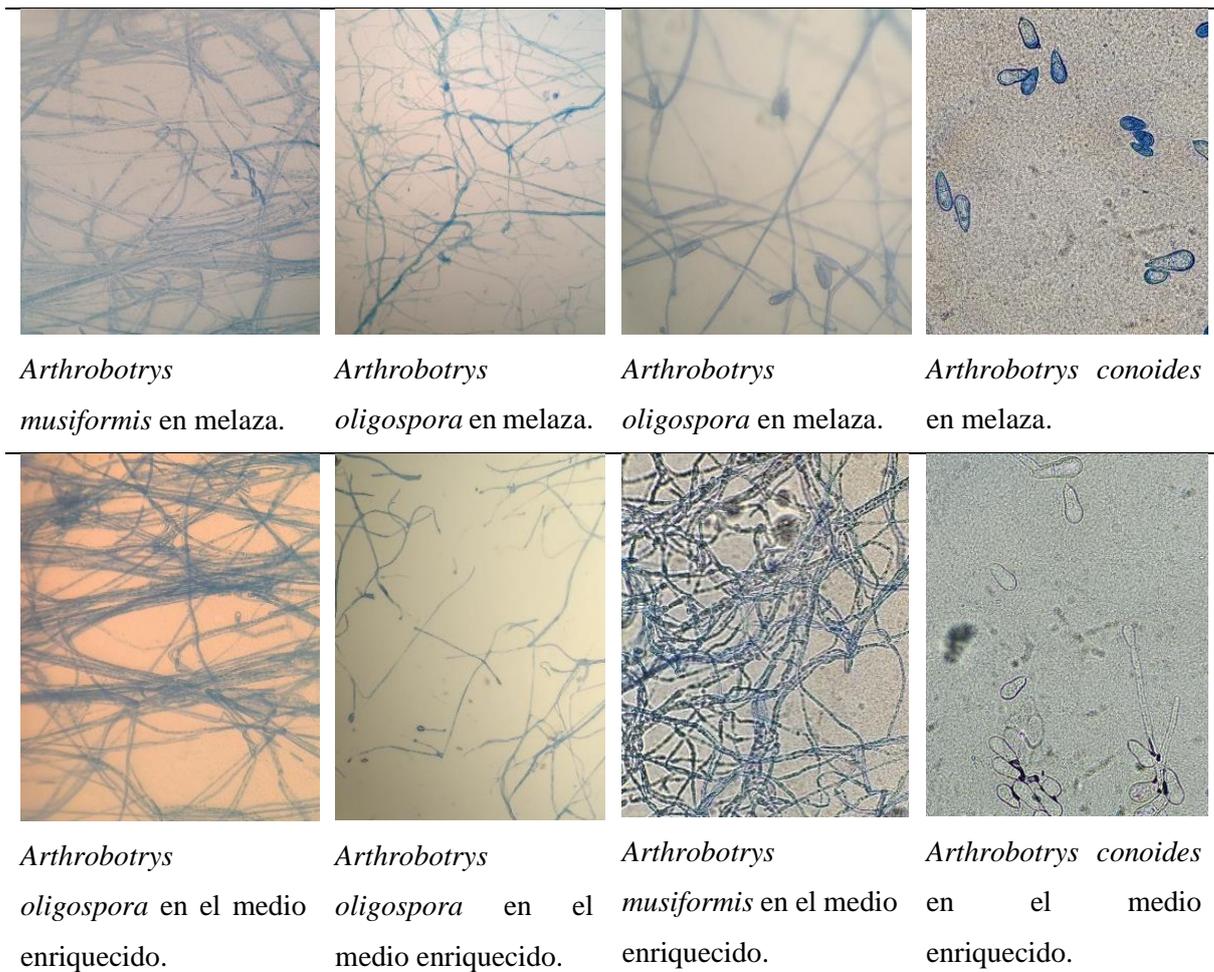
La Tabla 9-4 indica que hubo diferencias significativas entre los tratamientos y al aplicar la prueba a priori (ANEXO O) se evidenció que los tratamientos se agrupan en dos rangos A y B donde los valores más altos se observan en el rango A y los más bajos en el rango B.

A los cinco días de incubación el tratamiento PG02MO, CH02AV, CH01MO, PG01AV, CH01AV, PG02AV y PG01MO correspondientes a las cepas de *A. musiformis*, *A. oligospora* (PG01) y *A. conoides* en morocho y avena obtuvieron los valores más altos de unidades formadoras de colonias por mL, en contraposición con los tratamientos CH01PT, CH02PT, PG01PT, PG02PT, CH02MO correspondientes a las cuatro cepas de *Arthrobotrys* donde no hubo crecimiento.

4.1.5 Identificación de estructuras propagativas

Tabla 10-4. Observación de estructuras propagativas de los hongos con el aumento 40x en el microscopio para cada tratamiento.

CH01	CH02	PG01	PG02
			
<i>Arthrobotrys musiformis</i> en avena.	<i>Arthrobotrys oligospora</i> en avena.	<i>Arthrobotrys oligospora</i> en avena.	<i>Arthrobotrys conoides</i> en avena.
			
<i>Arthrobotrys musiformis</i> en morocho.	<i>Arthrobotrys oligospora</i> en morocho.	<i>Arthrobotrys oligospora</i> en morocho.	<i>Arthrobotrys conoides</i> en morocho.
			
<i>Arthrobotrys musiformis</i> en jarabe.	<i>Arthrobotrys oligospora</i> en jarabe.	<i>A. oligospora</i> en jarabe de maíz.	<i>Arthrobotrys conoides</i> en jarabe de maíz.



Realizado por: Sáez, 2023.

4.1.6 Análisis fisicoquímicos

Tabla 11-4. Características de los sustratos a nivel fisicoquímico.

Sustratos	Adimensional			%	
	pH	Humedad	Cenizas	Azúcares totales	Proteínas
Morocho partido	6,29	51,76	2,84	0,24	5,11
Avena hojuelones	5,46	63,4	3,71	0,6	5,55
Pellets	6,72	36,15	2,18	1,99	2,99
Jarabe de Maíz	6,33	98,46	0,04	2,16	1,16
Melaza	6,7	98,38	0,26	1,79	2,08
Sustrato enriquecido	6,41	98,66	1,33	1,74	1,54

Realizado por: Sáez, 2023.

La Tabla 11-4 muestra los resultados obtenidos de los análisis bromatológicos realizados a las formulaciones, el pH de las líquidas va de un rango de 6,33 a 6,70 mientras que para los sustratos sólidos tienen un pH que oscila entre 5,46 y 6,29.

La humedad de los sustratos sólidos está en un rango de 36,15% a 63,4%, mientras que los sustratos líquidos poseen una humedad de 98,38% al 98,66%.

Las cenizas nos permiten conocer el contenido de carbono de los sustratos, aquellos de mayor contenido de carbono son principalmente la avena con 3,71% y el morocho con 2,84% en los sustratos sólidos, para sustratos líquidos la formulación de melaza y cauca (sustrato enriquecido) contiene mayor contenido de carbono 1,33% seguida de melaza 0,26% y jarabe de maíz 0,04%.

En cuanto al contenido de azúcares los sustratos sólidos están en un rango de 0,24% a 1,99%, mientras que los sustratos líquidos están en un rango de 1,74% al 2,16%.

El porcentaje de proteínas obtenido por los sustratos sólidos va de un rango de 2,99% a 5,55% por gramo de sustrato siendo el sustrato de avena el de mayor contenido proteico, mientras que en los líquidos el sustrato de melaza contiene más proteínas con el 2,8% por mL, seguido del sustrato enriquecido de melaza y cauca 1,54% y finalmente el jarabe de maíz 1,16%.

4.2 Discusión

Con respecto a la humedad de los sustratos (Roblero-Mejía, Aguilar-Marcelino y Sánchez, 2021: pp.13-76) sugieren que la humedad ideal para el crecimiento de las especies del género *Arthrotrays* es 60%, de lo contrario se considera como una limitante para el crecimiento, esto concuerda con los datos de crecimiento obtenidos en los sustratos sólidos en los que valores de humedad tanto del morocho como de las hojuelas están cercanas al valor recomendado, pero los pellets al momento del análisis presentaban una humedad del 36% y no se registró crecimiento de ninguna de las cuatro cepas, por lo que considero que valores de humedad menores al 50% inhiben el crecimiento.

Los sustratos líquidos presentaban valores de humedad superiores al 95% y también existió crecimiento micelial, contradiciendo a (Robledo, Aguilar y Sánchez, 2021: pp.13-76), pero según (Nieto-Juárez et al., 2019: pp.169-172) un sustrato con un contenido de agua superior al 86% no es una limitante para conservación, crecimiento y reproducción de microorganismos como bacterias, en el caso de hongos limita el crecimiento, pero no lo inhibe, por lo que en mi estudio se registró la presencia de micelio especialmente en los medios de melaza y sustrato enriquecido, pero a diferencia de los sustratos sólidos, en los líquidos no se observó esporas a los 15 días de incubación, lo que se podría considerar como una limitante del crecimiento.

Respecto a la humedad podemos considerar que a los 15 días de incubación los sustratos sólidos con valores ideales de humedad cercanos al 60% presentaron mayor crecimiento de micelio y de esporas en contraposición el sustrato de pellets que no alcanzó ni el 50% de humedad y no hubo crecimiento, por lo que podemos considerar que este factor sí limita el crecimiento para las cuatro cepas de hongos. En los sustratos líquidos hubo crecimiento micelial, pero no esporulación a los 15 días de evaluación debido a que la humedad es superior al 85% y solo hubo esporulación en dichos medios cuando hubo formación de biopelículas en su mayoría a los 60 días de incubación.

Respecto al pH, autores como (da Silveira et al., 2017: pp.1-5; Naranjo, 2008, pp.123-132) recomiendan que el pH de los sustratos para el cultivo de *Arthrobotrys* debe ser cercano a 6,5, sin embargo tenemos que el pH del sustrato sólido con mayor crecimiento corresponde a la avena con 5,46 ligeramente ácido en el cual el crecimiento no se limitó sino más bien al manejar un estrés por pH favoreció la capacidad de formación de micelio para *A. oligospora* (PG01) y *A. conoides* (PG02). En los sustratos líquidos aquellos con mayor porcentaje de crecimiento fueron los de melaza y el medio enriquecido con un pH de 6,7 y 6,41 respectivamente para las cepas de hongos *A. musiformis* (CH01) y *A. conoides* (PG02).

Según el estudio de (Nieto y Chegwin A, 2010: p.176) la relación existente entre el contenido de carbono y nitrógeno proveniente de los sustratos influye en la producción de micelio y basidiocarpos en hongos, pues, a mayor contenido de carbono y nitrógeno hay mayor producción de materia seca en los hongos y eso se evidenció en este estudio pues en el caso de los sustratos sólidos la avena tiene el mayor contenido de carbono, formando así a los 15 días de evaluación un micelio de 8,5 cm de diámetro para las cepas PG01 y PG02 correspondientes a *A. conoides* y *A. oligospora*.

Para los sustratos líquidos, el mayor contenido de carbono lo tiene el sustrato enriquecido y al analizar el porcentaje de crecimiento micelial y el número de biopelículas que son masas de micelio tenemos que en dicho sustrato se registra el mayor crecimiento de micelio para la especie *A. conoides* (PG02).

Según (Wang et al., 2022: p.13) los sustratos deben contener fuentes de azúcares fermentables preferiblemente sean a base de celulosa y quitina para asegurar al hongo la obtención de energía y ocurra la biosíntesis de macromoléculas para la producción de micelio. En contraposición al autor, los pellets de harina (sustratos sólidos) tienen el mayor contenido de azúcares: entre ellos sacarosa y maltosa, sin embargo, no se reportó crecimiento de los hongos en dicho sustrato. La avena con un porcentaje de azúcares de 0,6% fue el mejor sustrato sólido para el crecimiento de las cepas de hongos seguidos del morocho y ambos sustratos son ricos en almidones fermentables.

Respecto a los sustratos líquidos el jarabe de maíz tiene el valor más alto de azúcares totales, sin embargo, en la evaluación de porcentaje de micelio tienen el valor más bajo con todas las cepas de hongos en estudio, además que a los 15 días de evaluación no se evidenció formación de estructuras reproductivas, a lo que afirman (Nieto y Chegwin A, 2010: p.176) que la humedad, contenido de carbono y proteínas de los sustratos son los tres factores que influyen y limitan el crecimiento de hongos.

El contenido de proteínas de los sustratos para el cultivo de hongos es importante si la producción del hongo es de consumo humano, pues a mayor contenido de proteínas en el sustrato mayor aporte proteico por parte de los cuerpos fructíferos del hongo (Nieto-Juárez et al., 2019: p.428), sin embargo, es interesante que la avena posee el valor proteínico más alto de los tres sustratos sólidos y como ya analizamos es el que permitió mayor crecimiento de micelio a los 15 días de evaluación.

Para el caso de la melaza, es el sustrato líquido con el valor de proteína más alto, sin embargo, en el análisis de crecimiento es el segundo mejor sustrato para el crecimiento micelial pues el primero es el sustrato enriquecido que tiene el segundo valor más alto de proteínas, seguido del jarabe de maíz que presenta en general valores bajos de crecimiento.

4.3 Comprobación de la hipótesis

De acuerdo con el análisis estadístico al realizar al aplicar la prueba a priori, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna que menciona que al menos una especie de hongo nematófago crece de manera significativa en al menos uno de los sustratos utilizados.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- a) El sustrato sólido de avena registró el mayor crecimiento de micelio diametral de 8,5cm y además, permitió la producción de esporas. El sustrato líquido de melaza y el medio enriquecido permitieron el máximo crecimiento micelial además de la formación de biopelículas donde se produjo esporulación por parte de los hongos.
- b) Las cepas de hongos *Arthrobotrys mussiformis* CH01 y *Arthrobotrys conoides* PG02 tuvieron el máximo crecimiento de micelio en los sustratos líquidos, las cepas de hongos *Arthrobotrys oligospora* PG01 y *Arthrobotrys conoides* PG02 presentaron el máximo crecimiento de micelio en sustratos sólidos.
- c) La humedad, contenido de carbono y pH de los sustratos influyen en el crecimiento de los hongos, pues para mayor producción de micelio y estructuras propagativas es crucial mantener una humedad igual o superior al 60%, proveer de fuentes de C en las formulaciones y procurar un pH de 5,5 a 6,5.

5.2 Recomendaciones

- a) El destino de los formulados es presentarlos al mercado, y conociendo las exigencias de este con respecto a la presentación del producto, se recomienda peletizar los sustratos sólidos para darles valor agregado.
- b) Se recomienda que esta investigación tenga continuidad, pues es necesario evaluar el crecimiento de los hongos, provenientes de los sustratos líquidos a los sólidos pues al realizar el análisis de UFC/ml las especies de hongos provenientes de sustratos líquidos son más viables.
- c) Es necesario hacer un análisis económico para determinar si el sustrato de avena, melaza y el sustrato enriquecido que registraron el mayor crecimiento son rentables.

GLOSARIO

CHO1: Codificación utilizada en este trabajo para denominar la especie de hongo *Arthrobotrys mussiformis*, dada en función del lugar en que fue aislado el microorganismo (Chambo 1).

CH02: Codificación utilizada en este trabajo para denominar la especie de hongo *Arthrobotrys oligospora*, dada en función del lugar en que fue aislado el microorganismo (Chambo 2).

PG01: Codificación utilizada en este trabajo para denominar la especie de hongo *Arthrobotrys oligospora*, dada en función del lugar en que fue aislado el microorganismo (Pallatanga 1).

PG02: Codificación utilizada en este trabajo para denominar la especie de hongo *Arthrobotrys conoides*, dada en función del lugar en que fue aislado el microorganismo (Pallatanga 2).

UFC/mL: Unidades formadoras de colonias por mililitro de suspensión es una unidad de medida que se emplea para la cuantificación de microorganismos, es decir, para contabilizar el número de bacterias o células fúngicas viables en una muestra líquida o sólida (Muñoz-Rojas et al., 2016: p.71).

Viabilidad: es la habilidad de una población microbiana para multiplicarse y producir una colonia macroscópica en medio de cultivo sólido o producir turbidez en un medio líquido apropiado (Muñoz-Rojas et al., 2016: p.71).

Bioformulados: combinación de ingredientes de tal forma que el principio activo (biomasa microbiana, esporas o metabolitos) se conserve estable y efectivo, durante el proceso de producción, almacenamiento y aplicación en el campo (Perdomo, 2018, pp.2-8).

Pellet: Los pellets son residuos procedentes materia orgánica que son triturados y convertidos a pequeños cilindros o "palitos" después de ser presados (da Silveira et al., 2017: p:1).

BIBLIOGRAFÍA

ACOSTA, A. y LEGUIZAMO, E. *Métodos y técnicas de cuantificación microbiana empleados en la industria de alimentos, farmacéutica, agrícola y ambiental*. [En línea] (Trabajo de titulación). (Licenciatura) Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, Programa de Microbiología Industrial. Bogotá, Colombia, 2020. pp.27-35. [Consulta: 14 septiembre 2022]. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/52072/>

ARÉVALO, E., CAYOTOPA, J., OLIVERA, D., GÁRATE, M., TRIGOSO, E., COSTA, B. y LEON, B. “Optimización de sustratos para la producción de conidias de *Trichoderma harzianum*. Por fermentación sólida en la región de San Martín. Perú”. *Revista de Investigación Altoandina* [en línea], 2017, (Perú) vol. 19 (1), pp. 135-144. [Consulta: 14 septiembre 2022]. DOI 2306-8582. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6043225>.

ARMENDARIS, I., QUIÑA, D., RÍOS, M. y LANDÁZURI, P. *Nemátodos fitopatógenos y métodos de control*. Primera edición. Quito, Ecuador: ESPE. 2015. ISBN 9789978301630, pp. 48-53.

AUSTRAL GRANOS. *Ficha Técnica de Hojuela de Avena grano entero* [en línea]. Novena edición. Chile: Austral Granos, 2016. [Consulta: 17 diciembre 2021]. Disponible en: https://www.australgranos.cl/archivos/FICHA_04_HOJUELA_DE_AVENA_GRANO_ENTERO.pdf.

BELLAERA, F.A., HAMMERSCHMIDT, J., SANZ, J., ZACCARELLO, D.B. y BECCIO, B. “Jarabe de maíz de alta fructosa, sus implicancias en la salud y la información disponible en el rotulado de los alimentos”. *Revista Nutricion Investiga*, vol. 1, 1 (2019), pp. 133-134.

BENÍTEZ, S., BENTLEY, J., BUSTAMANTE, P., SÁNCHEZ, L.C. y CORRALES, L. “Aislamiento de los microorganismos cultivables de la rizosfera de *Ornithogalum umbellatum* y evaluación del posible efecto biocontrolador en dos patógenos del suelo”. *Nova* [en línea], 2007, vol. 5 (8), pp. 147–153. [Consulta: 17 diciembre 2021] DOI 10.22490/24629448.383. Disponible en: <https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/nova/article/view/383>.

BERHANU, M., WAKTOLE, H., MAMO, G. y TEREFE, G. “Isolation of nematophagous fungi from soil samples collected from three different agro-ecologies of Ethiopia”. *BMC*

Microbiology [En línea], 2022, vol. 22 (1), pp. 1-13. [Consulta: 17 diciembre 2021] ISSN 14712180. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02572-4>.

BOJANICH, M. Interacción biológica de las enzimas producidas por hongos nematófagos saprófitos de suelo, contra huevos de *Toxocara canis*. [Tesis doctoral] Universidad Nacional de la Plata, Facultad de Medicina. Buenos Aires, Argentina. 2018. pp. 325-230 [Consulta: 17 diciembre 2021]. Disponible en: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/74972>

CAMPOS-HERRERA, R., PALOMARES-RUIS, J.E., BLANCO-PÉREZ, R., RODRÍGUEZ-MARTÍN, J.A., LANDA, B.B. y CASTILLO, P. “Irrigation modulates entomopathogenic nematode community and its soil food web in olive groves under different agricultural managements”. *Agriculture, Ecosystems and Environment* [en línea], 2022, vol. 337 (1), pp. 1-12. [Consulta: 17 diciembre 2021]. ISSN 01678809. Disponible en: 10.1016/J.AGEE.2022.108070.

CAÑEDO, V. y AMES, T. *Manual de laboratorio para el manejo de Hongos Entomopatógenos*. No.1. Lima, Perú: CIP, 2004. ISBN 9290602384, pp. 1-358.

CÁRDENAS, L., GÓMEZ, J., ARENAS, M. y SERNA, J. “Evaluación de melaza como medio de cultivo para la producción de bacterias ácido-lácticas”. *UGCiencia* [en línea], 2018, vol. 24 (1), pp. 17-22. [Consulta: 23 febrero 2022]. ISSN 2346-0814. Disponible en: <https://revistas.ugca.edu.co/index.php/ugciencia/article/view/919/1419>.

CONADESUCA. *Melazas de caña de azúcar y su uso en la fabricación de dietas para ganado* [blog]. Ciudad de México: Universidad Autónoma de Chapingo, 2016. [Consulta: 17 diciembre 2021]. Disponible en: www.gob.mx/conadesuca.

CRUZ-CRESPO, E., CAN-CHULIM, A., SANDOVAL-VILLA, M., BUGARÍN-MONTOYA, R., ROBLES-BERMÚDEZ, A. y JUÁREZ-LÓPEZ. “Sustratos en la horticultura”. *Biociencias*, vol. 2, no. 2 (2013), pp. 17-26.

CUI, P., TIAN, M., HUANG, J., ZHENG, X., GUO, Y., LI, G. y WANG, X. “Amphiphysin AoRvs167-Mediated Membrane Curvature Facilitates Trap Formation, Endocytosis, and Stress Resistance in *Arthrobotrys oligospora*”. *Pathogens* [en línea], 2022, vol. 11, (9), pp. 1-12. [Consulta: 23 febrero 2022]. DOI 10.3390/pathogens11090997. Disponible en:

<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2s2.05138532576&doi=10.3390%2Fpathogens11090997&partnerID=40&md5=fd9aca1f1c30c95df9e1ed663873e6c>.

DA SILVEIRA, W.F., BRAGA, F.R., DE OLIVEIRA TAVELA, A., DOS SANTOS, L.F., DOMINGUES, R.R., AGUIAR, A.R., FERRAZ, C.M., DE CARVALHO, L.M., DE HOLLANDA AYUPE, T., ZANUNCIO, J.C. y DE ARAÚJO, J.V. “Nematophagous fungi combinations reduce free-living stages of sheep gastrointestinal nematodes in the field”. *Journal of Invertebrate Pathology* [en línea], 2017, vol. 150 (8), pp. 1-5. [Consulta: 23 febrero 2022]. ISSN 10960805. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jip.2017.08.013>.

DÁVILA, L. y CLÍMACO, J. “Evaluación de la actividad biocontroladora de *Arthrobotrys sp.* y *Paecilomyces sp.* sobre *Meloidogyne javanica* in vitro y bajo condiciones de invernadero en crisantemo (*Drepanthema grandiflora* Anderson)”. *Agronomía colombiana* [en línea], 2005, vol. 23 (1), pp. 91-101. [Consulta: 6 diciembre 2021]. ISSN 0120-9965. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1803/180316951012.pdf>.

DE LA VEGA, G. “Proteínas de la harina de trigo: clasificación y propiedades funcionales”. *Temas de Ciencia y Tecnología* [en línea], 2009, vol. 13 (38), pp. 27-32. [Consulta: 23 febrero 2022]. Disponible en: http://www.utm.mx/edi_anteriores/Temas38/2NOTAS38-1.pdf.

DEVINDRAPPA, M., KAMRA, A., GROVER, M. y GAWADE, B. “Nematicidal rhizobacteria with plant growth-promoting traits associated with tomato in root-knot infested polyhouses”. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* [en línea], 2022, vol. 32 (51), pp. 1-12. [Consulta: 6 diciembre 2021]. DOI 10.1186/s41938-022-00539-1. Disponible en: <https://ejbpc.springeropen.com/articles/10.1186/s41938-022-00539-1>

DOMINGUES, M.M., SANTOS, P.L., GÊA, B.C.C., CARVALHO, V.R., OLIVEIRA, F.N., SOLIMAN, E.P., SILVA, W.M., ZANUNCIO, J.C., SANTOS JUNIOR, V.C. y WILCKEN, C.F. “Isolation and molecular characterization of *Cordyceps sp.* from *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) and pathogenic to *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Aphalaridae); [Isolamento e caracterização molecular de *Cordyceps sp.* de *Bemisia tabaci* e patogêni”. *Brazilian Journal of Biology* [en línea], 2024 vol. 84 (1), pp. 1-18. [Consulta: 25 enero 2023]. DOI 10.1590/1519-6984.253028. Disponible en: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85129359618&doi=10.1590%2F1519984.253028&partnerID=40&md5=c29f9762097b2b329d253a4749391f2e>

DONG, L.Q. y ZHANG, K.Q. “Microbial control of plant-parasitic nematodes: a five-party interaction”. *Plant and Soil* [en línea], 2006, vol. 288 (1), pp. 31-45. [Consulta: 15 diciembre 2021]. ISSN 1573-5036. DOI 10.1007/S11104-006-9009-3. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11104-006-9009-3>.

DUBOIS, M., GILLES, K.A., HAMILTON, J.K., REBERS, P.A. y SMITH, F. “Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances”. *Analytical Chemistry* [en línea], 1956, vol. 28 (3), pp. 350-356. [Consulta: 25 enero 2023]. ISSN 15206882. DOI 10.1021/ac60111a017. Disponible en: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/5012807/mod_resource/content/0/Dubois_1956%20%28m%C3%A9todo%29.PDF

FENALCE. *Producción de harinas precocidas de maíz* [blog]. Caracas, Venezuela: Fenalce Stratco, 2007. [Consulta: 15 diciembre 2022]. Disponible en: <https://www.fenalce.org/archivos/HarinasPrecocidas.pdf>.

FLORES-FARÍAS, R., MARTÍNEZ-BUSTOS, F., SALINAS-MORENO, Y. y RÍOS, E. “Caracterización de harinas comerciales de maíz nixtamalizado”. *Agrocencia*, vol. 36, no. 5 (2002), (México) pp. 557-567.

FLÓREZ CASTAÑEDA, D. Evaluación del potencial nematófago de los hongos *Arthrobotrys musiformis* y *Arthrobotrys oligospora* en bovinos. [Tesis doctoral] Universidad de La Salle, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Programa de medicina Veterinaria. Bogotá D.C, Colombia. 2016, pp.25-38 [Consulta: 5 diciembre 2021]. Disponible en: <https://ciencia.lasalle.edu.co/>.

FREITAS, D.F., DA ROCHA, I.M., VIEIRA-DA-MOTTA, O. y DE PAULA SANTOS, C. “The Role of Melanin in the Biology and Ecology of Nematophagous Fungi”. *Journal of Chemical Ecology*, vol. 47, no. 7 (2021), pp. 597 – 613.

GONG, S., MENG, Q., QIAO, J., HUANG, Y., ZHONG, W., ZHANG, G., ZHANG, K., LI, N., SHANG, Y., LI, Z. y CAI, X. “Biological Characteristics of Recombinant *Arthrobotrys oligospora* Chitinase AO-801”. *Korean Journal of Parasitology* [en línea], 2022, vol. 60, (5), pp. 345 – 352. DOI 10.3347/kjp.2022.60.5.345. Disponible en: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2s2.085140898143&doi=10.3347%2Fkjp.2022.60.5.345&partnerID=40&md5=18b972713fa0b9d3f85f8e8a5e0ab521>.

GORTARI, M.C. y HOURS, R. “*Purpureocillium lilacinum* LPSC # 876: Producción de conidias en cultivos sobre sustratos sólidos y evaluación de su actividad sobre *Nacobbus aberrans* en plantas de tomate”. *Revista de la Facultad de Agronomía*, vol. 115, no. 2 (2016), pp. 239-249.

GRABKA, R., D’ENTREMONT, T.W., ADAMS, S.J., WALKER, A.K., TANNEY, J.B., ABBASI, P.A. y ALI, S. “Fungal Endophytes and Their Role in Agricultural Plant Protection against Pests and Pathogens”. *Plants* [en línea], 2022, vol. 11, no. 3. DOI 10.3390/plants11030384. Disponible en: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85123534368&doi=10.3390%2Fplants11030384&partnerID=40&md5=41445d263e1853e135491678fd7ba37c>.

GRUPOVIDA. *Hojuelas de Avena* [blog]. España: Grupo Vida, 2019. [Consulta: 17 diciembre 2021]. Disponible en: <https://grupovida.com/es/ingredientes-y-graneles/hojuelas-de-avena>.

HIGGINS, M.L. y PRAMER, D. “Fungal Morphogenesis: Ring Formation and Closure by *Arthrobotrys dactyloides*”. *Science* [en línea], 1967, vol. 155, no. 3760, pp. 345-346. [Consulta: 17 diciembre 2021]. ISSN 0036-8075. DOI 10.1126/SCIENCE.155.3760.345. Disponible en: <https://www.science.org/doi/abs/10.1126/science.155.3760.345>.

HSUEH, Y.-P., MAHANTI, P., SCHROEDER, F.C. y STERNBERG, P.W. “Nematode-trapping fungi eavesdrop on nematode pheromones”. *Current Biology* [en línea], 2013, vol. 23, no. 1, pp. 83 – 86. DOI 10.1016/j.cub.2012.11.035. Disponible en: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eids2.084872103038&doi=10.1016%2Fj.cub.2012.11.035&partnerID=40&md5=bbd5425d37b237d6e0da2bc080750c70>.

INFANTE, C., CUADRADO, B., DE ARCO, D., PEREZ, K., BARRERA, E. y SAN JUAN, M. “Evaluación de tusa y cáscara de maíz como sustratos para el cultivo de *Pleurotus pulmonarius*”. *Ciencia y Tecnología* [en línea], 2016, vol. 32, no. 1, pp. 31-46. ISSN 0378-0524. Disponible en: 0378-0524.

JI, X., YU, Z., YANG, J., XU, J., ZHANG, Y., LIU, S., ZOU, C., LI, J., LIANG, L. y ZHANG, K.-Q. “Expansion of Adhesion Genes Drives Pathogenic Adaptation of Nematode-Trapping Fungi”. *iScience* [en línea], 2020, vol. 23, no. 5, pp.1-16. DOI 10.1016/j.isci.2020.101057. Disponible en:

<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2s2.085083549135&doi=10.1016%2Fj.isci.2020.101057&partnerID=40&md5=92d5dcce20c331924f29c5fc83b170d7>.

LABIADH, M., DHAOUADI, S., CHOLLET, M., CHATAIGNE, G., TRICOT, C., JACQUES, P., FLAHAUT, S. y KALLEL, S. “Antifungal lipopeptides from *Bacillus strains* isolated from rhizosphere of *Citrus tres*”. *Rhizosphere* [en línea], 2021, vol. 19, pp.1-12. DOI 10.1016/j.rhisph.2021.100399. Disponible en: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2s2.085108958483&doi=10.1016%2Fj.rhisph.2021.100399&partnerID=40&md5=b1191cd2b7b70b9285983ab9d0c3a6ef>.

LATHAM, M.C. *Cereales, raíces feculentas y otros alimentos con alto contenido de carbohidratos. Nutrición humana en el mundo en desarrollo.* 29. Roma, Italia: FAO, 2002. ISBN 92-5-303818-7, pp. 99-106.

LIU, X., MIAO, Q., ZHOU, Z., LU, S., & LI, J. “Identification of Three Novel Conidiogenesis-Related Genes in the Nematode-Trapping Fungus *Arthrobotrys oligospora*”. *Pathogens*, vol. 11, no. 7 (2022), pp. 46-79.

LOPEZ-NICORA, H., SOILÁN DUARTE, L.C., CABALLERO MAIRESSE, G.G., GRABOWSKI OCAMPOS, C.J. y ENCISO MALDONADO, G.A. *Manual de nematología agrícola, bases y procedimientos.* 1. Asunción - Paraguay: CONACYT, 2021. ISBN 9789992527368, pp. 102-107.

MAHESHWARI, A., JONES, C.M., TIEMANN, M. y HALLIN, S. “Carbon substrate selects for different lineages of N₂O reducing communities in soils under anoxic conditions”. *Soil Biology and Biochemistry* [en línea], 2023, vol. 177. DOI 10.1016/j.soilbio.2022.108909. Disponible en: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85143670459&doi=10.1016%2Fj.soilbio.2022.108909&partnerID=40&md5=47a47838338371d137c43acad9a96b67>.

MASIGOL, H., REZAKHANI, F., POURMOGHADDAM, M.J., KHODAPARAST, S.A. y GROSSART, H.-P. “The Introduction of Two New Species of Aquatic Fungi from Anzali Lagoon, Northern Iran”. *Diversity* [en línea], 2022, vol. 14 (10), pp.2-12. DOI 10.3390/d14100889. Disponible en: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.05140578197&doi=10.3390%2Fd14100889&partnerID=40&md5=6c135c17b1eb550f6caddbfa0f61f84c>.

MENDOZA-DE GIVES, P. “Soil-Borne Nematodes: Impact in Agriculture and Livestock and Sustainable Strategies of Prevention and Control with Special Reference to the Use of Nematode Natural Enemies”. *Pathogens* [En línea], 2022, vol. 11, (6). ISSN 20760817. Disponible en: 10.3390/pathogens11060640.

MORENO, I., RAMÍREZ, A. y PLANA, R. *El cultivo de Trigo. Algunos resultados de su producción en cuba*. 22. Buenos Aires: BPIC Tropical, pp. 55.

MUÑOZ-ROJAS, J., MORALES-GARCÍA, Y., BAEZ, A., QUINTERO-HERNANDEZ, V., RIVERA-URBALEJO, A. y PÉREZ Y TERRÓN, R. *Métodos económicos para la cuantificación de microorganismos*. 1ra Ed. S.l.: Science Associated Editors, 2016. ISBN 978-1-944162-16-0, pp. 67-82.

NARANJO, R.P. “Manejo biológico de nematodos fitoparásitos con hongos y bacterias”. *Tecnología en Marcha* [en línea], 2008, vol. 21, (1), pp. 123-132. ISSN 2215-3241. Disponible en: http://www.tec-digital.itcr.ac.cr/servicios/ojs/index.php/tec_marcha/article/view/1345.

NIETO-JUÁREZ, J.I., CUZCANO-RUIZ, Á.D., REYES-LÓPEZ, W.A., NIETO-JUÁREZ, J.I., CUZCANO-RUIZ, Á.D. y REYES-LÓPEZ, W.A. “Estudio preliminar de la composición nutricional del hongo *Pleurotus ostreatus* cultivado en pulpa de café”. *Revista de la Sociedad Química del Perú* [en línea], 2019, vol. 85 (4), pp. 422-431. [Consulta: 31 enero 2023]. ISSN 1810-634X. DOI 10.37761/RSQP.V85I4.256. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S181034X2019000400422&lng=es&nrm=iso&tlng=es

NIETO, I.J. y CHEGWIN A, C. “Influencia del sustrato utilizado para el crecimiento de hongos comestibles sobre sus características nutraceuticas”. *Revista Colombiana de Biotecnología* [en línea], 2010, vol. 12 (1), pp. 169-178. [Consulta: 31 enero 2023]. ISSN 0123-3475. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012334752010000100016&lng=en&nrm=iso&tlng=es

NOURANI, S.L., GOLTAPPEH, E.M., SAFAIE, N., JAVARAN, M.J. y POURJAM, E. “Enhancing the pathogenicity of *Arthrobotrys conoides* and *A. oligospora* against *Meloidogyne javanica* J2 by transferring of protease (Ac1) gene and evaluation of antagonistic capability of transgenic isolates”. *Biological Control* [en línea], 2018, vol. 122, pp. 127 – 135. DOI

10.1016/j.biocontrol.2018.03.017. Disponible en:
<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2s2.085046409284&doi=10.1016%2Fj.biocontrol.2018.03.017&partnerID=40&md5=05e65376c08e86df2b6b8d128fbdfed0>.

NOWEER, E.M.A. y AL-SHALABY, M.E.M. Evaluation of Nematophagous fungi *Dactylaria brochopaga* and *Arthrobotrys dactyloides* against *Meloidogyne incognita* infesting peanut plants under field conditions. *Agriculture and Biology Journal of North America*, vol. 5, no. 5 (2014), pp. 193-197.

NUNEZ, G.H., BUZZI, G. y HELLER, C.R. “Southern highbush blueberry responses to humic acid application in soilless substrates”. *Scientia Horticultura* [en línea], 2023, vol. 308. DOI 10.1016/j.scienta.2022.111541. Disponible en:
<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2s2.085138359121&doi=10.1016%2Fj.scienta.2022.111541&partnerID=40&md5=35c4e9b415fa1dc872f91ef6c3e5ae1b>.

OCAMPO - GUTIÉRREZ, A. *Caracterización taxonómica y actividad depredadora de hongos nematófagos, evaluación y clasificación química de los compuestos con actividad nematocida contra Haemonchus contortus*. México: Universidad Autónoma del estado de Morelos, 2021, pp. 19-54.

OJEDA-ROBERTOS, N.F., AGUILAR-MARCELINO, L., OLMEDO-JUÁREZ, A., LUNA-PALOMERA, C., PERALTA-TORRES, J.A., LÓPEZ-ARELLANO, M.E. y MENDOZA-DE-GIVES, P. “In vitro predatory activity of nematophagous fungi isolated from water buffalo feces and from soil in the Mexican southeastern”. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria* [en línea], 2021, vol. 28, no. 2, pp. 314 – 319. DOI 10.1590/s1984-29612019011. Disponible en: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85069270105&doi=10.1590%2Fs198429612019011&partnerID=40&md5=f341af7b1f164bd2a23f096454974218>.

OROZCO A, M., ÁLVAREZ C, V., JIMÉNEZ R, A. y ACUÑA N, O. “Evaluación in vitro de hongos nematófagos para el control biológico de nemátodos gastrointestinales de rumiantes”. *Revista MVZ Cordoba*, vol. 14, no. 3 (2009), pp. 182-183.

OROZCO, M., JIMÉNEZ, A., ACUÑA, O. y ÁLVAREZ, V. “Determinación del crecimiento de hongos nematófagos en diversas fuentes de carbono”. *Agronomía Costarricense*, vol. 39, no. 2 (2015), pp. 143-151.

OROZCO, M.A. *Desarrollo de harina de maíz para tortilla de mesa*. 3. Guatemala.: Universidad de San Carlos de Guatemala, 2007. ISBN 278459, pp. 19-23.

PANDIT, R., PATEL, R., PATEL, N., BHATT, V., JOSHI, C., SINGH, P.K. y KUNJADIA, A. “RNA-Seq reveals the molecular mechanism of trapping and killing of root-knot nematodes by nematode-trapping fungi”. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* [en línea], 2017, vol. 33, no. 4, pp.1-24 DOI 10.1007/s11274-017-2232-7. Disponible en: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=s2.085014556482&doi=10.1007%2Fs1127401722327&partnerID=40&md5=5f775000dafc54162729c2765773fb7a>.

PERAZA-PADILLA, W., OROZCO, M., ESQUIVEL-HERNÁNDEZ, A., RIVERA-COTO, G. y CHAVERRI-FONSECA, F. “Aislamiento e identificación de hongos nematófagos nativos de zonas arroceras de Costa Rica”. *Agronomía Mesoamericana* [en línea], 2011, vol. 22, no. 2, pp. 233-243. [Consulta: 18 diciembre 2021]. ISSN 1659-1321. Disponible en: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1659-13212011000200001.

PERAZA-PADILLA, W. y ZAMORA-ARAYA, T. “Presencia de hongos nematófagos en tres fincas cafetaleras de Costa Rica”. *Alcances tecnológicos*, vol. 10, no. 1 (2014), pp. 21-27.

PERDOMO, C. *Desarrollo de cuatro prototipos de bioformulaciones en base a conidias de Trichoderma asperellum*. 3. Quito: Universidad Central del Ecuador, 2018, pp. 2-8.

PÉREZ-ANZÚREZ, G., OLMEDO-JUÁREZ, A., VON-SON DE FERNEX, E., ALONSO-DÍAZ, M.Á., DELGADO-NÚÑEZ, E.J., LÓPEZ-ARELLANO, M.E., GONZÁLEZ-CORTÁZAR, M., ZAMILPA, A., OCAMPO-GUTIERREZ, A.Y., PAZ-SILVA, A. y MENDOZA-DE GIVES, P. “*Arthrobotrys musiformis* (Orbiliales) Kills *Haemonchus contortus* Infective Larvae (Trichostrongylidae) through Its Predatory Activity and Its Fungal Culture Filtrates”. *Pathogens* [en línea], 2022, vol. 11, no. 10, pp.1-16. ISSN 2076-0817. DOI 10.3390/pathogens11101068. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2076-0817/11/10/1068>.

PILLCO, C., GUZMÁN, D. y CUÉLLAR, J. “Composición físico química y análisis proximal physical chemical composition and proximal analysis of the fruit of sofaique *Geoffroea decorticans* (Hook . et Arn .) from the ica-peru región”. *Rev. Soc Quím Perú*, vol. 87, no. 1 (2021), pp. 14-25.

PIRES, D., VICENTE, C.S.L., MENÉNDEZ, E., FARIA, J.M.S., RUSINQUE, L., CAMACHO, M.J. y INÁCIO, M.L. “The Fight against Plant-Parasitic Nematodes: Current Status of Bacterial and Fungal Biocontrol Agents”. *Pathogens*, vol. 11, no. 10 (2022) pp.1-22.

QING, X., PENG, H., MA, J., ZHANG, Y.M., LI, H., PENG, D., WANG, X. y LONG, T. “Phylogeography of Chinese cereal cyst nematodes sheds lights on their origin and dispersal”. *Evolutionary Applications* [en línea], 2022, vol. 15 (8), pp. 1236 – 1248. DOI 10.1111/eva.13452. Disponible en: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85135527252&doi=10.1111%2Feva.13452&partnerID=40&md5=ea56d4e90253b53a862d8a1af237fa0e>.

ROBLERO-MEJÍA, D.O., AGUILAR-MARCELINO, L. y SÁNCHEZ, J.E. “Efecto de la variación del sustrato en la productividad de dos cepas de *Pleurotus* spp.”. *Scientia Fungorum*, vol. 52, no. 7 (2021), pp. 13-77.

ROMERO, C., AGUIRRE, L., PLATA, N. y YEPES, A. “Evaluación de medios de cultivo naturales para el mantenimiento de *Colletotrichum* sp.”. *Scientia et Technica*, vol. 23, no. 03 (2018), pp. 397-404.

SÁNCHEZ, E., NÚÑEZ, D., CRUZ, R., TORRES, M. y HERRERA, E. “Simulación y Conteo de Unidades Formadoras de Colonias”. *Revista electrónica de Computación, Informática, Biomédica y Electrónica* [en línea], 2017, vol. 28, no. 11, pp. 97-111. [Consulta: 18 diciembre 2022]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/5122/512253717006/html/>.

SÁNCHEZ PORTILLO, J.F., LUGO GARCÍA, G.A., MUNDO OCAMPO, M., REYES OLIVAS, Á., TANDINGAN, I.D.L. y OLE BECKER, J. “Búsqueda y aislamiento de hongos nematófagos vs *Meloidogyne* spp. en el norte de Sinaloa, México”. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, vol. 7, no. 8 (2017), pp. 182-183.

SANCLEMENTE, Ó.E., GARCÍA, M. y VALENCIA, F.L. “Efecto del uso de melaza y microorganismos eficientes sobre la tasa de descomposición de la hoja de caña (*Saccharum officinarum*)”. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, vol. 2, no. 2 (2011), pp. 13.

SAUMELL, C.A., PADILHA, T. y SANTOS, C.D.P. “Nematophagous fungi in sheep faeces in Minas Gerais, Brazil”. *Mycological Research* [en línea], 2000, vol. 104 (8), pp. 105 – 108. DOI 10.1017/S095375629900218X. Disponible en:

<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=s2.0033835346&doi=10.1017%2FS095375629900218X&partnerID=40&md5=cc5ce19134bd92a0c7c420d694cc8f24>.

SOTO-MUÑOZ, L., TEIXIDÓ, N., USALL, J., CASALS, C. y TORRES, R. “Aporte de las herramientas moleculares en el desarrollo de productos basados en microorganismos antagonistas, para el control de enfermedades poscosecha”. *Bio Ciencias*, vol. 7, no. 3 (2020). DOI <https://doi.org/10.15741/revbio.07.e95th>.

SUÁREZ-MACHÍN, C., GARRIDO-CARRALERO, N.A. y GUEVARA-RODRÍGUEZ, C.A. Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. *ICIDCA*. vol. 50, no. 1 (2016), pp. 20-28.

TRIVIÑO, C., NAVIA, D. y VELASCO, L. *Guía para reconocer daño en raíces y métodos de muestreo y extracción de nematodos en raíces y suelo* [en línea]. 433. Yaguachi: INIAP, 2013. [Consulta: 18 diciembre 2021]. Disponible en: www.iniap.gob.ec.

URIBE, L. *Caracterización fisiológica de levaduras ausladas de la filósfera de mora*. 1. S.l.: Pontificia Universidad Javeriana, 2007, pp. 28-36.

VALDATTA, C. y SYLLEROS, T. *Material Educativo Sobre La Presencia De Jarabe De Maíz Rico En Fructosa En Colaciones Escolares De Consumo Habitual Y La Prevención De La Malnutrición Por Exceso* [en línea]. 1. S.l.: Universidad Finis Terrae, 2015, pp. 6-10. Disponible en: http://repositorio.uft.cl/bitstream/handle/20.500.12254/376/MATERIAL_EDUCATICO_SOBRE_LA_PRESENCIA_DE_JARABE_DE_MAIZ_RICO.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

VIERA-ARROYO, W.F., TELLO-TORRES, C.M., MARTÍNEZ-SALINAS, A.A., NAVIA-SANTILLÁN, D.F., MEDINA-RIVERA, L.A., DELGADO-PÁRRAGA, A.G., PERDOMO-QUISPE, C.E., PINCAY-VERDEZOTO, A.K., BÁEZ-CEVALLOS, F.J., VÁSQUEZ-CASTILLO, W.A. y JACKSON, T. “Control Biológico: Una herramienta para una agricultura sustentable, un punto de vista de sus beneficios en Ecuador”. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, vol. 8, no. 2 (2020), pp. 128-149.

VIZUETE, A.A. y ANTA, R.M.O. “Effects of oat beta-glucan intake on blood cholesterol: A review”. *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*, vol. 20, no. 2 (2016), pp. 127-139.

WANG, W., ZHAO, Y., BAI, N., ZHANG, K.-Q. y YANG, J. “AMPK Is Involved in Regulating the Utilization of Carbon Sources, Conidiation, Pathogenicity, and Stress Response of the Nematode-Trapping Fungus *Arthrobotrys oligospora*”. *Microbiology Spectrum* [en línea], 2022, vol. 10, no. 4, pp. 1-15. DOI 10.1128/spectrum.02225-22. Disponible en: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2s2.85137138505&doi=10.1128%2Fspectrum.02225-22&partnerID=40&md5=913d52b6689af0e47c005e2e9ed74613>.

YANG, J., WANG, L., JI, X., FENG, Y., LI, X., ZOU, C., XU, J., REN, Y., MI, Q., WU, J., LIU, S., LIU, Yu, HUANG, X., WANG, H., NIU, X., LI, J., LIANG, L., LUO, Y., JI, K., ZHOU, W., YU, Z., LI, G., LIU, Yajun, LI, L., QIAO, M., FENG, L. y ZHANG, K.Q. “Genomic and Proteomic Analyses of the Fungus *Arthrobotrys oligospora* Provide Insights into Nematode-Trap Formation”. *Pathogens* [en línea], 2011, vol. 7, no. 9, pp. 179. [Consulta: 16 diciembre 2021]. ISSN 1553-7374. DOI 10.1371/JOURNAL.PPAT.1002179. Disponible en: <https://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1002179>.

YANG, L., LI, X., MA, Y., ZHANG, K. y YANG, J. “The Arf-GAP Proteins AoGcs1 and AoGts1 Regulate Mycelial Development, Endocytosis, and Pathogenicity in *Arthrobotrys oligospora*”. *Journal of Fungi* [en línea], 2022, vol. 8, no. 5, pp. 1-16 DOI 10.3390/jof8050463. Disponible en: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85132638113&doi=10.3390%2Fjof8050463&partnerID=40&md5=47538edd38b36e20a0f5ed1816a49438>.

YANG, T., ALTLAND, J.E. y SAMARAKOON, U.C. “Evaluation of substrates for cucumber production in the Dutch bucket hydroponic system”. *Scientia Horticulturae* [en línea], 2023, vol. 30, no. 8. DOI 10.1016/j.scienta.2022.111578. Disponible en: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2s2.85140273936&doi=10.1016%2Fj.scienta.2022.111578&partnerID=40&md5=8c3a11d0d844d01c2c13267a400cf168>.

YIN, B., VALINSKY, L., GAO, X., BECKER, J.O. y BORNEMAN, J. “Identification of fungal rDNA associated with soil suppressiveness against *Heterodera schachtii* using oligonucleotide fingerprinting”. *Phytopathology*, vol. 93, no. 8 (2003), pp. 1006-1013.

ZAVALETA, E. “Management Alternatives for Plant Diseases”. *Terra Latinoamericana*, vol. 17, no. 3 (2000), pp. 201-207.

ZHANG, F., BOONMEE, S., BHAT, J.D., XIAO, W. y YANG, X.-Y. “New Arthrobotrys Nematode-Trapping Species (Orbiliaceae) from Terrestrial Soils and Freshwater Sediments in China”. *Journal of Fungi* [en línea], 2022, vol. 8, no. 7, pp.1-23. DOI 10.3390/jof8070671. Disponible en: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85133343681&doi=10.3390%2Fjof8070671&partnerID=40&md5=036e7695d2ea9a7727f8fd7da9cf1a58>.

ZHU, M.-C., LI, X.-M., ZHAO, N., YANG, L., ZHANG, K.-Q. y YANG, J.-K. “Regulatory Mechanism of Trap Formation in the Nematode-Trapping Fungi”. *Journal of Fungi* [en línea], 2022, vol. 8, no. 4, pp. 1-14. DOI 10.3390/jof8040406. Disponible en: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2s2.85129146470&doi=10.3390%2Fjof8040406&partnerID=40&md5=36fd6828660e49453d771b86c092d5fd>.


Dpto. de Ingeniería en Castilla



ANEXOS

ANEXO A. TASA DE CRECIMIENTO



CH01AV



CH01MO



CH01PT



CH02AV



CH02MO



CH02PT



PG01AV



PG01MO



PG01PT



PG02AV

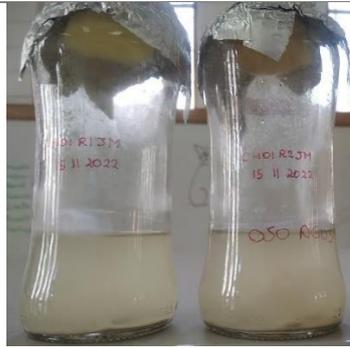


PG02MO



PG02PT

ANEXO B. PORCENTAJE DE CRECIMIENTO DE MICELIO Y BIOPELÍCULAS EN BOTELLAS



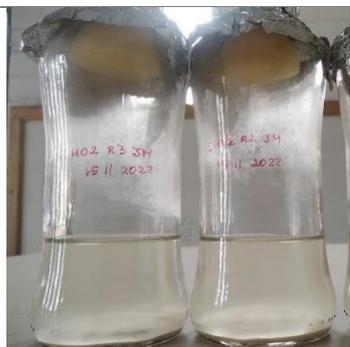
CH01JM



CH01ME



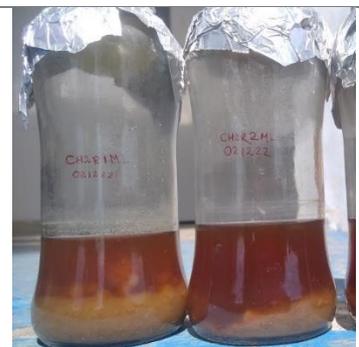
CH01MR



CH02JM



CH02ME



CH02MR



PG01JM



PG01ME



PG01MR



PG02JM

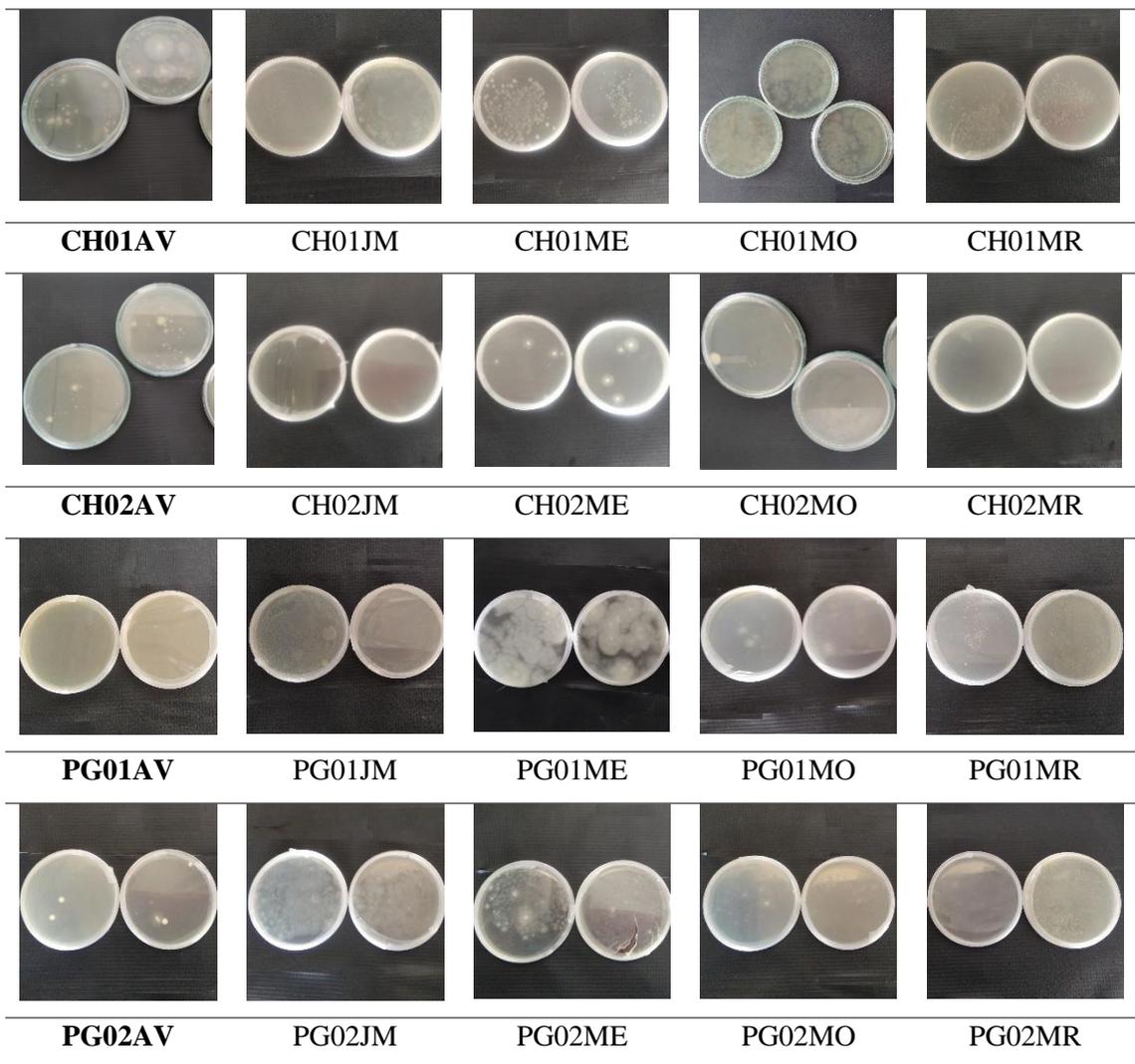


PG02ME



PG02MR

ANEXO C. UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS



ANEXO D. PREPARACIÓN E INOCULACIÓN DE SUSTRATOS



Preparación de sustrato de jarabe de maíz

Preparación de sustrato de melaza

Embazado de los sustratos en las botellas y sellado

Preparación de sustrato de medio enriquecido



Preparación del sustrato de morocho



Preparación de los pelets de harina



Estilación de los sustratos sólidos



Preparación del sustrato de avena



Esterilización de los sustratos para ser inoculados



Preparación de cultivos puros

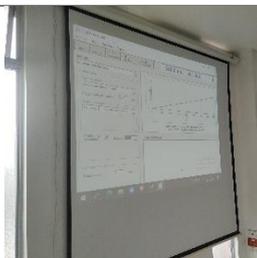


Inoculación de sustratos en cámara de flujo laminar



Incubación de sustratos inoculados en incubadora de agitación orbital.

ANEXO E. ANÁLISIS DE AZÚCARES POR MÉTODO FENOL-SULFÚRICO



Calibración de la curva de absorbancia en función de la concentración de azúcares totales.



Preparación de las diluciones de los sustratos líquidos y solidos



Soluciones líquidas y sólidas por el método fenol-sulfúrico listas para ser analizadas.



Espectrofotómetro UV

ANEXO F. ANÁLISIS DE HUMEDAD Y CENIZAS

			
Muestras de sustratos líquidos y sólidos en la termobalanza	Termobalanza	Extracción de la humedad de los sustratos previo el proceso de análisis de cenizas.	Colocación de las muestras en la mufla.

ANEXO G. ANÁLISIS DEL PORCENTAJE DE PROTEÍNAS POR EL MÉTODO KJELDAHL.

			
Preparación de las soluciones madre para los tres procesos del método Kjeldahl	Cálculo del tamaño de las muestras de sustrato para el análisis	Espacio de trabajo limpio	Medidas de seguridad y protección personal por la manipulación de tóxicos
			
Sustratos líquidos y sólidos en el digestor.	Sustratos en reposo después de la digestión.	Sustratos en el estilador.	Proceso de titulación de sustratos con HCl

ANEXO H. TRATAMIENTOS DEL DISEÑO EXPERIMENTAL

TRATAMIENTOS	DESCRIPCIÓN
CH01ME	<i>A. musiformis</i> en Melaza
CH01JM	<i>A. musiformis</i> en Jarabe de Maíz
CH01MR	<i>A. musiformis</i> en Medio enriquecido
CH01MO	<i>A. musiformis</i> en Morocho
CH01AV	<i>A. musiformis</i> en Hojuelas de avena
CH01PT	<i>A. musiformis</i> en Pellets de maíz y trigo
CH02ME	<i>A. oligospora</i> en Melaza
CH02JM	<i>A. oligospora</i> en Jarabe de Maíz
CH02MR	<i>A. oligospora</i> en Medio enriquecido
CH02MO	<i>A. oligospora</i> en Morocho
CH02AV	<i>A. oligospora</i> en Hojuelas de avena
CH02PT	<i>A. oligospora</i> en Pellets de maíz y trigo
PG01ME	<i>A. oligospora</i> en Melaza
PG01JM	<i>A. oligospora</i> en Jarabe de Maíz
PG01MR	<i>A. oligospora</i> en Medio enriquecido
PG01MO	<i>A. oligospora</i> en Morocho
PG01AV	<i>A. oligospora</i> en Hojuelas de avena
PG01PT	<i>A. oligospora</i> en Pellets de maíz y trigo
PG02ME	<i>A. conoides</i> en Melaza
PG02JM	<i>A. conoides</i> en Jarabe de Maíz
PG02MR	<i>A. conoides</i> en Medio enriquecido
PG02MO	<i>A. conoides</i> en Morocho
PG02AV	<i>A. conoides</i> en Hojuelas de avena
PG02PT	<i>A. conoides</i> en Pellets de maíz y trigo

Realizado por: Micaela Sáez.

ANEXO I. CERTIFICADO DEL LABORATORIO DE NUTRICIÓN ANIMAL Y BROMATOLOGÍA DE HABER REALIZADO ANÁLISIS DE PROTEÍNAS

 **ESPOCH**
ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

VICERRECTORADO ACADÉMICO DIRECCIÓN DE DESARROLLO ACADÉMICO

CERTIFICADO

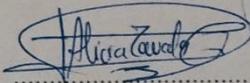
A QUIÉN CORRESPONDA

Tengo a bien certificar que la **Srta. Ana Micaela Sáez Paguay** con C.I.: 0605804368 realizó en el Laboratorio de Bromatología y Nutrición animal el análisis de proteínas correspondiente al trabajo de titulación: **“EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE CUATRO ESPECIES DE HONGOS NEMATÓFAGOS EN SUSTRATOS LÍQUIDOS Y SÓLIDOS EN CONDICIONES CONTROLADAS”**, trabajo de laboratorio realizado en la Facultad de Ciencias Pecuarias de la ESPOCH, mismo que fue desarrollado desde el martes 10 de enero hasta el viernes 13 de enero del 2023.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad, autorizando hacer usos del presente en lo que bien tuviere.

Riobamba 13 de enero del 2023

Atentamente




B.Q.F Alicia Zavala.

**TÉCNICO DEL LABORATORIO
DE NUTRICIÓN ANIMAL Y
BROMATOLOGÍA**

**ANEXO J. CERTIFICADO DEL LABORATORIO DE QUÍMICA INSTRUMENTAL DE
HABER REALIZADO ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS**



ESPOCH
ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

VICERRECTORADO ACADÉMICO DIRECCIÓN DE DESARROLLO
ACADÉMICO

CERTIFICADO

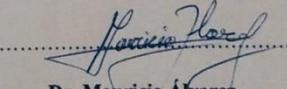
A QUIÉN CORRESPONDA

Tengo a bien certificar que la Srta. **Ana Micaela Sáez Paguay** con C.I.: 0605804368 realizó en el Laboratorio de química instrumental los análisis de físicos y químicos correspondientes al trabajo de titulación: **“EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE CUATRO ESPECIES DE HONGOS NEMATÓFAGOS EN SUSTRATOS LÍQUIDOS Y SÓLIDOS EN CONDICIONES CONTROLADAS”**, trabajo de laboratorio realizado en la Facultad de Ciencias de la ESPOCH, mismo que fue desarrollado desde el martes 10 de octubre hasta el viernes 10 de diciembre del 2023.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad, autorizando hacer usos del presente en lo que bien tuviere.

Riobamba 16 de enero del 2023

Atentamente



Dr. Mauricio Álvarez.

**TÉCNICO DEL LABORATORIO
DE QUIMICA INSTRUMENTAL**

ANEXO K. PRUEBA DE KRUSKALWALLIS PARA TASA DE CRECIMIENTO

Variable	T	N	Medianas	D.E.	H	p
Tc cm/día. CH01AV	2	2	0,42	0,02	27,67	0,0017
Tc cm/día. CH01MO	2	2	0,5	0		
Tc cm/día. CH01PT	3	3	0	0		
Tc cm/día. CH02AV	2	2	0,33	0		
Tc cm/día. CH02MO	2	2	0,33	0		
Tc cm/día. CH02PT	3	3	0	0		
Tc cm/día. PG01AV	3	3	0,57	0		
Tc cm/día. PG01MO	2	2	0,47	0,05		
Tc cm/día. PG01PT	3	3	0	0		
Tc cm/día. PG02AV	3	3	0,57	0		
Tc cm/día. PG02MO	3	3	0,5	0		
Tc cm/día. PG02PT	3	3	0	0		

ANEXO L. PRUEBA DE KRUSKALWALLIS PARA PORCENTAJE DE CRECIMIENTO

Variable	T	N	D.E.	Medianas	H	p
% crecimiento CH01 JM	3	3	0	45	31,92	0,0003
% crecimiento CH01 ME	3	3	17,32	60		
% crecimiento CH01 MR	3	3	0	90		
% crecimiento CH02 JM	3	3	17,32	30		
% crecimiento CH02 ME	3	3	0	45		
% crecimiento CH02 MR	3	3	0	45		
% crecimiento PG01 JM	3	3	0	30		
% crecimiento PG01 ME	3	3	0	60		
% crecimiento PG01 MR	3	3	0	60		
% crecimiento PG02 JM	3	3	0	60		
% crecimiento PG02 ME	3	3	0	90		
% crecimiento PG02 MR	3	3	0	90		

ANEXO M. PRUEBA DE KRUSKALWALLIS PARA NÚMERO DE BIOPELÍCULAS

Variable	T	N	D.E.	Medianas	H	p
Biopelículas	CH01 JM	3	0,58	2	28,88	0,0006
Biopelículas	CH01 ME	3	0	2		
Biopelículas	CH01 MR	3	0,58	2		
Biopelículas	CH02 JM	3	0	0		
Biopelículas	CH02 ME	3	0	0		
Biopelículas	CH02 MR	3	0	0		
Biopelículas	PG01 JM	3	0,58	0		
Biopelículas	PG01 ME	3	0	1		
Biopelículas	PG01 MR	3	0	2		
Biopelículas	PG02 JM	3	0	2		
Biopelículas	PG02 ME	3	0	2		
Biopelículas	PG02 MR	3	0	3		

ANEXO N. PRUEBA DE KRUSKALWALLIS PARA UFC/ML EN SUSTRATOS LÍQUIDOS

Variable	Tratamiento	N	D.E.	Medianas	H	p
UFC/mL	CH01 JM	3	0	0	31,44	0,0005
UFC/mL	CH01 ME	3	3817,5	10900		
UFC/mL	CH01 MR	3	0	30000		
UFC/mL	CH02 JM	3	0	0		
UFC/mL	CH02 ME	3	0	0		
UFC/mL	CH02 MR	3	0	0		
UFC/mL	PG01 JM	3	4544,59	13400		
UFC/mL	PG01 ME	3	550,76	5100		
UFC/mL	PG01 MR	3	12700	19300		
UFC/mL	PG02 JM	3	2705,55	20000		
UFC/mL	PG02 ME	3	0	30000		
UFC/mL	PG02 MR	3	2971,53	2300		

ANEXO O. PRUEBA DE KRUSKALWALLIS PARA UFC/ML EN SUSTRATOS SÓLIDOS

Variable	Tratamiento	N	D.E.	Medianas	H	p
UFC/mL	CH01AV	3	702,38	5000	31,05	0,0004
UFC/mL	CH01MO	3	1039,23	7500		
UFC/mL	CH01PT	3	0	0		
UFC/mL	CH02AV	3	2871,12	7800		
UFC/mL	CH02MO	3	0	0		
UFC/mL	CH02PT	3	0	0		
UFC/mL	PG01AV	3	2804,16	6000		
UFC/mL	PG01MO	3	251,66	1200		
UFC/mL	PG01PT	3	0	0		
UFC/mL	PG02AV	3	650,64	1700		
UFC/mL	PG02MO	3	642,91	9500		
UFC/mL	PG02PT	3	0	0		



epoch

**Dirección de Bibliotecas y
Recursos del Aprendizaje**

**UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y
DOCUMENTAL**

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 14 / 06 / 2023

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)
Nombres – Apellidos: Ana Micaela Sáez Paguay
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: RECURSOS NATURALES
Carrera: AGRONOMÍA
Título a optar: INGENIERA AGRÓNOMA
f. responsable: Ing. Cristhian Fernando Castillo Ruiz

Ing. Cristhian Fernando Castillo Ruiz



1054-DBRA-UTP-2023