



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS  
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**

**DESARROLLO DE CUATRO PROTOTIPOS DE BIOFORMULACIONES EN  
BASE A CONIDIAS DE *Trichoderma asperellum***

**Trabajo de titulación previo a la obtención del Título de Ingeniera Agrónoma**

**AUTORA: Perdomo Quishpe Cynthia Estefania  
TUTOR: Ing. Agr. Caicedo Chávez Jorge David, M.Sc.**

**QUITO, octubre 2018**

## VIII. RESUMEN

Ecuador posee un sistema de producción de cultivos diferenciado por el tamaño de la Unidad Productiva Agropecuaria (UPA) que presenta diversos factores edafoclimáticos en cada Región del país los cuales contribuyen al desarrollo de plagas (Vallejo, 2014). Las pérdidas generadas por patógenos pueden superar el 20% de los costos de producción, dependiendo de la severidad de ataque razón por la cual se ha impulsado la búsqueda de estrategias de control que sean alternativas al control químico y eficientes. El control biológico es una opción para minorar el uso de agroquímicos, mediante la utilización de microorganismos antagonistas sobre otros patógenos (Bettiol *et al.*, 2014).

Los hongos biocontroladores pertenecientes al género *Trichoderma*, por su versatilidad, adaptabilidad y fácil manipulación son capaces de controlar una amplia gama de microorganismos patógenos (Falconí, 2010), siendo los preferidos para el control biológico. Actualmente se ha incrementado el uso de hongos antagonistas motivo por el que se buscan maneras de conservar al microorganismo por mayor tiempo asegurando sus características físicas y microbiológicas. El desarrollo de bioformulaciones es una herramienta esencial que promueve la producción, manipulación y aplicación eficiente del microorganismo en campo.

El presente trabajo tuvo como finalidad el desarrollo de cuatro prototipos de bioformulaciones a base de conidias de *Trichoderma asperellum*, escogido por sus cualidades de antagonismo y su amplio mecanismo de acción frente a diversos patógenos, observando que los productos bioformulados se realizaron a partir de una cepa obtenida en el INIAP-Estación Experimental Litoral Sur y con la mezcla de ingredientes inertes que ayudaron a la sobrevivencia, actividad, preservación y almacenamiento del agente biocontrolador.

Las características microbiológicas evaluadas determinaron al mejor prototipo con respecto a su preservación en el tiempo.

El mejor prototipo considerando la viabilidad y concentración de colonias UFC/g fue polvo mojable que presentó una reducción mínima de la germinación al cabo de seis meses de almacenamiento a 4°C conservando un 87,6% y una concentración promedio de  $3,76 \times 10^8$  UFC/g, valores considerados aceptables dentro de los parámetros de calidad establecidos por el Laboratorio de Control Biológico. También se debe considerar que el polvo mojable a 30 °C mantuvo una germinación del 80,8%, lo cual es importante debido a que las formulaciones realizadas tienen como finalidad su aplicación en la Región Litoral del Ecuador.

El nivel de pureza presente en las cuatro bioformulaciones cumplió con el estándar de calidad establecido, sugiriendo que la estabilidad y viabilidad del microorganismo no se vio afectado por otros microorganismos durante la etapa de almacenamiento a dos temperaturas. Los cuatro prototipos desarrollados a base de conidias de *Trichoderma asperellum* presentaron un porcentaje de eficiencia superior al 90%, obteniendo mejor porcentaje el bioformulado polvo mojable con 100 % de eficiencia, es decir los procesos de formulación no afectaron al hongo.

Los resultados de la evaluación de las características fisicoquímicas se analizaron antes y durante seis meses de almacenamiento, determinaron que existió estabilidad en estas propiedades.

La densidad apisonada promedio para gránulo dispersable oscila entre 630g/L y 670 g/L y gránulo cubierto tuvo un valor constante de 1000g/L, adecuados para este tipo de productos. El prototipo

de polvo mojable presentó una densidad apisonada de 710g/L a 780g/L, valores que se encuentran sobre los límites recomendables, sin embargo, el producto mostró un adecuado comportamiento microbiológico. En consecuencia, los rangos obtenidos para cada prototipo sólido sugieren que no existirán problemas en operaciones de formulación a gran escala.

La humectabilidad de los prototipos sólidos (WP y WG) no presentaron un tiempo de humectación adecuado para bioformulaciones debido a que exceden el minuto para humedecerse completamente.

El porcentaje de humedad fue evaluada solo en los prototipos sólidos y según el análisis de los resultados esta se encuentra entre un rango entre 2 a 5%, niveles adecuados y estables que no permiten proliferación de agentes contaminantes, así como evitar compactación o aglomeración de las partículas dentro del envase.

El pH determinado en los cuatro prototipos tanto sólidos como el líquido a base de *Trichoderma asperellum* se encuentran en un rango de 5 a 7, valores adecuados para formulaciones biológicas. El pH mantuvo estables las formulaciones y no influyó negativamente en la germinación del hongo.

La estabilidad del concentrado emulsionable mostró que la cantidad de cremado obtenido en la primera hora y 24 horas después de reconstituido en agua, estuvo dentro de los rangos permitidos para formulaciones en aceite. Sin embargo, no existe reacción de cambio de color de la formulación al hacer contacto con el agua, lo que puede sugerir que la emulsión no es completamente efectiva y se debe mejorar mediante adición de agentes emulsificantes.

Los prototipos WP y WG a base de *Trichoderma asperellum*, presentan un porcentaje de suspendibilidad adecuado para formulaciones de reconstitución en agua y aplicación con equipos de aspersión. La suspendibilidad se mantuvo superior al 90% a partir de su formulación.

El tamaño de la partícula para formulaciones sólidas como polvo mojable y gránulo cubierto no presentan límites definidos de aceptación y se tomaron como válidos los rangos obtenidos para los prototipos desarrollados: El polvo mojable presentó uniformidad del tamaño de partícula siendo inferior a 53µm, tamaño que permite un adecuado envase y almacenamiento. El gránulo cubierto y gránulo dispersable presentaron una homogeneidad de tamaño que osciló entre 1,70 mm y 250µm- Las temperaturas y período de almacenamiento no produjeron cambios en el tamaño de la partícula de los prototipos.

La actividad de agua de 0,28 que presentó el WP, mantuvo en mejores condiciones las características del hongo, dejando al microorganismo en latencia por mayor tiempo en comparación del resto de prototipos.

Por consiguiente, solo prototipos en refrigeración presentaron una vida útil y estabilidad por seis meses de almacenamiento, asegurando la sobrevivencia de las conidias de *Trichoderma asperellum*. El almacenamiento a temperaturas elevadas reduce la estabilidad del microorganismo corroborando la reducción su viabilidad después de 24 horas.

## SUMMARY

Ecuador has a system of crop production differentiated by the size of the Agricultural Productive Unit (UPA) that presents various edaphoclimatic factors in each region of the country which contribute to the development of pests (Vallejo, 2014). The losses generated by pathogens can exceed 20% of production costs, depending on the severity of the attack, which is why the search for control strategies that are alternatives to chemical control and efficient. Biological control is an option to reduce the use of agrochemicals, through the use of antagonistic microorganisms on other pathogens (Bettiol *et al.*, 2014).

The biocontroller fungi belonging to the genus *Trichoderma*, for their versatility, adaptability and easy handling are able to control a wide range of pathogenic microorganisms (Falconí, 2010), being preferred for biological control. Currently, the use of antagonist fungi has been increased, which is why ways are looking for ways of preserving the microorganism for a longer time assuring its physical and microbiological characteristics. The development of bioformulations is an essential tool that promotes the production, handling and efficient application of the microorganism in the field.

The purpose of this work was to developing four prototypes of bioformulations based on *Trichoderma asperellum*, chosen for its antagonistic qualities and its broad mechanism of action against various pathogens, contemplating that the bioformulated products were made from a strain obtained at the INIAP- Station Experimental Litoral Sur and with the mixture of inert ingredients that helped the survival, activity, preservation and storage of the biocontrol agent.

The microbiological characteristics evaluated determined the best prototype with respect to its preservation over time.

The best prototype based on the viability and concentration of conidia CFU / g was wettable powder that presented a minimum reduction of germination after six months of storage at 4 ° C, conserving 87.6% and 3.76x10<sup>8</sup> CFU / g, respectively, values within the quality parameters established by the Biological Control Laboratory. It should also be taken into account that wettable powder at 30 ° C maintained a germination of 80.8%, which is important because the formulations made are intended for application in the Littoral Region of Ecuador.

The level of purity present in the four bioformulations met the established quality standard, suggesting that the stability and viability of the microorganism was not affected by other microorganisms during the storage stage at two temperatures. The four prototypes developed based on conidia of *Trichoderma asperellum* presented a percentage of efficiency level higher than 90%, obtaining a better percentage of the bioformulated wettable powder with 100% efficiency, that is, the formulation processes did not affect the fungus.

The results of the evaluation of the physicochemical characteristics were analyzed before and during six months of storage, determined that there was stability in these properties.

The average rammed density for dispersible granule ranges from 630g / L to 670 g / L and covered granule had a constant value of 1000g / L, suitable for this type of products. The prototype of wettable powder presented a tamped density of 710g / L to 780g / L, values that are above the recommendable limits, however, the product showed an adequate microbiological behavior. Consequently, the ranges obtained for each solid prototype suggest that there will be no problems in large-scale formulation operations.

The wettability of the solid prototypes (WP and WG) did not present an adequate wetting time for bioformulations because they exceed one minute to completely moisten.

The percentage of humidity was evaluated only in the solid prototypes and according to the analysis of the results this is within a range between 2 to 5%, suitable and stable levels that do not allow proliferation of contaminating agents as well as avoiding without compaction or agglomeration of the particles in the formulations inside the container.

The pH determined in the four solid prototypes and the liquid based on *Trichoderma asperellum* are in a range of 5 to 7 values suitable for biological formulations. The pH kept the formulations stable and did not influence negatively in the germination of the fungus.

The stability of the emulsifiable concentrate showed that the amount of cream obtained in the first hour and 24 hours after reconstitution in water was within the allowed ranges for oil formulations. However, there is no color change reaction of the formulation when making contact with water, which may suggest that the emulsion is not completely effective and must be improved by the addition of emulsifying agents.

The prototypes WP and WG based on *Trichoderma asperellum*, present a percentage of suitable suspensibility for formulations of reconstitution in water and application with spray equipment. Suspendability remained above 90% from the time of production.

The particle size for solid formulations such as wettable powder and covered granule do not have defined limits of acceptance and the ranges obtained for the developed prototypes were taken as valid: Wettable powder showed uniformity of the particle size being less than 53µm, size that allows a suitable container and storage. Coated granule and dispersible granule presented a homogeneity of size that ranged between 1.70 mm and 250 µm- Temperatures and storage period did not change the particle size of the prototypes.

The water activity of 0.28 presented by WP kept the characteristics of fungus in better conditions, leaving the microorganism in latency for a longer time compared to the rest of the prototypes.

Therefore, only prototypes in refrigeration presented a shelf life and stability for six months of storage, assuring the survival of the conidia of *Trichoderma Asperellum*. Storage at elevated temperatures reduces the stability of the microorganism by corroborating the reduction of its viability after 24 hours.