

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL



FACULTAD DE CIENCIAS HUMANÍSTICAS Y ECONÓMICAS

**TESIS DE GRADO
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:**

**INGENIERO COMERCIAL Y EMPRESARIAL
ESPECIALIZACIÓN EN FINANZAS**

**“PROYECTO DE INVERSIÓN PARA LA ELABORACIÓN DE
BIOPRODUCTOS CON MICROORGANISMOS PARA EL
CONTROL DE LAS ENFERMEDADES DE LAS PLANTAS”**

PRESENTADO POR:

**TANYA PAOLA MINCHALA VALENCIA
VERÓNICA ALEXANDRA MOREIRA BUSTAMANTE**

**GUAYAQUIL – ECUADOR
2007**

Agradezco primero a Dios, por darme la fuerza necesaria para culminar una etapa en mi carrera profesional y por ser la luz en mi camino; a mis padres que por su apoyo incondicional y su dedicación son motivos de superarme día a día, a la Ing. Patricia Valdivieso por su entrega constante y por compartir sus conocimientos para la realización de este proyecto, a mi compañera, amiga y hermana Vero por su paciencia y perseverancia y a Lenin, amigo que se mantuvo tolerante y comprensivo con nosotras y que nos guió en la elaboración de este proyecto.

Tanya Minchala Valencia

Principalmente agradezco a Dios por iluminarme, guiarme y darme constancia y perseverancia siempre; a mis padres y hermanos que con su esfuerzo y cariño me han apoyado en cada momento de mi vida; a la Ing. Patricia Valdivieso por su apoyo durante la realización de este proyecto y por compartir con nosotros su experiencia, tiempo y paciencia; a mi amiga y hermana Tanya por su confianza y tolerancia; a Lenin por su dedicación y soporte a este proyecto y a todos mis amigos y personas que de una u otra forma contribuyeron en la culminación de esta meta.

Verónica Moreira Bustamante.

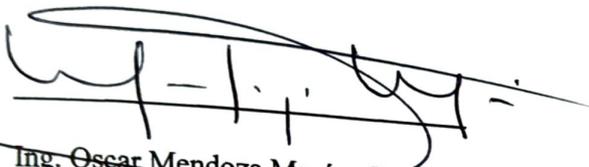
Este proyecto se lo dedico a mis padres, a mi ñaño Andrés por su apoyo a quien quiero mucho, a Alfonso una persona especial que llevo en mi corazón y a quien lo adoro, a mi Pitufito y a mis seres queridos que me han apoyado incansablemente en este camino. Lo dedico también a mis amigos a quien los quiero mucho.

Tanya Minchala Valencia

Dedico este proyecto principalmente a mi familia y seres queridos, quienes siempre me han ayudado a cumplir mis metas e ideales. A mis amigos, que estuvieron siempre a mi lado en todo momento y de manera muy especial a un ser bello al que amo con todo mi corazón.

Verónica Moreira Bustamante.

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN



Ing. Oscar Mendoza Macías, Decano
Presidente



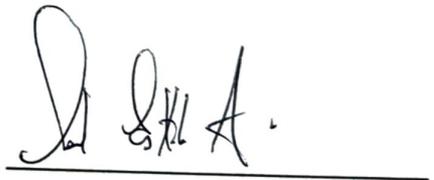
Ing. Patricia Valdivieso Valenzuela.
Director de Tesis



CIB-ESPOL



Ing. Ricardo Cassis Martínez
Vocal Principal



Econ. Leonardo Estrada Aguilar
Vocal Principal

DECLARACIÓN EXPRESA

“La responsabilidad por los hechos, ideas y doctrinas expuestas en este proyecto nos corresponden exclusivamente, y el patrimonio intelectual de la misma a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL”

(Reglamento de Graduación de la ESPOL)



CIB-ESPOL

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Tanya Minchala Valencia", written over a horizontal line.

Tanya Minchala Valencia

Mat. No. 200001923

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Verónica Moreira Bustamante", written over a horizontal line.

Verónica Moreira Bustamante

Mat. No. 199917170

ÍNDICE GENERAL

Agradecimientos	I
Dedicatorias	III
Tribunal de Graduación	V
Declaración Expresa	VI
Índice General	VII
Índice de Tablas	XV
Índice de Gráficos	XVI
Índice de Figuras	XVII
Introducción	XIX

CAPÍTULO I: MICROORGANISMOS

1.1 Generalidades de los Microorganismos	20
1.1.1 Importancia de los microorganismos	22
1.1.2 Microorganismos y agricultura	23

1.1.2.1 Microorganismos Benéficos	25
1.1.2.2 Microorganismos Patógenos	26
1.1.3 Modo de Acción de los Microorganismos Benéficos	27
1.1.4 Microorganismos y su Interacción con las plantas	30
1.1.5 Ecosistema Microbiano	32
1.2 Características de <i>Trichoderma</i>	34
1.2.1. Generalidades de Trichoderma	36
1.2.1.1. Biología de Trichoderma	38
1.2.2. Importancia de Trichoderma en la agricultura	39
1.2.3. Modo de acción de Trichoderma	41
1.2.3.1. Micoparasitismo	42
1.2.3.2. Competencia	43
1.2.3.3. Antibiosis	43
1.2.4. Inducción del sistema de defensa de las plantas por Trichoderma	44
1.2.5. Aislamiento de Trichoderma del suelo	45
1.2.6. Identificación Morfológica de Trichoderma	46
1.2.7. Propagación de Trichoderma en Sustratos	50

CAPÍTULO II: ESTRUCTURA Y ESTUDIO DE MERCADO

2.1 Filosofía Corporativa	51
2.1.1 Misión	51
2.1.2 Visión	52
2.1.3 Objetivos	52

2.2	Producto	53
2.2.1	Definición del producto	53
2.2.2	Problemas que genera la idea del negocio	54
2.3	Análisis de la Demanda de Bioproductos	54
2.3.1	Base de decisión de compra de los clientes	54
2.3.2	Estimación de la Demanda	54
2.4	Análisis de la Oferta	55
2.4.1	Cientes Potenciales	55
2.4.2	Producción Mundial de Bioproductos	55
2.4.3	Análisis de la Competencia	58
2.5	Análisis Porter	60
2.6	Análisis Foda	62
2.7	Análisis de Precios	64
2.7.1	Determinación del Precio	64
2.8	Comercialización del Producto	65
2.9	Promoción y Comunicación	66
2.10	Investigación de Mercados	68
2.10.1	Planteamiento del Problema	68
2.10.2	Objetivos	69
2.10.2.1	Objetivo General	69
2.10.2.2	Objetivos Específicos	69
2.10.3	Fuentes de Información	70
2.10.3.1	Fuentes de Información Primaria	70

2.10.3.2 Fuentes de Información Secundaria	70
2.10.4 Determinación del Muestreo	70
2.10.4.1 Unidades del muestreo	70
2.10.4.2 Alcance	71
2.10.4.3 Selección del Tamaño de la muestra	71
2.10.5 Diseño del Cuestionario	73
2.10.6 Resultados de la Encuesta	74
2.10.7 Interpretación y Análisis de los Resultados de la Encuesta	88
2.10.8 Conclusión	90

CAPÍTULO III: ESTUDIO TÉCNICO

3.1 Infraestructura	91
3.1.1 Área de Aislamiento	92
3.1.2 Equipos	93
3.1.2.1 Cámara de Flujo Laminar Vertical	93
3.1.2.2 Incubadora	94
3.1.2.3 Esterilizador o Autoclave	95
3.1.2.4 Destilador de Agua	95
3.1.2.5 Olla de Presión	96
3.1.2.6 Baño Maria	97
3.1.2.7 Hot Plate & Styrrier	97
3.1.2.8 Balanza Analítica	98
3.1.2.9 Peachímetro Digital	99

3.1.3 Materiales de Laboratorio	99
3.1.3.1 Enlenmeyer de 1000 ml	100
3.1.3.2 Viker 250 ml	100
3.1.3.3 Pipetas 100 ml	101
3.1.3.4 Puntas 100 ml	101
3.1.3.5 Agitadores	102
3.1.3.6 Cajas de Petri	102
3.1.3.7 Espátulas	103
3.1.3.8 Saca Bocados	103
3.1.3.9 Mortero	103
3.1.3.10 Tamiz de 2mm de diámetro	104
3.1.3.11 Mechero	105
3.1.3.12 Microscopio Electrónico	105
3.1.3.13 Placas Porta y cubre objeto	106
3.2 Muestras de Suelo	106
3.3 Reactivos	107
3.4 Medio Específico para Trichoderma	108
3.4.1 Agar	108
3.4.2 Sacarosa	108
3.4.3 Ácido Cítrico	108
3.4.4 Fuentes de Nutrimiento para el Hongo	109
3.4.5 Agua Destilada	109

3.4.6 Antibióticos	109
3.4.7 Alcohol Alílico	110
3.4.8 Agua Destilada Estéril	110
3.4.9 Alcohol	111
3.4.10 Azul de Metileno	111
3.5 Cuarto de Propagación	111
3.5.1 Fundas para esterilizar	111
3.5.2 Perchas	112
3.5.3 Frascos	112
3.5.4 Balde	113
3.5.5 Autoclave	113
3.5.6 Cámara de Flujo	113
3.5.7 Incubadora	113
3.5.8 Agua	114
3.5.9 Arrocillo o Arroz	114
3.6 Aislamiento de especies de Trichoderma del suelo	114
3.6.1 Fase de Campo	114
3.6.2 Determinación de Número de Propágulo por gramo de suelo	115
3.6.2.1 Metodología	115
3.6.2.2 Fórmula de porcentaje de peso seco	120
3.6.2.3 Modo de preparación del Medio T	121
3.6.2.4 Medio Alternativo PDA	121
3.7 Personal de Laboratorio	123

CAPÍTULO IV: EVALUACIÓN Y ANÁLISIS FINANCIERO

4.1 Inversiones, Capital de Operación y Financiamiento	124
4.1.1 Inversión Inicial	124
4.1.2 Financiamiento	127
4.1.3 Determinación del Costo Capital	128
4.2 Presupuesto de Ingreso, Costo y Gastos	129
4.2.1 Ingresos	129
4.2.2 Gastos de Administración	129
4.2.3 Gastos Financieros	131
4.2.4 Depreciaciones	131
4.2.5 Costo de Producción	132
4.3 Resultados y Situación Financiera Estimados	135
4.3.1 Estado de Pérdidas y Ganancias	135
4.3.2 Flujo de Caja	135
4.4 Punto de Equilibrio	135
4.5 Análisis de Riesgo de la Inversión	136
4.6 Criterios de Evaluación del Proyecto	139
4.6.1 Valor Actual Neto	139
4.6.2 Tasa Interno de Retorno	140
4.6.3 Periodo de Recuperación de la Inversión	140
4.7 Tasa de Descuento	141

CAPÍTULO V: ESTUDIO ADMINISTRATIVO Y LEGAL

5.1 Estructura Organizacional	142
5.1.1 Legalidad de la Actividad y constitución de la compañía	142
5.1.2 Personal a Cargo	143
5.1.3 Organigrama	146
5.1.4 Ubicación	147
5.2 Procedimientos Administrativos	148
5.3 Impacto Ambiental	150

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÌNDICE DE TABLAS

Tabla No. 2.1 Número de Productores en la Provincia del Guayas	71
Tabla No. 4.1 Equipos y Muebles de Oficina	125
Tabla No. 4.2 Gastos Pre-operativos	126
Tabla No. 4.3 Otras Inversiones Necesarias	126
Tabla No. 4.4 Estructura de Capital del Proyecto	127
Tabla No. 4.5 Costo de Capital	128
Tabla No. 4.6 Gastos Administrativos	130
Tabla No. 4.7 Costo de la Mano de Obra Directa	130
Tabla No. 4.8 Costo de la Mano de Obra Indirecta	131
Tabla No. 4.9 Costos de Recolección	132
Tabla No. 4.10 Costos de Materiales Indirectos	133
Tabla No. 4.11 Costos de Materiales Directos	133
Tabla No. 4.12 Sensibilidad del VAN con respecto al Precio	136
Tabla No. 4.13 Sensibilidad del VAN con respecto a los Costos Variables	137
Tabla No. 4.14 Sensibilidad del VAN con respecto a la Producción	138

ÌNDICE DE GRÀFICOS

Gráfico No. 2.1 Enfermedades Fungosas	74
Gráfico No. 2.2 Etapas del Cultivo	75
Gráfico No. 2.3 Tipos de Control de Enfermedades y Plagas	76
Gráfico No. 2.4 Controles Químicos	77
Gráfico No. 2.5 Control Biológico	78
Gráfico No. 2.6 Productos Orgánicos	79
Gráfico No. 2.7 Uso de Controles	80
Gráfico No. 2.8 Aplicaciones	81
Gráfico No. 2.9 Gasto Control Químico	82
Gráfico No. 2.10 Conocimiento de Trichoderma	83
Gráfico No. 2.11 Productos Compatibles	84
Gráfico No. 2.12 Uso de Microorganismos	85
Gráfico No. 2.13 Ventajas de Trichoderma	86
Gráfico No. 2.14 Precio	87
Gráfico No. 4.1 VAN con respecto al Precio	137
Gráfico No. 4.2 VAN con respecto al Costo Variable	138
Gráfico No. 4.3 VAN con respecto a la Producción	139
Gráfico No. 5.1 Organigrama	146

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No. 1.1 Cepas de Trichoderma	35
Figura No. 1.2 Forma de la Muestra	45
Figura No. 1.3 Estructuras Philiades	47
Figura No. 1.4 Estructuras Philiades	47
Figura No. 1.5 Hifas	48
Figura No. 1.6 Esporas	49
Figura No. 1.7 Clamisdoporos	49
Figura No. 2.1 Productos de IAB	56
Figura No. 2.2 Productos de Orius	57
Figura No. 2.3 Etiqueta del Producto de Agrobica	58
Figura No. 2.4 Productos de Custombio	59
Figura No. 3.1 Cámara de Flujo Laminar Vertical	94
Figura No. 3.2 Incubadora	94
Figura No. 3.3 Esterilizador o Autoclave	95
Figura No. 3.4 Destilador de Agua	96
Figura No. 3.5 Olla de Presión	96
Figura No. 3.6 Baño María	97
Figura No. 3.7 Hot Plate & Styrierr	98
Figura No. 3.8 Balanza Analítica	98

Figura No. 3.9 Peachìmetro Digital	99
Figura No. 3.10 Enlenmeyer de 1000 ml.	100
Figura No. 3.11 Viker 250 ml.	100
Figura No. 3.12 Pipetas de 100 ml.	101
Figura No. 3.13 Puntas 100 ml.	102
Figura No. 3.14 Cajas de Petri	103
Figura No. 3.15 Mortero	104
Figura No. 3.16 Tamiz de 2 mm. de Diámetro	104
Figura No. 3.17 Mechero	105
Figura No. 3.18 Microscopio Electrónico	106
Figura No. 3.19 Forma de la Toma de Muestras	107
Figura No. 3.20 Frascos	112
Figura No. 3.21 Muestras de Suelo Tamizadas	116
Figura No. 3.22 Muestra de Suelo Diluida	116
Figura No. 3.23 Medio T dentro de la Cámara de Flujo	116
Figura No. 3.24 Cajas Madres y Cajas Hijas	116
Figura No. 3.25 Cajas Madres y Cajas Hijas	117
Figura No. 3.26 Caja Hija con muestra de Caja Madre	117
Figura No. 3.27 Caja Hija con muestra de Caja Madre	118
Figura No. 3.28 Caja Hija	118
Figura No. 3.29 Caja Hija	118

INTRODUCCIÒN

Dentro del sector agrícola del país el uso intensivo de agroquímicos ha ido deteriorando en gran manera los suelos disminuyendo significativamente la actividad microbiológica (microfauna), lo cual ecológicamente no es sustentable. Por este motivo la actividad agrícola en el Ecuador debe ir cambiando hacia una agricultura ecológica (Agro-ecología). Lo cual permitiría incorporar nuevas técnicas de control de patógenos del suelo que afectan a las plantas, unas de estas técnicas es el uso de microorganismos benéficos incorporándolos al suelo (biocontrol).

Debido al uso excesivo de químicos agrícolas algunos patógenos han tomado resistencia natural, es decir, tienen la capacidad de mutar o modificar genéticamente lo cual nos da como resultado enfermedades resistentes y difíciles de controlar inclusive con el uso de químicos. La presión de las plagas es a menudo mayor debido a factores climáticos, los cultivos hortícolas en ocasiones son altamente susceptibles a las plagas y las enfermedades debido a la presión de la intensidad del cultivo, por lo que el uso de los plaguicidas forma parte integral de la técnica agrícola.

Los microorganismos utilizados como biocontroladores son seres vivos, por lo que sus características fisiológicas no son inmutables y pueden ser alteradas en el transcurso del tiempo adaptándose a condiciones climáticas desfavorables y uno de los microorganismos que será base de nuestro estudio es el *Trichoderma Harzianum*.

CAPÍTULO I

MICROORGANISMOS

1.1 Generalidades de los Microorganismos

Los microorganismos son diminutos seres vivos que individualmente son demasiado pequeños como para verlos a simple vista. En este grupo se incluyen las bacterias, hongos (levaduras y hongos filamentosos), virus, protozoos y algas microscópicas.

Dentro de la naturaleza los microorganismos se encuentran en poblaciones microbianas los cuales se encuentran distribuidos dentro de diversos hábitats, estos tienen características diferentes, por lo tanto un hábitat que favorece el crecimiento de un organismo puede ser perjudicial para otro. Las poblaciones microbianas se

relacionan de varios modos y tales interacciones pueden ser perjudiciales o beneficiosas, en muchos casos las poblaciones interactúan y cooperan en sus funciones nutricionales con los productos de desecho derivados de sus actividades metabólicas, sirviendo como alimento para otro, esta interacción también se puede notar entre microorganismos y plantas, ya que las plantas proveen exudados azucarados a los microorganismos, y dependiendo de que tipo sea este benéfico o perjudicial para la planta puede afectarle o brindarle cierta protección. La composición de una comunidad microbiana en un hábitat concreto está determinada en gran parte de las características físicas y químicas de ese medio, esto es a lo que denominamos ecosistemas.

Las actividades de un ecosistema están reguladas en gran parte por las actividades microbianas, los microorganismos toman nutrientes del medio para su alimentación, y eliminan sus desechos al medio ambiente, lo cual puede provocar cambios físicos o químicos dentro del ambiente.

Debido al tamaño de los microorganismos para poder estudiarlos se hace necesario el uso de microscopio, el diagnóstico de materiales naturales, ya sea del suelo o agua, siempre pone de manifiesto la presencia de células microbianas, y aunque éstas puedan parecer inofensivas, pueden crecer rápidamente formando grandes poblaciones las cuales serían capaces de causar gran impacto dentro de un hábitat. Así pese a que los microorganismos pueden pasar por ser minoritarios dentro de la naturaleza son parte muy importante en cada ecosistema.

La ecología microbiana estudia cómo se relaciona un microorganismo con el ambiente que lo rodea, utilizando los nutrientes que encuentra y produciendo desechos que lo alteran de forma substancial.

1.1.1 Importancia de los microorganismos.

La importancia de los microorganismos en los alimentos es más evidente. La producción de alimentos por técnicas microbiológicas es una actividad de larga historia; los microorganismos alteran los constituyentes de los alimentos de forma que los estabilizan permitiendo su mayor duración y, además, proporcionan compuestos que confieren sabores característicos a los alimentos por ellos producidos. Ésta faceta se complementa con la acción de microorganismos alterantes de los alimentos y responsables de su deterioro de forma que se hagan inaceptables por los consumidores.

La industria alimentaria también usa microorganismos en la producción de vinagre, bebidas alcohólicas, aceitunas, mantequilla, queso, yogurt y pan. Además, las bacterias y otros microorganismos ahora pueden ser manipulados para producir sustancias que ellos normalmente no sintetizan. A través de esta técnica, llamada ingeniería genética, las bacterias pueden producir importantes sustancias terapéuticas como insulina, hormona de crecimiento humana e interferón.

Los microorganismos contribuyen al hombre y a la naturaleza ya que muchos de estos nos han sido útiles durante mucho tiempo y hasta ahora ya sea para el control de enfermedades en el hombre, así como para el control de muchas enfermedades de muchos tipos de cultivos, esto es de gran importancia ya que nos permiten obtener productos muchos más sanos; además de mantener la estructura físico química del suelo.

Dentro de la industria energética y medio ambiental los microorganismos desempeñan un papel importante, la mayor parte de gas natural (metano) es un producto bacteriano, derivado de las actividades de las bacterias metagénicas. En el medio ambiente los microorganismos pueden ser utilizados como biorremediadores, los cuales ha sido comprobado cuando han ocurrido derrames de petróleo se ha usado microorganismos pudiendo limpiar el suelo de estos derrames y devolverle su estabilidad físico química.

1.1.2 Microorganismos y Agricultura.

En general nuestro sistema de agricultura depende en muchos aspectos de las actividades microbianas, debido a que hay microorganismos que actúan en el caso de cultivos sobre la raíz microorganismos simbióticos fijadores de nitrógeno como se da en el caso de las leguminosas que forman simbiosis con bacterias del suelo formando unas estructuras llamadas nódulos, ésta simbiosis es capaz de fijar nitrógeno en el suelo, siendo el nitrógeno el macronutriente más utilizado por las plantas, como es el

caso de *Rhizobium*: son bacterias de crecimiento rápido; nodulan en muchas especies tropicales, *Bradyrhizobium*: éstas bacterias son de crecimiento lento y forman el grupo del caupí; nodulan en muchas leguminosas tropicales. La cantidad de nitrógeno fijado anualmente por los sistemas simbióticos (de unos pocos hasta 300 kg/ha) depende de la planta hospedera, del microorganismo simbiótico y de las condiciones ambientales. (Pedro O. Ruiz 2005).

Además existen microorganismos como hongos que también poseen la capacidad de formar simbiosis con las raíces de las plantas como es el caso de las *Micorrizas* penetran dentro de éstas utilizando sus hifas éstas forman estructuras dentro de la raíces, en esta simbiosis las *Micorrizas* le brindan los nutrientes necesarios que están presente en el suelo a las plantas, haciendo que éstos sean de más fácil absorción para el cultivo, y las plantas le brindan a las *Micorrizas* exudados de los cuales se alimenta.

Así mismo se cuenta con otro tipo de hongos que no forma simbiosis con la planta pero que se alimenta de otro tipo de microorganismo que se encuentran alrededor de las raíces de las plantas éstos son los denominados microorganismos benéficos o patógenos de plantas o cultivos que se encuentran en el suelo, éstos compiten entre sí por espacio, como es el caso de *Trichoderma*.

La interacción positiva entre las plantas y los microorganismos de la rizósfera pueden mejorar la nutrición de las plantas (aumentando la fijación de nitrógeno),

pueden aumentar la tolerancia de las plantas a limitaciones ambientales y controlar biológicamente a los patógenos, reduciendo la necesidad de fertilizantes y pesticidas. (Pedro O. Ruiz 2005).

1.1.2.1 Microorganismos Benéficos.

Como ya se lo mencionó anteriormente dentro de los clasificados como microorganismos benéficos tenemos a hongos, bacterias, etc. Los cuales ejercen control sobre otros patógenos o ayudan a la planta a alimentarse formando simbiosis con las raíces de éstas. Como es el caso de las bacterias fijadoras de nitrógeno las cuales forman simbiosis solo con raíces de leguminosas estas son *Rhizobium* y son importantes en la rotación de cultivos, precisamente por su capacidad de fijación de nitrógeno, dentro del grupo de los hongos tenemos a las *Micorrizas* las cuales también forman simbiosis con las raíces de las plantas, las *Micorrizas* debido a sus estructuras son capaces de tomar los nutrientes del suelo y transferirlos a la planta a través de sus raíces, haciéndolos absorbibles.

Dentro de los controladores naturales de enfermedades que se encuentran en el suelo encontramos a *Trichoderma*, el cual debido a sus grandes condiciones de crecimiento es capaz de colonizar el suelo, no permitiendo que un patógeno se aloje donde él se encuentra, además de alimentarse de él, envolviéndolo con sus hifas y degradando sus paredes celulares.

Además hay más microorganismos que ofrecen gran ayuda como son las *Pseudomonas* que también controlan ciertas enfermedades.

Unos de los microorganismos más beneficiosos son aquellos que tienen la propiedad de degradar sustancias fototóxicas. Una sustancia fototóxica es cualquier metabolito (primario o secundario) cuando se acumula en el suelo se hace tóxico. Las fitotoxinas en el suelo se originan de la liberación de compuestos sintetizados por las plantas o de la degradación (a través de la actividad microbiana de las enzimas de las plantas) de residuos de plantas.

1.1.2.2 Microorganismos Patógenos.

Los microorganismos fitopatógenos provocan enfermedades en las plantas cultivadas por el hombre, produciendo grandes pérdidas económicas y de rendimiento (Browning 1998). A la fecha, mucho se sabe acerca de la biología de los organismos fitopatógenos y de sus mecanismos de virulencia, lo cual ha permitido diseñar estrategias de prevención y control de patógenos y de las enfermedades que ellos producen (Hervás et al. 1997, Mundt 2000). Sin embargo, existen menos estudios acerca de patología vegetal en especies nativas, y en comunidades vegetales de ecosistemas conservados naturalmente (Myers et al. 2000, Vitousek et al. 1997).

Los patógenos que mayormente afectan a las plantas son hongos que están presentes en el suelo y que su principal acción está dirigida hacia las raíces, y afectan a muchos cultivos causando grandes pérdidas, por lo cual la necesidad de usar productos químicos por parte de productores se hace necesaria.

Entre algunos tipos de hongos que ejercen su efecto perjudicial a diferentes cultivos podemos mencionar a los siguientes:

Rhizoctonia solani, *Fusarium oxysporum* fs *dianthii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Colletotricum gloesporioides*, *Sclerotium rolfsii*, *Rosellinia bunodes*, *Phytophthora cinnamomi*, *Phytophthora Cactorum*.

Como microorganismo patógeno podemos mencionar a *Rhizectonia solani* que es causante de muchas enfermedades, además de grandes pérdidas para los productores, así como también *Fusarium oxiporum*, en especial a productores bananeros.

1.1.3 Modo de Acción de los Microorganismos Benéficos.

En el suelo existen diversos microorganismos que tienen capacidad de aumentar las sustancias nutritivas disponibles y producir compuestos que contribuyen a conservar la salud de las plantas es innegable. (Dora Trejo Aguilar 2005).

El óptimo crecimiento de las especies con valor agronómico depende en gran medida de la capa cultivable de los terrenos, que está constituida por agua en una cuarta parte, por aire en otra cuarta parte, y por materiales sólidos el resto; estos materiales sólidos son, en su mayor parte, partículas minerales, pero también hay materias orgánicas. Así, los aumentos en la producción agrícola se deben a innumerables procesos que tienen que ver con la actividad que lleva a cabo esa diminuta capa biológica, de apenas el uno por ciento, que es la responsable de la fertilidad de los suelos.

Entre ellos destaca la actividad que tienen los macro y microorganismos del suelo en la transformación, flujo y disponibilidad de los nutrimentos, donde las bacterias PGPR (plant growth promoting rhizobacteria, por sus siglas en inglés), o rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal, y los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) son fundamentales para hacer que crezcan más las plantas y que toleren mejor el ataque de diversos agentes patógenos.

Un efecto que a menudo ocurre cuando los hongos micorrizógenos arbusculares se asocian con un sistema de raíces es que mejora la respuesta de la planta cuando el agua que se infiltra en el suelo es escasa; además, favorecen su capacidad para captar más energía luminosa e incrementan su biomasa vegetal y agrícola. En este sentido, se ha comprobado que cuando hay poca humedad disponible para el crecimiento, los hongos alteran el metabolismo de una planta micorrizada (por lo general denominada

"planta hospedera") y aumentan su tolerancia a la sequía al elevar la concentración de proteínas en sus raíces. (*Dora Trejo Aguilar 2005*).

En el caso de las bacterias PGPR o *Rhizobacterias*, estos microorganismos como lo menciona Dora Trejo (2005) son capaces de producir sustancias fisiológicamente activas, como vitaminas, giberelinas, citoquininas y ácido indolacético en cantidades importantes, cuya acción conjunta estimula la germinación de las semillas, acelera el crecimiento y el desarrollo de las plantas, se incrementa el rendimiento de los cultivos.

Ciertos géneros bacterianos son de vida libre y fijan el nitrógeno que hay en la atmósfera en proporciones considerables. Si bien el caso más prominente de este tipo particular de simbiosis es el que ocurre entre las plantas leguminosas y el género *Rhizobium*, también destacan los *Azospirillum* en los pastos y los *Frankia* en diversas especies forestales.

Asimismo tenemos el caso de *Trichoderma* que no forma simbiosis con las plantas pero que está presente en el suelo en las cercanías de las raíces éste no produce daño a las plantas más bien ayuda a controlar a los hongos fitopatógenos que puedan atacar a las raíces a través de sus varios mecanismos de acción que poseen. Los cuales se los menciona a continuación:

❖ Micoparasitismo.

- ❖ Antibiosis.
- ❖ Competición por nutrientes y espacio.
- ❖ Tolerancia al estrés a través del refuerzo de las raíces y el desarrollo de la planta.
- ❖ Solubilización de nutrientes inorgánicos.
- ❖ Inducción de resistencia.
- ❖ Inactivación de las enzimas del patógeno.

Estos son varios de los mecanismos usados por los microorganismos benéficos para ayudar a los cultivos a desarrollarse dentro de sus condiciones agronómicas.

1.1.4 Microorganismos y su Interacción con las Plantas

En la naturaleza existe un número indeterminado de asociaciones entre poblaciones microbianas así como individuos, éstas son reguladas por factores del ambiente: físicos y químicos, en el suelo, en las raíces de las plantas, en los tallos y sus hojas las relaciones interespecies microbianas determinan cual es la comunidad dominante, las reprimidas o inhibidas e incluso aquellas que coexisten sin afectar positiva o negativamente otras poblaciones microbianas. La dinámica de las interacciones entre especies de microorganismos con las plantas es más compleja, así como en el suelo tienden al equilibrio e influyen en la productividad agrícola.

En el suelo, la rizósfera, el rizoplano, el tallo y las hojas es posible observar interacciones positivas cuando se colonizan por los microorganismos del tipo: simbiosis y protooperación. La protocoperación es una asociación benéfica que

involucra a dos especies, una que degrada un compuesto orgánico no aprovechable por la segunda, la actividad de degradación de la primera que genera productos asimilables para la segunda; ésta es común en el suelo después de la adición de abonos verdes o animales.

La existencia en el suelo de raíces vegetales que contiene especies bacterianas con necesidades nutricionales, limitados por la concentración de los carbonados e inorgánicos. Estos microorganismos son fundamentales en el desarrollo radical sano, liberados por una microbiota que crece al mineralizar residuos vegetales, cuando se incorporan abonos verdes y animales. Las interacciones microbianas positivas dependientes de factores de crecimiento son clave en raíces vegetales para la nutrición mineral de plantas sanas.

En las asociaciones simbióticas del tipo *Rhizobium-leguminosa* o raíces hongos en las micorrizas son fundamentales en la producción sustentable basada en una racionalización de fertilizante nitrogenado y fosforado que mantenga un rendimiento rentable sin contaminar acuíferos ni aumentar el costo de producción.

Asimismo en la interacción *Trichoderma* planta, según lo menciona Ing. Omar Páez (2006) produce sustancias estimuladoras del crecimiento y desarrollo de las plantas, además toma nutrientes de los hongos (a los cuales degrada) y de materiales orgánicos ayudando a su descomposición, por lo cual las incorporaciones de materia orgánica y compostaje lo favorecen; también requiere de humedad para poder

germinar, la velocidad de crecimiento de este organismo es bastante alta, por esto es capaz establecerse en el suelo y controlar enfermedades.

En la naturaleza existe una interacción continua entre los potenciales patógenos y sus antagonistas de forma tal que éstos últimos contribuyen a que no haya enfermedad en la mayoría de los casos; es decir, el control biológico funciona naturalmente. La observación de este hecho natural permite el aislamiento de un biocontrolador de un mismo ambiente donde prolifera el patógeno. (Emiliano Jesús Salvucci 2005).

1.1.5 Ecosistema Microbiano.

El componente microbiano del suelo es importante para la salud de los ecosistemas. Los procesos agrícolas, así como el manejo de los recursos vegetales inciden sobre este componente afectando tanto su biodiversidad como la densidad de las poblaciones microbianas implicadas; los resultados a mediano y largo plazo pueden ser la pérdida de fertilidad de los suelos y su progresiva pauperización. (V. Olalde Portugal, 1998). La sostenibilidad de un agroecosistema yace también en su menor dependencia de fertilizantes y pesticidas químicos. El empleo de cepas de microorganismos con un alto potencial de acción sobre el crecimiento y desarrollo de

las plantas y el estudio de la diversidad biológica de sus patógenos son factores clave en su control y, por tanto, en el manejo integral de cultivos.

Dentro de la agricultura éste ecosistema se lo denomina Agroecosistema que es el medio en el cual se desenvuelven los microorganismos benéficos y no benéficos que se desarrollan en el suelo, el manejo de los agroecosistemas conlleva un balance ecológico agroecológico en pro del beneficio del hombre.

La estabilidad ecológica inherente a los ecosistemas naturales y su autorregulación característica, se pierden cuando el hombre modifica las comunidades naturales a través de la ruptura del frágil tejido de interacciones a nivel de comunidades. De todas formas, esta ruptura puede ser reparada restituyendo los elementos reguladores perdidos en la comunidad. A través de la adición o el incremento de la biodiversidad que funcionan en los ecosistemas agrícolas. Una de las razones más importantes para restaurar y/o mantener la biodiversidad en la agricultura, es que presta una gran variedad de servicios ecológicos.

Este agroecosistema es lo que se debe de mantener en balance y esto conlleva a la participación de todos los componentes de este sistema ecológico así tenemos a todos los microorganismos y a las plantas mismas, en beneficio de una agricultura sustentable. Al mantener este Agroecosistema no tan sólo no se afectaría menos a la vida microbiana existente en el suelo, debido a que estos son descomponedores de materia orgánica, favoreciendo el desarrollo de los cultivos ya sea por medio de

simbiosis o de protección de patógenos, esto evitaría el uso excesivo de fertilizantes, fungicidas o herbicidas.

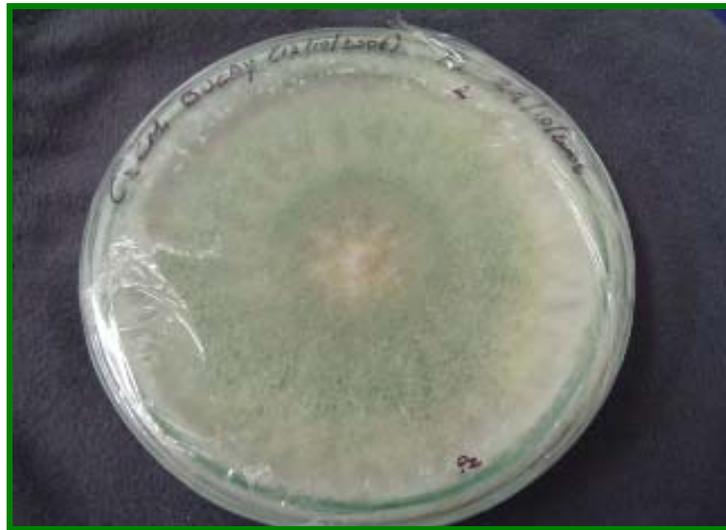
1.2 Características de *Trichoderma*

Las cepas fúngicas del género *Trichoderma* se encuentran ampliamente distribuidas, prácticamente en todos los climas del mundo, contando con capacidades de crecimiento en diferentes substratos; restos vegetativos y madera degradada, asimismo, se localiza con mayor frecuencia en la tierra. Del resultado de su metabolismo se obtiene un complejo de diferentes enzimas hidrolíticas de gran importancia para la industria, al igual que estimulan el crecimiento de las plantas y sus mecanismos de defensa, produciendo antibióticos, por lo cual tienen un gran valor agrícola al ejercer el biocontrol de hongos fitopatógenos. (Cabrera, F.H.A. 2000).

Trichoderma es un género del reino Fungi descrito en 1794 e incluye hongos anamórficos aislados principalmente del suelo y de la materia orgánica en descomposición (Persoon 1794). Las cepas aisladas comprenden un amplio espectro de adaptaciones evolutivas que van desde colonizadores terrestres con un alto potencial de biodegradación hasta simbiontes no estrictos de plantas, que colonizan la rizósfera, incluyendo agentes de control biológico. Por ello, se han reconocido muchos grupos intraespecíficos, ampliando los límites de este género.

Figura No. 1.1

Cepas de Trichoderma



Fuente: PMBA Espol

El género *Trichoderma* está en el ambiente y especialmente en el suelo. Se ha utilizado en aplicaciones comerciales para la producción de enzimas y para la regulación de los fitopatógenos que enferman las plantas. Se encuentra en suelos abundantes en materia orgánica y por su relación con ella está clasificado en el grupo de hongos hipógeos, lignolícolas y depredadores. Es anaeróbico y pueden estar en los suelos con pH neutro hasta ácido.

La alta presencia de humedad y el riego mejora las condiciones de vida de muchos microorganismos entre ellos *Trichoderma*, pasando de un estado latente a uno activo y desarrollándose óptimamente hasta en un 60 % de plena capacidad del suelo de

retención de humedad. A porcentajes mayores de saturación se disminuye la colonización y sobrevivencia por la baja disponibilidad de oxígeno. Es favorecido por condiciones de pH ácido donde su población se incrementa por una mayor formación de conidioforos, por la germinación de conidias y por menor competencia con microorganismos como actinomicetos y bacterias que se encuentran limitados por la acidez. En suelos con temperatura que oscilan entre los 10 ° y 15° C y baja disponibilidad de nutrientes esenciales no crece y se afecta la actividad benéfica. (Marco Aurelio Villegas Arenas 2005).

1.2.1 Generalidades de Trichoderma.

Trichoderma, es un hongo saprofito, antagonista de patógenos vegetales que se encuentra presente en la mayoría de los suelos. Activa el crecimiento radicular de las plantas, es capaz de colonizar y crecer en las raíces a medida que éstas se desarrollan y aumenta la resistencia del cultivo frente al ataque de posibles patógenos. Es un tipo de hongo anaerobio facultativo que se encuentra de manera natural en un número importante de suelos agrícolas y otros tipos de medios. Pertenece a la subdivisión Deuteromicete que se caracterizan por no poseer, o no presentar un estado sexual determinado.

Es un hongo antagonista, que actúa como organismo benéfico impidiendo el desarrollo de hongos o nemátodos causantes de enfermedades en las plantas. Este hongo anaerobio se encuentra naturalmente en el suelo y se caracteriza por no tener un estado sexual determinado. Generalmente se ubica en sitios que contienen materia orgánica o desechos vegetales en descomposición, como residuos de cultivos, especialmente en aquellos que son atacados por hongos fitopatógenos. Su importancia radica principalmente en que ataca, parasita y desplaza otros hongos que producen enfermedades en las plantas. Por otro lado su acción como biofungicida se ve complementada por su acción estimulante en el crecimiento de raíces lo que induce en la planta mayor resistencia a los ataques de plagas y enfermedades (Arias, 2004).

Trichoderma tiene diversas ventajas como agente de control biológico, pues posee un rápido crecimiento y desarrollo, a parte de esto produce una gran cantidad de enzimas, inducibles con la presencia de hongos fitopatógenos. Puede desarrollarse en una amplia gama de sustratos, lo cual facilita su producción masiva para uso en la agricultura. Su gran tolerancia a condiciones ambientales extremas y a hábitats donde los hongos causan enfermedad le permiten ser eficiente agente de control, de igual forma puede sobrevivir en medios con contenidos significativos de pesticidas y otros químicos (Trosmano 1989, citado por Trosmano y Hjeljord, 1998). Además su gran variabilidad se constituye en un reservorio de posibilidades de control biológico bajo diferentes sistemas de producción y cultivos.

1.2.1.1 Biología de Trichoderma.

Este género agrupa a 33 especies, este hongo se identifica como una capa de color verde habitualmente natural en el suelo, vista al microscopio parece un árbol que genera esporas o conidias asexuales, las cuales son similares a semillas, que aseguran la supervivencia del hongo en la próxima generación, y la apariencia de mota de coloración verde son ramificaciones del cuerpo del hongo llamado micelio compuesto por hifas. *Trichoderma* produce en el micelio, unos ensanchamientos, que luego toman una forma globosa u ovoide llamadas clamidosporas, las cuales son bastantes tolerantes a condiciones ambientales adversas y son consideradas estructuras de supervivencia, ya que pueden perdurar a través del tiempo.

Especies de *Trichoderma*, ampliamente difundidas en la comunidad microbiana de los suelos y con marcadas propiedades antagonistas, poseen representantes caracterizados por su alta producción de sustancias gaseosas. Según Dennis y Webster lo que permite diferenciar a estas últimas, es un pronunciado aroma a coco que se desprende del cultivo.

Trichoderma toma nutrientes de los hongos (a los cuales degrada) y de materiales orgánicos ayudando a su descomposición, por lo cual las incorporaciones de materia orgánica y compostaje lo favorecen; también requiere de humedad para poder

germinar, la velocidad de crecimiento de este organismo es bastante alta, por esto es capaz establecerse en el suelo y controlar enfermedades.

Las conidias son el principal componente viable de la masa de los *Trichoderma*, por lo que cualquier producto en base a este organismo debe contener la mayor proporción de estas en su formulación. Existen muchos mecanismos para secar las conidias de *T.harzianum*, siendo el secado spray el que mejores resultados ha dado para mantener las condiciones de viabilidad (cerca al 100%), esterilidad y características físicas del producto, necesarias para su comercialización (Awad, 1993). Lamentablemente, éste sistema presenta un costo muy elevado, por lo que su uso no resulta beneficioso ni atractivo en este momento.

1.2.2 Importancia de Trichoderma en la Agricultura.

Dentro de la agricultura *Trichoderma* probablemente sea el hongo beneficioso, más versátil y polifacético que abunda en los suelos. No se conoce que dicho microorganismo sea patógeno de ninguna planta; sin embargo, es capaz de parasitar, controlar y destruir muchos hongos, nemátodos y otros fitopatógenos, que atacan y destruyen muchos cultivos; debido a ello, muchos investigadores le llaman el hongo *hiperparásito*. Ello convierte a *Trichoderma* en un microorganismo de imprescindible presencia en los suelos y cultivos, y de un incalculable valor agrícola.

De esta manera el uso de este hongo fitopatógeno, conlleva a lo que denominamos Control Biológico, en el cual éste ejerce un control efectivo no tan solo a nivel de cultivo ya establecido sino a nivel de protección de semilla, ya que además de controlar patógenos puede estimular el crecimiento de las plantas. Además no tan sólo se encuentra con una sola cepa de *Trichoderma* que actúe contra patógenos sino que se cuenta con varias cepas como lo menciona E. Monte (2003), *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride* y *Trichoderma virens*.

La aplicación del *Trichoderma*, directa al suelo ofrece incluso una protección mayor a los cultivos. Cuando *Trichoderma* es utilizado para el control de hongos del suelo, pueden mezclarse con materia orgánica (estiércol, casting y biotierra) y otras enmiendas utilizadas como biofertilizantes, tal como se hace con inoculantes bacterianos usados como fertilizantes ecológicos.

De ahí la importancia de este hongo dentro de la agricultura denominada orgánica por sus grandes condiciones de fitosanitario, ya que no tan solo combate a fitopatógenos, sino que puede actuar como estimulador de crecimiento o manteniendo en alerta el sistema de defensa de la planta con todos estos atributos *Trichoderma* es una herramienta fundamental dentro de un buen control Biológico.

1.2.3 Modo de Acción de Trichoderma.

A parte de su facilidad para colonizar las raíces de las plantas, *Trichoderma* ha desarrollado mecanismos para atacar y parasitar a otros hongos y así, aprovechar una fuente nutricional adicional. Harman 2001 reporta varios mecanismos demostrados recientemente, con los cuales *Trichoderma* actúa como biocontrolador y como colonizador de las raíces, como son:

1. Micoparasitismo.
2. Antibiosis.
3. Competición por nutrientes y espacio.
4. Desactivación de las enzimas de los patógenos.
5. Tolerancia al estrés por parte de la planta, al ayudar al desarrollo del sistema radicular.
6. Solubilización y absorción de nutrientes inorgánicos.
7. Resistencia inducida.

De éstos, los primeros cuatro mecanismos mencionados tienen acción hongo fitopatógeno, los otros son indirectos, ya que su acción es licitar o impulsar mecanismos de defensa fisiológicos y bioquímicos de la planta.

1.2.3.1 Micoparasitismo.

El micoparasitismo es el fenómeno por el cual un hongo coloniza a otro, cubriendo una gran cantidad de eventos en este tipo de interacción.

En el micoparasitismo son varias las enzimas producidas por *Trichoderma harzianum* capaces de hidrolizar las paredes celulares de numerosos hongos. Estas enzimas incluyen endoquitinasas, proteasas, exoglucan-b-1,3 glucosidasas, endoglucan-b-1,6 glucosidasas, etc. (Lorito, 1998). Estas enzimas son inducidas por los diferentes polímeros componentes de la pared de distintas estructuras de los hongos diana u objetivo.

Este proceso puede ser dividido en cuatro sucesos principales:

Crecimiento quimiotrófico:

Donde exudados del patógeno atraen a *Trichoderma*.

Reconocimiento:

Algunos aislamientos de *Trichoderma*. Son específicos a algunos fitopatógenos, y es en ésta etapa donde el fenómeno de especificidad de ataque se define. Esta etapa es mediada por lecitinas.

Adhesión:

Una vez *Trichoderma* ha reconocido al patógeno lo envuelve y se adhiere a las hifas cubriéndolo totalmente.

1.2.3.2. Competencia:

Esta ocurre cuando dos o más organismos demandan de un mismo recurso vital. La competencia ocurre entre agentes de control biológico y fitopatógeno puede resultar en control biológico por aniquilación de la población perjudicial, y puede darse a favor de *Trichoderma*; debido a su alta frecuencia de crecimiento y desarrollo.

1.2.3.3. Antibiosis:

Esta ocurre cuando hay producción de metabolitos tóxicos o antibióticos de un organismo con acción directa sobre otro. Muchos microorganismos tienen la capacidad de producir antibióticos en cultivos puros, lo cual es la más fuerte evidencia de la posible acción de este tipo de compuestos como mecanismo de ataque de *Trichoderma* bajo condiciones de campo. No obstante para este hongo en particular la producción de metabolitos está fuertemente ligada a la producción de enzimas propias del proceso de micoparasitismo Tronsmo y Hhjeljord, 1998).

1.2.4 Inducción del Sistema de Defensa de las Plantas por Trichoderma.

Este Hongo posee la habilidad es capaz de mantener activo el sistema de defensa de las plantas, debido a que este hongo tiene esa particularidad de emitir segregados enzimáticos las cuales son resectados por las raíces de las plantas y estas a su vez hacen que se active el sistema de defensa por medio de SAR sistema de defensa adquirida.

Esto es un proceso complejo de defensa que posee la planta en el cual está involucrado el ácido jasmónico (JA), el cual produce una cascada de proteínas, que están incluidas con las sustancias antifúngicas, como quitinasas, glucanasas, y Thaumatinas, y enzimas oxidantes tales como, peroxidadas, polifenol oxidadas y lipoxigenasas.

La activación de estas moléculas en *Trichoderma* que son responsables no se las conoce, pero se conoce de la relación que existe entre los procesos que resultan de la acumulación de PR proteínas o fitoalexinas como el SAR. (Gary E.Harman 2004)

La relación raíz hongo, estimulan el mecanismo de defensa de las plantas, cepas de *Trichoderma* que son adheridas a la rizospora protegen a la planta ante numerosos clases de patógenos, estos producen una infección arterial, inclusive viral, bacterial y hongos patógenos, que puntos de inducción de los mecanismos de resistencia similar a la respuesta Hiper-sensitiva (HR), sistema de defensa adquirida (SAR), e induce al sistema de resistencia en plantas. A un nivel molecular, los resultados de resistencia producen un incremento en la concentración de metabolitos y enzimas relacionadas a

los mecanismos de defensa tal como son las enzimas phenyl-alanine ammonio-lyase (PAL) y chalcone synthase (CHS), involucradas en la biosíntesis de fitoalexinas (responsable HR), quitinasas y glucanasas. Este es el compromiso entre Patogénesis-Proteínas (PR) (SAR responsable), y enzimas involucradas en la respuesta al estrés oxidativo. (Tahía Benítez 2004).

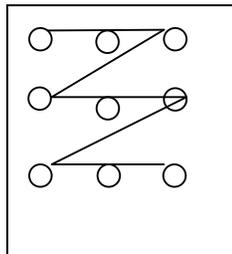
1.2.5 Aislamiento de Trichoderma del suelo.

Como ya se ha mencionado anteriormente el género *Trichoderma* se encuentra ampliamente distribuido en los suelos agrícolas, y también con presencia en maderas en decadencia, por lo cual el aislamiento de este a partir del suelo conlleva una labor tanto de campo como de laboratorio para poder obtener una cepa pura.

En la labor de campo las muestras se tomarán en una profundidad de 10 cm de profundidad y se procederá a tomar varias muestras de un lote en zig-zag.

Figura No. 1.2

Forma de tomar la muestra en zig-zag



Elaborado por: *Los Autores*

Para el aislamiento de *Trichoderma* a partir de las muestras del suelo, se procederá a la aplicación de un protocolo establecido para este aislamiento a partir de suelo, realizando cajas madres conjuntamente con medio T, las condiciones de laboratorio que se deben de tener en cuanto a la asepsia son muy necesarias.

La purificación se la realizará una vez que se vean pequeñas colonias en las cajas las cuales se las denominará cajas hijas, que son cajas con medio T a las cuales se les colocará pequeños discos extraídos de la caja madre. Estas cajas hijas tendrán que pasar en incubación a 28°C por 5 días, después de este tiempo serán sacadas de incubación y dejadas a temperatura ambiente por dos días más.

Dentro de un control biológico es de importancia sacar cepas nativas, es decir, del mismo lugar donde se va a desarrollar el cultivo por que esto nos garantizaría que las cepas van a actuar muy bien debido a que son cepas locales extraídas del mismo sitio por lo cual la cepa no tiene que pasar por un periodo de adaptación.

1.2.6. Identificación Morfológica de Trichoderma.

Las cepas del hongo que se obtengan serán sometidas a una identificación a través de sus estructuras tales como hifas, esporas, philiades, clamidosporas, que son típicas de *Trichoderma*, estas podrán ser visualizadas con la ayuda del microscopio electrónico, la toma de la muestra para ser observada se la realiza dentro de la

cámara de flujo laminar, se toma una pequeña muestra con la ayuda de un asa de platino y esta es colocada en una placa porta objetos, en la cual previamente se le ha colocado una gota de agua; esto es para diluir la muestra dentro de la gota, una vez obtenido esto, a la placa se le coloca dos gotas de azul de metileno, que es el que tiñe a la muestra para que las estructuras del hongo puedan ser visualizadas al microscopio, para esto utilizamos los lentes de 40 μ a 100 μ con lo cual vamos a poder observar mucho mejor dichas estructuras.

Las estructuras típicas de *Trichoderma* son la philiades, que son como pequeños dedos que en su parte central son más anchos, y son las que les dan resistencia cuando se encuentran ante condiciones adversas, ya que son las estructuras de reserva del microorganismo.

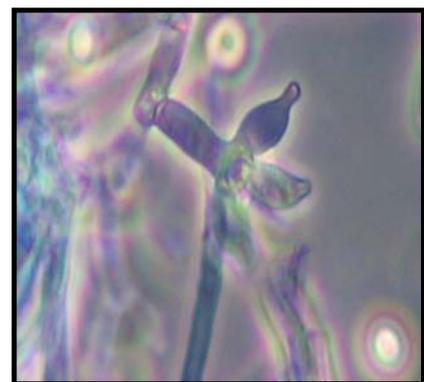
Figura No. 1.3

Figura No. 1.4

Estructuras Philiades



Fuente: PMBA ESPOL

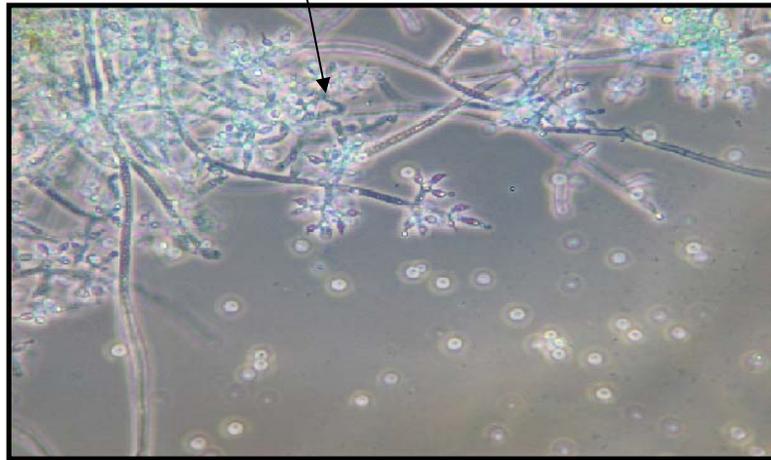


Fuente: PMBA ESPOL

Las hifas son las estructuras de propagación del hongo a través de estas logran colonizar el medio donde se encuentran, sea este en campo o a nivel de laboratorio, por lo general son de color blanco y de forma algodonosa.

Figura No. 1.5

Hifas

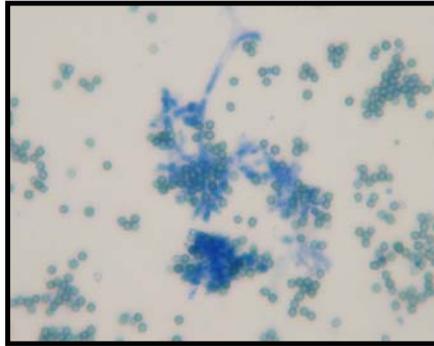


Fuente: PMBA ESPOL

Las esporas son las estructuras de diseminación del hongo, estas pueden ser llevadas por el viento y se desarrollan en donde encuentren lugar apropiado para el efecto, que por lo general siempre se da y por su gran capacidad de adaptabilidad terminan colonizando otros sitios, dentro del laboratorio; esto se debe de manejar con mucho cuidado ya que las esporas pueden contaminar otros lugares dentro del mismo laboratorio.

Figura No. 1.6

Esporas



Fuente: PMBA ESPOL

Las clamidosporas, son estructuras de reserva que solo se presentan en ciertas cepas de *Trichoderma* como es el caso de *harzianum* que cuyas cepas cuentan con este tipo de estructuras, mientras que hay otras que no la poseen, esto no quiere decir que este tipo de cepas no ejerzan su efecto antagonista.

Figura No. 1.7

Clamidosporos



Fuente: PMBA ESPOL

1.2.7. Propagación de Trichoderma en Sustratos.

La propagación del hongo en sustratos se la realiza con el fin de mantener las cepas del hongo activas para que puedan ser procesadas dentro de un producto agrícola, estas una vez purificadas en cajas petri en medio PDA (Papa Dextrosa Agar), son colocadas dentro de sustratos como; arroz o arrocillo, aunque puede ser una mezcla de ambas, esta es colocada en frascos y este medio es esterilizado en el autoclave para garantizar que no haya presencia de ningún otro microorganismo dentro de este sustrato, una vez enfriado cada frasco una porción de cada cepa es pasada a estos, y colocados a incubación a $28^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, por tres días , tiempo en el cual el hongo comienza a colonizar el medio donde se encuentra. Aquí dentro de este sustrato puede durar más de un mes activa y si no es usada antes de ese tiempo se la puede volver a asilar en cajas petri con medio PDA y volver a realizar el proceso.

CAPÍTULO II

ESTRUCTURA Y ESTUDIO DE MERCADO

❖ Objetivo General

Determinar la factibilidad técnica y económica del proyecto en la elaboración de bioproductos con microorganismos para el control de enfermedades de las plantas y el óptimo funcionamiento del mismo.

2.1 Filosofía Corporativa

2.1.1 Misión

“Favorecer la protección de la producción del sector agrícola ofreciendo soluciones efectivas para el respectivo cuidado y control de los cultivos, sin perjudicar al medio ambiente y proporcionando bioproductos de alta calidad.”

2.1.2 Visión

“AGROS S.A., tiene como visión lograr un alto reconocimiento a nivel nacional por la calidad de nuestro producto y de esta manera satisfacer las exigencias de nuestro mercado meta, gracias a la eficacia que poseemos en la producción de bioproductos con microorganismos para el control de enfermedades y plagas en diferentes cultivos, empezando con nuestra línea de productos MGM que son a base de *Trichoderma Harzianum*”.

2.1.3 Objetivos Específicos

- ❖ Producir un inóculo a base de *Trichoderma*.

- ❖ Reactivar la vida microbiana de los suelos agrícolas.

- ❖ Promover el uso de microorganismos para control de enfermedades.

- ❖ Lograr una producción mucho más sana.

2.2 Producto

2.2.1 Definición del Producto

El producto consistirá de una concentración de esporas de 6×10^{-6} por gramo de sustrato, lo cual le conferirá una buena cobertura y eficiencia al momento de la aplicación, será presentado en paquetes de 1 kilogramo cada uno; los cuales tendrán en su parte posterior las recomendaciones de uso del producto, para que tipo de cultivo se lo puede emplear y las diferentes etapas en las que puede ser aplicado.

Este producto se lo reactivará según las especificaciones haciendo una suspensión acuosa del producto, para luego ser aplicado a los diferentes cultivos; el hongo una vez activado puede comenzar a colonizar el suelo, además puede ser aplicado a nivel foliar, es decir, puede ejercer control en la parte foliar de las plantas.

Se deberán utilizar las mismas precauciones como las que se da a los químicos normales, es decir, se deberá usar guantes y ropa adecuada, además de una bomba exclusiva para el producto, también el aplicante deberá usar mascarilla al momento de la aplicación. La etiqueta del producto la presentamos en el *Anexo No. 2.3*.

2.2.2 Problemas que genera la Idea del negocio

El principal problema en el establecimiento del negocio sería la resistencia que algunos productores tendrían acerca del uso de microorganismos con relación a los químicos, pero con las modificaciones que el mercado internacional está realizando, adquiriendo productos más sanos, obligaría al uso de producto a base de microorganismos para el control de las enfermedades de sus cultivos.

2.3 Análisis de la Demanda de Bioproductos.

2.3.1 Base de Decisión de Compra de los Clientes.

- ❖ No requiere equipamiento especial para su aplicación.
- ❖ Eliminan la necesidad de tratar con fungicidas químicos.
- ❖ Reduce los costos y el uso de fertilizantes, ya que las plantas tienen más raíces y los utilizan mejor.

2.3.2 Estimación de la Demanda.

La demanda de la producción de *Trichoderma harzianum* estará enfocada en satisfacer la necesidad de los productores que estén interesados en que sus cultivos estén protegidos contra enfermedades y plagas de manera sana y que sus cosechas

brinden productos más saludables, aptos para el consumo humano; logrando que el consumidor final opte por un producto más saludable.

Según nuestras lecturas investigativas las normas internacionales están exigiendo productos orgánicos en las exportaciones; por lo que los productores están decidiendo utilizar este tipo de controles en sus plantaciones. Adicionalmente la sociedad de consumo está más preocupada en su salud y por ello ha aumentado la demanda del consumo de productos orgánicos.

2.4 Análisis de la Oferta.

2.4.1 Clientes Potenciales.

Productores que tengan sus fincas orgánicas o que estén en transición con compañías de certificación, los cuales deberán cumplir con las especificaciones que le exigen estas compañías con el uso de los productos en campo.

2.4.2 Producción mundial de Bioproductos.

A nivel internacional podemos encontrar una variedad de empresas que se dedican a la producción y comercialización de estos productos usando hongos y bacterias tales como el *Azotobacter vinelandii*, el *Trichoderma*, etc.; una de estas empresas es IAB, S.L. (Investigaciones y Aplicaciones Biotecnológicas, S.L.) que se encuentra en

Valencia, España que es pionera en la introducción del concepto de Control Biológico de Plagas y Enfermedades. Sus productos son muy bien aceptados debido a que son altamente respetuosos con el medio ambiente, cumpliendo las características de biopesticidas, tanto a nivel de fabricación, como a nivel de estándares de calidad regidos por la Unión Europea. También CANNA ESPAÑA es reconocida en el mundo entero como líder en tecnología inteligente para plantas; y los productos de la misma se encuentran a disposición en toda Europa, Australia, Norte América, Oriente Medio y África.

FIGURA 2.1

Productos de IAB



Fuente:www.iabiotec.com

En Latinoamérica, se destaca ORIUS BIOTECNOLOGIA la encontramos en Colombia y se dedica a la investigación, el desarrollo, la producción, el mercadeo y la comercialización de soluciones con biotecnología para la implementación de propuestas sostenibles en la producción agropecuaria; la misma que es reconocida en este sector como organización líder en Colombia Latinoamérica. Uno de sus productos es *TRICHOD*, que es un Agente Biológico que actúa en el suelo como Biofungicida preventivo, Bio-Regulador y Antagonista de los fitopatógenos que enferman los cultivos agrícolas: *Rhizoctonia solani*, *Sarocladium sp*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium rosseum*, *Rosellinia bunodes*, *Botrytis cinerea*, *Ceratocystis fimbriata*, para lograr un suelo sano y un cultivo con menos enfermedades; es formulado con esporas en latencia del hongo *Trichoderma harzianum*.

FIGURA 2.2

Productos de Orius



Fuente: www.oriusbiotecnologia.com

En Venezuela resalta AGROBICA C.A es una empresa privada dedicada a la elaboración, distribución y venta de productos biológicos para combatir la gran mayoría de plagas y enfermedades que afectan a la totalidad de las plantas, y simplemente consiste en la utilización de organismos vivos (benéficos) para limitar las poblaciones de otros (dañinos). Esta empresa ha desarrollado un Fungicida Biológico, *TRICOBIOOL*, producto empleado para controlar hongos fitopatógenos del suelo, asociados con enfermedades como marchitamiento, pudrición de la raíz y/o el cuello de la planta; este producto protege a los cultivos contra *Pythium*, *Fusarium*, *Sclerotium*, *Sclerotinia*, *Alternaria*, [Rhizoctonia](#), *Phytophthora*, *Botrytis*, [Dothiorella](#) y otros hongos patógenos.

FIGURA 2.3

Etiqueta del Producto de Agrobica



Fuente: www.agrobica.com.ve

2.4.3 Análisis de la Competencia.

En cuanto al uso de microorganismos benéficos en el Ecuador no existe ninguna empresa que se dedique a la producción de *Trichoderma Harzianum*; aunque existe

distribuidor autorizado “*NATURALITE*”, que se dedica a la venta de bio-fertilizantes orgánicos de las variedades de Trichoderma, los cuales son importados de *CUSTOMBIO* (*Custom Biologicals Inc.*), que se encuentra en Boca Ratón, Florida. El producto es *Custom GP*, que es un producto natural, biológico, diseñado para bioaumentar y biorecuperar suelos agrícolas, que ayuda a degradar la materia orgánica como paja, hojas, fango, cáscaras, frutos, flores y vegetales, que permanecen en el sitio del cultivo después de la cosecha.

FIGURA 2.4

Productos de Custombio



Fuente: www.custombio.com

En la Región de la Sierra hay universidades como la ESPOCH que brindan este servicio con la cooperación de pequeños agricultores en el uso de microorganismos benéficos como controladores biológicos dentro de sus chacras o pequeñas parcelas, además poseen ya productos comerciales a base de microorganismos.

También tenemos como competidores a ECUAQUÌMICA y AGRIPAC, que son empresas líderes en la importación, distribución y venta directa de insumos para la agroindustria, las cuales tienen una gran variedad de productos químicos y orgánicos dentro de estos últimos proveen a la comunidad agrícola una amplia línea de insumos que sirvan para la práctica de la agricultura biológica y agroecológica; pero estos no son realizados a base de microorganismos, por lo que no serían competidores directos para nuestro producto.

2.5 Análisis PORTER

La idea de este enfoque es evaluar los objetivos y recursos de la competencia frente a los nuestros, teniendo en consideración consumidores y proveedores. Las 5 fuerzas de Porter influirán y nos permitirán elaborar estrategias competitivas para nuestra empresa.

❖ *Amenaza de entrada de nuevos competidores.*

Nuestra amenaza sería que nuevos participantes empiecen su producción de bioproductos a base de microorganismos diferentes a *Trichoderma*; aunque dicha amenaza no afectaría a la empresa; ya que nuestra línea de productos MGM controlaría las enfermedades y plagas a una serie de cultivos, y con la posibilidad de

que sean cepas nativas de la zona o sector. Además brindaremos a nuestros clientes visitas técnicas continuas para verificar que se aplique y mezcle la dosis del producto correctamente.

❖ ***Rivalidad entre los competidores.***

Nuestros más grandes competidores Ecuquímica y Agripac fabricantes de productos químicos y orgánicos sellos verde mas no productos a base de microorganismos realizarán estrategias agresivas tales como: la elaboración de una nueva línea de productos con microorganismos, reducción de precios, con el fin de no disminuir su participación en el mercado y reducir el costo de producción de los agricultores; para ese tiempo ya tendremos satisfecha la demanda al punto de mantener la lealtad de nuestros clientes potenciales.

❖ ***Poder de negociación de los proveedores***

Los proveedores son los que nos brindan los reactivos y materiales necesarios para los trabajos de laboratorio, los cuales nos venden con facilidades de pago a fechas posterior de la entrega de los productos que se soliciten, para lo cual se tendrá que proceder a través de cotizaciones escogiendo la que mejor convenga a la empresa y dependiendo del presupuesto con el que se cuente.

❖ *Poder de negociación de los compradores*

Para nuestro proyecto los consumidores tienen un papel importante ya que ellos tendrán en consideración factores atractivos como: una nueva opción, mayor calidad y servicio, además de la posibilidad de reducir considerablemente sus costos de producción; ya que controlarán sus cultivos con un producto más sano.

❖ *Amenaza de ingreso de productos sustitutos*

Esta amenaza se puede considerar con los productos químicos que existen, ya que mantienen un elevado costo de producción y nuestro producto es de igual característica y de bajo costo; ya que otro producto de iguales características no se podría conseguir, más aún si estos potenciales productores fabrican productos orgánicos o sus respectivas fincas estén en transición para obtener su respectivo certificado.

2.6 Análisis FODA.

El análisis FODA es una herramienta que permite analizar la situación de la empresa u organización, permitiendo de esta manera obtener un diagnóstico preciso que permita en función de ello tomar decisiones acordes con los objetivos y políticas

formulados. Las variables a analizar son: fortalezas y debilidades, que son internas de la organización, por lo que es posible actuar directamente sobre ellas; también se analizan las oportunidades y amenazas que son externas, por lo que en general resulta muy difícil poder modificarlas.

Fortalezas

- ❖ Fomentar el conocimiento y uso de microorganismos como controladores biológicos.
- ❖ Mano de obra calificada.
- ❖ Producción constante que garantice el producto en cualquier época del año.
- ❖ Reproducción y crecimiento del inóculo en óptimas condiciones, lo cual permite la venta y recuperación de capital a mediano plazo.
- ❖ Bajos costos financieros y administrativos.

Oportunidades

- ❖ Necesidad de conocimiento de Bio-control.
- ❖ Reconocimiento en el mercado local y un nivel alto de aceptación, por ser un producto de alta calidad.
- ❖ Existencia de canales de distribución.
- ❖ No existe otra empresa que se dedique a la fabricación de bioproductos con microorganismos.
- ❖ Ayudar a reactivar la vida microbiana de los suelos.

Debilidades

- ❖ Contaminación de las cepas aisladas por otro microorganismo.
- ❖ Escasa difusión acerca de Trichogreen como biocontrolador.
- ❖ Aplicación de protocolos (*proceso*) no adecuados.

Amenazas

- ❖ Negación de productores al uso de microorganismos como biocontroladores.
- ❖ Aparición de productos sustitutos, que no sean cepas nativas.
- ❖ Competidores que hacen productos químicos, que se dediquen a la fabricación de productos orgánicos con microorganismos.
- ❖ Falta de credibilidad en productos orgánicos.
- ❖ Desconocimiento de los mecanismos de acción de Trichoderma.

2.7 Análisis de los Precios.

2.7.1 Determinación del Precio.

El precio fue determinado en base a las condiciones y los costos de los reactivos que se usan en los protocolos para la obtención de las cepas nativas, las pruebas de eficiencia de cada una de las cepas obtenidas; incluyendo en este precio final el costo

de la mano de obra del personal en este proceso y gastos de servicios básicos, el cual es de \$ 15 por kilo, lo que rinde para una hectárea de cultivo.

2.8 Comercialización del Producto.

Existen distintas maneras de comercialización, como las ventas públicas, entregas en consignación a agrupaciones para su venta, envíos directos a productores o intermediarios, distribuidores autorizados, etc.

❖ Canales de Distribución.

Nuestro producto será comercializado a través de los siguientes canales:

- ❖ Productores – usuarios industriales:** este es el canal más usual para los productos de uso industrial ya que es más corto y el más directo; en el que utilizaremos nuestros respectivos asesores comerciales.

- ❖ Productores – distribuidores industriales – consumidores industriales:** en este caso contamos con cuatro distribuidores autorizados localizados en los cantones donde realizamos nuestro estudio (Balao, Milagro, Naranjito y la Península), ellos serán parte de nuestra fuerza de ventas.

También nuestros clientes podrán adquirir y negociar nuestra línea de productos por vía electrónica; cada uno de ellos tiene varios factores que se deben considerar: la producción, la distancia, los diferentes gastos que origina cada opción, las formas y tiempos de pago.

Los plazos de pago deben ser razonables, la información sobre la existencia y requerimientos de nuestros demandantes, la comunicación con nuestros diferentes distribuidores, son asuntos necesarios e indispensables para el desarrollo y crecimiento de nuestra empresa.

2.9 Promoción y Comunicación.

El producto será promocionado a través de visitas a diferentes fincas en donde se realizarán pruebas de eficiencia dentro de las mismas, su difusión será de la siguiente manera:

- ❖ **Trípticos – Phamplet:** Elaboración de un phamplet de presentación de la empresa, en donde se incluye la visión, la misión y los productos que ofrecerá el mismo; y trípticos indicando información de la empresa.
- ❖ **Folletos:** Elaboración de folletos para realzar la imagen de la actividad que desarrollaremos y contar la historia de manera profesional.

- ❖ **Carteles:** Que serán ubicados en las carreteras que se encuentran cercanas a la zona agrícola.
- ❖ **Ferias Agrícolas:** Nuestro producto será puesto en exhibición en las diferentes exposiciones agrícolas que se realicen en la provincia del Guayas.

Otra vía de promoción de nuestro producto será a través de la prensa escrita la cual nos manejaremos así:

- ❖ **Cuñas publicitarias por radio y prensa escrita:** Proyectaremos cuñas que faciliten la información de AGROS S.A., decidimos trabajar con este medio ya que su nivel de difusión es alto. Por medio de la prensa escrita se proporcionará la información necesaria sobre el producto que se brinda junto con las características y beneficios del mismo; también se publicarán en revistas que traten temas agrícolas, así como la publicación de artículos, lanzamientos, promociones y diversos eventos de la empresa en los distintos diarios.

Adicionalmente realizaremos Campañas de Concientización, tanto para los productores como para el consumidor final, con el fin de persuadirlos en la adquisición de productos orgánicos, demostrando que sus cultivos fueron controlados con insumos orgánicos y son más saludables que los productos controlados con insumos químicos.

Nuestro slogan es..... ***“TRICHOGREEN ES LA SOLUCIÓN EFECTIVAMENTE ORGÁNICA PARA UN CULTIVO SIN PLAGAS Y UNA COSECHA SANA.”***

2.10 Investigación de Mercados

2.10.1 Planteamiento del Problema

En el Ecuador, el sector de la agricultura por varios años ha continuado con el uso de químicos lo que ocasiona el deterioro del suelo, por lo que se hace necesario el aprovechamiento de los recursos naturales que tenemos o nuestra disposición como es el caso de hongos benéficos los cuales han demostrado su efectividad en varios cultivos especialmente en enfermedades de la raíz, como *Rhizoctonia solani*, *Botritis*, *Verticillium*, *Phytophthora*, entre las más importantes, por eso surge la necesidad de lograr un aprovechamiento más racional de los recursos naturales disponibles.

Nuestra investigación pretende obtener información de que tan dispuestos los productores en proteger sus cultivos de enfermedades y plagas e invertir en productos hechos a base a microorganismos. Adicionalmente, tenemos el objetivo de analizar variables como:

- ❖ **Conocimiento:** Que tipo de controles utilizan los productores y que información tienen sobre los bioproductos.
- ❖ **Inversión:** Si están interesados en la adquisición y precio de nuestro producto.
- ❖ **Preferencia:** En utilizar controles químicos o a base de microorganismos.
- ❖ **Concientización:** De obtener un cultivo sano, se cosechará un producto sano y apto para el consumo humano.

2.10.2 Objetivos

2.10.2.1 Objetivo General

- ❖ Conocer el grado de aceptación de nuestro producto en el mercado objetivo.

2.10.2.2 Objetivos Específicos

- ❖ Determinar el nivel de conocimiento que tienen los productores de proteger sus cultivos de enfermedades a base de microorganismos.
- ❖ Desarrollar estrategias de marketing que nos permita hacer concientizar a los agricultores de producir un producto sano.

2.10.3 Fuentes de Información.

2.10.3.1 Fuentes de Información Primaria.

La información obtenida proviene de las 25 personas encuestadas realizadas en los cuatro cantones seleccionados de la provincia del Guayas con el fin de obtener una información muy valiosa en la determinación de la viabilidad del proyecto.

2.10.3.2 Fuentes de Información Secundaria.

Utilizamos información de libros e Internet, específicamente páginas del INEC (III Censo Agropecuario), y páginas relacionadas a la agricultura y sus cultivos.

2.10.4 Determinación del Muestreo.

2.10.4.1 Unidades del Muestreo.

Las unidades de muestreo serán los productores encuestados, los cuales fueron escogidos de los cultivos tales como, el banano, cacao, tomate, pepino y pimiento, productos cosechados en la provincia del Guayas.

2.10.4.2 Alcance

Las encuestas fueron realizadas dentro de la provincia del Guayas específicamente los cantones de Balao, La Península, Milagro y Naranjito, que representan el 15% de los productores a nivel del Guayas.

TABLA No. 2.1

Número de Productores en la Provincia del Guayas

<i>Productores</i>	<i>Total</i>
Guayas	65.292
Balao	880
Milagro	4.396
Naranjito	1.222
Guayaquil (<i>Recinto Daular</i>)	3.091

Fuente: Datos tomados del Inec

2.10.4.3 Selección del Tamaño de la Muestra.

Considerando que tenemos una población finita con N igual 65.292 productores en la provincia del Guayas deberíamos aplicar la siguiente fórmula:

$$n = \frac{Z^2 * p * q * N}{e^2(N - 1) + Z^2 * p * q}$$

Donde:

n = tamaño de la muestra

Z = nivel de confianza

p = proporción de la variable

$q = 1 - p$

e = grado de error

N = tamaño del universo

Por lo que para establecer el tamaño de la muestra hemos utilizado el método estadístico denominado *Método Delphi* o también conocido como *Método de expertos* debido a que no disponemos de una información precisa; por lo tanto esta técnica se ha convertido en nuestra herramienta fundamental para obtener una mayor proyección de los datos.

El Método Delphi se basa en la consulta a personas que tienen grandes conocimientos sobre el tema a tratar. Las personas que sean elegidas no sólo deben ser grandes conocedores del tema sobre el que se realiza el estudio, sino que deben

presentar una pluralidad en sus planteamientos por cuanto es importante estar seguros de que los expertos reclutados y consultados posean la misma noción de este campo. De esta forma se espera obtener una información lo más fiable posible del grupo de expertos.

La encuesta se lleva a cabo de una manera anónima, en donde la elaboración de la misma está integrada por preguntas precisas, cuantificables e independientes. Se elaborará la encuesta de tal manera que facilite (en la medida en que una investigación de estas características lo permite), la respuesta por parte de los consultados.

Delphi es sin duda una técnica que desde hace unos cuarenta años ha sido objeto de múltiples aplicaciones en el mundo entero.

Las 25 personas encuestadas son productores dedicados al cultivo de las plantaciones que son base de nuestro estudio, los cuales nos facilitaron la información necesaria. En el *Anexo No. 2.2* detallamos la información de cada uno de ellos.

2.10.5 Diseño del Cuestionario.

El diseño del cuestionario lo mostramos en el *Anexo No. 2.1*.

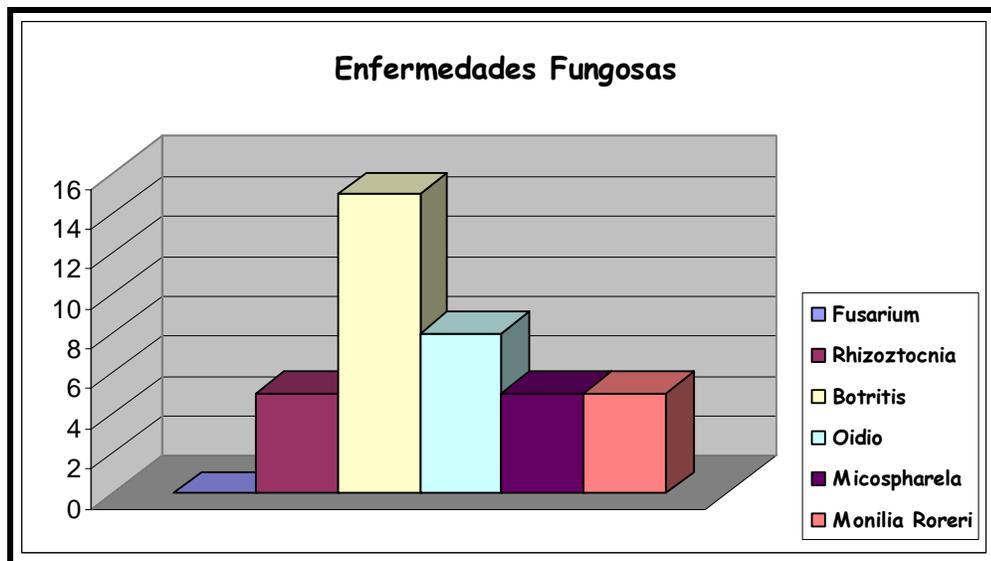
2.10.6 Resultados de la Encuesta

1) ¿Cuál de estas enfermedades fungosas tienen en su cultivo?

<i>Enfermedades Fungosas</i>	
Fusarium	0
Rhizoztocnia	5
Botritis	15
OTROS:	
Oidio	8
Micospharella	5
Monilia Roreri	5

GRÀFICO No. 2.1

Enfermedades Fungosas



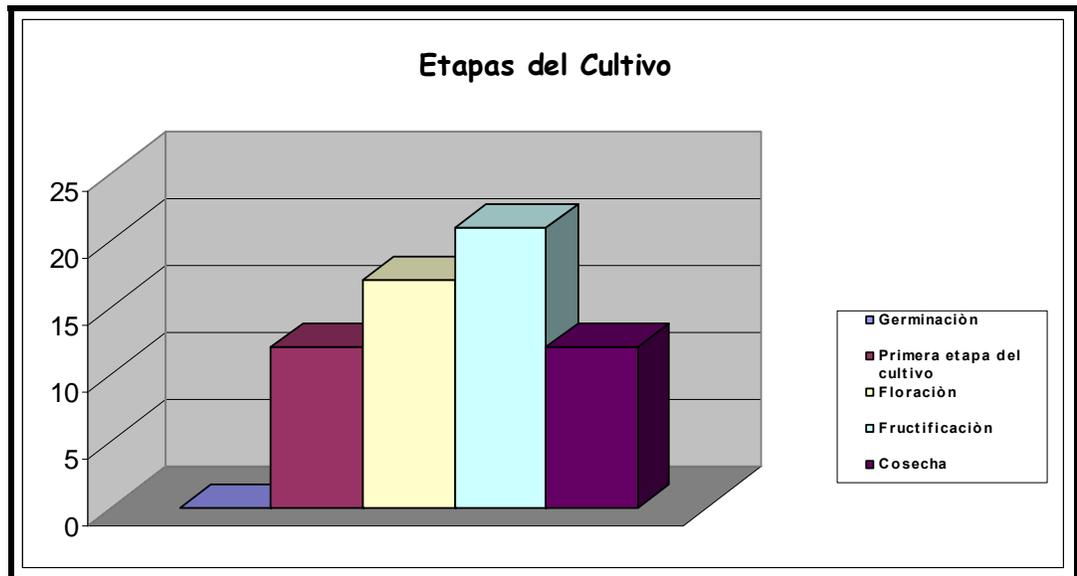
Elaborado: Por los Autores

2) ¿En qué etapa del cultivo tienen incidencia en este tipo de enfermedades?

<i>Etapas del Cultivo</i>	
Germinación	0
Primera etapa del cultivo	12
Floración	17
Fructificación	21
Cosecha	12

GRÁFICO No. 2.2

Etapas del Cultivo



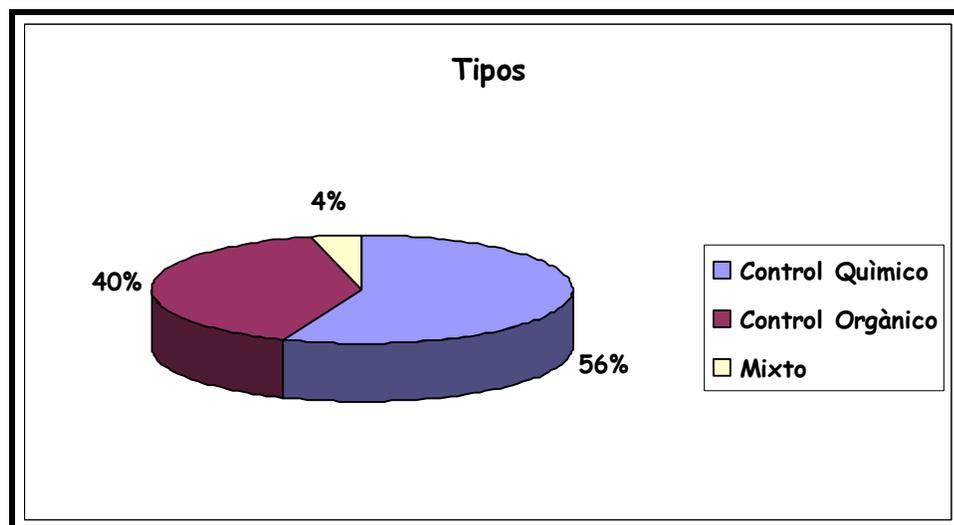
Elaborado: Por los Autores

3) ¿Qué tipo de químicos u orgánicos utiliza para el control de enfermedades y plagas?

<i>Tipos</i>	<i>f</i>	<i>%</i>
Control Químico	14	56%
Control Orgánico	10	40%
Mixto	1	4%
	25	100%

GRÁFICO No. 2.3

Tipos



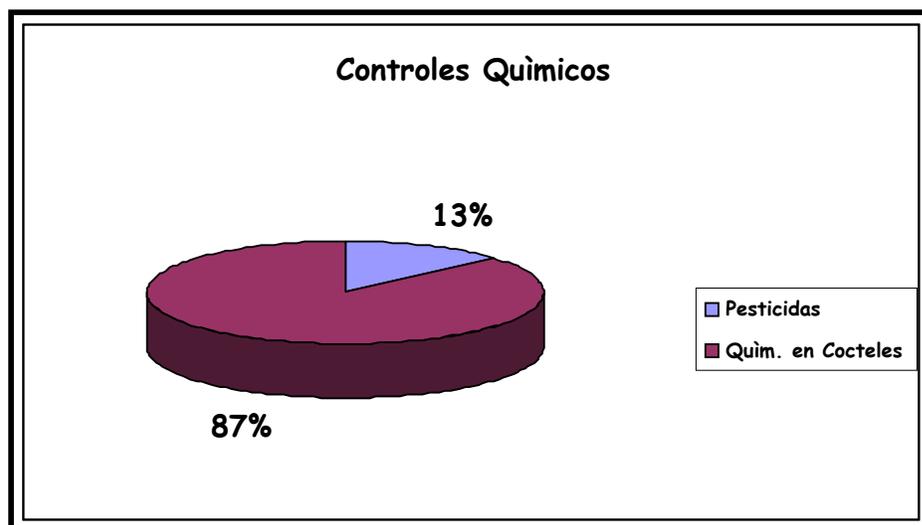
Elaborado: Por los Autores

4) En el caso de que use control químico ¿cuál usaría?

Controles Químicos	F	%
Pesticidas	2	13%
Quim. en Cócteles	13	87%
	15	100%

GRÁFICO No. 2.4

Controles Químicos



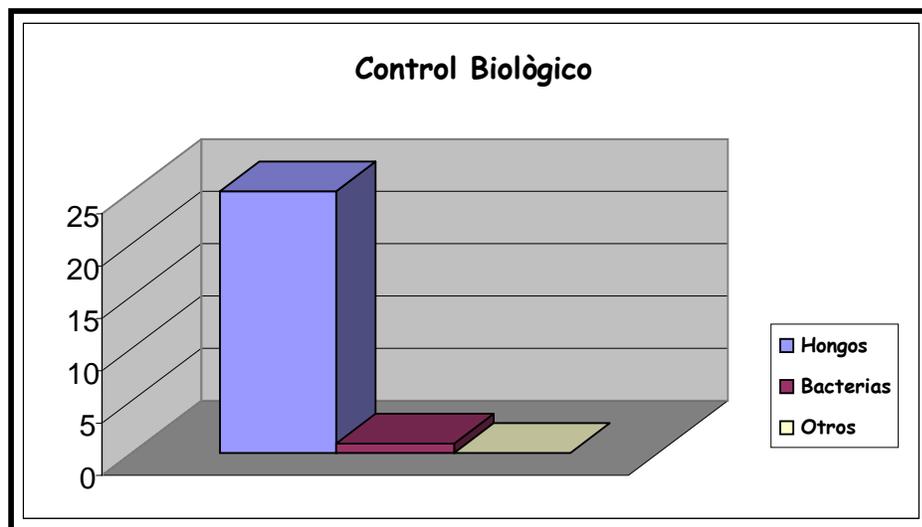
Elaborado: Por los Autores

5) ¿Conoce usted de algún control biológico a base de microorganismos?

<i>Control Biológico</i>	
Hongos	25
Bacterias	1
Otros	0

GRÁFICO No. 2.5

Control Biológico



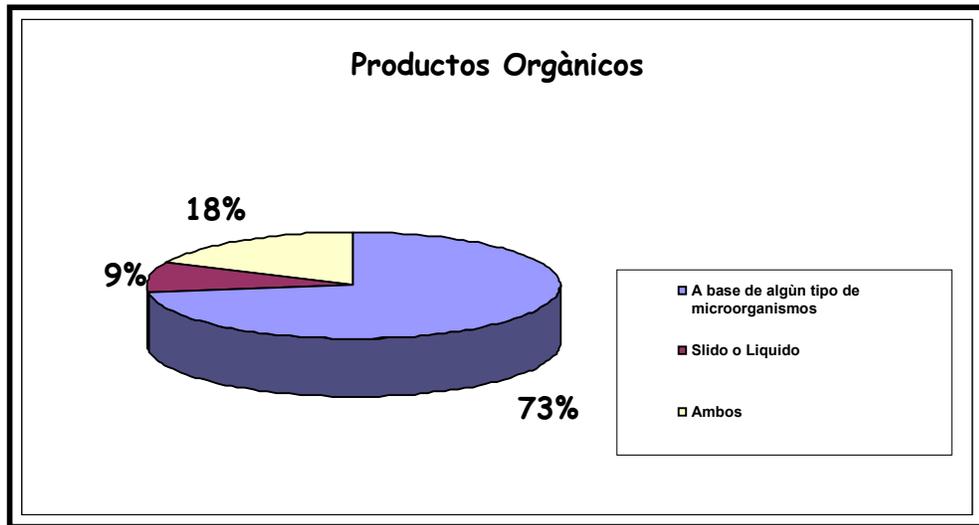
Elaborado: Por los Autores

6) En caso de que use productos orgánicos ¿qué tipo de productos utilizaría?

<i>Productos Orgánicos</i>	<i>f</i>	<i>%</i>
A base de algún tipo de microorganismos	8	73%
Sólido o Líquido	1	9%
Ambos	2	18%
	11	100%

GRÀFICO No. 2.6

Productos Orgánicos



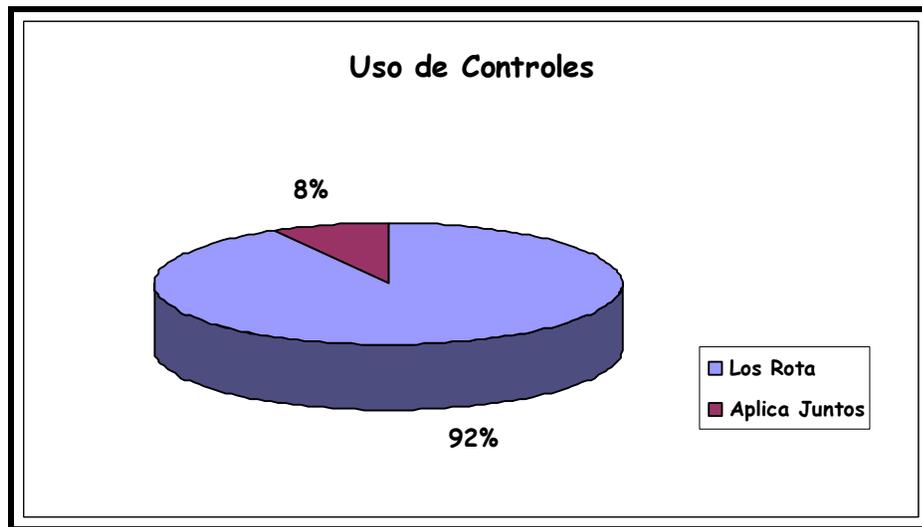
Elaborado: Por los Autores

7) ¿Si utiliza ambos controles?

<i>Uso de Controles</i>	<i>F</i>	<i>%</i>
Los Rota	23	92%
Aplica Juntos	2	8%
	<hr/> 25	<hr/> 100%

GRÁFICO No. 2.7

Uso de Controles



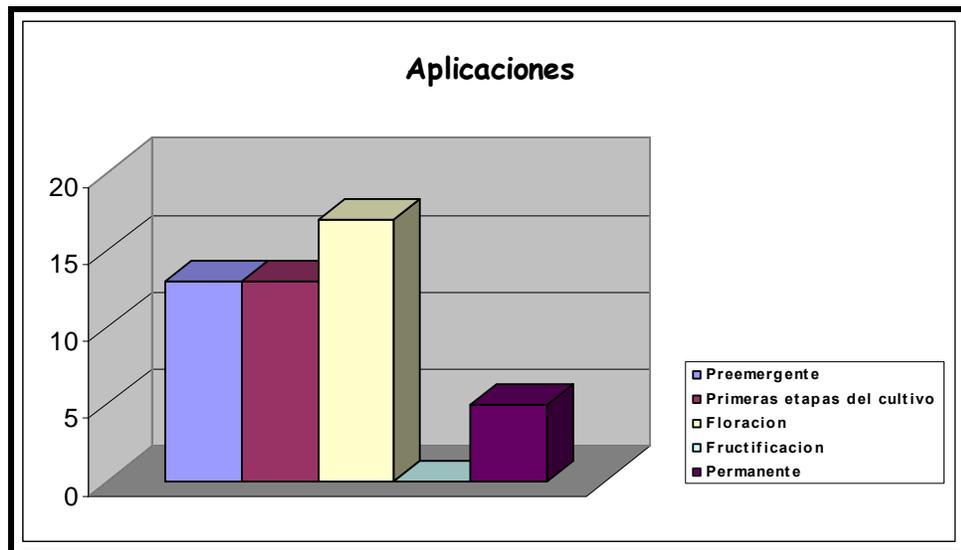
Elaborado: Por los Autores

8) ¿Durante qué etapas del cultivo hace las aplicaciones de los productos que utiliza?

<i>Aplicaciones</i>	
Preemergente	13
Primeras etapas del cultivo	13
Floración	17
Fructificación	0
Permanente	5

GRÁFICO No. 2.8

Aplicaciones



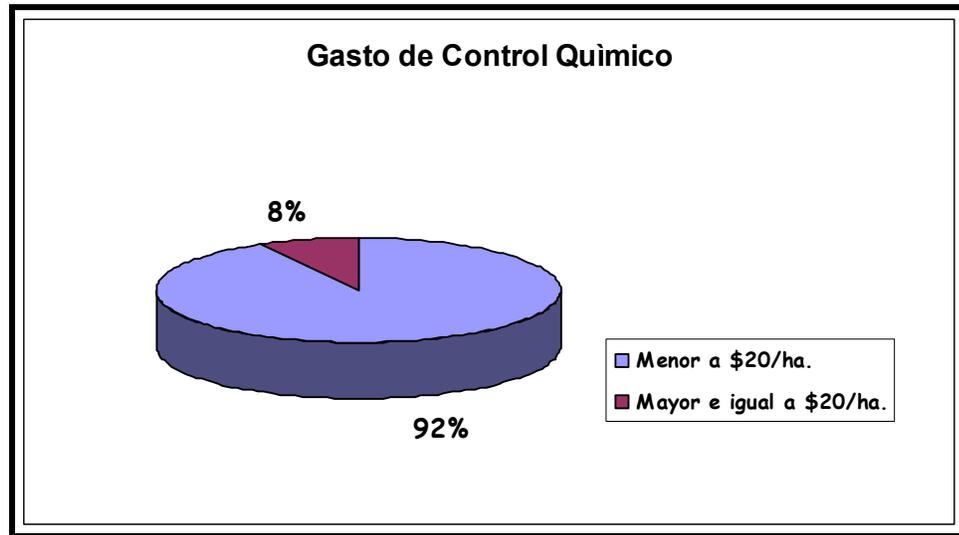
Elaborado: Por los Autores

9) ¿Cuánta es la inversión en el control de dichas enfermedades?

Gasto	f	%
Menor a \$20/ha.	23	92%
Mayor e igual a \$20/ha.	2	8%
	25	100%

GRÀFICO No. 2.9

Gasto de Control Químico



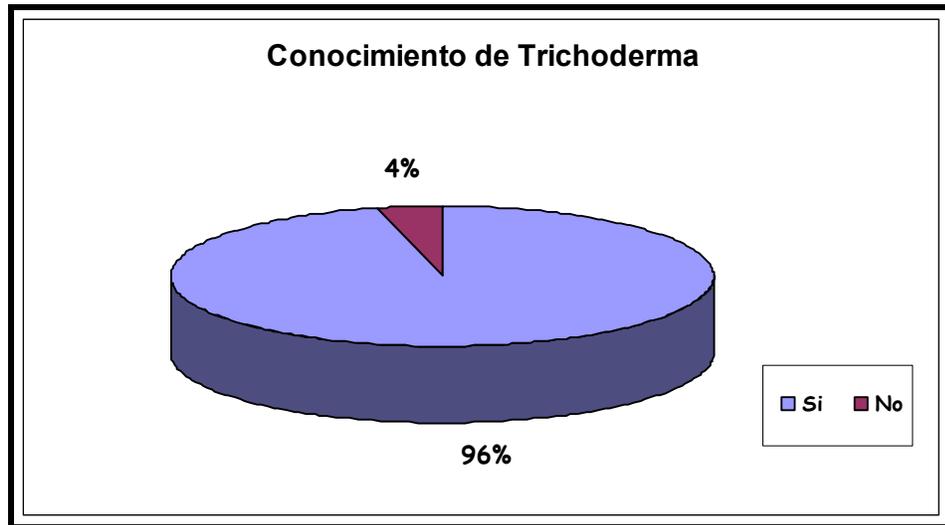
Elaborado: Por los Autores

10) ¿Conoce usted de Trichoderma y el control que este ejerce sobre patógenos del suelo?

<i>Trichoderma</i>	<i>F</i>	<i>%</i>
Si	24	96%
No	1	4%
	25	100%

GRÀFICO No. 2.10

Conocimiento de Trichoderma

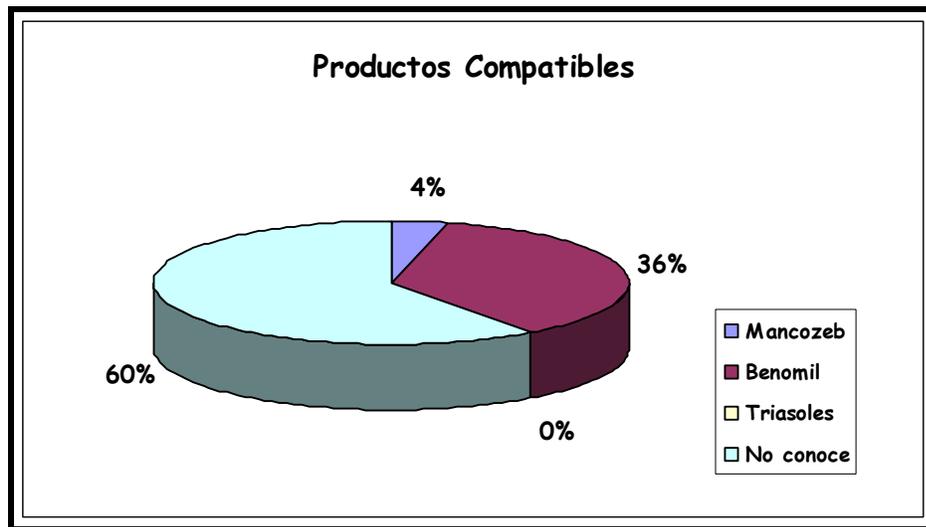


Elaborado: Por los Autores

11) ¿Usted conocía que Trichoderma es compatible con los sgtes. productos?

Productos Compatibles	f	%
Mancozeb	1	4%
Benomil	9	36%
Triasoles	0	0%
No conoce	15	60%
	<hr/> 25	100%

GRÀFICO No. 2.11
Productos Compatibles



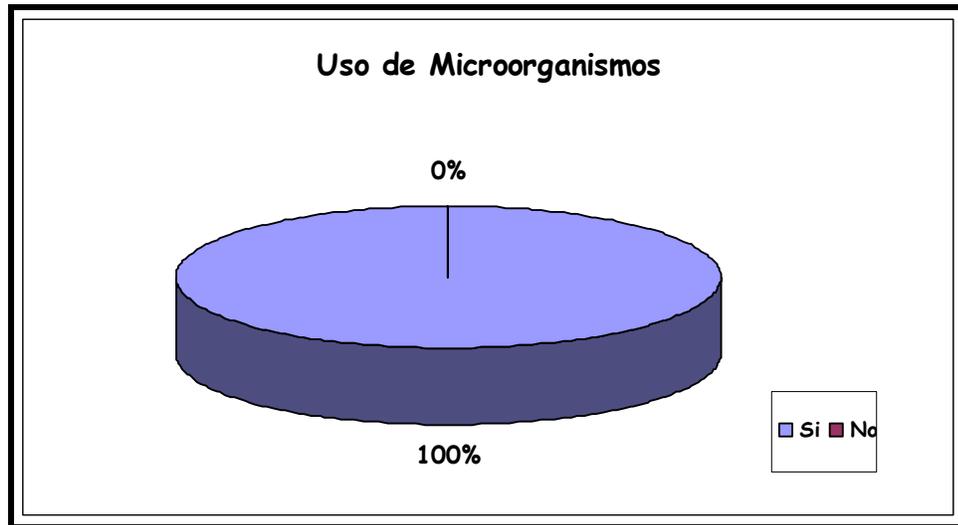
Elaborado: Por los Autores

12) ¿Consideraría el uso de este microorganismo (*Trichoderma*) para control de sus enfermedades fúngicas?

<i>Uso de Microorganismos</i>	<i>F</i>	<i>%</i>
Si	25	100%
No	0	0%
	25	100%

GRÀFICO No. 2.12

Uso de Microorganismos



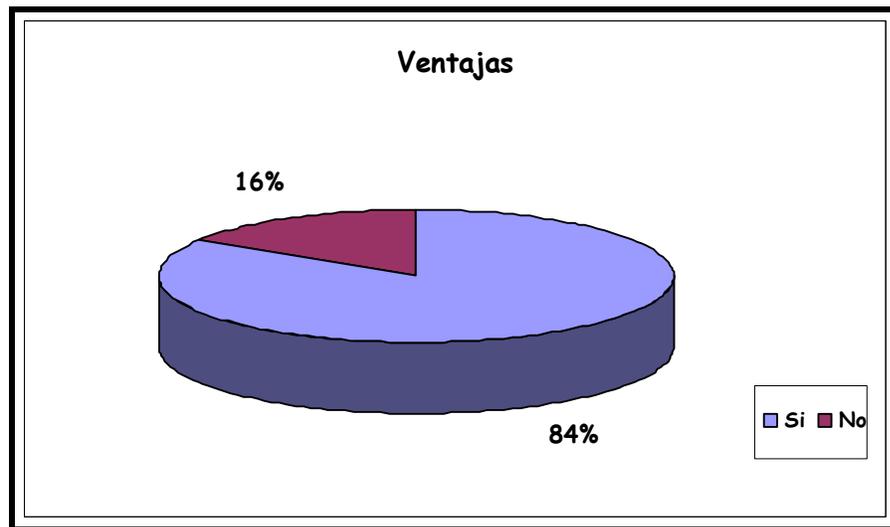
Elaborado: Por los Autores

13) ¿Conoce las ventajas de utilizar éste microorganismo en sus cultivos como control de enfermedades?

Ventajas	F	%
Si	21	84%
No	4	16%
	25	100%

GRÀFICO No. 2.13

Ventajas



Elaborado: Por los Autores

Nota: en caso de no conocer dichas ventajas a continuación mencionamos algunas de ellas:

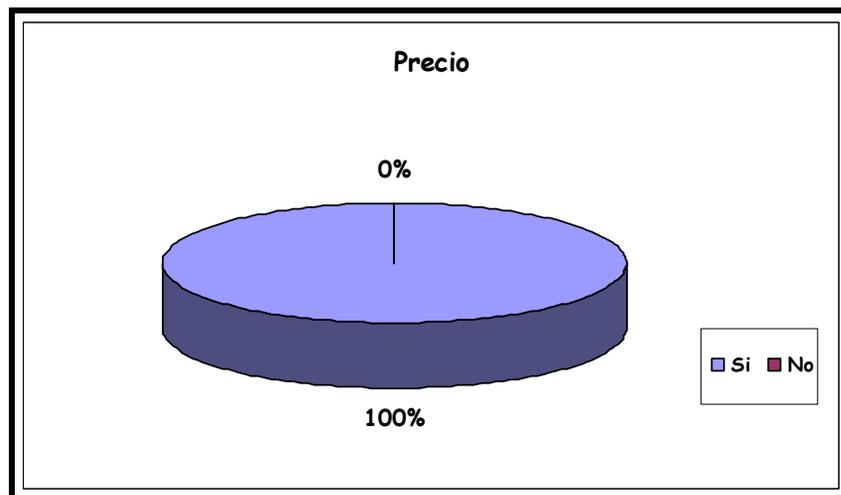
- ❖ Antagonista
- ❖ Antibiosis

14) ¿Estaría dispuesto a pagar \$ 15 por kilo?

<i>Precio</i>	<i>f</i>	<i>%</i>
Si	25	100%
No	0	0%
	25	100%

GRÀFICO No. 2.14

Precio



Elaborado: Por los Autores

2.10.7 Interpretación y Análisis de los Resultados de la Encuesta.

- ❖ Los resultados nos refleja que la enfermedad fungosa que se presenta frecuentemente en los cultivos de tomate, pepino y pimiento; es la *Botritis*, seguido del *Oidio*. Mientras que la *Micospharella* es muy común en el Banano y la *Monilia Roreri* en las plantaciones de cacao.

- ❖ Las enfermedades anteriormente mencionadas se presentan en casi todas las etapas de los cultivos, teniendo mayor incidencia en la etapa de Fructificación seguida de la Floración. También notamos que en la etapa de Germinación de estos cultivos no se presentan este tipo de enfermedades.

- ❖ Dentro de los tipos de control que utilizan los productores en sus cultivos tenemos que el mayormente aplicado es el Químico con un 56%; mientras que el Orgánico solo lo utilizan un 40% de los encuestados y un 4% el control Mixto.

- ❖ Los productores que utilizan el control Químico en sus plantaciones el 87% aplican Químicos en Córteles y el 13% pesticidas; mientras que los productores que usan control Orgánico el 73% de ellos prefieren productos a base de microorganismos, el 9% sólido o líquido (sello verde*) y el 18 % utilizan ambos productos.

- ❖ Todos nuestros encuestados tienen conocimiento sobre controles biológicos a base de microorganismos con hongos y solo uno de ellos también tiene conocimiento de este control pero con bacterias.
- ❖ Las aplicaciones de los controles se realizan en las diferentes etapas del cultivo teniendo un mayor uso en la de Floración seguidas de la Preemergente y las primeras etapas del cultivo; pero en la fructificación no se utiliza ningún tipo de control.
- ❖ El nivel de inversión que el 92% de los productores hacen en la prevención de dichas enfermedades es menor a \$ 20 y el 8% restante invierten valores mayores a \$ 20.
- ❖ El 96% de las personas encuestadas conocen sobre el control que ejerce la Trichoderma en los patógenos del suelo y solo un 4% no lo conoce.
- ❖ El 60% de los encuestados desconocen de los productos que son compatibles con Trichoderma, un 36% conoce que tiene compatibilidad con Benomil y el 4% con Mancozeb.
- ❖ El 100% de nuestros productores encuestados considerarían el uso de Trichoderma para el control de enfermedades fúngicas en sus cultivos; pero el

84% son los que conocen sobre las ventajas que nuestro producto tiene como el Antagonismo y la Antibiosis.

- ❖ Los productores en su totalidad estarán dispuestos a pagar por nuestro productos \$ 15 x cada kilo del mismo; por lo que tenemos certeza de que va a tener una excelente aceptación en el mercado meta.

2.10.8 Conclusión

Por medio de esta encuesta que hemos realizado a diferentes productores de distintos cultivos que son parte de nuestro de estudio podemos obtener una información clara con respecto a los conocimientos que tienen acerca del microorganismo *Trichoderma*; como también si están dispuestos a adquirir nuestro producto; de esta manera nosotros podemos determinar una aceptación total hacia este producto que estamos ofreciendo por parte de los productores de dichos cultivos mencionados.

Cabe mencionar que los resultados que hemos obtenido son positivos porque nos demuestra el alto grado de disposición de los productores por adquirir un producto a base de microorganismos que tiene la finalidad de erradicar plagas de una manera natural, orgánica y que no es nocivo para la salud teniendo en cuenta que *Trichoderma* tiene excelentes propiedades para el control biológico.

CAPÍTULO III

ESTUDIO TÉCNICO

3.1 Infraestructura

El laboratorio deberá constar con áreas específicas para cada uno de los trabajos, que se van a llevar a cabo para la obtención de un inóculo, para lo cual necesitamos un área de aislamiento que deberá tener alrededor de 10m², además de constar con mesones y todos los equipos necesarios para el efecto, tales como la cámara de flujo laminar incubadora, hot plate styrrier, balanza y toda la cristalería y demás materiales para el aislamiento; para esto el lugar debe de contar con una buena ventilación

dentro de ella, adicionalmente se contará con una puerta a la entrada del área y luego tendremos unas cortinas de plástico grueso, para evitar al mínimo el ingreso de contaminación.

De igual manera el área de propagación tendrá 10m² y contará con mesones y lavaderos los cuales son indispensables, además de la cristalería que sea necesaria conjuntamente con las perchas, para el almacenamiento de las fundas o frascos que contengan al hongo, cabe recalcar que dentro del lugar debe existir buena ventilación.

También tendremos el área de lavandería en la cual estarán los lavaderos necesarios para tal efecto, además de los respectivos mesones. En esta área deberán estar ubicados el Esterilizador (Autoclave), el esterilizador de agua, que son los principales equipos dentro de este espacio, y los utensilios de lavandería necesarios.

De igual manera el personal que trabaje en las diferentes áreas deberá de utilizar mandil y guantes, si el caso lo amerita.

El laboratorio deberá constar con un área de oficinas de administración y un pequeño espacio de recepción de muestras.

3.1.1 Área de Aislamiento

El área de aislamiento estará ubicada en un lugar estratégico de las instalaciones, la que se establecerá como área segura, libre de contaminantes externos, que pudieran infectar las cepas del hongo. Esta área constará con todos los equipos necesarios para tal efecto, adicionalmente se conservará la esterilidad del lugar, por lo que solo se permitirá ingresar al área al personal que trabaje en la misma.

3.1.2 Equipos

Dentro de estos tendremos los indispensables para la preparación del inóculo, además del aislamiento del suelo en busca de cepas nativas que sean más eficientes en el control de un sitio específico, estos equipos son:

3.1.2.1 Cámara de Flujo Laminar Vertical

Esta nos sirve para el aislamiento de cepas nativas manteniendo un área estéril dentro de ella, gracias a sus ventiladores que mantienen el aire circulando dentro de la misma y no permiten que aire de afuera penetre; esta cámara es de suma importancia para el aislamiento y purificación de las cepas que se obtengan además de ser útil en el proceso de adaptación del hongo al sustrato, que en este caso será arroz.

FIGURA No. 3.1

Cámara de Flujo Laminar Vertical



Fuente: PMBA ESPOL

3.1.2.2 Incubadora

Será usada para el proceso de incubación con el fin de mantener una temperatura estándar para el crecimiento de cada una de las cepas en la cual se mantendrá una temperatura de $28^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, tanto para el aislamiento, como para la colonización del hongo en el arroz.

FIGURA No. 3.2

Incubadora



Fuente: PMBA ESPOL

3.1.2.3 Esterilizador o Autoclave

Este equipo también es importante, debido a que en él se puede esterilizar todos los instrumentos y materiales de laboratorio los cuales tendrán que esterilizarse a una temperatura de 121°C a 15 atmósferas, la cantidad de minutos para esterilizar instrumentos por lo general es de 15 minutos, igual que para esterilizar medios; lo cual nos garantiza la esterilidad de todo lo que coloquemos en este equipo, además tener en cuenta de que en cada esterilizada se le debe de cambiar de agua destilada que se utiliza en el equipo.

FIGURA No. 3.3

Esterilizador o Autoclave



Fuente: PMBA ESPOL

3.1.2.4 Destilador de Agua.

Es un equipo muy necesario ya que a través de este obtenemos agua con suficiente pureza que se necesita para el proceso de aislamiento, para la elaboración de todos los medios que se necesitan en este proceso, además de usarse agua destilada para la lavandería de los diferentes materiales.

FIGURA No. 3.4

Destilador de Agua



Fuente: PMBA ESPOL

3.1.2.5. Olla de Presión.

Esta será utilizada para eliminar todas las cajas contaminadas con otro tipo de microorganismo las cuales soportarán una presión de 15 atmósferas, eliminando todo tipo de microorganismo existente en estas cajas.

FIGURA No. 3.5

Olla de Presión



Fuente: PMBA ESPOL

3.1.2.6 Baño María

Este puede ser utilizado para mantener a temperatura óptima para que el medio se mantenga líquido y no se solidifique para que pueda ser utilizado o continuar con el proceso.

FIGURA No. 3.6

Baño María



Fuente: PMBA ESPOL

3.1.2.7 Hot Plate & Styrrier

Lo utilizamos con frecuencia cuando el medio se solidifica, lo calentamos y disolvemos aquí, ya que este equipo consta con un placo calentador, además de poseer un imán que hace girar a otro que se encuentra dentro del recipiente, donde se encuentra el medio. Además lo podemos usar en el proceso de aislamiento, en el que lo usamos para diluir la muestra de suelo usando los imanes que posee.

FIGURA No. 3.7

Hot Plate & Styrrier



Fuente: PMBA ESPOL

3.1.2.8 Balanza analítica

La balanza analítica es de suma importancia, ya que todos los reactivos que se vayan a utilizar en el proceso de aislamiento y de purificación tendrán que ser pesados en ésta, la cual tendrá la capacidad de medir en gramos y miligramos, dándonos la exactitud que debemos tener para realizar estas actividades.

FIGURA No. 3.8

Balanza Analítica



Fuente: PMBA ESPOL

3.1.2.9 Peachímetro Digital

Nos ayudará a medir el pH de los medios que utilicemos para el aislamiento, este tendrá que calibrarse a pH 4 y 7 antes de ser utilizado y dependiendo de la lectura que nos de, se lo regulará con HCl y NaOH. Además tener en cuenta que para el medio T se necesita un pH de 4.5.

FIGURA No. 3.9
Peachìmetro Digital



Fuente: PMBA ESPOL

3.1.3 Materiales de Laboratorio

Son materiales necesarios para realizar el aislamiento de *Trichoderma* de muestras de suelo, además de la propagación del hongo en medio PDA o en sustrato como arroz.

3.1.3.1 Enlenmeyer de 1000 ml

Será utilizado para preparar los medios que se vayan a utilizar en el aislamiento, estos deben ser pirex que resistan altas temperaturas.

FIGURA No. 3.10
Enlenmeyer



Fuente: PMBA ESPOL

3.1.3.2 Viker 250 ml

Lo usaremos para disolver las muestras de suelo, estos deben ser de vidrio pirex resistente a altas temperaturas, para que resistan el proceso de esterilización.

FIGURA No. 3.11

Viker



Fuente: PMBA ESPOL

3.1.3.3 Pipetas 100 ml

Las pipetas las utilizaremos para tomar con exactitud las alícuotas, que suspensión terrosa usaremos para el momento del aislamiento.

FIGURA No. 3.12

Pipetas



Fuente: PMBA ESPOL

3.1.3.4 Puntas 100 ml

Estas son específicas para la pipeta que vamos a utilizar, las cuales antes de ser usadas deberán de ser esterilizadas en el autoclave.

FIGURA No. 3.13

Puntas



Fuente: PMBA ESPOL

3.1.3.5 Agitadores

Los usaremos para homogenizar la muestra de suelo en el agua estéril y poder obtener una suspensión terrosa.

3.1.3.6 Cajas Petri

Las cajas petri deben ser de vidrio pirex resistente a altas temperaturas, éstas tienen un diámetro de 7 cm., las cuales antes de ser usadas deberán de pasar por un proceso de lavado y sometidas a esterilización.

FIGURA No. 3.14

Cajas Petri



Fuente: PMBA ESPOL

3.1.3.7 Espátulas

Estas espátulas deberán de ser de acero inoxidable, resistentes a altas temperaturas con facilidad de manipulación. *Ver figura No. 3.17.*

3.1.3.8 Saca Bocados

Material que de igual manera tendrá que ser de acero inoxidable, que será utilizado para perforar la caja madre que se obtenga en el proceso de aislamiento. *Ver figura No. 3.17.*

3.1.3.9 Mortero

El mortero debe de ser de cerámica y será utilizado para triturar la muestra de suelo dentro del proceso de aislamiento.

FIGURA No. 3.15

Mortero



Fuente: PMBA ESPOL

3.1.3.10 Tamiz de 2mm de diámetro

Este deberá de ser ancho con una circunferencia de 10 cm., ya que se lo usará para que la muestra del suelo sea tamizada y se pueda hacer la suspensión terrosa.

FIGURA No. 3.16

Tamiz de 2 mm. de Diámetro



Fuente: PMBA ESPOL

3.1.3.11 Mechero

Se lo usará para mantener estéril dentro de la cámara de flujo laminar, además para flamear los materiales que se tengan dentro de la cámara. Este mechero es de alcohol, además se debe de tener en cuenta que las cámaras de flujo vienen con un mechero incorporado con cañería para conexiones a base de gas.

FIGURA No. 3.17

Mechero, Espátula y Saca Bocados



Fuente: PMBA ESPOL

3.1.3.12 Microscopio Electrónico

El microscopio es importante, ya que nos permitirá cerciorarnos de que las cepas que se hayan aislado sean de este hongo, para lo cual este deberá tener lentes de aumento hasta de 100 μ .

FIGURA No. 3.18

Microscopio Electrónico



Fuente: PMBA ESPOL

3.1.3.13 Placas Porta y cubre objeto

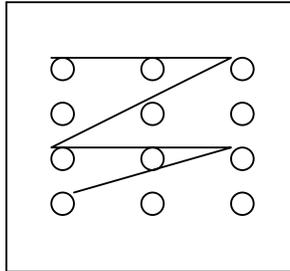
Las usaremos para la visualización de las estructuras del hongo en el microscopio.

3.2 Muestras de Suelo

Las muestras de suelo serán extraídas de haciendas y de cultivos específicos de diferentes zonas de la provincia, estas serán recolectadas dentro de un lote específico en zig-zag a una profundidad de 10 cm., estas muestras serán colocadas dentro de un solo recipiente, cuando se haya terminado la recolección de las muestras, las mismas serán revueltas dentro de este y luego colocadas en una funda con cierre rotulada con la fecha, lote, hacienda o finca.

FIGURA No. 3.19

Forma de la Toma de Muestras



Fuente: PMBA ESPOL

3.3 Reactivos

Los reactivos son indispensables para el aislamiento, a partir de muestras de suelo, cada uno tiene una función específica dentro de este, así tenemos que para el medio específico de *Trichoderma* llamado Medio T, tenemos una gran diversidad de reactivos que son beneficiosos para el desarrollo del mismo, y además inhibe el desarrollo de otro tipo de microorganismos, con el fin de obtener la menor cantidad de contaminación dentro de la caja madre.

3.4 Medio Específico para *Trichoderma*

Los reactivos que se usan dentro de este medio específico, son indispensables para el desarrollo del hongo en la realización de la caja madre, que se efectúa en el aislamiento, estos le ayudan al hongo a desarrollarse dentro de la caja en busca de obtener mayores colonias del hongo en una misma caja en este proceso, los reactivos que se utilizan para el medio T son los que se enumeran a continuación:

3.4.1 Agar

Este nos ayuda a que el medio T se gelifique una vez que el medio está dispensado en la caja petri, que será la caja madre dentro del proceso de aislamiento.

3.4.2 Sacarosa

Este reactivo nos ayuda a darle cierto nivel de azúcar al medio con lo cual el hongo se podrá desarrollar eficientemente.

3.4.3 Ácido Cítrico

Este ayuda a acidificar el medio.

3.4.4 Fuentes de nutrimento para el Hongo.

Estos sirven como fuente nutricional para el desarrollo del hongo dentro del medio, que debido a las características de *Trichoderma* tienden a un mejor desarrollo.

- ❖ Nitrato de Calcio
- ❖ Sulfato de Magnesio
- ❖ Fosfato de Potasio
- ❖ Cloruro de Calcio

3.4.5 Agua Destilada

Nos ayuda a diluir todos los reactivos que se usan para el medio T que dependiendo de la cantidad de medio que se realiza, dependerá de la cantidad de agua destilada que se utilizará.

3.4.6 Antibióticos

Los antibióticos nos ayudan a inhibir otro tipo de microorganismos dentro del proceso de asilamiento, estos inhiben a bacterias y otro tipo de hongos que pudieran crecer dentro de la caja o reducir su incidencia dentro de la misma y puedan comenzar a purificar las cepas que se obtengan de cada caja en este proceso. Para este efecto tenemos los antibióticos que se mencionan a continuación:

- ❖ ***Sulfato de Estreptomicina:*** Este reactivo nos ayuda a inhibir la presencia de bacterias que pudieran surgir dentro de la caja.
- ❖ ***Benomil:*** Con la ayuda de este reactivo se inhibe el crecimiento de otro tipo de hongo en la caja, lo cual es muy común dentro del aislamiento, por lo que el uso de éste es importante.

3.4.7 Alcohol Alílico

El Alcohol alílico nos ayuda a inhibir a otro tipo de hongos al igual que bacterias, con respecto al uso de este reactivo se debe de tener mucho cuidado, ya que es el reactivo más peligroso que puede causar problemas respiratorios con solo inhalarlo, por lo que se puede prescindir del uso de este dependiendo del nivel de contaminación que se tenga en la caja, o de la cantidad de cepas de *Trichoderma* que se tengan dentro de la misma.

3.4.8 Agua Destilada Estéril

El agua destilada estéril se la usa para realizar las diluciones de las muestras del suelo, ésta es estéril con el fin de evitar la presencia de otro tipo de microorganismo y que solo salgan los que se encuentran en las muestras del suelo.

3.4.9 Alcohol

Este lo usa para esterilizar y limpiar todos los materiales que se usan en el proceso de aislamiento, incluyendo a la cámara de flujo laminar antes de comenzar el proceso.

3.4.10 Azul de Metileno

El azul de metileno lo utilizamos en el proceso de identificación de las estructuras del hongo, de cada cepa que se vaya purificando, lo cual nos dará una idea de que tipo de *Trichoderma* tenemos.

3.5 Cuarto de Propagación

Este es un espacio del laboratorio en el cual se realizará la propagación del hongo en donde se debe tener todos los elementos necesarios para este fin; en este cuarto no es tan preciso la asepsia, pero si se debe trabajar con todos los cuidados necesarios. En este espacio debemos de tener lo siguiente:

3.5.1 Fundas para Esterilizar.

Estas son fundas especiales que soportan las altas temperaturas con el fin de poder esterilizarlas dentro del autoclave, o se podría utilizar frascos dependiendo del caso.

3.5.2 Perchas

Las perchas serán utilizadas para colocar las cepas del hongo que estén en sustratos dentro del cuarto de propagación.

3.5.3 Frascos

Los frascos tienen el mismo fin que las fundas, son utilizados para la propagación de *Trichoderma* en sustratos y sean almacenados hasta su posterior uso en el producto.

FIGURA No. 3.20

Frascos



Fuente: PMBA ESPOL

3.5.4 Balde

Éste es utilizado para remojar el sustrato en el que será colocado el hongo para luego ser esterilizado.

3.5.5 Autoclave

El autoclave nos ayuda a esterilizar todos los materiales que se van a utilizar tanto en el proceso de aislamiento como en el proceso de propagación, ya que nos permitirá eliminar todos los microorganismos que puedan tener dichos materiales.

3.5.6 Cámara de Flujo

La cámara de flujo laminar servirá para colocar dentro de las fundas o frascos para la propagación del hongo, se trabaja dentro de la cámara para evitar o reducir al máximo la contaminación que pudiéramos tener.

3.5.7 Incubadora

Este equipo nos ayudará a mantener una temperatura estándar y adecuada en la cual el hongo se desarrollará perfectamente.

3.5.8 Agua

Es de suma importancia dentro de este proceso, para lo cual se debe de usar agua destilada en todos los procesos.

3.5.9 Arrocillo o Arroz

Estos son los medios en los cuales se va a propagar el hongo, el cual sabemos que es el ideal para que este se desarrolle y se mantenga por un tiempo determinado. Además se pueden utilizar ambos a la vez dentro de un mismo frasco o funda haciendo un solo sustrato.

3.6 Aislamiento de especies de Trichoderma del suelo.

3.6.1 Fase de Campo:

Significa la recolección del 5% de las muestras de suelo en las haciendas, ésta consiste en tomar una pequeña cantidad de suelo en zig-zag a una profundidad de 5 a 10 cm. Estas muestras están constituidas por varias sub-muestras colocadas en recipientes y luego mezclarlas e introducir las en fundas de plástico y cada muestra puede representar 1 Kg.

3.6.2 Determinación de Número de Propàgulo por gramo del Suelo.

3.6.2.1 Metodología

Verificación de la presencia de *Trichoderma* mediante los siguientes mecanismos:
Se seca una parte de la muestra de suelo a temperatura ambiente en una bandeja de plástico por dos días, después de secadas las muestras tienen que ser trituradas y tamizadas, con un tamiz que posea una malla de 2 mm, de diámetro.

Se determinará el peso seco de dos gramos de cada muestra secados en estufa por una hora a 105°C.

Luego se tomarán 10g. de suelo de la misma muestra a analizar, ésta es colocada en un enlenmeyer con 90 ml de agua destilada estéril y luego serán agitados por 20 minutos con el fin de obtener una suspensión terrosa homogénea.

FIGURA No. 3.21

FIGURA No. 3.22

Muestra de suelo tamizada



Fuente: PMBA ESPOL

Muestra de suelo diluida



Fuente: PMBA ESPOL

Se realiza una caja madre en la cual se coloca con una pipeta 1 ml de suspensión terrosa homogénea y luego se verterán 15 ml de sustrato nutritivo selectivo llamado Medio T para *Trichoderma*, o en su caso puede utilizarse PDA (Papa Dextrosa Agar), la gota de la suspensión terrosa tiene que ser repartida uniformemente con movimientos circulares sobre la caja petri madre.

FIGURA No. 3.23

Medio T dentro de la Cámara de flujo



Fuente: PMBA ESPOL

FIGURA No. 3.24

Cajas Madres y Cajas Hijas



Fuente: PMBA ESPOL

Una vez solidificado el medio de cultivo, se perforará con un sacabocados de 8 mm. de diámetro más o menos de 70 a 80 círculos de la caja petri madre, siendo luego transferidos los círculos proporcionalmente a 5 cajas petri que contienen el mismo sustrato selectivo o PDA utilizando para ello un asa de transferencia.

FIGURA No. 3.25

Cajas Madres y Cajas Hijas



Fuente: PMBA ESPOL

FIGURA No. 3.26

Caja hija con muestra de caja madre



Fuente: PMBA ESPOL

Las cajas petri con los círculos serán colocados en incubación en oscuridad a 28°C por 5 días luego serán retirados y dejados a la luz y temperatura ambiente por 2 días.

FIGURA No. 3.27

FIGURA No. 3.28

Caja hija con muestra caja madre



Fuente: PMBA ESPOL

Caja hija



Fuente: PMBA ESPOL

Al séptimo día se contarán las colonias de *Trichoderma* que estuvieran presentes sobre los círculos.

FIGURA No. 3.29

Caja Hija



Fuente: PMBA ESPOL

La densidad de la población de *Trichoderma* viene medida por propágulos/gr de tierra seca, que está calculada mediante la fórmula de Davet (1979) oportunamente modificada por D´ercale y otros:

$$X = \frac{n \times D^2}{d^2 \times ps} \times 200$$

Donde: X = número de propágulos/gr de suelo seco.

n = número de colonias/círculo

D = diámetro de la caja petri madre

d = diámetro del círculo

ps = peso seco de la muestra puesta en dilución.

Por cada muestra de suelo serán tomadas en consideración las colonias con características morfológicas diversas, las cuales fueron remultiplicadas en cultivo puro con la clasificación de los diferentes aislamientos basados en la observación morfológica ramas de conidiosporos, forma y dimensión de los conidios.

Los pasos 3, 4, y 5 deben ser realizados dentro de la Cámara de Flujo procurando tener una asepsia total para evitar una posible contaminación.

3.6.2.2 Fórmula de Porcentaje de Peso Seco.

$$\% \text{ peso seco} = \frac{\text{peso húmedo} - \text{peso seco}}{\text{peso húmedo}} \times 100$$

Peso total

Medio Trichoderma (T).

Nitrato de Calcio	1.0 gr
Nitrato de Potasio	0.25 gr
Sulfato de Magnesio	0.25 gr
Fosfato de Potasio	0.25 gr
Cloruro de Calcio	0.1 gr
Ácido Cítrico	0.15 gr
Sacarosa	1.0 gr
Agua	1 Lt
Agar	25 gr/L

Luego se le añade:

Sulfato de Estreptomicina	30 mg
Ronilan-Benlate-benomyl	2.5 mg
Alcohol Alílico	0.50 ml

3.6.2.3 Modo de Preparación del Medio T.

Mezclar en un litro de agua destilada todos los compuestos de la primera fase y llevar ésta mezcla a un pH de 4.5, y luego se le añade el Agar.

Se coloca al medio ácido al Autoclave por 15 minutos a 121°C o 15 A° de presión.

Se coloca en baño María a 50°C y se le añade los antibióticos segunda fase a la vez, se los va agitando, luego se los dispensa en las cajas petri.

Nota: Ronillan se lo puede reemplazar con Benlate o Benomyl.

3.6.2.4 Medio Alternativo PDA (Papa Dextrosa Agar).

El medio T puede ser reemplazado con PDA, agregándole los antibióticos Benomil y Sulfato de estreptomycin, pudiendo obtener resultados similares en las pruebas que se han realizado.

Se usa PDA en una cantidad de 39 gr por litro de agua destilada, la cual es esterilizada a 121°C o 15 A° de presión, y una vez regulada la temperatura del medio en el baño María se procede a dispensarla en las cajas stock que se necesita para el proceso de aislamiento, de igual manera como se lo detallo anteriormente.

Una vez identificado las posibles cepas del hongo que se encuentran en las cajas hijas se procede a la purificación de las mismas y en ésta etapa se procede a realizar la identificación morfológica de cada una de las cepas que se posea a través de las estructuras que posee *Trichoderma* con lo cual se puede continuar la purificación de esta cepa hasta obtener en cada caja petri una cepa pura del hongo.

Para el proceso de purificación se utilizará como medio solo PDA, ya que el hongo se desarrolla muy bien en este medio teniendo en cuenta todas las medidas que impidan la contaminación de otros microorganismos dentro de la caja, los más comunes son contaminación por bacterias.

Luego de obtener las cepas purificadas e identificadas a través de sus estructuras se procede a la masificación de dicha cepa en sustratos como arroz o arrocillo, en éste caso ambos pueden ser utilizados en un solo sustrato, esto se lo hace con el fin de que el hongo se mantenga activo mucho más tiempo, además para el proceso de obtención de un inóculo.

El producto que se va a obtener para comienza a partir de *Trichoderma* en el sustrato el cual será sometido a un proceso de molido para lograr obtener un polvo mojable el cual se podrá utilizar para el control de diferentes enfermedades en diferentes cultivos.

3.7 Personal de Laboratorio.

El laboratorio deberá de contar con el siguiente personal:

- ❖ ***Investigador.-*** Es el encargado de llevar a cabo el proceso de aislamiento y propagación de *Trichoderma* dentro del laboratorio.

- ❖ ***Técnico de Laboratorio.-*** Es el que ayuda a realizar todo el proceso y deberá de tener el conocimiento necesario para tal efecto.

- ❖ ***Personal de Lavandería.-*** Personas encargadas de lavar los materiales que se utilicen dentro del proceso y mantener el stock suficiente para que no haya retrasos dentro del trabajo de laboratorio.

- ❖ ***Pasantes.-*** Personal de pre-grado que quisiera obtener experiencia en la obtención de un inóculo.

CAPÍTULO IV

EVALUACIÓN Y ANÁLISIS FINANCIERO

4.1 Inversiones, Capital de Operación y Financiamiento.

4.1.1 Inversión Inicial.

Dentro de la Inversión Inicial estimaremos todos los costos que se originan en la implementación del proyecto y esto será la inversión en el año cero que se reflejará en el balance de inversión inicial presentado en el *Anexo No. 4.1.*

❖ Capital de Trabajo

Para determinar la inversión de capital de Trabajo hemos utilizado el método de máximo déficit acumulado que será presentado en el *Anexo No. 4.2*.

Equipos

Los equipos que utilizaremos en la implementación del proyecto los detallamos a continuación:

Tabla No. 4.1

Costos de Equipos y Muebles de Oficina

<i>Equipos y Muebles de Oficina</i>			
<i>Descripción</i>	<i>Cantidad</i>	<i>Precio Unit.</i>	<i>Precio Total</i>
Computadoras	9	600,00	5.400,00
Escritorios	10	200,00	2.000,00
Archivadores	6	270,00	1.620,00
Sillas de Escritorios	20	70,00	1.400,00
Muebles	3	100,00	300,00

Elaborado por: *Los Autores*

Vehículos

Contaremos con un mini furgón marca Chevrolet, el cual tendrá un costo de \$ 14.000; y será utilizado para el reparto de pedidos a nuestros clientes y

distribuidores; también se usará para la adquisición de insumos y materiales necesarios para la elaboración de nuestro producto.

Otros

Debemos tomar en cuenta los gastos correspondientes a la pre-operación para la puesta en marcha de la compañía, así como también los desembolsos para la constitución de la misma, trámites y permisos legales para empezar con la actividad de *AGROS*.

Tabla No. 4.2

Gastos Pre- operativos

Gastos Pre-operativos	
Constitución de Compañía	400,00
Registro Mercantil	50,00
Ministerio	50,00
Cámara de Comercio	20,00
Varios	<u>1.480,00</u>
Total	2.000,00

Elaborado por: *Los Autores*

Tabla No. 4.3

Otras Inversiones

Otras Inversiones Necesarias	
Gastos Pre-operativos	2.000,00
Imprevistos	1.500,00

Elaborado por: Los Autores

El Detalle de activos fijos se refleja en el *Anexo No. 4.3*.

4.1.2 Financiamiento

Para la financiación del proyecto de producción de bioproductos con microorganismos se considerará la siguiente estructura de capital: 40% financiado por medio de deuda y 60% mediante aportaciones de capital por parte de los socios.

No se procede a la emisión de acciones al público en general, sino al aporte por parte de los dueños del negocio; debido a que nuestro país no es tan desarrollado en el mercado de capitales.

Consideramos conveniente que los socios posean el 60% del valor de los activos, porque un elevado nivel de endeudamiento podría resultar muy riesgoso para el proyecto; ya que los acreedores pueden tomar ventaja de ello exigiendo políticas que

perjudicarían a los propietarios del negocio. Por lo tanto la estructura de capital de nuestro proyecto será detallada en la *Tabla No. 4.4*.

Tabla No. 4.4

Estructura de Capital del Proyecto

Estructura de Capital del Proyecto	
Efectivo	57.852,70
Inversión Inicial	62.217,00
TOTAL:	120.069,70
Deuda 40%	48.027,88
Capital 60%	72.041,82
TOTAL:	120.069,70

Elaborado por: Los Autores

4.1.3 Determinación del Costo de Capital

El cálculo del costo del capital es de importancia, ya que representa la tasa mínima de rendimiento que debe de obtenerse para generar valor. El modelo utilizado para obtenerlo es el (CAPM).

Para calcular el costo del capital primeramente tenemos que determinar la estructura de capital; el cual lo mostramos en el punto 4.1.2., con un 40% deuda y 60% capital.

Después deducimos el costo que tiene cada uno de los componentes de la estructura de capital, que en el caso del financiamiento con deuda es el 12%, y el de

financiamiento con capital lo calculamos con las fórmulas y datos siguientes:
también ver Anexo No. 4.4.

$$K_e = R_f + \beta(R_m - R_f)$$

$$K_0 = K_i(1 - tc)(\% \text{deuda}) + K_e(\% \text{capital})$$

Tabla No. 4.5

Costo de Capital

Costo de Capital			
K₀ = 10,80%	(1-tc) = 0,75	% Capital = 0,60	
K_e = 12%	% Deuda = 0,40	R_f = 8%	
K_i = 12%	R_m = 12%	B = 1,00	

Elaborado por: Los Autores

Los resultados para el Rendimiento Exigido por el Capital Propio (Ke) es igual a 12% y Tasa del Costo de Capital (Ko) es igual a 10.80%, esta tasa es con la que se descontará el Flujo de Caja para el cálculo del Valor Actual Neto (VAN).

4.2 Presupuesto de Ingreso, Costo y Gastos.

4.2.1 Ingresos

La fuente de ingreso del proyecto será por la venta de *Trichogreen*, el cual será comercializado en paquetes de un kilogramo a un costo de \$ 15,00 cada uno; entendiéndose que cada paquete cubrirá una hectárea del cultivo en que se aplique.

La estimación de las ventas y producción de nuestros productos es a diez años con un incremento anual del 10% considerando la inflación en los últimos años y se reflejan en el *Anexo No. 4.5* y *Anexo No. 4.6*.

❖ **Costos y Gastos del Proyecto.**

4.2.2 Gastos de Administración

A continuación detallamos el costo del personal administrativo que contrataremos para la implementación de nuestro proyecto: *ver Tabla No. 4.6*.

Tabla No. 4.6

Costos de Gastos Administrativos

Gastos Administrativos				
No. Empleados	Personal	Sueldo/persona	Sueldo Mensual	Sueldo Anual
1	Director	650,00	650,00	7.800,00
1	Secretaria	250,00	250,00	3.000,00
1	Contador	400,00	400,00	4.800,00
2	Asistentes	200,00	400,00	4.800,00
2	Jefes	350,00	700,00	8.400,00
4	Vendedores	250,00	1.000,00	12.000,00
TOTAL:			3.400,00	40.800,00

Elaborado por: Los Autores

❖ **Mano de Obra Directa e Indirecta**

En las *tablas No. 4.7 y 4.8* detallamos los costos de la mano de obra directa e indirecta, donde nombramos el personal a necesitar para el desarrollo y elaboración del producto.

Tabla No. 4.7

Costos de Mano de Obra Directa

Costos de la Mano de Obra Directa				
No. Empleados	Personal	Sueldo/persona	Sueldo Mensual	Sueldo Anual
1	Investigador	300,00	300,00	3.600,00
1	Técnico de Laboratorio	250,00	250,00	3.000,00
TOTAL:			550,00	6.600,00

Elaborado por: Los Autores

Tabla No. 4.8

Costos de Mano de Obra Indirecta

Costo de la Mano de Obra Indirecta				
No. Empleados	Personal	Sueldo/persona	Sueldo Mensual	Sueldo Anual
1	Personal de Lavandería	160,00	160,00	1.920,00
1	Bodeguero	200,00	200,00	2.400,00
1	Seguridad	160,00	160,00	1.920,00
TOTAL:			520,00	6.240,00

Elaborado por: Los Autores

4.2.3 Gastos Financieros

❖ Amortizaciones

Para ver la amortización de la deuda del proyecto revisar *Anexo No. 4.7*.

4.2.4 Depreciaciones

Detallamos el cuadro de depreciaciones de todos los activos fijos en el *Anexo No. 4.8*.

❖ Valor de Desecho

Ya que el método de depreciación utilizado en este proyecto es de porcentaje fijo el valor de desecho fue calculado aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Valor en Libros} = \text{Costo Inicial} * (1-R)^N$$

Donde:

R: es la tasa de depreciación fija.

N: años a depreciarse el activo.

Aplicando la fórmula para todos los activos obtuvimos que el valor de desecho es \$ 17.292,39

4.2.5 Costo de Producción

En la *Tabla No. 4.9*, detallamos los costos de recolección de la tierra para obtener las cepas de *Trichoderma*.

Tabla No. 4.9

Costos de Recolección

Destinos de Recolección	Movilización	Gtos. Viaje
Naranjal, Balao, Puerto Inca.	20	10
Península de Santa Elena.	20	10
Milagro, Naranjito	20	10
Santa Lucía , Balzar, El Empalme	20	10
Total	80	40

Elaborado por: *Los Autores*

Adicionalmente detallamos en las *tablas No. 4.10 y 4.11* los costos de los materiales directos e indirectos, que utilizaremos para la producción de *Trichogreen*.

Tabla No. 4.10

Costos de Materiales Indirectos

Costos Materiales Indirectos				
Medida	Cant.	Materiales	Costo Unit.	Costo Total
	6	Enlemeyer 100 ml	14,00	84,00
	4	Viker	10,00	40,00
	4	Pipetas	280,00	1.120,00
Pq.	1	Agitadores 4unid. X pq.	10,00	10,00
Docena	4	Cajas Petri	25,00	100,00
Pq.	10	Puntas Amarillas 1000 uni. X pq.	10,55	105,50
Pq.	10	Puntas Azules 1000 uni. X pq.	11,20	112,00
	2	Espátulas	8,00	16,00
	4	Sacabocados	1,00	4,00
	2	Mortero	15,00	30,00
	1	Mechero	20,00	20,00
	2	Tamiz 2mm de diámetro	1,00	2,00
Caja	1	Placas Porta objeto 100 uni. X caja	7,8	7,80
Caja	1	Placas Cobre objeto 100 uni. X caja	6,00	6,00
	2	Perchas	10,00	20,00
	2	Balde	2,00	4,00
TOTAL:				1.681,30

Elaborado por: *Los Autores*

Tabla No. 4.11

Costos de Materiales Directos

Costos de Materiales Directos				
Medida	Cant.	Materiales	Costo Unit.	Costo Total
Cartón	4	Frascos 50 uni. X cartón	25,00	100,00
Quintal	60	Arrocillo	10,00	600,00
Frasco	2	Sulfato de Magnesio 500 gr.	22,64	45,28
Frasco	2	Sulfato de Estreptomicina 50 gr.	60,00	120,00
Frasco	1	Benomil 1 kg.	5,00	5,00
Garrafón	1	Alcohol	25,00	25,00
Frasco	1	Azul de Metileno 25 gr.	38,00	38,00
Garrafón	1	Alcohol Alílico para síntesis	48,23	48,23
Frasco	2	Papa Dextrosa Agar 500 gr.	61,60	123,20
Frasco	2	Calcio Cloruro 500 gr.	80,08	160,16
Frasco	2	Fosfato de Potasio Monobásico 500 gr.	13,51	27,02
Frasco	2	Nitrato de Calcio 500 gr.	36,96	73,92
Frasco	2	Acido Cítrico 500 gr.	48,16	96,32
Frasco	2	Sacarosa 500 gr.	34,72	69,44
		TOTAL:		1.531,57

Elaborado por: *Los Autores*

En el *Anexo No. 4.9* estimamos los costos totales de producción para diez años en los que implicaría la elaboración de nuestro producto.

❖ **Servicios Básicos**

Por servicios básicos tenemos los gastos de luz, agua y teléfono que es lo fundamental para el desempeño del laboratorio y la demás instalaciones. Se estima que el costo será de \$ 3.600 y con un incremento del 10% anual.

❖ **Gastos de Alquiler**

Para la implementación de nuestro proyecto hemos decidido alquilar un inmueble de aproximadamente 100 m², con un costo de \$ 12.000 proyectando un incremento del 10% cada año.

❖ **Gastos de Publicidad**

Se ha considerado valores a gastar por trípticos, folletos, carteles, cuñas por radio y prensa escrita, y estimamos un costo de \$ 2.400 con un incremento anual del 10%.

4.3 Resultados y Situación Financiera Estimados.

4.3.1 Estado de Pérdidas y Ganancias

El Estado de Pérdidas y Ganancias los mostramos en *Anexo No. 4.10*, proyectado a 10 años.

4.3.2 Flujo de Caja.

El Flujo de Caja representan los momentos en que ocurren los costos y beneficios de un proyecto; por lo que en el *Anexo No. 4.11*, mostramos los ingresos, costos y gastos en los que incurrirá nuestro proyecto estimados a 10 años.

4.4 Punto de Equilibrio.

En el punto de equilibrio determinamos el número de kilogramos de Trichogreen mínimo que se debe producir para que los ingresos sean iguales a los costos y no obtener pérdidas. El punto de equilibrio se lo calcula dividiendo los Costos Fijos para la resta del Ingreso Unitario con el Costo Variable Unitario y lo detallamos en el *Anexo No. 4.13*.

4.5 Análisis de Riesgo de la Inversión.

El análisis de sensibilidad consiste en el estudio de cómo afectaría la decisión económica si varían ciertos factores, permitiendo evaluar un proyecto de inversión

bajo diferentes escenarios, considerando hasta donde se pueden reducir los flujos de efectivo de un proyecto, y que siga siendo rentable. Las variables que se utilizaron para el análisis de sensibilidad fueron el precio de venta, el costo variable y las unidades producidas.

En el análisis de sensibilidad podemos notar que el proyecto es menos sensible con respecto al costo variable, que con respecto a la variación en las cantidades y en el precio de venta.

En los *gráficos No. 4.1, 4.2 y 4.3* podemos apreciar las variaciones sufridas del VAN y la TIR con respecto a las tres variables anteriormente mencionadas.

Tabla No. 4.12

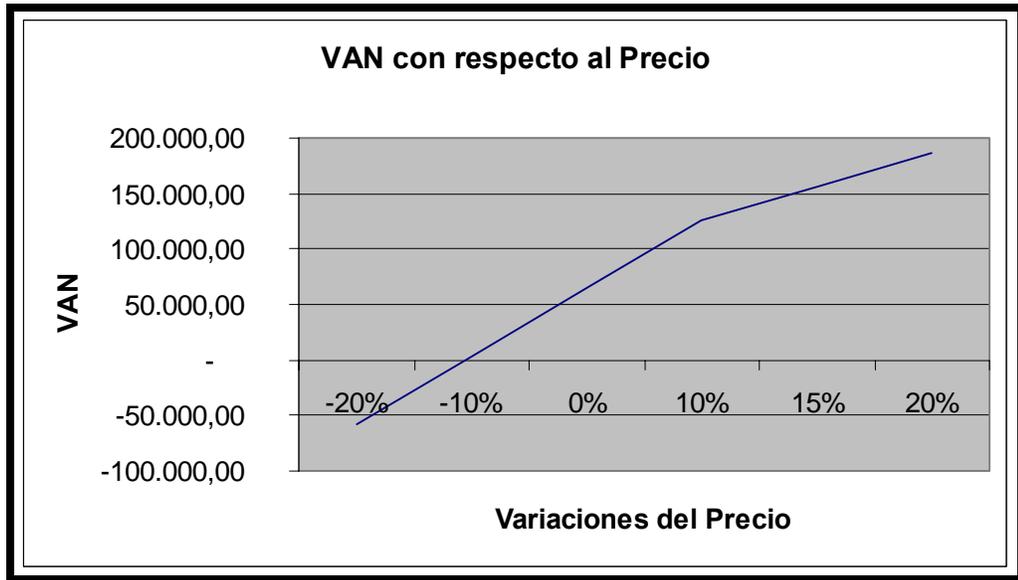
Sensibilidad del VAN con respecto al Precio

Precio	VAN	TIR
-20%	58.000,12	-5,37%
-10%	3.257,04	11,54%
0%	64.514,18	23,98%
10%	125.771,33	34,75%
15%	156.399,90	39,79%
20%	187.028,48	44,69%

Elaborado por: *Los Autores*

Gráfico No. 4.1

VAN con respecto al Precio



Elaborado por: *Los Autores*

Tabla No. 4.13

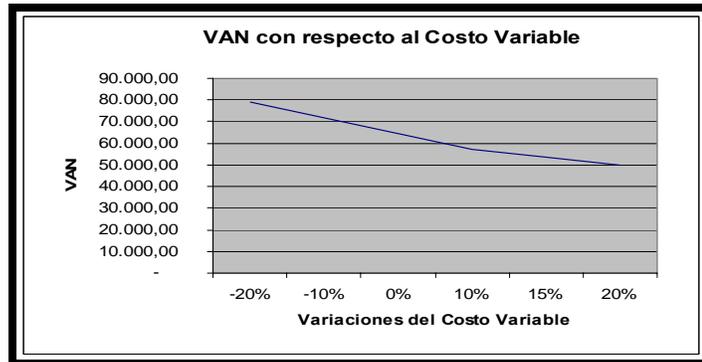
Sensibilidad del VAN con respecto a los Costos Variables

Costos Variables	VAN	TIR
-20%	79.152,58	26,66%
-10%	71.833,39	25,33%
0%	64.514,18	23,98%
10%	57.194,98	22,61%
15%	53.535,38	21,92%
20%	49.875,79	21,22%

Elaborado por: *Los Autores*

Gráfico No. 4.2

VAN con respecto al Costo Variable



Elaborado por: *Los Autores*

Tabla No. 4.14

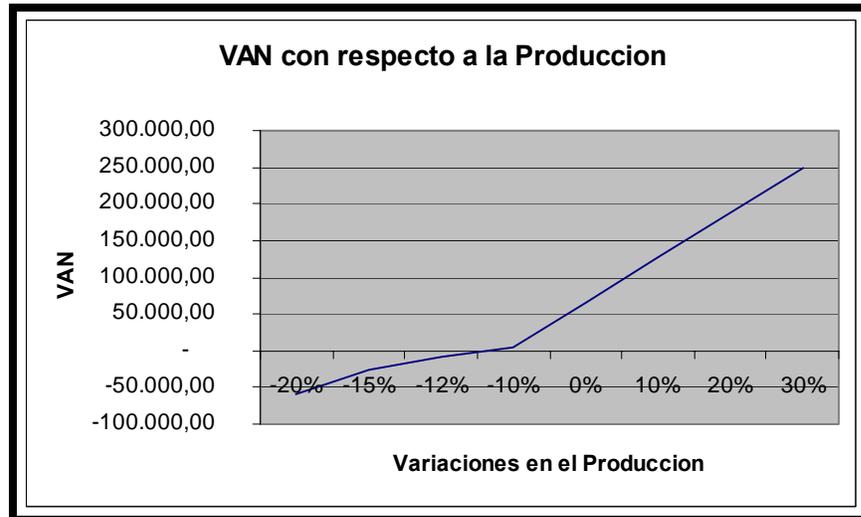
Sensibilidad del VAN con respecto a la Producción

Unidades Producidas	VAN	TIR
-20%	58.000,12	-5,37%
-15%	27.371,53	4,02%
-12%	8.994,39	8,69%
-10%	3.257,04	11,54%
0%	64.514,18	23,98%
10%	125.771,33	34,75%
20%	187.028,48	44,69%
30%	248.285,63	54,20%

Elaborado por: *Los Autores*

Gráfico No. 4.3

VAN con respecto a la Producción



Elaborado por: *Los Autores*

4.6 Criterios de Evaluación del Proyecto.

4.6.1 Valor Actual Neto.

El VAN es el método generalmente aceptado por los evaluadores; mide la rentabilidad del proyecto en valores monetarios que exceden a la rentabilidad deseada después de recuperar toda la inversión. Para ello, calcula el valor actual de todos los flujos futuros de caja proyectados a partir del primer periodo de operación y le resta la inversión inicial.

La tasa del Costo de Capital calculada en el punto 4.1.3; la cual es uno de los elementos necesarios para calcular el VAN; ya que es la tasa a la que se descontarán los flujos.

El VAN obtenido para nuestro proyecto es de \$ 64.514,18, (*Ver Anexo No. 4.11*). Al ser un VAN mayor que cero, muestra cuanto ganaremos en el proyecto después de recuperar la inversión.

4.6.2 Tasa Interno de Retorno.

La TIR es el rendimiento esperado del negocio por lo tanto se define como la tasa de descuento que iguala el valor equivalente de los flujos de entrada de efectivo al valor equivalente de los flujos salientes de efectivo.

Al igual que el cálculo del VAN se toman los resultados del Flujo de Caja del proyecto del *Anexo No. 4.11*.

4.6.3 Periodo de Recuperación.

El PRD es el plazo que transcurre antes de que se recupere el costo original de la inversión inicial del proyecto a partir de los flujos de efectivo descontados. El periodo de recuperación lo obtenemos con la siguiente fórmula:

$$PRC = N - 1 + \left[\frac{(FA)_{n-1}}{F_n} \right]$$

N = Años en el que el flujo acumulado cambia de signo.

$(FA)_{n-1}$ = Flujo de Efectivo Acumulado en el año previo a N .

F_n = Flujo neto de efectivo en el año N .

Para nuestro proyecto el periodo de recuperación es de 4,42 años el cual lo mostramos en el *Anexo No. 4.11*.

❖ *Periodo de Recuperación de la Inversión.*

El periodo de recuperación de la inversión (*PRI*) es usado para evaluar un proyecto y tiene por objeto medir en cuanto tiempo se recupera la inversión, incluyendo la tasa de retorno exigida. (*Ver Anexo No. 4.12*).

4.7 Tasa de Descuento

La tasa de descuento que utilizamos para calcular los flujos de caja del proyecto corresponde a la rentabilidad que el inversionista le exige a la inversión por renunciar a un uso alternativo de sus recursos, en proyectos con niveles de riesgos similares; esto es el costo de capital el cual fue determinado en el punto 4.1.3.

CAPÍTULO V

ESTUDIO ADMINISTRATIVO Y LEGAL

5.1 Estructura Organizacional

5.1.1 Legalidad de la Actividad y constitución de la compañía

Para definir la legalidad de la actividad de nuestra empresa nos hemos basado en la *Ley de Compañía*; la cual es regida por la Superintendencia de Compañías, donde contamos con las disposiciones generales, personas que pueden asociarse, capital a invertir, derechos, obligaciones y responsabilidades de los socios; información indispensable para la determinación del marco legal de la empresa.

AGROS será constituida como una compañía de responsabilidad limitada conformada por tres socios participando de manera equitativa en cuanto a sus aportaciones; siguiendo todos los requisitos exigidos y estipulados en el *Instructivo Societario* para la constitución de empresas mercantiles controlado por la Superintendencia de Compañías¹.

5.1.2 Personal a Cargo

Nuestra compañía contará con cinco departamentos los cuales son de vital importancia para efectuar el correcto manejo de la misma, la contratación del personal se realizará antes de la implementación del proyecto; el cual detallamos a continuación, así como también las diferentes funciones que el mismo desempeñará.

❖ *Departamento Financiero*

- **Contador:** Encargado de elaborar los balances, estados financieros de la empresa, ratios, flujos de caja, manteniendo la contabilidad de la compañía al día.

- **Asistente Contable:** Responsable de cartera de clientes provisión de cuentas por pagar, declaraciones al SRI, elaborar cheques, préstamos para el personal, rol de pagos y otros requerimientos contables.

¹ www.supercias.gov.ec

❖ *Departamento de Ventas y Marketing*

- **Jefe de Ventas y Marketing:** Tendrá como responsabilidad la supervisión de los vendedores de nuestra empresa; aplicando políticas y procedimientos para el efectivo desempeño del grupo que esta a su cargo. Deberá tener capacidad para negociación, liderazgo y análisis del sector agrícola.
- **Vendedores:** Es necesario que para este cargo, el candidato cuente con experiencia en procesos de venta y comercialización; así como también la elaboración de proformas de ventas y facturas, asesorar a los clientes y tener contacto con ellos.

❖ *Departamento de Recursos Humanos*

- **Jefe de Recursos Humanos:** La persona encargada dedicará parte de sus recursos a la selección de personal y a la formación profesional de éste, además estará pendiente de la capacitación del trabajador; sin olvidar de su desempeño dentro de la empresa, también estará a cargo de las relaciones de los trabajadores con la actividad empresarial.
- **Asistente:** Es importante que tenga conocimientos en computación, va a ser un soporte para el Jefe de Recursos Humanos en las diferentes tareas asignadas en esta área.

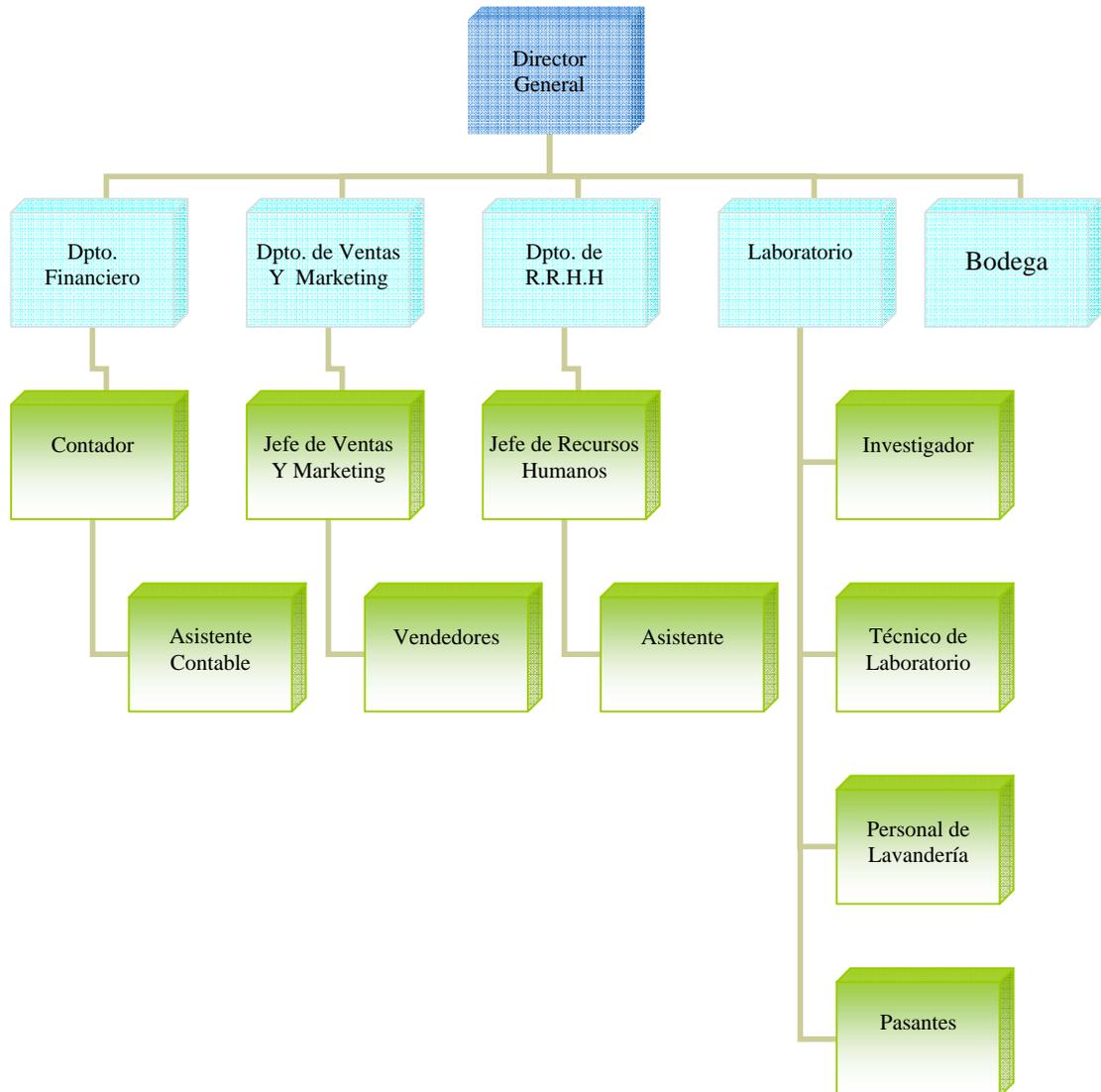
❖ **Laboratorio**

- **Investigador:** Es el encargado de llevar a cabo el proceso de aislamiento y propagación de *Trichoderma* dentro del laboratorio.
 - **Técnico de Laboratorio:** Es el que ayuda a realizar todo el proceso y deberá de tener el conocimiento necesario para tal efecto.
 - **Personal de Lavandería:** Personas encargadas de lavar los materiales que se utilicen dentro del proceso y mantener el stock suficiente para que no haya retrasos dentro del trabajo de laboratorio.
 - **Pasantes:** Personal de pre-grado que quisiera obtener experiencia en la obtención de un inóculo.
 - **Bodeguero:** Persona que se encargará de almacenar el producto final y despachar los diferentes pedidos.
- ❖ **Director General:** Es el encargado de dirigir, coordinar, planificar y controlar que todas las metas y objetivos propuestos se alcancen con éxito logrando así el crecimiento y desarrollo de la empresa.
- **Secretaria:** Redactará cartas, informes, actas de comités, realizará cotizaciones, comprobantes de pago, recibirá llamadas telefónicas, faxes y todas las actividades solicitadas por el Director General para el desempeño de la empresa.

5.1.3 Organigrama

Gráfico No. 5.1

Organigrama



Elaborado por: Los Autores

5.1.4 Ubicación

AGROS estará ubicado en la provincia del Guayas en la ciudad de Durán, debido a que en este sector se encuentran cerca las vías para los diferentes sectores agrícolas del país.

El área total del laboratorio será de 100 m² con las divisiones necesarias para todos las labores que se realizarán dentro de la estructura y dependiendo del incremento de producción, se irá reorganizando los espacios que se puedan tener dentro de las instalaciones; además de contar con las señalizaciones necesarias para que tanto el personal como visitantes tengan conocimiento de donde pueden ingresar.

El sitio tendrá un área de recepción de muestras y de entrega de productos; además de una pequeña despensa en la cual se tendrá en exhibición los productos que se procesan. En el *Anexo no. 5.1*, mostramos el plano de las instalaciones del laboratorio y oficinas de la empresa.

5.2 Procedimientos Administrativos

La administración tiene un papel muy importante dentro de nuestra empresa, la cual para su ejecución es necesario establecer procedimientos mediante los cuales se puedan generar soluciones claras a problemas determinados.

Dentro de todo proceso hay patrones establecidos que siguen una serie de normativas y controles que permiten regular sus acciones.

AGROS S. A está estructurada bajo parámetros organizativos en donde se conjugan el recurso humano y la ejecución de las actividades. Además se establecerán planes de acción estratégicos caracterizados por el manejo de procedimientos y/o políticas adecuadas para el control y la toma de decisiones dentro de la compañía.

Los procedimientos, no interesando su nivel, deben estar interrelacionados para contribuir al logro de las aspiraciones de la empresa; por lo tanto deben ser claros y de contenido realista, de tal forma que su interpretación sea uniforme. A continuación mencionamos algunos de estos procedimientos:

- ❖ La jornada de trabajo dentro de nuestra empresa será de ocho horas laborables empezando nuestras actividades a las 8:30 a.m hasta las 5 p.m.

- ❖ En caso de ausentismo por parte de uno de los trabajadores a su jornada laboral deberá notificar con anticipación al jefe respectivo; o si su ausencia es por motivo de fuerza mayor deberá comunicarse al inicio de la jornada con su jefe inmediato.

- ❖ El departamento de ventas en conjunto con el supervisor determinará el itinerario de actividades al que estarán sometidos los vendedores conforme a los objetivos planteados.

- ❖ Los empleados que trabajen dentro de la empresa tendrán estabilidad laboral, gozarán los beneficios de ley y la posibilidad de crecimiento personal y profesional.

- ❖ Si ocurre alguna falla en uno de los equipos o durante el proceso de producción debe ser inmediatamente reportado al Investigador o al Técnico de Laboratorio.

- ❖ Como compañía de responsabilidad limitada las juntas generales son ordinarias y extraordinarias las cuales se ejecutarán por lo menos una vez al año y en cualquier momento en que fueren convocadas respectivamente.

5.3 Impacto Ambiental

Trichoderma es un microorganismo competitivo que ofrece una protección biológica a la planta, destruye el inóculo patógeno presente y contribuye a prevenir su formación. Sin embargo, no es posible esperar un buen control en campos con antecedentes que favorecen a los hongos nocivos; debido a que este es un microorganismo que está presente en todos los suelos agrícolas en mayor o menor grado, por lo que la introducción de cepas de *Trichoderma* al suelo no causará gran impacto ambiental a la micro fauna del suelo a no ser que sea hongo patógeno, además este microorganismo benéfico es compatible con otros productos para agricultura orgánica además de una gran variedad de los plaguicidas (oxicloruro de cobre, metalaxyl, zineb, dimethomorph, mancozeb, dimethoato, lambdacihalotrina, difenamida, trifluralin y napropamida) son compatibles con las cepas de Trichoderma (Marusia Stefanova Nalimova 2006.), lo que se trata de reducir es justamente el uso de este tipo de químico que si causan impacto a la micro fauna, con el uso de microorganismos benéficos y que ayuden a la planta a mantener sus raíces sanas y mantener su sistema de defensa alerta que es unas de las cualidades de *Trichoderma*. Además de que no afecta a los insectos benéficos que ayudan a ejercer un control biológico dentro de las plantaciones. Por esta razón el impacto que se causaría con la implementación de cepas de este hongo ya identificado como una cepa antagonista será muy reducido o nulo dentro de los suelos agrícolas en nuestro país.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Una vez realizado los estudios de mercado, técnico, financiero y organizacional del proyecto, se conoció que el negocio planeado proporcionó la rentabilidad esperada. Y a partir de este punto, se podrá hacer uso de los resultados obtenidos para poner en marcha la producción de bioproductos con microorganismos para el control de enfermedades de las plantas con mayores perspectivas y oportunidades comerciales, brindando al sector agrícola una mejor opción para el control de sus cultivos.

La tasa de retorno obtenida en el proyecto es de 23,98%, la misma que es mayor a la tasa del costo de capital que es de 10,80%. Esto deja claro que el proyecto es altamente rentable. También obtuvimos que el periodo de recuperación del proyecto es menor a cinco años.

El VAN obtenido es mayor a cero, lo que permite concebir que el proyecto es, como antes mencionamos, rentable y genera utilidades. Por lo tanto la implementación de nuestro proyecto es beneficiosa para la sociedad.

Adicional a esto debemos de contar con un personal altamente capacitado y con amplio conocimiento en la producción de bioproductos con microorganismos. También tener control en el manejo de los materiales utilizados en el proceso de producción para obtener un producto óptimo y de calidad.

BIBLIOGRAFÍA

- *Biología de los Microorganismos*, Décima Edición, 2004; **MADIGAN MARTINKO Y PARKER**

- Agenda para el Desarrollo Social y Económico del Ecuador.

- http://www.foroconsultivo.org.mx/eventos_realizados/competitividad_cuatro/ponencias/dra_mendez.pdf#search=%22instituciones%20de%20comercializacion%20trichoderma%22

- <http://www.iabiotec.com>

- <http://www.oriusbiotecnologia.com/site/index.php?corporative>

- <http://www.agrobica.com.ve/tricobiol.php>

- <http://www.agrobica.com.ve/empresa.php>

- <http://www.agripac.com.ec>

- <http://www.ecuaquimica.com.ec>

- <http://www.agroecuador.com>
- <http://www.monografias.com>
- <http://www.google.com.ec>

- <http://www.yahoo.com>

- <http://www.bce.fin.ec>

- <http://www.bnf.fin.ec>

- <http://www.sica.gov.ec/agronegocios/Biblioteca/Ing%20Rizzo/agricultura/principal.htm>

- <http://www.nysedata.com/nysedata/InformationProducts/Bonds/ReferenceData/ABSBondsListHistoricalOnly/tabid/453/Default.aspx>

- <http://www.superban.gov.ec>

- http://www.supercias.gov.ec/paginas_htm/societario/Marco%20Legal.htm

- http://www.supercias.gov.ec/paginas_htm/societario/Marco2Legal/LeydeCompañias

ANEXOS

ANEXO No. 2.1

1) ¿Cuál de estas enfermedades fungosas tienen en su cultivo?

----- Fusarium ----- Rhizoztocnia ----- Botritis

----- Otros

2) ¿En qué etapa del cultivo tienen incidencia en este tipo de enfermedades?

----- Germinación -----Primeras etapas del cultivo -----Floración

----- Fructificación ----- Cosecha

3) ¿Qué tipo de químicos u orgánicos utiliza para el control de enfermedades y plagas?

----- control químico -----control orgánico -----mixto (químicos y orgánicos)

4) En el caso de que use control químico ¿cuál usaría?

----- químicos ----- químicos en cócteles

5) ¿Conoce usted de algún control biológico a base de microorganismos?

----- Hongos ----- Bacterias ----- Otros

6) En caso de que use productos orgánicos ¿qué tipo de productos utilizaría?

----- a base de algún tipo de microorganismos ----- Sólido o Líquido

7) ¿Si utiliza ambos controles?

----- Los rota ----- Aplica juntos

8) ¿Durante qué etapas del cultivo hace las aplicaciones de los productos que utiliza?

----- Preemergente ----- Primeras Etapas del Cultivo
----- Floración ----- Fructificación

9) ¿Cuánta es la inversión en el control de dichas enfermedades?

----- menor a \$ 20 x kilo ----- mayor o igual a \$ 20 x kilo

10) ¿Conoce usted de Trichoderma y el control que este ejerce sobre patógenos del suelo?

----- Si

----- No

11) ¿Usted conocía que *Trichoderma* es compatible con los sgtes productos?

----- Mancozeb (fungicida) ----- Benomil (fungicida)

----- Triasoles (fungicida para Sigatoca Negra (banano))

12) ¿Consideraría el uso de este microorganismo (*Trichoderma*) para control de sus enfermedades fúngicas?

----- Si

----- No

----- Porque

13) ¿Conoce las ventajas de utilizar este microorganismo en sus cultivos como control de enfermedades?

----- Si

----- No

Nota: en caso de conocer dichas ventajas a continuación mencionamos algunas de ellas:

❖ Antagonista

❖ Antibiosis

14) ¿Estaría dispuesto a pagar \$ 15 por kilo?

----- Si

----- No

ANEXO No. 2.3

ALTO! LEA EL PANFLETO ANTES DE USAR EL PRODUCTO Y CONSULTE AL PROFESIONAL EN CIENCIAS AGRICOLAS

TRICHOGREEN®
Fungicida microbiológico
Trichoderma harzianum

PRECAUCION

ANTIDOTO: No tiene

ESTE PRODUCTO PUEDE SER MORTAL SI SE INGIERE Y/O SE INHALA PUEDE CAUSAR DAÑOS A LOS OJOS Y A LA PIEL POR EXPOSICIÓN.

USO AGRONÓMICO:

MODO DE ACCIÓN:

Su modo de acción comienza alterando y degradando la pared celular de hongos patógenos debido a la eficiente producción de polisacáridos, proteasas y lipasas ocasionando la retracción de la membrana plasmática de la pared celular. Así mismo, desorganiza el citoplasma y actúa sobre la replicación celular al inhibir la germinación de esporas y la elongación del tubo germinativo.

EQUIPO DE APLICACIÓN:

El equipo de aplicación debe estar bien calibrado, en perfecto estado de funcionamiento. Se recomienda su aplicación con equipo estacionario, tractor, de motor y espalda, ajustados de tal forma que brinden una buena cobertura.



FORMA DE PREPARACIÓN DE LA MEZCLA:

Vierta la dosis en el tanque del equipo que contenga la mitad de agua a utilizar, agite bien y llénelo hasta completar el volumen final recomendado (500 – 800 L/ha o 350 – 560 L/mz).

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS DE USO, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE:

Se recomienda almacenar **TRICHOGREEN®** lejos de presencia de luz solar y en lugares frescos sin exceso de humedad. No es explosivo ni corrosivo. No transportar ni almacenar este producto con alimentos, medicinas, forrajes y/o utensilios de uso doméstico. Se recomienda manejar la mercadería en refrigeración (4°C). Conserve y almacene el producto en empaque original, etiquetado y cerrado herméticamente, separado de cualquier producto químico.

NO ALMACENAR ESTE PRODUCTO EN CASAS DE HABITACION. MANTENGASE FUERA DEL ALCANCE DE LOS NIÑOS, PERSONAS MENTALMENTE INCAPACES, ANIMALES DOMESTICOS, ALIMENTOS Y MEDICAMENTOS.



NO COMER, FUMAR O BEBER DURANTE EL MANEJO Y APLICACION DE ESTE PRODUCTO, BAÑESE DESPUES DE TRABAJAR Y PONGASE ROPA LIMPIA.



Beneficios

- Incrementa la población de antagonistas en los lotes agrícolas.
- Reduce el potencial del inoculo en lotes con problemas severos y reduce el numero de aplicaciones de fungicidas para control de la enfermedad.
- Mayor germinación y mejor desarrollo de plántulas.
- Favorece el manejo bio-ecológico de los cultivos. No causa contaminación al medio y ningún impacto ambiental.
- Se puede usar en Agricultura Orgánica o en proyectos de agricultura con Buenas Prácticas Agrícolas.

SINTOMAS DE INTOXICACIÓN:

TRICHOGREEN® puede causar reacciones alérgicas a personas susceptibles, irritación de piel y ojos, náuseas y fiebre. En caso de sufrir síntomas de intoxicación llamar de inmediato al médico.

PRIMEROS AUXILIOS:

INGESTIÓN: Si el paciente está consciente de a beber 2 vasos de agua y provoque el vómito tocando la parte superior de la garganta con el dedo.

INHALACIÓN: Traslade la persona afectada a una zona fresca, seca y aireada. Vigile la respiración. Si la persona no respira dar respiración artificial. Obtenga atención médica.

CONTACTO CON LOS OJOS: Manteniendo los ojos abiertos lave inmediatamente con agua por lo menos 15 min.

CONTACTO CON LA PIEL: Quite las prendas contaminadas y lave con abundante agua y jabón durante por lo menos 10 min. No exponga a los trabajadores a la llovizna de aplicación.

NUNCA DE A BEBER NI INDUZCA EL VOMITO A PERSONAS EN ESTADO DE INCONSCIENCIA.

ANTÍDOTO Y TRATAMIENTO MÉDICO:

No tiene antídoto. El tratamiento consiste en lavar la piel o el tracto digestivo según sea el caso.

MEDIDAS PARA LA PROTECCIÓN DEL AMBIENTE: NO CONTAMINE RÍOS, LAGOS Y ESTANQUES CON ESTE PRODUCTO O CON EMPAQUES VACÍOS.



MANEJO DE ENVASES, DESECHOS Y REMANENTES:

Los empaques vacíos deben llevarse al centro de acopio más cercano para su eliminación previo triple lavado. En caso de derrame o desecho de producto, lavar la superficie con agua abundante y desinfectar con alcohol al 70% o utilizar aserrín y enterrarlo lejos de fuentes de aguas superficiales, subterráneas y casas de habitación.

EL USO DE LOS EMPAQUES EN FORMA DIFERENTE PARA LO QUE FUERON DISEÑADOS, PONE EN PELIGRO LA SALUD HUMANA Y EL AMBIENTE.

AVISO DE GARANTÍA:

El fabricante y vendedor no ofrecen ninguna garantía, expresa o implícita, para la comercialización o utilidad del producto con cualquier propósito menos el expresado en esta etiqueta. El fabricante y vendedor garantizan que el producto contenido en este envase concuerda con la descripción química indicada y que se sigan las instrucciones de la etiqueta y panfleto. El usuario asume todo riesgo de uso, almacenamiento y manejo cuando no en estricta concordancia con las instrucciones acompañantes.

FABRICADO POR:

NOMBRE DE LA EMPRESA

DIRECCION

Tel.:

Email:

PAIS:

Reg. No.

Reg. Fecha.



ANEXO No. 2.3

RECOMENDACIONES DE USO:

TRICHOGREEN® es un producto para usarlo de manera preventiva y no curativa de choque.

Aplicar el producto en condiciones de humedad del suelo. Preferiblemente aplicar el producto en suelos con un pH entre 4 y 8.

La relación entre el método de aplicación y efectividad del producto es directa. Aplicar en días nublados o al atardecer.

Cuando se hace una mezcla para aplicar el producto diluido en agua no debe de estar más de 4 horas sin aplicarlo.

En caso de cultivos como pepino, chile dulce y tabasco, tomate, lechuga, papa, melón y sandía se recomienda aplicar en la siembra y al trasplante. Aplicar durante la siembra a la cama de semillero o al sustrato de las bandejas de germinación. En el trasplante aplicar a la base de cada planta (drench) o en el riego por goteo.

Se puede aplicar con fertilizantes en una solución arrancadora y si se aplica foliar se debe usar adherente.

Se recomienda utilizar la dosis de 240 g/ha o 168 g/mz. de **TRICHOGREEN®** en 2 barriles de agua de 200 litros cada uno. Se recomienda aplicar entre 25 y 50 cc. de solución por planta en suelos húmedos según el tamaño del área radicular a cubrir.

Al aplicar **TRICHOGREEN®** foliar, se recomienda hacerlo preferiblemente en horas frescas de la tarde.

En caso de ornamentales se recomienda diluir el producto en agua y sumergir las estacas durante 15 minutos antes de sembrar o se puede aplicar el producto en el medio de crecimiento.

Para granos se recomienda humedecer ligeramente la semilla con agua, luego mezclar el producto hasta lograr que se adhiera al grano, proceda a sembrarla.

CULTIVO	PATÓGENO	DOSIS	RECOMENDACIÓN
Ajo (<i>Allium sativum</i>), aguacate (<i>Persea americana</i>), Apio (<i>Apium graveolens</i>), Ajonjolí (<i>Sesamum indicum</i>), Arveja (<i>Pisum sativum</i>), Berenjena (<i>Solanum melongena</i>), Brócoli (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i>), Cacahuete (<i>Arachis hypogaea</i>), Calabacín (<i>Cucurbita pepo</i>), Caña de Azúcar (<i>Saccharum officinarum</i>), Cebolla (<i>Allium cepa</i>), Chile (<i>Capsicum annum</i> , <i>Capsicum frutescens</i>), Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>Botrytis</i>), Fresa (<i>Fragaria</i> spp.), Haba (<i>Vicia faba</i>), Lechuga (<i>Lactuca sativa</i>), Melón (<i>Cucumis melo</i>), Mora (<i>Rubis glaucus</i>), Nabo (<i>Brassica rapa</i>), Papa (<i>Solanum tuberosum</i>), Pepino (<i>Cucumis sativus</i>), Rábano (<i>Rapanus sativus</i>), Repollo (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>), Sandía (<i>Citrullus lanatus</i>), Tomate (<i>Lycopersicum sculentum</i>), Zanahoria (<i>Daucus carota</i>), Zapallo (<i>Cucurbita máxima</i>).	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>Pythium</i> spp., <i>Sclerotium</i> spp., <i>Rhizoctonia solani</i> y <i>Phytophthora</i>	240 g/ ha o 168 g/mz.	Se recomienda aplicar en la siembra y en el trasplante. Aplicar durante la siembra a la cama de semillero o al sustrato de las bandejas de germinación. En el trasplante aplicar a la base de cada planta (drench) o en el riego por goteo.
Ornamentales	<i>Fusarium</i> , <i>Pythium</i> , <i>Rhizoctonia</i> , <i>Alternaria</i> y <i>Phytophthora</i> .	240 g/ ha o 168 g/mz.	Diluir el producto en agua y sumergir las estacas durante 15 minutos antes de sembrar. Mezclar el producto en el medio de crecimiento.
Granos: Frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i>), maíz (<i>Zea mays</i>), sorgo (<i>Sorghum bicolor</i>) y arroz (<i>Oriza sativa</i>).	<i>Fusarium</i> , <i>Pythium</i> , <i>Sclerotium</i> y <i>Rhizoctonia</i> .	240 g. para la cantidad de semillas/ ha o 168 g. para la cantidad de semillas/mz.	Humedecer ligeramente la semilla con agua, luego mezclar el producto hasta lograr que se adhiera al grano, proceda a sembrar. También se puede aplicar una vez germinado el cultivo a la base de cada planta (drench).

INTERVALO DE APLICACIÓN: No existe restricción alguna.

INTERVALO ENTRE LA ÚLTIMA APLICACIÓN Y LA COSECHA: No existe restricción alguna.

INTERVALO DE REINGRESO AL ÁREA TRATADA: Si es aplicado al suelo no tiene restricción alguna. Si se aplica en el follaje se recomienda ingresar hasta que el rocío de la aplicación se haya secado.

FITOTOXICIDAD: No es fitotóxico a la dosis recomendada en este panfleto.

COMPATIBILIDAD: Se recomienda aplicar **TRICHOGREEN®** en ausencia de cualquier otro plaguicida de origen sintético, químico o biológico. Si se aplicaran se recomienda su uso 10 días antes o después de la aplicación con **TRICHOGREEN®**. Se recomienda el uso de adherente para uniformizar solución.

ANEXO No. 4.1

Inversión y Capital de Operación	
Inversiones	\$
Infraestructura	6.000,00
Equipos y Muebles de Oficina	10.720,00
Equipos y Enseres	41.997,00
Gastos Pre-Operativos	2.000,00
Imprevistos	1.500,00
Total Inversiones	62.217,00
Capital de Operación	
Gastos de Administración	40.800,00
Gastos de Alquiler	1.000,00
Mano de Obra Directa	6.600,00
Mano de Obra Indirecta	6.240,00
Materiales Directos	1.531,57
Materiales Indirectos	1.681,30
Total Capital de Operación	57.852,87
<i>Inversión Total</i>	120.069,87

ANEXO No. 4.4

Costos de Capital							
K₀ =	10,80%	(1-tc)=	0,75	% Capital =	0,60	N =	5,00
K_e =	12%	% Deuda =	0,40	R_f =	8%	FA =	9.571,03
K_i =	12%	R_m =	12%	β =	1,00	FN =	22.617,04

ANEXO No. 4.5

PRODUCCIÓN TRICHOGREEN

Caja del hongo	Kg.
1	13,33

Paquetes	Caja del Hongo	Kg.
Mensuales	46	613,18
Anuales	550	7331,5

Paquetes	Año1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5	Año 6	Año 7	Año 8	Año 9	Año 10
Cajas del Hongo	550,00	605,00	665,50	732,05	805,26	885,78	974,36	1.071,79	1.178,97	1.296,87
Kg. Anuales	7.331,50	8.064,65	8.871,12	9.758,23	10.734,05	11.807,45	12.988,20	14.287,02	15.715,72	17.287,29

ANEXO No. 4.6

Ingresos	Precio
Paq. De 1 kg.	\$15

Estimación de Ventas Mínimas										
Ingresos	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5	Año 6	Año 7	Año 8	Año 9	Año 10
Kg. Anuales Ventas de Trichogreen	7.331,50	8.064,65	8.871,12	9.758,23	10.734,05	11.807,45	12.988,20	14.287,02	15.715,72	17.287,29
TOTAL INGRESOS:	109.972,50	120.969,75	133.066,73	146.373,40	161.010,74	177.111,81	194.822,99	214.305,29	235.735,82	259.309,40

Estimación de Ventas Máximas										
Ingresos	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5	Año 6	Año 7	Año 8	Año 9	Año 10
Kg. Anuales Ventas de Trichogreen	23.994,00	26.393,40	29.032,74	31.936,01	35.129,62	38.642,58	42.506,83	46.757,52	51.433,27	56.576,60
TOTAL INGRESOS:	359.910,00	395.901,00	435.491,10	479.040,21	526.944,23	579.638,65	637.602,52	701.362,77	771.499,05	848.648,95

ANEXO No. 4.3

DETALLE DE ACTIVOS FIJOS

Equipos y Muebles de Oficina			
Descripción	Cantidad	Precio Unit.	Precio Total
Computadoras	9	600,00	5.400,00
Escritorios	10	200,00	2.000,00
Archivadores	6	270,00	1.620,00
Sillas de Escritorios	20	70,00	1.400,00
Muebles	3	100,00	300,00
TOTAL	48	1.240,00	10.720,00

Equipos Y Enseres			
Descripción	Cantidad	Precio Unit.	Precio Total
Vehiculo	1	14.000,00	14.000,00
Cámara de Flujo Vertical	1	5.850,00	5.850,00
Destilador de Agua	1	5.570,00	5.570,00
Autoclave	1	1.390,00	1.390,00
Peachimetro	1	1.050,00	1.050,00
Balanza Analítica	1	1.780,00	1.780,00
Incubadora	1	1.067,00	1.067,00
Microscopio Electrónico	1	10.000,00	10.000,00
Plancha con Agitador	1	790,00	790,00
Olla de Presión	1	500,00	500,00
TOTAL	10	41.997,00	41.997,00

Costos de Infraestructura		
Construcción	Medida m2	Valor
Oficinas de Administración	9	1.000,00
Bodega y Entrega	9	600,00
Sala de Espera	6	300,00
Recepción de Muestras	4	500,00
Cuarto de Aislamiento	16	1.200,00
Purificación y Propagación	16	1.000,00
Lavandería y Cristalería	12	400,00
Cuarto de Esterilización	12	800,00
Baños y Pasillo	16	200,00
TOTAL:	100	6.000,00

ANEXO No. 4.7

AMORTIZACION

Préstamo	48.027,88
Interés %	12,00
Años	10
Pago anual	8.500,17

Años	Pagos	Intereses	Amortización	Saldo
0				48.027,88
1	8.500,17	5.763,35	2.736,82	45.291,06
2	8.500,17	5.434,93	3.065,24	42.225,81
3	8.500,17	5.067,10	3.433,07	38.792,74
4	8.500,17	4.655,13	3.845,04	34.947,70
5	8.500,17	4.193,72	4.306,45	30.641,25
6	8.500,17	3.676,95	4.823,22	25.818,03
7	8.500,17	3.098,16	5.402,01	20.416,03
8	8.500,17	2.449,92	6.050,25	14.365,78
9	8.500,17	1.723,89	6.776,28	7.589,50
10	8.500,17	910,74	7.589,50	-

ANEXO No. 4.8

Depreciación													
Rubros	Total	%	Vida Útil	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5	Año 6	Año 7	Año 8	Año 9	Año 10
Infraestructura	6.000,00	0,05	20	300,00	300,00	300,00	300,00	300,00	300,00	300,00	300,00	300,00	300,00
Equipos y Enseres													
Vehículo	14.000,00	0,2	10	2.800,00	2.800,00	2.800,00	2.800,00	2.800,00	2.800,00	2.800,00	2.800,00	2.800,00	2.800,00
Cámara de Flujo Vertical	5.850,00	0,1	10	585,00	585,00	585,00	585,00	585,00	585,00	585,00	585,00	585,00	585,00
Destilador de Agua	5.570,00	0,1	10	557,00	557,00	557,00	557,00	557,00	557,00	557,00	557,00	557,00	557,00
Autoclave	1.390,00	0,1	10	139,00	139,00	139,00	139,00	139,00	139,00	139,00	139,00	139,00	139,00
Peachimetro	1.050,00	0,1	10	105,00	105,00	105,00	105,00	105,00	105,00	105,00	105,00	105,00	105,00
Balanza Analítica	1.780,00	0,1	10	178,00	178,00	178,00	178,00	178,00	178,00	178,00	178,00	178,00	178,00
Incubadora	1.067,00	0,1	10	106,70	106,70	106,70	106,70	106,70	106,70	106,70	106,70	106,70	106,70
Microscopio Electrónico	10.000,00	0,1	10	1.000,00	1.000,00	1.000,00	1.000,00	1.000,00	1.000,00	1.000,00	1.000,00	1.000,00	1.000,00
Plancha con Agitador	790,00	0,1	10	79,00	79,00	79,00	79,00	79,00	79,00	79,00	79,00	79,00	79,00
Olla de Presión	500,00	0,1	10	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00
Depreciaciones de Producción				5.899,70	5.899,70	5.899,70	5.899,70	5.899,70	5.899,70	5.899,70	5.899,70	5.899,70	5.899,70
Equipos y Muebles de Oficina													
Computadoras	5.400,00	0,2	10	1.080,00	1.080,00	1.080,00	1.080,00	1.080,00	1.080,00	1.080,00	1.080,00	1.080,00	1.080,00
Escritorios	2.000,00	0,1	10	200,00	200,00	200,00	200,00	200,00	200,00	200,00	200,00	200,00	200,00
Archivadores	1.620,00	0,1	10	162,00	162,00	162,00	162,00	162,00	162,00	162,00	162,00	162,00	162,00
Sillas de Escritorios	1.400,00	0,1	10	140,00	140,00	140,00	140,00	140,00	140,00	140,00	140,00	140,00	140,00
Muebles	300,00	0,1	10	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00
Depreciaciones Administrativas				1.612,00	1.612,00	1.612,00	1.612,00	1.612,00	1.612,00	1.612,00	1.612,00	1.612,00	1.612,00
Total a Depreciar				7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70
Total Acumulado				7.511,70	15.023,40	22.535,10	30.046,80	37.558,50	45.070,20	52.581,90	60.093,60	67.605,30	75.117,00

ANEXO No. 4.9

Estimación Costos de Producción										
	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5	Año 6	Año 7	Año 8	Año 9	Año 10
Costos Directos										
Mano de Obra Directa	6.600,00	7.260,00	7.986,00	8.784,60	9.663,06	10.629,37	11.692,30	12.861,53	14.147,69	15.562,45
Materiales Directos	1.531,57	1.684,73	1.853,20	2.038,52	2.242,37	2.466,61	2.713,27	2.984,60	3.283,06	3.611,36
Costos de Recolección	1.440,00	1.584,00	1.742,40	1.916,64	2.108,30	2.319,13	2.551,05	2.806,15	3.086,77	3.395,44
TOTAL	9.571,57	10.528,73	11.581,60	12.739,76	14.013,74	15.415,11	16.956,62	18.652,28	20.517,51	22.569,26
Costos Indirectos										
Mano de Obra Indirecta	6.240,00	6.864,00	7.550,40	8.305,44	9.135,98	10.049,58	11.054,54	12.159,99	13.375,99	14.713,59
Materiales Indirectos	1.681,30	1.849,43	2.034,37	2.237,81	2.461,59	2.707,75	2.978,53	3.276,38	3.604,02	3.964,42
Imprevistos	1.425,00	1.567,50	1.724,25	1.896,68	2.086,34	2.294,98	2.524,47	2.776,92	3.054,61	3.360,08
TOTAL	9.346,30	10.280,93	11.309,02	12.439,93	13.683,92	15.052,31	16.557,54	18.213,29	20.034,62	22.038,09
COSTO TOTAL:	18.917,87	20.809,66	22.890,62	25.179,68	27.697,65	30.467,42	33.514,16	36.865,58	40.552,13	44.607,35

ANEXO No. 4.10

Estado de Perdida y Ganancias										
Estado de Resultados	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5	Año 6	Año 7	Año 8	Año 9	Año 10
+ Ventas	109.972,50	120.969,75	133.066,73	146.373,40	161.010,74	177.111,81	194.822,99	214.305,29	235.735,82	259.309,40
- Costo de Producción	18.917,87	20.809,66	22.890,62	25.179,68	27.697,65	30.467,42	33.514,16	36.865,58	40.552,13	44.607,35
= Utilidad Bruta	91.054,63	100.160,09	110.176,10	121.193,71	133.313,08	146.644,39	161.308,83	177.439,71	195.183,69	214.702,05
- Gastos Administración	40.800,00	44.880,00	49.368,00	54.304,80	59.735,28	65.708,81	72.279,69	79.507,66	87.458,42	96.204,27
- Depreciación	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70
- Gastos de Alquiler	12.000,00	13.200,00	14.520,00	15.972,00	17.569,20	19.326,12	21.258,73	23.384,61	25.723,07	28.295,37
- Gastos Generales	3.600,00	3.960,00	4.356,00	4.791,60	5.270,76	5.797,84	6.377,62	7.015,38	7.716,92	8.488,61
- Gastos de Publicidad	2.400,00	2.640,00	2.904,00	3.194,40	3.513,84	3.865,22	4.251,75	4.676,92	5.144,61	5.659,07
= Utilidad Operativa	24.742,93	27.968,39	31.516,40	35.419,21	39.712,30	44.434,70	49.629,34	55.343,45	61.628,96	68.543,03
- Gastos Financieros	5.763,35	5.434,93	5.067,10	4.655,13	4.193,72	3.676,95	3.098,16	2.449,92	1.723,89	910,74
- Otros Egresos	3.462,00	3.808,20	4.189,02	4.607,92	5.068,71	5.575,59	6.133,14	6.746,46	7.421,10	8.163,21
Utilidad antes de Participación	15.517,58	18.725,27	22.260,28	26.156,16	30.449,87	35.182,17	40.398,04	46.147,07	52.483,97	59.469,08
- Participación Empleados (15%)	2.327,64	2.808,79	3.339,04	3.923,42	4.567,48	5.277,33	6.059,71	6.922,06	7.872,59	8.920,36
Utilidad antes de Impuestos	13.189,95	15.916,48	18.921,24	22.232,74	25.882,39	29.904,84	34.338,33	39.225,01	44.611,37	50.548,71
- Impuestos (25%)	3.297,49	3.979,12	4.730,31	5.558,18	6.470,60	7.476,21	8.584,58	9.806,25	11.152,84	12.637,18
= Utilidad Neta	9.892,46	11.937,36	14.190,93	16.674,55	19.411,79	22.428,63	25.753,75	29.418,76	33.458,53	37.911,54

ANEXO No. 4.11

FLUJO DE CAJA PROYECTADO											
	Año 0	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5	Año 6	Año 7	Año 8	Año 9	Año 10
Ventas		109.972,50	120.969,75	133.066,73	146.373,40	161.010,74	177.111,81	194.822,99	214.305,29	235.735,82	259.309,40
Ingresos de Efectivo		109.972,50	120.969,75	133.066,73	146.373,40	161.010,74	177.111,81	194.822,99	214.305,29	235.735,82	259.309,40
Salidas de Efectivo											
(-) Costos Variables		13.139,87	14.453,86	15.899,24	17.489,17	19.238,08	21.161,89	23.278,08	25.605,89	28.166,48	30.983,13
Costos Fijos											
(-) Mano de Obra		12.840,00	14.124,00	15.536,40	17.090,04	18.799,04	20.678,95	22.746,84	25.021,53	27.523,68	30.276,05
(-) Gastos de Administración		40.800,00	44.880,00	49.368,00	54.304,80	59.735,28	65.708,81	72.279,69	79.507,66	87.458,42	96.204,27
(-) Gastos de Alquiler		12.000,00	13.200,00	14.520,00	15.972,00	17.569,20	19.326,12	21.258,73	23.384,61	25.723,07	28.295,37
(-) Gastos de Publicidad		2.400,00	2.640,00	2.904,00	3.194,40	3.513,84	3.865,22	4.251,75	4.676,92	5.144,61	5.659,07
(-)Total Costos Fijos		68.040,00	74.844,00	82.328,40	90.561,24	99.617,36	109.579,10	120.537,01	132.590,71	145.849,78	160.434,76
(-) Depreciación		7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70
(-) Intereses		5.763,35	5.434,93	5.067,10	4.655,13	4.193,72	3.676,95	3.098,16	2.449,92	1.723,89	910,74
Utilidad antes de Impuestos		15.517,58	18.725,27	22.260,28	26.156,16	30.449,87	35.182,17	40.398,04	46.147,07	52.483,97	59.469,08
(-) Impuesto 25%		3.879,40	4.681,32	5.565,07	6.539,04	7.612,47	8.795,54	10.099,51	11.536,77	13.120,99	14.867,27
Utilidad antes de Participación		11.638,19	14.043,95	16.695,21	19.617,12	22.837,40	26.386,63	30.298,53	34.610,30	39.362,97	44.601,81
(-) Participación 15%		1.745,73	2.106,59	2.504,28	2.942,57	3.425,61	3.957,99	4.544,78	5.191,55	5.904,45	6.690,27
Utilidad Neta		9.892,46	11.937,36	14.190,93	16.674,55	19.411,79	22.428,63	25.753,75	29.418,76	33.458,53	37.911,54
(+) Depreciación		7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70
(+) Valor de Desecho											17.292,39
(-) Inversión	120.069,87										
(+) Préstamo	48.027,88										
Capital de Trabajo	7.190,96										7.190,96
(-) Amortización		2.736,82	3.065,24	3.433,07	3.845,04	4.306,45	4.823,22	5.402,01	6.050,25	6.776,28	7.589,50
Flujo de Caja	- 79.232,95	14.667,34	16.383,81	18.269,56	20.341,21	22.617,04	25.117,11	27.863,44	30.880,21	34.193,95	62.317,09
Flujo de Caja Acumulado	- 79.232,95	- 64.565,61	- 48.181,80	- 29.912,24	- 9.571,03	13.046,01	38.163,13	66.026,57	96.906,78	131.100,73	193.417,81
			TIR	23,98%	VAN	(10,80%)	64.514,18	PRD	4,42		

ANEXO No. 4.13

Punto de Equilibrio										
	Costos Fijos									
	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5	Año 6	Año 7	Año 8	Año 9	Año 10
Gastos de Administración	40.800,00	44.880,00	49.368,00	54.304,80	59.735,28	65.708,81	72.279,69	79.507,66	87.458,42	96.204,27
Mano de Obra	12.840,00	14.124,00	15.536,40	17.090,04	18.799,04	20.678,95	22.746,84	25.021,53	27.523,68	30.276,05
Gastos de Alquiler	12.000,00	13.200,00	14.520,00	15.972,00	17.569,20	19.326,12	21.258,73	23.384,61	25.723,07	28.295,37
Materiales Directos										
Costos de Recolección										
Materiales Indirectos										
Varios Producción										
Servicios Básicos										
Total Imprevistos										
Depreciación	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70	7.511,70
Total	73.151,70	79.715,70	86.936,10	94.878,54	103.615,22	113.225,58	123.796,96	135.425,49	148.216,87	162.287,39

ANEXO No. 4.13

Punto de Equilibrio										
	Costos Variables									
	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5	Año 6	Año 7	Año 8	Año 9	Año 10
Gastos de Administración										
Mano de Obra										
Gastos de Alquiler										
Materiales Directos	1.531,57	1.684,73	1.853,20	2.038,52	2.242,37	2.466,61	2.713,27	2.984,60	3.283,06	3.611,36
Costos de Recolección	1.440,00	1.584,00	1.742,40	1.916,64	2.108,30	2.319,13	2.551,05	2.806,15	3.086,77	3.395,44
Materiales Indirectos	1.681,30	1.849,43	2.034,37	2.237,81	2.461,59	2.707,75	2.978,53	3.276,38	3.604,02	3.964,42
Varios Producción	1.425,00	1.567,50	1.724,25	1.896,68	2.086,34	2.294,98	2.524,47	2.776,92	3.054,61	3.360,08
Servicios Básicos	3.600,00	3.960,00	4.356,00	4.791,60	5.270,76	5.797,84	6.377,62	7.015,38	7.716,92	8.488,61
Total Imprevistos	3.462,00	3.808,20	4.189,02	4.607,92	5.068,71	5.575,59	6.133,14	6.746,46	7.421,10	8.163,21
Depreciación										
Total	13.139,87	14.453,86	15.899,24	17.489,17	19.238,08	21.161,89	23.278,08	25.605,89	28.166,48	30.983,13

Descripción	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5	Año 6	Año 7	Año 8	Año 9	Año 10
KG. Anuales	7.331,50	8.064,65	8.871,12	9.758,23	10.734,05	11.807,45	12.988,20	14.287,02	15.715,72	17.287,29
Ingresos por Ventas	109.972,50	120.969,75	133.066,73	146.373,40	161.010,74	177.111,81	194.822,99	214.305,29	235.735,82	259.309,40
Ingreso Unitario	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00
Costo Variable Unitario	1,79	1,79	1,79	1,79	1,79	1,79	1,79	1,79	1,79	1,79

Años	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5	Año 6	Año 7	Año 8	Año 9	Año 10
Punto de Equilibrio en Unidades	5.537,60	6.034,50	6.581,08	7.182,33	7.843,70	8.571,20	9.371,46	10.251,74	11.220,05	12.285,19
Punto de Equilibrio en Dólares	83.064,00	90.517,45	98.716,24	107.734,91	117.655,44	128.568,03	140.571,87	153.776,11	168.300,76	184.277,88

ANEXO No. 4.14

IMPREVISTOS

Imprevistos (5%)	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5	Año 6	Año 7	Año 8	Año 9	Año 10
Gastos de Administración	2.040,00	2.244,00	2.468,40	2.715,24	2.986,76	3.285,44	3.613,98	3.975,38	4.372,92	4.810,21
Mano de Obra	642,00	706,20	776,82	854,50	939,95	1.033,95	1.137,34	1.251,08	1.376,18	1.513,80
Gastos de Alquiler	600,00	660,00	726,00	798,60	878,46	966,31	1.062,94	1.169,23	1.286,15	1.414,77
Servicios Básicos	180,00	198,00	217,80	239,58	263,54	289,89	318,88	350,77	385,85	424,43
Total Imprevistos	3.462,00	3.808,20	4.189,02	4.607,92	5.068,71	5.575,59	6.133,14	6.746,46	7.421,10	8.163,21

ANEXO No. 4.12

PERIODO DE RECUPERACIÓN

	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5	Año 6	Año 7	Año 8	Año 9	Año 10	
Saldo de Inversión	120.069,87	118.370,08	114.770,24	108.895,86	100.315,40	88.532,42	72.976,81	52.994,87	27.838,10	-	3.349,33
Flujo de Caja	14.667,34	16.383,81	18.269,56	20.341,21	22.617,04	25.117,11	27.863,44	30.880,21	34.193,95		62.259,93
Rentabilidad Exigida	12.967,55	12.783,97	12.395,19	11.760,75	10.834,06	9.561,50	7.881,50	5.723,45	3.006,52	-	361,73
Recuperación Inversión	1.699,79	3.599,85	5.874,37	8.580,46	11.782,98	15.555,61	19.981,95	25.156,76	31.187,44		62.621,65

ANEXO No. 5.1

PLANO DE INSTALACIONES DE LA COMPAÑÍA

