



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

CARRERA DE AGRÍCOLA

**INFORME DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR PREVIO A
LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO INGENIERO AGRÍCOLA**

MECANISMO: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

TEMA:

**EVALUACIÓN DE CEPAS DE *Trichoderma* spp COMO
BIOESTIMULANTE EN EL CRECIMIENTO Y RENDIMIENTO DEL
CULTIVO DE PIMIENTO**

AUTORES:

**GABRIEL ALEXANDER SABANDO ZAMBRANO
ANGELA ASUNCIÓN ZAMBRANO RISCO**

TUTOR:

ING. ÁNGEL M. GUZMÁN CEDEÑO, Ph.D

CALCETA, NOVIEMBRE 2022

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

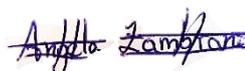
GABRIEL ALEXANDER SABANDO ZAMBRANO con cédula de ciudadanía 1207114222 y **ANGELA ASUNCIÓN ZAMBRANO RISCO** con cédula de ciudadanía 1315224806, declaramos bajo juramento que el Trabajo de Integración Curricular titulado: “**EVALUACIÓN DE CEPAS DE *Trichoderma spp* COMO BIOESTIMULANTE EN EL CRECIMIENTO Y RENDIMIENTO DEL CULTIVO DE PIMIENTO**” es de nuestra autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración, concedemos a favor de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos, conservando a nuestro favor todos los derechos patrimoniales de autor sobre la obra, en conformidad con el Artículo 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los conocimientos, Creatividad e Innovación.



GABRIEL ALEXANDER SABANDO ZAMBRANO

CC: 1207114222



ANGELA ASUNCIÓN ZAMBRANO RISCO

CC: 1315224806

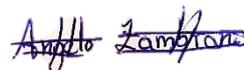
AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

GABRIEL ALEXANDER SABANDO ZAMBRANO con cédula de ciudadanía 1207114222 y **ANGELA ASUNCIÓN ZAMBRANO RISCO** con cédula de ciudadanía 1315224806, autorizo a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, la publicación en la biblioteca de la institución del Trabajo de Integración Curricular titulado: “**EVALUACIÓN DE CEPAS DE *Trichoderma* spp COMO BIOESTIMULANTE EN EL CRECIMIENTO Y RENDIMIENTO DEL CULTIVO DE PIMIENTO**”, cuyo contenido, ideas y criterios son de nuestra exclusiva responsabilidad y total autoría.



GABRIEL ALEXANDER SABANDO ZAMBRANO

CC: 1207114222



ANGELA ASUNCIÓN ZAMBRANO RISCO

CC: 1315224806

CERTIFICACIÓN DE TUTOR

ING. ÁNGEL M. GUZMÁN CEDEÑO, Ph.D, certifica haber tutelado el Trabajo de Integración Curricular titulado: **“EVALUACIÓN DE CEPAS DE *Trichoderma* spp COMO BIOESTIMULANTE EN EL CRECIMIENTO Y RENDIMIENTO DEL CULTIVO DE PIMIENTO”**, que ha sido desarrollado por **GABRIEL ALEXANDER SABANDO ZAMBRANO Y ANGELA ASUNCIÓN ZAMBRANO RISCO**, previo la obtención del título de Ingeniero Agrícola, de acuerdo al **REGLAMENTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR DE CARRERAS DE GRADO** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

ING. ÁNGEL MONSERRATE GUZMÁN CEDEÑO, Ph.D

CC: 1202260038

TUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el Trabajo de Integración Curricular titulado: **EVALUACIÓN DE CEPAS DE *Trichoderma* spp COMO BIOESTIMULANTE EN EL CRECIMIENTO Y RENDIMIENTO DEL CULTIVO DE PIMIENTO**, que ha sido desarrollado por **GABRIEL ALEXANDER SABANDO ZAMBRANO Y ANGELA ASUNCIÓN ZAMBRANO RISCO**, previa la obtención del título de Ingeniero Agrícola, de acuerdo al **REGLAMENTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR DE CARRERAS DE GRADO** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

.....
ING. Galo Alexander Cedeño García, M.Sc

CC: 1311956831

PRESIDENTE TRIBUNAL

.....
Ing. Cristian Valdivieso López, M. Sc

CC: 1717929283

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

.....
Ing. Sergio Vélez Zambrano, M. Sc

CC: 1310476773

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de crecer como ser humano a través de la educación superior de calidad y en la cual he forjado mis conocimientos profesionales día a día.

A Dios principalmente por ser nuestra guía ya que gracias a él hemos logrado concluir nuestra carrera.

Al Ing. Ángel Guzmán Cedeño, Ph.D por habernos guiado de manera muy correcta en nuestra tesis.

Al Ing. Diego Zambrano Pazmiño por ser nuestro cotutor en todo el proceso y desarrollo de la tesis.

A nuestros padres por todo el apoyo brindado durante todo este proceso ya que son nuestros pilares fundamentales día a día.

A nuestros profesores por brindarnos las herramientas necesarias y adecuadas para nuestro crecimiento profesional e individual.

Y finalmente a nuestros familiares, amigos y demás personas que nos motivaron a lo largo de nuestra carrera con su apoyo incondicional.

Gabriel Alexander Sabando Zambrano y Angela Asunción Zambrano Risco
Autores

DEDICATORIA

Dedicamos nuestro proyecto de tesis a Dios quien ha sido nuestro guía y fortaleza durante todo este tiempo.

A nuestros padres quienes con su amor, paciencia y esfuerzos nos permitieron llegar a cumplir las metas propuestas, por ser quienes nos han guiado por el camino del bien y nos inculcaron desde pequeño el sentido de la responsabilidad y el esfuerzo.

Gabriel Alexander Sabando Zambrano y Angela Asunción Zambrano Risco
Autores

CONTENIDO GENERAL

| | |
|--|------|
| DECLARACIÓN DE AUTORÍA..... | ii |
| AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN..... | iii |
| CERTIFICACIÓN DE TUTOR | iv |
| APROBACIÓN DEL TRIBUNAL..... | v |
| AGRADECIMIENTO..... | vi |
| DEDICATORIA | vii |
| CONTENIDO GENERAL | viii |
| ÍNDICE DE TABLAS | x |
| RESUMEN | xi |
| ABSTRACT..... | xii |
| CAPÍTULO I. ANTECEDENTES | 1 |
| 1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA | 1 |
| 1.2. JUSTIFICACIÓN | 2 |
| 1.3. OBJETIVOS | 3 |
| 1.3.1. OBJETIVO GENERAL | 3 |
| 1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 3 |
| 1.4. HIPÓTESIS..... | 3 |
| CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO..... | 4 |
| 2.1. LOS MICROORGANISMOS (LOS BIOESTIMULANTES) | 4 |
| 2.2. <i>Trichoderma</i> spp | 5 |
| 2.2.1. BIOLOGÍA DE <i>Trichoderma</i> spp..... | 6 |
| 2.2.2. CEPAS DE <i>Trichoderma</i> COMO BIOESTIMULANTE..... | 6 |
| 2.3. REFERENCIA DE EFICIENCIA DE <i>Trichoderma</i> spp COMO BIOESTIMULANTE | 8 |
| 2.4. PIMIENTO HÍBRIDO SALVADOR | 9 |

| | |
|---|----|
| 2.5. MICROORGANISMOS QUE SE EMPLEARON COMO BIOESTIMULANTES | 10 |
| CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO | 11 |
| 3.1. UBICACIÓN..... | 11 |
| 3.2. DURACIÓN..... | 11 |
| 3.3. FASES DE ESTUDIO | 11 |
| FASE I: SELECCIÓN DE AISLADOS DE <i>Trichoderma</i> spp..... | 11 |
| FASE II: VIVERO: EVALUACIÓN DE CEPAS DE <i>Trichoderma</i> SOBRE EL CRECIMIENTO Y RENDIMIENTO DEL PIMIENTO H. SALVADOR | 15 |
| CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 19 |
| 4.1. LA SOLUBILIZACIÓN DE FOSFATO TRICÁLCICO | 19 |
| 4.2. DETECCIÓN DE SIDERÓFOROS | 20 |
| 4.3. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE INÓCULO DE <i>Trichoderma</i> SOBRE LA LONGITUD RADICULAR DE LAS SEMILLAS DE PIMIENTO..... | 21 |
| 4.4 IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE LAS CEPAS DE <i>Trichoderma</i> | 22 |
| a) ALTURA DE PLANTA | 23 |
| b) LONGITUD RADICULAR | 24 |
| c) PESO FRESCO DE PLANTA | 25 |
| d) PESO SECO DE PLANTA (g) | 26 |
| e) RENDIMIENTO DE FRUTOS POR PLANTA | 27 |
| CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES..... | 28 |
| BIBLIOGRAFÍA..... | 29 |
| ANEXO..... | 36 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|-----|
| 4.1. Índice solubilización de fosfato (72 horas)..... | 19 |
| 4.2. Detección de sideróforos a los 15 días de incubación..... | 20 |
| 4.3. Efecto de los factores: cepas y concentraciones de la longitud radicular (cm)..... | 21 |
| 4.4. Identificación molecular de las cepas de <i>Trichoderma</i> | 22 |
| 4.5. Efecto simple de las cepas y concentraciones sobre la altura de planta (cm)..... | 220 |
| 4.6. Efecto simple de las cepas y concentraciones sobre la longitud radicular (cm)..... | 24 |
| 4.7. Efecto simple de las cepas y concentraciones sobre el peso fresco de la planta (g)..... | 25 |
| 4.8. Efecto simple de las cepas y concentraciones sobre el peso seco de la planta (g)..... | 26 |
| 4.9. Efecto de las cepas y concentraciones sobre el rendimiento por planta (fruto)..... | 27 |

RESUMEN

En ocasiones, las plantas cultivadas tienen limitado desarrollo vegetativo y productivo porque están expuestas a deficiencias de nutrientes en suelos con baja fertilidad natural o a la escasa solubilidad de nutrientes, como ocurre con el fósforo; ante ello, en el presente trabajo se planteó evaluar cepas de *Trichoderma* spp como bioestimulantes en el crecimiento y rendimiento del cultivo de pimiento H. Salvador. La primera fase del estudio se realizó en condiciones de laboratorio, se emplearon 14 cepas de *Trichoderma* para determinar la solubilización de fosfato tricálcico, detección de sideróforos y efecto estimulante sobre la germinación de semillas de pimiento y longitud radicular. Para la fase de campo se seleccionaron dos cepas de *Trichoderma*; con cada una se realizó un experimento, empleando un diseño completamente al azar y cuatro réplicas, donde se evaluó la concentración del microorganismo (10^2 , 10^3 , 10^4) y dos testigos, sobre: longitud de raíz, altura de planta, peso fresco y seco de planta, y número de frutos por planta. *In vitro*, las cepas promisorias fueron EM-12 y EM-134 que se identificaron como *T. longibrachiaum* y *Trichoderma* sp. En las variables vegetativas se encontró respuesta similar entre las dos cepas evaluadas y el testigo positivo (fosfato soluble); sin embargo, el número de frutos fue mayor al aplicar *Trichoderma* sp (4,5) que *T. longibrachiaum* (3,5). De acuerdo a las categorías estadísticas la mayor concentración del inóculo tiene efectos positivos sobre la planta. Se concluye que las cepas seleccionadas actuaron como promotoras del crecimiento vegetal.

Palabras clave: Microorganismo promotores de crecimiento vegetal, Biofertilizante, *Trichoderma*.

ABSTRACT

Sometimes, cultivated plants have limited vegetative and productive development because they are exposed to nutrient deficiencies in soils with low natural fertility or to poor nutrient solubility, as occurs with phosphorus; given this, in the present work it was proposed to evaluate strains of *Trichoderma spp* as biostimulants in the growth and yield of the H. Salvador pepper crop. The first phase of the study was carried out under laboratory conditions, 14 *Trichoderma* strains were used to determine tricalcium phosphate solubilization, siderophore detection and stimulating effect on pepper seed germination and root length. For the field phase, two strains of *Trichoderma* were selected; an experiment was carried out with each one, using a completely randomized design and four replications, where the concentration of the microorganism (10^2 , 10^3 , 10^4) and two witnesses were evaluated on: root length, plant height, fresh and dry weight of the plant, and number of fruits per plant. In vitro, the promising strains were EM-12 and EM-134, which were identified as *T. longibrachiaum* and *Trichoderma sp*. In the vegetative variables, a similar response was found between the two strains evaluated and the positive control (soluble phosphate); however, the number of fruits was higher when applying *Trichoderma sp* (4.5) than *T. longibrachiaum* (3.5). According to the statistical categories, the highest concentration of the inoculum has positive effects on the plant. It is concluded that the selected strains acted as plant growth promoters.

Key words: Microorganism consortium, Biostimulant, Crop productivity, *Trichoderma*.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

En ocasiones, las plantas cultivadas tienen limitado desarrollo vegetativo y productivo porque están expuestas a deficiencias de nutrientes en suelos con baja fertilidad natural o a la escasa solubilidad de nutrientes y por tanto no están disponibles para la planta en la solución del suelo. Ante ello, en agricultura convencional se incorporan al suelo fertilizantes de síntesis, que producen beneficios directos e inmediatos a la planta, pero también efectos adversos a los recursos agro productivos a mediano y largo plazo, sobre todo cuando no hay un uso adecuado de los fertilizantes.

En modelos de agricultura alternativa (orgánica, agroecología, biológica, etc) el aporte de nutrientes a los cultivos, en suelos de baja fertilidad, es a través de abonos orgánicos con bajo contenido de elementos minerales que no satisfacen los requerimientos de los cultivos; sin embargo, son una fuente importante de materia orgánica, que contribuye en la restauración de las características físicas, químicas y biológicas del suelo, en especial por la carga microbiana que participa en procesos naturales de ciclaje de nutrientes y regulación de plagas (Leal et al., 2018).

La literatura científica hace referencia de microorganismos promotores de crecimiento vegetal, conocidos como PGPM (Plant Growth-Promoting Microorganism), aislados de ambientes diversos, con la habilidad potencial de afectar positivamente el crecimiento de las plantas (Bashan et al., 2014); entre ellos, diferentes especies de *Trichoderma* tienen efecto promotor de crecimiento por la producción de fitohormonas y solubilización de fosfatos (Cubillos et al. 2009). Algunas cepas de *Trichoderma* tienen una acción bioestimulante predominante que las hace únicas para su uso extendido en horticultura (Fiorentino et al., 2018; López et al., 2015).

Lo expuesto anteriormente, puede comprobarse en el cultivo de pimiento que tiene una alta demanda de nutrientes, ocurriendo la mayor absorción de elementos minerales en los primeros 60 días de crecimiento, y otra demanda de

nutrientes después de la primera remoción de frutos (Guamangallo, 2015). En este lapso, los bioestimulantes microbianos pueden mejorar la disponibilidad de nutrientes para la absorción de las plantas aumentando la capacidad de intercambio catiónico del suelo, proporcionando nitrógeno a los cultivos y/o mejorando la solubilidad de los nutrientes en la solución del suelo (De Jardin, 2015).

Por lo expuesto, se formula la siguiente interrogante. ¿Qué cepa de *Trichoderma* spp incide favorablemente en el crecimiento y rendimiento del cultivo de pimiento?

1.2. JUSTIFICACIÓN

Monfil y Casas (2014) mencionan que el *Trichoderma* spp induce en la planta la respuesta de defensa contra fitopatógenos actuando como bioestimulador, además estimula el crecimiento y desarrollo de las plantas por medio de la producción de moléculas promotoras del crecimiento de las plantas mediante la activación de los procesos que regulan el biocontrol.

Además, el uso de bioestimulantes naturales o sintéticos en la agricultura es una de las alternativas que logran estimular procesos fisiológicos específicos tanto en el crecimiento y rendimiento de muchos cultivos debido a sus diferentes mecanismos de acción. Con el avance de la tecnología y estudios genéticos en la producción de nuevos híbridos, se han desarrollado nuevas técnicas en el manejo de cultivos, por lo que la tendencia actual en la agricultura es encontrar alternativas que garanticen el incremento de los rendimientos con resultados de excelente calidad del producto, conservación de los recursos agro productivos y alta rentabilidad económica.

Consecuentemente, la Politécnica de Manabí por ser una universidad con dominios académicos en las ciencias agropecuarias, está muy comprometida en la generación y/o validación de prácticas agronómicas que contribuyan al desarrollo sostenible de los sistemas de producción agropecuarios. En tal sentido, en el Laboratorio de Biología Molecular de la ESPAM MFL se cuenta con un cepario de *Trichoderma* sp, seleccionados y conservados por su función como promotores del crecimiento vegetal.

El accionar de la ESPAM MFL, y por ende este proyecto, se ajusta a lo propuesto por la ONU (Organización de Naciones Unidas) en su propósito “Transformar nuestro mundo: la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible”, que en su objetivo 15 promulga: “Proteger, restablecer y promover el uso sostenible de los ecosistemas terrestres, gestionar sosteniblemente los bosques, luchar contra la desertificación, detener o revertir la degradación de las tierras y la pérdida de biodiversidad con su meta 15.6: De aquí a 2030, promover la participación justa y equitativa en los beneficios derivados de la utilización de los recursos genéticos y promover el acceso adecuado a esos recursos, según lo convenido internacionalmente”.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1.OBJETIVO GENERAL

Evaluar la eficacia de las cepas de *Trichoderma* spp como bioestimulante en el crecimiento y rendimiento del cultivo de pimiento H. Salvador.

1.3.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Seleccionar las cepas de *Trichoderma* spp por su capacidad promotora de crecimiento vegetal a nivel in vitro.
- Validar las cepas de *Trichoderma* spp, seleccionadas, sobre el crecimiento y rendimiento del cultivo de pimiento H. Salvador a nivel de macetas.

1.4. HIPÓTESIS

Las cepas de *Trichoderma* spp como bioestimulante mejora el crecimiento y rendimiento del cultivo de pimiento H. Salvador.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. LOS MICROORGANISMOS (LOS BIOESTIMULANTES)

Los bioestimulantes agrícolas se encuentran entre los productos más antiguos que se vienen utilizando en la agricultura. Siempre ha existido la necesidad de estimular el crecimiento de las plantas para aumentar los rendimientos y, tanto más, cuando el agricultor ve que su cosecha puede verse mermada, sobre todo, después de haber pasado por una inclemencia meteorológica. Sin embargo, el uso del término bioestimulante es más reciente. A partir de la mitad de la década de los noventa empiezan a aparecer artículos y publicaciones mencionando el término bioestimulante y, hasta hoy, el incremento de uso de este término ha crecido de manera exponencial (Castillo, 2017).

Los bioestimulantes se definen como sustancias o microorganismos que, al ser aplicados a la planta, mejoran la capacidad de absorción y asimilación de nutrientes, brindan tolerancia y/o resistencia a factores bióticos y abióticos y mejoran sus características agronómicas, independientemente de su contenido nutricional (De Jardin, 2015).

Una alternativa para la sostenibilidad de la agricultura es la utilización de abonos orgánicos y en particular el uso de bioestimulante de alta calidad, económicamente accesible, con el cual se mejora la calidad del suelo, se promueve un mayor desarrollo vegetativo, influye en los procesos metabólicos y fisiológicos e incrementa el rendimiento de los cultivos (Rodríguez, 2017; Torres et al., 2019).

El uso de microorganismos eficientes (ME) ha sido investigado, desarrollado y aplicado en una multitud de usos agropecuarios y ambientales, además, son utilizados en más de 80 países del mundo, distintos autores refieren que el principio fundamental de la tecnología consiste en la introducción de un grupo de microorganismos benéficos para mejorar las condiciones del suelo, y la producción de varios cultivos, la búsqueda de alternativas con bioestimulantes, biofertilizantes o bioproductos, constituyen una alternativa para promover incrementos en el rendimiento (Calero et al., 2018, Calero et al., 2017).

2.2. *Trichoderma* spp

Las especies de *Trichoderma* predominan en ecosistemas terrestres (bosques o suelos agrícolas), tienen bajo requerimiento nutrimental pero relativamente amplio rango de temperatura (25-30°C) para su crecimiento. Además, poseen alta adaptabilidad a condiciones ecológicas y pueden crecer de manera saprofítica, interactúan con animales y plantas, y se desarrollan en diversos sustratos, lo cual facilita su producción masiva para uso en la agricultura (Zeilinger et al., 2016).

Es por ello que el estudio de la diversidad de especies de *Trichoderma* en diversos hábitats naturales, permite ampliar el conocimiento sobre su aporte biotecnológico, y su importancia ecológica y agrícola (Jaklitsch, 2015; Torres et al., 2015). *Trichoderma* es un hongo cosmopolita cuya importancia radica en su capacidad de adaptación y producción de metabolitos, como enzimas, compuestos promotores de crecimiento vegetal, y compuestos volátiles, entre otros, de interés biotecnológico y ambiental (Hernández, et al., 2019).

Diversas especies de este género están asociadas con la rizósfera de plantas o pueden relacionarse de manera endofítica, por lo que pueden promover el crecimiento y desarrollo de las plantas, mediante la producción de auxinas y giberelinas; también pueden producir ácidos orgánicos (glucónico, fumárico, y cítrico) que pueden disminuir el pH del suelo y propiciar la solubilización de fosfatos, magnesio, hierro y manganeso, los cuales son vitales para el metabolismo vegetal (Torres et al., 2015; Sharma et al., 2017).

El mecanismo fitoestimulante de *Trichoderma* implica la múltiple comunicación con el sistema radicular y de brotes, liberación de auxinas dentro de la rizósfera, pequeños péptidos, metabolitos volátiles y otros activos, que promueven la ramificación de la raíz y la capacidad de absorción de nutrientes, impulsando así el crecimiento de la planta y el rendimiento (López et al., 2015).

Además, *Trichoderma* se ha utilizado como una interesante fuente de genes susceptibles de ser utilizados en agrobiotecnología, con el fin de conferir a diferentes cultivos mayor productividad, resistencia y tolerancia a condiciones adversas. Incluso es útil en diferentes industrias, gracias a su gran potencial

enzimático, destacando en los sectores textil, papeler, alimentario, en la depuración de aguas residuales y la biorremediación de suelos contaminados (Rubio et al., 2019).

2.2.1. BIOLOGÍA DE *Trichoderma* spp

Los hongos filamentosos del género *Trichoderma* (pertenecientes a la familia Hypocreaceae), son cosmopolitas en suelo, madera y hortalizas en descomposición, muestran una notable gama de estilos de vida e interacciones con otros hongos, animales o plantas, lo que les confiere alta plasticidad ecológica, capacidad enzimática para degradar sustratos, metabolismo variable y resistencia a inhibidores microbianos. Estos hongos son ascomicetos de aspersión verde, con distribución mundial, que en su mayoría no se han asociado con un estado sexual y se cree que son mitóticos y clonales. Los géneros en el orden de los Hypocreales tienen anamorfos referibles a *Trichoderma*; en los últimos años se ha vinculado un número creciente de teleomorfos en *Hypocrea* (Mesa et al., 2019).

Además, indican que morfológicamente se caracterizan por presentar un ralo fino, los conidióforos son ramificados como un árbol pequeño, penachos compactados en forma de anillo con sistema de ramas irregular de manera piramidal, los cuales terminan en fiálides en forma de esporas asexuales o conidios, que pueden emerger directamente del micelio. Clamidiosporas intercalares, terminales y propágulos de tres tipos: hifas, clamidiosporas y conidios. Igualmente, como método de resistencia, los hongos de este género tienen la capacidad de producir clamidiosporas, las cuales pueden producirse en zonas sociales, es decir, en zonas terminales del micelio, como en zonas medias o intercaladas.

2.2.2. CEPAS DE *Trichoderma* COMO BIOESTIMULANTE

Solís (2020) menciona, en la actualidad, los bioestimulantes son utilizados en la agricultura, pero en el cultivo de pimiento es poco aplicado es por ello que plantearon el uso por la alta demanda de rendimiento productivos, y el uso de bioestimulantes ayuda generalmente activar o retrasar procesos fisiológicos, y

en menor medida suplir requerimientos nutricionales, especialmente micronutrientes y de esta manera elevar los rendimientos del cultivo.

El mismo autor manifiesta que los bioestimulantes son considerados como cualquier sustancia que al ser aplicados a las plantas mejoran la eficacia de absorción y asimilación de nutrientes, así como la tolerancia a estrés hídrico y a mejorar algunas de sus características agronómicas, también se considera un bioestimulante vegetal a los productos comerciales que contienen mezclas de esta sustancias o microorganismos.

Algunas cepas de *Trichoderma* representan una opción prometedora para su uso como biofertilizantes ya que pueden incrementar la eficiencia del uso de nutrientes, liberar fitohormonas como el ácido indol acético (AIA) y actuar como agentes de biocontrol contra numerosos fitopatógenos (Bader et al., 2020).

Las especies del género *Trichoderma* presentan un efecto positivo en plantas mejorando sus propiedades como la biomasa, rendimiento y calidad, además de contribuir al control de plagas y enfermedades en la mayor parte de cultivos agrícolas. Aún quedan muchos metabolitos secundarios (MS) por descubrir en *Trichoderma*, ya que este género de hongos incluye múltiples especies que están altamente adaptados a diferentes nichos ecológicos y su diversidad parece ser ilimitada. Esto bien podría conducir al descubrimiento de nuevos compuestos y/o nuevas vías biosintéticas, que a su vez podrían revelar aspectos nuevos e importantes para muchas aplicaciones agrobiotecnológicas (Mesa et al., 2019).

Los microorganismos son capaces de ajustar las necesidades hídricas de la planta, y así mismo, incrementan la fotosíntesis, inmovilizar los metales pesados y finalmente aumentan los rendimientos de los cultivos. La agricultura moderna requiere hoy en día un balance entre alta producción con un máximo de seguridad para los consumidores, agricultores y el medio ambiente. “Generalmente, los bioestimulantes agrícolas son biodegradables, no tóxicos, no contaminantes y no dañinos para la fauna auxiliar, y tienen un plazo de seguridad mínimo, sin residuos para el cultivo ni para los frutos” (AEFA, 2018).

Los microorganismos del suelo, son los componentes más importantes de este. Constituyen su parte viva y son los responsables de la dinámica de transformación y desarrollo. En un solo gramo de tierra, encontramos millones

de microorganismos beneficiosos para los cultivos. Estos microorganismos beneficiosos que se encuentran en el suelo, son bacterias, actinomicetos, hongos, algas y protozoarios. Un suelo fértil es aquel que contiene una reserva adecuada de elementos nutritivos disponibles para la planta, o una población microbiana que libere nutrientes que permitan un buen desarrollo vegetal (Cervantes, 2017).

Los microorganismos de la rizosfera, excretan diversos nutrientes que son utilizadas por la planta, actuando, así como bioestimulantes. Incrementan la eficacia fotosintética y contenido de clorofila. Degradan contaminantes del suelo de diversa naturaleza química. Los hongos micorrícicos, además de proporcionar fósforo a la planta, aumentan la captación de agua, haciéndolas más resistentes a la sequía (Soriano, 2019).

2.3. REFERENCIA DE EFICIENCIA DE *Trichoderma* spp COMO BIOESTIMULANTE

Los bioestimulantes vegetales están formulados con diversos microorganismos y/o sustancias que se aplican a los cultivos con el objetivo de potenciar el crecimiento, desarrollo y adaptación al estrés abiótico. Los productos a base de *Trichoderma* han tenido un éxito especial debido a su capacidad para controlar hongos fitopatógenos. Algunas cepas de *Trichoderma* tienen una acción bioestimulante predominante que las hace únicas para su uso extendido en horticultura y son particularmente exitosos debido a su acción, aparte de tener la capacidad de controlar algunos fitopatógenos (López et al., 2015).

En estudios realizados por Alkooranee et al. (2017) destacan que *T. harzianum* favoreció el aumento en el desarrollo tanto radicular como foliar, es probable que el sustrato presente en nutrientes en una forma no disponible, y el hongo, mediante diferentes mecanismos, pueda facilitar su absorción; esta hipótesis se sustenta en la capacidad de liberar ácidos orgánicos que secuestran cationes y acidifican el microambiente alrededor de las raíces, y posibilitan la solubilización de fósforo, así como producir fitohormonas que promuevan el crecimiento de las plantas.

Gracias a las aplicaciones del hongo en dos concentraciones (1×10^8 y 1×10^{10} UFC/mL) en campo, se comprobó la acción biocontroladora, bioestimulante y biofortificante mediante análisis de variables como altura de planta, biomasa aérea de raíces, así como incidencia y severidad de enfermedades en donde *T. harzianum* influyó positivamente en todas ellas (Cumbagin y Flores., 2020).

Resultados encontrados por Bravo et al. (2016) y Cubillas et al. (2009) demostraron que aplicaciones de cepas nativas de *Trichoderma asperellum* y *T. harzianum*, respectivamente, a concentración de 1×10^{-8} unidades formadoras de colonia (UFC) mostraron efectos positivos en longitud de raíces, efecto atribuible a mecanismos de estimulación que promueve *Trichoderma* sobre el crecimiento de raíces que aumenta la capacidad de absorción de nutrientes y agua; libera en la rizosfera auxinas, citoquininas y giberelinas que actúan como promotoras de tejidos meristemático primarios, lo que acelera la reproducción celular que se traduce en el desarrollo más rápido de pelos radiculares y extensión en profundidad de enraizamiento.

2.4. PIMIENTO HIBRIDO SALVADOR

El pimiento (*Capsicum annum* L.), es conocido como uno de los cultivos hortícolas con una elevada relevancia en el área agrícola del Litoral Ecuatoriano a causa de sus diferentes empleos en la alimentación humana, como hortaliza acompañante o condimento y por producir ingresos económicos para fabricantes. Es un cultivo altamente seguro y provechoso, se cultivan más de 500 hectáreas, en Ecuador se siembran cuatro diversidades de pimientos, el Quetzal, Martha, Natahlie y Salvador (Vera y Chila, 2016).

De acuerdo a SEMINIS, (s.f.) salvador es un pimentón híbrido de buen vigor, cobertura y amarre de frutos con alto potencial productivo, los frutos terminan en punta (cónica y grande), con color verde intenso que vira a rojo y de gran tamaño además es un producto con amplia adaptabilidad.

- Muy alto amarre de frutos consistentemente grandes y con excelente cobertura foliar.
- Muy alto amarre de frutos consistentemente grandes y con excelente cobertura foliar.

El mismo autor manifiesta que existen varias características del híbrido salvador como son las siguientes:

- Planta vigorosa con alto potencial productivo.
- Su fruto es alargado y cuenta con paredes gruesas de 3,5 mm
- Muy alto porcentaje de frutos grandes de 17 cm X 5 cm de diámetro.
- Amarre de frutos concentrados.
- Muy buena postcosecha.

2.5. MICROORGANISMOS QUE SE EMPLEARON COMO BIOESTIMULANTES

El cepario empleado se tomó como base los microorganismos que se encuentran aislados y conservados en el Laboratorio de Biología Molecular de la ESPAM MFL los cuales son cepas de *Trichoderma* que toman como referencia los siguientes códigos: EM-12, EM-49, EM-72, EM-149 corresponden a (*T. longibrachiatum*) y EM-150 resultó (*T. reesei*), EM-33, EM-30, EM-63, EM-70, EM-3, EM-67, EM-71, EM-147, EM-134

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1. UBICACIÓN

El presente trabajo de investigación se desarrolló en dos fases (laboratorio) de Biología Molecular de la carrera de Medicina Veterinaria de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “Manuel Félix López” (ESPAM MFL) y en vivero que tiene la misma ubicación, se encuentra en el sitio El Limón, parroquia Calceta, cantón Bolívar, provincia de Manabí, situada geográficamente a 00°49'23" Latitud Sur y 80°11'01" de Latitud oeste, a una altitud de 15 msnm.

3.2. DURACIÓN

El presente trabajo de investigación se ejecutó desde junio del 2021 hasta marzo del 2022.

3.3. FASES DE ESTUDIO

FASE I: SELECCIÓN DE AISLADOS DE *Trichoderma spp*

❖ REACTIVACIÓN Y MULTIPLICACIÓN DE CEPAS

La reactivación y multiplicación de las 14 cepas de *Trichoderma* que se emplearon en este estudio, cinco fueron identificadas molecularmente: EM-12, EM-49, EM-72, EM-149 que corresponden a *T. longibrachiatum*, y la EM-150 a *T. reesei* (Cuadro 3.1), se realizó siguiendo la siguiente metodología:

En un matraz Erlenmeyer limpio de 1000 mL, se añadieron 39 g de Agar Papa Dextrosa (PDA) a 1000 mL de agua destilada. La mezcla se agitó y se calentó en un horno de microondas para fundir completamente el agar. A continuación, el matraz se esterilizó en autoclave. Se dispersaron 15 mL del medio fundido estéril en placas de Petri esterilizadas. Una vez que el medio se solidificó, las placas se sellaron y se invirtieron para evitar la acumulación de humedad condensada en la superficie del agar. Las cepas de *Trichoderma*, que se encuentran conservadas a 4°C, se reactivaron y multiplicaron en nuevas placas con PDA con la ayuda de un asa de inoculación, posteriormente se dejó en incubación durante 72 horas (Hipol et al., 2019).

Tabla 3.1. Cepas de *Trichoderma* sp empleadas en el ensayo en fase de laboratorio

| | |
|--------------------------------|--|
| Cepas de <i>Trichoderma</i> | a1. EM-12 a2. EM-49 a3. EM-72 a4. EM-149 a5. EM-150 a6. EM-33 a7. EM-30 a8. EM-63 a9. EM-70 a10. EM-3 a11. EM-67 a12. EM-71 a13. EM-147 a14. EM-134 |
|--------------------------------|--|

❖ DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar, con 14 tratamientos, cinco replicas y 70 unidades experimentales.

❖ UNIDAD EXPERIMENTAL

Para la solubilización de fosfato y detección de sideróforos, la unidad experimental está constituida por una caja Petrí con sus respectivos medios de cultivos.

❖ MANEJO DEL EXPERIMENTO

Con las cepas reactivadas se procedió a realizar los siguientes ensayos y/o pruebas experimentales:

SOLUBILIZACIÓN DE FOSFATO TRICÁLCICO

Cada cepa de *Trichoderma* se inóculo por punción en el centro del medio agar Pikovskaya con fosfato tricálcico [Ca₃ (PO₃)₂] como fuente de fosfato orgánico insoluble (Pikovskaya 1948), posteriormente se procedió a incubar a 37°C durante 72 horas. La solubilización de P se mostró con una zona clara formada alrededor de la colonia (Ichriani et al., 2017; Chauhan et al., 2017). La fórmula que se empleó para determinar el índice de solubilización es la siguiente:

IS=Diámetro de la colonia + halo de solubilización/diámetro de la colonia (Acosta et al., 2019). Se seleccionaron 8 de las cepas que presentaron los resultados más altos.

DETECCIÓN DE SIDERÓFOROS

A partir de cada una de las cepas de *Trichoderma* desarrolladas en agar PDA se tomó una pequeña porción del hongo y se colocó en una placa de agar CAS siguiendo el protocolo de Schwyn y Neiland (1987). Las placas inoculadas con las cepas de *Trichoderma* se incubaron a $28 \pm 2^\circ\text{C}$ en condiciones de oscuridad durante 5-7 días y luego se monitoreo la aparición de una zona color naranja alrededor de las cepas en el medio agar CAS de color azul (Vinale et al., 2013; Ghosh et al., 2015; Chowdappa et al., 2020), debido a la concentración de sideróforos excretados por organismos sin hierro (Ghosh et al., 2017) y luego se midió el diámetro de la zona. Las cepas que produjeron sideróforos fueron consideradas para el siguiente ensayo.

EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE INÓCULO DE *Trichoderma* SOBRE LA GERMINACIÓN Y LA LONGITUD RADICULAR DE LAS SEMILLAS DE PIMIENTO

En cajas de Petri se colocó papel filtro sobre algodón y se esterilizó en autoclave a 121°C con 15 libras de presión (PSI) durante 15 min. Posteriormente a cada caja se le adicionó agua destilada estéril hasta saturar el soporte, y seguidamente se colocó 5 semillas de pimiento previamente desinfectadas con alcohol a 70% e hipoclorito de sodio al 1%. Se realizó un diseño completamente al azar con cinco repeticiones por tratamiento, tomando como factores las cepas seleccionadas (mejor indicador de los ensayos previos) y tres concentraciones del inóculo (10^2 , 10^3 y 10^4 conidios/mL). Cada unidad experimental fue inoculada con 1 mL de la suspensión de las cepas y la concentración correspondiente; al tratamiento testigo (sin inocular) sólo se le agregó 1 mL de agua destilada estéril. Todas las cajas se mantuvieron en oscuridad a $28 \pm 2^\circ\text{C}$. Se realizó observaciones diarias durante 15 d, registrando el número de semillas germinadas, considerando semillas germinadas aquellas cuya radícula alcancen 2 mm de longitud (Cubillos et al., 2009).

A partir de los datos registrados se determinó el porcentaje de germinación (PG) expresado como el porcentaje total de semillas germinadas a los 15 d. A esta variable también se le llamó capacidad de germinación. El índice de velocidad de germinación (IVG) se calculó de acuerdo a la fórmula propuesta por Brown y Mayer (1988):

$$IVG = \frac{P_1}{T_1} + \frac{P_2}{T_2} + \frac{P_3}{T_3} + \frac{P_4}{T_4} \quad [1]$$

Dónde: P = número de semillas germinadas; T = tiempo en que germinaron

El tiempo medio de germinación (TMG) se calculó de acuerdo con García, et al. (1982):

$$TMG = ((x_1 d_1) + (x_2 d_2) + \dots + (x_{10} d_{15})) / X_{10} \quad [2]$$

Dónde: x_1, x_2, \dots, x_{10} fueron las semillas germinadas en el d_1, d_2, \dots, d_{15} son los días de incubación, y X_{10} es el número total de semillas germinadas en el d 15 cuando se realizó el conteo final de semillas germinadas.

Una vez obtenido los datos y aplicada las fórmulas antes mencionadas, estos resultados fueron sometidos a una última fórmula para obtener mayor precisión y exactitud de los valores a empleado en esta prueba, la cual se presenta a continuación:

$$\sqrt{X + 0,5} \quad [3]$$

Donde: X fueron los promedios del crecimiento radicular de las semillas de pimiento y 0,5 es un valor constante de la probabilidad de error.

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE LAS CEPAS DE *Trichoderma* POR SU CAPACIDAD DE PROMOVER EL CRECIMIENTO EN PLÁNTULAS DE PIMIENTO.

Procedimiento:

- La extracción de ADN se realizó por métodos convencionales, utilizando aproximadamente 100 mg de muestra fúngica obtenida tras raspar el micelio directamente del agar tras añadir 100 uL de agua destilada estéril.

- Se evaluó la integridad y calidad del ADN mediante espectrofotometría de microvolúmenes y visualización en gel de agarosa.
- El ADN obtenido se diluyó hasta una concentración de aproximadamente 20 ng/uL para la amplificación mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).
- Se utilizaron los primers universales ITS1/ITS4 para la amplificación.
- Los productos de PCR fueron purificados previo a la secuenciación por el método SANGER
- Las secuencias obtenidas fueron limpiadas y ensambladas usando programas bioinformáticos.
- Se compararon las secuencias ensambladas con la base de datos de nucleótidos de GenBank de NCBI.

FASE II: VIVERO: EVALUACIÓN DE CEPAS DE *Trichoderma* SOBRE EL CRECIMIENTO Y RENDIMIENTO DEL PIMIENTO H. SALVADOR

Se escogió las dos mejores cepas en función al rango estadístico en las evaluaciones realizadas en la fase 1. Se enviaron a realizar la debida identificación molecular y posterior se procedió a inocular a las plantas de pimiento, en condiciones de vivero, de acuerdo al siguiente delineamiento experimental:

❖ FACTOR EN ESTUDIO

Tabla 3.2. Factor y niveles en estudio.

| Factor en estudio | Niveles |
|--|---|
| Concentración de cepas de <i>Trichoderma</i> | a1. Con inóculo 10^2 células/mL ⁻¹ |
| | a2. Con inóculo 10^3 células/mL ⁻¹ |
| | a3. Con inóculo 10^4 células/mL ⁻¹ |

❖ TRATAMIENTOS

- a1. Con inóculo 10^2 células/mL⁻¹
- a2. Con inóculo 10^3 células/mL⁻¹
- a3. Con inóculo 10^4 células/mL⁻¹
- a4. Control negativo (sin inóculo)
- a5. Control positivo (fosfato soluble (KH_2PO_4 0,25 mm) (Li et al., 2017).

❖ UNIDAD EXPERIMENTAL

La unidad experimental estuvo conformada por 5 plántulas que se trasplantaron en macetas plásticas de 18 x 22 cm, en cada maceta plástica se colocó una plántula de pimiento H. Salvador.

❖ DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un DCA con cinco tratamientos, cuatro réplicas y 20 unidades experimentales. A continuación, se presenta el esquema de ADEVA.

Tabla 3.3. Esquema ADEVA

| Fuente de variación | G.L |
|---------------------|-----|
| Tratamiento | 4 |
| Error | 15 |
| Total | 19 |

❖ MANEJO DEL EXPERIMENTO

Se realizaron las siguientes actividades:

- **Preparación de sustrato para las macetas plásticas:** El sustrato se obtuvo de la tierra de monte de cacao y se llenó en macetas plásticas de polietileno oscuras.
- **Preparación del inóculo de *Trichoderma*:** Las cepas de *Trichoderma* se multiplicaron en PDA, dejando en incubación durante 72 h a 30°C, posteriormente las células se removieron con Tween 80 y se

ajustó a (10^2 , 10^3 , 10^4 células/mL) con agua desionizada, se lavó tres veces con agua desionizada para eliminar el fósforo soluble y se secó al aire a temperatura ambiente, se mezcló completamente $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (3,5 g por recipiente) con el sustrato como fuente de fosfato insoluble (Li et al., 2017).

- **Inoculación al sustrato:** De las diluciones seriadas de 10^2 , 10^3 y 10^4 se inoculó al sustrato 15 mL/UE.
- **Inoculación de las semillas de pimiento y siembra:** Las semillas de pimiento se esterilizaron con hipoclorito de sodio al 5% durante 10 minutos, seguido se lavaron con agua desionizada esterilizada tres veces y se colocaron en placas de Petri estériles con filtros húmedos en la oscuridad a temperatura ambiente durante 15 días, se seleccionaron las mejores plántulas en crecimiento, de las cuales se empaparon con las suspensiones del inóculo fúngico (10^2 , 10^3 y 10^4 células/mL) durante 30 min. Luego, se ubicó una plántula en cada maceta plástica. Se realizaron cuatro inoculaciones a las plántulas con la concentración de los respectivos tratamientos a los 10, 20, 30 y 40 d después del trasplante como lo sugieren Herrera et al. (2017).

Manejó del cultivo en las macetas plásticas

Control de plagas y enfermedades: Se lo realizó de manera mecánica utilizando mallas anti-insectos para reducir las entradas de vectores y con ello la transmisión de enfermedades.

- **Riego:** El riego se lo realizó manualmente utilizando una probeta de 100 mL con agua destilada antes y después de la siembra de las plantas de pimiento, cada día.
- **Cosecha:** El fruto de pimiento se cosechó cuando alcanzó su valor comercial.

3.4. DATOS TOMADOS Y MÉTODOS DE EVALUACIÓN

La altura de la planta (cm), la longitud de la raíz (cm) y el peso fresco y seco (g) se midieron al culminar la cosecha de frutos con valor comercial, se recolectaron plantas enteras y las raíces se lavaron cuidadosamente con agua desionizada para eliminar la tierra adherida (Vinale et al., 2013; Fitriatin et al., 2020). Luego

se seleccionaron tres plantas de cada tratamiento para medir la longitud de la raíz. Posteriormente, las muestras de plantas se secaron en horno a 105°C durante 30 minutos para desenzimar y luego se secaron a 65°C hasta un peso constante para el análisis de peso seco (Li et al., 2017).

- **Altura de la planta:** Se realizó desde la base del tallo hasta la parte apical de la planta de pimiento.
- **Longitud de raíz:** De la misma planta evaluada para altura, se procedió a realizar la medición de esta variable, tomado desde el cuello hasta la parte terminal de la raíz, con la ayuda de una cinta métrica.
- **Peso fresco de la raíz y parte aérea:** Las plantas se cortaron a nivel del cuello para separarlas y se pesaron en una balanza electrónica.
- **Peso seco de la raíz y parte aérea:** Los tejidos que se seleccionaron se colocaron en una estufa a 105 grados durante 30 minutos y luego se secaron a 65°C, para así poder determinar el peso seco de cada una de las partes.
- **Rendimiento por planta:** Se realizó una suma de los frutos cosechados por cada planta.

3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó el análisis de varianza y la separación de medias con prueba de Tukey al 5% de probabilidades de error. Para el análisis de los datos se utilizó el programa INFOSTAT.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

FASE I: LABORATORIO: SELECCIÓN DE AISLADOS DE *Trichoderma spp*

4.1. LA SOLUBILIZACIÓN DE FOSFATO TRICÁLCICO

El análisis de varianza realizado a la variable solubilización de fosfato tricálcico a las 72 horas (**Tabla 4.1**) demostró que no existieron diferencias estadísticas ($p>0,05$), lo cual indica que todas las cepas mostraron igual potencial para la solubilización del fosfato.

Tabla 4. 1. Índice de solubilización de fosfato (72 horas)

| Cepas de <i>Trichoderma spp</i> | HALO (mm) |
|---------------------------------|---------------|
| EM-63 | 2,07 |
| EM-134 | 2,00 |
| EM-72 | 2,00 |
| EM-3 | 2,00 |
| EM-12 | 2,00 |
| EM-147 | 1,98 |
| EM-149 | 1,97 |
| EM-150 | 1,96 |
| EM-70 | 1,95 |
| EM-30 | 1,93 |
| EM-33 | 1,93 |
| EM-67 | 1,93 |
| EM-49 | 1,91 |
| EM-71 | 1,91 |
| P-valor ANOVA | 0,4901 |
| C.V% | 4,58 |

Estos datos son similares a los registrados por Ichriani et al. (2017), con resultados de 1,00 a 1,67 mm de halo a los 5 días posteriores a la inoculación, estos autores consideran que para algunas cepas de *Trichoderma* este intervalo de tiempo es de gran provecho, además describen que al aumentar la solubilización de fosfato se puede observar el potencial que tienen para mejorar la productividad de las plantas. Mientras que Erazo et al. (2017) en su investigación relacionada con la solubilización de fosfato tricálcico por medio de la cepa *Trichoderma harzianum*, determinaron que este compuesto químico presentó una alta solubilización desde las 24 horas de incubación con este

microorganismo, con una concentración final de 45 mg/L, mientras que, al incrementar el ion fosfato disminuye la concentración del pH. Estos criterios mencionados anteriormente les dan mayor sostenibilidad a los resultados obtenidos en esta investigación.

4.2. DETECCIÓN DE SIDERÓFOROS

El análisis de varianza aplicado a la variable detección de sideróforos a los 15 días (**Tabla 4.2**) no presento diferencias estadísticas entre los tratamientos estudiados ($p > 0,05$), lo cual indica que todas las cepas evaluadas produjeron cantidades similares de sideróforos,

Tabla 4.2. Detección de sideróforos a los 15 días de incubación

| Cepas de <i>Trichoderma</i> spp | HALO (mm) |
|---------------------------------|---------------|
| EM-134 | 1,80 |
| EM-12 | 1,73 |
| EM-67 | 1,70 |
| EM-149 | 1,67 |
| EM-72 | 1,67 |
| EM-71 | 1,67 |
| EM-63 | 1,67 |
| EM-70 | 1,60 |
| EM-147 | 1,60 |
| EM-3 | 1,57 |
| EM-150 | 1,57 |
| EM-30 | 1,43 |
| EM-49 | 1,33 |
| EM-33 | 1,30 |
| P-valor ANOVA | 0,1295 |
| C.V% | 12,33 |

Dave y Dube (2000), describen que la mayor detección de sideróforos por cultivos de hongos es dada a los 30°C con un período de incubación de 15 días, lo cual coinciden con lo estipulado en la investigación.

En varias investigaciones se ha demostrado que el hongo *Trichoderma* es el encargado de la producción de sideróforos, siendo el hidroxamato el principal representante del compuesto de sideróforos (Castro y Rivillas, 2014). Por otra parte, en estudios realizados por Chowdappa (2020), describen que obtuvieron un 60% de hongos capaces de producir sideróforos. Castañeda, (2017) determinó que algunas cepas de este microorganismo producen sideróforos,

compuestos que atrapan los iones del hierro, disminuyendo su cantidad para la muerte para otro tipo de hongos. Por ejemplo, en la mayoría de los hongos filamentosos, la absorción de hierro es esencial para la viabilidad, y bajo falta de hierro, la mayoría de los hongos excretan quelantes específicos de hierro férrico de bajo peso molecular, denominados sideróforos, para movilizar el hierro ambiental (Benítez, et al., 2004).

4.3. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE INÓCULO DE *Trichoderma* SOBRE LA LONGITUD RADICULAR DE LAS SEMILLAS DE PIMIENTO

Una vez elaborado el análisis preliminar sobre la producción de sideróforos, solubilización de fosfato tricálcico, se procedió a realizar la germinación *in vitro* con las cuatro mejores cepas, las cuales fueron: EM-72, EM-134, EM-12 y EM-63.

En la **tabla 4.3**. Se evidencia el tamaño de radícula obtenido a los 15 días después de la siembra de las semillas a distintas concentraciones del microorganismo, el análisis estadístico para esta variable mostró que no existió diferencias estadísticas significativas ($p > 0,05$).

Tabla 4.3. Efecto de los factores: cepas y concentraciones sobre la longitud radicular (cm)

| Cepas | Longitud radicular (cm) |
|-----------------|-------------------------|
| EM-12 | 1,61 |
| EM-72 | 1,37 |
| EM-134 | 1,33 |
| EM-63 | 1,20 |
| P-valor ANOVA | 0,082 |
| CV% | 11,99 |
| Concentraciones | \bar{x} |
| 10 ² | 1,35 |
| 10 ³ | 1,34 |
| 10 ⁴ | 1,46 |
| P-valor ANOVA | 0,7098 |
| CV% | 16,19 |

Estos resultados coinciden con Martínez (2012) quien menciona que la densidad radicular se ve principalmente influenciada por la inoculación de *Trichoderma* spp, ya que obtuvo en la variable crecimiento radicular valores de 2,6 y 4,6 mm superiores a los observados en esta investigación; además, menciona que como

factor limitante puede encontrarse los niveles bajos de luz ya que estas cepas son fotosintéticas.

Ortuño, et al. (2013) menciona que *Trichoderma* spp ayuda a la germinación de semillas y enraizador, estos resultados le dan mayor validez a la investigación ya que la aplicación de nuevos biofertilizantes compuestos de MS de *Trichoderma* spp para ser utilizados como microorganismos que estimulan el desarrollo de raíces.

4.4 IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE LAS CEPAS DE *Trichoderma*

Para la identificación de las cepas de *Trichoderma* se llevaron a laboratorio las siguientes muestras con los códigos: EM-12 Y EM-134.

Se visualizaron fragmentos de aproximadamente 600pb, amplificados con primers ITS1/ITS4. M: Marcador de peso molecular ABM 100pb Opti.DNA Marker, la búsqueda en la base de datos Genbank permitió identificar a las cepas a nivel de especies y se las describe de la siguiente maneras: la cepa EM-134, que pertenece a *Trichoderma* sp con un porcentaje de identidad del 100% y la cepa EM-12 correspondiente a *T. longibrachiatum*, con un 99.48% de identidad.

Tabla 4.4. Identificación molecular de las cepas de *Trichoderma*

| Código | Identificación | % de identidad |
|---------------|---------------------------|-----------------------|
| EM-134 | <i>Trichoderma</i> sp | 100% |
| EM-12 | <i>T. longibrachiatum</i> | 99.48% |

- ***Trichoderma* sp**

Estudios realizados por Pineda et al. (2017) señalan que el *Trichoderma* sp es un hongo cosmopolita, habitante natural del suelo, que ha mostrado ser un efectivo biocontrolador de hongos fitopatógenos. La producción de biopreparados a partir de las esporas de este hongo contribuye al desarrollo sostenible de la agricultura y permite ofertar alimentos libres de fungicidas a los consumidores.

Camargo y Ávila, (2014) mencionan que además aportan otros beneficios a las plantas: a través de la descomposición de materia orgánica, libera nutrientes en

formas inmediatamente disponibles por medio de la actividad solubilizadora de fosfatos a capacidad de multiplicarse en el suelo y colonizar las raíces de las plantas libera factores de crecimiento (auxinas, giberelinas y citoquininas) que estimulan la germinación y el desarrollo de las plantas.

Según Hamdan y Jasim, (2021) *Trichoderma longibrachiatum* es un hongo que se encuentra en el suelo y a su vez en madera o materiales de construcción y en animales, estos también se encuentran disponibles en los materiales vegetales en descomposición, como en la rizosfera de las plantas que es ahí donde pueden inducir resistencia sistémica contra patógenos.

FASE II VIVERO: EVALUACIÓN DE CEPAS DE *Trichoderma* EN EL CRECIMIENTO Y RENDIMIENTO DEL PIMIENTO H. SALVADOR

Se seleccionó las dos mejores cepas con valores más alto de las variables evaluadas en la fase 1 las cuales fueron identificadas como *T. longibrachiatum* y *Trichoderma* sp.

a) ALTURA DE PLANTA

(Tabla 4.5.) La variable altura de planta a los 90 días fue influenciada significativamente en cada una de las cepas de *Trichoderma*

Tabla 4.5. Efecto simple de las cepas y concentraciones sobre la altura de planta (cm)

| Concentración inóculo | Altura de planta (cm) |
|---|-----------------------|
| Ensayo con <i>T. longibrachiatum</i> | |
| 10 ³ | 86.65 a |
| 10 ² | 76.43 ab |
| 10 ⁴ | 61.65 ab |
| Testigos: | |
| Fosfato soluble | 74.90 ab |
| Sin inóculo | 51.10 b |
| P-valor ANOVA | 0.0050 |
| CV (%) | 16.76 |
| Ensayo con <i>Trichoderma</i> sp | |
| 10 ² | 81.08 a |
| 10 ³ | 68.50 ab |
| 10 ⁴ | 59.58 ab |
| Testigos: | |
| Fosfato soluble | 74.90 ab |
| Sin inóculo | 51.10 b |
| P-valor ANOVA | 0.0232 |
| CV (%) | 15.64 |

Los resultados obtenidos coinciden con los expuesto por Yépez (2019) quien menciona que el crecimiento del cultivo de papa fue estimulado por un consorcio de *Trichoderma* spp, a los 90 días, donde se encuentra mayor influencia de crecimiento, ya que la concentración de 10^3 del microorganismo lo cual demostró incrementos en desarrollo vegetativo. Estos resultados coinciden con los obtenidos en la presente investigación ya que se obtuvo un porcentaje de crecimiento favorable con el uso de *Trichoderma* con diluciones de 10^2 y 10^3 . Por otra parte, Díaz et al. (2020), evaluó la altura de las plantas de maracuyá después de ocho semanas de crecimiento con la estimulación de un consorcio de *Trichoderma* spp, el cual demostró que la aplicación de estos tratamientos puede incrementar el desarrollo de altura desde 33,23 cm.

b) LONGITUD RADICULAR

En la **tabla 4.6** se observa que la variable longitud radicular para la cepa *T. longibrachiatum*, se encontraron diferencias significativas mientras que, para la cepa de *Trichoderma* sp no se encontraron diferencias significativas al $p > 0,05$, sin embargo, todas las cepas mostraron igual potencial para la longitud radicular.

Tabla 4.6. Efecto simple de las cepas y concentraciones sobre la longitud radicular (cm)

| Concentración inóculo | Longitud radicular (cm) |
|---|-------------------------|
| Ensayo con <i>T. longibrachiatum</i> | |
| 10^3 | 15.60 a |
| 10^2 | 14.75 ab |
| 10^4 | 14.01 ab |
| Testigos: | |
| Fosfato soluble | 14.10 ab |
| Sin inóculo | 9.78 b |
| P-valor ANOVA | 0.0605 |
| CV (%) | 17.14 |
| Ensayo con <i>Trichoderma</i> sp | |
| 10^2 | 16.59 |
| 10^3 | 14.58 |
| 10^4 | 14.75 |
| Testigos: | |
| Fosfato soluble | 14.10 |
| Sin inóculo | 9.78 |
| P-valor ANOVA | 0.1270 |
| CV (%) | 21.81 |

Díaz et al. (2020) realizó investigación sobre el efecto de aplicación de bioestimulantes a base de *Trichoderma* spp en plántulas de maracuyá donde se demostró que para el tamaño de la raíz obtuvieron un valor de 85,33 cm para una concentración de microorganismo de 10^3 , lo cual nos evidencia que las distintas concentraciones de microorganismo influyen en el crecimiento de la raíz, por lo que se puede utilizar cualquier concentración. Mientras que Martínez (2018) menciona que la aplicación de consorcio de cepas de *Trichoderma* spp como promotor de crecimiento y ganancia de biomasa es un excelente aporte en el cultivo de chile habanero dando valores de 84 cm de longitud, siendo estos valores mayores a los obtenidos en esta investigación, lo cual indica que la aplicación de una sola cepa no causa mayor influencia en el cultivo.

c) PESO FRESCO DE PLANTA

El peso fresco de la raíz fue influenciado significativamente ($P < 0.05$) por las concentraciones de inóculo evaluadas, donde la concentración de 10^3 alcanzó el mayor promedio de peso radical, en ambas cepas evaluadas (**Tabla 4.7**).

Tabla 4.7. Efecto simple de las cepas y concentraciones sobre el peso fresco de la planta (g)

| Concentración inóculo | Peso fresco de la planta (g) |
|---|------------------------------|
| Ensayo con <i>T. longibrachiatum</i> | |
| 10^3 | 134.10 a |
| 10^2 | 112.33 ab |
| 10^4 | 94.93 ab |
| Testigos: | |
| Fosfato soluble | 108.08 ab |
| Sin inóculo | 68.75 b |
| P-valor ANOVA | 0.0250 |
| CV (%) | 23.81 |
| Ensayo con <i>Trichoderma</i> sp | |
| 10^2 | 136.00 a |
| 10^4 | 125.50 ab |
| 10^3 | 122.50 ab |
| Testigos: | |
| Fosfato soluble | 108.08 ab |
| Sin inóculo | 68.75 b |
| P-valor ANOVA | 0.0055 |
| CV (%) | 19.66 |

Los resultados alcanzados coinciden con los logrados por González, et al. (2018) donde mencionan sobre la acumulación de biomasa fresca y materia seca en una planta estimulada por la aplicación de *Trichoderma* spp, lo cual mejora el peso fresco de la planta, alcanzando valores de 130 g, a su vez menciona que la concentración de microorganismo de 10^2 potencializa el desarrollo vegetativo del cultivo.

Estos resultados coinciden con lo mencionado por Larios et al., (2019) quienes estipulan que *Trichoderma* spp al causar mayor efecto en las raíces, mejora la absorción de nutrientes de la misma, al inocular cepas de este hongo de una u otra manera incrementa la altura, diámetro y biomasa radicular en lo cual mostró porcentajes de un 20% de ganancia en biomasa.

d) PESO SECO DE PLANTA (g)

Los resultados que se observan en la **tabla 4.8** para la variable peso seco de la planta cuando se empleó la cepa de *T. longibrachiatum* no manifestaron diferencias estadísticas; mientras que, en la cepa *Trichoderma* sp se encontraron diferencias estadísticas.

Tabla 4.8. Efecto simple de las cepas y concentraciones sobre el peso seco de planta (g)

| Concentración inóculo | Peso seco de planta (g) |
|---|-------------------------|
| Ensayo con <i>T. longibrachiatum</i> | |
| 10 ³ | 21,88 |
| 10 ² | 17,95 |
| 10 ⁴ | 15,88 |
| Testigos: | |
| Fosfato soluble | 20.70 |
| Sin inóculo | 13.70 |
| P-valor ANOVA | 0.1057 |
| CV (%) | 24.59 |
| Ensayo con <i>Trichoderma</i> sp. | |
| 10 ⁴ | 24.38 a |
| 10 ³ | 22.33 a |
| 10 ² | 22.20 a |
| Testigos: | |
| Fosfato soluble | 20.70 ab |
| Sin inóculo | 13.70 b |
| P-valor ANOVA | 0.00117 |
| CV (%) | 18.33 |

Los resultados alcanzados se asemejan con los de González et al. (2018) quienes al inocular plantas de caupí con cepas de *Trichoderma* lograron incrementar peso seco con la mayor concentración de inóculos.

e) RENDIMIENTO DE FRUTOS POR PLANTA

En la **tabla 4.9** se observa que la variable rendimiento de frutos por planta para la cepa *T. longibrachiatum* no se existieron diferencias estadísticas, sin embargo, para la cepa de *Trichoderma* sp si hubo diferencias estadísticas al $p < 0,05$.

Tabla 4.9. Efecto simple de las cepas y concentraciones sobre el rendimiento por planta (fruto)

| Concentración inóculo | Rendimiento por planta (fruto) |
|---|--------------------------------|
| Ensayo con <i>T. longibrachiatum</i> | |
| 10 ⁴ | 3.75 |
| 10 ³ | 3.75 |
| 10 ² | 3.00 |
| Testigos: | |
| Fosfato soluble | 3.50 |
| Sin inóculo | 3.25 |
| P-valor ANOVA | 0.3458 |
| CV (%) | 17.15 |
| Ensayo con <i>Trichoderma</i> sp | |
| 10 ³ | 4.75 a |
| 10 ⁴ | 4.50 ab |
| 10 ² | 4.25 ab |
| Testigos: | |
| Fosfato soluble | 3.50 ab |
| Sin inóculo | 3.25 b |
| P-valor ANOVA | 0.0207 |
| CV (%) | 15.94 |

Los resultados obtenidos son cercanos a los logrados por Rojas (2014) quien reporto mayor rendimiento de frutos en pimiento inoculados con *Trichoderma*, lo cual logró promover el desarrollo vegetativo, ya que producen sustancias promotoras de crecimiento por lo que estas sustancias actúan como aceleradores de los tejidos meristemáticos primarios.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- Las cepas con mayor potencial promotor de crecimiento vegetal a nivel in vitro fueron la EM-12 y EM-134 que se identificaron como *T. longibrachiatum* y *Trichoderma* sp.
- La concentración 10^3 y 10^4 de las cepas de *T. longibrachiatum* y *Trichoderma* sp incrementaron en mayor medida el desarrollo vegetativo y productivo en el cultivo de pimiento.
- Con la aplicación del *Trichoderma* sp se alcanzó el mejor promedio de número de frutos por planta.

5.2. RECOMENDACIONES

- Validar las cepas de *T. longibrachiatum* y *Trichoderma* sp en consorcio con otros inóculos microbianos, con la finalidad de aumentar la efectividad como promotoras de crecimiento vegetal.
- Evaluar distintas concentraciones de las cepas de *T. longibrachiatum* y *Trichoderma* sp en otros cultivos de interés comercial.

BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, M., Cruz, M., Pichardo, T., Rodríguez, E., Barbón, R., Capote, A., y Alvarado, Y. (2019). Solubilización de fosfatos in vitro por cepas de *Aspergillus* y *Penicillium* y promoción del crecimiento de plantas de café. *Biotecnología Vegetal*, 19(1), 65-72. <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/602/1559>
- AEFA (Asociación Española de Fabricantes de Agronutrientes). (2018). Bioestimulantes, los fertilizantes del futuro. Obtenido de AEFA / Asociación Española de Fabricantes de Agronutrientes. Disponible en: <http://www.bioestimulantesagricolas.net/bioestimulantes-los-fertilizantes-del-futuro/>
- Alkooranee, T., Aledan, T., Ali, A., Lu, G., Zhang, X., Wu, J., y Li, M. (2017). Detección de las vías hormonales en la colza detrás de la resistencia sistémica inducida por *Trichoderma harzianum* TH12 a *Sclerotinia sclerotiorum*. *PLoS One*, 12(1). doi: e0168850.
- Bader, A., Salerno, G., Covacevich, F. y Consolo, F. (2020). Bioformulación de *Trichoderma harzianum* en sustrato sólido y efectos de su aplicación sobre plantas de pimiento. *Rev. Fac. Agron*, 119(1): 1-9. <https://doi.org/10.24215/16699513e037>
- Bashan, Y., Bashan, E., Prabhu, S y Hernandez, J. (2014). Avances en la tecnología de inoculantes bacterianos que promueven el crecimiento de las plantas: formulaciones y perspectivas prácticas (1998-2013). *Planta y suelo*, 378 (1-2), 1-33. doi: 10.1007/s11104-013-1956-x.
- Benítez, T., Rincón, A., Limón, M., y Codón, A. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *INTERNATIONAL MICROBIOLOGY*, 7(3), 249-260. Obtenido de <https://scielo.isciii.es/pdf/im/v7n4/Benitez.pdf>
- Bravo, V., Ronquillo, M., Martínez, M., y Quezada, G. (2016). Efecto enraizador de *Trichoderma asperellum* en el cultivo de palma aceitera. *ECUADOR ES CALIDAD*, 4(1). <https://revistaecuadorescalidad.agrocalidad.gob.ec/revistaecuadorescalidad/index.php/revista/article/view/26>
- Brown, R. y D, Mayer. (1988). Representing cumulative germination. 1. A critical analysis of single - value germination indices. *Ann. Bot.* 61, 117-125.
- Calero, A., Quintero, E., Pérez, Y., y Enríquez, L. (2017). Efecto de diferentes bioestimulantes en el rendimiento del frijol común. *Centro Agrícola*, 45(3), 73-80.
- Calero, A., Quintero, E., Olivera, D., Pérez, Y., Castro, I., Jiménez, J., y López, E. (2018). Respuesta de dos cultivares de frijol común a la aplicación foliar de microorganismos eficientes. *Cultivos Tropicales*, 39(3), 5-10. http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0258-59362018000300001&script=sci_arttext&tlng=pt

- Camargo, D y Ávila, E. (2014). Efectos del *Trichoderma* sp. sobre el crecimiento y desarrollo de la arveja (*Pisum sativum* L.). *Ciencia y Agricultura*, 11(1), 91-100.
- Castañeda, C. Y., Téllez, A., Mndoza, A., y Anducho, M. (2017). Efectos benéficos de *Trichoderma* y su regulación de la expresión génica de celulasas y hemicelulasas. *ECORFAN*, 2(1), 36-56. Obtenido de https://www.ecorfan.org/proceedings/PCBS_TI/PCBS_4.pdf
- Castillo, J. (2017). Bioestimulantes agrícolas. Obtenido de AEFA / Asociación Española de Fabricantes de Agronutrientes. Disponible en: <https://aefa-agronutrientes.org/bioestimulantesagricolas-2>
- Castro, A., y Rivillas, C. (2014). *Trichoderma* spp. modos de acción, eficacia y usos en el cultivo de café. Obtenido de https://www.cenicafe.org/es/publications/Boletin_38_FINAL2014.pdf
- Cervantes, M. (2017). Microorganismos del suelo beneficiosos para los cultivos. Obtenido de INFOAGRO.COM: https://www.infoagro.com/hortalizas/microorganismos_beneficiosos_cultivos.htm
- Chauhan, A., Guleria, S., Balgir, P., Walia, A., Mahajan, R., Mehta, P., y Shirkot, C. (2017). Tricalcium phosphate solubilization and nitrogen fixation by newly isolated *Aneurinibacillus aneurinilyticus* CKMV1 from rhizosphere of *Valeriana jatamansi* and its growth promotional effect. *Brazilian Journal of Microbiology*, 48(2), 294–304. <https://doi:10.1016/j.bjm.2016.12.001>.
- Chowdappa, S., Jagannath, S., Konappa, N., Udayashankar, A. C., y Jogaiah, S. (2020). Detection and Characterization of Antibacterial Siderophores Secreted by Endophytic Fungi from *Cymbidium aloifolium*. *Biomolecules*, 10(10), 1412. <https://doi:10.3390/biom10101412>.
- Cubillos, J., Valero, N., y Mejía, L. (2009). *Trichoderma harzianum* como promotor del crecimiento vegetal del maracuyá (*Passiflora edulis* var. *Flavicarpa* Degener). *Agronomía Colombiana*, 27(1), 81-86.
- Cumbagin, A y Flores, C. (2020). Evaluación de sustratos orgánicos destinados a la propagación de *Trichoderma harzianum* como biocontrolador para fincas agroecológicas de la ASOCAMCAY, al norte de la provincia de Pichincha-Ecuador (Bachelor's thesis). <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/19492/1/UPS-TTQ169.pdf>
- Dave, B.P., y Dube, H.C. (2000). Caracterización química de sideróforos fúngicos. *Indian J. Exp. Biol*, 38 (1), 56–62.
- Díaz, G., Rodríguez, G., Montana, L., Miranda, T., Basso, C., y Arcia, M. (2020). Efecto de la aplicación de bioestimulantes y *Trichoderma* sobre el

- crecimiento en plántulas de maracuyá (*Passiflora edulis* Sims) en vivero. *Bioagro*, 32(3), 195-204.
- De Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Bioagro*, 32(3), 195-204. <https://core.ac.uk/download/pdf/82621513.pdf>
- Erazo, J., Pastor, N., Giordano, F., Rovera, M., Torres, A., y Reinoso, M. (2017). SOLUBILIZACIÓN DE FOSFATOS POR *Trichoderma harzianum* ITEM 3636 Y SU EFECTO EN PLANTAS DE MANÍ. *sCIELO*, 45-65. <http://www.ciacabrera.com.ar/docs/JORNADA%2035/17-Erazo%20-Solublizaicion%20de%20fosfatos%20por%20Trichoderma.pdf>
- Fiorentino, N., Ventrino, V., Woo, S. L., Pepe, O., De Rosa, A., Gioia, L., y Roupael, Y. (2018). *Trichoderma*-Based Biostimulants Modulate Rhizosphere Microbial Populations and Improve N Uptake Efficiency, Yield, and Nutritional Quality of Leafy Vegetables. *Frontiers in Plant Science*, 9. doi:10.3389/fpls.2018.00743. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2018.00743/full>
- Fitriatin, B., Fauziah, D., Fitriani, F., Ningtyas, N., Suryatmana, P., Hindersah, R., Setiawati, M., y Simarmata, T. (2020). Biochemical activity and bioassay on maize seedling of selected indigenous phosphate-solubilizing bacteria isolated from the acid soil ecosystem. *Open Agriculture*, 5, 300-304. <https://doi.org/10.1515/opag-2020-0036>.
- García, J., Monteith, J., y Squire, G. (1982). Time, temperature, and germination of Pearl millet (*Pennisetum typhoides* S. y H.). *J. Exp. Bot*, 33, 288-296. <https://www.jstor.org/stable/23690303>
- Ghosh, B., Banerjee, S., y Sengupta, Ch. (2017). Bioassay, characterization and estimation of siderophores from some important antagonistic fungi. *Journal of Biopesticides*, 10(2), 105-112. http://www.jbiopest.com/users/LW8/efiles/vol_10_2_105-112.pdf.
- Ghosh, S., Pal, S., y Chakraborty, N. (2015). The qualitative and quantitative assay of siderophore production by some microorganisms and effect of different media on its production. *Int. J. Chem. Sci.* 13(4), 1621-1629. <https://www.tsijournals.com/articles/the-qualitative-and-quantitative-assay-of-siderophore-production-by-some-microorganisms-and-effect-of-different-media-on.pdf>.
- González, D., Álvarez, U., y Lima, R. (2018). Acumulación de biomasa fresca y materia seca por planta en el cultivo intercalado caupí - sorgo. *Centro Agrícola*, 45(2), 77-82.
- Guamangallo, A. (2015). Comportamiento agronómico del cultivo de pimiento (*Capsicum annuum*) con diferentes abonos orgánicos en la finca experimental la María UTEQ, año 2014. <http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/1503/1/T-UTEQ-0166.pdf>.

- Hamdan, N., y Jasim, . (2021). *TRICHODERMA LONGIBRACHIATUM*: FIRST RECORD IN IRAQ. *Web of Scientist: International Scientific Research Journal*, 2(10), 86-103. <https://wos.academiascience.org/index.php/wos/article/view/395/369>
- Hernández, J., Ferrera, R., y Alarcón, A. (2019). *Trichoderma*: Importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. *Chilean journal of agricultural y animal sciences*, 35(1), 98-112. https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0719-38902019005000205&script=sci_arttex
- Hipol RM., Baldelomar, JA., Bolinget KC., y Solis AFF. (2019) – The soil fungi producing siderophores of Mt. Yangbew, Tawang, La Trinidad, Benguet. *Studies in Fungi*, 4(1), 1–13, <https://Doi10.5943/sif/4/1/1>.
- Ichriani, G., Nuraini, Y., y Handayanto, E. (2017). Solubilization of inorganic phosphate by phosphate solubilizing fungi isolated from oil palm empty fruit bunches of Central Kalimantan. *Bioscience Research*, 14(3), 705-712. https://www.researchgate.net/publication/322492214_Solubilization_of_inorganic_phosphate_by_phosphate_solubilizing_fungi_isolated_from_oil_palm_empty_fruit_bunches_of_Central_Kalimantan
- Jaklitsch, W. M., y Voglmayr, H. (2015). Biodiversity of *Trichoderma* (Hypocreaceae) in Southern Europe and Macaronesia. *Studies in mycology*, 80, 1-87.
- Larios, E., Valdovinos, J., Chan, W., García, F., Manzo, G., y Buenrostro, M. (2019). Biocontrol de Damping off y promoción del crecimiento vegetativo en plantas de *Capsicum chinense* (Jacq) con *Trichoderma* spp. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 10(3), 471-483.
- Leal, J., Gutiérrez, M. A., Castro, L., Lares, F., Cortes, J. y Santos, S. (2018). Microorganismos promotores de crecimiento vegetal con yeso agrícola en papa (*Solanum tuberosum* L.) bajo casa sombra. *Agrociencia*, 52(8), 1149-1159. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1405-31952018000801149&script=sci_arttext
- Li, Y., Liu, X., Hao, T., y Chen, S. (2017). Colonization and Maize Growth Promotion Induced by Phosphate Solubilizing Bacterial Isolates. *Int. J. Mol. Sci*, 18, 1253; <https://doi:10.3390/ijms18071253>.
- López, J., Pelagio, R., y Herrera, A. (2015). *Trichoderma* como bioestimulante: aprovechando las propiedades multinivel de un hongo beneficioso para las plantas. *Scientia Horticulturae*, 196, 109-123. [10.1016 / j.scienta.2015.08.043](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.08.043).
- Martínez, M. (2012). *Determinación del efecto de cepas nativas de Trichoderma spp., en el desarrollo del sistema radical en el cultivo de palma aceitera (Elaeis guineensis Jacq) en la zona de La Unión-Quindé* (Bachelor's thesis, Quevedo: UTEQ).

- Martínez, G. (2018). *Trichoderma* spp. como bioestimulante de crecimiento en la eficiencia fisiológica del chile habanero (doctoral dissertation, instituto tecnológico de torreón).
- Mesa, A., Marin, A., y Osorno, J. (2019). Metabolitos secundarios en *Trichoderma* spp. y sus aplicaciones biotecnológicas agrícolas. *Actu Biol*, 41, 111 Medellín. <http://dx.doi.org/10.17533/udea.acbi.v41n111a02>
- Monfil, V y Casas, S. (2014). Mecanismos moleculares de biocontrol en *Trichoderma* spp. y sus aplicaciones en agricultura. *En Biotecnología y biología de Trichoderma*, 429-453).
- Ortuño, N., Miranda, C., y Claros, M. (2013). Selección de cepas de *Trichoderma* spp. generadoras de metabolitos secundarios de interés para su uso como promotor de crecimiento en plantas cultivadas. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 1(1), 16-32.
- Pikovskaya RI. (1948). Mobilization of phosphorus in soil inconnection with vital activity of some microbial species. *Microbiology*, 17, 362-370.
- Pineda, J., Benavides, E., Duarte, A., Burgos, C., Soto, C., Pineda, C. y Álvarez, S. (2017). Producción de biopreparados de *Trichoderma* spp: una revisión. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 51(1), 47-52. <https://www.redalyc.org/pdf/2231/223153894008.pdf>
- Rodríguez, P. (2017). Impacto del lixiviado de humus de lombriz sobre el crecimiento y producción del cultivo de habichuela (*Vigna unguiculata* L. Walp). *Ciencia en su PC*, 2, 44-58. <https://www.redalyc.org/journal/1813/181351615003/movil/>
- Rojas, N. (2014). Efecto de *Trichoderma harzianum* sobre el fruto del tomate bajo microtúnel; El Tejar, Chimaltenango. *Guatemala: Facultad deficiencias ambientales y agrícolas–Universidad Rafael Landivar*.
- Rubio, M., de Medeiros, A., Morán, M., Castillo, P., Hermosa, R., y Monte, E. (2019). A splitroot method to study systemic and heritable traits induced by *Trichoderma* in tomato plants. In: Reinhardt D., Sharma A. (eds) *Methods in Rhizosphere Biology Research. Rhizosphere Biology. Springer, Singapore*, 151-166. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-13-5767-1_9
- Schwyn B, Neilands, J. (1987). Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry*, 160(1), 47-56.
- Sharma, V., Salwan, R. y Sharma, P. (2017). The comparative mechanistic aspects of *Trichoderma* and probiotics: scope for future research. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 100, 84-96. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0885576517301856>

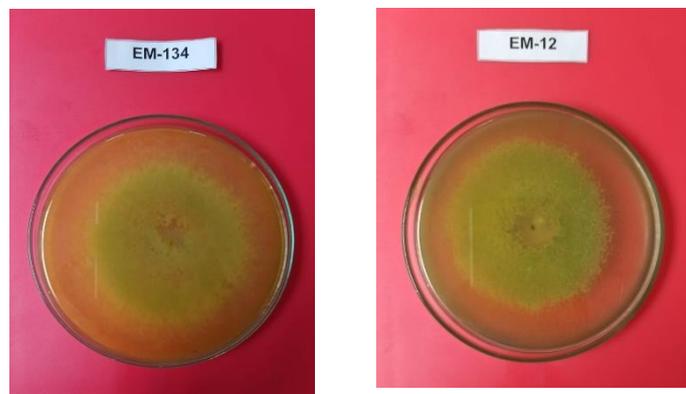
- SEMINIS. (s.f). Pimiento salvador. Disponible en: https://www.vegetables.bayer.com/co/es-co/productos/pimiento/details.html/pepper_salvador_ecuador_seminis_all_open_field_fresh_market_all.html
- Solís, K. (2020). *Aplicación de dos bioestimulantes agrícolas en el comportamiento agronómico del pimiento (Capsicum annuum L.) en el recinto el deseo, Guayas* (tesis de pregrado). Disponible en: https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/SOLIS%20SALINAS%20KEVIN%20OSMAR_compressed.pdf
- Soriano, F. (2019). Uso de microorganismos en la agricultura. Obtenido de AEFA / Asociación Española de Fabricantes de Agronutrientes. Disponible en: <https://aefa-agronutrientes.org/uso-demicroorganismos-en-la-agricultura>
- Torres, A., Héctor, E., Fosado, O., Cué, J. L., Mero, J., León, R. y Peñarrieta, S. (2019). Respuesta del cultivo de pimiento (*Capsicum annuum L.*) ante aplicaciones foliares de diferentes dosis y fuentes de lixiviados de vermicompost. *Bioagro*, 31(3), 213-220. https://www.researchgate.net/publication/335949752_RESPUESTA_DE_L_PIMIENTO_Capsicum_annuum_L_ANTE_APLICACIONES_FOLIARES_DE_DIFERENTES_DOSIS_Y_FUENTES_DE_LIXIVIADOS_DE_VERMICOMPOST
- Torres, M., Ortiz, F., Bautista, C., Ramírez, J., Ávalos, N., Cappello, S., y De la Cruz, A. (2015). Diversidad de *Trichoderma* en el agroecosistema cacao del Estado de Tabasco, México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 86(4), 947-961. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-34532015000400947
- Vinale, F., Nigro, M., Sivasithamparam, K., Flematti, G., Ghisalberti, E., Ruocco, M., Varlese, R., Marra, R., Lanzuise, S., Ahmed, E., Woo, Sh., y Lorito, M. (2013). Harzianic acid: a novel siderophore from *Trichoderma harzianum*, *FEMS Microbiology Letters*, 347(2), 123–129. <https://doi.org/10.1111/1574-6968.12231>.
- Vera, H., y Chila, P. (2016). Evaluación de híbridos de pimiento (*Capsicum annum L.*) Quetzal y salvador, en densidades de siembra para condiciones del litoral ecuatoriano. *Investigación Agropecuaria*, 5. <https://1library.co/document/y807pkwq-evaluacion-de-hibridos-de-pimiento-capsicum-annum-l.html>
- Yu, X., Ai, C., Xin, L., y Zhou, G. (2011). The siderophore-producing bacterium, *Bacillus subtilis* CAS15, has a biocontrol effect on *Fusarium* wilt and promotes the growth of pepper. *European Journal of Soil Biology*, 47(2), 138–145. doi:10.1016/j.ejsobi.2010.11.001
- Zeilinger, S., Gruber, S., Bansal, R., y Mukherjee, P. (2016). Secondary metabolism in *Trichoderma*—chemistry meets genomics. *Fungal biology reviews*, 30(2), 74-90.

<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1749461316300082?token=B843287EAFEBBA63CB364E5E7C44844B879A54CE689FAE7F3C8650CF257DCF385AAB26337C159396FE68D7F9422F1E&originRegion=us-east-1&originCreation=20220711193204>

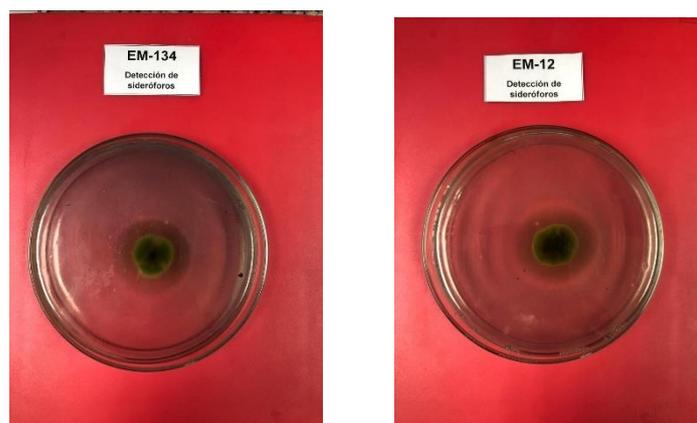
ANEXO



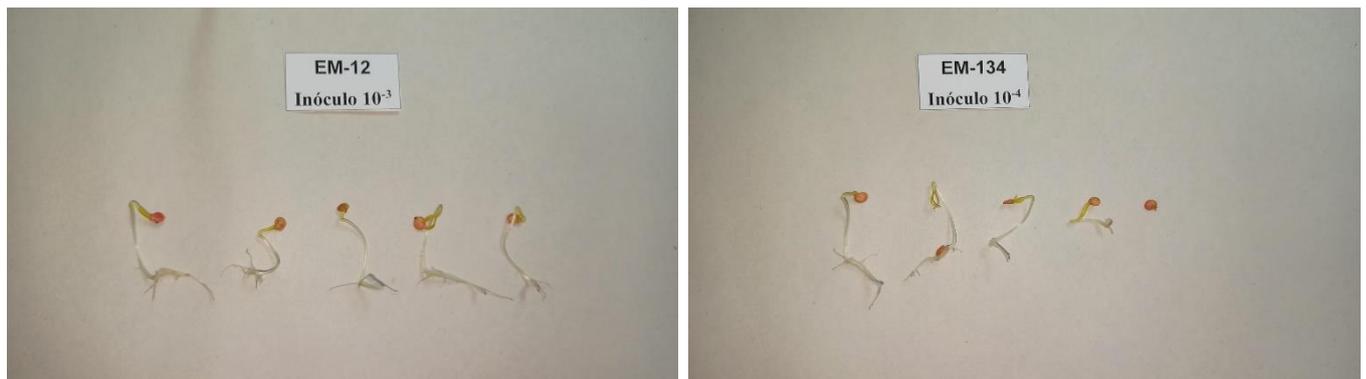
Anexo 1. *T. longibrachiatum* y *Trichoderma* sp.



Anexo 2. Solubilización de fosfato tricálcico



Anexo 3. Detección de sideróforos



Anexo 4. Efecto de *Trichoderma* sobre la germinación y longitud radicular de las semillas de pimiento



Anexo 5. Inoculación de *Trichoderma* a nivel de vivero



Anexo 6. Tutorado de las plántulas de pimiento



Anexo 7. Producción de pimiento



Anexo 8. Peso fresco de la planta



Anexo 9. Peso seco de la planta