



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

**FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
CARRERA RECURSOS NATURALES RENOVABLES**

**APLICACIÓN DE TRES CEPAS DE *Trichoderma* spp. COMO
MEDIO SOSTENIBLE Y AMBIENTALMENTE ADECUADOS
PARA MEJORAR LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DEL
SUSTRATO PARA GRANADILLA (*Passiflora ligularis*) BAJO
CONDICIONES DE VIVERO**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de
INGENIERA EN RECURSOS NATURALES RENOVABLES

AUTORA: GUADALUPE SIMONÉ MOYANO GUILLÍN

DIRECTOR: Ing. VÍCTOR MARIO GARCÍA MORA, MSc.

Riobamba-Ecuador

2024

©2024, Guadalupe Simoné Moyano Guillín

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

Yo, Guadalupe Simoné Moyano Guillín, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados de este son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

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

Riobamba, 10 de junio de 2024



Moyano Guillín Guadalupe Simoné
020191206-0

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
CARRERA RECURSOS NATURALES RENOVABLES

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; tipo: Proyecto de Investigación, **APLICACIÓN DE TRES CEPAS DE *Trichoderma* spp. COMO MEDIO SOSTENIBLE Y AMBIENTALMENTE ADECUADOS PARA MEJORAR LAS CARACTERISTICAS FISICAS DEL SUSTRATO PARA GRANADILLA (*Passiflora ligularis*) BAJO CONDICIONES DE VIVERO**, realizado por la señorita: **Guadalupe Simoné Moyano Guillín**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. Alex Vinicio Gavilanes Montoya PhD. PRESIDENTE DEL TRIBUNAL		2024-06-10
Ing. Víctor Mario García Mora MsC. DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		2024-06-10
Ing. Verónica Lucia Caballero Serrano PhD. ASESORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		2024-06-10

DEDICATORIA

Dedico este trabajo principalmente a Dios por ser mi guía y quien ilumina mi vida para poder cumplir con uno de tantos anhelos que he soñado durante toda mi vida, a mis padres Lupe y Vinicio quienes han sido el pilar fundamental en mi vida ya que con su apoyo, amor, paciencia y dedicación me han dado la fuerza, valentía y perseverancia para lograr cada uno de mis sueños, a mis hermanos quienes con sus palabras de aliento y amor me han impulsado a cumplir cada una de mis metas y no dejarme caer durante este proceso tan importante como es el concluir esta etapa de mi vida.

Simóné

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por haberme dado la vida y bendecirme todos los días de mi vida y por ser mi guía espiritual en cada momento importante de mi vida. También agradezco a mis padres, hermanos y familiares que siempre me brindaron su confianza, apoyo, amor y paciencia, también que nunca faltaron las palabras de aliento para no dejarme vencer en los momentos de debilidad. Un eterno agradecimiento al ingeniero Álvaro Rivera C por su paciencia, tiempo, enseñanzas, su apoyo incondicional y sobre todo la valiosa amistad que formamos durante el transcurso de mi carrera, en mi corazón quedan grabados todos los consejos, los correctivos y sobre todo las risas que nunca faltaron en todo momento.

Al Doctor Pablo Álvarez R que siempre me apoyo ante cualquier situación con su colaboración y conocimientos que fueron de valiosa ayuda.

A los ingenieros Mario García y Verónica Caballero ya que con sus enseñanzas, guías y confianza brindada he culminado un logro más.

A Tania Maldonado por su cariño, apoyo y amistad durante el trayecto de mis estudios.

A mis amigos que fueron un pilar fundamental en este proceso, ya que con su amistad y apoyo me ayudaron a concluir este proyecto.

De igual manera un agradecimiento extensivo a mi querida ESPOCH y a la Facultad de Recursos Naturales por haberme brindado las facilidades, enseñanzas y guías para el desarrollo de este proyecto.

Simóné

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xi
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPITULO I

1. PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN.....	2
1.1. Planteamiento del problema.....	2
1.2. Objetivos.....	2
1.2.1. <i>General</i>	2
1.2.2. <i>Específicos</i>	2
1.3. Justificación.....	3
1.4. Hipótesis.....	3
1.4.1. <i>Hipótesis Nula</i>	3
1.4.2. <i>Hipótesis Alterna</i>	3

CAPITULO II

2. MARCO TEÓRICO REFRENCIAL.....	4
2.1. Generalidades de <i>Trichoderma</i> spp. y granadilla (<i>Passiflora ligularis</i>).....	4
2.1.1. <i>Efecto de Trichoderma spp. en plantas.</i>	4
2.1.2. <i>Uso de Trichoderma spp. a nivel de vivero.</i>	5
2.1.2. <i>Morfología de la granadilla (Passiflora ligularis)</i>	5
2.1.3. <i>Unidades Formadora de Colonias (UFC)</i>	6
2.1.4. <i>Cepas de Trichoderma spp.</i>	7
2.1.5. <i>Sustrato</i>	9
2.1.6. <i>Semillero</i>	9
2.1.7. <i>Turba</i>	9

2.1.8. Inóculo	9
2.1.8.1. <i>Preparación de sustrato</i>	9
2.1.8.2. <i>Inoculación</i>	10
2.1.8.3. <i>Incubación</i>	10
2.1.8.4. <i>Preparación de inóculo</i>	10
2.1.8.5. <i>Calibración de concentración</i>	11
2.1.8.6. <i>Producto final</i>	11

CAPITULO III

3. MARCO METODOLOGICO	12
3.1. Características del lugar	12
3.1.2. <i>Localización</i>	12
3.1.3. <i>Condiciones climáticas</i>	12
3.2. Materiales y equipos	13
3.2.1. <i>Materiales de escritorio</i>	13
3.2.2. <i>Materiales de laboratorio</i>	13
3.3. Metodología de la investigación	15
3.3.1. <i>Diseño experimental</i>	15
3.3.2. <i>Campo experimental</i>	16
3.3.3. <i>Área de la unidad experimental</i>	16
3.3.4. <i>Factores</i>	16
3.3.5. <i>Tratamientos</i>	17
3.3.6. <i>Esquema del área experimental</i>	17
3.3.7. Métodos, técnicas e instrumentos de investigación	18
3.3.7.1. <i>Reactivación de cepas</i>	18
3.3.7.2. <i>Fase de campo</i>	25
3.3.7.3. <i>Variables por evaluar</i>	28

CAPITULO IV

4. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	36
4.1. Efecto antagonista de las cepas de <i>Trichoderma</i> spp.	36
4.2. Desarrollo en la producción de biomasa de la granadilla (<i>Passiflora ligularis</i>)	37
4.2.1. <i>Diámetro a la altura del cuello DAC</i>	37

4.2.2. <i>Número de hojas</i>	38
4.2.3. <i>Color de hojas</i>	41
4.2.4. <i>Biomasa</i>	41
4.2.5. <i>Longitud de raíz</i>	43
4.2.6. <i>Altura</i>	45
4.3. Presencia de <i>Trichoderma</i> spp. en sustrato en la etapa final de vivero	46
4.4. Discusión	47

CAPITULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	49
5.1. Conclusiones	49
5.2. Recomendaciones	50
BIBLIOGRAFÍA	1
ANEXOS	5

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2-1: Taxonomía de <i>Trichoderma</i> spp.	4
Tabla 2-2: Taxonomía <i>Passiflora ligularis</i>	6
Tabla 3-1: Análisis de varianza para un diseño en bloques completos al azar.....	16
Tabla 3-2: Tratamientos establecidos para el diseño experimental.....	17
Tabla 3-3: Materiales y equipos para la reactivación de cepas de <i>Trichoderma</i> spp.	18
Tabla 3-4: Materiales y equipos para la producción de <i>Trichoderma</i> spp.	19
Tabla 3-5: Materiales y equipos para el inóculo de <i>Trichoderma</i> spp.	21
Tabla 3-6: Materiales y equipos para la concentración y conteo de esporas.....	23
Tabla 3-7: Materiales y equipos para la preparación de las dosis de <i>Trichoderma</i> spp.	24
Tabla 3-8: Resultados de las dosis de <i>Trichoderma</i> spp. al diluir con agua	24
Tabla 3-9: Materiales utilizados para la germinación de semillas de granadilla (<i>Passiflora ligularis</i>).....	26
Tabla 3-10: Materiales para la instalación de jaulas y caballetes en invernadero	27
Tabla 3-11: Identificación de color de hojas	30
Tabla 3-12: Escala de vigorosidad	33
Tabla 4-1: Análisis de varianza de dac, mediante un diseño de bloques completos al azar	37
Tabla 4-2: Análisis de varianza de número de hojas, mediante un diseño de bloques completos al azar	38
Tabla 4-3: Análisis de varianza de biomasa, mediante un diseño de bloques completos al azar.....	41
Tabla 4-4: Análisis de varianza de longitud de raíz, mediante un diseño de bloques completos al azar	43
Tabla 4-5: Análisis de varianza de altura, un diseño de bloques completos al azar	45

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 3-1: Distribución del área experimental.....	17
Ilustración 3-2: Reactivación de cepas de <i>Trichoderma</i> spp. en el laboratorio de fitopatología.	19
Ilustración 3-3: Preparación de arrocillo y producción de <i>Trichoderma</i> spp.	20
Ilustración 3-4: Producción de inóculo de <i>Trichoderma</i> spp. en el laboratorio de fitopatología	22
Ilustración 3-5: Variante de inóculo con el agitador magnético en el laboratorio de fitopatología.....	22
Ilustración 3-6: Conteo de esporas y concentración de <i>Trichoderma</i> spp.....	23
Ilustración 3-7: Colocación de las dosis de para su inoculación en el laboratorio de fitopatología.....	25
Ilustración 4-1: Incidencia de <i>Fusarium</i> spp. en la 3 inoculación de <i>Trichoderma</i> spp. en los tratamientos.	36
Ilustración 4-2: Incidencia después de la aplicación de <i>Trichoderma</i> spp. en los tratamientos.	37
Ilustración 4-3: Prueba de comparación de medias según tukey al 5% de significancia para el dac en los tratamientos.....	38
Ilustración 4-4: Prueba de comparación de medias según tukey al 5% de significancia para el número de hojas de las cepas	39
Ilustración 4-5: Prueba de comparación de medias según tukey al 5% de significancia para el número de hojas de las dosis	40
Ilustración 4-6: Prueba de comparación de medias según tukey al 5% de significancia para el número de hojas de los tratamientos.....	40
Ilustración 4-7: Color de las hojas con la aplicación de <i>Trichoderma</i> spp. en la granadilla.....	41
Ilustración 4-8: Prueba de comparación de medias según tukey al 5% de significancia para altura en cepa	42
Ilustración 4-9: Prueba de comparación de medias según tukey al 5% de significancia para altura en dosis.....	43
Ilustración 4-10: Prueba de comparación de medias según tukey al 5% de significancia para longitud de raíz en cepa.....	44
Ilustración 4-11: Prueba de comparación de medias según tukey al 5% de significancia para longitud de raíz en dosis.....	45
Ilustración 4-12: Prueba de comparación de medias según tukey al 5% de significancia para altura en cepa	46
Ilustración 4-13: Presencia de <i>Trichoderma</i> spp. en el sustrato en la etapa final de vivero.	47

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: SELECCIÓN DE SEMILLAS DE GRANADILLA (*Passiflora ligularis*)

ANEXO B: GERMINACIÓN Y REVISIÓN DE PLÁNTULAS EN CRECIMIENTO

ANEXO C: ADECUACIÓN DE SOPORTES PARA LAS PLANTAS

ANEXO D: SELECCIÓN Y ACTIVACIÓN DE CEPAS DE *Trichoderma* (*harzianum*,
hamatum y *longibrachatum*)

ANEXO E: PRODUCCIÓN DE *Trichoderma* (*harzianum*, *hamatum* y *longibrachatum*)

ANEXO F: PREPARACIÓN DE INÓCULO DE CEPAS DE *Trichoderma* spp.

ANEXO G: APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS

ANEXO H: APLICACIÓN DE MICROELEMENTOS

ANEXO I: TOMA DE DATOS COLOR DE HOJAS

ANEXO J: TOMA DE DATOS BIOMASA

ANEXO K: PRESUPUESTO

RESUMEN

El cultivo de granadilla ha proporcionado una fuente económica y alimentaria confiable para las comunidades locales. Sin embargo, durante la etapa de desarrollo ontogénico, las plantas son susceptibles al ataque de diversos agentes fitopatógenos entre los que destacan *Fusarium* spp. causando la pérdida total de las mismas, donde *Trichoderma* spp. puede considerarse una opción ecológica para su control. Se planteó desarrollar el impacto de las cepas de *Trichoderma* spp. como medio sostenible y ambientalmente adecuados para mejorar las características físicas del sustrato para granadilla (*Passiflora ligularis*) bajo condiciones de vivero frente a las enfermedades que se desarrollan. La metodología constó de dos fases: laboratorio e invernadero; en el laboratorio se llevó a cabo la reactivación de las cepas de *Trichoderma* spp., elaboración de inóculos, etc; en el invernadero se efectuó las aplicaciones de *Trichoderma* spp. en sus diferentes dosis y la evaluación del comportamiento del hongo. Las variables fueron evaluadas bajo un diseño DBCA. En la tercera inoculación de *Trichoderma* spp. se presentó una menor incidencia de *Fusarium* spp. con la aplicación de *Trichoderma harzianum* con una dosis de 1×10^6 , en comparación con el resto de los tratamientos, lo mismo ocurrió a la quinta inoculación, *Trichoderma harzianum* mostró mejor efecto significativa en las variables como DAC, número de hojas, color, biomasa, longitud de raíz y altura. En la etapa final, existió mayor colonización de *Trichoderma harzianum* en el sustrato. Los tratamientos influyeron en la etapa inicial y desarrollo de las plantas de granadilla. Se determinó que *T. harzianum* tuvo mayor efecto en el control de *Fusarium* spp. en el desarrollo vegetal y adaptabilidad, mientras que *T. hamatum* y *T. longibrachatum* influyeron en el control de *Fusarium* spp. de forma menos efectiva, estos hallazgos tienen importantes implicaciones para la productividad agrícola, ofreciendo una comprensión más profunda del hongo de *Trichoderma* spp.

Palabras clave: <*Trichoderma* spp.>, <GRANADILLA (*Passiflora ligularis*).>, <*Fusarium* spp.>, <BIOMASA>, <HONGOS FITOPATÓGENOS.>

1080-DBRAI-UPT-2024



ABSTRACT

The cultivation of granadilla has provided a reliable economic and food source for local communities. However, during the ontogenic development stage, plants are susceptible to the attack by various phytopathogenic agents, including *Fusarium* spp., causing total loss of the plants, where *Trichoderma* spp. can be considered an ecological option for its control. The aim was to develop the impact of *Trichoderma* spp. strains as a sustainable and environmentally suitable means to improve the physical characteristics of the substrate for granadilla (*Passiflora ligularis*) under nursery conditions against the diseases that develop. The methodology consisted of two phases: laboratory and greenhouse; in the laboratory, the reactivation of *Trichoderma* spp. strains, preparation of inoculums, etc. were carried out; in the greenhouse, *Trichoderma* spp. applications were carried out at different doses and the behavior of the fungus was evaluated. The variables were evaluated under a DBCA design. In the third inoculation of *Trichoderma* spp., a lower incidence of *Fusarium* spp. was presented with the application of *Trichoderma harzianum* with a dose of 1×10^6 , compared to the rest of the treatments, the same occurred at the fifth inoculation, *Trichoderma harzianum* showed a better significant effect on variables such as DAC, number of leaves, color, biomass, root length and height. In the final stage, there was greater colonization of *Trichoderma harzianum* in the substrate. The treatments influenced the initial stage and development of the granadilla plants. It was determined that *T. harzianum* had a greater effect in the control of *Fusarium* spp. in plant development and adaptability, while *T. hamatum* and *T. longibrachatum* influenced the control of *Fusarium* spp. less effectively, these findings have important implications for agricultural productivity, offering a deeper understanding of the *Trichoderma* spp. fungus.

Keywords: <*Trichoderma* spp.>, <GRANADILLA (*Passiflora ligularis*).>, <*Fusarium* spp.>, <BIOMASS>, <PHYTOPATHOGENIC FUNGI.>



Lic. Lorena Hernández A. M.A.

180373788-9

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial el hongo *Trichoderma* spp. es uno de los agentes que más se usan en los programas de control biológico como reguladores de hongos fitopatógenos (Amerio et al., 2020, págs. 113-124). La aplicación de *Trichoderma* spp. a nivel local resulta ventajosa en varias áreas de la agricultura. Estos hongos desempeñan un papel crucial como agentes de control biológico, estimulantes del crecimiento de las plantas y mejoradores de la calidad del suelo (Aviles Lindao, 2022, pag. 12).

Las propiedades antagónicas de *Trichoderma* spp. hacia hongos patógenos se basan en la activación de múltiples mecanismos que incluyen la competencia por nutrientes y espacio, el micoparasitismo, la antibiosis, el crecimiento vegetal e inducción de respuestas de defensa vegetal. Durante este proceso, *Trichoderma* spp. secreta enzimas que hidrolizan la pared celular de los hongos que parasita, siendo las más conocidas las proteasas, las quitinasas y las glucanasas y provocan la retracción de la membrana plasmática y la desorganización del citoplasma. También inhiben la germinación de esporas y la elongación del tubo germinativo (Hernández-Melchor et al., 2019, pag. 5)

La familia *Passifloraceae* representada por su principal género *Passiflora* se la identifica como aquellas plantas fanerógamas, dicotiledóneas, de hábitos de crecimiento trepador y entre sus representantes más conocidos se destacan la “curuba”, “granada china”, “fruta de la pasión”, “parcha” entre otros. También cabe mencionar que su consumo básicamente es en fresco, aunque también se elaboran jugos y concentrados. La granadilla, ha ido ganando un lugar muy importante dentro de los productos más potenciales en Ecuador con una amplia aceptación tanto en el mercado interno como en el externo (Torres, 2019, pag. 1)

La aplicación de *Trichoderma* spp. en el cultivo de granadilla (*Passiflora ligularis*) recubre una importancia económica significativa. A nivel mundial la granadilla mantiene una importancia comercial en varias regiones tropicales, al usar el hongo de *Trichoderma* spp. como biocontrolador y promotor de crecimiento mejorando el rendimiento y calidad de producción, extendiendo su valor comercial y competitividad en mercados internacionales (FAO 2023)

A nivel nacional y local en Ecuador el cultivo de granadilla (*Passiflora ligularis*) ha sido de gran importancia socioeconómica para pequeños productores y comunidades rurales que han optado por el uso de *Trichoderma* spp. para incrementar la calidad del cultivo y el desarrollo económico para una producción accesible y rentable

CAPITULO I

1. PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del problema

Las perspectivas del mercado de la granadilla en Ecuador se consideran favorables. En 2019, el país exportó aproximadamente 15,000 toneladas métricas de esta fruta. Sin embargo, el potencial de expansión y crecimiento del cultivo enfrenta serias amenazas debido a la presencia de problemas fitosanitarios, en particular, enfermedades fungosas como la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*). Esta enfermedad es responsable de la pérdida de alrededor del 30% de la cosecha, afectando tallos, hojas y frutas (Forero Niño, 2019, pags. 26-27-28).

La producción de granadilla (*Passiflora ligularis*) en condiciones de vivero enfrenta desafíos relacionados con la calidad del sustrato y el manejo sostenible de enfermedades. Existe la necesidad de encontrar soluciones que promuevan el crecimiento saludable de las plantas y reduzcan el uso de químicos sintéticos entre los más utilizados se encuentran los químicos fosfatados, potásicos y nítricos.

En este contexto se planteó la aplicación de tres cepas de *Trichoderma* spp. en un sustrato como una estrategia potencialmente sostenible para mejorar las características de la granadilla en condiciones específicas y contraladas.

1.2. Objetivos

1.2.1. General

Aplicar tres cepas de *Trichoderma* spp. como medios sostenibles y ambientalmente adecuados para mejorar las características físicas del sustrato para granadilla (*Passiflora ligularis*) bajo condiciones de vivero.

1.2.2. Específicos

- Evaluar el efecto antagonista de tres cepas de *Trichoderma* spp. en la sanidad de la granadilla (*Passiflora ligularis*)
- Evaluar el desarrollo en la producción de biomasa de la granadilla (*Passiflora ligularis*)
- Analizar la presencia de *Trichoderma* spp. en el sustrato en etapa final de vivero.

1.3. Justificación

El artículo 281 de la Constitución de la República del Ecuador establece que el Estado tiene la responsabilidad de fomentar la soberanía alimentaria como parte del reconocimiento del derecho de las personas a tener acceso a una alimentación nutritiva, saludable y culturalmente adecuada. Esto implica la necesidad de intervenir en los aspectos relacionados con la producción, distribución y consumo de alimentos (FAO, 2019, pag. 4)

SENPLADES 2015, señala que en la región interandina se encuentran grandes extensiones de tierra que están siendo sobre utilizadas, principalmente debido al uso actual del suelo y a su aptitud. Además, factores como la disponibilidad de agua, la exposición al viento y la práctica agrícola intensiva contribuyen a la pérdida de suelo cultivable y a la erosión en dichas áreas (Plan Semplades 2014-2017, 2017, pag. 7).

Trichoderma harzianum y *Trichoderma hamatum* y *Trichoderma longibrachatum*, son microorganismos que tienen diferentes beneficios positivos sobre las especies agrícolas en el crecimiento, desarrollo y sanidad de las plantas. Teniendo en cuenta la importancia de los hongos en los sistemas agrícolas (Bustamante et al., 2021, pags. 15-18).

Este estudio representa además de la perspectiva taxonómica, de conocimiento y protección de la biodiversidad, una gran alternativa para la obtención de plantas de calidad lo cual representa un aporte con información de microorganismos endófitos para la producción en vivero de granadilla (*Passiflora ligularis*) en nuestro país

1.4. Hipótesis

1.4.1. Hipótesis Nula

Ninguna de las cepas de *Trichoderma* spp. mejora la calidad del sustrato para granadilla

1.4.2. Hipótesis Alternativa

Al menos una de las cepas de *Trichoderma* spp. mejora la calidad del sustrato para granadilla

CAPITULO II

2. MARCO TEÓRICO REFRENCIAL

2.1. Generalidades de *Trichoderma* spp. y granadilla (*Passiflora ligularis*)

El género *Trichoderma* es uno de los más estudiados, entre numerosos agentes de control biológico, por sus características de antagonismo en condiciones naturales. Se comporta como hiperparásito frente a diversos patógenos, atacando directamente y produciendo la ruptura del micelio de los hongos productores de enfermedades de las plantas (Román et al., 2022, pags. 4-6)

Las variedades pertenecientes a esta categoría son hongos que se desenvuelven en el suelo y en el entorno foliar de forma independiente, mostrando una fuerte interacción con las raíces. Asimismo, se ha observado en este grupo una notable habilidad para neutralizar los exudados liberados por las semillas en proceso de germinación, los cuales promueven el crecimiento de esporas de hongos patógenos en el suelo. Este estudio está dirigido a aumentar la densidad del inóculo, mediante prácticas agrícolas o por introducción directa en el sustrato (Román et al., 2022, pags. 23-24)

Tabla 2-1: Taxonomía de *Trichoderma* spp.

Nivel de clase	Denominación
Dominio	Eukaryota
Reino	Fungi
Filo	Ascomycota
Clase	Sordariomycetes
Orden	Hypocreales
Familia	Hypocreaceae
Género	<i>Trichoderma</i>
Especie	<i>T. harzianum</i> , <i>T. hamatum</i> , <i>T. longibrachatum</i> , etc.

Fuente: (González-León et al., 2022, pags. 7-8)

Realizado por: Moyano, S 2024

2.1.1. Efecto de *Trichoderma* spp. en plantas.

Los microorganismos benéficos como *Trichoderma* spp. son una alternativa sana y limpia para combatir plagas y enfermedades en las plantas (Chiriboga et al., 2022, pag. 6)

Estos efectos positivos, reafirman la capacidad de *Trichoderma* spp. como promotor del crecimiento vegetal y biomasa radicular, lo cual pudiera deberse a su capacidad para solubilizar fosfatos, micronutrientes y cationes minerales útiles para el metabolismo de las plantas (Ruiz-Cisneros et al., 2018, pags. 5-7)

2.1.2. Uso de *Trichoderma* spp. a nivel de vivero

La adición de *Trichoderma* spp. al sustrato de las plántulas en etapa de vivero puede generar una serie de efectos benéficos en el crecimiento de las raíces de las plantas, incrementando la resistencia a la sequía y otros impactos climáticos. Además de la mejora en la absorción de nutrientes, establece una relación de simbiosis con las raíces de las plantas, puede potenciar la capacidad de asimilar los nutrientes del suelo, promoviendo un crecimiento más robusto de las plántulas (Dubey et al., 2019, pags. 125-148).

También incrementa la resistencia a enfermedades, tiene la capacidad para colonizar el sustrato y combatir a los patógenos del suelo, puede reducir la incidencia de enfermedades radiculares y foliares en las plantas (Pratap Singh et al., 2021, pags. 1-9).

A su vez el estímulo de crecimiento radicular produce hormonas vegetales y compuestos bioactivos que estimulan el crecimiento de las raíces de las plantas. Esto puede resultar en un sistema radicular más extenso y saludable, lo que mejora la capacidad de la planta para absorber agua y nutrientes del suelo (Woo et al., 2023, pags. 312-326).

La granadilla (*Passiflora ligularis*) es una fruta que se originó en Colombia y ha ganado prominencia como la segunda fruta más importante en términos económicos dentro de la familia *Passifloraceae*. Su amplia comercialización tanto a nivel nacional como internacional se debe a su delicioso sabor, y especialmente a su alto valor nutricional (Gaona-Gonzaga et al., 2020, pags. 75-82)

2.1.2. Morfología de la granadilla (*Passiflora ligularis*)

(Villamar Triana, 2018, pags. 23-24) menciona que la morfología de la granadilla se presenta de la siguiente manera:

Tallo y raíces: Es una vigorosa liana perenne, tallos grisáceos, surcados, suaves pero leñosos en la base, cilíndricos o débilmente angulados, estriados, glóbulos, entrenudos hasta robusto y largo. Estípula oblonga-ovada de acuminada, entera, estrecha en la base. Pecíolos, generalmente apareados, filiformes alargados o ligados. Las raíces son fasciculadas y poco profundas.

Hojas: Las hojas son ovadas, profundamente cordadas en la base, abruptamente acuminadas, márgenes enteros, de color verde oscuro casi azul en su parte superior y un lado verde-grisáceo, mientras que sus hojas jóvenes en tono violeta ligero o fuerte.

Flores: Tienen un olor dulce y almizclado, son pendientes, acampanadas, sus sépalos son agudos, en el exterior verde y su interior blanco; los pétalos oblongos de color blancos, la corona con cinco a siete filas de filamentos, las anteras muestran el polen de color amarillo.

Fruto: La cáscara es lisa, dura y con un acolchado para proteger las semillas de la pulpa. La pulpa está llena de semillas duras de color negruzco, rodeadas por un arilo gelatinoso, transparente, de color gris claro, con sabor acidulo muy aromático; contiene vitaminas A, C y K, fósforo, hierro y calcio.

Tabla 2-2: Taxonomía *Passiflora ligularis*

Nivel de clase	Denominación
Dominio	Uekaryota
Reino	Plantae
Filo	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopshyta
Orden	Vilolales
Familia	Passifloraceae
Género	Passiflora
Especie	<i>Ligularis</i>

Fuente: (Pantoja Ayala, 2023, pag. 19)

Realizado por Moyano, S 2024

2.1.3. Unidades Formadora de Colonias (UFC)

(Coltrin, 2021, pag. 2) menciona que las unidades que describen las colonias son importantes, esto se refiere a un indicador de la cantidad de microorganismos presentes en un líquido. Este valor se determina mediante el recuento de colonias individuales, que representa la cantidad de células de un organismo, ya sean bacterias o hongos, presentes en el agua y que están vivos y se reproducen en ella.

Las unidades que describen estas colonias son cruciales, y es necesario observarlas durante un período de tiempo para medir las UFC, ya que un solo hongo puede multiplicarse rápidamente y formar una colonia. Esto permite evaluar la rapidez con la que se desarrollan los hongos. Para garantizar la precisión de los resultados del análisis, se realiza una comparación contando el número de hongos presentes en 100 ml de agua (Coltrin 2021, pag. 2)

Medios de Cultivo

Los medios de cultivo son compuestos empleados en el laboratorio para cultivar y mantener microorganismos, como bacterias, virus y hongos, con el fin de promover su crecimiento. En algunos casos, también se utilizan para el cultivo de tejidos o células, aunque en menor medida. Estos medios proveen los nutrientes necesarios para la multiplicación y desarrollo de los microorganismos, que pueden incluir carbohidratos, proteínas, sales minerales y vitaminas. Además de nutrir, los medios de cultivo pueden contener indicadores que facilitan la identificación de diferentes tipos de microorganismos (Sánchez & Murillo García, 2020, pags. 69-78)

- Potato Dextrosa Agar (PDA)

El Agar de Dextrosa de Patata (PDA) se emplea como medio de cultivo para detectar y contar levaduras, mohos, hongos y bacterias. Si se le incorpora cloranfenicol, puede utilizarse como medio selectivo o para evaluar su aplicabilidad en ciertos ensayos (Sánchez & Murillo García, 2020, pag. 80)

- Bengala Rosa Agar (ARB)

El Agar Rosa de Bengala es un medio selectivo y neutral recomendado para contar hongos y levaduras presentes en alimentos, agua y muestras ambientales. Este agar es ideal para muestras alimenticias con alto contenido proteico, que suelen tener una flora predominantemente compuesta por bacterias Gram-negativas en forma de bastón. Se sugiere su uso cuando se necesitan tiempos y temperaturas de incubación más prolongados, aproximadamente a 35 °C (Sánchez & Murillo García, 2020, pag. 80)

2.1.4. Cepas de *Trichoderma* spp.

Para el presente estudio se utilizaron las siguientes cepas: *T. harzianum*, *T. hamatum*, *T. longibrachatum*

- *Trichoderma harzianum*

Para (Xiao et al., 2023, pags. 3-4) *Trichoderma harzianum* es un hongo anaerobio que se encuentra comúnmente en la mayoría de los suelos agrícolas y otros sustratos. Este hongo proporciona diversos beneficios para la agricultura, además de servir como agente de control biológico. Se caracteriza por su rápido crecimiento y desarrollo, así como por la secreción de metabolitos que

inhiben o eliminan a los competidores en el entorno microbiano. Su capacidad para desarrollarse en una amplia variedad de sustratos facilita su producción para su uso en la agricultura

El micelio es inicialmente blanco, pero con el tiempo puede adquirir un color verde debido a la esporulación. Las colonias de este hongo suelen presentar una apariencia algodonosa o aterciopelada al principio, luego cambian a un color blanco o amarillo durante la esporulación inicial, y finalmente se tornan de un verde oscuro a medida que crecen

Esta cepa se seleccionó debido a su capacidad para mejorar los parámetros de vigor de las plantas, aumentar el rendimiento de la producción e incluso reducir la necesidad de utilizar fertilizantes externos.

- *Trichoderma hamatum*

(Lodi et al., 2023, pags. 7-8) menciona que *Trichoderma hamatum* es un tipo de hongo filamentos que se destaca por su papel como agente de control biológico y promotor del crecimiento vegetal. Es reconocido por su capacidad para combatir y controlar diversos patógenos de plantas, tanto del suelo como foliares, mediante la producción de una amplia gama de metabolitos bioactivos y enzimas que inhiben el crecimiento de estos agentes dañinos. Además de su función como controlador biológico, este hongo también contribuye al crecimiento de las plantas al estimular el desarrollo de las raíces, facilitar la absorción de nutrientes y fortalecer la resistencia de las plantas ante el estrés, tanto biótico como abiótico.

- *Trichoderma longibrachatum*

(Recio et al., 2019, pags. 8-21) menciona que *Trichoderma longibrachatum* es una especie saprófita que se encuentra frecuentemente en el suelo y otros entornos naturales. Se distingue por sus conidióforos largos y ramificados que generan conidios en cadenas extensas. A pesar de su semejanza con otras especies de *Trichoderma*, se ha investigado específicamente debido a su potencial como agente de control biológico y su capacidad para fomentar el desarrollo de las plantas.

Este hongo ha demostrado ser eficaz en la erradicación de varios patógenos vegetales, como hongos del suelo y enfermedades foliares. Su actividad de control se basa en la competencia por recursos y en la producción de metabolitos antifúngicos que obstaculizan el crecimiento de los agentes patógenos

Además, es capaz de segregar diversas enzimas que degradan la materia orgánica en el suelo, lo que contribuye a la liberación de nutrientes y al ciclo de nutrientes en los sistemas agrícolas.

2.1.5. Sustrato

(Bárbaro et al., 2019, págs. 126-136) define al sustrato como un soporte físico que facilita el óptimo desarrollo del sistema radicular de las plantas. Puede tener diversos orígenes, ya sea natural, sintético, inerte u orgánico, y su propósito es servir como un medio de crecimiento para las especies vegetales. Además de ser un sustrato para el crecimiento de las plantas, también puede considerarse un ecosistema en el que conviven numerosas especies vivas, no necesariamente plantas.

El sustrato puede utilizarse de forma individual o combinado con otros medios para favorecer el buen crecimiento de las plantas, dependiendo de las necesidades específicas de cada tipo de planta, el método de propagación y tipo de recipiente que se utilizará, tanto en términos de volumen como de material.

2.1.6. Semillero

Es el lugar en donde se siembran las plantas para luego ser trasplantadas. generalmente los semilleros deben tener una altura entre 15 a 20 cm de altura, un metro o 1,5 m de ancho y el largo va a depender de la cantidad de plantas que se requiera producir.

2.1.7. Turba

La turba es un material orgánico constituido por elementos procedentes de la descomposición de vegetales. Es uno de los materiales más usados como sustrato, tanto en jardinería como en agricultura. Todos hemos oído hablar alguna vez de este tipo de sustrato tan utilizado en jardines, huertos y cultivos (Castillo Arnedo , 2018 pag. 10)

2.1.8. Inóculo

Para la elaboración del inóculo de *Trichoderma* spp. se aplicó el manual elaborado por (Román et al. 2022, págs. 28-31) que menciona los requerimientos necesarios para la producción de este, detallando paso a paso desde la preparación del sustrato hasta la obtención del producto final.

2.1.8.1. Preparación de sustrato

El sustrato utilizado para la producción masiva de *Trichoderma* spp. puede estar definido de acuerdo con la accesibilidad, economía y volumen a producir. Se puede utilizar (arroz, arrocillo,

maíz, trigo, sorgo, caña de azúcar o sus residuos). En este caso se seleccionará el arrocillo o arroz partido como sustrato de producción

En un inicio se realizará varios lavados del sustrato y se deja secar en un colador para que pierda el exceso de humedad. Una vez se haya secado se procede a colocar en botellas de vidrio autoclavables para proceder a realizar su esterilización en un ciclo de autoclave a 121° por el lapso de 25 minutos. Esterilizado el sustrato, el mismo está listo para pasar a la etapa de inoculación

2.1.8.2. Inoculación

Se partirá de una caja de Petri con el aislado seleccionado (esta debe estar esporulada), con la ayuda de una cucharita plástica estéril sacaremos toda la biomasa de la caja y se colocará en un vaso de precipitación, se añadirá 50mL de agua destilada estéril y mezclaremos cuidadosamente para obtener el inóculo de partida. El arrocillo estéril se coloca en tarrinas (previamente esterilizadas) hasta cubrir las 3/4 partes del volumen. Con la ayuda de una jeringa se irá inoculando cada tarrina con aproximadamente 10ml de inóculo

2.1.8.3. Incubación

Las tarrinas con el sustrato inoculadas serán colocadas en una cabina de esporulación diseñada para el control de luminosidad con una intensidad periódica de 12h de luz y 12h de oscuridad para promover la colonización por parte del hongo en el sustrato además esta cabina cuenta con un calefactor que permite regular la temperatura. Se incuban por alrededor de 10 días, cada 2 días se revisa el crecimiento y se revuelve el sustrato para facilitar la inoculación

2.1.8.4. Preparación de inóculo

Luego de transcurrido el periodo de incubación se prepara el inóculo que estará listo para aplicación en cultivo. Para lo cual se requiere botellas estériles, agua destilada estéril, un colador, cucharas y una licuadora

Se colocará poco a poco el sustrato inoculado en la licuadora y junto con agua destilada estéril, licuamos por alrededor de dos minutos. Colamos por un tamiz el más fino posible para evitar que restos de sustrato pasen y ocasionen problemas en los equipos de aplicación en campo (taponen boquillas de bombas)

2.1.8.5. Calibración de concentración

Para calibrar la concentración del producto final se realiza un conteo de esporas en una cámara de Neubauer. Se colocará una gota de agua en el canal central de la cámara, fijaremos la placa portaobjetos, por el canal lateral cuidadosamente colocamos una pequeña porción de la suspensión obtenida hasta que se disperse por toda la placa, llevaremos al microscopio y procedemos a cuantificar las esporas, con la fórmula propuesta determinamos la concentración final

2.1.8.6. Producto final

El producto final de la producción masiva de Trichoderma se lo puede obtener tanto de forma líquida o sólida, depende de la finalidad u objetivo que se está desarrollando. Hay que tener en cuenta que los productos deben conservarse en lugares frescos con temperaturas bajas, para que no pierdan su eficiencia, además es recomendable que los envases plásticos en caso de producción líquida sean oscuros

CAPITULO III

3. MARCO METODOLOGICO

3.1. Características del lugar

3.1.2. Localización

En el laboratorio de Fitopatología se realizó la fase de laboratorio y en el invernadero la parte de manejo del cultivo que se encuentran ubicados en la Facultad de Recursos Naturales de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo localizada en la Panamericana Sur, Km 1½ de la ciudad de Riobamba con las coordenadas 1°39'29"S - 78°40'35"O a una altitud de 2.754 msnm.

3.1.3. Condiciones climáticas

El clima que presenta la ciudad de Riobamba oscila en una temperatura de 10°C a 19°C, la misma que presenta dos estaciones que son húmeda y seca (INAHMI, 2023, pag. 2).

Durante los períodos de altas temperaturas que afectaron a todo el país a principios del año 2024, el INAMHI reportó que las temperaturas en la región de la sierra oscilaron entre los 23°C a 25°C. Asimismo, se llevó a cabo la medición de los niveles de radiación ultravioleta, donde la provincia de Chimborazo se ubicó en la categoría de "muy alto", con valores que oscilaron entre 8 y 10 UV en la escala proporcionada (INAHMI, 2023, pag. 4).

En el caso de la granadilla, durante las olas de calor que se generó en el país durante varias semanas y como se encontraron a nivel de vivero, sufrieron un nivel de estrés por calor, esto se define como la serie de daños irreversibles en el metabolismo y el desarrollo de las plantas que pueden causar las altas temperaturas, y es un fenómeno complejo que involucra la duración del estrés, la tasa de incremento y la temperatura máxima alcanzada.

La temperatura ideal para el cultivo de granadilla en vivero puede cambiar dependiendo de las características particulares del área y las necesidades de la planta. Por lo general, se establece que la temperatura mínima sea entre 18°C a 20°C, mientras que la máxima puede estar entre 25°C a 30°C y la temperatura óptima se encuentra generalmente en el intervalo de 22°C a 28°C para su normal desarrollo y sobrevivencia (Gonzales Orihuela & Vican Taipe, 2023, pags. 11-13)

3.2. Materiales y equipos

3.2.1. *Materiales de escritorio*

- Equipo de computo
- Libreta de apuntes
- Cámara fotográfica

3.2.2. *Materiales de laboratorio*

Equipos

- Cámara de Neubauer (HIRSCHMANN 8100204)
- Cámara de flujo laminar (OASIS 48)
- Autoclave (BIOBASE BKQ-B100II)
- Incubadora (BIOBASE BJPX-H50II)
- Secador de vidrio (SELECTA 200038)
- Destilador de agua (BOECO WS 8000)
- Agitador magnético (LABDIN MS200D)
- Refrigerador (DUREX)
- Microondas (LG MS1536GIR)
- Mufla o Estufa (BIOBASE BJPX-H50II)
- Microscopio (ZEISS)
- Licuadora (OSTER)
- Micropipeta (BOECO GERMANY PC 153270)
- Temporizador digital (VOLTECK)
- Calibrador Pie de Rey digital (VERNIER)
- Libro de Munsell para tejidos vegetales

Reactivos

Medios de cultivos

- Rosa Bengala Agar (ARB)
- Papa Dextrosa Agar (PDA)

Cristalería

- Cajas de Petri
- Vasos de precipitación
- Placas porta y cubre objetos
- Matraz de Erlenmeyer
- Botellas
- Pipeta
- Pera de succión

Material biológico

Cepas de Trichoderma

- *Trichoderma harzianum*,
- *Trichoderma longibrachatum*,
- *Trichoderma hamatum*

Otros materiales

- Cámara de inoculación para las diferentes cepas de *Trichoderma*
- Agua destilada y esterilizada
- Vaso de licuadora
- Embudo
- Cernidero
- Cuchara pequeña
- Tarrinas de plástico
- Botellas de plástico
- Probetas
- Aza de transferencia
- Agujas
- Sorbetes
- Palillos
- Pinzas

Materiales de campo

- Inóculo de *Trichoderma* spp
- Jeringas de 10 ml
- Semillas de granadilla (*Passiflora ligularis*)
- Gavetas
- Sarán
- Jaulas
- Caballetes
- Agua
- Sustrato para semillas
- Semilleros
- Turba BM2
- Tierra negra

3.3. Metodología de la investigación

3.3.1. Diseño experimental

Se realizó un diseño de bloques completos al azar (DBCA) con estructura bifactorial, correspondientes a 3 bloques con 10 tratamientos cada uno.

El modelo aditivo lineal corresponde a la siguiente expresión matemática:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + \gamma_k + (\tau\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

donde,

Y_{ijk} : Es la observación de la k-ésima unidad experimental en el j-ésimo bloque y el i-ésimo tratamiento.

μ : Es la media general del ensayo.

τ_i : Es el efecto del efecto del i-ésimo tratamiento.

β_j : Es el efecto del j-ésimo bloque.

γ_k : Es el efecto del k-ésimo bloque.

$(\tau\beta)_{ij}$: Es la interacción del i-ésimo tratamiento y el j-ésimo bloque.

ε_{ij} : Es el error aleatorio asociado con la k-ésimo observación en el j-ésimo bloque y el i-ésimo tratamiento.

Tabla 3-1: Análisis de varianza para un diseño en bloques completos al azar

Fuente de variabilidad	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado medio	F ₀	Valor-p
Afecto A	SC_A	$a - 1$	CM_A	CM_A / CM_E	$P(F > F^A_0)$
Afecto B	SC_B	$b - 1$	CM_B	CM_B / CM_E	$P(F > F^B_0)$
Afecto AB	SC_{AB}	$(a-1)(b-1)$	CM_{AB}	CM_{AB} / CM_E	$P(F > F^{AB}_0)$
Error	SC_E	$ab(n-1)$	CM_E		
Total	SC_T	$abn - 1$			

Fuente: (Pulido, 2007, pag. 104)

Realizado por: Moyano. S 2024

3.3.2. *Campo experimental*

- Tratamientos 10
- Bloques 3
- Unidades experimentales 30

3.3.3. *Área de la unidad experimental*

El área total del invernadero fue de 136 m², del cual fue asignada un área de 64 m². Las gavetas en las que se colocaron las plantas contenían una altura: 18 cm un ancho: 40 cm x un largo: 60 cm

3.3.4. *Factores*

Se establecieron dos factores en el diseño experimental los mismos que son:

Factor A: Cepas de *Trichoderma* dichos niveles son los siguientes:

1. *Trichoderma. hamatum*
2. *Trichoderma. longibrachatum*
3. *Trichoderma harzianum*

Factor B: Se realizaron 3 dosis dichos niveles en todas las cepas tuvieron las mismas concentraciones las cuales fueron:

1. Concentración de *Trichoderma* 10⁴
2. Concentración de *Trichoderma* 10⁵
3. Concentración de *Trichoderma* 10⁶

3.3.5. Tratamientos

En la tabla 3-2 , se muestran los tratamientos que se utilizaron en el diseño experimental

Tabla 3-2: Tratamientos establecidos para el diseño experimental

Trat.	Factor A	Factor B	Factor AxB	Cepa de <i>Trichoderma</i> x concentración
T1	<i>T. hamatum</i>	Concentración 10 ⁴	A1xB1	<i>T. hamatum</i> x Concentración 10 ⁴
T2	<i>T. hamatum</i>	Concentración 10 ⁵	A1xB2	<i>T. hamatum</i> x Concentración 10 ⁵
T3	<i>T. hamatum</i>	Concentración 10 ⁶	A1xB3	<i>T. hamatum</i> x Concentración 10 ⁶
T4	<i>T. longibrachatum</i>	Concentración 10 ⁴	A2xB1	<i>T. longibrachatum</i> x Concentración 10 ⁴
T5	<i>T. longibrachatum</i>	Concentración 10 ⁵	A2xB2	<i>T. longibrachatum</i> x Concentración 10 ⁵
T6	<i>T. longibrachatum</i>	Concentración 10 ⁶	A2xB3	<i>T. longibrachatum</i> x Concentración 10 ⁶
T7	<i>T. harzianum</i>	Concentración 10 ⁴	A3xB1	<i>T. harzianum</i> x Concentración 10 ⁴
T8	<i>T. harzianum</i>	Concentración 10 ⁵	A3xB2	<i>T. harzianum</i> x Concentración 10 ⁵
T9	<i>T. harzianum</i>	Concentración 10 ⁶	A3xB3	<i>T. harzianum</i> x Concentración 10 ⁶
T10	Control	-	-	-

Realizado por: Moyano. S 2024

3.3.6. Esquema del área experimental

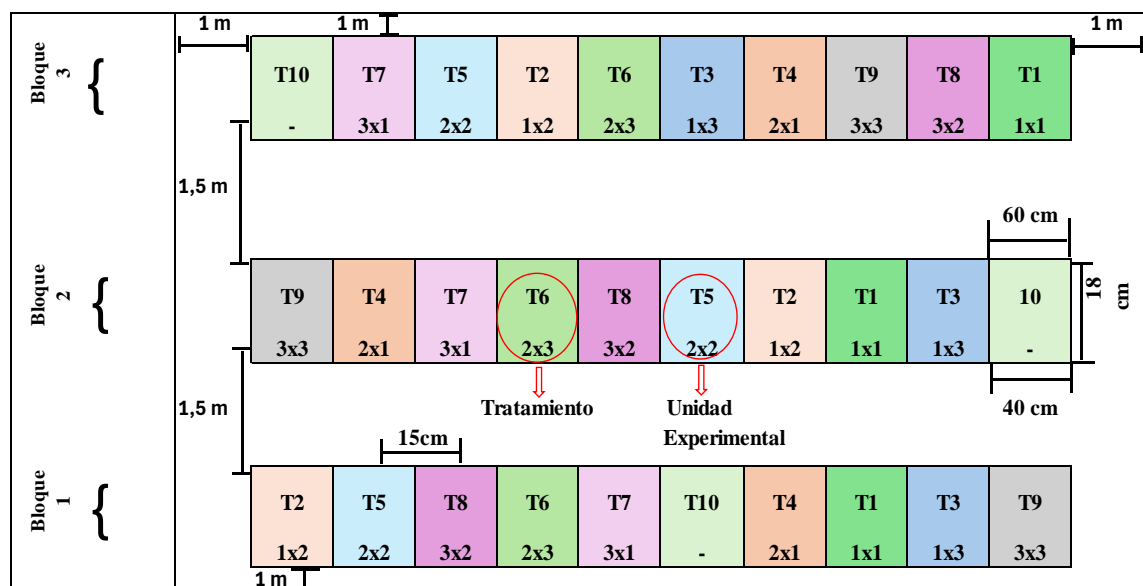


Ilustración 3-1: Distribución del área experimental

Realizado por: Moyano S. 2024

3.3.7. Métodos, técnicas e instrumentos de investigación

3.3.7.1. Reactivación de cepas

En el laboratorio se realizaron actividades para la reactivación y producción de *Trichoderma* spp. en las cuales implicaron aislar cepas, preparar medios de cultivo, cultivar y monitorear el crecimiento del hongo, escala de producción y productos finales para su aplicación en el campo.

- Reactivación de cepas de *Trichoderma* spp.

La reactivación de cepas de *Trichoderma* se realizó en 2 tipos de medios de cultivo que fueron Potato Dextrosa Agar (PDA) y Bengala Rosa Agar (ARB) en cajas de Petri. Los materiales y equipos utilizados para la reactivación de cepas de *Trichoderma* se describen en la tabla 3-3:

Tabla 3-3: Materiales y equipos utilizados para la reactivación de cepas de *Trichoderma* spp.

Materiales	Cantidad	Equipos	Cantidad
PDA	7,5 g	Cámara de flujo laminar	1
ARB	7,5 g	Autoclave	1
Cepas	3	Incubadora	1
Plástico film	1	Pinzas	1
Botellas de 1000 ml	3	Aguja	1
Papel Kraft	3	Mechero de Bunsen	1
Marcador	1	Cajas de Petri	30
-	-	Lámpara de ozono	1

Realizado por: Moyano, S. 2024

Realizado el repique de las cepas de *Trichoderma* seleccionadas, se sellaron las cajas de Petri con plástico film y se colocaron en la incubadora que se encuentra a 28°C que es la temperatura adecuada para que las cepas repicadas esporulen y los resultados se visualizaron dentro de 5 a 8 días luego de la reactivación.

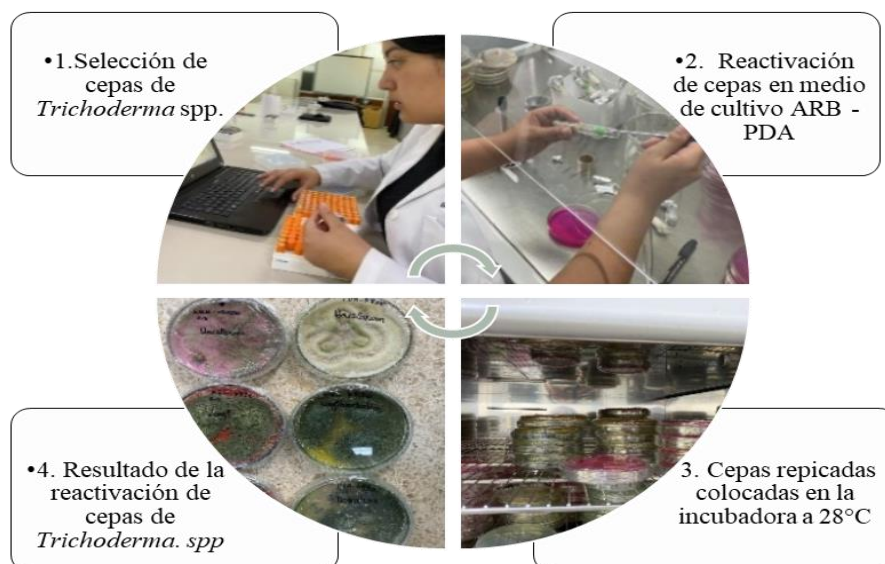


Ilustración 3-2: Reactivación de cepas de *Trichoderma spp.* en el laboratorio de fitopatología.

Realizado por: Moyano, S. 2024

- Producción de *Trichoderma spp.*

Para la producción de *Trichoderma spp.* mediante el manual realizado por (Román et al. 2022) y con las cepas reactivadas se realizó varias producciones de *Trichoderma spp.* Los materiales y equipos utilizados para la producción de *Trichoderma spp.* se describen en la tabla 3-4.

Tabla 3-4: Materiales y equipos utilizados para la producción de *Trichoderma spp.*

Materiales	Cantidad	Equipos	Cantidad
Tarrinas de plástico	15	Cámara de flujo laminar	1
Arrocillo	5 lb	Cabina de esporulación	1
Jeringas de 10 ml	3	Autoclave	1
Agua destilada y esterilizada	50 ml	Temporizador digital	1
Cepas	3	Mechero de Bunsen	1
Aza de transferencia	1	Lámpara de ozono	1
Taza medidora	1	-	-
Colador	1	-	-
Vasos de precipitación	3	-	-
Probeta	1	-	-

Realizado por: Moyano, S. 2024

Para la producción de *Trichoderma*, lavamos muy bien el arrozillo, hasta que el agua este cristalina para evitar el exceso de almidón, dejamos que el arrozillo pierda humedad para colocar en las tarrinas. La medida específica que se utilizó fue de $\frac{3}{4}$ del volumen de la tarrina, las mismas que fueron llevadas al autoclave por un ciclo de 25 minutos.

Se desinfectó la cámara de flujo laminar con alcohol al 70%, radiación ultravioleta y ozono por un lapso de 30 minutos, terminado el ciclo dejamos que se enfrié, retiramos las tarrinas y llevamos a la cámara de flujo laminar. Con las tarrinas completamente frías, realizamos un pequeño raspado con un aza de transferencia para evitar romper el medio de cultivo de las cepas ya esporuladas, las esporas recolectadas con el aza se colocaron en un vaso de precipitación con agua destilada y esterilizada para obtener el inóculo de partida.

Con las jeringas estériles, el inóculo de partida y el arrozillo frío agregamos 10 ml de inóculo en cada tarrina y etiquetamos con el nombre de la cepa que estamos preparando.

Terminada la producción de *Trichoderma. spp* llevamos a la cámara de esporulación y con un temporizador digital encendemos cada 12 horas debido a que necesitamos que las tarrinas estén con 12 horas luz y 12 horas oscuridad. A los 3 primeros días se revisó la colonización y al notar que el arrozillo estaba seco, colocamos 10 ml agua destilada para ayudar a colonizar más rápido, al cabo de 5 a 8 días observamos que *Trichoderma. spp* ha colonizado complementa en el arrozillo.

Ilustración 3-3: Preparación de arrozillo y producción de *Trichoderma spp.*



1. Lavado del arrozillo



2. Colocación del arrozillo en las tarrinas



3. Esterilización de materiales en el autoclave



4. Desinfección de la cámara de flujo con ozono y UV



5. Materiales esterilizados en la cámara de flujo y cepas seleccionadas



6. Raspado, preparación e inoculación las cepas de *Trichoderma* en arrozillo



7. Revisión de inoculación a los 5 días previo a la producción



8. Resultado final de la producción de *Trichoderma*

Realizado por: Moyano, S. 2024

- Preparación de inóculo

Para la elaboración del inóculo de *Trichoderma*, se siguió el manual para la producción de *Trichoderma* spp. elaborado por (Román et al., 2022, págs. 28-30), ya que las cepas colonizaron todo el arrozillo, se elaboró el inóculo que se colocaron en las plantas de granadillas. En la tabla 3-5 se describen los materiales que se utilizaron para la elaboración del inóculo.

Tabla 3-5: Materiales y equipos utilizados para el inóculo de *Trichoderma* spp.

Materiales	Cantidad	Equipos	Cantidad
Sustrato inoculado	5	Cámara de flujo laminar	1
Licuadora	1	Mechero de Bunsen	1
Vaso para licuar	1	Lampara de ozono	1
Embudo	1	Agitador magnético	1
Tamiz fino	1	-	-
Agua destilada y esterilizada	50 ml	-	-
Matraz de Erlenmeyer	3	-	-
Cuchara pequeña	1	-	-
Aguantes de latex	1	-	-
Papel aluminio	1	-	-
Tacho para desechos	1	-	-
Vaso de precipitación	1	-	-
Cronómetro	1		

Realizado por: Moyano, S. 2024

Se realizó la desinfección de la cámara de flujo laminar con alcohol al 70%, radiación ultravioleta y ozono por 30 minutos, una vez transcurrido este tiempo, se colocaron todos los materiales en la cámara de flujo laminar.

En el vaso de la licuadora, con la ayuda de una cuchara se colocaron cantidades pequeñas de sustrato inoculado y un poco de agua destilada esterilizada, tapamos y llevamos a licuar, licuamos alrededor de 2 minutos con la ayuda de un cronómetro, transcurrido el tiempo, llevamos el sustrato licuado a la cámara de flujo laminar, en el matraz de Erlenmeyer se colocaron un embudo y un tamiz fino para evitar que los restos de sustrato traspasen y ocasionan daños en los equipos de aplicación en el campo, este proceso lo realizamos con cada uno de los sustratos inoculados.

Finalizado el proceso de licuado de cada cepa, en los matraces de Erlenmeyer, etiquetamos con el nombre del sustrato, tapamos con papel aluminio y guardamos en el refrigerador hasta realizar el conteo de esporas.



Ilustración 3-4: Producción de inóculo de *Trichoderma* spp. en el laboratorio de fitopatología

Realizado por: Moyano, S. 2024

Cabe mencionar que, se realizó una variante de obtención de esporas. Se utilizó un agitador magnético con un lapso de 2 a 4 minutos como máximo para evitar que el arrozillo suelte el almidón, este ayudó a que el almidón que contiene el arrozillo no se triture. Este método es más sencillo y rápido para que la cantidad de esporas y la concentración de *Trichoderma* sea más pura.

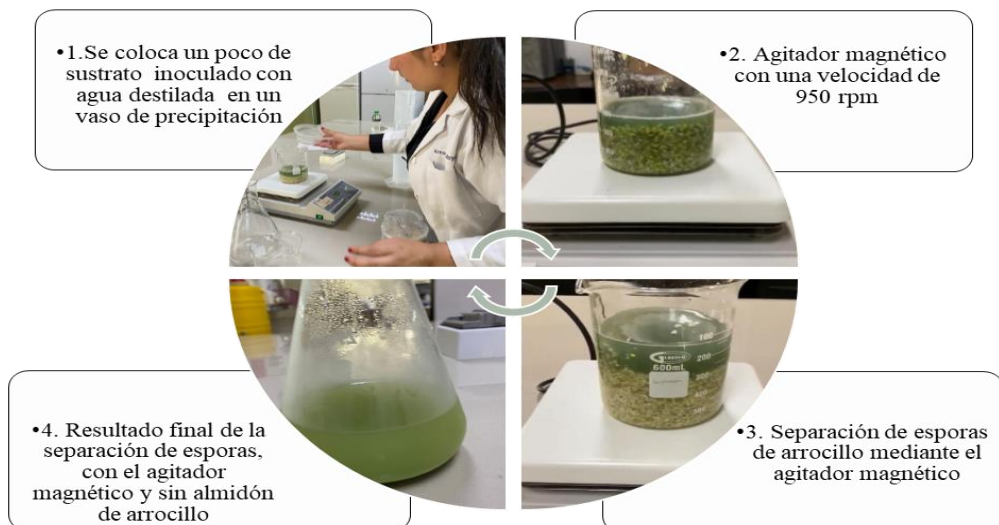


Ilustración 3-5: Variante de inóculo con el agitador magnético en el laboratorio de fitopatología

Realizado por: Moyano, S. 2024

- Concentración del producto final

Para conocer la concentración *Trichoderma* spp. de los sustratos preparados, se realizó el conteo de esporas mediante una cámara de neubauer. A continuación, en la tabla 3-6 se detallan los materiales y equipos utilizados.

Tabla 3-6: Materiales y equipos para la concentración y conteo de esporas de *Trichoderma* spp.

Materiales	Cantidad	Equipos	Cantidad
Sustrato inoculado	3	Cámara de neubauer	1
Vasos de precipitación	3	Microscopio	1
Micropipeta	1	-	-
Puntas	3	-	-
Contador de esporas digital	1		

Realizado por: Moyano, S. 2024

El primer paso fue fijar el portaobjetos, se colocaron unas gotas de agua en el canal central de la cámara de neubauer, con una micropipeta y las puntas tomamos una pequeña porción de la suspensión obtenida y se colocaron en la placa hasta que se cubra por completo. Una vez colocada la suspensión en la cámara de neubauer llevamos al microscopio y se enfocó con el lente de más aumento hasta poder cuantificar, con un contador de esporas digital, se contaron las esporas por campos en este caso fueron 2 A y B y arrojó la concentración final de cada cepa.

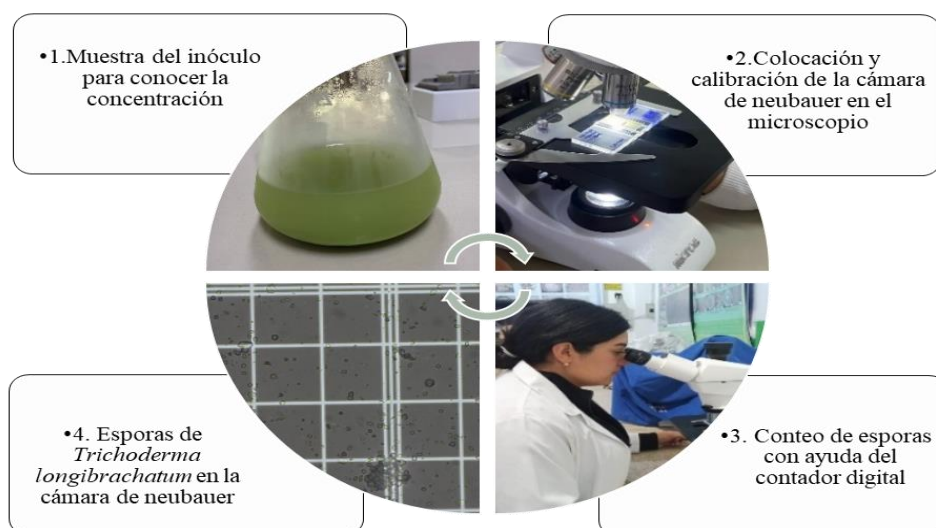


Ilustración 3-6: Conteo de esporas y concentración de *Trichoderma* spp.

Realizado por: Moyano, S. 2024

- Preparación del inóculo en las 3 dosis establecidas

Luego de conocer el nivel de concentración que se obtuvo de los sustratos inoculados, mediante una fórmula de cálculo la misma que fue 1000ml menos la concentración del *Trichoderma* spp. y se establecieron las cantidades de agua por suspensiones de *Trichoderma* y así se estableció el porcentaje de inóculo y de agua para cada dosis. A continuación, en la tabla 3-7 se detallan los materiales y equipos utilizados.

Tabla 3-7: Materiales y equipos para la preparación de las diferentes dosis de *Trichoderma* spp.

Materiales	Cantidad	Equipos	Cantidad
Sustrato final	3	Cámara de flujo laminar	1
Botellas de plástico	9	-	-
Pipeta	1	-	-
Pera de succión	1	-	-
Agua destilada y esterilizada	1	-	-
Probeta	1		

Realizado por: Moyano, S. 2024

Las botellas de plástico fueron de un litro, se lavaron y desinfectaron, se secaron al aire libre hasta desinfectar la cámara de flujo laminar como se mencionó anteriormente. Con los materiales listos, llevamos a la cámara de flujo laminar y realizamos las dosis que están descritas en la tabla 3-8.

Tabla 3-8: Resultados de las dosis de *Trichoderma* spp. al diluir con agua para la inoculación.

Cepa	Concentración	Dosis	<i>Trichoderma</i> x Agua
<i>Trichoderma harzianum</i>	2,1x10 ⁷	1*10 ⁴	0,90 x 999,1 ml
		1*10 ⁵	9 x 991 ml
		1*10 ⁶	90 x 910 ml
<i>Trichoderma longibrachatum</i>	2,98x10 ⁷	1*10 ⁴	0,50 x 999,50 ml
		1*10 ⁵	5 x 995 ml
		1*10 ⁶	50 x 950 ml
<i>Trichoderma hamatun</i>	2,36x10 ⁷	1*10 ⁴	0,74 x 999,26 ml
		1*10 ⁵	7 x 993 ml
		1*10 ⁶	74 x 926 ml

Realizado por: Moyano, S. 2024

Cabe mencionar que en cada producción de *Trichoderma* spp. el nivel de concentración puede variar, debido a que su colonización es alta o baja. Por esto es recomendable realizar el conteo de esporas en cada producción. La hoja de cálculo que se utilizó, ayudó a tener la concentración de *Trichoderma* spp. que se debe colocar por cada dosis, la concentración que se utilizó se calculó para un litro por dosis y se colocó 10 ml por planta.

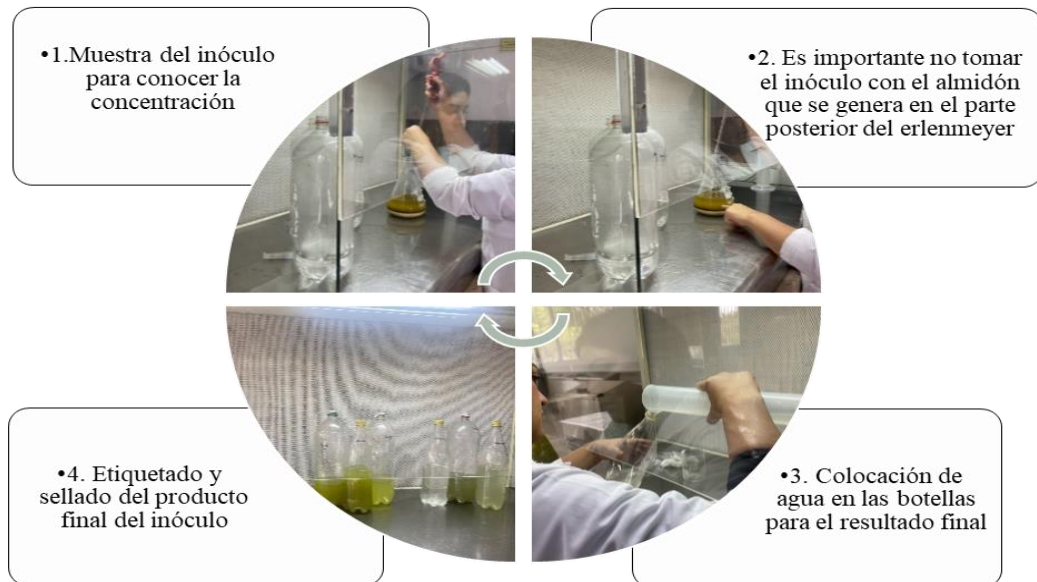


Ilustración 3-7: Colocación de las dosis de para su inoculación en el laboratorio de fitopatología

Realizado por: Moyano, S. 2024

3.3.7.2. Fase de campo

El área total del invernadero fue de 136 m², del cual fue asignada un área de 64 m² para garantizar el crecimiento óptimo de las plantas, el uso de invernaderos en el cultivo de granadillas es esencial para proporcionar un ambiente controlado que imite las condiciones tropicales necesarias para el crecimiento saludable de las mismas.

- Preparación del semillero

Para la preparación del semillero se escogió un material a base de espuma flex con una dimensión de 45 mm. (alto) x 675 mm. (largo) x 345 mm. (ancho) con un modelo rectangular y con la capacidad de 220 cavidades.

- Germinación de semillas de granadilla (*Passiflora ligularis*)

Se escogió esta variedad de semillas que es *Passiflora ligularis* Juss 1805 por su vialidad y caracterización específica debido a que esta semilla y su fruto son muy demandados a nivel comercial. Para la preparación del sustrato el mismo que llevó turba BM2 (428L) con tierra negra (70 kg), la mezcla de sustratos se realizó en un contenedor que permitió que la mezcla sea uniforme.

Con los semilleros y el sustrato preparado se colocaron las semillas y se cubren con un poco más de sustrato, en este caso se utilizaron 6 semilleros para la germinación.

Los semilleros fueron colocados en la cámara de germinación aproximadamente por un lapso de 1 a 3 semanas, dependiendo de cómo va el proceso de germinación, luego del proceso de germinación las plántulas fueron colocadas en condiciones normales de temperatura y humedad para su crecimiento. Los materiales utilizados para la germinación de las semillas son detallados a continuación en la tabla 3-9.

Tabla 3-9: Materiales utilizados para la germinación de las semillas de granadilla (*Passiflora ligularis*)

Materiales	Cantidad
Semillas de granadillas	672
Semilleros	6
Tierra negra	70 kg
Turba BM2	428 L
Cámara de germinación	1

Realizado por: Moyano, S. 2024

- Trasplante

Una vez transcurrido el lapso de 3 a 5 semanas las semillas de granadilla germinaron y se trasplantaron en sustrato. El sustrato que se utilizó contiene: material orgánico parcialmente descompuesto, principalmente musgos y plantas acuáticas (Domenech, 2023, pag. 2) y tierra negra la cual está constituida de la descomposición de la materia orgánica, ya sea proveniente de los restos de animales o de los restos de hojas que cae de los árboles, los cuales son absorbidos como

nutrientes (Crespo, 2019, pag. 3), y se colocó $\frac{3}{4}$ de las fundas de 4x6 cm, previamente antes de llevar las plantas se realizó las adecuaciones optimas en el invernadero.

- Implementación de soportes para plantas

La implementación de los soportes, ayudaron a que las plantas mantengan una mejor circulación de aire y evitar que se contaminen con agentes patógenos desconocidos, se colocaron 4 jaulas (anexo C) de 2 m de ancho x 1 m de largo y un caballete de 4 metros de ancho x 1 metro de largo. La instalación de las jaulas y el caballete se utilizó malla fina y alambre para elaborar un tejido en la base y las puertas de las jaulas, en el caso del caballete, también se realizó un tejido en los laterales para que su base este más estable, esto ayudó a que los soporte sean más resistentes al momento de colocar las gavetas con las plantas. Los materiales utilizados se detallan en la tabla 3-10.

Tabla 3-10: Materiales para la instalación de jaulas y caballetes en invernadero

Materiales	Cantidad
Jaulas	4
Caballetes	1
Malla fina	4
Alambre fino	3
Alicate	1

Realizado por: Moyano, S. 2024

Con las jaulas y el caballete instalados en el invernadero, en cada estructura se colocó 10 gavetas con 16 plantas de granadilla (*Passiflora ligularis*).

- Nutrición

Para la nutrición de las plantas se aplicó microelementos 40g de “Ned-Combi”, con la siguiente composición: Magnesio 1.65 % Boro 9.00 % Zinc 0.10% Manganeso 1.94% (Anexo H) en 5 litros de agua, esto nos ayudó a que la planta realice todos sus procesos en especial los enzimáticos, así como también apporto a un correcto y rápido funcionamiento.

- Riego

Para el riego de las plantas fue necesario realizarlo con agua hervida, (Carvajal, Riskey, Echezuría 2019) menciona que el agua al estar en estado de ebullición evapora el cloro junto con el vapor que se genera al ebulir, ya que se usan grandes cantidades de cloro para tratar el agua potable, motivo por el cual se optó por esta estrategia para el riego de las plantas debido a que el agua que se encuentra en la Facultad de Recursos Naturales contiene una alta concentración de cloro, patógenos y sales minerales ya que al aplicar las cepas de *Trichoderma* spp. junto con agua común tenemos un riesgo de contaminación. Ya que al momento de que el agua comienza su ebullición elimina patógenos, exceso de cloro, sales minerales y otros contaminantes, este proceso nos ayudó a que las cepas de *Trichoderma* spp. no se contaminen y obtener los resultados esperados.

El riego se estableció en función de los requerimientos de las plantas desde la parte inicial hasta la planta joven y de acuerdo con el sustrato en las que se encuentran.

Los requerimientos necesarios de riego se detallan a continuación:

- Plántulas: Para la fase inicial de desarrollo de las plántulas, su requerimiento hídrico fue mínimo, se colocó 25 ml por plántula cada 72 horas debido a que mantenían la humedad en los semilleros.
- Crecimiento inicial: En esta etapa el requerimiento hídrico aumenta debido a su crecimiento, se colocó 60 ml por planta cada 48 horas debido a que se trasplantó a fundas con sustrato.
- Plantas jóvenes: En esta etapa de que las plantas se encuentran más desarrolladas y los requerimientos hídricos aumentan, se colocó 120 ml por planta cada 24 horas con un riego profundo ya que el sustrato debe estar constantemente húmedo y evitar el encharcamiento.

De acuerdo con el aumento de temperatura el requerimiento hídrico aumento en los meses de enero a febrero, por tanto, se colocó 18 m de sarán con 50% de sombra para disminuir la incidencia de la radiación solar para conservar un mayor porcentaje de humedad en cada uno de los tratamientos.

3.3.7.3. Variables evaluadas

Medición del diámetro a la altura del cuello (DAC)

Como métodos de evaluación se planteó la medición del DAC por cada tratamiento, para obtener los datos se utilizó un calibrador pie de rey digital, una vez que las plantas se colocaron en el

vivero, se inició con la toma de datos, las plantas empezaron con una altura de 5 mm y a medida que se realizaron los riegos y cuidados de las plantas fueron creciendo hasta llegar a la altura que deseamos que fue de 30 mm.

El DAC es el espacio entre el suelo y el tallo de la planta. Se utilizó un pie de rey digital, cuyos datos en mm fueron evaluados cada 15 días a continuación se detallan las fechas en las que fueron evaluadas las plantas:

- Primera evaluación: 13 de agosto del 2023
- Segunda evaluación: 15 de septiembre del 2023
- Tercera evaluación: 30 de septiembre del 2023
- Cuarta evaluación: 23 de octubre del 2023
- Quinta evaluación: 15 de noviembre del 2023
- Sexta evaluación: 06 de diciembre del 2023
- Séptima evaluación: 22 de diciembre del 2023
- Octava evaluación: 03 de enero del 2024
- Novena evaluación: 23 de enero del 2024
- Décima evaluación: 07 de febrero del 2024

Conteo de hojas

Este proceso se realizó en dos etapas, la primera fase fue al inicio de la germinación y las plantas empezaron con 3 hojas, para la segunda fase las plantas tuvieron un mayor número de hojas, se realizaron sorteos aleatorios y escogimos una planta por cada tratamiento para el conteo de las hojas y con los datos obtenidos se realizó un promedio general de las hojas que tuvieron las plantas por cada tratamiento.

Las evaluaciones se realizaron en dos fases, a continuación, se detalla las fechas en las que fueron evaluadas.

Primera fase:

- Primera evaluación: 15 de septiembre del 2023
- Segunda evaluación: 30 de septiembre del 2023
- Tercera evaluación: 18 de octubre del 2023
- Cuarta evaluación: 03 de noviembre del 2023
- Quinta evaluación: 20 de noviembre del 2023

Segunda fase:





- Sexta evaluación: 01 de diciembre del 2023
- Séptima evaluación: 19 de diciembre del 2023
- Octava evaluación: 05 de enero del 2024
- Novena evaluación: 21 de enero del 2024
- Décima evaluación: 07 de febrero del 2024

Color de hojas

El color de las hojas se estableció mediante la carta de color de Munsell para tejidos vegetales (Anexo I) para la obtención de estos datos. En el laboratorio se limpiaron las hojas para obtener el color natural, con las hojas limpias y con la carta de color de Munsell escogemos la página con los colores verdosos y seleccionamos el color de acuerdo con el libro y verificamos el código de identificación.

A continuación, en la siguiente tabla se muestran los códigos, nombre y color que tuvieron mayor presencia en las plantas.

Tabla 3-11: Identificación de color de hojas

Código	Color	Imagen
7.5GY 4/4	Verde Oscuro	
5GY 6/8	Verde Pino	
7.5GY 5/6	Verde olivo	
7.5GY 7/10	Verde Claro	

Fuente: (Gálvez-Marroquín et al. 2023, pags. 27-37)

Realizado por: Moyano, S. 2024

Medición de altura y longitud de raíz

Para la medición de raíz y altura, se realizó con un sorteo aleatorio para obtener la planta de muestra, la misma se llevó al laboratorio y en un contenedor pequeño retiramos todo el sustrato para obtener solo la planta y se retiró el exceso de sustrato que pueden quedar en las raíces, con delicadeza ya que se pueden terminar desprendiendo las raíces.

En el mesón colocamos papel Kraft esto nos ayudó a que el exceso de sustrato que mantiene la raíz caiga en el papel y evitar que el área de trabajo se contamine, colocamos la planta completa y con el calibrador pie de rey digital vamos tomando los datos que nos arroja en la pantalla del calibrador y vamos anotando cada resultado y de igual forma lo hacemos con la altura para obtener el siguiente resultado.

Biomasa

Para el cálculo de la biomasa, se escogió al azar una planta por cada tratamiento, para determinar el porcentaje de biomasa presente en la planta, la fórmula que se utilizó para obtener los datos es la siguiente:

$$B = \frac{Pf}{Pf * CH\%} x 100$$

Fuente: (Ramirez et al., 2022, pag. 5)

Donde:

B= Biomasa en peso seco

Pf= Peso fresco

CH% = Porcentaje de humedad

Para conocer el porcentaje de humedad se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% Humedad = \frac{Pf - Ps}{Pf} x 100$$

Fuente: (Enríquez & Ojeda Caiza, 2020, pag. 3)

Luego de obtener los datos de altura y longitud de raíz, las muestras se llevaron a la balanza digital, (Anexo J) para obtener los datos de peso fresco, luego de pesar las plantas se colocaron en una bandeja de aluminio, posterior a ellos se colocaron en la mufla o estufa en con una temperatura de 70 °C hasta los 105°C por un lapso 24 horas para deshidratarlas por completo,

transcurrido ese lapso, se retiraron de la mufla y fueron llevadas a ser pesadas nuevamente para obtener su peso seco para concluir con la obtención de datos para el porcentaje de biomasa.

Estrategias de control de patógenos y condiciones climáticas

Para los controles se realizaron monitoreos constantes para determinar si existe la presencia de patógenos o plagas en las plantas de granadilla, así como también por las condiciones climáticas debido a que existe un alto y bajo nivel de temperatura. Debido al aumento de temperatura en los últimos meses (enero y febrero), las plantas sufrieron un alto porcentaje de estrés a pesar de que el riego se realizó constantemente.

El estrés por calor afectó notoriamente a las plantas y por este motivo se realizó la aplicación de la combinación de leche con melaza, esta mezcla ayudó a proteger las plantas, ya que la leche ofrece diversas ventajas en su composición nutricional rica en elementos como el nitrógeno y el calcio y la convierte en un fertilizante natural altamente efectivo para promover el crecimiento de las plantas (Orlando Caicedo et al., 2019, pags. 3-6). En el caso de la melaza contiene una alta concentración de nutrientes y compuestos orgánicos que pueden ser beneficiosos para las plantas (Martínez, 2023, pag. 3)

En un atomizador se aplicó 25 ml de leche y 12,5 ml de melaza en 5 litros de agua. Con la mezcla preparada, es recomendable realizar la aplicación en las plantas en horas de la tarde (4 pm o 5 pm) cuando la temperatura del invernadero ha bajado, ya que si la aplicación se realiza con la temperatura y radiación UV elevadas podemos producir quemaduras y dañar las plantas, esta aplicación se realizó una sola vez debido a que los resultados fueron favorables.

Se detectó la presencia de nematodos, específicamente *Meloidogyne incógnita*, conocidos como nematodos nudo de raíz. Estos son comunes en plantas de granadilla y pueden debilitar las puntas de las raíces, inhibir su crecimiento e inducir la formación de hinchamientos que no solo privan a las plantas de nutrientes, sino que también las deforman (Romero-Ramirez et al., 2019, pg. 46-51). Para prevenir el daño causado por este patógeno, se procedió a reubicar las plantas y bloques, eliminando las plantas infectadas y conservando las sanas.





Nivel de daño

Vigorosidad

La vigorosidad de las hojas se determinó mediante una escala arbitraria cualitativa, esto se realizó mediante las observaciones que presentaron las hojas cada 15 días en las evaluaciones correspondientes. La escala de vigorosidad adaptada se basó en la tabla de vigorosidad de Cuenca

(2021), esta se realizó para el cultivo de papas, pero en esta vez se adaptó para las plantas de granadilla.

Tabla 3-12: Escala de vigorosidad

Nivel	Descripción	Imagen
0	Muerta	
1	Muy débil	
2	Débil	
3	Muy vigoroso	

Realizado por: Moyano, S. 2024.

Evaluación de incidencia de *Fusarium* spp.

En la investigación se planteó la evaluación de *Fusarium* spp. que incluye a grupo muy diverso de hongos filamentosos que colonizan las partes aéreas y subterráneas de las plantas. Son capaces de infectar una amplia gama de especies vegetales, provocándoles enfermedades, que se manifiestan como marchitamientos o podredumbres de la raíz (IVAMI, pag. 1)

Fusarium spp. es un hongo filamentosos que pertenece a la familia *Nectriaceae*, dichos hongos son saprofitos esto quiere decir que sobreviven a base de materia orgánica y también son patógenos de plantas y animales. Algunas especies de este hongo son fitopatógenas, lo que son los principales causantes de enfermedades en las plantas como cultivos, cereales y demás. Los principales síntomas que se identifican en las plantas cuando están contaminadas por *Fusarium* spp. son: raíces necrosadas, marchitez, pudrición de raíz y necrosamiento de tejido vascular (Herrera-Parra et al. 2017, pags. 150-161)

Incidencia.

Las estimaciones de enfermedad pueden ser cuantitativas, cualitativas o una combinación de estas dos. La cantidad de enfermedad presente puede ser referida como incidencia o severidad.

Para la presente investigación se utilizó la incidencia en plantas. La incidencia se refiere al número de unidades de las plantas que están enfermas visiblemente, usualmente relativo al número total de unidades estimadas. Si se considera a la planta como una unidad de medida, entonces, la incidencia de una enfermedad es la proporción o porcentaje de plantas con síntomas de la enfermedad evaluada (Castaño Zapata 2017, pag. 68)

Para determinar la incidencia de las plantas, se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Incidencia (\%)} = \frac{\text{Número de plantas enfermas}}{\text{Número total de plantas}} \times 100$$

(Calviño 2023, pag. 4)

En las plantas de granadilla se visualizó la presencia de *Fusarium* spp., lo cual se mencionó que es el principal causante de las enfermedades de las plantas y el gestor de la pudrición de la raíz y necrosamiento del tallo o tejido vascular.

La aplicación de las cepas de *Trichoderma* spp. se realizó cada 15 días para la recuperación de las plantas enfermas, a continuación, se detallan las fechas de aplicación:

- Primera aplicación: 08 de diciembre del 2023
- Segunda aplicación: 24 de diciembre del 2023
- Tercera aplicación: 05 de enero del 2024
- Cuarta aplicación: 25 de enero del 2024
- Quinta aplicación: 09 de febrero del 2024
- Sexta aplicación: 23 de febrero del 2024

Luego de las aplicaciones de *Trichoderma* spp. en las plantas de granadilla, debido a que *T.harzianum* por sus beneficios de bioestimulantes ayudó a que las plantas se recuperen de manera vigorosa frente a este hongo. Con el restante de plantas que no se recuperaron, su marchitez y muerte fue debido a la presencia de nematodos en la raíz, los mismos que crean nódulos en las raíces y evitan que absorban todos los nutrientes que requiere la planta

CAPITULO IV

4. Análisis e Interpretación de Resultados

4.1. Efecto antagonista de las cepas de *Trichoderma* spp.

La granadilla (*Passiflora ligularis*) puede presentar varias enfermedades desde el trasplante y la germinación, hasta el momento de ser colocada en suelo fijo. Por lo que se evidenció la presencia de *Fusarium* spp. en el tallo de las plantas. Durante las dos primeras inoculaciones de *Trichoderma* spp. no se evidenció la presencia de *Fusarium* los tratamientos. Sin embargo, durante la tres inoculaciones se identificó la presencia de *Fusarium* spp. En la ilustración 4-1 se muestra que el control y los tratamientos A2xB1, A2xB2, A2xB3 se obtuvieron el índice más elevados de incidencia, con un total de 152 plantas infectadas.

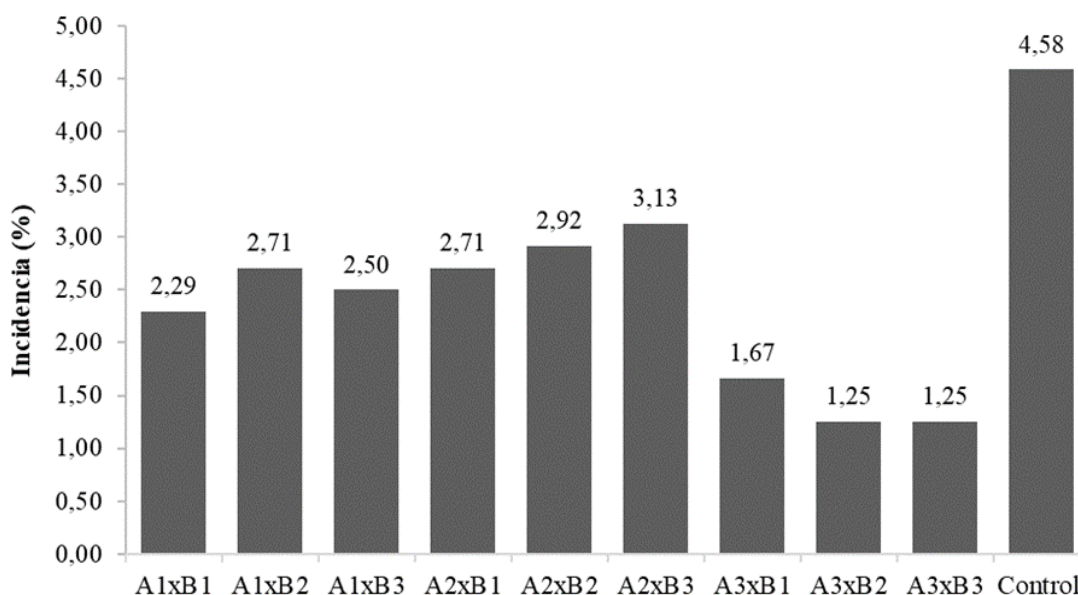


Ilustración 4-1: Incidencia de *Fusarium* spp. en la 3 inoculación de *Trichoderma* spp. en los tratamientos.

Realizado por: Moyano S. 2024

La Ilustración 4-2, evidencia los resultados de las aplicaciones *Trichoderma* spp. con sus diferentes dosis en las plantas para contrarrestar el hongo de *Fusarium* spp. Demostrando que *T. harzianum* 1×10^6 en el tratamiento A3xB3 presento el mayor efecto antagonico registrando los índices más bajos de incidencia. En los tratamientos A2xB1, A2xB2, A2xB3 correspondientes a *T. longibrachatum* y en el control se observó una reducción en la incidencia de *Fusarium* spp con un total de 56 plantas recuperadas de manera vigorosa y un estado fitosanitario fuerte.

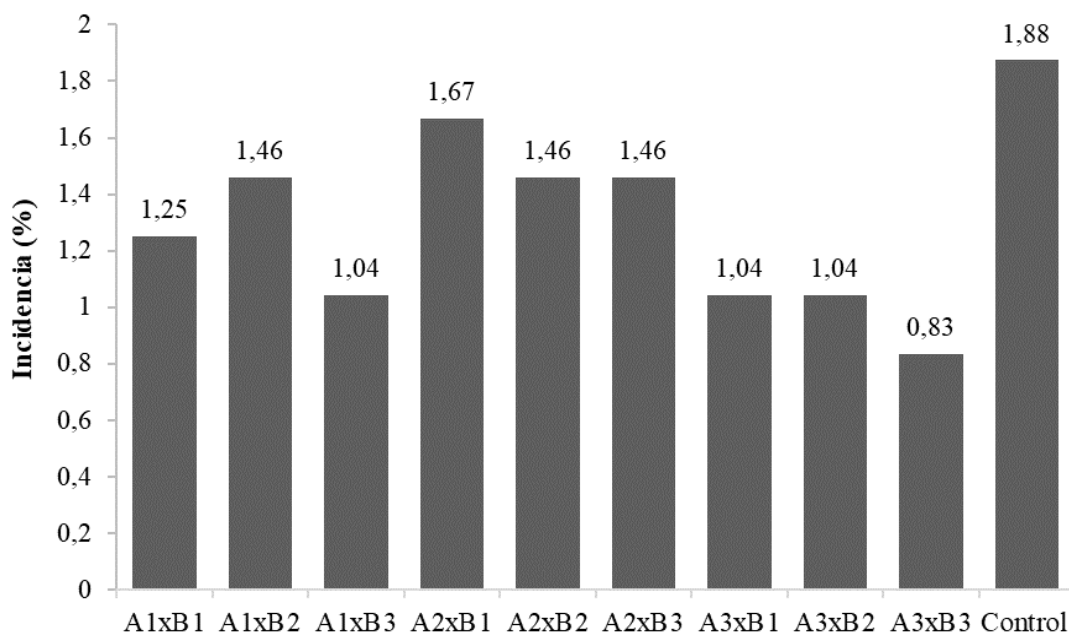


Ilustración 4-2: Incidencia después de la aplicación de *Trichoderma* spp. en los tratamientos.

Realizado por: Moyano S. 2024

4.2. Desarrollo en la producción de biomasa de la granadilla (*Passiflora ligularis*)

4.2.1. Diámetro a la altura del cuello DAC

Según la Tabla 4-1, demuestra que las cepa y las dosis no tuvieron diferencias significativas debido a que su valor de ($p \leq 0.05$), mientras que para la interacción de cepa x dosis muestra que hubo diferencias altamente significativas ($p \leq 0.01$), con un coeficiente de variación de 13%.

Tabla 4-1: Análisis de varianza del DAC, mediante un diseño de bloques completos al azar

Fuentes de variación	GL	CM		Valor p
Cepa	3	12,69	ns	0,084
Dosis	1	10,42	ns	0,165
Cepa x Dosis	2	30,79	**	0,007
Error	23	5,081		
Total	29			
Media (mm)	21,06			
Dest. St	2,797			
CV (%)	13			

Diferencias significativas: *** 0.01 ** 0.05 ' ns: >0.05

Realizado por: Moyano, S. 2024

En la Ilustración 4-3, en el análisis de los resultados obtenidos en las evaluaciones del DAC, se evidencia que la cepa de *T. harzianum* con la concentración de 1×10^6 en el tratamiento (A3xB3) presentó un mayor efecto en el desarrollo del DAC de las plantas evaluadas. Si bien los tratamientos que fueron inoculados con las cepas de *T. hamatum* y *T. longibrachatum* como el control mostraron un cierto grado de influencia positiva en el DAC.

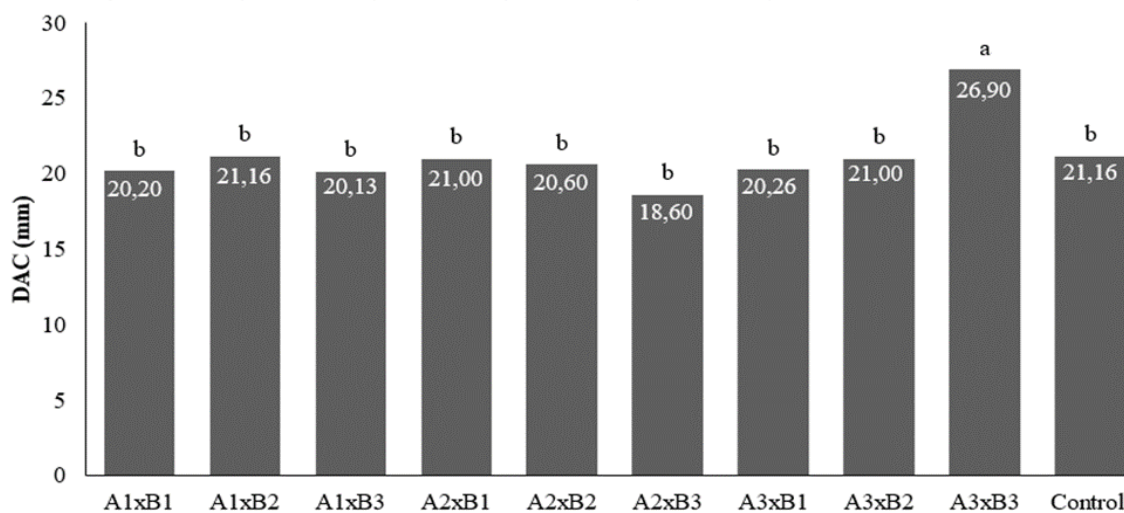


Ilustración 4-3: Prueba de comparación de medias según Tukey al 5% de significancia para el DAC en los tratamientos.

Realizado por: Moyano S. 2024

4.2.2. Número de hojas

Según la Tabla 4-2, demuestra que cepa y dosis x cepa tuvieron altas diferencias significativas debido a que su valor de ($p \leq 0.01$), mientras que para la dosis muestra que mantuvo una diferencia significativa de ($p \leq 0.05$), con un coeficiente de variación de 18%.

Tabla 4-2: Análisis de varianza del número de hojas, mediante un diseño de bloques completos al azar

Fuentes de variación	GL	CM		Valor p
Cepa	3	3,863	**	0,003
Dosis	2	4,500	*	0,014
Cepa x Dosis	1	4,167	**	0,006
Error	23	0,650		
Total	29			
Media (mm)	6,233			
Dest. St	1,165			
CV (%)	18			

Diferencias significativas: ** < 0.01 * < 0.05 ns: > 0.05

Realizado por: Moyano, S. 2024

En la ilustración 4-4, en la observación de los resultados obtenidos en las evaluaciones para el número de hojas, se evidencia que la cepa de *T. harzianum* presentó un mayor efecto en el incremento de hojas en las plantas evaluadas, alcanzando un promedio de 7 hojas. Teniendo un menor impacto en el número de hojas es la cepa de *T. longibrachatum* con un promedio de 5,44 hojas.

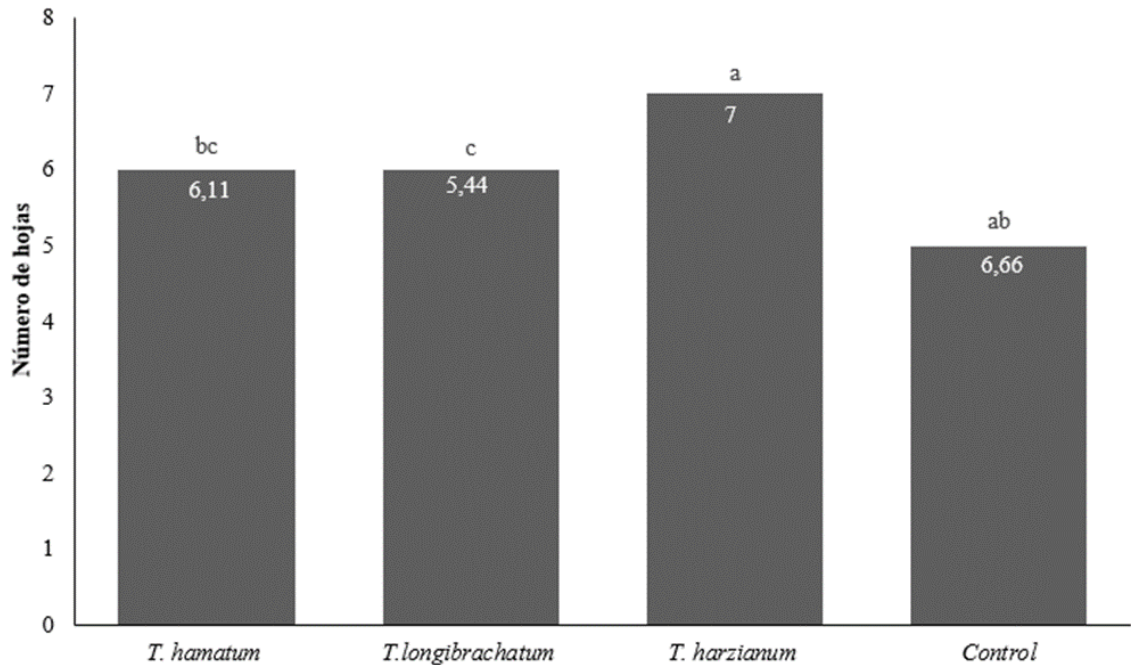


Ilustración 4-4: Prueba de comparación de medias según Tukey al 5% de significancia para el número de hojas de las cepas

Realizado por: Moyano, S. 2024

En la ilustración 4.5 en la observación de los resultados obtenidos en las evaluaciones para el número de hojas, se evidencia que la cepa de *T. harzianum* con la concentración de 1×10^6 presentó un mayor efecto en el incremento de hojas en las plantas evaluadas, alcanzando un promedio de 6,88 hojas. Si bien las plantas inoculadas con las dosis de 1×10^4 y 1×10^5 obtuvieron un menor efecto alcanzando un promedio de 5 hojas.

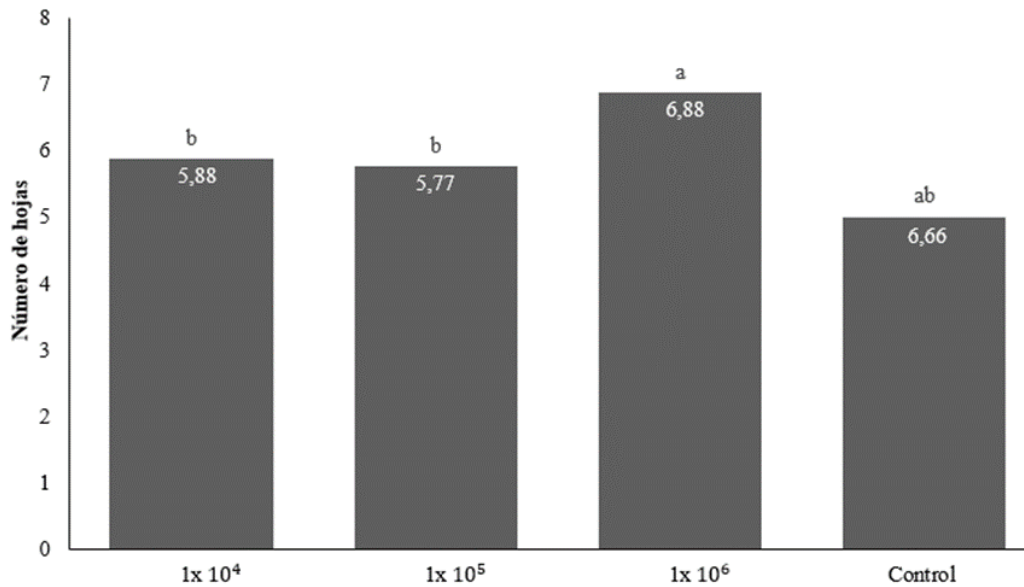


Ilustración 4-5: Prueba de comparación de medias según Tukey al 5% de significancia para el número de hojas de las dosis

Realizado por: Moyano, S. 2024

En la ilustración 4-6 en la observación de los resultados obtenidos en las evaluaciones para el número de hojas, se evidencia que la cepa de *T. harzianum* con la concentración de 1×10^6 en el tratamiento (A3xB3) presentó un mayor efecto en el incremento de hojas en las plantas evaluadas, alcanzando un promedio de 8 hojas. Si bien los tratamientos que fueron inoculados con las cepas de *T. hamatum* y *T. longibrachatum* como el control evidenciaron un rango entre 5 y 6 hojas por cada tratamiento, estos valores fueron relativamente inferiores a los registrados en el tratamiento (A3xB3).

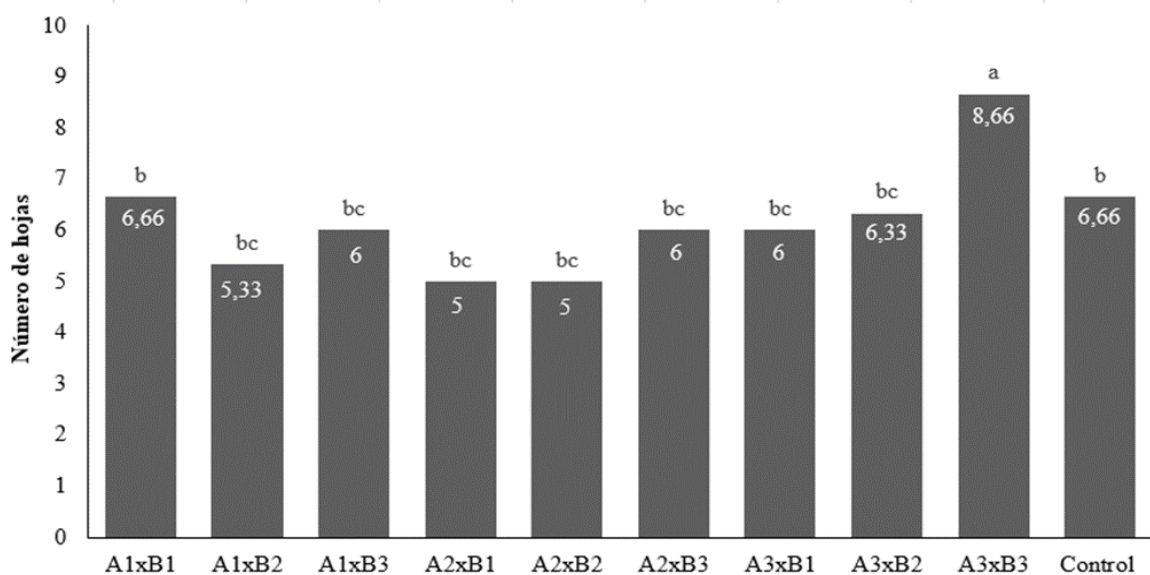


Ilustración 4-6: Prueba de comparación de medias según Tukey al 5% de significancia para el número de hojas de los tratamientos

Realizado por: Moyano, S. 2024

4.2.3. Color de hojas

El color de las hojas presentadas en esta investigación permitió determinar la acumulación de clorofila en las plantas, que favorece a una mayor concentración de clorofila y se relaciona positivamente la tasa fotosintética elevada. En la ilustración 4-5 los datos demostrados representan los porcentajes de color en las hojas proporcionando, el 75% para *T. harzianum* cuyo valor fue superior al resto representando mayor vigorosidad debido a su tonalidad verde oscura, sin embargo, el menor valor porcentual fue correspondiente al control con el 5%, mientras que en *T. hamatum*, *T. longibrachatum* presentan tonalidades verdes claros.

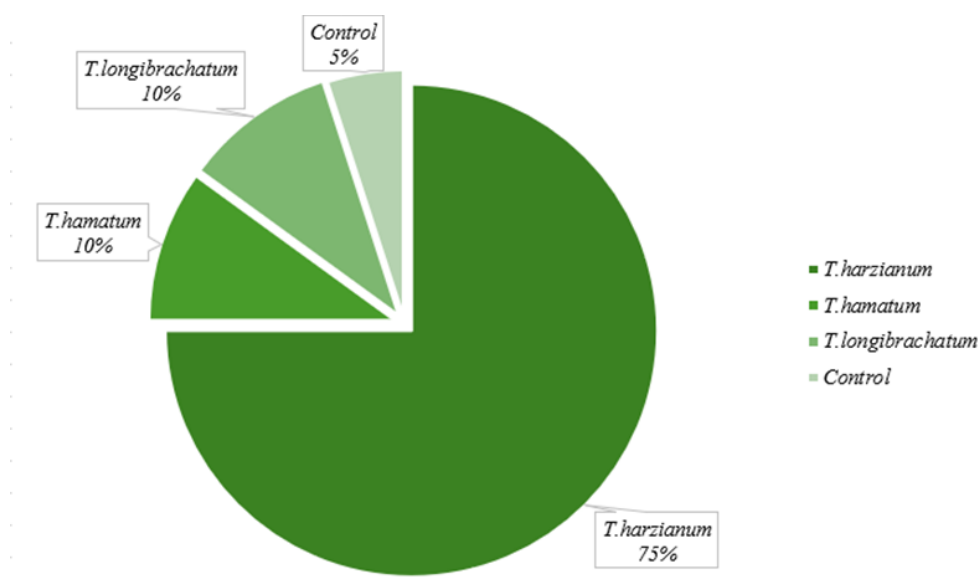


Ilustración 4-7: Color de las hojas con la aplicación de *Trichoderma* spp. en la granadilla

Realizado por: Moyano, S. 2024

4.2.4. Biomasa

Según la Tabla 4-3, demuestra que cepa mantuvo una diferencia significativa de ($p \leq 0.05$) y dosis presento altas diferencias significativas debido a que su valor de ($p \leq 0.01$), mientras que cepa x dosis no tuvo diferencias significativas con un coeficiente de variación de 40%.

Tabla 4-3: Análisis de varianza de la biomasa, mediante un diseño de bloques completos al azar

Fuentes de variación	GL	CM		Valor p
Cepa	3	268,4	*	0,029
Dosis	1	649,8	**	0,007

Cepa x Dosis	2	193,5	ns	0,9803
Error	23			
Total	29			
Media (mm)	27,39			
Dest. St	11,09			
CV (%)	40			

Diferencias significativas: *** 0.01 ** 0.05 * ns: >0.05

Realizado por: Moyano, S. 2024

Según la Ilustración 4-8 el análisis de los datos compilados en la evaluación de biomasa mostró que la aplicación de *T. harzianum* presentó un efecto promotor más evidente en el incremento en la biomasa de las plantas evaluadas con un promedio de 34,75g, en los tratamientos. Mientras que la cepa de *T. hamatum* mostró un efecto menos positivo en la biomasa alcanzando un rango de 21,67g.

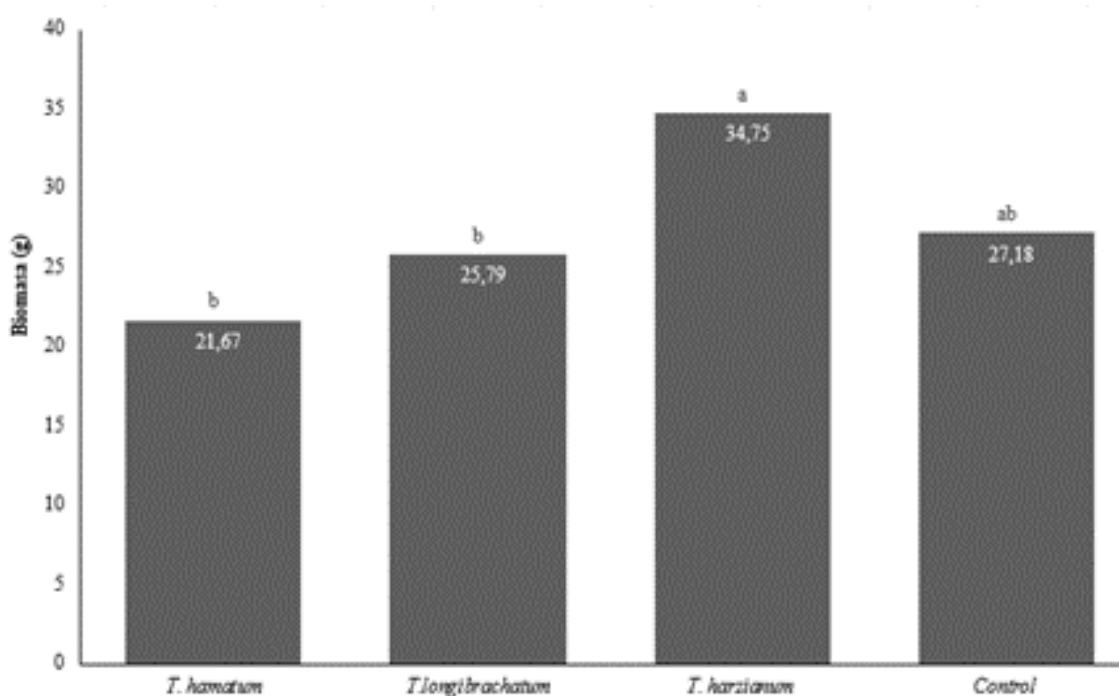


Ilustración 4-8: Prueba de comparación de medias según Tukey al 5% de significancia para altura en cepa

Realizado por: Moyano, S. 2024

Según la ilustración 4-9 el análisis de los datos compilados en la evaluación de biomasa mostró que la aplicación de la dosis 1×10^6 presentó un efecto promotor más evidente en el incremento en la biomasa de las plantas evaluadas, alcanzando un promedio de 33,93g por tratamiento. Si bien la dosis menos favorecedora en los tratamientos fue 1×10^4 mostrando un promedio de 21,92 g.

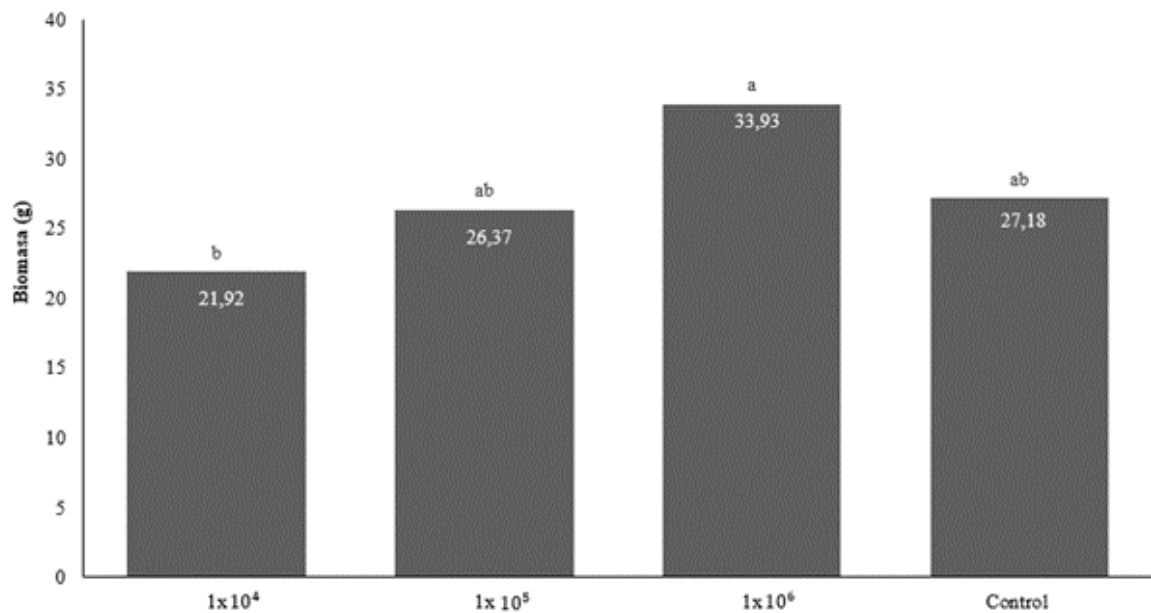


Ilustración 4-9: Prueba de comparación de medias según Tukey al 5% de significancia para altura en dosis

4.2.5. Longitud de raíz

Según la Tabla 4-4, demuestra que cepa mantuvo una diferencia altamente significativa de ($p \leq 0.001$), dosis presento una diferencia significativa de ($p \leq 0.05$), mientras que cepa x dosis no tuvo mantuvieron diferencias significativas con un coeficiente de variación de 23%.

Tabla 4-4: Análisis de varianza para longitud de raíz, mediante un diseño de bloques completos al azar

Fuentes de variación	GL	CM		Valor p
Cepa	3	7767	**	0,000
Dosis	1	3978	*	0,030
Cepa x Dosis	2	2374	ns	0,060
Error	23			
Total	29			
Media (mm)	178,1			
Dest. St	41,19			
CV (%)	23			

Diferencias significativas: **' 0.01 '*' 0.05 ' ns: >0.05

Realizado por: Moyano, S. 2024

En la Ilustración 4-10 los resultados de los datos recolectados tras la evaluación de longitud de raíz mostraron que la aplicación de la cepa de *T. harzianum* presentó un efecto promotor más pronunciado en el incremento en el sistema longitudinal en la raíz de las plantas evaluadas, alcanzando un promedio de 220,11 mm. Mientras que la cepa menos impacto efectivo fue *T. longibrachatum* demostrando un promedio de 155,93 mm en cada una de las plantas.

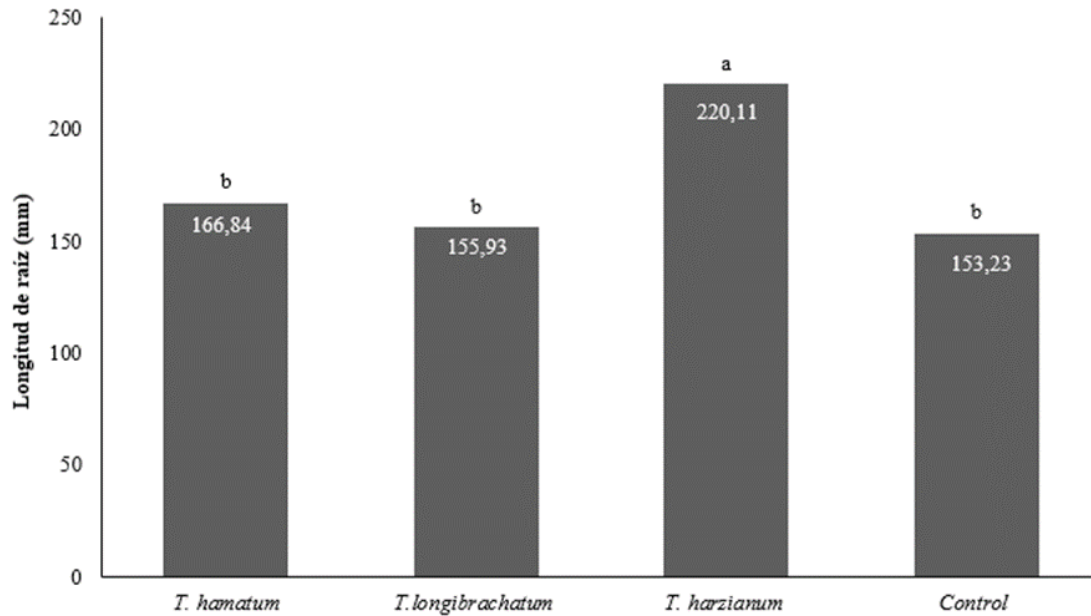


Ilustración 4-10: Prueba de comparación de medias según Tukey al 5% de significancia para longitud de raíz en cepa

Realizado por: Moyano, S. 2024

En la Ilustración 4-11, los resultados de los datos recolectados tras la evaluación de longitud de raíz mostraron que la aplicación de la dosis 1×10^6 presentó un efecto promotor más pronunciado en el incremento en el sistema longitudinal en la raíz de las plantas evaluadas, alcanzando un promedio de 204,34 mm. Si bien los tratamientos que fueron inoculados con las dosis de 1×10^4 y 1×10^5 demostraron un rango entre 163,93 mm y 174,61 mm por cada uno de ellos.

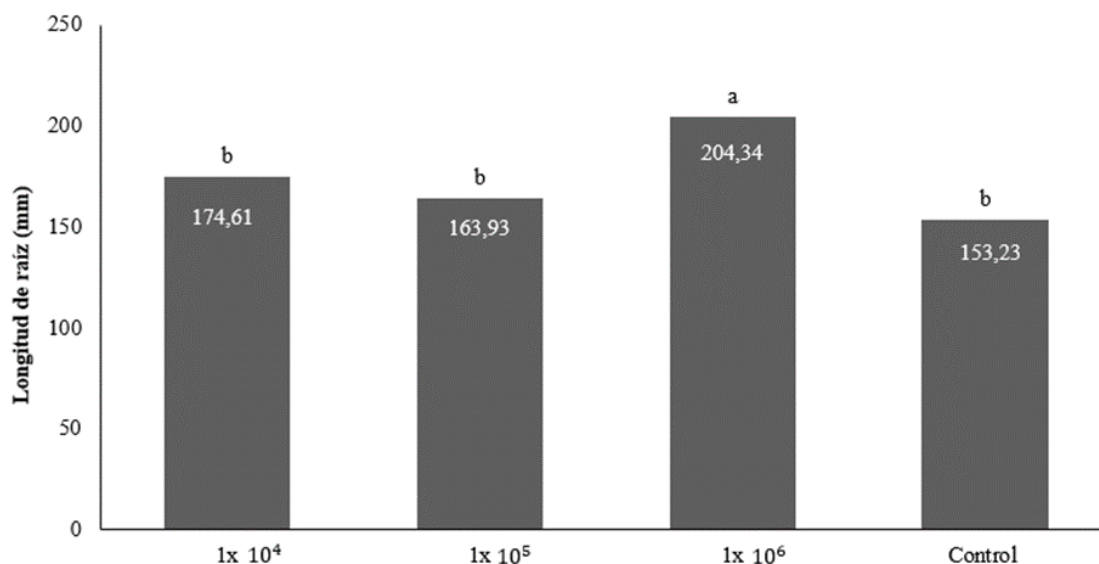


Ilustración 4-11: Prueba de comparación de medias según Tukey al 5% de significancia para longitud de raíz en dosis

Realizado por: Moyano, S. 2024

4.2.6. *Altura*

Según la Tabla 4-5, demuestra que cepa mantuvo una diferencia altamente significativa de ($p \leq 0.5$), mientras que dosis y cepa x dosis no mantuvieron diferencias significativas con un coeficiente de variación de 23%.

Tabla 4-5: Análisis de varianza de la altura, un diseño de bloques completos al azar

Fuentes de variación	GL	CM		Valor p
Cepa	3	9228	*	0,037
Dosis	1	436	ns	0,694
Cepa x Dosis	2	7398	ns	0,090
Error	23			
Total	29			
Media (mm)	254,6			
Dest. St	60,59			
CV (%)	23			

Diferencias significativas: *** 0.01 ** 0.05 ' ns: >0.05

Realizado por: Moyano, S. 2024

Según la Ilustración 4-12 los resultados tras la evaluación de altura demuestran que la aplicación de *T. harzianum* en presentó un indicador más pronunciado en la altura de las plantas evaluadas, alcanzando un promedio de 299,73 mm. Si bien los tratamientos que fueron inoculados con las

cepas de *T. hamatum* y *T. longibrachatum* demostraron un rango entre 236,08 mm y 241,16 mm por cada uno de los tratamientos.

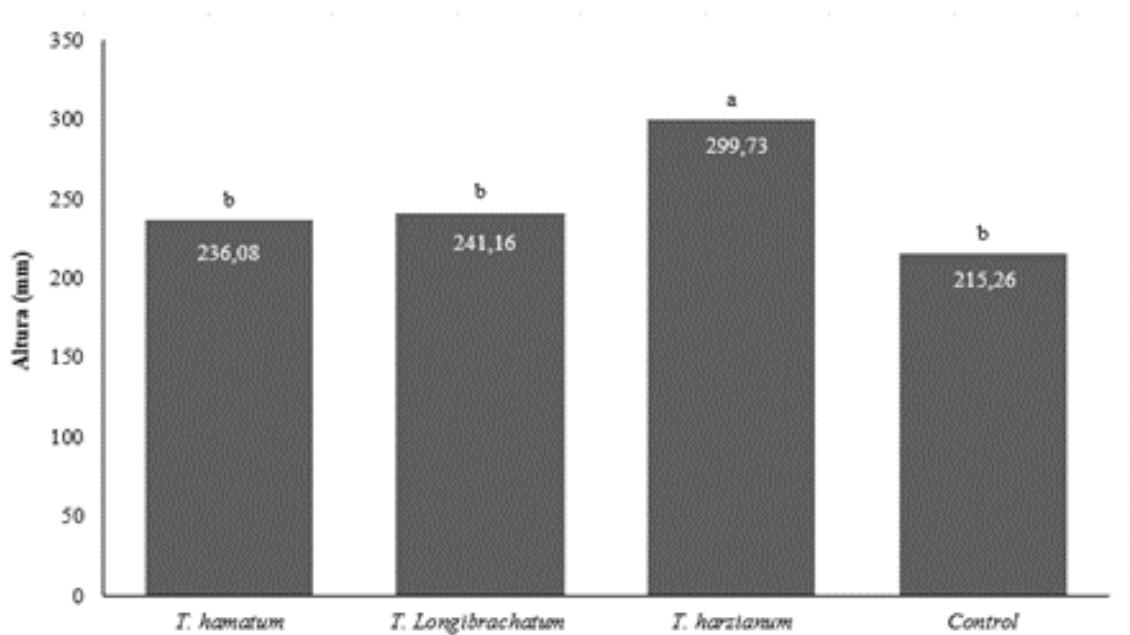


Ilustración 4-12: Prueba de comparación de medias según Tukey al 5% de significancia para altura en cepa

Realizado por: Moyano, S. 2024

4.3. Presencia de *Trichoderma* spp. en sustrato en la etapa final de vivero

Según la ilustración 4-9, se evidencian los resultados del monitoreo de las distintas cepas de *Trichoderma* spp. en el sustrato durante un intervalo de tiempo de 24 a 72 horas, se demostró que *T. harzianum* mostro los niveles más elevados de UFC, consiguiendo un valor de 750 UFC en el periodo de tiempo evaluado. Mientras que las cepas de *T. hamatum* presentó una cantidad de 600 UFC y *T. longibrachatum* 650 respectivamente.

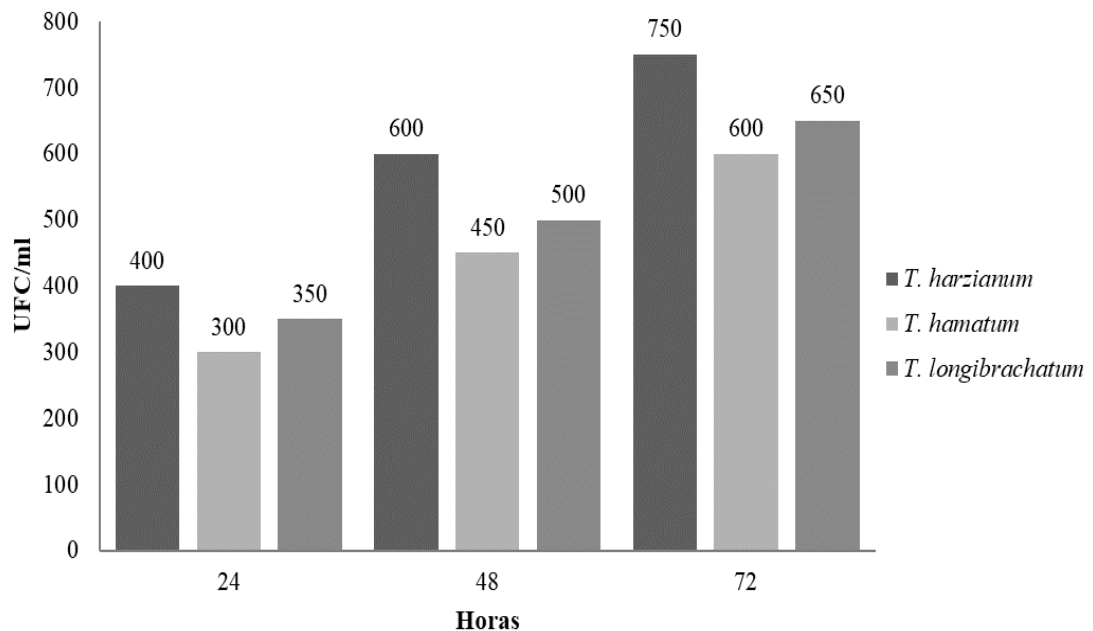


Ilustración 4-13: Presencia de *Trichoderma* spp. en el sustrato en la etapa final de vivero.

Realizado por: Moyano, S. 2024

4.4. Discusión

Los resultados de esta investigación demostraron que la cepa de *Trichoderma harzianum* destacó siendo la mejor en cuanto a crecimiento y desarrollo sobre las plantas de granadilla (*Passiflora ligularis*) en cada una de las variables de estudio planteadas. El efecto de *T. harzianum* fue el de mejor rendimiento en las plantas, presentando niveles elevados en las variables de: incidencia, DAC, número de hojas, color de hojas, biomasa, longitud de raíz, altura y unidades formadoras de colonias (UFC), destacando que la dosis de mayor énfasis fue 1×10^6 conidios/mL. Este resultado coincide con el estudio de (Díaz Padilla et al. 2020, págs. 195-204), quienes mencionan que el uso de *T. harzianum* en plántulas bajo vivero estimula el crecimiento y desarrollo inicial de las plantas de maracuyá, dando como efecto positivo que *T. harzianum* funciona como promotor del crecimiento vegetal.

El efecto que presentó *Trichoderma* spp. ante las variables previamente mencionadas afirma la capacidad que tiene este hongo para promover la sanidad de las plantas, así como también el desarrollo vegetal y la formación de colonias en el sustrato. Esto se debe a la capacidad que tiene *Trichoderma* spp. de inducir la defensa vegetal, la promoción del crecimiento y desarrollo radicular, así como la estimulación y síntesis de sustancias que contribuyen a fortalecer la fertilidad del sustrato (Cortés-Hernández et al., 2023, págs. 73-87).

Fusarium spp. es un hongo que ataca la parte externa de la raíz y tallo de la planta, coincidiendo con (Arévalo 2021, págs. 152-165), quien menciona que *Fusarium* spp. avanza por el margen del tallo

hasta llegar a la vena central, causando la marchitez de la planta. El ataque de esta enfermedad representa una de las más destructivas debido a que este patógeno se presenta en forma de micelio y, con mayor frecuencia, de clamidosporas. Por tal motivo, *T. harzianum* funcionó como un fungicida anti-nocivo que afecta directamente al tallo, impidiendo que el desarrollo de la planta actúe de manera normal.

T. harzianum con la dosis de 1×10^6 conidios/mL afirma una vez más que este mejora notablemente el crecimiento y desarrollo vegetativo en granadilla (*Passiflora ligularis*), especialmente en el DAC, color de hojas, biomasa e incidencia. (Álvarez Romero et al. 2021, págs. 1-8) mencionan que *Trichoderma* spp. funciona no solo como método de control, sino también como estimulador al fortalecer y maximizar los nutrientes disponibles en el suelo. Además, se evidencia que *Trichoderma* spp. produce fitohormonas en el sustrato, como auxinas, citoquininas y giberelinas, que son aprovechadas por las especies vegetales a lo largo de su crecimiento.

La investigación buscó generar una alternativa biológica para mejorar la calidad ecológica del sustrato, así como mejorar la nutrición y el desarrollo vegetal de las plantas. *T. hamatum* ha tomado gran relevancia en los últimos años debido a su amplio rol como agente biocontrolador frente a fitopatógenos fúngicos y, además, por actuar como bioestimulante, promoviendo el crecimiento y desarrollo de las plantas, así lo menciona (Mao et al. 2020, págs. 1228-1243), quienes en su estudio y desarrollo de un biocontrolador para el marchitamiento del pimiento, basándose en las características morfológicas de *T. hamatum*, demostraron efectos antagónicos contra varios patógenos fúngicos. Con las aplicaciones de *T. hamatum* en pimiento, se aumentó significativamente la altura, longitud de raíz y peso seco y fresco. Cabe mencionar que, en esta investigación, *T. hamatum* demostró bajos niveles de impacto en la granadilla (*Passiflora ligularis*) ya que existieron limitaciones en la determinación y formulación de la dosis adecuada de la cepa para obtener una compatibilidad con la planta.

T. longibrachatum ha surgido como un recurso biotecnológico prometedor en la fitoprotección y nutrición vegetal. Como agente controlador, exhibe múltiples mecanismos de acción frente a fitopatógenos fúngicos y bacterianos, destacando su capacidad de micoparasitismo, y como bioestimulante, promueve el crecimiento y desarrollo vegetal. Como lo menciona (Ortega 2022, pág. 15) en su investigación en especies forestales, esta cepa obtuvo efectos positivos en el crecimiento y desarrollo vegetal para altura, número de hojas, peso fresco y seco.

Como se menciona anteriormente, las investigaciones de *T. hamatum* y *T. longibrachatum* en *Passiflora* se han limitado debido a que se ha brindado prioridad a cultivos de mayor importancia económica y su complejidad en su sistema de cultivo, ya que algunas especies de *Passiflora* tienden a ser trepadoras. Además, existen limitaciones relacionadas con enfermedades fúngicas de gran impacto, así como los desafíos al realizar las fórmulas y concentraciones necesarias para la afinidad con el cultivo.

CAPITULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- La incidencia de *Fusarium* spp. fue notoria después de la segunda y tercera aplicación de *Trichoderma* spp. por lo que, se pudo evidenciar que el menor efecto de este patógeno se presentó con la aplicación de *T. harzianum* con una dosis de 1×10^6 , seguido de *T. hamatum* con 1×10^5 sin embargo pudo notarse que *T. longibrachatum* con una dosis de 1×10^6 fue el que presentó mayor incidencia al igual que *T. longibrachatum* con una dosis de 1×10^5 . Se asume que *T. harzianum* tiene buena influencia para el control de *Fusarium* spp. en el sustrato a nivel de vivero para el cultivo de *Passiflora ligularis*.
- En este estudio se investigó la relación de los tratamientos cepas x dosis para evaluar el desarrollo del hongo en los distintos bloques durante un periodo de 4 meses. Los resultados muestran que el desarrollo del hongo está asociado al tratamiento conformado por *T. harzianum* con una dosis de 1×10^6 manteniéndose sobre los demás tratamientos en el resto de las variables evaluadas tales como: Diámetro a la altura del cuello (DAC), número de hojas, color de hojas, biomasa, altura y longitud de raíz.
- Estos hallazgos son consistentes con la literatura previa que sugiere que *T. harzianum* puede tener efectos beneficiosos en el desarrollo de la planta debido a sus propiedades (control biológico de enfermedades, desarrollo vegetal, producción de enzima y adaptabilidad). Sin embargo, es importante tener en cuenta las limitaciones de este estudio, como su diseño
- Después de realizar evaluaciones y analizar los resultados obtenidos de las cepas *Trichoderma* (*harzianum*, *hamatum* y *longibrachatum*) en el sustrato de la etapa final del vivero, emerge una imagen clara acerca de la cepa de *T. harzianum*, la misma alcanzo la mayor cantidad de unidades formadoras de colonias en un lapso de 72 horas dando como resultado 750 UFC por sustrato.

5.2. Recomendaciones

- Para reactivar las cepas *T. hamatum* y *T. harzianum* sean repicadas en medio de cultivo PDA ya que en este cultivo su esporulación fue más rápida y eficaz.
- Esta investigación podría ampliarse hasta observar el efecto de *Trichoderma* spp. hasta la cosecha de *Passiflora ligularis* y realizar un análisis estudios sobre la calidad del fruto (grados brix, composición química, anatomía fisiológica) con el mejor tratamiento obtenido en esta investigación.
- Realizar más investigaciones con otras cepas de *Trichoderma* spp. para conocer sus efectos y beneficios en nuevas plantas.

BIBLIOGRAFÍA

1. **ÁLVAREZ ROMERO, Pablo Israel; et al.** Efeito do *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma longibrachiatum* no desenvolvimento de diferentes mudas de espécies florestais. *Agrária Acadêmica* [en línea]. 2021 (Ecuador), [Consulta: 20 mayo 2024]. Disponible en : <https://agrariacad.com/2021/08/02/efeito-do-trichoderma-harzianum-e-trichoderma-longibrachiatum-no-desenvolvimento-de-diferentes-mudas-de-especies-florestais/>
2. **AMERIO, Natalia S; et al.** *Trichoderma* en la Argentina: Estado del arte. *Ecología austral*. vol. 30, n.º 1, pags. 113-124.
3. **ARÉVALO, Trinidad Castillo.** Incidencia y severidad de Mal de Panamá (*Fusarium* Sp) en Guineo (*Musa balbisiana* ABB). *Ciencia e Interculturalidad*. vol. 29, n.º 02, pags. 152-165.
4. **AVILES LINDAO, Ginger Julexi.** “Importancia de los microorganismos en suelos cultivados con palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq) en el Ecuador”, pag. 12.
5. **BÁRBARO, Lorena; et al.** Caracterización de diferentes compost para su uso como componente de sustratos. *Chilean journal of agricultural & animal sciences*. vol. 35, n.º 2, pags. 126-136.
6. **BUSTAMANTE, Danilo E; et al.** Three new species of *Trichoderma* in the *harzianum* and *longibrachiatum* lineages from Peruvian cacao crop soils based on an integrative approach. *Mycologia*. vol. 113, n.º 5, pp. 1056-1072. DOI 10.1080/00275514.2021.1917243.
7. **CALVIÑO, Francisco.** *Incidencia y Severidad en Cultivos: Claves para Estimar Pérdidas de Rendimiento - Cultiva*. [blog]. [Consulta: 21 noviembre 2023]. Disponible en: <https://blog.sima.ag/2023/incidencia-y-severidad-en-cultivos/>
8. **CARVAJAL, Ana, RISQUEZ, Alejandro & ECHEZURÍA, Luis.** Recomendaciones sobre el consumo de agua y alimentos en circunstancias especiales. *Boletín Venezolano de Infectología*. vol. 30, n.º 1, pags. 5-9.
9. **CASTAÑO ZAPATA, Jairo.** *Conferencia Magistral Conceptos básicos de fitoepidemiología*, pag. 68.
10. **CHIRIBOGA, Hernán, GOMÉZ, Graciela & GARCÉS, Karla.** *Beneficios de la aplicación de Trichoderma en la agricultura* [blog]. [Consulta: 3 abril 2024]. Disponible en : <https://infoagronomo.net/beneficios-aplicacion-de-trichoderma/>
11. **COLTRIN, Kathryn.** *Unidades Formadoras de Colonias*. [blog]. [Consulta: 20 octubre 2023]. Disponible en: <https://kathryncoltrinbooks.com/unidades-formadoras-de-colonias-qu%C3%A9-son-y-cu%C3%A1ntas-necesita/>
12. **CRESPO, Cristian.** *Qué es la tierra negra y cuáles son sus usos*. [blog]. [Consulta: 4 enero 2023] Disponible en : <https://www.portalfruticola.com/noticias/2019/12/24/que-es-la-tierra-negra-y-cuales-son-sus-usos/>
13. **DOMENECH, Luis.** *Turba: Qué es, Tipos, Características y Usos Dimateria*. [blog]. [Consulta: 4 enero 2024] .Disponible en : <https://dimateria.com/miscelanea/turba>

14. **DUBEY, Anamika; et al.** Soil microbiome: a key player for conservation of soil health under changing climate. *Biodiversity and Conservation*. vol. 28, n.º 8-9, pags. 2405-2429. DOI 10.1007/s10531-019-01760-5.
15. **ENRÍQUEZ, Miguel & OJEDA CAIZA, Guido Leonardo.** Evaluación bromatológica de dietas alimenticias, con la inclusión de harina de plátano de rechazo. *Revista Espamciencia*. vol. 11, n.º 1, pp. 12-18.
16. **FAO.** *FAO Home* [blog]. [Consulta: 16 marzo 2024] .Disponible en : <https://www.fao.org/home/es>
17. **FAO.** *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura: Granadilla de Íntag llega a mercados europeos con el apoyo de FAO y la Unión Europea | FAO en Ecuador | Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.*. [blog]. [Consulta: 4 abril 2024] .Disponible en : Recuperado a partir de : <https://www.fao.org/ecuador/noticias/detail-events/es/c/1650254/>
18. **FORERO NIÑO, Daniela.** *Conocimiento local y la polinización por insectos en cultivos de granadilla (Passiflora ligularis juss) : estudio de caso en dos inspecciones del municipio de Junín, Cundinamarca.* [blog]. [Consulta: 31 diciembre 2023] Disponible en: <http://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/46723>. Accepted: 2020-01-23T16:06:46Z
19. **GÁLVEZ-MARROQUÍN, Luis Antonio; et al.** Radiación gamma en semillas de Jamaica para inducir variación morfológica y selección de mutantes. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*. vol. 14, n.º 5, pags. 27-37. DOI 10.29312/remexca.v14i5.3010.
20. **GAONA-GONZAGA, Pablo; et al.** Respuesta del cultivo de granadilla (*Passiflora ligularis* Juss) cultivar “colombiana” al suministro de nitrógeno y potasio por fertirriego. *Manglar*. Vol. 17, n.º 1, pags. 75-82. DOI 10.17268/manglar.2020.012.
21. **GONZALES ORIHUELA, Yasmin Zayuri & VICAN TAIPE, Zayda Joselin.** Efecto de los microorganismos de montaña (MM) en el crecimiento de la granadilla (*Passiflora ligularis* L.) var. Colombiana en condiciones de vivero para Chanchamayo. Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión, San Juan Pamba, Apartado 77. Cerro de Pasco - Perú [En línea] (Trabajo de titulación) [Consulta: 10 enero 2024] Disponible en: <http://repositorio.undac.edu.pe/handle/undac/3316>. Accepted: 2023-06-09T16:04:58Z
22. **GONZÁLEZ-LEÓN Yared; et al.** *Bacillus subtilis* y *Trichoderma*: Características generales y su aplicación en la agricultura. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*. vol. 25. DOI 10.22201/fesz.23958723e.2022.520.
23. **HERNÁNDEZ-MELCHOR, Dulce Jazmín; et al.** *Trichoderma*: IMPORTANCIA AGRÍCOLA, BIOTECNOLÓGICA, Y SISTEMAS DE FERMENTACIÓN PARA PRODUCIR BIOMASA Y ENZIMAS DE INTERÉS INDUSTRIAL. *Chilean journal of agricultural & animal sciences*. vol. 35, n.º 1, pags. 98-112. DOI 10.4067/S0719-38902019005000205.
24. **HERRERA-PARRA, Elizabeth; et al.** Primer registro de *Fusarium solani* y *F. equiseti* en plantaciones de *Jatropha curcas* en México. *Revista mexicana de fitopatología*. vol. 35, n.º 1, pags. 150-161. DOI 10.18781/r.mex.fit.1608-1.
25. **INAHMI.** Pronósticos de Ecuador.

26. **IVAMI.** *Fusarium* spp. - Importancia hortofrutícola. Detección de especies patógenas por métodos moleculares - IVAMI. Recuperado a partir de : <https://www.ivami.com/es/microbiologia-vegetal/2099-fusarium-spp-importancia-hortofruticola-y-deteccion-de-especies-patogenas-por-metodos-moleculares>
27. **LODI, Rathna Silviya; et al.** *Trichoderma hamatum* and Its Benefits. *Journal of Fungi*. vol. 9, n.º 10, pag. 994. DOI 10.3390/jof9100994.
28. **MAO, Tingting; et al.** Pepper growth promotion and *Fusarium* wilt biocontrol by *Trichoderma hamatum* MHT1134. *Biocontrol Science and Technology*. vol. 30, n.º 11, pags. 1228-1243. DOI 10.1080/09583157.2020.1803212.
29. **MARTÍNEZ, Alba Lorenzo.** La melaza en la agricultura: un aliado para mejorar tus cultivos. *Agroecology SL*[En línea]. [Consulta: 21 diciembre 2023] Disponible en: <https://agroecologysl.com/la-melaza-en-la-agricultura-un-aliado-para-mejorar-tus-cultivos/>
30. **ORLANDO CAICEDO, Willan; et al.** Calidad fermentativa de ensilajes líquidos de chontaduro (*Bactris gasipaes*) tratados con yogur natural, suero de leche y melaza. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. vol. 30, n.º 1, pags. 167-177. DOI 10.15381/rivep.v30i1.15672.
31. **ORTEGA CERNA, Lesly Dayana.** Uso de *trichoderma* spp. como promotor de crecimiento de tres especies forestales a nivel de vivero en la provincia de Pichincha. .
32. **PANTOJA AYALA, María Cristina.** APROVECHAMIENTO AGROINDUSTRIAL DE GRANADILLA Y PITAHAYA EN LA ELABORACIÓN DE COMPOTA. .
33. **PLAN SEMPLADES** [En línea]. [Consulta: 21 febrero 2023] **Disponible en:** <https://www.planificacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2015/10/Plan-Estrategico-Senplades-2014-2017.pdf>
34. **PRATAP SINGH, Satyendra; et al.** *Trichoderma* spp. mediated induction of systemic defense response in brinjal against *Sclerotinia sclerotiorum*. *Current Research in Microbial Sciences*. vol. 2, pag. 100051. DOI 10.1016/j.crmicr.2021.100051.
35. **PULIDO, Humberto Gutiérrez.** Análisis y diseño de experimentos. .
36. **RAMIREZ, Dámaso-W; et al.** Efecto de los incendios en la cobertura vegetal, almacenamiento de carbono y biomasa vegetal de un humedal costero. *Revista de Biología Tropical*. vol. 70, n.º 1, pags. 348-362. DOI 10.15517/rev.biol.trop..v70i1.46084.
37. **RECIO, R; et al.** *Trichoderma longibrachiatum*: an unusual pathogen of fungal pericarditis. *Clinical Microbiology and Infection*. vol. 25, n.º 5, pags. 586-587. DOI 10.1016/j.cmi.2019.02.006.
38. **ROMÁN, Daniel; et al.** Proyecto: estudio de *trichoderma* spp. en viveros forestales de la provincia de Chimborazo y suelos agrícolas en santa cruz, Islas Galápagos. Riobamba.
39. **ROMERO-RAMIREZ, Ana Cecilia, SALAZAR-CERÓN, Maira Alejandra & ORDUZ-RODRIGUEZ, Javier Orlando.** Diagnóstico tecnológico y socioeconómico de los cultivos de maracuyá y guayaba en el Ariari, Meta. *Temas Agrarios*. vol. 24, n.º 1, pags. 42-52. DOI 10.21897/rta.v24i1.1778.

40. **RUIZ-CISNEROS, María Fernanda et al.** Efecto de *Trichoderma* spp. y hongos fitopatógenos sobre el crecimiento vegetal y calidad del fruto de jitomate. *Revista mexicana de fitopatología*. Vol. 36, n.º 3, pp. 444-456.
41. **SÁNCHEZ, Beatriz Mamani & MURILLO GARCÍA, Rafael Adolfo.** Micropropagación de dos variedades de frutilla (*Fragaria Ananassa* Duch.) En diferentes medios de cultivo. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*. vol. 7, n.º 1, pags. 69-78.
42. **TORRES, Dolores Gabriela.** Alternativa de mejoramiento de los ingresos de los pequeños agricultores de la parroquia de Cahuasqui, cantón Urcuquí”.
43. **VILLAMAR TRIANA, Joshue Yahir.** Tecnólogo en banano y frutas tropicales. .
44. **WOO, Sheridan L; et al.** *Trichoderma*: a multipurpose, plant-beneficial microorganism for eco-sustainable agriculture. *Nature Reviews. Microbiology*. Vol. 21, n.º 5, pp. 312-326. DOI 10.1038/s41579-022-00819-5.
45. **XIAO, Ziyang et al.** Strain improvement of *Trichoderma harzianum* for enhanced biocontrol capacity: Strategies and prospects. *Frontiers in Microbiology*. vol. 14. DOI 10.3389/fmicb.2023.1146210.



ANEXOS

ANEXO A: SELECCIÓN DE SEMILLAS DE GRANADILLA (*Passiflora ligularis*)



ANEXO B: GERMINACIÓN Y REVISIÓN DE PLÁNTULAS EN CRECIMIENTO



ANEXO D: ADECUACIÓN DE SOPORTES PARA LAS PLANTAS



ANEXO C: SELECCIÓN Y ACTIVACIÓN DE CEPAS DE *Trichoderma* (*harzianum*, *hamatum* y *longibrachatum*)



ANEXO E: PRODUCCIÓN DE *Trichoderma* (*harzianum*, *hamatum* y *longibrachatum*)



ANEXO F: PREPARACIÓN DE INÓCULO DE CEPAS DE *Trichoderma* spp.



ANEXO G: APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS



ANEXO H: APLICACIÓN DE MICROELEMENTOS



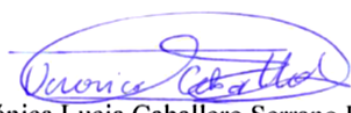
ANEXO K: PRESUPUESTO

Rubro	Cantidad	Costo Unitario	Costo Total
Salidas de campo			
Transporte	Global	50	50
Alimentación	Global	50	50
Materiales e insumos de laboratorio			
Medio de cultivo PDA	1	130	130
Medio de cultivo ARB	1	150	150
Caja de Petri	50	1.30	65
Arrocillo	20	0.50	10
Tarrinas	20	0.15	3
Antibiótico en pastilla	5	0.40	2
Placas porta y cubre objetos	20	0.28	5.60
Marcador para CD	1	0.75	0.75
Plástico Film	3	3.70	11.1
Papel aluminio	2	2.10	4.20
Papel kraft	10	0.60	6
Cinta adhesiva	5	0.75	3.75
Fundas de plástico	1	1.10	1.10
Materiales para trabajo de campo			
Fundas de siembra (4x6cm) cajas	500	0.15	75
Zarán 50% de sombra	18m	1.60	28.80
Gavetas	30	0.55	16.50
Etiquetas	34	0.20	6,80
Tijera	1	0.60	0.60
Hilo	1	0.80	0.80
Materiales de oficina			
Computador	1	500	500
Material de oficina	2	4	8
Tinta impresora	4	10.25	41
Subtotal antes de imprevistos			1096.8
Imprevistos 10%			109.6
Total			1206,2



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
CERTIFICADO DE CUMPLIMIENTO DE LA GUÍA PARA NORMALIZACIÓN
DE TRABAJOS DE FIN DE GRADO

Fecha de entrega: 08/03/2024

INFORMACIÓN DEL AUTOR
Nombres – Apellidos: Guadalupe Simoné Moyano Guillín
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Recursos Naturales
Carrera: Recursos Naturales Renovables
Título a optar: Ingeniera en Recursos Naturales Renovables
 Ing. Víctor Mario García Mora MsC. Director del Trabajo de Integración Curricular
 Ing. Verónica Lucía Caballero Serrano PhD. Asesora del Trabajo de Integración Curricular