

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOTECNOLOGÍA



UNS
UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL SANTA

**Efecto de *Trichoderma sp.* en la actividad antagónica
contra *Fusarium oxysporum* y en el crecimiento de
maracuyá (*Passiflora edulis*)**

**Tesis para Obtener el Título Profesional de
Licenciado en Biotecnología**

Autoras:

Bach. Patiño Castañeda, Melisa Rosely
Bach. Valdera Ramírez, Catheryn Liz

Asesor:

Ms. Villanueva Carlos, José Manuel
DNI N°: 32733772
ID ORCID: 0000-0002-5056-0001

Nuevo Chimbote - Perú
2024

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOTECNOLOGÍA



CERTIFICACIÓN DEL ASESOR

Yo, **Ms Villanueva Carlos, José Manuel**, Mediante la presente certifico mi asesoramiento de la tesis
Titulada, ***“Efecto de Trichoderma sp. en la actividad antagónica contra
Fusarium oxysporum y en el crecimiento de maracuyá (Passiflora
edulis)”***

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Biotecnología

Autores:

Bach. Patiño Castañeda, Melisa Rosely

Bach. Valdeira Ramírez, Catheryn Liz

Ms. Villanueva Carlos, José Manuel

Asesor

DNI:32733772

ID ORCID: 0000-0002-5056-0001

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOTECNOLOGÍA



UNS
UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL SANTA

AVAL DEL JURADO EBALUADOR

“Efecto de Trichoderma sp. en la actividad antagónica contra Fusarium oxysporum y en el crecimiento de maracuyá (Passiflora edulis)”

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Biotecnología

Revisado y aprobado por el jurado evaluador:

Dr. Capa Robles, William Robert

Presidente

DNI:32969285

ID ORCID:0000-0003-3402-613X

Ms. Villanueva Carlos, José Manuel

Integrante

DNI:32733772

ID ORCID: 0000-0002-5056-0001

Ms. Lecca Zavaleta, Víctor Eduardo

Integrante

DNI:42636735

ID ORCID: 0000-0002-3759-8128

ACTA DE CALIFICACIÓN DE LA SUSTENTACIÓN DE LA TESIS

En el Distrito de Nuevo Chimbote, en la Universidad Nacional de Santa, en el Auditorio 3° piso de la Facultad de Ciencias, siendo las 12:00 horas del día 28 de agosto del 2024, dando cumplimiento a la Resolución N° 100-2024-UNS-CFC, se reunió el Jurado Evaluador presidido por el Dr. Willian Robert Capa Robles, teniendo como miembros al Ms. Víctor Eduardo Lecca Zavaleta (secretario) y al Ms. José Manuel Villanueva Carlos (integrante), para la sustentación de tesis a fin de optar el título de **Licenciado en Biotecnología**, realizado por las tesis **Br. Melisa Patiño Castañeda** y **Br. Catheryn Liz Valdera Ramírez**, quienes sustentaron la tesis intitulada: "**Efecto de *Trichoderma* sp. en la actividad antagónica contra *Fusarium oxysporum* y en el crecimiento de maracuyá (*Passiflora edulis*)**".

Terminada la sustentación, las tesis respondieron a las preguntas formuladas por los miembros del jurado.

El Jurado después de deliberar sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo y con las sugerencias pertinentes, declara la sustentación como **BUENO**, asignándole un calificativo de **17 puntos**, según artículo 111° del Reglamento General de Grados y Títulos vigente (Resolución N° 580-2022-CU-R-UNS).

Siendo las 12:54 horas del mismo día se dio por terminado el acto de sustentación firmando los miembros del Jurado en señal de conformidad.



.....
Dr. Willian Robert Capa Robles
Presidente



.....
Ms. Víctor Eduardo Lecca Zavaleta
Secretario



.....
Ms. José Manuel Villanueva Carlos
Integrante

Distribución: Integrantes JE (03), tesis (02) y archivo FC (02).



Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por **Turnitin**. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega: MELISA ROSELY PATIÑO CASTAÑEDA
Título del ejercicio: TESIS EGRESADOS 2023
Título de la entrega: "Efecto de *Trichoderma* sp. en la actividad antagónica contra...
Nombre del archivo: PATI_O_Y_VALDERA_-_INFORME_DE_TESIS-09-09-2024.pdf
Tamaño del archivo: 2.5M
Total páginas: 95
Total de palabras: 18,798
Total de caracteres: 106,993
Fecha de entrega: 06-sept.-2024 08:29a. m. (UTC-0500)
Identificador de la entrega... 2289821720

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOTECNOLOGÍA



"Efecto de *Trichoderma* sp. en la actividad antagónica contra *Fusarium*
oxysporum y en el crecimiento de maracuyá (*Passiflora edulis*)"

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO
EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTADO POR:

Bach. Patiño Castañeda, Melisa Rosely
Bach. Valdera Ramírez, Catheryn Liz

ASESOR:

Ms. Villanueva Carlos, José Manuel
ORCID:0000-0002-5056-0001

NUEVO CHIMBOTE - PERÚ

2024

"Efecto de Trichoderma sp. en la actividad antagónica contra Fusarium oxysporum y en el crecimiento de maracuyá (Passiflora edulis)"

INFORME DE ORIGINALIDAD

14%

INDICE DE SIMILITUD

15%

FUENTES DE INTERNET

5%

PUBLICACIONES

4%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.uns.edu.pe Fuente de Internet	2%
2	hdl.handle.net Fuente de Internet	2%
3	cimogsys.esPOCH.edu.ec Fuente de Internet	1%
4	repositorio.utm.edu.ec:3000 Fuente de Internet	1%
5	doczz.es Fuente de Internet	1%
6	repositorio.uppuebla.edu.mx:8080 Fuente de Internet	<1%
7	repositorio.unp.edu.pe Fuente de Internet	<1%
8	biotecnia.unison.mx Fuente de Internet	<1%

DEDICATORIA

A mi madre, María Leonor, cuya presencia desde el cielo sigue siendo mi mayor inspiración. A mis padres, Jorge y Felicitas, quienes me han brindado un apoyo incondicional y han estado a mi lado como verdaderos pilares en cada paso del camino. Y a mi hermana, Cecy, por su constante apoyo moral y académico, que ha sido fundamental en cada etapa de este proceso.

PATIÑO CASTAÑEDA, Melisa Rosely

*Gracias a DIOS por acompañarme en todo este camino académico y no dejar que me rinda. A mis padres Severino y Ana por brindarme amor, educación y enseñarme a luchar por mis sueños, también a mis hermanos Raúl, Jhoel y Jennifer por motivarme y apoyarme en los momentos difíciles. Al amor de mi vida Marvin, por ser un soporte, un buen compañero de Vida y ayudarme a luchar cada día por alcanzar mis sueños. ¡A todas las personas que me apoyaron en esta meta **MUCHAS GRACIAS!***

VALDERA RAMÍREZ, Catheryn Liz

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradecer al profesor Julio Chico Ruiz por el gran apoyo en el proceso de realización de nuestra investigación, porque siempre estuvo ahí guiándonos y despejando cada duda durante nuestro trayecto.

También a nuestro asesor de tesis Ms. José Manuel Villanueva Carlos, por su rápida disposición, apoyo constante, orientación, tiempo y confianza en todo el proceso de esta investigación. Sin su ayuda y compromiso no hubiera sido posible continuar con el proyecto.

A nuestros amigos cercanos y técnicos del laboratorio de Investigación, Microbiología y Biotecnología vegetal.

Al profesor Dr. William Robert Capa Robles y a todos los docentes de la Escuela profesional de Biotecnología por contribuir con nuestra formación académica durante nuestra etapa universitaria.

INDICE

CERTIFICACIÓN DEL ASESOR	ii
AVAL DEL JURADO EVALUADOR.....	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
RESUMEN	XI
ABSTRACT.....	XII
I. INTRODUCCIÓN	1
1.2. OBJETIVOS	2
1.2.1. Objetivo General.....	2
1.2.2. Objetivos Específicos.....	2
1.3. HIPOTESIS.....	3
II. MARCO TEORICO	5
2.1. Antecedentes	5
2.2. Marco conceptual	7
2.2.1. Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>)	7
2.3.1. <i>Fusarium oxysporum</i>	10
2.4.1. <i>Trichoderma sp.</i>	15
III. MATERIALES Y METODOS	20
3.1. Lugar de ejecución	20
3.2. Materiales	20
3.2.1. Material Biológico.....	20
3.3. Procedimiento.....	21
3.3.1. Recolección de muestras	21
3.3.2. Aislamiento a partir de suelo de <i>Trichoderma sp.</i>	22
3.3.3. Identificación morfológica de <i>Trichoderma sp.</i>	23

3.3.4. Aislamiento e Identificación Morfológica de <i>Fusarium oxysporum</i>	24
3.3.5. EVALUACIÓN ANTAGÓNICA <i>in vitro</i> DE <i>Trichoderma sp.</i>	26
3.3.6. EVALUACIÓN ANTAGÓNICA <i>in vivo</i> DE <i>Trichoderma sp.</i>	29
3.3.7. EVALUACIÓN DE <i>Trichoderma sp.</i> COMO PROMOTOR DE CRECIMIENTO.....	31
3.3.8. DISEÑO EXPERIMENTAL	32
IV. RESULTADOS Y DISCUSION	34
4.1. Aislamiento de microorganismos	34
4.1.1. Aislamiento e Identificación de <i>Trichoderma sp.</i>	34
4.1.2. Aislamiento e Identificación de <i>Fusarium oxysporum</i>	36
4.2. Evaluación antagónica <i>in vitro</i>	37
4.2.2. Mecanismo por micoparasitismo	43
4.3. Evaluación antagónica <i>in vivo</i>	48
4.4. Estudio de la acción promotora de crecimiento de <i>Trichoderma sp.</i>	52
4.4.1. N° de hojas	54
4.4.2. Altura de plántula	55
4.4.3. Longitud de Raíz	57
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	59
5.1. Conclusiones:	59
5.2. Recomendaciones:.....	61
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS Y VIRTUALES	62
VII. ANEXOS.....	68

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>).....	8
Tabla 2. Composición nutricional de Maracuyá por 100 g de pulpa	9
Tabla 3. Clasificación taxonómica de <i>Fusarium oxysporum</i>	11
Tabla 4. Clasificación Taxonómica de <i>Trichoderma sp.</i>	17
Tabla 5. Escala de evaluación antagónica de <i>Trichoderma sp.</i> sobre <i>Fusarium oxysporum</i> , según la “Escala de Bell”.....	28
Tabla 6. Descripción de los aislamientos de <i>Trichoderma sp.</i>	34
Tabla 7. Codificación de los aislamientos de <i>Trichoderma sp.</i>	35
Tabla 8. Valores de crecimiento micelial de <i>Trichoderma sp.</i> vs <i>Fusarium oxysporum</i>	37
Tabla 9. Análisis ANOVA de la influencia de diferentes cepas de <i>Trichoderma sp.</i> frente al %ICM.....	38
Tabla 10. %ICM medias de los experimentos con diferentes cepas aislados.	39
Tabla 11. Prueba de Tukey para valores agrupados a un nivel de confianza de 95%	40
Tabla 12. Valores de crecimiento micelial de <i>Trichoderma</i> vs <i>Fusarium</i> en relación al mecanismo de micoparasitismo	43
Tabla 13. Número de plántulas vivas luego del tratamiento con <i>Trichoderma sp.</i> a una [C] de 10 ⁶ conidios/mL.....	48
Tabla 14. Número de plántulas vivas luego del tratamiento con <i>Trichoderma sp.</i> a una [C] de 10 ⁸ conidios/mL.....	49
Tabla 15. Tabla resumen de los tratamientos empleados y concentraciones de conidios empleadas en la experimentación de antagonismo <i>in vivo</i>	49
Tabla 16. ANOVA para valores de % de supervivencia.....	50
Tabla 17. Rangos de las variables independientes utilizadas en la experimentación.....	53
Tabla 18. Diseño factorial completo 2 ² para evaluación de la respuesta promotora de crecimiento de maracuyá	53
Tabla 19. ANOVA para evaluación de crecimiento de hojas.	54

Tabla 20. ANOVA para evaluación de la altura de Maracuyá.	55
Tabla 21. ANOVA para evaluación de la longitud de raíz de Maracuyá	57

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>).....	7
Figura 2.	<i>Fusarium oxysporum</i>	11
Figura 3.	<i>Trichoderma sp.</i>	16
Figura 4.	Plántulas de Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>)	20
Figura 5.	Cepa de <i>Trichoderma sp.</i>	21
Figura 6.	Cepa de <i>Fusarium oxysporum</i>	21
Figura 7.	Recolección de muestras.....	22
Figura 8.	Aislamiento de <i>Trichoderma sp.</i> a partir de muestras de suelo.	23
Figura 9.	Características macroscópicas de <i>Trichoderma sp</i>	23
Figura 10.	Hifas septadas, conidióforos y conidios de <i>Trichoderma sp.</i>	24
Figura 11.	Selección de material vegetal infectado con <i>Fusarium oxysporum</i>	25
Figura 12.	Características morfológicas de <i>Fusarium oxysporum</i>	25
Figura 13.	Fiálides, macroconidios y microconidios de <i>Fusarium oxysporum</i>	26
Figura 14.	Mecanismo de acción por competencia de <i>Trichoderma sp.</i>	27
Figura 15.	Mecanismo de acción por micoparasitismo de <i>Trichoderma sp.</i>	29
Figura 16.	Obtención de conidios de <i>Trichoderma sp.</i>	30
Figura 17.	Evaluación antagónica “ <i>in vivo</i> ” de <i>Trichoderma sp.</i>	31
Figura 18.	<i>Trichoderma sp.</i> como promotor de crecimiento en plántulas de Maracuyá	32
Figura 19.	Aislamiento de <i>Fusarium oxysporum</i>	36
Figura 20.	Gráfica de efectos principales para %ICM con valor de medias.	41
Figura 21.	Capacidad antagónica por competencia de <i>Trichoderma sp.</i> vs <i>Fusarium oxysporum</i>	42
Figura 22.	Enrollamiento, adhesión y esporulación de <i>Trichoderma sp.</i> contra <i>Fusarium oxysporum</i>	44
Figura 23.	Valores de capacidad antagónica por micoparasitismo según la “Escala de Bell”	45

Figura 24. Capacidad antagónica por micoparasitismo de <i>Trichoderma sp.</i> vs <i>Fusarium oxysporum</i>	46
Figura 25. Gráfica de los efectos principales para % de supervivencia y [C] conidios	51
Figura 26. Efectos de interacción entre % de supervivencia y [C] conidios.....	51
Figura 27. Superficie de respuesta de la influencia del %ICM vs [C] conidios en el N° de hojas de maracuyá.....	55
Figura 28. Superficie de respuesta de la influencia del %ICM vs [C] conidios en la altura de maracuyá.....	56
Figura 29. Superficie de respuesta de la influencia de %ICM vs [C] conidios en la longitud de raíz de maracuyá.....	58

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1.	Pesado de medio PDA.	68
Anexo 2.	Medio PDA.	68
Anexo 3.	Placas Petri con medio PDA.	69
Anexo 4.	Preparación de diluciones para los aislamientos.	69
Anexo 5.	Selección de <i>Trichoderma sp.</i>	70
Anexo 6.	Selección de <i>Fusarium oxysporum</i>	70
Anexo 7.	Aislamientos de <i>Trichoderma sp.</i> con sus codificaciones respectivas.....	71
Anexo 8.	Evaluación del “MECANISMO POR COMPETENCIA” de <i>Trichoderma sp.</i> contra <i>Fusarium oxysporum</i>	72
Anexo 9.	Evaluación del “MECANISMO POR MICOPARASITISMO” de <i>Trichoderma sp.</i> contra <i>Fusarium oxysporum</i>	72
Anexo 10.	Promedio de crecimiento radial y %ICM de <i>Trichoderma sp.</i> contra <i>Fusarium oxysporum</i> ”.....	73
Anexo 11.	Análisis de varianza de supervivencia con el primer tratamiento 10^6	73
Anexo 12.	Análisis de varianza de incidencia de enfermedad con el primer tratamiento 10^6	74
Anexo 13.	Análisis de varianza de la mortalidad con el primer tratamiento 10^6	74
Anexo 14.	Análisis de varianza de supervivencia con el segundo tratamiento 10^8	75
Anexo 15.	Análisis de varianza de incidencia de enfermedad con el segundo tratamiento 10^8	75
Anexo 16.	Análisis de varianza de la mortalidad con el segundo tratamiento 10^8	76
Anexo 17.	Conidios de las cepas de <i>Trichoderma sp.</i>	76
Anexo 18.	Conteo de conidios/ml de <i>Trichoderma sp.</i> en cámara Neubauer.	77

Anexo 19. Toma de datos semanales, de la altura de la plántula (cm) de Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>).....	77
Anexo 20. Toma de datos semanales, de la longitud de raíz (cm), de las plántulas de Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>).....	78
Anexo 21. Toma de datos semanales, del número de hojas de las plántulas de Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>).....	78
Anexo 22. Crecimiento de las plántulas de Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>).....	78

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de *Trichoderma sp.* en la actividad antagónica contra *Fusarium oxysporum* y en el crecimiento de maracuyá (*Passiflora edulis*). En primer lugar, se aisló y se seleccionó 10 cepas de *Trichoderma sp.* a partir de suelo agrícola; y de tejidos infectados se aisló a *Fusarium oxysporum*. Posteriormente, se realizó la primera fase experimental, se evaluó la actividad antagónica *in vitro* e *in vivo* de *Trichoderma sp.*, donde la cepa TVS3 presentó menor %ICM y actividad antagónica, en comparación con la cepa TDL9, que mostró un mayor %ICM y actividad antagónica, demostrando superioridad en el mecanismo de acción por competencia. También, en el mecanismo de acción por micoparasitismo, demostró un “GRADO 5” según la “Escala de Bell”, porque colonizó y esporuló sobre *Fusarium oxysporum*. En el porcentaje de supervivencia de plántulas de maracuyá se evaluaron dos concentraciones de conidios/mL de *Trichoderma sp.*, teniendo como resultado, que la concentración de 10^8 conidios/mL de la cepa TDL9 es la más óptima, porque obtuvo un mayor porcentaje de supervivencia en comparación de la concentración de 10^6 conidios/mL. En la segunda fase experimental, se evaluó a *Trichoderma sp.* como promotor de crecimiento, aplicando un diseño factorial completo, comparando dos cepas y concentraciones de conidios/mL, teniendo como resultado, que la concentración de 10^{10} conidios/mL y la cepa TDL9 con mayor actividad antagónica, es la más recomendable para estimular el crecimiento en comparación con la cepa TVS3, porque, una mayor concentración de conidios influyó en el número de hojas, en la altura fue más significativo la mayor concentración de conidios y cepa, en comparación con el enraizamiento, la cepa fue más significativa. Finalmente se concluye, que *Trichoderma sp.* es una excelente alternativa de solución para el control biológico de *Fusarium oxysporum* y como promotor de crecimiento de las plántulas de maracuyá (*Passiflora edulis*), porque estimula significativamente la altura, número de hojas y desarrollo radicular.

Palabras clave: *Trichoderma sp.*, *Fusarium oxysporum*, *Passiflora edulis*, promotor de crecimiento, mecanismos de acción.

ABSTRACT

The objective of the present investigation was to evaluate the effect of *Trichoderma sp.* on the antagonistic activity against *Fusarium oxysporum* and on the growth of passion fruit (*Passiflora edulis*). First, 10 strains of *Trichoderma sp.* were isolated and selected from agricultural soil; and *Fusarium oxysporum* was isolated from infected tissues. Subsequently, the first experimental phase was carried out, the *in vitro* and *in vivo* antagonistic activity of *Trichoderma sp.* was evaluated, where the strain TVS3 presented lower %ICM and antagonistic activity, in comparison with the strain TDL9, which showed a higher %ICM and antagonistic activity, demonstrating superiority in the mechanism of action by competition. Also, in the mechanism of action by mycoparasitism, it showed a “GRADE 5” according to the “Bell Scale”, because it colonized and sporulated on *Fusarium oxysporum*. In the *in vivo* part, it was evaluated the survival percentage of passion fruit seedlings, after being infected with *Fusarium oxysporum* and treated with a concentration of conidia/mL of *Trichoderma sp.*, having as result, that the concentration of 10^8 conidia/mL of the TDL9 strain with greater antagonistic activity is the most optimal, because it obtained a higher percentage of survival in comparison with the concentration of 10^6 conidia/mL. In the second experimental phase, it was evaluated *Trichoderma sp.* as growth promoter, applying a complete factorial design, comparing two strains and concentrations of conidia/mL, having as result, that the concentration of 10^{10} conidia/mL and the strain TDL9 with greater antagonistic activity, is the most recommendable to stimulate the growth in comparison with the strain TVS3, because, a greater concentration of conidia influenced the number of leaves, in the height was more significant the greater concentration of conidia and strain, in comparison with the rooting, the strain was more significant. Finally, it is concluded that *Trichoderma sp.* is an excellent alternative solution for the biological control of *Fusarium oxysporum* and as a growth promoter of passion fruit (*Passiflora edulis*) seedlings, because it significantly stimulates the height, number of leaves and root development.

Key words: *Trichoderma sp.*, *Fusarium oxysporum*, *Passiflora edulis*, growth promoter, mechanisms of action.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Descripción y formulación del problema

Las exportaciones de maracuyá (*Passiflora edulis*) en el Perú ha crecido significativamente, ganando popularidad en los últimos años y con una demanda creciente en los mercados de EE.UU, Brasil, Colombia, Ecuador, Sudáfrica, Kenia, Costa de Marfil, Angola, Camerún, Taiwán, Malasia y Nueva guinea; por su sabor, propiedades y beneficios para la salud, obteniendo un crecimiento del 17% en el 2021 alcanzando un logro de US\$ 8,807 en exportaciones (Guaraca, 2022).

Sin embargo, se ha visto afectado por hongos fitopatógenos de gran importancia en este cultivo como: Antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*), Mildiu Polvoso (*Oidium spp.*), pudrición de la base del tallo (*Phytophthora spp.*) y Fusariosis (*Fusarium oxysporum*). Este último, causante de amarilleo, marchitez de hojas y pudrición de raíces, los cuales afectan significativamente la producción, calidad de los frutos y es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en plántulas de maracuyá. Por ello, es muy importante conocer las medidas de control y prevención para reducir la frecuencia, gravedad y mortalidad de la enfermedad ocasionada por *Fusarium oxysporum* (Méndez, 2019). También añadir las malas prácticas agrícolas, que emplean una amplia variedad de productos químicos que no favorecen el crecimiento saludable de los cultivos ni garantizan la seguridad alimentaria, haciendo que los productos sean menos populares (Mejía, 2018).

Por ende, la presente investigación tiene como propuesta combatir a *Fusarium oxysporum* mediante el uso de *Trichoderma sp.*, el cual, es una excelente alternativa de solución por sus cualidades de control biológico como: sus mecanismos de acción (competencia y micoparasitismo), mientras más mecanismos de acción presente, más eficiente será su control sobre de *Fusarium oxysporum*, también estimula el crecimiento y desarrollo de las plantas, promoviendo la liberación de nutrientes por degradación de materia, solubilización de fosfatos y disminución de pH del suelo, los cuales, promueven una mayor ramificación de raíces y capacidad de absorción de nutrientes (Espinal Yauri, 2020). Estos aspectos son muy importantes, ya que lo convierte en una excelente opción de lucha biológica preventiva, evita el desarrollo, incidencia, mortalidad y resistencia de *Fusarium oxysporum*, además del impacto ambiental. Por la cual, planteamos el siguiente problema de investigación.

¿Cuál es el efecto de *Trichoderma sp.* en la actividad antagónica contra *Fusarium oxysporum* y en el crecimiento de maracuyá (*Passiflora edulis*)?

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. Objetivo General

- Evaluar el efecto de *Trichoderma sp.* en la actividad antagónica contra *Fusarium oxysporum* y en el crecimiento de maracuyá (*Passiflora edulis*).

1.2.2. Objetivos Específicos

- Evaluar el mecanismo antagónico (competencia y micoparasitismo) *in vitro* y el índice de efectividad de los aislamientos de *Trichoderma sp.* frente a *Fusarium oxysporum*.
- Comprobar el índice de efectividad del mecanismo antagónico de los aislamientos de *Trichoderma sp.* frente a *Fusarium oxysporum*.
- Determinar la influencia de la concentración de conidios/mL y la actividad antagónica de *Trichoderma sp.* contra *Fusarium oxysporum* en el porcentaje de supervivencia de plántulas maracuyá (*Passiflora edulis*).
- Evaluar la influencia del mecanismo antagónico y la concentración de conidios/mL de *Trichoderma sp.* en el crecimiento de plántulas de maracuyá (*Passiflora edulis*).

1.3. HIPOTESIS

Teniendo en cuenta que el planteamiento del problema identificó las variables, se plantea la siguiente hipótesis de investigación:

Ho: *Trichoderma sp.* no evidenciará su efecto antagónico contra *Fusarium oxysporum* y a la vez no promoverá el crecimiento de Maracuyá (*Passiflora edulis*).

Hi: *Trichoderma sp.* evidenciará su efecto antagónico contra *Fusarium oxysporum* y a la vez promoverá el crecimiento óptimo de maracuyá (*Passiflora edulis*).

1.4. Justificación e Importancia

1.4.1. Justificación de la investigación

En la actualidad, las exportaciones de maracuyá (*Passiflora edulis*) en el Perú ha crecido de manera significativa, con una demanda creciente y con un buen retorno de inversión a largo plazo. Es uno de los principales cultivos en auge en estos últimos tiempos, muy apreciado en los mercados estadounidenses y países bajos, por su sabor, propiedades nutricionales y medicinales. Pero, se ha visto afectado por hongos fitopatógenos como *Fusarium oxysporum*, causantes de la marchitez y pudrición de raíces, ocasionando la mortalidad de plántulas de maracuyá (*Passiflora edulis*), por tanto, resulta muy importante el disminuir la incidencia, severidad y mortalidad de la enfermedad (Mejía, 2018). Por ende, la presente investigación tiene la propuesta de combatir a *Fusarium oxysporum* mediante el uso de hongos antagónicos como *Trichoderma sp.*, que constituye una alternativa de solución de gran importancia por poseer muy buenas cualidades para el control de enfermedades causadas por patógenos fúngicos, también por estimular el crecimiento y desarrollo de las plantas; promoviendo una mayor ramificación de raíces y capacidad de absorción de nutrientes. Al mismo tiempo, disminuye el uso excesivo de productos químicos y el negativo impacto ambiental.

1.4.2. **Importancia de la investigación**

Este presente proyecto, pretende dar a conocer la importancia de los hongos antagonistas como *Trichoderma sp.* para el control biológico de hongos fitopatógenos como *Fusarium oxysporum*, mediante sus diferentes mecanismos de acción (competencia y micoparasitismo) y su promoción de crecimiento, mediante la ramificación de raíces y capacidad de absorción de nutrientes. Con ello, se busca reducir la tasa de incidencia, mortalidad y resistencia de la enfermedad causado por *Fusarium oxysporum*, para mejorar las plantaciones de maracuyá (*Passiflora edulis*) y al mismo tiempo estimular su crecimiento, debido a que los cultivos de maracuyá tienen un gran interés económico y un elevado crecimiento en exportaciones. Se propone a *Trichoderma sp.* como un excelente potencial biológico para ser considerado un bioproducto útil para el manejo ecológico de cultivos y disminuir el impacto ambiental.

1.4.3. **Limitaciones de trabajo:** la obtención de las cepas de *Trichoderma sp.* y el tiempo de incubación fue la limitación que se evidenció, teniendo en cuenta que tuvimos que ir a diferentes terrenos de cultivo para su aislamiento y mejorar la eficacia del procedimiento de aislamiento.

II. MARCO TEORICO

2.1. Antecedentes

Cubillos-Hinojosa, (2019), evaluaron el efecto de la cepa nativa TCN-014 y la cepa comercial TCC-005 sobre la germinación y el crecimiento del maracuyá, tomando inóculos de 10^4 , 10^6 y 10^8 conidias/mL por cada cepa. Teniendo como resultado, que la cepa nativa en concentraciones de 10^8 conidias/mL muestra mejores resultados frente a la cepa comercial como promotor de crecimiento vegetal, mostrando así, que tiene potencial para la elaboración de un bioproducto para el manejo ecológico del cultivo de maracuyá.

Ruiz-Cisneros, (2018), demostraron que las plantas inoculadas con *Trichoderma*, obtuvieron resultados significativos, promovieron el crecimiento de la planta (altura $\geq 13\%$), rendimiento (14%), frutos con mayor acidez titulable y menor contenido de SST; y los patógenos se redujeron al (23%). Por lo cual, las cepas de *Trichoderma* muestran potencial para mejorar la calidad del fruto.

Rodríguez, (2016), se enfocó en evaluar bajo condiciones de campo el efecto biocontrolador de dos inoculados comerciales, elaborados en base a varias especies de *Trichoderma* ((*T. harzianum* + *T. asperellum*) y (*T. viride*; *T. koningii*; *T. harzianum* + *T. polysporum*)) en plantas de cuatro meses de edad y con tres tratamientos (T1, T2 y T3). Dando como resultado positivo en el efecto antagónico de la mezcla (*T. viride*; *T. koningii*; *T. harzianum* y *T. polysporum*), mostrando control al avance del patógeno dentro de la planta, reduciendo notablemente la patogenicidad, teniendo un notable desarrollo radicular y biomasa en la zona de la raíz.

Así también, **Candelero, (2015)**, evaluó las cepas nativas de *Trichoderma sp.* extraídas de suelos agrícolas del estado de Yucatán (México), las cuales tienen capacidad promotora de crecimiento en plántulas de *Capsicum chinense* y efecto antagónico contra *Meloidogyne incognita*. Dos cepas mostraron los mejores efectos en la altura con un 47,62%, longitud de raíz del 29,48%, volumen radical

de 48,71% y 53,40% de biomasa seca total. El análisis estadístico ($p \leq 0,001$) de los filtrados causaron el 100% de mortalidad a las 24 y a las 48 h.

Asimismo, **Luna et al. (2018)**, evaluó el efecto antagónico de cinco especies nativas de *Trichoderma* como: *T. harzianum*, *T. simmonsii*, *T. virens* y especies comerciales en plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum L.*); inoculadas con 1×10^6 conidias ml⁻¹ y 18, 500 huevos de *M. incognita*. Obteniendo como resultado, que el producto comercial y las especies *T. virens* lograron disminuir hasta 22% la formación de agallas y 52.39% de inhibición de producción de formación de hembras por gramo de raíz. El control de estas especies contra el nematodo favoreció el mejor crecimiento vegetativo de las plantas.

De igual modo, **Llicahua et al. (2018)**, determinó el efecto antagonista “*in vitro*” de *Trichoderma sp.* frente a *Fusarium oxysporum* en cultivo de cebolla en los distritos de Santa Rita de Siguan y de Tiabaya. Realizando enfrentamientos duales y evaluando la competencia de espacio y nutrientes, capacidad antagónica y el porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PICR). Teniendo como resultado, un crecimiento radial de 54 mm, capacidad antagónica alta (grado 4) y un PICR de 97.4% altamente efectivo.

Por último, **Murillo, (2016)**, propone una alternativa en el manejo sanitario del cultivo de frutilla, usando una cepa nativa de *Trichoderma sp.* con capacidad antagónica a *Botrytis cinerea in vitro* y como promotor de crecimiento. En el cual, evaluó la sanidad y el rendimiento (kg/ha) del cultivo, obteniendo una óptima sanidad durante el mismo y en pos cosecha. Se comprobó una acción positiva del 95% en la aplicación de concentraciones de conidios/mL de *Trichoderma sp.* en el rendimiento y la recuperación de las plantas en situación de estrés

2.2. Marco conceptual

2.2.1. Maracuyá (*Passiflora edulis*)

El maracuyá (*Passiflora edulis*) es una fruta tropical de gran importancia económica y agrícola en el Perú. Nuestro país es uno de los principales productores de maracuyá en América Latina y ha tenido un crecimiento significativo en el 2023, se estimó que las exportaciones de maracuyá alcanzaron un aproximado de 70 millones USD y los productos exportados fueron jugos, concentrados y pulpas (Robles, 2010). También el maracuyá es denominado la fruta de la pasión y tiene forma ovalada, piel lisa y una coloración amarilla o púrpura, en su interior alberga semillas y crece de una planta enredadera (Julca, 2022). Cabe mencionar, que tiene muchos beneficios como: provitamina A, vitamina C y minerales beneficiosos como el potasio, fósforo y magnesio; de forma adicional en sus componentes se puede obtener fibra que ayuda a regular el tránsito intestinal; por lo cual, es de gran valor a nivel comercial y nutricional (Borrero & Silva, 2010)

Figura 1. Maracuyá (*Passiflora edulis*)



2.2.1.1 Clasificación Taxonómica

El origen de la familia de las pasifloras, se compone alrededor de unas 580 especies; la mayoría procede de las regiones tropicales de América, Brasil, Asia, Australia, África y las islas del Pacífico (Haro, 2020).

Tabla 1. Clasificación taxonómica de maracuyá (*Passiflora edulis*).

División	<i>Espermatofita</i>
Subdivisión	<i>Angiosperma</i>
Clase	<i>Dicotiledónea</i>
Subclase	<i>Arquiclamídea</i>
Orden	<i>Perietales</i>
Suborden	<i>Flacourtinae</i>
Familia	<i>Passifloraceae</i>
Genero	<i>Passiflora</i>
Especie	<i>Edulis</i>
Variedad	<i>Passiflora edulis sims</i> (maracuyá púrpura) <i>Passiflora edulis flavicarpa</i> (maracuyá amarillo).
Nombre Común	Maracuyá, parchita, fruta de la pasión, passionfruit (inglés).

Fuente: Cultivo de Maracuyá (Avila, 2012).

2.2.1.2. Morfología de Maracuyá (*Passiflora edulis*)

El género *Passiflora* se caracteriza por ser una planta trepadora (enredadera) que puede alcanzar grandes longitudes, semileñosa, sus zarcillos le permiten aferrarse a otras estructuras para trepar, sus raíces primarias y secundarias son fibras uniformes, su tallo es levemente angulado y encargado de la reserva de agua (Arias-Suárez, 2014). El punto de unión del tallo, hoja y diversas estructuras (hojas, yemas florales, yema vegetativa, zarcillo y estipulas) es por medio de los nudos, las hojas poseen una lámina foliar bien desarrollada, su flor presenta variadas formas, colores y su tamaño varía desde los 5cm hasta 10 cm. Su fruto tiene forma esférica u ovoide, con un diámetro alrededor de 6 cm, su peso oscila entre 100 g y 130 g (Haro, 2020).

2.2.1.3. Variedades de Maracuyá (*Passiflora edulis*)

- **Maracuyá (*Passiflora edulis*) amarillo**

La variedad flavicarpa amarillo, presenta frutos con diferentes formas (globosa u ovoide), esta variedad crece perfectamente en zonas muy bajas, es una enredadera leñosa que crece vigorosamente, las hojas poseen tres lóbulos en forma de corazón. La capa interior del fruto es blanca, dentro de la cáscara se hallan numerosas semillas de color

oscuro, recubiertas por sacos que contienen el jugo de color amarillo ácido, aromático y de sabor agradable; sus flores se abren al medio día y se cierran durante la noche (Julca Morales, 2022).

- **Maracuyá (*Pasiflora edulis sims*) Purpura**

La variedad púrpura también es trepadora, leñosa y de crecimiento rápido, posee hojas alternadas de 1 a 5cm de longitud, su zarcillo posee dos yemas, las primeras originan la flor y la segunda la rama. Las flores poseen cinco sépalos, cinco estambres, un estigma tripartido, una corona formada por cuatro o cinco filamentos blancos y coloración púrpura. Su fruto es ovoide y de color púrpura intenso cuando madura. La cáscara es quebradiza, lisa y brillante, en su interior contiene numerosas semillas de color negro, envueltas en una pulpa jugosa y aromática. Su producción es sexual por semilla y también tiene una reproducción asexual alternativa, por estaca o injerto (Otahola Gómez, 2010).

2.2.1.4. Propiedades y beneficios del Maracuyá (*Passiflora edulis*)

El maracuyá, también conocido como fruta de la pasión, es una fruta tropical que ofrece una serie de propiedades nutricionales y beneficios saludables para el organismo (Landázuri, 2021), como:

Tabla 2. Composición nutricional de Maracuyá por 100 g de pulpa.

PARAMETRO	CONTENIDO	PARAMETRO	CONTENIDO
Vitamina A (mg)	173	Magnesio (mg)	29
Vitamina E (α -tocoferol) (mg)	0.02	Hierro (mg)	1.7
Vitamina B1 (mg)	0.01	Fósforo (mg)	21
Vitamina B2 (mg)	0.17	Zinc (mg)	0.10
Vitamina B6 (mg)	0.1	Humedad (g)	84.9
Vitamina C (mg)	20	Proteína total (g)	1.5
Niacina (B3) (mg)	0.8	Grasa total (g)	0.5
Folatos totales (μ g)	14	Cenizas (g)	0.7
Sodio (mg)	28	Carbohidratos totales (g)	12.0
Potasio (mg)	348	Fibra dietética (g)	10.4
Calcio (mg)	9	Calorías (Kcal)	59

Fuente: Base de datos nutricional del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) (Landázuri, 2021).

2.2.1.5. Usos de Maracuyá (*Passiflora edulis*)

El maracuyá al consumirse como fruta tiene muchos beneficios, pero también los productos elaborados en la industria como: jugos, helados, postres, néctares, jaleas, pulpas, etc.; y son empacados al vacío, congelados, deshidratados. Su peculiar sabor lo hace un producto candidato a industrializar y comercializar, porque aporta de una forma positiva una dieta balanceada, tiene propiedades antibacterianas y antioxidantes, por otra parte, la cáscara de maracuyá se usa para equilibrar los niveles de insulina, las hojas de maracuyá se pueden utilizar para generar medicinas tradicionales de tipo empírico o infusiones que tienen propiedades medicinales y ansiolíticas. Asimismo, las semillas se usan para ser triturados como elementos dentro de la industria de la belleza como exfoliantes y también para extraer aceites esenciales (Ugaz Bustamante, 2022).

2.3.1. *Fusarium oxysporum*

Es un hongo saprofito y filamentoso, que se encuentra comúnmente en el suelo y en plantas infectadas, pueden crecer y sobrevivir durante largos períodos en la materia orgánica del suelo, también en la rizosfera de muchas especies de plantas. Este hongo es conocido por su capacidad patogénica, causando pudriciones en las coronas, yemas y raíces; daños al sistema vascular y también induciendo al marchitamiento; ocasionando daños severos en especies de plantas económicamente importantes, (Robles, 2010). La diseminación del fitopatógeno ocurre a través de la siembra de materiales vegetales infectados, movimiento de suelo, hojas contaminadas y raíces que crecen alrededor de plantas enfermas, aunque el viento y el agua de escorrentía o riego son los principales diseminadores entre áreas cercanas. (Méndez, 2019).

Figura 2. *Fusarium oxysporum*.



2.3.1.1. Clasificación Taxonómica

Dada la importancia económica y agrícola del *Fusarium oxysporum*, la clasificación taxonómica, nos ayuda a comprender mejor la biología y genética del hongo, así como para desarrollar métodos efectivos de control. Dentro de la especie *Fusarium oxysporum*, hay diversas formas especializadas, cada forma especializada está adaptada para infectar a un tipo específico de planta (Bolaños, 2020).

Tabla 3. *Clasificación taxonómica de Fusarium oxysporum.*

Phylum	<i>Ascomycota</i>
Clase	<i>Sordariomycetes</i>
Orden	<i>Hyprocreales</i>
Familia	<i>Nectriaceae</i>
Género	<i>Fusarium</i>
Especie	<i>Fusarium oxysporum</i>

Fuente: Dirección general de sanidad Vegetal (Bolaños, 2020)

2.3.1.2. Morfología de *Fusarium oxysporum*

Fusarium oxysporum es un hongo que posee una morfología característica, su cuerpo celular está compuesto por una estructura filamentosa llamada

micelio, puede crecer en diferentes formas, como hifas individuales o en forma de colonias, estas estructuras son las encargadas de permitir el crecimiento y desarrollo del hongo, adaptándose a las condiciones del entorno en el que se encuentra y también el color del micelio puede variar dependiendo de la cepa (Retana, 2018).

Las hifas individuales, son filamentos delgados y alargados que se ramifican y extienden por el sustrato donde crece el hongo; son vitales para la absorción de nutrientes y agua del entorno. La otra forma en la que se puede encontrar el micelio es en forma de colonias, estas están compuestas por múltiples hifas que se agrupan y entrelazan entre sí, formando una red tridimensional, permitiendo al hongo ocupar una mayor superficie y optimizar la obtención de nutrientes. El color de micelio del *Fusarium oxysporum* puede variar dependiendo de la cepa del hongo, algunas cepas presentan un micelio de color blanco o crema, mientras que otras pueden presentar tonalidades más oscuras, como amarillo/amarillento o incluso tonos rosados (Morales Palacio, 2014).

2.3.1.3. Efectos de *Fusarium oxysporum*

Fusarium oxysporum causa enfermedades en una amplia gama de plantas, incluyendo cultivos de gran importancia económica como: tomate, plátano, sandía, algodón, etc. Esta enfermedad es conocida como "marchitez vascular" y puede llevar hasta la muerte de la planta (López-Zapata, 2019).

- **Pérdida de vitalidad en los cultivos**

Este hongo afecta el sistema vascular de la planta, impidiendo la correcta circulación de agua y nutrientes esenciales. Como resultado, las plantas infectadas presentan una disminución en su vitalidad, lo que produce un crecimiento más lento y una menor producción de frutos o cosechas.

- **Amarillamiento y marchitez de las hojas**

Uno de los primeros síntomas visibles de la infección por *Fusarium oxysporum* es el amarillamiento y marchitez de las hojas. A medida que la enfermedad avanza, las hojas adquieren un tono amarillento y se marchitan, lo que indica que la planta está experimentando una falta de agua y nutrientes debido al daño en su sistema vascular. Este síntoma puede observarse en diferentes etapas de la enfermedad y ayuda a identificar la presencia del *Fusarium oxysporum* en las plantas afectadas (Elliott, 2010).

- **Retraso en el crecimiento y desarrollo de las plantas**

Fusarium oxysporum afecta negativamente el crecimiento y desarrollo de las plantas al limitar su capacidad para absorber agua y nutrientes. Como resultado, las plantas infectadas pueden experimentar un retraso significativo en su crecimiento, presentando un tamaño más pequeño en comparación con las plantas sanas. Además, la presencia de la enfermedad puede afectar la producción de flores, frutos y semillas, lo que disminuye el rendimiento de los cultivos afectados (De Granada, 2001).

- **Mayor susceptibilidad a enfermedades secundarias**

Las plantas infectadas por *Fusarium oxysporum* se vuelven más susceptibles a enfermedades secundarias. La debilitación del sistema inmunológico de la planta debido a la disrupción en su sistema vascular facilita la entrada y proliferación de otros patógenos, lo que puede agravar aún más el daño en las plantas. Esta mayor vulnerabilidad a enfermedades secundarias puede aumentar la propagación y el impacto de las enfermedades en los cultivos afectados (Elliott, 2010).

- **Muerte de las plantas:**

La interrupción del suministro de agua y nutrientes debido al daño en el sistema vascular causado por *Fusarium oxysporum*, ocasiona un estrés excesivo en las plantas, lo que eventualmente resulta en

su muerte. Esto tiene un impacto significativo en la agricultura, ya que los cultivos importantes pueden sufrir grandes pérdidas económicas y comprometer la seguridad alimentaria (Vásquez-Ramírez, 2017).

2.3.1.4. Mecanismos de infección

Los Mecanismos de infección de *Fusarium oxysporum*, se lleva a cabo a través de diferentes vías y una vez infectado la planta, se multiplica y se disemina a través del sistema vascular. Obstruyendo los vasos conductores de agua y nutrientes, ocasionando un deterioro en el transporte de estos elementos esenciales, afectando el crecimiento y desarrollo normal de la planta (Navarro Velasco, 2013). A continuación, se presentan los principales mecanismos de infección:

- **Infección a través de las raíces**

Fusarium oxysporum penetra la planta a través de las raíces, mediante lesiones o heridas existentes en ellas. Colonizando el suelo alrededor de las raíces y penetrando en ellas, llevando a cabo, la obstrucción de los vasos conductores de la planta (Navarro Velasco, 2013).

- **Infección a través de heridas en los tallos**

Cuando ocurren cortes o daños en los tallos, el hongo puede ingresar y establecerse en el interior de la planta, propagándose por los vasos conductores de agua y nutrientes. Por lo cual, *Fusarium oxysporum* es conocido por su habilidad para colonizar los vasos conductores de las plantas, afectando su sistema vascular y es otra forma de infección (Navarro Velasco, 2013).

- **Producción de estructuras especializadas**

Fusarium oxysporum produce estructuras especializadas llamadas conidios y clamidosporas que pueden dispersarse en el suelo y agua circundantes, contribuyendo así a la propagación y la infección de

nuevas plantas. Además, las condiciones ambientales, como la humedad del suelo y la temperatura, influyen en la eficacia de los mecanismos de infección del hongo (Avendaño, 2006).

– **Producción de toxinas:**

Fusarium oxysporum es capaz de producir toxinas que pueden afectar negativamente las células vegetales y agilizar el desarrollo de los síntomas de la enfermedad. Estas toxinas pueden tener efectos directos en la fisiología de la planta, debilitándola y facilitando la colonización por el hongo. Las enzimas secretadas, como: proteasas y quitinasas, descomponen los componentes celulares de las plantas y facilitan la penetración del hongo en las células vegetales (Avendaño, 2006).

2.3.1.5. Importancia económica

La marchitez vascular causada por *Fusarium oxysporum* es de importancia económica porque radica en su impacto negativo en la agricultura, debido a las pérdidas de cultivos, disminución de la productividad y su elevado gasto en medidas de control, como el uso de fungicidas e implementación de prácticas de manejo integrado de plagas. Afectando al mismo tiempo, el rendimiento de los cultivos, disminuyendo la rentabilidad y afectando la economía del sector agrícola, generando menos ingresos a los agricultores y productores. También impactos negativos en la seguridad alimentaria, ya que reduce la calidad de los alimentos producidos y esto da como resultado el aumento en los precios de los productos afectados y en la alteración de la cadena de suministro alimentario (Torres, 2000).

2.4.1. *Trichoderma sp.*

La especie del género *Trichoderma sp.* pertenece a la familia *Hypocreaceae*, se caracteriza por ser saprófitos, filamentosos y colonizadores de diversos hábitats. Obtienen sus nutrientes al descomponer material orgánico en descomposición, son importantes en el ciclo de nutrientes en los ecosistemas, tienen una alta capacidad enzimática para degradar sustratos, un metabolismo versátil y resistencia a inhibidores

microbianos. La mayoría de las colonias tienen un color blanco, que se tornan a verde oscuro o amarillento con el tiempo, presenta esporulación densa, su micelio es ralo y los conidióforos son ramificados. Las esporas asexuales o conidios haploides son de gran importancia para la identificación taxonómica a nivel de especies, porque aseguran las generaciones del hongo durante su período vegetativo, su pared está compuesta por quitina y glucanos. También presentan clamidosporas, los cuales, son tolerantes a condiciones adversas y permiten que el hongo perdure a través del tiempo (Brotman, 2010).

Figura 3. *Trichoderma sp.*



2.4.1.1. Clasificación taxonómica

Se estima que existen más de 2.076 especies de *Trichoderma sp.* reportadas, según la base de datos NCBI, cada especie presenta distintas características, adaptaciones y son ampliamente estudiadas por su capacidad de producir enzimas con actividad antifúngica, el cual, lo convierte en un excelente agente de control biológico. Además, hay ciertas especies que promueven el crecimiento de las plantas, mejoran la disponibilidad de nutrientes y las protege de enfermedades. Entre ellas se encuentran *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* (Caiza Sango, 2017).

Trichoderma sp., se clasifica taxonómicamente de la siguiente manera (NCBI, 2010):

Tabla 4. Clasificación Taxonómica de *Trichoderma sp.*

Reino	<i>Fungi</i>
División	<i>Ascomycota</i>
Subdivisión:	<i>Pezizomycotina</i>
Clase:	<i>Sordariomycetes</i>
Orden:	<i>Hyprocreales</i>
Familia:	<i>Hypocreaceae</i>
Género:	<i>Trichoderma</i>

Fuente: Base de datos del NCBI (Umaña-Castro, 2019)

2.4.1.2. Morfología de *Trichoderma sp.*

La morfología de *Trichoderma sp.* puede variar entre las diferentes especies y etapas de desarrollo, también puede ser influenciada por factores como: medio de cultivo, la temperatura y la humedad. Además, las características específicas pueden variar entre las distintas especies dentro del género (García-Núñez, 2017). A continuación, se describen algunas características de la morfología de *Trichoderma sp.*:

- **Micelio:** *Trichoderma sp.* crece en forma de micelio, que es una red de hilos delgados y ramificados llamados hifas, esta estructura vegetativa es responsable de la absorción de nutrientes. Está dividido por tabiques llamados septos, estos septos permiten el crecimiento y desarrollo del hongo, también, se ramifica ampliamente, visualizándose una apariencia frondosa y extendida. Estas ramificaciones aumentan la superficie de absorción de nutrientes y facilitan la colonización del sustrato (Samaniego-Fernández, 2018).

- **Color:** El color del micelio puede variar entre las especies, pero comúnmente es blanco, verde o amarillo. En medios de cultivo tiene un aspecto algodonoso o lanoso.
- **Formación de conidios:** *Trichoderma sp.* produce esporas asexuales llamadas conidios, estos son unicelulares, en forma de bastón o esféricos, y se producen en cadenas a lo largo de los conidióforos. Estas esporas asexuales son importantes para la reproducción y la dispersión del hongo, característicos de este género (Koyoc, 2020).
- **Conidióforos:** Los conidios de *Trichoderma sp.* se agrupan en estructuras llamadas conidióforos. Estos conidióforos pueden presentar diferentes formas y tamaños dependiendo de la especie de *Trichoderma sp.* Los conidióforos son esenciales para la dispersión de los conidios y la reproducción del hongo (MENA-BAHENA, 2023).

2.4.1.3. Mecanismos de acción de *Trichoderma sp.*

- **Competencia:** Es un mecanismo antagónico muy importante y se define como el comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento (sustrato, nutrientes), siempre y cuando la utilización de este por uno de los organismos reduzca la cantidad o espacio disponible para los demás. Este tipo de antagonismo se ve favorecido por las características del agente control biológico como plasticidad ecológica, velocidad de crecimiento y desarrollo, y por otro lado por factores externos como tipo de suelo, pH, temperatura, humedad, entre otros (Chavez, 2006).
- **Micoparasitismo:** *Trichoderma sp.* es conocido por su capacidad de actuar como micoparásito, ya que, puede parasitar y atacar a otros hongos. Mediante su capacidad de enrollamiento, formando una estructura en espiral, que eventualmente permiten la penetración y la

colonización, produciendo y secretando al mismo tiempo una variedad de enzimas, como: quitinasas, proteasas y glucanasas, que descomponen los componentes de las paredes celulares de los hongos hospedantes. Por esta razón, *Trichoderma sp.* es utilizado en la agricultura como agente de control biológico para combatir enfermedades fúngicas en plantas (Infante D. M., 2009).

- **Actividad lítica:** Es la producción de enzimas líticas extracelulares, fundamentalmente quitinasas, glucanasas y proteasas; que degradan las paredes celulares del hospedante y posibilitan la penetración de las hifas del antagonista. Por los puntos de contacto donde se produce la lisis, penetra la hifa del micoparásito del hongo hospedante y es la actividad enzimática más estudiada en *Trichoderma sp.* por su mecanismo de micoparasitismo (Benítez, 2004).

2.4.1.4. Importancia

Trichoderma sp. es ampliamente estudiado y utilizado en la agricultura, por su capacidad de combatir patógenos como: hongos y bacterias, mediante sus mecanismos de acción, produciendo enzimas y metabolitos antifúngicos. De esta manera protege las plantas de enfermedades y reduce la necesidad del uso pesticidas. Además, su acción biocontroladora, ha demostrado beneficiar el crecimiento y el desarrollo de las plantas; ya que, estimula el sistema de defensa de las plantas, promueve la absorción de nutrientes y regula el equilibrio hormonal, lo que resulta un mejor rendimiento de los cultivos. También tiene la capacidad de solubilizar nutrientes como el fósforo, haciendo que estén más disponibles para las plantas, esto contribuye a la biofertilización y ayuda a mejorar la eficiencia de los fertilizantes.

La importancia de *Trichoderma sp.*, es su capacidad de desempeñar roles beneficiosos en la agricultura y el medio ambiente, su uso estratégico puede contribuir a prácticas agrícolas más sostenibles y a la mejora de la salud de los ecosistemas (Hernández-Melchor, *Trichoderma: importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial.*, 2019).

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. Lugar de ejecución

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Investigación de Biotecnología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional del Santa, en el distrito de Nuevo Chimbote, departamento de Ancash, Perú.

3.2. Materiales

3.2.1. Material Biológico

El material que se utilizó en el presente trabajo de investigación, fueron plántulas de Maracuyá (*Passiflora edulis*), cepas aisladas de *Trichoderma sp.* y una cepa *Fusarium oxysporum*, obtenido a partir, de la recolección de muestras de suelo y plantas enfermas, de los terrenos de cultivo “La Carbonera” y de la "Chacra Lorenzo Alejos”, luego trasladados al laboratorio de Investigación de biotecnología de la facultad de Ciencias dela Universidad Nacional Del Santa.

Figura 4. *Plántulas de Maracuyá (Passiflora edulis)*



Figura 5. Ceba de *Trichoderma sp.*



Figura 6. Ceba de *Fusarium oxysporum*.



3.3. Procedimiento

3.3.1. Recolección de muestras

Para la recolección de muestras de suelo, se siguió el procedimiento descrito por (Borrero & Silva, 2010). Se extrajeron 100 gramos de suelo agrícola a una profundidad de 15 cm. Las muestras se tomaron de dos ubicaciones diferentes: Terreno "La Carbonera" y la "Chacra Lorenzo Alejos" ubicado en la pampa de Toro, Ancash. Teniendo en cuenta, que las muestras tomadas, fueron de suelo agrícola donde se cultiva Maracuyá (*Passiflora edulis*) y cultivos frutales.

Figura 7. *Recolección de muestras.*



3.3.2. Aislamiento a partir de suelo de *Trichoderma sp.*

De cada 100 g de suelo agrícola extraído y transportado al laboratorio de investigación de Biotecnología, se procedió a sacar 10 g de suelo, después se colocó en un matraz Erlenmeyer con 90 mL de agua destilada y se procedió agitar por 20 minutos (Borrero & Silva, 2010). De la solución del matraz se extrajo 1 mL y se colocó en un tubo de ensayo que contenía 9 ml de agua destilada, luego se procedió agitar por un minuto y del primer tubo, se trasladó 1mL a los demás tubos de ensayo de forma secuencial, llevando a cabo así el método de diluciones de 10^{-6} (Camargo-Cepeda, 2014). Usando la cámara de flujo laminar y en condiciones asépticas, del tubo de la dilución 10-6, se extrajo un 1 mL de muestra y se distribuyó en una placa Petri con medio papa-dextrosa-agar (PDA), luego se procedió a incubar por 5 días a una temperatura de 28°C, con un monitoreo constante (Meza, 2008),

Figura 8. *Dilución, siembra y aislamiento de Trichoderma sp.*



3.3.3. Identificación morfológica de *Trichoderma sp.*

Para la identificación a nivel género se observó las características macroscópicas como el color blanco verdoso que se torna verde oliva con el tiempo, forma de anillos concéntricos y crecimiento de micelio, para ello se dejó crecer en agar papa dextrosa (PDA) durante 10 días (Morales, 2020).

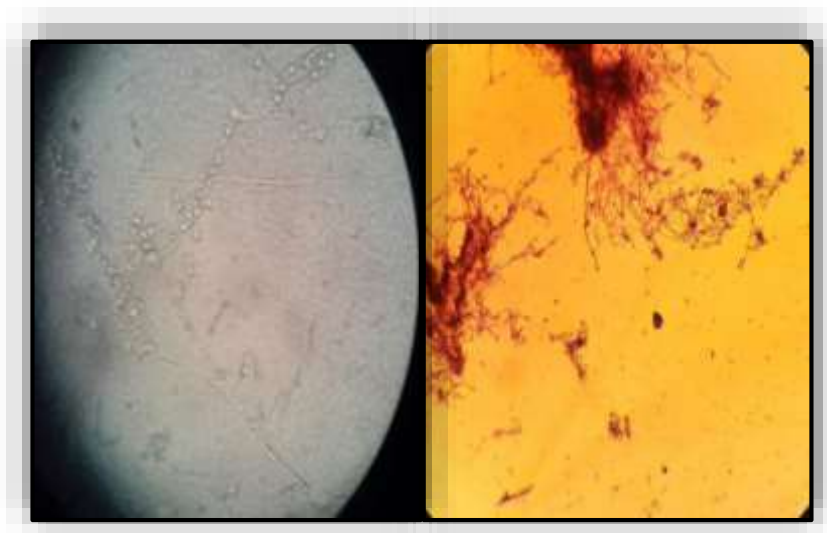
Figura 9. *Características macroscópicas de Trichoderma sp.*



Descripción: Características macroscópicas de *Trichoderma sp.*: color blanco verdoso que se torna verde oliva con el tiempo, anillos concéntricos y crecimiento de micelio algodonoso (Benítez, 2004).

Luego se procedió a evaluar las características micro-morfológicas de *Trichoderma sp.* como: forma de los conidios y presencia/ausencia de clamidosporas. Estas características macro y microscópicas, fueron comparadas con lo descrito por Bisset (1991) (Suleiman, 2019).

Figura 10. *Hifas septadas, conidióforos y conidios de Trichoderma sp.*



Descripción: Observación en fresco y en coloración de las hifas septadas, conidióforos y conidios de *Trichoderma sp.* (Zhang, 2005).

3.3.4. Aislamiento e Identificación Morfológica de *Fusarium oxysporum*

Para el aislamiento de *Fusarium oxysporum*, se recolecto muestras de plantas infectadas con síntomas propios de *Fusarium oxysporum*, luego fueron transportadas al laboratorio de investigación de Biotecnología, donde las raíces que mostraron pudrición, se lavaron y cortaron en segmentos de 5 mm. Posteriormente, se desinfectaron con etanol al 70% durante 1 minuto, con hipoclorito de sodio al 1% durante 2 minutos, se lavaron tres veces con agua destilada y se secaron con papel absorbente estéril. Se sembró cinco segmentos vegetales desinfectados en medio de papa dextrosa agar (PDA) y se incubo a 25° C por 7 días.

Figura 11. Selección de material vegetal infectado con *Fusarium oxysporum* y aislamiento



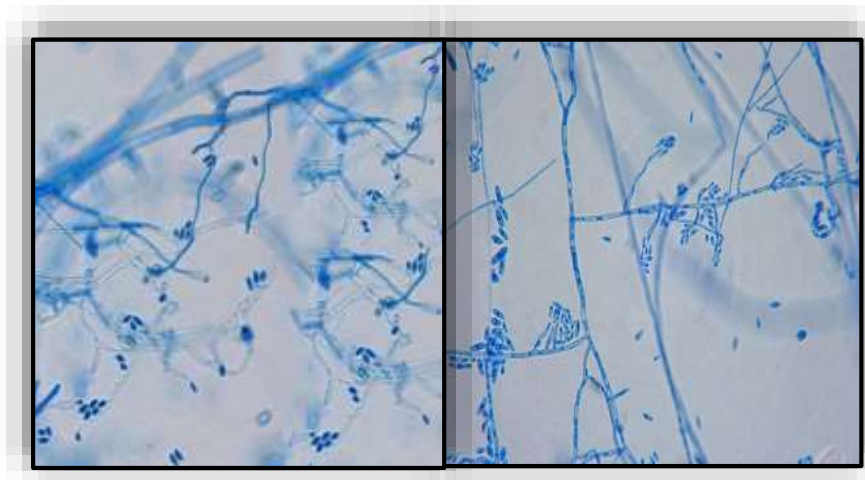
Posteriormente, se seleccionó la cepa que tenía una apariencia blanquecina, algodonosa y con pigmentación rosa. Para observar en el microscopio sus estructuras, como: conidias, conidióforos e hifas, característico del género *Fusarium oxysporum*. Los cuales, después de su identificación, fueron aislados en medio PDA para obtener cultivos puros, incubándose a 25° C por 7 días (Henao-Henao, 2018).

Figura 12. Características morfológicas de *Fusarium oxysporum*.



Descripción: Características macroscópicas de *Fusarium oxysporum*.: color blanco con tonalidades rosáceas y micelio algodonoso que cubre la superficie del medio de cultivo de forma uniforme (Leyva-Mir, 2018).

Figura 13. *Fiálides, macroconidios y microconidios de Fusarium oxysporum.*



Descripción: Coloración con azul de metileno para la identificación microscópica de las estructuras de *Fusarium oxysporum* como: Fiálides, macroconidios y microconidios (Vásquez-Ramírez, 2017).

3.3.5. EVALUACIÓN ANTAGÓNICA *in vitro* DE *Trichoderma sp.*

Para conocer su capacidad inhibitoria de las cepas aisladas de *Trichoderma sp.* sobre *Fusarium oxysporum*, se realizó pruebas de competencia y Micoparasitismo a nivel *in vitro*, empleando el protocolo descrito por Ibarra-Medina et al. (2010) con ligeras modificaciones (López-López, 2023).

3.3.5.1. Mecanismo de Acción por Competencia:

Las pruebas de enfrentamiento por competencia se realizaron con la técnica de cultivo dual en placas con Agar Papa Dextrosa (PDA). En cada placa Petri, se colocó un disco de agar de 5mm con micelio de *Fusarium oxysporum* y en el extremo opuesto un disco de 5mm con micelio de *Trichoderma sp.* (Fernandez & Suárez, 2009), a una distancia de 6.5 cm entre ellos, Las placas fueron incubadas durante 10 días, durante los cuales se realizaron mediciones del crecimiento radial del micelio de ambos hongos cada 24 horas.

Las mediciones realizadas, fueron las siguientes:

- Radio de Crecimiento del Patógeno.
- Radio de Crecimiento del Antagonista.
- Porcentaje de Inhibición de Crecimiento Radial.

El radio de crecimiento de ambas colonias, se midió en cm y se evaluó el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (ICM), mediante la siguiente fórmula:

$$\%ICM = \frac{CREC. DE LA CEPA ANTAGONISTA (CM)}{6.5} * 100$$

Donde:

- **CREC:** Crecimiento radial de la cepa antagonista (cm).
- **6.5:** Distancia en cm entre los puntos de siembra de *Trichoderma sp.* y *Fusarium oxysporum*.

Figura 14. Mecanismo de acción por competencia de *Trichoderma sp.*



Descripción: *Trichoderma sp.* de una manera eficiente utiliza todos los nutrientes disponibles en el medio y deja menos nutrientes disponibles para *Fusarium oxysporum*, limitando su capacidad de crecimiento y reproducción (Infante, Martínez, González, & Reyes, 2009).

3.3.5.2. Mecanismo de Acción por Micoparasitismo:

La capacidad antagónica de los aislamientos de *Trichoderma sp.*, se comprobó mediante el grado de micoparasitismo, en el cual usamos la tabla de la “Escala de Bell” (Infante, Martínez, González, & Reyes, 2009) para su evaluación.

Tabla 5. Escala de evaluación antagónica de *Trichoderma sp.* sobre *Fusarium oxysporum*, según la “Escala de Bell” (Miranda, 2022).

GRADO	CAPACIDAD ANTAGONICA	POTENCIAL BIOCONTROLADOR
5	<i>Trichoderma sp.</i> coloniza completamente al patógeno, cubre totalmente la superficie del medio y esporula sobre ella.	EXCELENTE
4	<i>Trichoderma sp.</i> coloniza completamente al patógeno, cubre totalmente la superficie del medio y no esporula sobre ella.	MUY BUENO
3	<i>Trichoderma sp.</i> coloniza las tres cuartas partes de la superficie del medio, limitando el crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> .	BUENO
2	<i>Trichoderma sp.</i> coloniza la mitad de superficie del medio, limitando el crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> .	REGULAR
1	<i>Trichoderma sp.</i> coloniza la cuarta parte de la superficie del medio, limitando el crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> .	DEFICIENTE
0	<i>Trichoderma sp.</i> y <i>Fusarium oxysporum</i> colonizan la mitad de la superficie y ninguno parece dominar al otro.	MALO

Se usó cultivos puros de *Trichoderma sp.* y *Fusarium oxysporum*, se procedió a cortar discos de micelio de 5mm de diámetro y se sembró a los extremos de las placas con Agar Papa Dextrosa (PDA), a una distancia de 6.5 cm. Posteriormente, se incubó a 28 °C durante 11 días y se tomó lecturas cada 24 horas, hasta el primer contacto entre las hifas del antagonista y el Fito patógeno. Este tipo de interacción, es un mecanismo de acción llamado “Micoparasitismo”, donde las hifas del antagonista se adhieren, enrollan y penetran las hifas del hongo con el que se le coloca a competir, causando la colonización del hongo Fitopatógeno (Infante D. M., 2009).

Se evaluó y se observó:

- Invasión del antagonista según la “Escala de Bell” (observación macroscópica).
- Interacción de hifas de hongo antagonista y Fito patógeno (observación microscópica).

Figura 15. *Mecanismo de acción por micoparasitismo de Trichoderma sp.*



3.3.6. EVALUACIÓN ANTAGÓNICA *in vivo* DE *Trichoderma sp.*

Con el fin de evaluar la capacidad inhibitoria de *Trichoderma sp.* contra *Fusarium oxysporum*, se realizó un ensayo *in vivo* en plántulas de Maracuyá (*Passiflora edulis*), donde se usó los conidios de las cepas que presentaron mayor y menor actividad antagónica *in vitro*.

- Se procedió a cultivar las cepas de *Trichoderma sp.* que demostraron mayor y menor actividad antagónica *in vitro* en medio PDA a 28 °C. Posteriormente para la suspensión de conidios, se fue añadiendo agua estéril en el cultivo, para proceder a raspar la superficie con una varilla de vidrio para la recuperación de los conidios. Seguido de esto, se filtró con una fibra de poliéster (Gasas Quirúrgicas) para eliminar restos de micelio, recuperándose en un envase de vidrio previamente esterilizado durante 30 minutos a 121 °C. Los conidios se contabilizaron en cámara Neubauer y se mantuvieron a 4 °C hasta su uso (Covacevich, 2014). El hongo

Fitopatógeno *Fusarium oxysporum* también se cultivó en medio PDA, a 28 °C por 8 días.

Figura 16. Obtención de conidios de *Trichoderma sp.*



- En el ensayo *in vivo* en plántulas de Maracuyá se siguió el protocolo descrito por (López-López, 2023), con algunas modificaciones y se contó, con 3 controles: plántulas sumergidas con conidios de *Trichoderma sp.*, otra con *Fusarium oxysporum* y por ultimo con agua destilada. Se procedió, hacer lesiones leves a las raíces de las plántulas de Maracuyá (*Passiflora edulis*), las cuales, fueron inoculadas por inmersión una suspensión de 1×10^6 esporas/ ml^{-1} de *Fusarium oxysporum* durante 30 minutos (Leyva-Mir, 2018). Luego cada plántula fue colocada en bolsas de polietileno con tierra de cultivo previamente esterilizado.
- Después de 48 horas de haber inoculado los conidios del patógeno, se realizó la aplicación de una suspensión de 10^6 y 10^8 conidios/ml de *Trichoderma sp.* a la tierra de cultivo. Esta concentración de conidios se obtuvo utilizando la cámara de Neubauer y la siguiente formula:

$$\text{Concentracion (conidios/ml)} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de conidios}}{\text{N}^\circ \text{ de cuadrantes}} * \text{Factor de dilución}$$

- Luego de ser inoculado el patógeno y el antagonista, cada semana se realizó los registros de: Plántulas sana, Plántulas con incidencia de enfermedad y Plántulas muerta.

Figura 17. Evaluación antagónica “in vivo” de *Trichoderma sp.*



3.3.7. EVALUACIÓN DE *Trichoderma sp.* COMO PROMOTOR DE CRECIMIENTO

Para la evaluación de la acción promotora de crecimiento de *Trichoderma sp.* en plántulas de maracuyá, se inoculó concentraciones de 10^8 y 10^{10} conidios/mL, utilizando dos cepas de *Trichoderma sp.*, las que tuvieron mayor y menor respuesta antagónica en las pruebas *in vivo* e *in vitro*, asociados a su porcentaje de inhibición de crecimiento micelial (%ICM), para establecer un punto óptimo de estudio. La variable respuesta para los ensayos fue en función al número de hojas, altura y longitud de raíz, según lo descrito en el protocolo de Lara (2014) con algunas modificaciones. Se procedió a sumergir las raíces de las plántulas de Maracuyá con las concentraciones de 10^8 y 10^{10} conidios/mL durante 15 minutos, posteriormente se colocó en bolsas de polietileno con 2 kg de suelo agrícola esterilizado y previo a la siembra, se colocó 10 mL de las diferentes concentraciones de *Trichoderma sp.* (10^8 y 10^{10} esporas/ml). Luego, se contabilizará un total de 3 aplicaciones durante la evaluación: al inicio, a los 30 y 60 días después de la siembra. La toma de datos fue quincenal y se evaluó: Numero de hojas, Altura de la plántula y longitud de la raíz. Se contará con un control de plántula + agua y con una cantidad triplicada de repeticiones para minimizar los errores experimentales.

Figura 18. *Trichoderma sp.* como promotor de crecimiento en plántulas de *Maracuyá*.



3.3.8. DISEÑO EXPERIMENTAL

La fase experimental se estructuró en dos secciones distintas, (1) en la primera fase se investigó la capacidad antagonista de *Trichoderma sp.* contra *Fusarium oxysporum in vitro* e *in vivo*, estudiando dos mecanismos de acción: competencia de sustrato y micoparasitismo, los resultados de estas evaluaciones se presentan en las Tablas 6, 7 y 8, que muestran las medidas del crecimiento radial y las interacciones entre los hongos. (2) La segunda etapa abarcó el estudio de *Trichoderma sp.* como promotor de crecimiento de maracuyá (*Passiflora edulis*), realizando una optimización estadística por superficie de respuesta (Tabla 9 y 10). Para garantizar la validez y precisión de los resultados, se seleccionó un número adecuado de repeticiones en cada experimento, lo que permite minimizar el efecto del error experimental y obtener conclusiones robustas.

Los resultados obtenidos de los ensayos experimentales se sometieron a análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias por el método de Tukey ($p \leq 0.05$), el diseño factorial completo será analizado mediante la Metodología de Superficie de Respuesta (MSR) en software STATISTICA 10.

En los resultados de la acción promotora de crecimiento de *Trichoderma sp.* en plántulas de maracuyá (*Passiflora edulis*), se aplicó un diseño factorial completo, debido a que con este enfoque nos permitió evaluar de manera integral tanto la capacidad antagónica como el impacto en el crecimiento, proporcionando una visión completa del rendimiento de las cepas de *Trichoderma sp.*

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Aislamiento de microorganismos

4.1.1. Aislamiento e Identificación de *Trichoderma sp.*






Se aisló 10 cepas de *Trichoderma sp.*, los cuales, macroscópicamente presentaron una coloración verdosa con moteado blanco en la parte superior, anillos concéntricos característicos del hongo biocontrolador y un crecimiento rápido. En las características microscópicas se observó: micelio hialino, conidióforos ramificados y conidios unicelulares esféricos. Según bibliografía, hay una gran variabilidad de características morfológicas dentro del género *Trichoderma sp.* y varían según la especie. Por lo cual, las características morfológicas son útiles para la identificación de especies de *Trichoderma sp.*, las cuales, son importantes para su uso en el control biológico de patógenos y promueven el crecimiento de plántulas (Cubillos, 2014).

Luego, de identificar las características morfológicas de las cepas de *Trichoderma sp.* aislados, fueron nombrados de la siguiente manera:

Tabla 6. Descripción de los aislamientos de *Trichoderma sp.*

<i>Trichoderma sp.</i> (Tx.)	Cultivos	Descripción	cepas de Tx.
1	Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>)	Suelo	TPS1
2	Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>)	Suelo	TPS2
3	Uva (<i>Vitis vinífera</i>)	Suelo	TVS3
4	Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>)	Suelo	TPS4
5	Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>)	Raíz	TPR5
6	Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>)	Raíz	TPR6
7	Granada (<i>Punica Granatum</i>)	Raíz	TPR7
8	Frutales	Raíz	TFR8
9	Donación de Agrícola	Laboratorio	TDL9
10	Donación de Agrícola	Laboratorio	TDL10

Tabla 7. Codificación de los aislamientos de *Trichoderma* sp.

<p>Id. Cepa: TPR5</p> 	<p>Id. Cepa: TPR7</p> 
<p>Id. Cepa: TFR8</p> 	<p>Id. Cepa: TDL9</p> 
<p>Id. Cepa: TDL10</p> 	

4.1.2. Aislamiento e Identificación de *Fusarium oxysporum*

Se obtuvo la cepa de *Fusarium Oxysporum* a partir de muestras de tejidos infectados, como: raíces y tallos. Las características morfológicas macroscópicas obtenidas fueron las siguientes: aspecto algodonoso, micelio aéreo de color blanco que se tornó a color rosácea/púrpura y crecimiento rápido. Las características microscópicas fueron: la presencia macroconidios en forma de luna creciente, microconidios pequeños y en forma ovalada, conidióforos ramificados, monofiálides simples y ramificados. Lo observado en la cepa de *Fusarium Oxysporum*, coincide con lo reportado en la literatura y destaca que las características morfológicas pueden variar según la fase de desarrollo, también que es importante para comprender su ciclo de vida y patogenicidad (Retana, 2018).

Figura 19. Aislamiento de *Fusarium oxysporum*.



4.2. Evaluación antagónica *in vitro*

4.2.1. Mecanismo por competencia

Los ensayos se desarrollaron en cultivos duales, con *Trichoderma sp.* y *Fusarium oxysporum* confrontados; y su evaluación antagónica se realizó mediante los valores reportados en la Tabla 8. En el cual, se mostró una diferencia significativa de $p < 0.05$, debido a que las cepas de *Trichoderma sp.* presentaron un mayor crecimiento radial, en torno a **7.8 cm** frente al crecimiento de *Fusarium oxysporum*, que fue de **2.8 cm** en la placa Petri (Tabla 9).

Tabla 8. Valores de crecimiento micelial de *Trichoderma sp.* vs *Fusarium oxysporum*.

	DÍA 3	DÍA 4	DÍA 5	DÍA 6	DÍA 7	DÍA 8	DÍA 9	DÍA 10	DÍA 11
TPS1 vs F	2.0cm- 1.2cm	5.4cm- 2.2cm	6.7cm- 2.6cm	6.7cm- 2.5cm	7.4cm- 2.4cm	7.5cm- 2.5cm	7.7cm- 2.6cm	7.8cm- 2.6cm	7.8cm- 2.6cm
TPS2 vs F	1.9cm- 1.5cm	5.3cm- 2.5cm	6.1cm- 2.7cm	6.3cm- 2.6cm	6.5cm- 2.6cm	6.9cm- 2.6cm	7.3cm- 2.7cm	7.3cm- 2.7cm	7.3cm- 2.7cm
TVS3 vs F	1.3cm- 1.4cm	4.9cm- 2.8cm	6.2cm- 3.2cm	6.6cm- 3.2cm	7.0cm- 3.2cm	7.0cm- 3.2cm	7.0cm- 3.3cm	7.2cm- 3.3cm	7.2cm- 3.3cm
TPS4vs F	1.9cm- 1.4cm	5.3cm- 2.2cm	6.5cm- 2.4cm	6.6cm- 2.5cm	6.7cm- 2.5cm	6.7cm- 2.6cm	7.0cm- 2.6cm	7.1cm- 2.6cm	7.1cm- 2.6cm
TPR5 vs F	2.6cm - 1.4cm	4.8cm- 1.9cm	5.6cm- 2.4cm	6.0cm- 2.5cm	6.3cm- 2.6cm	6.4cm- 2.6cm	6.6cm- 2.7cm	7.0cm- 2.8cm	7.2cm- 2.9cm
TPR6 vs F	2.4cm- 1.4cm	5.6cm- 1.8cm	6.0cm- 1.9cm	6.3cm- 2.1cm	6.7cm- 2.4cm	7.2cm- 2.4cm	7.5cm- 2.5cm	7.7cm- 2.6cm	7.8cm- 2.6cm
TPR7 vs F	1.8cm- 1.4cm	5.7cm- 2.3cm	6.3cm- 2.4cm	7.2cm- 2.4cm	7.3cm- 2.5cm	7.5cm- 2.5cm	7.5cm- 2.5cm	7.5cm- 2.5cm	7.5cm- 2.5cm
TFR8 vs F	1.9 cm- 1.4cm	5.8cm- 2.1cm	6.5cm- 2.4cm	6.9cm- 2.4cm	7.2cm- 2.5cm	7.3cm- 2.5cm	7.4cm- 2.7cm	7.4cm- 2.7cm	7.4cm- 2.7cm
TDL9 vs F	2.6cm- 1.3cm	6.6cm- 2.3cm	7.4cm- 2.7cm	7.5cm- 2.9cm	7.8cm- 2.9cm	7.8cm- 2.9cm	7.8cm- 2.9cm	7.8cm- 2.8cm	7.9cm- 2.8cm
TDL10 vs F	2.1cm- 1.4cm	5.3cm- 2.0cm	6.9cm- 2.2cm	7.2cm- 2.3cm	7.5cm- 2.3cm	7.7cm- 2.3cm	7.75cm- 2.3cm	7.7cm- 2.3cm	7.7cm- 2.3cm

En la Tabla 8, se observa que al poner a competir a *Trichoderma sp.* y *Fusarium oxysporum* en placa dual, la velocidad de crecimiento de nuestro hongo biocontrolador es mayor que el hongo fitopatógeno, porque *Trichoderma sp.* reduce el espacio *Fusarium oxysporum* y utiliza todos los nutrientes del medio. Lo que se complementa con nuestra literatura de Cook y Baker (Baker & Cook, 1983), que el mecanismo de acción por competencia de las cepas *Trichoderma sp.*, consiste en su capacidad de competir por nutrientes y espacio, lo cual, reduce la disponibilidad de nutrientes para organismos no deseados. Además, ejerce un control biológico directo al parasitar e inhibir el crecimiento de hongos patógenos, contribuyendo a su efectividad como un agente de control biológico.

Tabla 9. *Análisis ANOVA de la influencia de diferentes cepas de Trichoderma sp. frente al %ICM.*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Cepas de <i>Trichoderma sp.</i>	9	271.5	30.170	5.61	0.001
Error	20	107.7	5.383		
Total	29	379.2			

ICM: *Inhibición de crecimiento micelial.*

La cepa de *Trichoderma sp.* que presento mayor porcentaje de inhibición micelial y mayor respuesta antagónica frente a *Fusarium oxysporum* fue **TDL9**. El cual, tuvo una velocidad de crecimiento superior a *Fusarium oxysporum*, que tuvo un periodo de adaptación y crecimiento lento. Ambos compitieron por nutrientes y espacio, pero TDL9 mostró superioridad en este mecanismo de acción. Los resultados del análisis de varianza ANOVA, donde se compara los datos obtenidos de las 10 cepas de *Trichoderma sp.*, si tienen significancia uno frente al otro en su porcentaje de inhibición de crecimiento micelial (%ICM). Dio como respuesta, que el valor $p < 0.05$, lo cual, lo convierte en significativo y que todas las cepas de *Trichoderma sp.* presentaron una diferencia significativa entre sí, con respecto al porcentaje de inhibición de crecimiento micelial.

Por otro lado, la competencia por espacio y nutrientes de *Trichoderma sp.* mediante la competencia directa y la producción de enzimas y metabolitos antagónicos. Además, puede modificar las condiciones ambientales y estimular el crecimiento y la resistencia de las plantas, lo que le permite competir eficientemente con otros hongos por los recursos disponibles en el suelo. El mecanismo de acción por competencia de *Trichoderma* frente a otros patógenos se basa en su capacidad para colonizar sustratos y competir eficientemente por recursos, así como para producir metabolitos antagónicos que inhiben el crecimiento de patógenos.

Tabla 10. %ICM medias de los experimentos con diferentes cepas aisladas.

Cepas <i>Trichoderma sp.</i>	N	Media	Desv. Est.	IC de 95%
TDL10	3	71.050	1.333	(68.256; 73.844)
TDL9	3	71.97	2.43	(69.18; 74.76)
TFR8	3	68.550	1.188	(65.756; 71.344)
TPR5	3	68.290	0.814	(65.496; 71.084)
TPR6	3	71.18	4.38	(68.39; 73.97)
TPR7	3	69.340	1.686	(66.546; 72.134)
TPS1	3	68.95	2.10	(66.16; 71.74)
TPS2	3	66.960	1.221	(64.166; 69.754)
TPS4	3	68.680	0.451	(65.886; 71.474)
TVS3	3	60.66	3.98	(57.87; 63.45)

Desviación Estándar agrupada = 2.32003

La Tabla 10, nos expresa los resultados del %ICM media de todas las cepas de *Trichoderma sp.*, de una manera más ordenada y con los ensayos realizados por triplicado *in vitro*, con un intervalo de confianza del 95% y teniendo una desviación estándar agrupada de 2.32003. Aquí se evaluó la capacidad antagónica *in vitro* de las cepas de *Trichoderma sp.*, reuniendo los datos obtenidos del promedio de crecimiento micelial y el porcentaje de inhibición micelial de cada cepa de *Trichoderma sp.* contra *Fusarium oxysporum*. La cepa TLD9 tuvo una media de 71.97 con una desviación estándar de 2.43, el cual nos dice que el resultado de su media puede variar en un intervalo de confianza del 95% de 69.18 a 74.76.

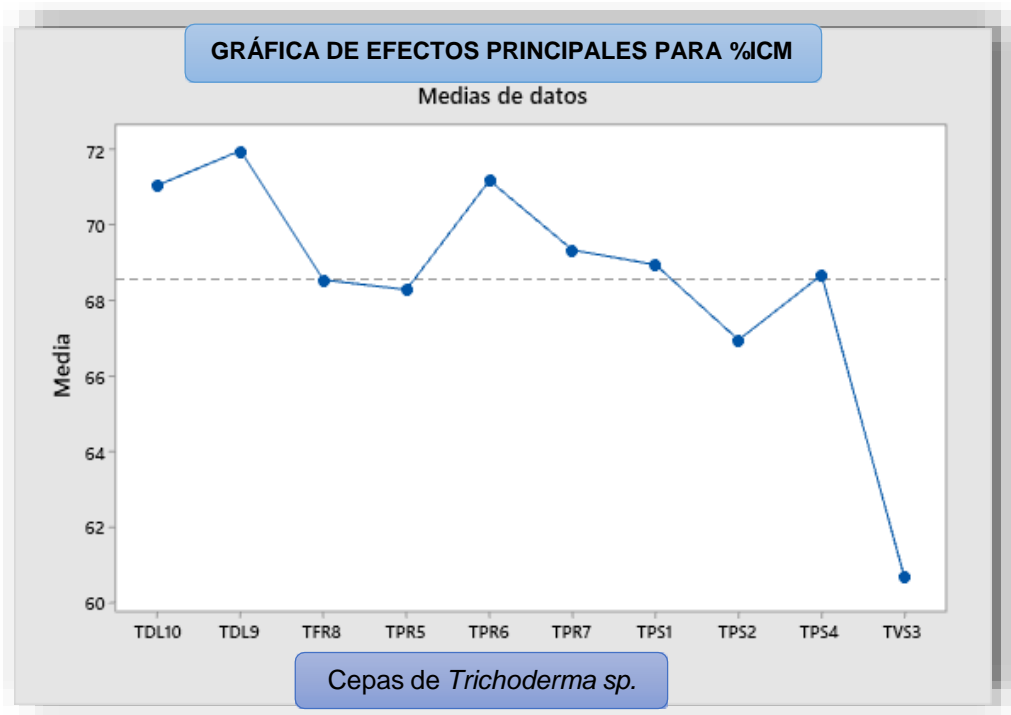
Tabla 11. Prueba de Tukey para valores agrupados a un nivel de confianza de 95%.

Cepas <i>Trichoderma sp.</i>	N	Media	Agrupación	
TDL9	3	71.97	A	
TPR6	3	71.18	A	
TDL10	3	71.050	A	
TPR7	3	69.340	A	
TPS1	3	68.95	A	
TPS4	3	68.680	A	
TFR8	3	68.550	A	
TPR5	3	68.290	A	
TPS2	3	66.960	A	B
TVS3	3	60.66	B	

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

La tabla 11, nos proporciona los resultados del análisis de varianzas comparando todas las cepas de *Trichoderma sp.*, este es una prueba típica que nos ayuda a comparar medias (Prueba de Tukey), para discernir que cepas de *Trichoderma sp.* se asemejan, que comportamiento tienen y como estas se asemejan con las demás variables. Dando como resultado que 9 cepas de *Trichoderma sp.* (TDL9(71.97), TPR6(71.18), TDL10(71.050), TPR7(69.340), TPS1(68.95), TPS4, TFR8(68.550), TPR5(68.290) y TPS2(66.960)) son estadísticamente parecidos, porque las medias presentaron un porcentaje prácticamente cercano en comparación con la cepa TVS3, que presento una media de 60.66. El aislado TVS3, que es diferente a los demás aislados se rotularon con una letra “B” mientras que las demás fueron rotulados con una letra “A”. Pero, se observó, que hay cierta similitud en las cepas TPS2 y TVS3, por lo cual, la cepa TPS2 fue rotulado con la letra “B”.

Figura 20. Gráfica de efectos principales para %ICM con valor de medias.



En la fig. 20, la gráfica de los efectos principales para %ICM, nos muestra los datos tomados de la Tabla 15, donde todas las medias de las cepas de *Trichoderma sp.* son comparados entre sí, para conocer, que aislado presento mayor y menor %ICM; y que cepa de *Trichoderma sp.*, es mejor que la otra en su actividad antagónica. La cepa TVS3 presento menor %ICM, por lo cual, fue menor su actividad antagónica, en cambio, la cepa TDL9 mostro un mayor %ICM y actividad antagónica.

Figura 21. Capacidad antagónica por competencia de *Trichoderma* sp. vs *Fusarium oxysporum*.



TPS1 vs F



TPS2 vs F



TVS3 vs F



TPS4 vs F



TPR5 vs F



TPR6 vs F



TPR7 vs F



TFR8 vs F



TDL9 vs F



TDL10 vs F

Mecanismo de competencia por placa dual, quedando en evidencia que las cepas de *Trichoderma sp.* poseen un crecimiento mucho más rápido, llegando a reducir el espacio y nutrientes a *Fusarium oxysporum*.

4.2.2. Mecanismo por micoparasitismo

En esta etapa se utilizó las 10 cepas de *Trichoderma sp.* y una de *Fusarium oxysporum*, manteniendo la experimentación por triplicado. La evaluación fue mediante la “Escala de Bell” (especificado en el ítem 3.4.2), para medir los grados de capacidad antagónica.

Tabla 12. Valores de crecimiento micelial de *Trichoderma* vs *Fusarium* en relación al mecanismo de micoparasitismo.

	DÍA 3	DÍA 4	DÍA 5	DÍA 6	DÍA 7	DÍA 8	DÍA 9	DÍA10	DÍA11
TPS1 vs F	2.0cm-1.2cm	5.4cm-2.2cm	6.7cm-2.6cm	6.7cm-2.5cm	7.4cm-2.4cm	7.5cm-2.5cm	7.7cm-2.6cm	7.8cm-2.6cm	7.8cm-2.6cm
TPS2 vs F	1.9cm-1.5cm	5.3cm-2.5cm	6.1cm-2.7cm	6.3cm-2.6cm	6.9cm-2.6cm	7.0cm-2.6cm	7.3cm-2.7cm	7.3cm-2.7cm	7.3cm-2.7cm
TVS3 vs F	2.4cm-1.4cm	4.9cm-2.8cm	6.2cm-3.2cm	6.6cm-3.2cm	7.0cm-3.2cm	7.0cm-3.2cm	7.0cm-3.3cm	7.2cm-3.3cm	7.2cm-3.3cm
TPS4 vs F	1.9cm-1.4cm	5.3cm-2.2cm	6.5cm-2.4cm	6.6cm-2.5cm	6.7cm-2.5cm	6.7cm-2.6cm	7.0cm-2.6cm	7.1cm-2.6cm	7.1cm-2.6cm
TPR5 vs F	2.6cm -1.4cm	4.8cm-1.9cm	5.6cm-2.4cm	6.0cm-2.5cm	6.3cm-2.6cm	6.4cm-2.6cm	6.6cm-2.7cm	7.0cm-2.8cm	7.2cm-2.9cm
TPR6 vs F	2.4cm-1.4cm	5.6cm-1.8cm	6.0cm-1.9cm	6.3cm-2.1cm	6.7cm-2.4cm	7.2cm-2.4cm	7.5cm-2.5cm	7.7cm-2.6cm	7.8cm-2.6cm
TPR7 vs F	2.8cm-1.4cm	5.7cm-2.3cm	6.3cm-2.4cm	7.2cm-2.4cm	7.3cm-2.5cm	7.5cm-2.5cm	7.5cm-2.5cm	7.5cm-2.5cm	7.5cm-2.5cm
TFR8 vs F	2.7 cm-1.4cm	5.8cm-2.1cm	6.5cm-2.4cm	6.9cm-2.4cm	7.2cm-2.5cm	7.3cm-2.5cm	7.4cm-2.7cm	7.4cm-2.7cm	7.4cm-2.7cm
TDL9 vs F	2.6cm-1.3cm	6.2cm-2.3cm	7.4cm-2.7cm	7.8cm-2.7cm	T₉ cubre toda la placa	T₉ cubre toda la placa	T₉ cubre toda la placa	T₉ cubre toda la placa	T₉ cubre toda la placa
TDL10 vs F	2.4cm-1.4cm	5.3cm-2.0cm	6.9cm-2.2cm	7.2cm-2.3cm	7.5cm-2.3cm	7.7cm-2.3cm	7.75cm-2.3cm	7.7cm-2.3cm	7.7cm-2.3cm

Transcurridos los 11 días de incubación (Tabla 12), se observó la interacción entre las cepas de *Trichoderma sp.* y *Fusarium oxysporum*, donde visualizamos el enrollamiento, la adhesión y esporulación del hongo biocontrolador estudiado a *Fusarium oxysporum*, midiendo los grados de capacidad antagónica mediante la “Escala de Bell”. En nuestra investigación, la mayoría de las cepas de *Trichoderma sp.* micoparásito a *Fusarium oxysporum*, pero fue la cepa TDL9, la que cubrió completamente la placa y esporulo sobre el hongo fitopatógeno. También podemos inferir, que, en otras investigaciones, hay ocasiones que *Trichoderma sp.* no logra micoparasitar completamente al hongo fitopatógeno, esto debido a varios factores, como: su eficacia puede variar dependiendo de las

especies específicas de *Trichoderma sp.* usado y del patógeno, porque algunas pueden ser más eficientes en ciertas interacciones que otras. También, la temperatura, la humedad y la acidez, pueden influir en la eficacia de *Trichoderma sp.*, porque en condiciones desfavorables, no puede expresar completamente sus capacidades micoparasíticas. Lo último, es que algunos hongos fitopatógenos pueden desarrollar resistencia a los mecanismos de acción de *Trichoderma sp.*, limitando así su efectividad y esto se explica en nuestra investigación, porque hubo algunos cepas de *Trichoderma sp.* (TPR6, TPS1, TPS2, TPS4 y TVS3) de grado 1, que no contaban con la capacidad de realizar un micoparasitismo completo (Barboza & Meza, 2009).

Con respecto, al crecimiento micelial de las cepas de *Trichoderma sp.* fue rápido, debido a que *Trichoderma sp.* colonizo rápidamente el medio de cultivo, expandiendo su micelio en todas las direcciones, limitando así, el crecimiento e inhibiendo la esporulación de *Fusarium oxysporum*. Esta característica beneficiosa de las cepas *Trichoderma sp.*, lo propone como un excelente agente biocontrolador de *Fusarium oxysporum in vitro* (Pincay, 2021).

Figura 22. Enrollamiento, adhesión y esporulación de *Trichoderma sp.* contra *Fusarium oxysporum*.

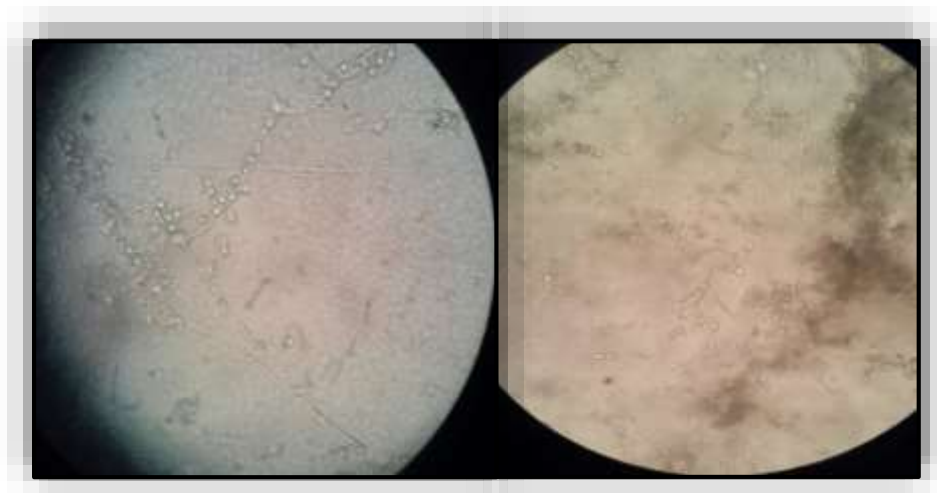
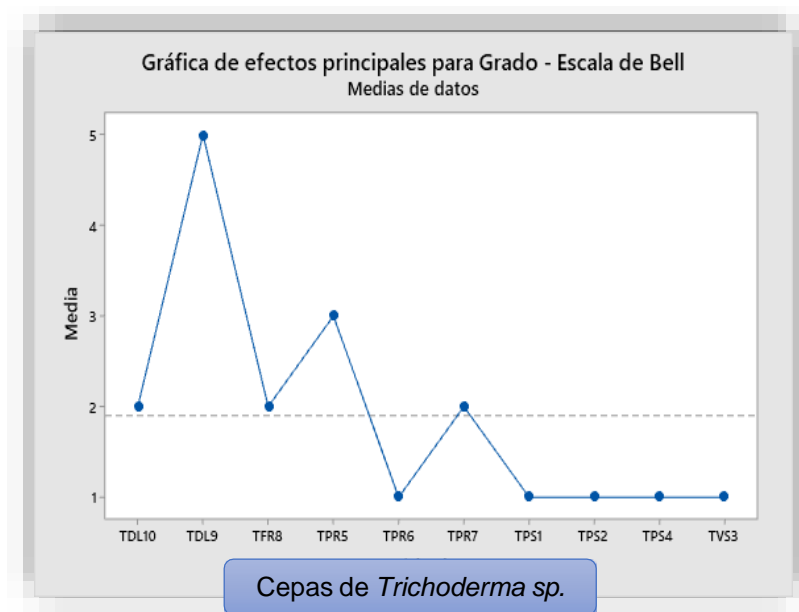


Figura 23. Valores de capacidad antagonista por micoparasitismo según la “Escala de Bell”



La “Escala de Bell” (Fig. 23) se utilizó para evaluar la capacidad antagonista de las cepas de *Trichoderma sp.* en la inhibición del crecimiento micelial frente a *Fusarium oxysporum*. La escala se dividió en seis grados, donde 0 representa una inhibición nula, donde ni el biocontrolador ni el fitopatógeno parece dominar el uno al otro y el 5 una inhibición micelial completa por parte *Trichoderma sp.* Teniendo como resultado en la Figura 23, un “GRADO 5” en la cepa TDL9, que coloniza completamente la superficie del medio y esporuló sobre *Fusarium oxysporum*, un “GRADO 3” en la cepa TPR5, que coloniza las tres cuartas partes de la superficie del medio limitando el crecimiento de *Fusarium oxysporum* y 3 cepas de *Trichoderma sp.* (TDL10, TFR8 y TPR7) de “GRADO 2”, que colonizaron la mitad de superficie del medio y limitaron el crecimiento de *Fusarium oxysporum*. Desde el punto de vista bibliográfico, el micoparasitismo es un mecanismo de acción antagonista característico de las cepas de *Trichoderma sp.*, los cuales, lo convierten en hongos micoparasitarios que se alimentan de hongos patógenos, invadiendo sus células, enrollándose a lo largo de las hifas del huésped y utilizando sus nutrientes para fomentar su propio crecimiento. También compete por espacio, nutrientes y reduce de esta manera la población del fitopatógeno, lo cual, es observado en esta investigación y se muestra en la Fig. 25 (Garrido, 2019).

Figura 24. *Capacidad antagónica por micoparasitismo de Trichoderma sp. vs Fusarium oxysporum.*



TPS1 vs F



TPS2 vs F



TVS3 vs F



TPS4 vs F



TPR5 vs F



TPR6 vs F



TPR7 vs F



TFR8 vs F



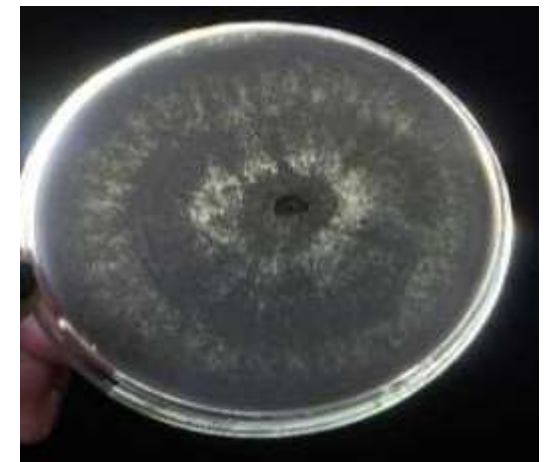
TDL9 vs F



TDL10 vs F



Control *Fusarium oxysporum*



Control *Trichoderma* sp.

Al comparar las diferentes cepas de *Trichoderma sp.*, pudimos observar que la placa que contenía la cepa **TDL9 vs F**, que cubrió toda la placa y esporuló sobre ella en menor tiempo, obteniendo el grado 5 en la “ESCALA DE BELL”.

4.3. Evaluación antagonica *in vivo*

A continuación, se presentan los valores del % de supervivencia de plántulas de Maracuyá (*Passiflora edulis*) inducidas a contaminación por *Fusarium oxysporum*. Los valores representados en las tablas 13 y 14, son expresados en porcentajes, siendo 10 el número total de plántulas por experimento, con las diferentes concentraciones de conidios de *Trichoderma sp.* de 10^6 y 10^8 conidios/mL.

Tabla 13. Número de plántulas vivas luego del tratamiento con *Trichoderma sp.* a una [C] de 10^6 conidios/mL.

Tratamiento	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
TPS1	7	6	8
TPS2	5	5	6
TVS3	6	6	7
TPS4	5	5	6
TPR5	4	4	7
TPR6	6	6	8
TPR7	5	5	6
TFR8	8	7	8
TDL9	10	9	9
TDL10	8	8	7

En la tabla 13, se observa que cada cepa de *Trichoderma sp.* utilizo 10 plántulas de Maracuyá (*Passiflora edulis*) para el tratamiento de 10^6 conidios/mL, con su respectiva repetición para minimizar el margen de error experimental. Registrándose los datos de supervivencia de las plántulas cada semana, luego de haber transcurrido las 48 horas de haber inoculado los conidios de *Fusarium oxysporum*, siendo la cepa TDL9 el que mostro mayor porcentaje de supervivencia de plántulas, seguidamente de las cepas TLD10 y TFR8. Por lo cual, la efectividad de *Trichoderma sp.* como agente de control biológico dependió de diversos factores, como: la cepa de *Trichoderma sp.*, la concentración empleada y la capacidad de *Fusarium oxysporum* para causar daño.

Tabla 14. Número de plántulas vivas luego del tratamiento con *Trichoderma sp.* a una [C] de 10^8 conidios/mL.

Tratamiento	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
TPS1	10	9	9
TPS2	10	9	8
TVS3	9	8	7
TPS4	10	9	8
TPR5	9	8	8
TPR6	10	9	8
TPR7	10	8	8
TFR8	9	8	8
TDL9	10	10	10
TDL10	10	9	9

En la tabla 14 igual que en la Tabla 13, se muestra que cada cepa de *Trichoderma sp.* utilizo 10 plántulas de Maracuyá (*Passiflora edulis*) para el tratamiento de 10^8 conidios/mL, con su respectiva repetición para minimizar el efecto del error experimental. Observándose que no hay una clara diferencia entre las cepas de *Trichoderma sp.*, porque a mayor concentración de conidios mayor es el porcentaje de plántulas vivas y es una clara diferencia con la concentración de 10^6 conidios/mL. Concluyendo, que *Trichoderma sp.* demostró una significativa eficacia antagonista contra *Fusarium oxysporum* en plántulas de Maracuyá (*Passiflora edulis*). Lo cual, corrobora por diversos autores que *Trichoderma sp.* es conocido por su capacidad para actuar como un agente biológico de control de enfermedades en las plantas, destacando sus capacidades inhibitorias contra diversos patógenos del suelo, como en este caso *Fusarium oxysporum* (Arzate-Vega, 2006).

Tabla 15. Tabla resumen de los tratamientos empleados y concentraciones de conidios empleadas en la experimentación de antagonismo in vivo.

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Cepas <i>Trichoderma sp.</i>	Fijo	10	TDL10; TDL9; TFR8; TPR5; TPR6; TPR7; TPS1; TPS2; TPS4; TVS3
[C] conidios	Fijo	2	10^6 ; 10^8

En la tabla 15, se muestra un resumen de todas las cepas de *Trichoderma sp.* utilizados en esta evaluación antagónica *in vivo* y las diferentes concentraciones de conidios utilizados, para evaluar si hay una diferencia significativa y si la concentración de conidios/mL induce a una mayor supervivencia de las plántulas de Maracuyá (*Passiflora edulis*) frente a la contaminación por *Fusarium oxysporum*. Siendo la cepa TDL9, la que obtuvo en ambas concentraciones un mayor número de plántulas vivas, en la cual, podemos inferir que el desempeño de *Trichoderma sp.* está sujeto a la concentración de conidios. Por bibliografía podemos añadir, que la alta concentración de conidios de *Trichoderma sp.* es suficientemente para una mayor competencia con *Fusarium oxysporum*, dado que *Trichoderma sp.* es conocido por su alta capacidad antagónica, limitando la disponibilidad de recursos para los patógenos, reduciendo así su capacidad para crecer y causar enfermedades; generando una menor incidencia de daño y, por lo tanto, una mayor supervivencia de las plántulas (López, 2004).

Tabla 16. ANOVA para valores de % de supervivencia

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Cepas <i>Trichoderma sp.</i>	9	4340	482.22	5.06	0.000
[C] conidios	1	8167	8166.67	85.75	0.000
Error	49	4667	95.24		
Falta de ajuste	9	1800	200.00	2.79	0.012
Error puro	40	2867	71.67		
Total	59	17173			

En la tabla 16, las cepas de *Trichoderma sp.* y la concentración de conidios fue estadísticamente significativa, porque el valor $p < 0.05$. El cual, nos dice, que al variar las concentraciones de conidios y las cepas de *Trichoderma sp.* puedo ver una clara diferencia en el porcentaje de supervivencia de las plántulas de Maracuyá (*Passiflora edulis*). Dando entender, que la concentración de conidios de *Trichoderma sp.* con mayor actividad antagónica *in vitro*, aumenta el porcentaje de supervivencia de plántulas Maracuyá (*Passiflora edulis*), como se observó en la cepa TDL9, donde la concentración de conidios y la capacidad antagónica de la cepa, contribuyó al aumento de la tasa de supervivencia de las plántulas. Podemos afirmar por bibliografía de acuerdo a los resultados obtenidos, que la presencia de *Trichoderma sp.* en el entorno de las raíces de las plántulas de Maracuyá (*Passiflora edulis*) puede inducir respuestas de defensa en las plántulas huésped,

mejorando su resistencia a enfermedades como *Fusarium oxysporum*, estas capacidades hacen que *Trichoderma sp.* sea un componente valioso en estrategias de manejo integrado de enfermedades en la agricultura, ya que puede reducir la dependencia de fungicidas, químicos y contribuir a la sostenibilidad del sistema agrícola (Quiroz-Sarmiento, 2008).

Figura 25. Gráfica de los efectos principales para % de supervivencia y [C] conidios.

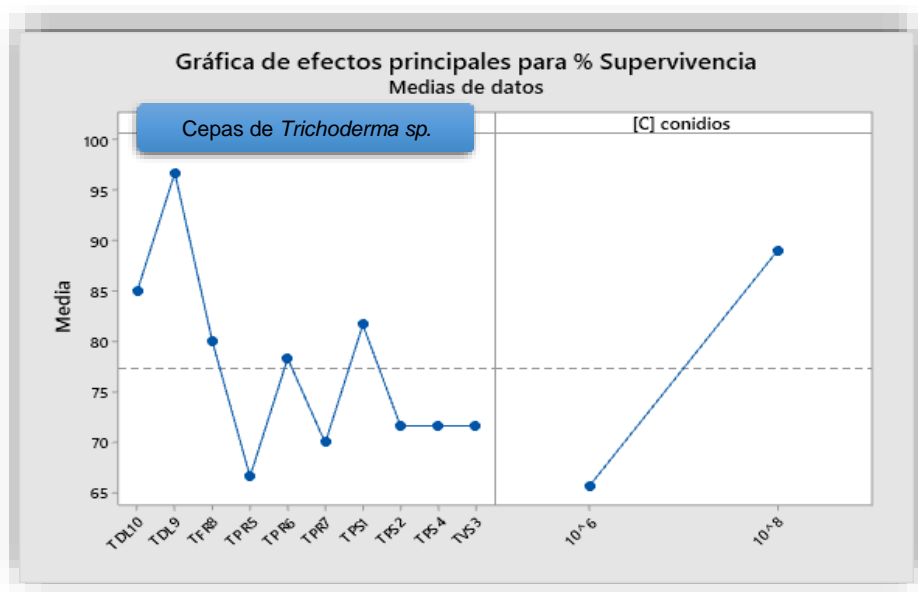
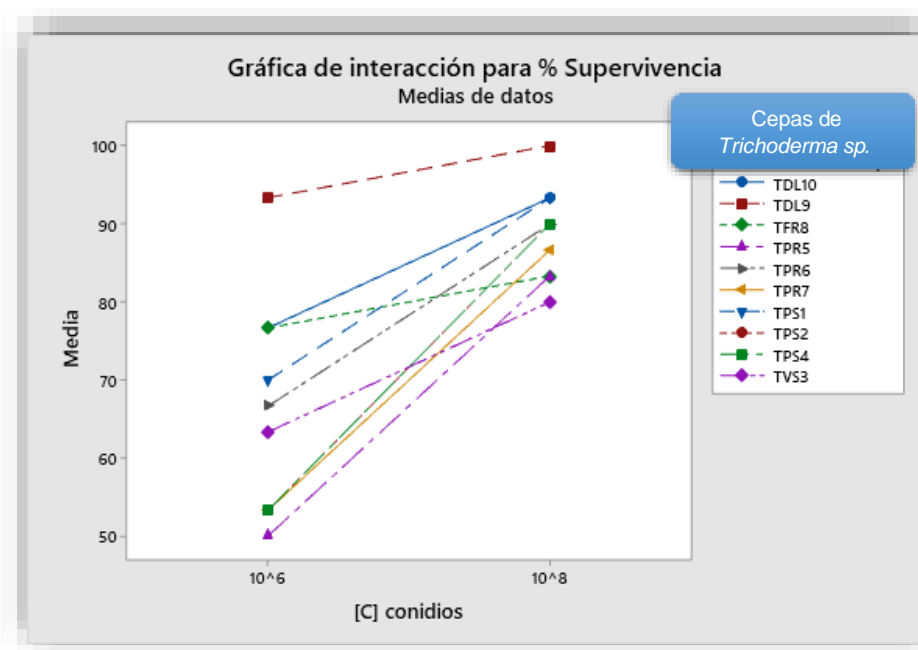


Figura 26. Efectos de interacción entre % de supervivencia y [C] conidios.



En la figura 25 y 26, se detalla en las gráficas, el porcentaje de supervivencia de las plántulas de Maracuyá (*Passiflora edulis*), las concentraciones de conidios/mL y las interacciones entre las diferentes cepas de *Trichoderma sp.* Donde se observa, que al comparar todas las medias de las cepas de *Trichoderma sp.* con las diferentes concentraciones de conidios/mL, la cepa TLD9 obtuvo casi un 100% en la evaluación antagónica *in vivo* seguido por TLD10 que obtuvo un 85%. También tenemos un estimativo de las diferentes concentraciones de conidios utilizados en la actividad antagónica *in vivo*, donde la concentración 10^8 conidios/mL obtuvo mejores resultados que la concentración 10^6 conidios/mL, en el porcentaje de supervivencia de las plántulas de Maracuyá (*Passiflora edulis*). Concluyendo, que la cepa que obtuvo una mayor capacidad antagónica y supervivencia fue TLD9, el de menor capacidad antagónica y supervivencia fue TVS3. Considerando que el aumento de la concentración de *Trichoderma sp.* conlleva a una supresión mayor de *Fusarium oxysporum* y, por ende, una mayor tasa de supervivencia de plántulas, con este equilibrio, maximizamos la supresión del patógeno sin causar efectos adversos en las plantas huésped (Guédez, 2012).

4.4. Estudio de la acción promotora de crecimiento de *Trichoderma sp.*

Se aplicó el diseño factorial completo 2^2 , compuesto por 2 unidades factoriales, 2 puntos axiales y 2 repeticiones, para la evaluación de la acción promotora de crecimiento en plántulas de maracuyá. Las variables experimentales en estudio fueron las concentraciones de conidios (10^8 y 10^{10} conidios/mL) y dos cepas de *Trichoderma sp.*, asociados a su porcentaje de inhibición de crecimiento micelial (%ICM) entre un rango determinado, para establecer un punto óptimo de estudio (Tabla 17). Las cepas seleccionadas fueron **TDL9** (cepa con mayor respuesta antagónica en pruebas *in vivo* e *in vitro*) y **TVS3** (cepa de menor rendimiento). La variable respuesta para todos los ensayos fue el crecimiento de las plántulas de maracuyá, evaluadas en función de: número de hojas, altura y longitud de raíz.

Tabla 17. Rangos de las variables independientes utilizadas en la experimentación.

VARIABLES	RANGOS	
	-1	+1
[C] conidios/mL (X_1)	10^8	10^{10}
Cepas <i>Trichoderma sp.</i> (%ICM) (X_2)	60	70

En la tabla 17, se especifica las variables independientes utilizadas en la experimentación, como las dos concentraciones de conidios, de 10^8 y 10^{10} conidios/mL, que están asociados a los resultados previos obtenidos de los ensayos *in vitro* e *in vivo* y como su capacidad antagónica influye en el crecimiento de las plántulas de Maracuyá (*Passiflora edulis*). También se utilizó dos cepas de *Trichoderma sp.*, el que obtuvo menor (-1) y mayor (+1) capacidad antagónica (TVS3 y TDL9), en un rango %ICM de 60 y 70.

Tabla 18. Diseño factorial completo 2^2 para evaluación de la respuesta promotora de crecimiento de maracuyá.

Experimentos	Réplicas	[C] conidios	%ICM	N° hojas	Altura (cm)	Longitud de Raíz (cm)
1	1	10^8	60.00000	6.0	14.0	15.0
2	1	10^8	70.00000	7.0	19.0	19.0
3	1	10^{10}	60.00000	9.0	17.0	16.0
4	1	10^{10}	70.00000	7.0	19.0	18.0
5	2	10^8	60.00000	7.0	15.0	13.0
6	2	10^8	70.00000	7.0	18.0	17.0
7	2	10^{10}	60.00000	10.0	17.0	14.0
8	2	10^{10}	70.00000	8.0	22.0	18.0
9	3	10^8	60.00000	5.0	17.0	14.0
10	3	10^8	70.00000	6.0	20.0	16.0
11	3	10^{10}	60.00000	9.0	18.0	13.0
12	3	10^{10}	70.00000	8.0	21.0	17.0

En la tabla 18, se describe el diseño factorial completo 2^2 para la evaluación de la respuesta promotora de crecimiento de las plántulas de maracuyá (*Passiflora edulis*), utilizando las concentraciones de 10^8 y 10^{10} conidios/mL, con las cepas de *Trichoderma sp.* de menor y mayor actividad antagónica (TVS3 y TDL9), con sus respectivas repeticiones para minimizar el efecto del error experimental. Fueron 3 aplicaciones conidios/mL durante la evaluación: al inicio, a los 30 y 60 días después de la siembra. La toma de datos fue

terminando las aplicaciones y cada quince días, como se muestra en la tabla (Numero de hojas, Altura de la plántula y longitud de la raíz). Observándose, que a una concentración mayor de conidios/mL y una cepa de *Trichoderma sp.* con mayor actividad antagónica, afectan positivamente el crecimiento y desarrollo de las plántulas de Maracuyá (*Passiflora edulis*). También podemos considerar, la necesidad de continuar investigaciones adicionales para comprender mejor las respuestas de las plántulas de Maracuyá a diferentes concentraciones de *Trichoderma sp.* (conidios/mL) y si hay mayor o menor crecimiento en las plántulas.

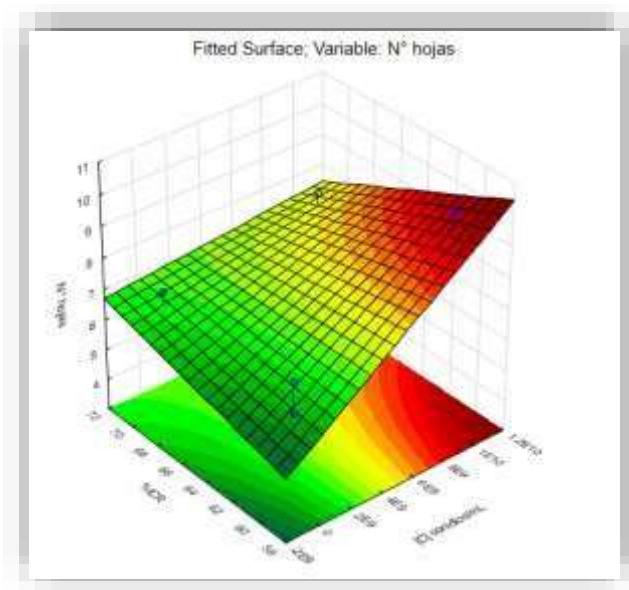
4.4.1. N° de hojas

Tabla 19. ANOVA para evaluación de crecimiento de hojas.

	SS	df.	MS	F	p
(1) [C] conidios/mL	14.08333	1	14.08333	28.16667	0.000722
(2) %ICM	0.75000	1	0.75000	1.50000	0.255508
1 y 2	4.08333	1	4.08333	8.16667	0.021225
Error	4.00000	8	0.50000		
Total SS	22.91667	11			

En la tabla 19, ANOVA para la evaluación del crecimiento de hojas, nos da como resultado, que la concentración de conidios/mL es estadísticamente significativo, porque el valor $p_{[C]} = 0.000722 < 0.05$, en comparación con el %ICM de las cepas de *Trichoderma sp.*, el cual, no fue significativo porque $p_{(\%ICM)} = 0.255508 > 0.05$. Concluyendo, que la concentración de conidios/mL influencia en el crecimiento de las hojas, mientras que el %ICM no influye en la aparición de hojas, independiente de la cepa utilizado, a una mayor concentración de conidios/mL, vamos a tener una mayor tasa de crecimiento de hojas.

Figura 27. Superficie de respuesta de la influencia del %ICM vs [C] conidios en el N° de hojas de maracuyá.



En la figura 27, observamos que independientemente de la cepa de *Trichoderma sp.* utilizado, lo que influencia en el desarrollo y crecimiento foliar es la concentración de conidios/mL, tal como podemos visualizar en la superficie de respuesta de la influencia de %ICM vs [C] conidios en el N° de hojas de plántulas de maracuyá (*Passiflora edulis*), en el cual se maximiza la concentración de conidios de la cepa de *Trichoderma sp.* utilizada, lo que indica una maximización de respuesta a la variación de la concentración de conidios. Este resultado reafirma lo que muchos autores infieren en sus investigaciones, que los efectos positivos de la capacidad de diferentes especies de *Trichoderma sp.* como promotor de crecimiento radica en su concentración alta de conidios /mL, en el cual, se promueve un mayor número de hojas en las plántulas. Por lo tanto, *Trichoderma sp.* presenta una alternativa de solución interesante para resolver problemáticas fitosanitarias y ambientales, y es meritorio de más investigaciones en el ámbito agrícola (Ruiz-Cisneros, 2018).

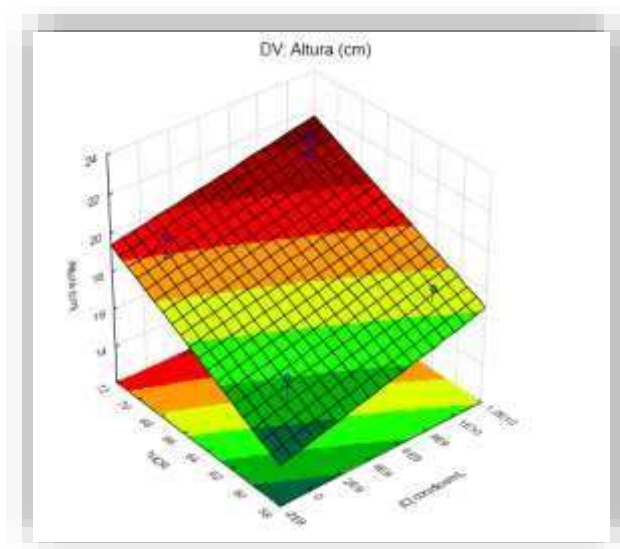
4.4.2. Altura de plántula

Tabla 20. ANOVA para evaluación de la altura de maracuyá.

	SS	df.	MS	F	p
(1) [C] conidios/mL	10.08333	1	10.08333	6.72222	0.031977
(2) %ICM	36.75000	1	36.75000	24.50000	0.001121
1 y 2	0.08333	1	0.08333	0.05556	0.819586
Error	12.00000	8	1.50000		
Total SS	58.91667	11			

En la Tabla 20, ANOVA para la evaluación de la altura de las plántulas de Maracuyá (*Passiflora edulis*) se observó que tanto la concentración de conidios/mL como el %ICM de las cepas de *Trichoderma sp.* son estadísticamente significativos, porque el valor $p < 0.05$. En lo cual, se concluye, que tanto la concentración de conidios/mL, así como la cepa de *Trichoderma sp.* con mayor capacidad antagónica, influyen en la altura de las plántulas de maracuyá. Lo que también, se observó, en la evaluación antagónica *in vivo*, al observarse una mayor tasa de supervivencia de plántulas, con una concentración mayor de conidios y una cepa de *Trichoderma sp.* con mayor %ICM. Según diferentes autores, la presencia de *Trichoderma sp.* contribuye en el crecimiento más saludable de las plántulas, ya que facilitan la absorción de nutrientes esenciales por parte de ellas, haciendo que estos elementos estén más disponibles en el suelo para ser tomados por las raíces, resultando en un aumento del tamaño de las plántulas (Zapata, 2012).

Figura 28. Superficie de respuesta de la influencia del %ICM vs [C] conidios en la altura de maracuyá.



En la figura 28, observamos que a mayor %ICM de una cepa de *Trichoderma sp.* y una concentración mayor de conidios/mL, influyen en la altura de la plántula de Maracuyá, maximizándose ambas variables sobre la región sombreada de rojo, que indica una maximización de respuesta en la altura de la plántula. Lo cual afirma, que al usar una cepa de *Trichoderma sp.* con alta efectividad antagónica y una concentración mayor de conidios/mL, ayuda a que las plántulas solubilizan más efectivamente los nutrientes del suelo y sean más disponibles para ellas, impulsando su crecimiento y contribuyendo en su desarrollo. Lo que varios autores en sus investigaciones demuestran, como en las aplicaciones de *Trichoderma sp.* en cultivos de arvejas, berenjenas, café, tomate, papas y

especies forestales que han demostrado mejoras significativas en su crecimiento y desarrollo, influyendo en variables fisiológicas como germinación, área foliar y longitud de raíz (Camargo-Cepeda, 2014) .

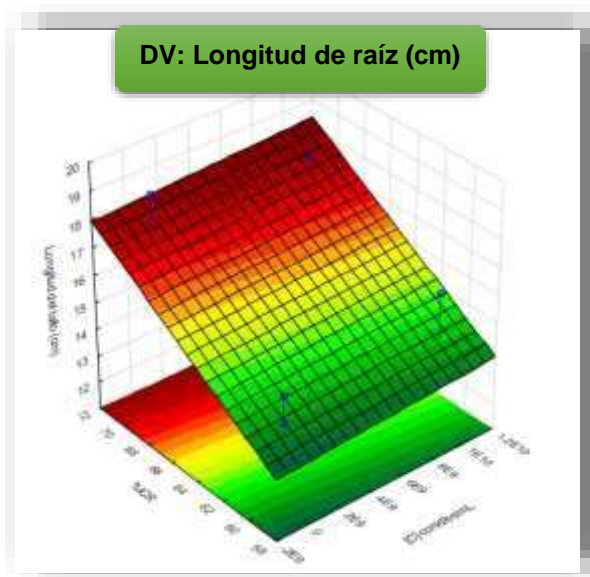
4.4.3. Longitud de Raíz

Tabla 21. ANOVA para evaluación de la longitud de raíz de maracuyá

	SS	df.	MS	F	p
(1) [C] conidios/mL	0.33333	1	0.33333	0.22222	0.649940
(2) %ICM	33.33333	1	33.33333	22.22222	0.001514
1 y 2	0.00000	1	0.00000	0.00000	1.000000
Error	12.00000	8	1.50000		
Total SS	45.66667	11			

En la Tabla 21, ANOVA para la evaluación de la longitud de raíz de las plántulas de Maracuyá (*Passiflora edulis*), se observa que la concentración de conidios/mL no es estadísticamente significativa porque $p_{[C]}=0.649940 > 0.05$, lo cual, indica que la concentración de conidios no tiene influencia en la longitud de la raíz de las plántulas, mientras que el %ICM de las cepas de *Trichoderma sp.* son estadísticamente significativo, porque el valor $p_{(\%ICM)} = 0.001514 < 0.05$ e influye en la longitud de la raíz. Lo cual nuestros resultados, refuerzan la bibliografía, afirmando que *Trichoderma sp.* es muy beneficioso en la promoción del enraizamiento de plántulas si utilizamos una cepa de *Trichoderma sp.* con alta capacidad antagónica, porque estas, influyen positivamente en el proceso de enraizamiento contribuyendo a un mejor anclaje de las plántulas, solubilizando nutrientes del suelo y teniendo una mayor absorción de estas, lo que contribuye a un mejor desarrollo radicular (Acurio Vásconez, 2017).

Figura 29. Superficie de respuesta de la influencia de %ICM vs [C] conidios en la longitud de raíz de maracuyá.



En la figura 29, se observa el análisis de Superficie de respuesta de la influencia de %ICM vs [C] conidios en la longitud de raíces de Maracuyá (*Passiflora edulis*), donde la concentración de conidios/mL no influye en el desarrollo radicular, el que influye es el mayor %ICM de las cepas de *Trichoderma sp.*, lo que confirma, que la presencia de *Trichoderma sp.* con gran capacidad antagónica, permite utilizar más eficientemente los nutrientes disponibles, promoviendo un crecimiento y enraizamiento saludable; muy diferente a la concentración de conidios/mL que no influye en el enraizamiento, porque si tenemos una cepa de *Trichoderma sp.* con baja capacidad antagónica, a pesar de aplicar una concentración alta de conidios/mL, no estimulara el crecimiento y el enraizamiento de las plántulas.

De todos los resultados obtenidos en la acción promotora de crecimiento de *Trichoderma sp.*, podemos concluir, que las concentraciones de conidios/mL así como la cepa de *Trichoderma sp.* utilizada, puede variar las condiciones de crecimiento de la plántula de Maracuyá (*Passiflora edulis*) y es muy importante en el campo de biotecnología, porque podemos ajustarlo a las condiciones específicas de estudio, en caso queramos producir a mayor escala, condicionando y monitoreando las condiciones de crecimiento de ellas, como: el crecimiento del tallo, el número de hojas, la elongación de raíz y como estos aspectos influenciaran en su productividad. También, es importante señalar que los efectos de *Trichoderma sp.* pueden variar según la especie utilizada, la concentración de conidios/mL, las condiciones de suelo agrícola, la planta huésped y otros factores ambientales. Además, su aplicación como promotor de crecimiento se considera como parte de un enfoque integral de manejo de cultivo (Hernández-Melchor, 2019).

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones:

- La evaluación de los mecanismos antagónicos por competencia y micoparasitismo reveló que la cepa TDL9 mostró el mejor desempeño en términos de porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (%ICM) contra *Fusarium oxysporum*. Esta cepa demostró una destacada capacidad para competir por los nutrientes y el espacio y se calificó con un “Grado 5” según la “Escala de Bell” debido a su completa colonización y esporulación sobre *Fusarium oxysporum*. Esto confirma que TDL9 es altamente eficaz en la supresión de *Fusarium oxysporum* en condiciones de cultivo *in vitro*.
- En condiciones *in vivo*, la cepa TDL9 también demostró ser la más eficiente para promover la supervivencia de plántulas de maracuyá (*Passiflora edulis*) cuando se aplicó a una concentración de 10^8 conidios/mL. Esta concentración resultó ser más efectiva que la de 10^6 conidios/mL. TDL9 presentó la mayor influencia antagónica sobre *Fusarium oxysporum* en comparación con otras cepas, evidenciando su capacidad para reducir la mortalidad de las plántulas y controlar la enfermedad causada por este patógeno.
- En la evaluación de *Trichoderma sp.* como promotor de crecimiento, se concluyó que las cepas de menor y mayor actividad antagónica (TVS3 y TDL9) fueron independientes de la concentración de 10^8 y 10^{10} conidios/mL, dando como resultado, que para estimular el número de hojas de las plántulas de maracuyá, la concentración mayor de conidios es más relevante que la cepa utilizado, para mejorar la altura de las plántulas de maracuyá, la mayor concentración de conidios y la cepa con mayor actividad antagónica son significativamente importantes, en comparación con el enraizamiento, donde la cepa con mayor actividad antagónica es más significativo que la concentración de conidios.

- Los resultados obtenidos en esta investigación, tanto *in vitro* como *in vivo*, confirman que *Trichoderma sp.* es una herramienta eficaz para reducir la mortalidad de las plántulas de maracuyá causada por *Fusarium oxysporum*. Además, *Trichoderma sp.* no solo controla el patógeno, sino que también estimula el crecimiento de las plántulas, mejorando la altura, el número de hojas y la elongación de raíces. Estos hallazgos respaldan el uso de *Trichoderma sp.* como una estrategia integral para el manejo de enfermedades y el aumento del crecimiento en cultivos de maracuyá.

5.2. Recomendaciones:

- Impulsar la investigación de los aislamientos de *Trichoderma sp.* como las concentraciones eficientes de conidios/mL, para aumentar su efectividad y uso, en el control de hongos fitopatógenos y en la promoción de crecimiento.
- Programar controles periódicos para evaluar la eficacia de *Trichoderma sp.* en el control de fitopatógenos y en la promoción del crecimiento, ajustándolo hasta conseguir óptimos resultados.
- Se recomienda continuar evaluando las condiciones favorables para el crecimiento de los aislados de *Trichoderma sp.*, así como el pH y humedad adecuados.
- Se sugiere evaluar más a fondo el control de temperatura de los aislados de *Trichoderma sp.*, ya que, al aumentar y disminuir, provoca una respuesta adversa, al generarle estrés y por ende reducir su efectividad como agente biocontrolador de hongos fitopatógenos.
- Es importante realizar estudios de campo a largo plazo, para monitorear el impacto de los aislamientos de *Trichoderma sp.* en varios ciclos de cultivo y evaluar la sostenibilidad de su uso.
- Evaluar e investigar la capacidad de los aislados de *Trichoderma sp.* para conferir resistencia sistémica a determinados fitopatógenos y estudiar los mecanismos inhibidores aplicados a los patógenos.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS Y VIRTUALES

- Acurio Vásconez, R. D. (2017). Aislamiento, caracterización y evaluación de *Trichoderma spp.* como promotor de crecimiento vegetal en pasturas de raygrass (*Lolium perenne*) y trébol blanco (*Trifolium repens*). *LA GRANJA. Revista de Ciencias de la Vida*, 25(1), 53-61. <https://doi.org/10.17163/lgr.n25.2017.05>
- Arias-Suárez, J. C.-P.-G. (2014). La polinización natural en el maracuyá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener) como un servicio reproductivo y ecosistémico. *Agronomía mesoamericana*, 25(1), 73-83. http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1659-13212014000100008&lng=en&tlng=es.
- Arzate-Vega, J. M.-A.-M.-E. (2006). Antagonismo de *Trichoderma spp.* sobre *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, agente causal de la Sigatoka Negra del plátano (*Musa sp.*) in vitro e invernadero. *Revista mexicana de fitopatología*, 98-104. <https://www.redalyc.org/pdf/612/61224203.pdf>.
- Avendaño, C. A. (2006). Control biológico del marchitamiento vascular causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* en fríjol *Phaseolus vulgaris* L., mediante la acción combinada de *Entrophospora colombiana*, *Trichoderma sp.* y *Pseudomonas fluorescens*. *Agronomía colombiana*, 24(1), 62-67. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99652006000100008&lng=en&tlng=es.
- Avila, H. (2012). Cultivo De Maracuya. http://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/20.500.12955/161/1/Cultivo_maracuya_2010.pdf
- Baker, K., & Cook, R. (1983). La naturaleza y practica del control biológico de patógenos de plantas. En K. Baker, & R. Cook. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442008000200005&lng=es&tlng=es
- Benítez, T. M. (2004). *Trichoderma* como agente biocontrolador contra fitopatógenos. <https://ediciones.inca.edu.cu/files/congresos/2010/CDMemorias/memorias/ponencias/talleres/EFV/ra/EFV-P.26.pdf>
- Bolaños, L. M. (2020). Ficha Técnica No. 2. <https://doi.org/10.54167/tch.v10i3.176>

- Borrero, C., & Silva, M. (2010). Recuperado el 04 de Diciembre de 2016, de InfoAgro: http://www.infoagro.com/abonos/efectos_trichoderma_microorganismos_no_patogenos_descomponedores_materia_organica.htm
- Brotman, Y. K. (2010). Trichoderma. *Current Biology*, 20(9), R390-R391. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2637>
- Caiza Sango, S. E. (2017). Evaluación *in vitro* de la capacidad antagónica de Trichoderma comercial (*Trichoderma harzianum*) y Trichoderma nativo (*Trichoderma sp.*) frente a los patógenos *Alternaria sp.*, *Fusarium oxysporum* y *Heterosporium echinolatum* del cultivo de clavel. <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/17534>
- Camargo-Cepeda, D. F. (2014). Efectos del *Trichoderma sp.* sobre el crecimiento y desarrollo de la arveja (*Pisum sativum L.*). *Ciencia y Agricultura*, 11(1), 91-100. https://revistas.uptc.edu.co/index.php/ciencia_agricultura/article/view/3492.
- Candelero, D. J. (2015). *Trichoderma spp.* promotoras del crecimiento en plántulas de Capsicum chinense Jacq. y antagónicas contra *Meloidogyne incognita*. *Phyton (Buenos Aires)*, 84(1), 113-119. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1851-56572015000100016&script=sci_abstract&tlng=en.
- Castro, M. C. (2005). Biorregulación de *Rhizoctonia solani* en germinadores de café. <https://www.cenicafe.org/es/publications/avt0336.pdf>.
- Chiriboga, H., Gómez, G., & Garcés, K. (2015). *Trichoderma spp. Para el control biológico de enfermedades*. (primera ed.). Paraguay: Gráfica Latina S.A. <https://www.academia.edu/download/93599511/BVE17038725e.pdf>.
- Cubillos-Hinojosa, J. V. (2019). Trichoderma harzianum como promotor del crecimiento vegetal del maracuyá (*Passiflora edulis var. flavicarpa Degener*). *Agronomía Colombiana*, 27(1), 81-86. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99652009000100011&lng=en&tlng=es.
- Elliott, M. L. (2010). Marchitez vascular causada por *Fusarium oxysporum*. *Palmas*, 31(especial), 366-375. <https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/1541>.
- Espinal Yauri, E. J. (2020). Influencia del trichoderma en la mejora del crecimiento de la planta de cebada y calidad de suelo en Viques. <https://repositorio.continental.edu.pe/handle/20.500.12394/8697>.
- García-Núñez, HG, Martínez-Campos, Á. R., Hermosa-Prieto, MR, Monte-Vázquez, E., Aguilar-Ortigoza, CJ y González-Esquivel, CE (2017). Caracterización morfológica y molecular de cepas nativas de *Trichoderma* y su potencial de biocontrol sobre *Phytophthora*

- infestans*. *Revista mexicana de fitopatología*, 35(1), 58-79.
https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=s0185-33092017000100058&script=sci_arttext.
- Garrido, M. &. (2019). Capacidad antagónica de *Trichoderma harzianum* frente a *Rhizoctonia*, *Nakatea sigmoidea* y *Sclerotium rolfsii* y su efecto en cepas nativas de *Trichoderma* aisladas de cultivos de arroz. *Scientia Agropecuaria*, 10(2), 199-206.
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7017357>.
- Gravel V, A. H. (2007). Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: possible role of indole 3 acetic acid (IAA) . <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.02.015>
- Guaraca, M. A. (2022). *Comportamiento de las exportaciones del sector primario y análisis comparativo entre Ecuador, Perú y Colombia antes y después del Covid-19 (periodo marzo 2019-febrero 2020 y marzo 2020-febrero 2021)*. Master's thesis.
<http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/22861>
- Guédez, C. C. (2012). Evaluación *in vitro* de aislamientos de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium oxysporum* en plantas de tomate. . *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, , 32(1), 44-49.
[http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562012000100009&lng=es&tlng=.](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562012000100009&lng=es&tlng=)
- Haro, J. F. (2020). Caracterización y Tipificación De La Cadena Agroproductiva Del Cultivo De Maracuyá (*passiflora edulis* L) Pedernales, Manabí, Ecuador/Characterization and Typification of the Agroproductive Chain of Maracuya Cultivation (*passiflora edulis* L) Pedernales, M. *KnE Engineering*, 697-716. <https://doi.org/10.18502/keg.v5i2.6292>
- Hernández-Melchor, D. J.-C. (2019). *Trichoderma*: importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. *Chilean journal of agricultural & animal sciences*, 35(1), 98-112.
<http://dx.doi.org/10.4067/S0719-38902019005000205>
- Julca Morales, M. J. (2022). Estudio de prefactibilidad para la creación de una empresa dedicada a la producción y comercio de pulpa de maracuyá (*Passiflora edulis*) en Piura-Perú 2022.
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522009000100002&lng=es&tlng=es.](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522009000100002&lng=es&tlng=es)
- Koyoc, V. C. (2020). Aislamiento de Fitopatógenos en Variedades de Caña de Azúcar y su Biocontrol con *Trichoderma spp. in vitro*. *AGROECOSISTEMAS TROPICALES*, 211.

- Landázuri, P. L. (2021). Descripción, características y beneficios de *Passiflora edulis*: parchita, fruto de la pasión, maracuyá. <https://repository.upb.edu.co/bitstream/handle/20.500.11912/9567/Descripcion%20caracteristicas%20maracuya.pdf?sequence=1>.
- López, C. G. (2004). Selección de cepas nativas de *Trichoderma spp.* con actividad antagonica sobre *Phytophthora capsici* Leonian y promotoras de crecimiento en el cultivo de chile (*Capsicum annum L.*). *Revista Mexicana de Fitopatología*, 22(1), 117-124. <https://www.redalyc.org/pdf/612/61222115.pdf>.
- López-Zapata, S. P.-Z. (2019). Manejo integrado del mal de Panamá *Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr. sp. cubense (EF SM.) WC Snyder & HN Hansen: una revisión. *Revista UDCA Actualidad & divulgación científica*, 22(2). <https://doi.org/10.31910/rudca.v22.n2.2019.1240>
- Luna, F. A. (2018). Especies nativas de *Trichoderma spp.* y su actividad antagonica contra *Meloidogine incognita* en *Solanum lycopersicum L.* *Investigación y Ciencia*, 26(73), 5-12. <https://www.redalyc.org/journal/674/67454781001/67454781001.pdf>.
- Martinez, B. (Abril de 2009). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Protección Vegetal*, 24(1). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522009000100002&lng=es&tlng=es
- Mejía, K. D. (2018). Control de *Phytophthora cinnamoni* en el cultivo de arándano (*Vaccinium corymbosum L.*) cv. Biloxi con diferentes aislamientos de *Trichoderma*. <https://hdl.handle.net/20.500.12996/3669>
- MENA-BAHENA, A. A.-S.-N.-S. (2023). «Antibiosis *in vitro* de *Trichoderma spp.*, contra *Rhizopus stolonifer* en fresa». *FORO DE ESTUDIOS SOBRE GUERRERO*, 7(1), pp. 77–82. <https://revistafesagro.cocytieg.gob.mx/index.php/revista/article/view/637>
- Méndez, R. C. (2019). Caracterización de *Fusarium spp.*, fitopatógeno de arándano (*Vaccinium corymbosum L.*).
- Morales Palacio, M. N.-G. (2014). Caracterización morfológica y evaluación de resistencia a *Fusarium oxysporum* en especies silvestres del género *Solanum* sección *Lycopersicon*. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 16(1), 62-73. <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v16n1.38259>

- Murillo, B. G. (2016). Manejo ecológico en frutilla aplicando *Trichoderma sp.* como promotor de crecimiento y controlador biológico de *Botrytis cinerea*. *Avances en Energías Renovables y Medio Ambiente*, 20. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/141728>
- Navarro Velasco, G. Y. (2013). Identificación de nuevos componentes de la ruta TOR de *Fusarium oxysporum* y determinación de su papel en la patogénesis. <http://hdl.handle.net/10396/11492>
- Otahola Gómez, V. A. (2010). Regeneración *in vitro* de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* y *Passiflora quadrangularis* utilizando dos tipos de explantes provenientes de plantas adultas y bencilaminopurina. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3909842> .
- Péndola, F. F. (1997). Estudio global para identificar oportunidades de mercado de frutas y hortalizas de la región andina . En F. Ferrucci, & PROCIANDINO (Ed.), *Estudio global para identificar oportunidades de mercado de frutas y hortalizas de la región andina* (pág. 171). Quito: IICA. <https://repositorio.iica.int/handle/11324/20278>
- Pincay, A. N. (2021). Evaluación *in vitro* del potencial antagonista de *Trichoderma sp.* y hongos endófitos de mora (*Rubus glaucus* Benth) para el control de *Botrytis cinerea*. *Journal of Science and Research*, 6(1), 109-124. <https://revistas.utb.edu.ec/index.php/sr/article/view/895>
- Quiroz-Sarmiento, V. F.-C. (2008). Antagonismo *in vitro* de cepas de *Aspergillus* y *Trichoderma* hacia hongos filamentosos que afectan al cultivo del ajo. *Revista mexicana de micología*, 26, 27-34. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802008000100005&lng=es&tlng=es.
- Retana, K., Ramírez-Coché, J. A., Castro, O., & Blanco-Meneses, M. (2018). Caracterización morfológica y molecular de *Fusarium oxysporum* f. sp. *apii* asociado a la marchitez del apio en Costa Rica. *Agronomía costarricense*, 42(1), 115-126. <http://dx.doi.org/10.15517/rac.v42i1.32199>
- Robles, J. A. (2010). Cultivo de Maracuyá. En J. A. Robles, & G. R. Agraria (Ed.), *Cultivo de Maracuyá* (págs. 19-20). Trujillo. https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/13329/43718_55460.pdf.
- Ruiz-Cisneros, M. F.-P.-O.-M.-A.-C.-P. (2018). Efecto de *Trichoderma spp.* y hongos fitopatógenos sobre el crecimiento vegetal y calidad del fruto de jitomate. *Revista mexicana de fitopatología*, 36(3), 444-456. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1804-5>
- Samaniego-Fernández, L. M.-C.-E. (2018). Aislamiento, identificación y evaluación de cepas autóctonas de *Trichoderma spp.* antagonistas de patógenos del suelo. *Revista de*

- Protección Vegetal*, 33(3). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522018000300003&lng=es&tlng=pt.
- Torres, G. A. (2000). Algunos aspectos de los hongos del género *Fusarium* y de la especie *Fusarium oxysporum*. *Agronomía colombiana*, 17(1-3), 11-16. <http://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/>.
- Ugaz Bustamante, A. C. (2022). Estudio *in vitro* del efecto inhibitorio del extracto etanólico de la *passiflora edulis* sobre la cepa de *estreptococcus mutans* realizado en Lima-Perú 2022. <https://hdl.handle.net/20.500.13053/7307>
- Umaña-Castro, J. O.-C.-C.-B. (2019). Molecular Identification and Physiological Characteristics of *Trichoderma* Isolates for the Biocontrol of Two Pathogens in Pineapple. *Revista de Ciencias Ambientales*, 53(1), 125-142. <http://dx.doi.org/10.15359/rca.53-1.7>
- Vásquez-Ramírez, L. M.-Z. (2017). Manejo integrado de la marchitez vascular del tomate [*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (SACC.) WC SNYDER & HN HANSEN]: una revisión. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 20(2), 363-374. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262017000200014&lng=en&tlng=es.
- Zambrano, C. (1989). Efecto de la concentración de inóculo de *Trichoderma harzianum* sobre el desarrollo de *Macrophomina phaseolina*. Trujillo-Venezuela.
- Zapata, S. R. (2012). *Trichoderma spp* biocontrolador y promotor de crecimiento: una alternativa al uso de agroquímicos en cultivos intensivos. *Avances en energías renovables y medio ambiente*, 16. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/129694>
- Zhang, C. I. (2005). *Trichoderma* biodiversity in China: evidence for a north to southern distribution of species in East Asia. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.08.034>

VII. ANEXOS

“PREPARACIÓN DE MEDIO PDA”



Anexo 1. Pesado de medio PDA.

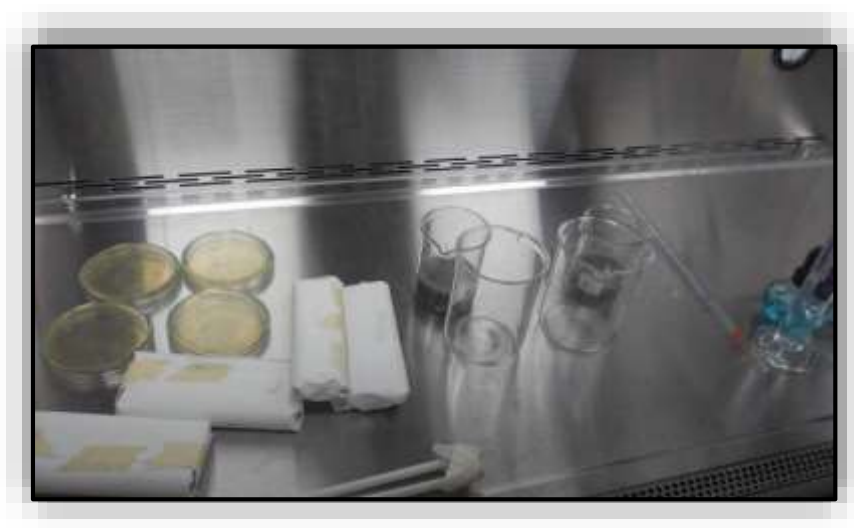


Anexo 2. Medio PDA.



Anexo 3. Placas Petri con medio PDA.

“AISLAMIENTO DE *Trichoderma sp.* y *Fusarium oxysporum*”



Anexo 4. Preparación de diluciones para los aislamientos.













Anexo 5. Selección de Trichoderma sp.



Anexo 6. Selección de Fusarium oxysporum.

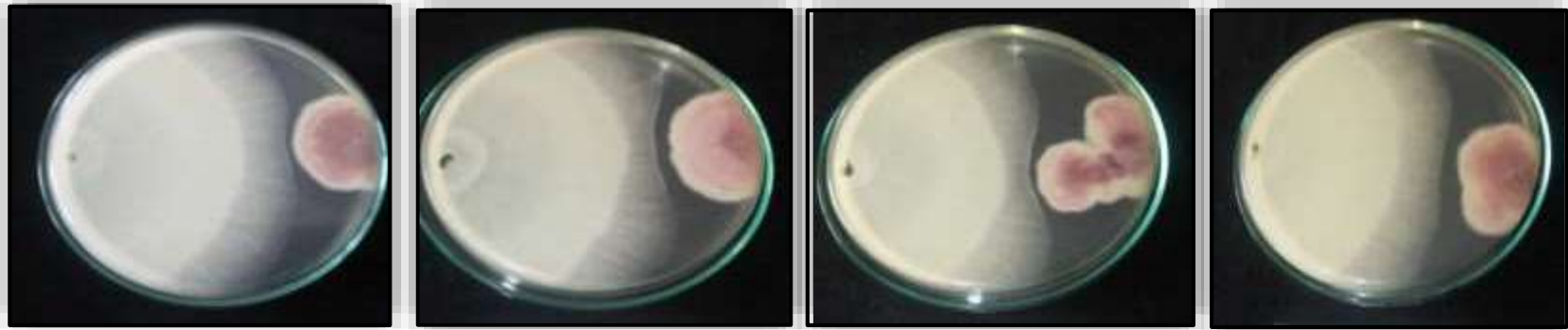
“CEPAS DE *Trichoderma* sp.”

Anexo 7. Aislamientos de *Trichoderma* sp. con sus codificaciones respectivas.

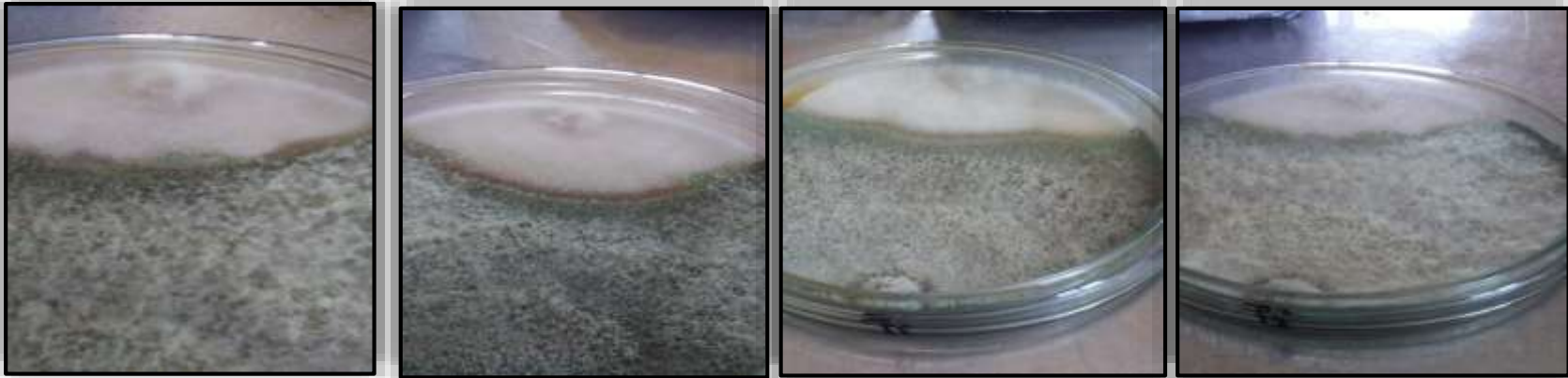
<p>Id. Cepa: TPS1</p> 	<p>Id. Cepa: TPS2</p> 
<p>Id. Cepa: TVS3</p> 	<p>Id. Cepa: TPS4</p> 
<p>Id. Cepa: TPR5</p> 	<p>Id. Cepa: TPR6</p> 
<p>Id. Cepa: TPR7</p> 	<p>Id. Cepa: TFR8</p> 
<p>Id. Cepa: TDL9</p> 	<p>Id. Cepa: TDL10</p> 

Fuente: Creación propia.

“EVALUACIÓN ANTAGONICA *IN VITRO* DE *Trichoderma sp.* CONTRA *Fusarium oxysporum*”



Anexo 8. Evaluación del “MECANISMO POR COMPETENCIA” de *Trichoderma sp.* contra *Fusarium oxysporum*.



Anexo 9. Evaluación del “MECANISMO POR MICOPARASITISMO” de *Trichoderma sp.* contra *Fusarium oxysporum*.

**“CRECIMIENTO RADIAL, %ICM Y CAPACIDAD ANTAGONICA DE
Trichoderma sp. CONTRA *Fusarium oxysporum*”**

Anexo 10. Promedio de crecimiento radial y %ICM de Trichoderma sp. contra Fusarium oxysporum”.

Promedio del crecimiento radial de las CEPAS DE TRICHODERMA SP									
T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10
6.50	6.12	6.02	6.11	5.76	6.32	6.50	6.44	6.98	6.58
Promedio de crecimiento radial de FUSARIUM OXYSPORUM									
2.36	2.51	2.99	2.38	2.41	2.19	2.33	2.39	2.13	2.20
PORCENTAJE DE INHIBICIÓN MICELIAL (%)									
T1 vs F	T2 vs F	T3 vs F	T4 vs F	T5 vs F	T6 vs F	T7 vs F	T8 vs F	T9 vs F	T10 vs F
68.95	66.96	60.66	68.68	68.29	71.18	69.34	68.55	71.97	71.05
CAPACIDAD ANTAGÓNICA									
1	1	1	1	2	1	2	3	5	2

Fuente: Creación propia.

**“EVALUACIÓN ANTAGÓNICA *In vivo* DE *Trichoderma sp.* CONTRA
Fusarium oxysporum”**

Anexo 11. Análisis de varianza de supervivencia con el primer tratamiento 10⁶.

Cepas de <i>Trichoderma sp.</i> C: 10 ⁶	SUPERVIVENCIA			MEDIA
	I	II	III	
TPS1	7	6	8	7
TPS2	5	5	6	5
TVS3	6	6	7	6
TPS4	5	5	6	5
TPR5	4	4	7	5
TPR6	6	6	8	7
TPR7	5	5	6	5
TFR8	8	7	8	8
TDL9	10	9	9	9
TDL10	8	8	7	8

Fuente: Creación propia.

Anexo 12. *Análisis de varianza de incidencia de enfermedad con el primer tratamiento 10^6 .*

Cepas de <i>Trichoderma</i> <i>sp.</i> <i>C: 10⁶</i>	INCIDENCIA DE ENFERMEDAD			MEDIA
	I	II	III	
TPS1	2	3	1	2
TPS2	3	2	1	2
TVS3	2	1	0	1
TPS4	3	1	0	1
TPR5	5	4	1	3
TPR6	4	2	0	2
TPR7	3	1	0	1
TFR8	2	1	0	1
TDL9	0	1	1	0.7
TDL10	1	0	1	0.7

Fuente: Creación propia.

Anexo 13. *Análisis de varianza de la mortalidad con el primer tratamiento 10^6 .*

Cepas de <i>Trichoderma</i> <i>sp.</i> <i>C: 10⁶</i>	MORTALIDAD			MEDIA
	I	II	III	
TPS1	1	1	1	1
TPS2	2	3	3	3
TVS3	2	3	3	3
TPS4	2	4	4	3
TPR5	1	2	2	2
TPR6	0	2	2	1
TPR7	2	4	4	3
TFR8	0	2	2	1
TDL9	0	0	0	0
TDL10	1	2	0	1

Fuente: Creación propia.

Anexo 14. *Análisis de varianza de supervivencia con el segundo tratamiento 10^8 .*

Cepas de <i>Trichoderma sp.</i> C: 10^8	SUPERVIVENCIA			MEDIA
	I	II	III	
TPS1	10	9	10	9.7
TPS2	10	9	8	9
TVS3	9	8	9	8.7
TPS4	10	8	9	9
TPR5	9	8	8	8.3
TPR6	10	9	8	9
TPR7	10	8	9	9
TFR8	9	8	9	8.7
TDL9	10	10	10	10
TDL10	10	9	9	9.3

Fuente: Creación propia.

Anexo 15. *Análisis de varianza de incidencia de enfermedad con el segundo tratamiento 10^8 .*

Cepas de <i>Trichoderma sp.</i> C: 10^8	INCIDENCIA DE ENFERMEDAD			MEDIA
	I	II	III	
TPS1	0	1	0	0.3
TPS2	0	0	1	0.3
TVS3	1	1	0	0.7
TPS4	0	2	1	1
TPR5	1	1	0	0.7
TPR6	0	1	1	0.7
TPR7	0	2	0	0.7
TFR8	1	2	0	1
TDL9	0	0	0	0
TDL10	0	1	0	0.3

Fuente: Creación propia.

Anexo 16. Análisis de varianza de la mortalidad con el segundo tratamiento 10^8 .

Cepas de <i>Trichoderma sp.</i> C: 10^8	MORTALIDAD			MEDIA
	I	II	III	
TPS1	0	0	0	0
TPS2	0	1	1	0.7
TVS3	0	1	1	0.7
TPS4	0	0	0	0
TPR5	0	1	2	1
TPR6	0	0	1	0.3
TPR7	0	0	1	0.3
TFR8	0	0	1	0.3
TDL9	0	0	0	0
TDL10	0	0	1	0.3

Fuente: Creación propia.

“PROCEDIMIENTO DE CONTEO DE conidios/ml de *Trichoderma sp.* EN CÁMARA NEUBAUER”

- Se preparó una suspensión de conidios de *Trichoderma sp.* con solución salina, raspando los conidios de una colonia y suspendiéndolos en el líquido.

Anexo 17. Conidios de las cepas de *Trichoderma sp.*

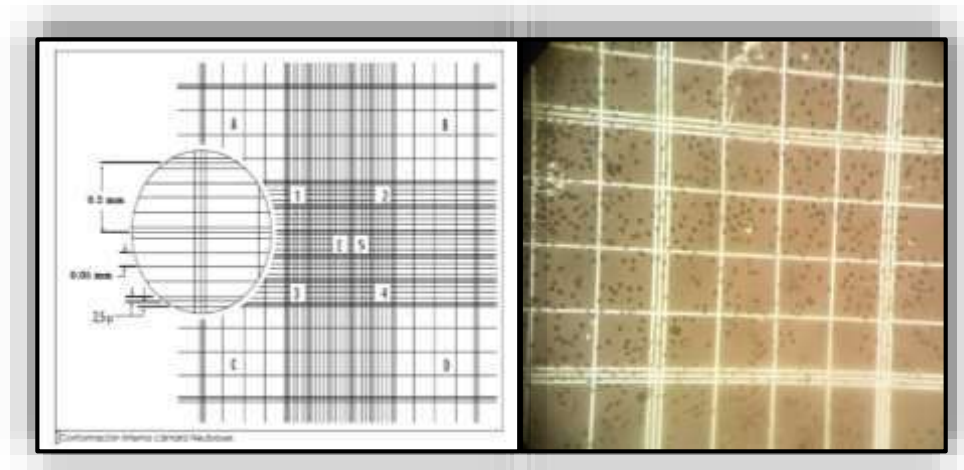


- Se colocó una pequeña cantidad de suspensión de conidios en los bordes de la cámara de Neubauer, con la ayuda de una micropipeta y evitando la formación de burbujas.

- Luego se colocará la cámara de Neubauer en el microscopio, enfocando un campo de visión de baja potencia para tener un campo amplio y se comenzará a contar los conidios de las cuadrículas.
- Se utilizó la fórmula de la cámara de Neubauer para calcular la concentración (conidios/ml):

$$\frac{N^{\circ} \text{ Total de Conidios}}{N^{\circ} \text{ Total de Cuadriculas}} * \frac{\text{Factor de dilución}}{\text{Volumen de la Cámara Neubauer (ml)}}$$

Anexo 18. *Conteo de conidios/ml de Trichoderma sp. en cámara neubauer.*



Fuente: Creación propia.

“EVALUACIÓN DE LA ACCIÓN PROMOTORA DE CRECIMIENTO DE *Trichoderma sp.*”

Anexo 19. *Toma de datos semanales, de la altura de la plántula (cm) de Maracuyá (*Passiflora edulis*).*

Cepas de <i>Trichoderma sp.</i> C: $10^8/10^{10}$	ALTURA DE PLÁNTULA (cm)					
	I		II		III	
TVS3	14	17	15	17	17	18
TDL9	19	19	18	22	20	21

Fuente: Creación propia.

Anexo 20. Toma de datos semanales, de la longitud de raíz (cm), de las plántulas de Maracuyá (*Passiflora edulis*).

Cepas de <i>Trichoderma sp.</i> C: $10^8/10^{10}$	LONGITUD DE RAÍZ (cm)					
	I		II		III	
TVS3	15	16	13	14	14	13
TDL9	19	18	17	18	16	17

Fuente: Creación propia.

Anexo 21. Toma de datos semanales, del número de hojas de las plántulas de Maracuyá (*Passiflora edulis*).

Cepas de <i>Trichoderma sp.</i> C: $10^8/10^{10}$	NUMERO DE HOJAS					
	I		II		III	
TVS3	6	9	7	10	5	9
TDL9	7	7	7	8	6	8

Fuente: Creación propia.

Anexo 22. Crecimiento de las plántulas de Maracuyá (*Passiflora edulis*).



Fuente: Creación propia.