

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE QUITO

CARRERA:

INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de: INGENIEROS EN
BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES.**

TEMA:

**CAPACIDAD BIOENRAIZANTE DE *Trichoderma* spp. EN ROSAS (*Rosa* sp.) DE LA
VARIEDAD ATOMIC, CAYAMBE-ECUADOR.**

AUTORES:

BELTRÁN AVILÉS LEONARDO FABIÁN

PROAÑO AGUILAR JOSÉ CARLOS

DIRECTOR

Ramiro Daniel Acurio Vásquez

Quito, Julio del 2021.

Cesión de Derechos de Autor

Nosotros, LEONARDO FABIÁN BELTRÁN AVILÉS con cédula de ciudadanía N° 1721162558 y JOSÉ CARLOS PROAÑOS AGUILAR con cédula de ciudadanía N° 1721821625, manifestamos nuestra voluntad y cedemos a la UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA y AGRO-IMPROLAB la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de nuestra autoría del trabajo experimental que se titula “CAPACIDAD BIOENRAIZANTE DE *Trichoderma* spp. EN ROSAS (*Rosa* sp.) DE LA VARIEDAD ATOMIC, CAYAMBE-ECUADOR”, con la finalidad de obtener el título de INGENIEROS EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES. Por lo cual, ambas partes, quedan facultadas para ejercer plenamente los derechos cedidos con anterioridad.

En aplicación a lo que determina la Ley de la Propiedad Intelectual, en nuestra condición de autores nos reservamos los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribimos este documento en el momento que hacemos entrega del trabajo final en digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.



Proaño José
1721821625



Beltrán Leonardo
1721162558

Quito, julio del 2021.

Declaratoria de co-autoría del docente tutor.

Yo, Ramiro Daniel Acurio Vásquez, declaro que bajo mi dirección y asesoría fue desarrollado el trabajo de titulación, "CAPACIDAD BIOENRAIZANTE DE *Trichoderma* spp. EN ROSAS (*Rosa* sp.) DE LA VARIEDAD ATOMIC, CAYAMBE-ECUADOR", realizado por Leonardo Fabián Beltrán Avilés con documento de identificación N°1721162558 y José Carlos Proaño Aguilar con documento de identificación N°1721821625; obteniendo un producto que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana, para ser considerado como trabajo final de titulación.

Quito, Julio de 2021.



Ramiro Daniel Acurio Vásquez

CI: 1714819495

Dedicatorias

A mi mamá, Eugenia, ya que a pesar de todo nunca dejó de creer en mí, de animarme, proveerme de todo lo que a ella un día le pudo faltar y enseñarme que no hay mejor recompensa que la que uno consigue sin pisotear a los demás, con humildad y esfuerzo; a mis hermanos Santiago, William, René y Germania por ser los guías que me criaron y ayudaron a ver al mundo de distintas maneras; a Ethan y Cail por ser mis mejores amigos y mis pequeñas ‘baterías’ que me ayudan a recargarme en tiempos donde todo se nubla y hay que seguir. Y de manera especial a mi papá René Fabián (+), pues no dudó en enseñarme como los valores, el enfoque y la dedicación te ayudan a mantenerte en el camino para cumplir tus objetivos. Espero ser el gran hombre que fuiste conmigo, te extraño y esto es por ti.

Leo

A mis padres, Yolanda y Patricio por siempre estar a mi lado ante cualquier circunstancia de la vida, quienes supieron guiarme y apoyarme para seguir adelante, por el amor tan grande que ellos emanan, por ser parte de mis victorias y derrotas a ellos dedico este pequeño logro que hoy por hoy ya es una meta más cumplida gracias. A mis hermanos Jhadira y Roberto quienes son parte fundamental de mi vida, por darme el cariño que solo ellos saben dar a su manera y finalmente dedico este logro al ser máspreciado en mi vida a mi hija Isabella quien desde el día que llego cambio mi mundo, ha sido la mayor alegría de mi vida, mi motor para seguir adelante y la razón misma de vivir te amo mi pequeña (todo es por ti).

José

Agradecimientos

Con mucho cariño quiero dejar plasmado en este texto a Jorge y Priscila, personas a las que agradezco su amistad duradera y sincera, así como las experiencias vividas. Especiales gracias a mi compañero y gran amigo José Proaño por ser un tremendo ‘co-piloto’ en este proyecto en el que decidimos aventurarnos. Del mismo modo a mi familia y novia, a quienes agradezco su compañía, consejos y apoyo en todo este trayecto.

Leo

De todo corazón agradezco a mi familia por todo, a mis amigos de la Universidad todos y cada uno de ellos con sus respectivas anécdotas, a mi amigo Leonardo Beltrán por sus consejos (habladas*) y las travesías vividas, a mis amigas Priscila y Jenny a quienes estimo mucho, a Karla por todas las risas y el apoyo, a Tatiana que a pesar de las adversidades tuvo su apoyo y finalmente gracias a todos mis amigos quienes comparte muchas de mis pasiones y han sido el fundamento y una gran parte de mi vida.

José

Nos gustaría dar gracias al Ingeniero Rodrigo Hidalgo y a Juan Carlos Houdek por permitirnos entrar en su emprendimiento, empezar nuestra experiencia profesional y nuestro primer ensayo marcaron de manera muy grata la recta final de nuestros estudios.

Por último, pero no menos importante, gracias totales a nuestro tutor Daniel Acurio por ser parte de este proyecto que somos conscientes presentó un reto por las actuales circunstancias que el mundo está pasando.

INDICE

Capítulo I	1
1. Introducción	1
Capítulo II.....	4
2. Marco Conceptual.....	4
2.1. El cultivo de rosa como ente productivo	4
2.2. Variedades poco productivas con miras comerciales	4
2.3. Agentes desbloqueadores como componentes benéficos del suelo.....	5
2.4. Microorganismos de interés para la agricultura	6
2.5. Hongos benéficos	7
2.5.1. Hongos con actividad bioenraizante	7
2.5.2. Principales especies de <i>Trichoderma</i> spp. involucradas en la agricultura	8
2.5.3. Clasificación taxonómica	10
2.5.4. Morfología.....	11
2.5.5. Sistemas de producción	12
Capítulo III	14
3. Materiales y Métodos.....	14
3.1. Fase de laboratorio.....	14
3.1.1. Área de trabajo	14
3.1.2. Obtención de las cepas	14
3.1.3. Reactivación de la cepa	14

3.1.4.	Realización del cepario de proyecto y cepas de trabajo.....	15
3.1.5.	Análisis del biopreparado.....	15
3.2.	Fase de Producción.....	17
3.2.1.	Cepas de trabajo	17
3.2.2.	Preparación de solución madre	17
3.2.3.	Preparación del sustrato	17
3.2.4.	Preparación de fundas	18
3.2.5.	Siembra.....	19
3.2.6.	Cosecha	20
3.3.	Fase de campo	20
3.3.1.	Ubicación	20
3.3.2.	Características ambientales de la zona	21
3.3.3.	Características del suelo	21
3.3.4.	Inoculación	22
3.4.1.	Tratamientos.....	23
3.5.	Diseño experimental.....	24
3.5.1.	Variables.....	25
3.5.2.	Manejo de cultivo.....	25
Capítulo IV.....	28	
4. Resultados y Discusión	28	
4.1.1.	Concentración del biopreparado.....	28
4.2.1.	Longitud de tallo	29

4.2.2.	Ancho de botón	31
4.2.3.	Conteo de pelos absorbentes	34
5.	Conclusiones	36
6.	Recomendaciones	37
	Bibliografía	38
	Anexos	45

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tabla de dosificación por tratamiento.....	23
Tabla 2. Programa de fertilización.....	26
Tabla 3. Programa de Fumigación.....	27
Tabla 4. Análisis de varianza de la variable “longitud de tallo”.....	29
Tabla 5. Análisis de varianza de la variable “ancho de botón”.....	32
Tabla 6. Análisis de varianza de la variable “conteo de pelos absorbentes”.....	34

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Estructuras del género <i>Trichoderma</i>	16
Figura 2. Estructuras del género <i>Trichoderma</i>	17
Figura 3. Homogenización del sustrato.....	18
Figura 4. Homogeneización del sustrato.....	18
Figura 5. Funda con sustrato para <i>Trichoderma</i> spp.....	19
Figura 6. Cuarto de incubación automatizado.....	20
Figura 7. Imagen satelital de FLORALSTAR	21
Figura 8. Distribución de los diferentes suelos de Juan Montalvo.	22
Figura 9. Inoculación en campo por parte de unos de los integrantes del proyecto.	23
Figura 10. Gráfica de la distribución de los tratamientos.	24
Figura 11. Diluciones seriadas a partir de la solución concentrada de <i>Trichoderma</i> spp.....	28
Figura 11. Observación por cámara de Neubauer.....	28

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Convenio de cooperación entre IMPROPACK CIA LTDA y la Universidad Politecnica Salesiana sede Quito para favorecer el desarrollo de trabajos de titulación por parte de estudiantes del nivel de grado de la UPS.....	45
Anexo 2. <i>Rosa</i> sp. variedad Atomic.....	46
Anexo 3. Etiquetado de plantas.....	46
Anexo 4. DBCA en campo	46
Anexo 5. Muestra del biopreparado.	46
Anexo 6. Montaje de placas para microscopía.	46
Anexo 7. Estados fenológicos de la rosa.....	46

Resumen

En la búsqueda de estar a la par de la producción y comercio florícola nacional e internacional, la preferencia por los agroquímicos se ha justificado con los beneficios ofrecidos por la “Revolución verde”, y cuyo descontrol en su uso son causantes de generar resistencia en plagas, contaminación y afecciones en el ser humano, efectos que han hecho indispensable la búsqueda de metodologías de producción más ecológicas. La finalidad de esta investigación fue evaluar 4 dosis de un biopreparado de *Trichoderma* spp. más un agente desbloqueador que combinados provean una acción enraizante en plantas de Rosa (*Rosa* sp. var. Atomic). Se evaluó la longitud del tallo, ancho de botón y el conteo de pelos absorbentes, para lo cual se aplicó un diseño en campo de 3 bloques con los tratamientos distribuidos completamente al azar, inoculando el biopreparado con una concentración de 1×10^7 UFC/mL, y se tomaron medidas los 7, 14 y 21 días de cada mes por 3 meses, y al conteo de los pelos absorbentes se tomaron las evaluaciones durante los 3 meses cada 15 días. Se concluyó que la aplicación del tratamiento cuatro (T4) que contenía 200 mL de *Trichoderma* spp. + 200 mL de agente desbloqueador, fue mejor para el parámetro de longitud de tallo, sin embargo no se obtuvieron resultados estadísticamente significativos para el ancho del botón ya que *Trichoderma* spp. no presenta actividad directa que favorezca a este parámetro, así como para el conteo de pelos absorbentes, sin embargo, los resultados fueron alentadores para estudios futuros.

Palabras clave: inoculación, agroquímicos, biopreparado, pelos absorbentes.

Abstract

In the quest to keep up with national and international flower production and trade, the preference for agrochemicals has been justified by the benefits offered by the "Green Revolution", and whose lack of control in their use is causing resistance to pests, pollution, and diseases in humans, effects that have made the search for more ecological production methodologies indispensable. The purpose of this research was to evaluate 4 doses of *Trichoderma* spp. plus an unblocking agent that combined provides a rooting action in Rosa plants (*Rosa* sp. var. Atomic). The length of the stem, button width, and the count of absorbent hairs were evaluated, for which a 3-block field design was applied with the treatments distributed completely at random, inoculating the bio-preparation with a concentration of 1×10^7 CFU/mL, and Measurements were taken on the 7th, 14th and 21st days of each month for 3 months, and when the absorbent hairs were counted, evaluations were taken during the 3 months every 15 days. It was concluded that the application of treatment four (T4) containing 200 mL of *Trichoderma* spp. + 200 mL of unblocking agent was better for the parameter of stem length, however statistically significant results were not obtained for the width of the bud since *Trichoderma* spp. It does not present direct activity that favors this parameter, as well as for the count of absorbent hairs, however, the results were encouraging for future studies.

Keywords: Inoculation, agrochemicals, bio-preparation, absorbent hairs.

Capítulo I

1. Introducción

Desde los inicios de la agricultura moderna, esta se ha visto envuelta en un sinnúmero de manipulaciones humanas que le permitan sacar el mayor provecho de la misma y eso ha desembocado a lo largo de las décadas en que existan efectos medio ambientales graves que causados los diversos cambios y afecciones ecológicas que el mundo han venido sufriendo hasta el día de hoy. La industria agrícola lleva casi medio siglo utilizando productos químicos-sintéticos que aseguran una alta producción para cumplir con la demanda que su comercio requiere, con menos incidencia de enfermedades sobre los cultivos y mejorando su rentabilidad. Es a partir de esta primicia generada por la “revolución verde” (1943), que se desarrollaron tecnologías innovadoras que respaldaban el uso de herbicidas, pesticidas, fertilizantes sintéticos altamente nitrogenados, semillas sintéticas y ‘en algunos casos’ variedades mejoradas, los cuales son paquetes de agro-insumos que incrementaban la capacidad de producción de un cultivo hasta un 300 %, en comparación con una agricultura convencional más sostenible, y afectan, en su uso, al equilibrio ambiental y con el tiempo los resultados van dejando de ser ‘altamente’ favorables (Ceccon, 2014).

Debido al uso desmedido y sin supervisión de esta gama de productos se ha ido generando un sinnúmero de problemas, como el endurecimiento de suelos, contaminación de agua, aire y enfermedades en humanos, aumento de resistencia en plagas y enfermedades referentes a monocultivos los cuales se ven más afectados por una gran diversidad de patógenos. Debido a estas diversas causas y problemas, se ha buscado alternativas para el desarrollo de estrategias que no tengan un impacto negativo en sus alrededores, las cuales se centren en el medio ambiente y la protección de los recursos naturales, por lo que, es imprescindible una práctica agrícola más sostenible, es así que en tiempos actuales, el humano, en su afán de enmendar su

mismo desastre ha optado por reiniciar ciertas prácticas que aseguren producciones ecológicamente más saludables, es aquí donde tienen sentido los insumos para una producción orgánica y agro-ecológica, la que nos permite tener una comprensión del suelo, de cómo los nutrientes son asimilados por las plantas, el manejo de plagas, genética de los cultivos y de las interacciones que se encuentran en el medio (Ovalle, 2013), ayudando a combatir problemas de cultivo, mejorar su producción, reducir la incidencia plagas y enfermedades, sin trastocar su balance biológico mediante el uso de organismos benéficos, mientras un producto de síntesis química mata la mayoría de vida de los micro-ecosistemas del cultivo y hace “dependientes” del mismo (Ceccon, 2014; Hernández et al., 2019).

El uso de agroquímicos para el control de plagas y enfermedades y el inevitable daño que estas generan, ha llevado al agricultor a buscar opciones de tipo biológico, como es el caso de *Trichoderma* spp. un hongo saprófito que en tiempos recientes ha sabido llamar la atención por su facilidad de adaptación a diferentes condiciones, demostrando ser un hongo cosmopolita y versátil, y además capaz de hacer frente a diferentes fitopatógenos que afectan la producción tanto en rendimiento como en calidad (B Martínez et al., 2013).

Diversas especies de este género están asociadas con la rizósfera de plantas o pueden relacionarse de manera endofítica, por lo que pueden promover el crecimiento y desarrollo de las plantas, mediante la producción de auxinas y giberelinas; además de ello producir ácidos orgánicos (glucónico, fumárico, y cítrico) los cuales ayudan a disminuir el pH del suelo y propiciar la solubilización de fosfatos, magnesio, hierro y manganeso, indispensables para el metabolismo vegetal (Companioni et al., 2019; Torres et al., 2015).

Se ha sabido ya, que la familia a la que es perteneciente este hongo ha tenido muy buenos resultados, tal es el caso del *Trichoderma harzianum* que junto con extractos vegetales actúa como estimulante protector radicular contra *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Pythium* y *Phytophthora*.

El hongo actúa como hiperparásito por una combinación de competencia de nutrientes, producción de metabolitos tóxicos y enzimas hidrolíticas y mico-parasitismo; además produce sustancias promotoras del crecimiento de las plantas (Hernández et al., 2019). En una investigación previa de (Sandoval et al., 2016), afirman que la aplicación de *Trichoderma* spp. es importante, ya que ayuda en el control de patógenos de la raíz y órganos adultos de la planta así como al desarrollo y fortalecimiento de la raíz.

Es por ello que la empresa IMPROPACK en el afán de crear un laboratorio con propósitos agrícolas para generar una producción más limpia en la zona relacionada a la producción de flores, crea AGRO-IMPROLAB, laboratorio fundado en el año 2020 para la producción de hongos y otros microorganismos benéficos, enfocados en mejorar la producción de raíces, controlar plagas y enfermedades, y reducir el uso de agroquímicos.

La presente investigación se enfocó en comprobar la eficiencia y eficacia de los microorganismos que se están produciendo para su comercialización. Por lo que el propósito principal de esta investigación fue verificar la capacidad bioenraizante del hongo *Trichoderma* spp. para ser usado en uno de los bloques de la florícola FLORALSTAR, cuyas instalaciones se encuentran concentradas en el cantón Cayambe (Pichincha-Ecuador). Entre los objetivos específicos que se tuvo en cuenta fue realizar un biopreparado de *Trichoderma* spp. para ser aplicado a nivel de rizósfera como estimulante de plantas de Rosa (*Rosa* sp. var. Atomic), determinar la respuesta de enraizamiento al aplicar diferentes dosis de *Trichoderma* spp., y analizar el efecto de las diferentes dosis de cepas de *Trichoderma* spp. en características de interés comercial como longitud de tallo y tamaño de botón floral.

Capítulo II

2. Marco Conceptual

2.1. El cultivo de rosa como ente productivo

En Ecuador, el cultivo de rosa fue concebido desde el siglo XIX, sin embargo su auge comercial no se generó sino hasta finales de la década de los 80's, pues factores como las diversas geografías y climas presentes en el país son ese motor que impulsa a la producción de esta y otras especies vegetales, que son altamente apreciadas por el mercado nacional e internacional (Guallasamin & Simón, 2018).

Para el año 2016 el Ecuador consiguió ser el tercer exportador de rosas a nivel mundial con las variedades más representativas como son Freedom, Explorer, Tara, Vendela, etc. Y para el 2020 fue el segundo a pesar de un ligero decrecimiento por la pandemia, representado cerca del 70 % de todo el volumen de comercio de este tipo y siendo el cuarto producto que genera ingresos de manera general al país después de la explotación petrolera y otros elementos comerciales (EXPOFLORES, 2020; Guallasamin & Simón, 2018).

2.2. Variedades poco productivas con miras comerciales

La producción de rosas resulta ser un producto altamente competitivo a nivel nacional e internacional, dado que se busca características agronómicas que resalten a la vista dado que muchas son utilizadas como adornos o detalles, y a pesar que en su mayoría se comercializan variedades “clásicas”, se conoce que en Ecuador existen más de un millar de variedades en el Ecuador que constan de híbridos resultantes de cruces entre variedades conocidas, se estima que grandes florícolas exportadores llegan a realizar hasta 400 cruces entre variedades con la finalidad de evaluar no solo su productividad, si no sus colores, calibre y longitud, para que sean apetecibles al comercio extranjero y local (Sánchez, 2006).

De todos estos cruces se obtienen variedades como Delphinium, Mini-calas, Lisianthus, y Atomic, siendo esta última una de las especies con características llamativas e innovadoras pero que muchas veces no llega a ser sostenible en el mercado a largo plazo y fracasa siendo un buen producto, mayoritariamente por problemas de producción y desarrollo, como la reducida aparición de brotes en un tiempo determinado y la inequidad en el cumplimiento de los aspectos agronómicos estándar (diámetro del botón y longitud del tallo) (Sánchez, 2006).

2.3. Agentes desbloqueadores como componentes benéficos del suelo

En muchos casos los campos agrícolas después de incontables años bajo el uso de distintas sustancias sintéticas, acaban deteriorando la capacidad de que en su suelo exista actividad física, química y biológica que por naturaleza debería estar constantemente ocurriendo, para que su equilibrio posteriormente se traduzca en ‘desarrollo vegetal’ y evite el estrés en las plantas, lo cual conlleva a muchas veces tener que utilizar diversos agentes ‘desbloqueadores’ del suelo dentro de los cuales se conocen a las sustancias húmicas (SH) y extractos de algas marinas. Esto debido a que en la contemporaneidad se ha encaminado a las sustancias húmicas como macromoléculas orgánicas bio-estimulantes provenientes de la descomposición de material orgánico, y que permiten desencadenar una respuesta vegetal favorable frente a estas condiciones de estrés vegetal, y que para su entendimiento fraccionaremos a este grupo en ácidos húmicos (AH) y ácidos fúlvicos (AF), (R. López et al., 2014; Veobides et al., 2018).

Los ácidos húmicos, son moléculas polielectrolíticas solubles a pH alcalino que desempeñan un gran papel en los ciclos de carbono y nitrógeno, en la regulación de la movilidad y biodisponibilidad de nutrientes en el suelo, y tienen diversos estudios que lo ubican como protagonista en el desarrollo de diversas especies vegetales y de algas, debido a la biosíntesis de metabolitos, entre otras acciones bioquímicas de interés tanto para la especie vegetal en cuestión como para su interacción con los demás componentes de una fórmula ‘desbloqueadora’ de suelo (Rivera et al., 2017).

En cuanto a los ácidos fúlvicos, de igual manera son moléculas importantes en la estabilidad del suelo pues mantienen los cationes en forma disponible para la raíz y favorece su movilización hacia la misma, y mantiene la humedad y aireación del suelo lo que conlleva a un buen desarrollo de la raíz de las plantas (Rosales et al., 2015)

Por último, y bajo el mismo principio se ha propuesto a las algas marinas dentro de este campo, pues sus extractos contienen materiales bio-activos como minerales, vitaminas, reguladores de crecimientos y muchos otros nutrientes que al entrar en contacto con las capas superiores del suelo, permiten humectarlo y nutrirlo, no solo por la calidad y cantidad de sus componentes activos, sino por la interacción que los mismos llevan a cabo con las poblaciones de microorganismos terrestres que pueden beneficiar el desarrollo de la especie vegetal en cuestión (Zermeño et al., 2018).

2.4. Microorganismos de interés para la agricultura

Debido al uso intensivo de químicos sintéticos para compensar la demanda de productos agrícolas (alimentos, flores de verano, rosas, etc.), los ecosistemas agrícolas han ido agotando sus características esenciales y con el pasar de las décadas, se han vuelto estériles, inhóspitos, y poco viables para el desarrollo vegetal y su ingesta saludable al final de la cadena productiva. Sin embargo, nuevas estrategias han surgido para poder entregar productos más sanos al consumidor y amigables con el ambiente, y dentro de muchas, la identificación, selección y producción a gran escala de microorganismos benéficos ha sido una de las más aceptables.

Dentro de esto, conocemos a microorganismos como *Rhizobium etli* que es un excelente fijador de nitrógeno, *Burkholderia tropica* se encarga de solubilización de fósforo, y *Trichoderma* spp. que está presente en procesos como la solubilización de magnesio y hierro, entre otros (Pazos-Rojas et al., 2016). Con lo cual se puede provocar un mejor desarrollo vegetal y estimular la

producción sin los efectos adversos que los mecanismos sintéticos provocan en el ecosistema agrícola y en general.

2.5. Hongos benéficos

Estos hongos son organismos biológicos de los cuales se han realizado una diversidad de estudios científicos que han podido justificar las ventajas de su uso en preparados fúngicos en distintos cultivos de interés como papa, arroz, maíz, bananas, moras, etc. y por lo cual son muy apreciados. Entre los principales representantes del reino fungi aplicados en la agricultura tenemos los hongos de los géneros *Trichoderma* y *Beauveria* que son agentes biológicos con eficiencia ya probada en el control de plagas a través de distintos mecanismos de acción como micoparasitismo, antibiosis y competencia (Viera-Arroyo, 2020).

2.5.1. Hongos con actividad bioenraizante

Los organismos fúngicos por excelencia para este fin son hongos micorrízicos de los géneros *Piriformospora*, *Oidiodendron*, etc. Conocidos como Hongos Formadores de Micorrizas Arbusculares (HFMA), que prosperan en simbiosis con la planta y le facilitan el acceso a nutrientes de baja disponibilidad o movilidad y reduciendo su estrés de ser necesario, además de que en la actualidad se ha descubierto que algunos de ellos son capaces de incrementar y mejorar la formación de raíces en plantas con baja tasa de enraizamiento o en esquejes recién plantados (Justice et al., 2018; Wei et al., 2020).

Además se ha acrecentado también la confianza, en los últimos años, en el género *Trichoderma* que por excelencia, representa uno de los mejores aliados de las plantas y sus raíces, pues este hongo es capaz de sintetizar por sí mismo algunas hormonas de interés para la planta como ácido 3-indol acético (AIA) y ácido giberélico (AG), así también solubiliza compuestos como fosfatos, hierro (Fe), Magnesio (Mg) y Manganeso (Mn) (Acurio & España, 2017).

2.5.2. Principales especies de *Trichoderma* spp. involucradas en la agricultura

El género *Trichoderma* posee una amplia gama de especies que habitan en la rizósfera del suelo, teniendo un amplio rango de temperatura (25-30 °C) para su desarrollo óptimo, gracias a la naturaleza saprofítica lo que le permite desarrollarse en distintos tipos de sustratos facilitando su producción (Hernández et al., 2019; Benedicto Martínez et al., 2015).

Aunque se conoce una cantidad enorme de *Trichodermas* presentes en los suelos Ecuatorianos, las principales especies inmiscuidas en el sector agrícola son *T. asperellum*, *T. harzianum* y *T. viride* que presentan un aumento en la producción de los cultivos, así como en su protección y en algunos mejorando las cualidades de enraizamiento de especies vegetales de interés para la economía nacional y regional como suelen ser el banano, mora, palma aceitera, entre otros, que de a poco y por factores previamente explicados han ido estancando o hasta reduciendo su capacidad productiva, así como su calidad (Hernández et al., 2019; Viera et al., 2019).

Gracias a que también pueden asociarse a plantas de una manera endofítica facilita el desarrollo y crecimiento de las plantas, mediante la producción de auxinas (AIA) y giberelinas (AG) como factores de crecimiento, además de ello estos géneros pueden producir una gran variedad de ácidos orgánicos (glucorónico, fumárico, y cítrico), permitiendo disminuir el pH del suelo para solubilizar fósforo, magnesio, hierro y manganeso los cuales son componentes vitales para el metabolismo vegetal (Argumedo et al., 2009; Hernández et al., 2019).

Además de ello estos microorganismos habitan zonas agrarias con una gran cantidad de materia orgánica y alta densidad de raíces, en donde la presencia de patógenos es frecuente, pues para ello cuentan con propiedades, antibióticas y micoparasitarias, lo que favorece y ayuda a controlar hongos fitopatógenos, asimismo, estos organismos toman los nutrientes de los hongos que estos parasitan y de materia orgánica, facilitando a su vez la descomposición, por lo que la

incorporación de materia orgánica y composta facilitan la proliferación del organismo (Hernández et al., 2019; Benedicto Martínez et al., 2015; Yabid et al., 2008).

2.5.2.1. Actividad promotora de crecimiento radicular.

Este hongo tiene la capacidad de multiplicarse en el suelo y aferrarse a las raíces, colonizándolas y liberando hormonas promotoras de crecimiento que actúan como catalizadores del crecimiento de las zonas meristemáticas de las raíces en las cuales generará una alta tasa de división celular, promoviendo su crecimiento y por ende desembocará una respuesta a nivel general de la planta, cuyo efecto se verá reflejado en un aumento de la masa foliar (Chávez et al., 2020).

2.5.2.2. Mecanismos de acción.

- Antibiosis:

El género *Trichoderma* en la actualidad ha llegado a reportar metabolito secundarios volátiles y no volátiles, de los cuales, algunos tienen la capacidad de inhibir otros microorganismos, por lo cual son consideradas antibióticos (Martinez et al., 2017).

Entre estos compuestos está: gliotoxina, viridina, trichodermina, suzukacilina, alameticina, dermanina, trichotecenos, trichorzianina y algunos compuestos no volátiles que actúan como anti-fúngicos (Martinez et al., 2017).

- Micoparasitismo:

Trichoderma también tiene la capacidad de acabar con otros hongos, parasitando sus hifas y además consumiendo cualquier otra estructura residual presente en el suelo, con lo cual reducen la población del otro microorganismo y controlan la cantidad de inóculo en el suelo (Howell, 2005).

- Solubilización:

Además del efecto bio-controlador de *Trichoderma* frente a microorganismos con actividad patogénica, también se ha comprobado que su inoculación aporta, a través de la descomposición de materia orgánica, nutrientes en formas disponibles y posee una actividad solubilizadora de fosfatos y otros elementos, por lo cual se utiliza frecuentemente como un organismo biofertilizante en diferentes productos comerciales (Cubillos & Valero, 2009).

2.5.2.3. Beneficios:

Entre los beneficios que este hongo aporta, Cano, (2011); Mesa et al., (2020), encuentran una diversidad de ventajas, e indican que:

- Estas especies de hongos tienden a producir biomoléculas (metabolitos primarios) para la producción de energía y para su crecimiento celular, actuando como factores de crecimiento, enzimas líticas, antibióticos y permeasas de Carbono y Nitrógeno, generando una protección y desarrollo radicular, mejorando la absorción de nutrientes disponibles en el suelo, gracias al aumento de pelos radiculares.
- Poseen actividad antagónica frente a *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Plasmodiophora* y *Phytophthora*.
- Actúa como controlador biológico contra nematodos.
- Mejora las condiciones del suelo para una producción más amigable.
- Gracias a su capacidad enzimática son capaces de degradar sustratos (materia orgánica), haciendo más asimilable para la planta.
- Inducción a la resistencia de la planta

2.5.3. Clasificación taxonómica

Trichoderma spp. se ubica taxonómicamente según Infante et al., (2002) en:

Reino: Fungi

División: Mycota

Subdivisión: Eumycota

Clase: Hyphomycetes

Orden: Moniliales

Familia: Moniliaceae

Género: *Trichoderma*.

2.5.4. Morfología

El género *Trichoderma* presenta un crecimiento rápido, posee un color blanco y se torna verde oscuro, en ocasiones presenta una coloración amarillenta, con una abundante esporulación, posee una textura esponjosa (Mazrou et al., 2020)

Los conidióforos presentan una forma bastante variada lo que hace que sea difícil la caracterización de especie (Corrêa et al., 2007), pero sin embargo, llega a presentar una forma cónica frente al microscopio, son muy ramificados y no verticilados, los conidios presentan una coloración verdosa o hialina, son lisos o con paredes muy poco ásperas, sub-globosos, cilíndricos, oblongos, con diámetro que oscila entre 3 a 5 μm , estos se forman en los extremos de los conidióforos. Además este hongo puede formar clamidiosporas en formas de globos las cuales tienden a ser intercalares y en muchas ocasiones terminales en las hifas, tienen una coloración verdosa y su diámetro es menor a los 15 μm (V. López et al., 2003; Mesa et al., 2020).

2.5.5. Sistemas de producción

Durante los últimos años los sistemas agrícolas se ven afectados por el uso de agroquímicos usados para el control de plagas y enfermedades producidas en los cultivos, generando resistencias en plagas y contaminación medio ambiental (Woo et al., 2014).

Tras los problemas generados por una revolución verde se buscaron alternativas mucho más amigables, es por ello que se comenzó a utilizar microorganismos benéficos, uno de los más usados desde el siglo XXI es *Trichoderma* spp. Como un biopreparado fúngico para el control biológico, en el cual se busca tener un mayor número de propágulos (conidias) viables para infectar hongos patógenos y poblar la superficie de las raíces (Yabid et al., 2008).

Estos tipos de biopreparados deben permanecer viables durante mucho tiempo con un mínimo de 18 meses a 20 °C dentro de su envase (Hernández et al., 2019). Sin embargo uno de sus principales inconvenientes para la comercialización y posterior uso de este tipo de productos, es una correcta formulación en donde la concentración y viabilidad de las esporas sea la adecuada para que la densidad poblacional del microorganismo en el suelo se pueda mantener (Yabid et al., 2008).

Dentro del proceso de producción tenemos a la fermentación en donde los microorganismos tienen la capacidad de transformar sustratos sólidos o líquidos en productos con un valor agrado, para el uso del hombre (Yabid et al., 2008).

2.5.5.1. Producción en sustratos sólidos.

La fermentación sólida es aplicada en procesos de los cuales materias insolubles en agua son utilizadas para el crecimiento de microorganismos (Hernández et al., 2019).

En la producción de *Trichoderma* en sustrato sólido se requiere de espacio para la producción, inoculación y almacenamiento (Hernández et al., 2019) y se busca conseguir el crecimiento óptimo del microorganismo mediante el uso de materias primas económicas, pues para ello se

debe tener en cuenta factores como la concentración de agua utilizada, la cual no debe sobrepasar la capacidad de saturación del sustrato y la cantidad de oxígeno (Yabid et al., 2008).

Dentro de este tipo de preparación se debe tener en cuenta la concentración del inóculo, el tipo de sustrato, la viabilidad y estabilidad de las conidias y los costos de producción. Por lo que este biopreparado tiene ciertas ventajas biotecnológicas, una de ellas es la adaptación fácil de estos microorganismos a diferentes tipos de sustratos facilitando su producción (Hernández et al., 2019), gracias a su capacidad de degradar sustratos complejos como el almidón, pectina y celulosa entre otros, para emplearlos en su crecimiento y desarrollo (Yabid et al., 2008) y tiene la capacidad producir una concentración mayor de conidias y clamidiosporas, siendo estos propágulos los utilizados en programas de biocontrol (Yabid et al., 2008), lo que hace que la producción en medios sólidos sea la forma más fácil y comercial de producir.

2.5.5.2. Producción en medios líquidos.

La fermentación líquida es aplicada a procesos en los cuales los materiales son solubles en agua para el crecimiento y multiplicación de biomasa (Hernández et al., 2019).

En producción mediante medios líquidos se debe tener en cuenta que el medio debe ser barato y contener los componentes necesarios y sustratos que contengan vitaminas, minerales, etc., para el desarrollo adecuado del microorganismo (Hernández et al., 2019).

Además de ello se debe tener en cuenta que la producción se lo realiza en contenedores especiales (biorreactores), los cuales deben tener agitación para evitar la sedimentación y aireación, debido al este tipo de manejo, este proceso lo que se busca es tener una mayor cantidad de enzimas, en relación al proceso en sólido, el cual produce una mayor concentración de conidias y clamidiosporas (Yabid et al., 2008).

Capítulo III

3. Materiales y Métodos

3.1. Fase de laboratorio

3.1.1. Área de trabajo

La fase de laboratorio se la realizó en el laboratorio AGRO-IMPROLAB perteneciente a la florícola “FLORALSTAR”, ubicada en el sector loma larga de Cayambe, en la provincia del Pichincha.

3.1.2. Obtención de las cepas

Las cepas utilizadas en este estudio fueron las cepas Tri-1 y Tri-4, obtenidas de la colección de microorganismos del laboratorio AGRO-IMPROLAB. Se utilizaron cepas sin identificar hasta el nivel de especie, pero se encontraban dentro del cepario codificadas de Tri-1 a Tri-6, pues eran 6 cepas las que habían sido separadas por su capacidad de colonización y el éxito dentro de diferentes plantaciones. El estudio se enfocó en las cepas Tri-1 y Tri-4 pues son aquellas que impulsaron de gran manera el proyecto de AGRO-IMPROLAB.

3.1.3. Reactivación de la cepa

Una vez adquiridas las cepas de la colección de microorganismos del laboratorio AGRO-IMPROLAB se procedió a realizar una reactivación de las cepas, para lo cual se tomó los viales que la contenían y se lo colocó a temperatura ambiente para hacer líquido el contenido. Posterior a ello se inculó el contenido de los viales en 4 tubos de ensayo con 5 mL de caldo Sabouraud (Dickinson, 2003) para ser incubado durante 24 horas a temperatura ambiente en el laboratorio. Cada vial contenía 4 discos de agar cultivados con el microorganismo (*Trichoderma* spp.).

Transcurridas las 24 horas se procedió a sembrar en 4 cajas con agar (PDA), para ello se tomó una alícuota de 100 μ L con ayuda de una micropipeta y se colocó en la caja con agar

respectivamente, finalmente se incubó las cajas entre 5 a 7 días dependiendo de la capacidad de colonización del microorganismo a temperatura de 32 °C.

3.1.4. Realización del cepario de proyecto y cepas de trabajo

El cepario se elaboró tomando en cuenta de que las cajas preparadas anteriormente estén libres de contaminación alguna para su uso, una vez que se seleccionó la mejor caja se procedió a realizar cortes circulares de la caja que contenía el microorganismo (*Trichoderma* spp.), en 8 viales de plástico de 5 mL se introdujo 4 discos de agar con el microorganismo en glicerina, de los cuales se los separó uno para cada cepa madre y tres viales para cepas de trabajo respectivamente, a los que se les colocó la fecha y el nombre del microorganismo a conservar (Tri-1-p y Tri-4-p) y finalmente a estos se los almacenó a una temperatura de -4 °C en una refrigeradora. Esta actividad se realizó con el fin de mantener ordenado el recurso esencial del proyecto.

3.1.5. Análisis del biopreparado

3.1.5.1. Conteo de esporas

En cuanto al análisis de concentración de esporas del microorganismo (*Trichoderma* spp.), se procedió a seguir el proceso mencionado por (Troya & Vaca, 2014), para ello se tomó 20 g del sustrato y se colocó en 100 mL de agua estéril, posterior a ello se tomaron 3 tubos de ensayo con 9 mL de agua estéril en los cuales se fue colocando 1 mL de la primer muestra consecutivamente hasta llegar a la dilución de 10^{-3} para ello se aplicó la siguiente fórmula:

$$C = \frac{cf}{Sa * P * D}$$

Cf = Conteo final de esporas

Sa = Superficie del área (2 mm²)

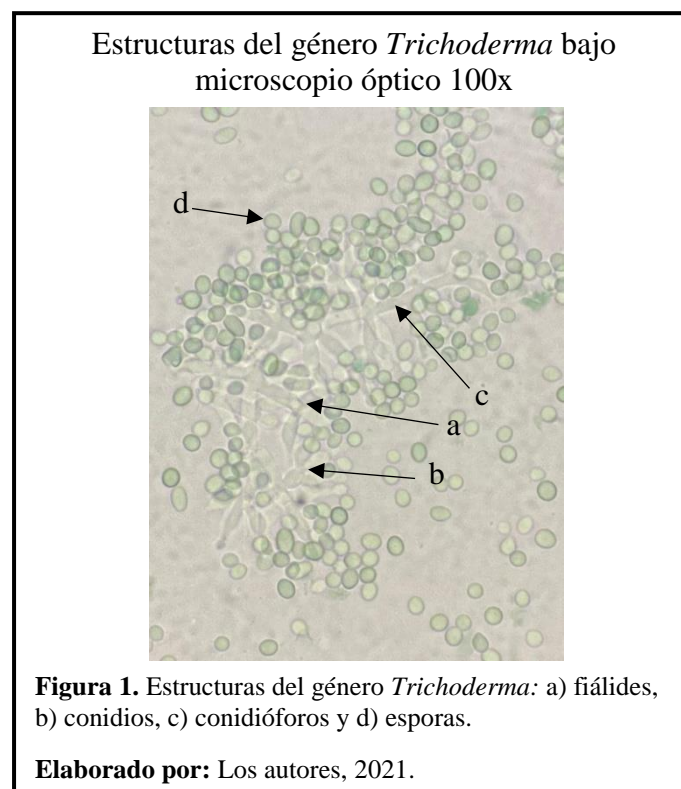
D = Dilución ($1 * 10^{-3}$)

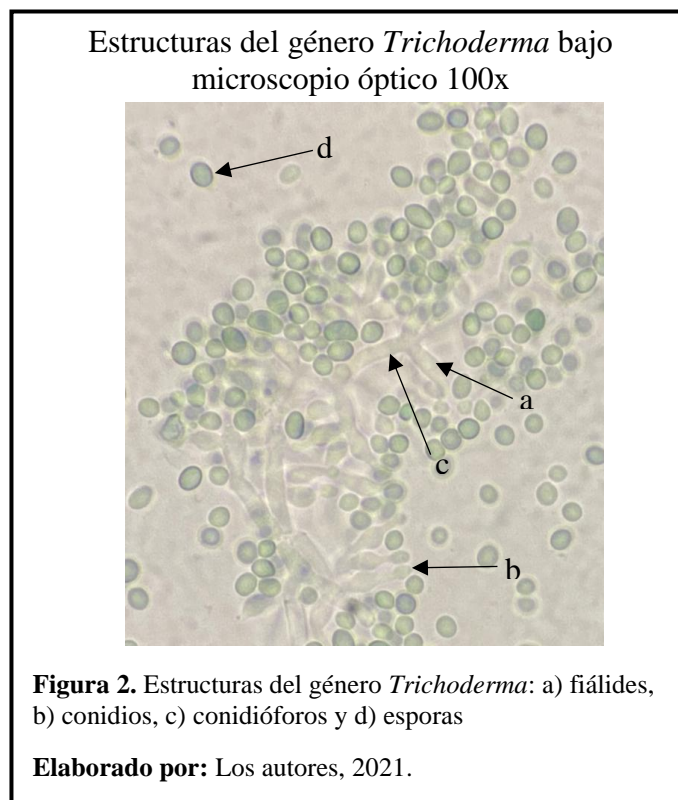
P = Profundidad (0.1 mm)

3.1.5.2. Microscopía

El género del microorganismo se identificó mediante el uso de una caja en estado joven (7 días). Se tomó una muestra de micelio, con ayuda de un pedazo de cinta scotch, se colocó una gota de ácido láctico en un porta objetos y se pegó la cinta con el microorganismo, finalmente con la ayuda de un microscopio óptico se realizó la visualización (Infante et al., 2002).

Se realizó la identificación por observación microscópica de las estructuras que caracterizan a este género como son los conidios, conidióforos y fiálides, como se observa en las figuras 1 y 2 con un aumento de 100x en conjunto con aceite de inmersión.





3.2. Fase de Producción

3.2.1. Cepas de trabajo

Se formó cepas de trabajo a partir de los conservados de *Trichoderma* spp. (Tri-1-p y Tri-4-p) que fueron utilizadas para sembrar en cajas Petri con agar (PDA) y se las usó en la fase de producción.

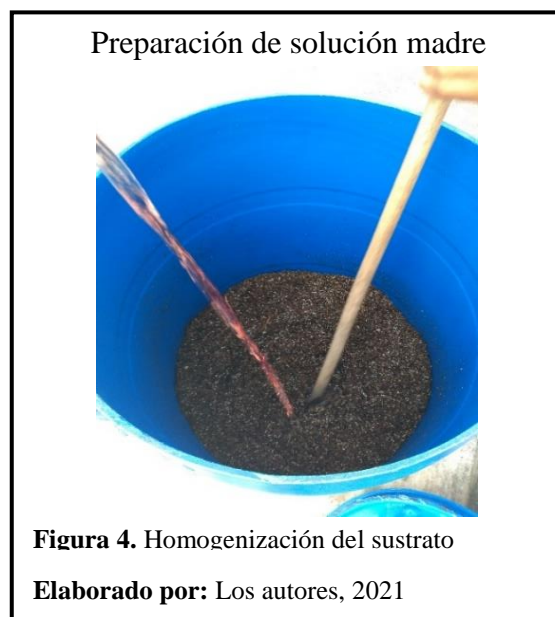
3.2.2. Preparación de solución madre

Para la preparación de la solución madre se utilizó 200 g fosfato de sodio, 50 g sulfato de magnesio, 1 g sulfato de hierro, 100 g cloruro de potasio, 100 g urea y 300 g glucosa en 10 L de solución que fungieron como los nutrientes esenciales para la incubación a gran escala de *Trichoderma* spp.

3.2.3. Preparación del sustrato

Para la preparación del sustrato se utilizó cascarilla de arroz carbonizada y arcocillo, el cual tiene una relación de 80 % de cascarilla de arroz carboniza y 20 % de arcocillo respectivamente todo mezclado homogéneamente como se visualiza en la figura 3. Una

vez homogenizado el sustrato se le agrega la solución madre 2 L de solución por cada 6 kg de sustrato como se observa en la Figura 4.



3.2.4. Preparación de fundas

Se utilizó fundas de polietileno de alta densidad a las cuales se les colocó 60 g del sustrato previamente preparado como se observa en la figura 5, se juntaron paquetes de 10 fundas amarradas entre sí y se llevó a autoclave.

Funda con sustrato



Figura 5. Funda con sustrato

Elaborado por: Los autores, 2021

3.2.5. Siembra

Una vez esterilizadas las fundas se procedió a realizar una limpieza adecuada de la cámara de flujo, se seleccionó una caja que completamente esporulada y se realizó cortes de 1 cm x 1 cm con ayuda de un bisturí estéril obteniendo alrededor de 60 pedazos por caja, luego de ello se tomó una funda con el sustrato estéril y se le colocó un pedazo de agar con el microorganismo con ayuda de pinzas estériles, se selló las fundas con una porción de algodón y una liga estéril, para finalmente llevarlas al cuarto de incubación automatizado durante 15 días a una temperatura que oscila entre 25 y 32 °C hasta que el hongo colonice todo el sustrato como se observa en la figura 6.

Dentro del periodo de incubación, se realizó “masajes” a las fundas cada 5 días para oxigenar y dar movilidad al sustrato con lo cual se ayude al microorganismo a colonizarlo.

El cuarto de incubación contó con un equipo específico para poder mantener una temperatura estable en la cámara. Contaba con calefactores automáticos, las paredes estaban recubiertas de un aislante térmico de lana de vidrio y foil de aluminio, su suelo se recubrió con pintura epóxica,

el techo se recubrió de gypsum y contó con un termómetro que ayudó a controlar el encendido y apagado de los calefactores.



3.2.6. Cosecha

A los 15 días se procedió a evaluar las fundas las cuales no debían presentar contaminación de ningún tipo, se realizaron lavados de las fundas con agua estéril, para lo cual se utilizó 1 L de agua por funda, y con ayuda de telas de filtro se logró liberar una gran parte del microorganismo que se encontraba adherido al sustrato.

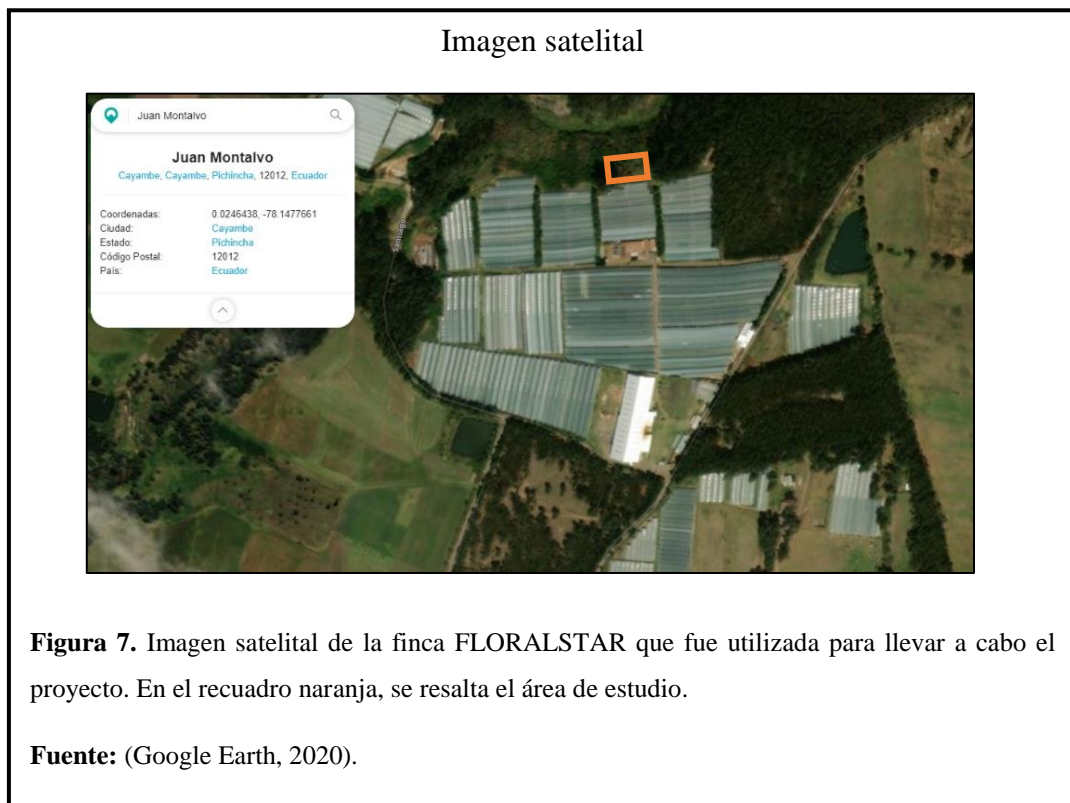
Una vez que se realizó el lavado respectivo se procede al llenado de frascos de 1 L en el cual se le añade 2 mL de ácido cítrico como conservante y se sellan para su posterior uso.

3.3. Fase de campo

3.3.1. Ubicación

El trabajo en campo se llevó a cabo en el bloque 11 de la florícola FLORALSTAR, empresa perteneciente al Arquitecto Roberto Jaramillo, situada en el sector Juan Montalvo, locación perteneciente al cantón Cayambe, al norte de la provincia de Pichincha – Ecuador, y cuyas

coordenadas de geolocalización son: 0°1'42" S; 79°52'4" O, tal como se muestra en la figura 7.



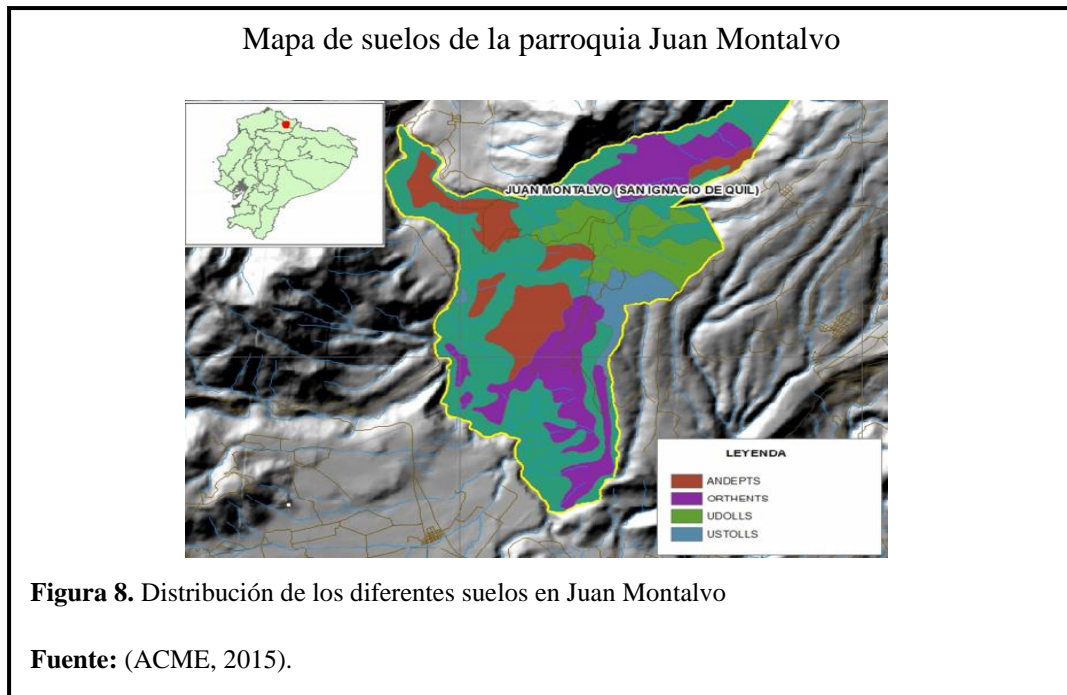
3.3.2. Características ambientales de la zona

La parroquia de Juan Montalvo se encuentra a 2810 m.s.n.m. y presenta un clima frío-templado (14-20 °C), una humedad relativa de 80 % y una precipitación anual de 600 a 800 mm (ACME, 2015).

3.3.3. Características del suelo

El suelo de la parroquia Juan Montalvo es en un 64,33 % del tipo de los ‘entisoles’, suelo con una textura franco-arenosa y poco desarrollados dada su “juventud” geológica, entre los cuales se ha encontrado dos tipos de suelos, *orthents* (42,42 %) y *ustolls* (21,91 %) que permiten que la actividad agrícola y pecuaria se desarrolle sin problema (ACME, 2015).

En la figura 8 se puede apreciar las características del suelo y su distribución en el cantón.



3.3.4. Inoculación

Se utilizó el bloque 11 de la florícola “FLORALSTAR” ubicada en el sector de Juan Montalvo, Cayambe, mismo que contaba con un total de 90 camas de las cuales se utilizaron tres camas.

Se seleccionó la variedad “Atomic” dado que esta es una variedad que no tenía una buena producción dentro de la florícola como botones pequeños, baja producción de tallos por planta, etc., pero presentaba características agronómicas interesantes para el mercado, por estos motivos se seleccionó a esta variedad para realizar las pruebas.

Para la inoculación se utilizaron regaderas de 7 L, probeta de 1 L y cubetas de 2,5 L.

En las regaderas se preparó 5 L de la solución con el microorganismo (*Trichoderma* spp.) y/o desbloqueador respectivamente con las dosis adecuadas para cada uno de los tratamientos a evaluar.

Se realizó un riego con regaderas homogéneamente por cada uno de los tratamientos respectivos a una distancia de 50 cm entre el suelo y la boca de la regadera como se observa en la figura 9, este proceso se lo realizó una vez cada 7 días en las mañanas.

Inoculación del bio-preparado.



Figura 9. Inoculación en campo por parte de unos de los integrantes del proyecto.

Elaborado por: Los autores, 2021.

3.4. Proceso experimental.

3.4.1. Tratamientos

El estudio constó de 4 tratamientos con distintas dosificaciones del bio-preparado y un testigo. Se estableció dosis para cada tratamiento, mismas que fueron diluidas en 5 L de agua potable para poder cubrir toda la superficie puesta a prueba. En la tabla 1, se describe la dosificación y componentes de cada tratamiento.

Tabla 1.

Tabla de dosificación por tratamiento.

Tratamiento	Composición	Dosis / 5 L
(T1) Testigo	-	-
(T2) Desbloqueador	Agente desbloqueador (Ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y algas marinas.)	100 mL
(T3) <i>Trichoderma</i> spp. 1 + Desbloqueador 1	<i>Trichoderma</i> spp. + Agente desbloqueador (Ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y algas marinas)	100 mL+ 100 mL
(T4) <i>Trichoderma</i> spp. 2 + Desbloqueador 2	<i>Trichoderma</i> spp. + Agente desbloqueador (Ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y algas marinas)	200 mL + 200 mL

(T5) <i>Trichoderma</i> spp. 3 + Desbloqueador 3	<i>Trichoderma</i> spp. + Agente desbloqueador (Ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y algas marinas)	300 mL + 300 mL
---	--	-----------------

Nota: Se determinó la dosificación en base a la dosis promedio (2 L/100 L de riego) recomendada por biopreparados líquidos que presentaban como agente activo *Trichoderma* spp.

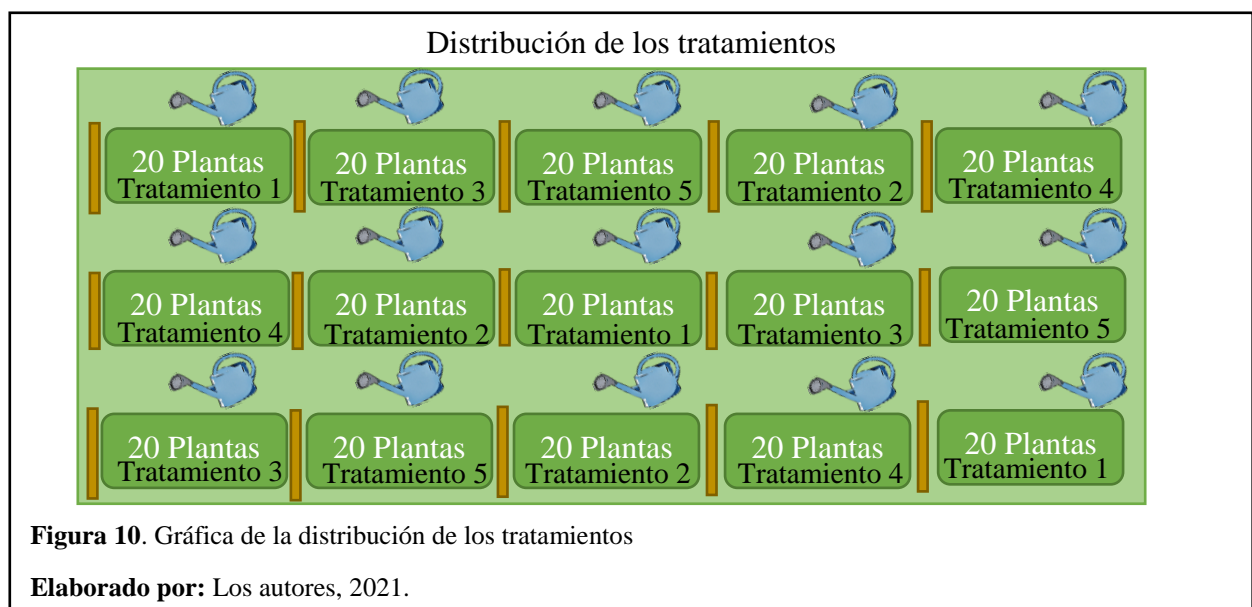
Elaborado por: Los autores, 2021.

3.5. Diseño experimental

La nave donde se realizó el experimento tenía cerca de 90 camas con un promedio de 300 plantas por cada una, con una extensión de 9,5 m de largo x 0,85 m de ancho.

Debido a esto, se procedió a elegir plantas que estén en el medio de toda la cama para evitar el efecto de borde que pudiera desfavorecer de alguna manera el ensayo.

Cada unidad experimental (UE) estuvo conformada por 20 plantas de rosa (var. Atomic) que incluían 5 sub-muestras (rosas seleccionadas) y recibían un riego por regadera que contenía 5 L de una solución de agua en conjunto con la dosis del tratamiento correspondiente. Se realizó separaciones con tablas de madera entre tratamientos para mantener su homogeneidad, y enterradas a 20 cm de profundidad y extendiéndose por 50 cm por encima del suelo, altura desde la cual se procedió a regar las soluciones con los diferentes tratamientos como se muestra en la figura 10. Se empleó un diseño de bloques al azar (DBCA), con 3 repeticiones por tratamiento.



3.5.1. Variables

3.5.1.1. Ancho de botón

Esta característica se determinó midiendo el ancho del botón floral con una cinta métrica. Los datos partieron desde una medida inicial entre los estados fenológicos de “garbanzo 1” y “garbanzo 2” (anexo 7), y se fueron reportando en un cuaderno de campo su evolución a los 7, 14, 21 y a los 28 días después de la aplicación de cada tratamiento.

3.5.1.2. Longitud del tallo

Se recopiló datos relacionados a la longitud del tallo desde su base hasta el inicio del receptáculo. Los datos partieron desde una medida inicial y se fue reportando en un cuaderno de campo su evolución a los 7, 14, 21 y a los 28 días después de la aplicación de cada tratamiento.

3.5.1.3. Conteo de pelos absorbentes

Se recopilaron datos relacionados a la cantidad de pelos absorbentes observados por medios de calicatas. Los datos partieron desde una medida inicial y se fue reportando en un cuaderno de campo su evolución con el conteo de pelos absorbentes (vivos) cada 15 días después de la primera aplicación. Para todas las variables se digitalizó los datos en hojas de cálculo de EXCEL, y en la misma aplicación se obtuvo las medias correspondientes por bloque y tratamiento cada semana hasta completar el mes de tratamiento. A continuación se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de las áreas bajo la curva (ABC) de las medias obtenidas para los 30, 60 y 90 días de experimentación.

3.5.2. Manejo de cultivo

3.5.2.1. Fertilización

El cultivo se manejó en base a un plan de fertilización constante que se detalla en la tabla 2.

En la tabla se observan las cantidades y distribución en tanques de riego de los diferentes componentes que en conjunto se encargan de fertilizar todos los bloques de la florícola.

Tabla 2.

Programa de fertilización.

Producto	Tanque A	Tanque B	Unidad
Nitrato de Potasio	35	35	kg
Nitrato de Calcio	60		kg
Nitrato de Amonio		20	kg
Fe – EDDHA 6 %	2300		g
Sulfato de Magnesio Técnico		50	kg
Fosfato Monopotásico		10	kg
Fosfato Monoamónico		7	kg
Nitrato de Magnesio	2		kg
Quelato de Manganeso		3300	g
Quelato de Zinc		100	g
Quelato de Cobre		50	g
Ácido Bórico	-	-	g
BORAX		300	g
FOLCROP (Mo)	-	-	g

Nota: Si bien los componentes son los detallados, sus cantidades a lo largo de todo el año varían dependiendo principalmente, de las condiciones que el clima plantee, sin embargo, el riego no se detiene y se lleva a cabo durante toda la semana laboral.

Elaborado por: (Los autores, 2021).

3.5.2.2. Fumigación:

El componente fitosanitario en la plantación se llevó a cabo con normalidad según el programa de fumigación de la florícola y constó de fungicidas y pesticidas que se detallan en la tabla 3.

Tabla 3.

Programa de Fumigación.

Bloque	Var	Camas	Blanco	Producto	Dosis	L/Cama	L total	L Total Producto	pH	
10	Todo	100	Ácaros	Ácido cítrico	0,1	12	1200	120	5,5	
				Adjuvant (Trisiloxano)*.	0,4	12	1200	480	5,5	
				Acisol (Ácidos orgánicos)*.	0,3	12	1200	360	5,5	
				Ecuafix (Eter-fenol-poliglicólico).	0,3	12	1200	360	5,5	
7	Todo	32	Vellosos	Ácido cítrico	0,15	14	448	67,2	5,5	
				Silwet	0,15	14	448	67,2	5,5	
				3-Polioxietilen- propilheptametiltrisiloxano *						
				Barrier	1	14	448	448	5,5	
				(óxido de calcio) *.						
				Acisol (ácidos orgánicos) *.	0,3	14	448	134,4	5,5	
4	Todo	80	Botrytis	Ácido cítrico	0,1	12	960	96	5,5	
				Tiofin (Thiophanato Methyl)*.	0,3	12	960	288	5,5	
				Visilon (Siloxano)	0,3	12	960	288	5,5	
				melaza	0,5	12	960	480	5,5	

Nota: *Ingredientes activos de cada componente del programa de fumigación.**Elaborado por:** (Los autores, 2021).

Capítulo IV

4. Resultados y Discusión

4.1. Fase de laboratorio

4.1.1. Concentración del biopreparado

Para realizar el conteo de esporas se utilizó el método de dilución ya explicado en la metodología con diluciones que fueron desde la 10^{-1} hasta la 10^{-4} (figura 11), la dilución utilizada para el conteo por cámara de Neubauer (figura 12) para *Trichoderma* spp. fue la dilución 10^{-3} .

Diluciones seriadas



Figura 11. Diluciones seriadas a partir de la solución concentrada de *Trichoderma* sp.

Elaborado por: Los autores, 2021.

Cámara de Neubauer



Figura 12. Observación por cámara de Neubauer para conteo de esporas.

Elaborado por: Los autores, 2021

El resultado obtenido fue de 1664 esporas, y al aplicar la fórmula que se estableció en la metodología (3.1.5.1.) se obtuvo una concentración de $8,32 \times 10^7$ UFC/mL.

Según Amilcar et al., (2017) menciona que para que un biopreparado sea eficiente este depende de la concentración de esporas presentes, por lo que dentro de su revisión se encuentra que una buena concentración es de 10^8 UFC/mL y Gao et al., (2007) confirma que una buena concentración es de 10^8 UFC/mL, por lo que los resultados obtenidos dentro de este parámetro se encuentran cercanos a la concentración óptima.

4.2. Fase de campo:

4.2.1. Longitud de tallo

En la tabla 4 se muestran los resultados del ANOVA una vez procesados los datos y comparados a los 30, 60 y 90 días de experimentación, comparando estadísticamente las ABC de los tratamientos analizados con la prueba de Duncan con un alfa de 0,05.

Tabla 4.

Análisis de varianza de la variable “longitud de tallo”.

	30 días	60 días	90 días
Tratamientos	Medias \pm D.E.	Medias \pm D.E.	Medias \pm D.E.
T1	1597,0 \pm 207,9 ab	1179,5 \pm 100,8 b	1403,8 \pm 184,1 b
T2	1468,4 \pm 208,9 ab	1394,1 \pm 242,6 ab	1364,6 \pm 193,3 b
T3	1263,1 \pm 134,5 b	1275,5 \pm 104,5 b	1093,1 \pm 136,2 c
T4	1788,0 \pm 40,9 a	1639,1 \pm 167,7 a	1679,2 \pm 208,5 a
T5	1518,8 \pm 228,3 ab	1347,5 \pm 133,6 ab	1373,5 \pm 165,6 b

Nota: D.E.: desviación estándar; Los valores por tratamiento (T1, T2, T3, T4, T5) son separados por las letras a, b y c, que sirven como indicadores de la semejanza o diferencia estadística entre los resultados.

Elaborado por: Los autores, 2021.

El ANOVA de las áreas bajo la curva expuso una diferencia significativa a nivel estadístico ($p < 0,05$) del tratamiento 4 (200 mL *Trichoderma* spp. + 200 mL Agente desbloqueador) finalizados después de 30, 60 y 90 días de experimentación.

El presente análisis nos permitió reconocer la aparente ventaja que podría presentar la variable “longitud de tallo” por el uso de *Trichoderma* spp.; concordando con resultados de otros estudios, como los de Montes et al., (2019); Ventura & Bernilla, (2014) en donde *Trichoderma* spp. ayudó a exponer una diferencia significativa en cuanto esta variable dado que mejoró los promedios de alturas de tallo de plantas de ají (en comparación con bacterias promotoras del crecimiento) y maíz, resultados que se justifican por el motivo que este microorganismo al lograr su colonización en la rizósfera emite diversos metabolitos, un ejemplo de ellos son las auxinas como el ácido indo-acético (AIA) que entre tantas acciones promueven el crecimiento radicular y con ello se acrecenta la capacidad de absorción de nutrientes, los cuales se traducirán en mejores características agronómicas, como en este caso el tallo, además de fungir como un agente de competencia contra patógenos como bacterias, pues su tamaño celular y capacidad de consumir diversos sustratos lo hace sumamente adaptable, y esto promueve un desarrollo con menor estrés para la planta.

En el estudio de Montes et al., (2019), se demuestra que al mezclar *Trichoderma* spp. con sustancias húmicas, como las contenidas en el agente desbloqueador con el cual se lo combinó, se obtiene una mayor proporción de contenidos de NPK, componentes nutricionales esenciales para el desarrollo de la biomasa vegetal, que aumenta hasta en un 16 % o más si el inóculo del microorganismo fuese de mayor medida.

Del mismo modo, aunque en otras especies, en un estudio planteado por Ramírez, (2015), detalla que en especies como la alfalfa una vez que se da el proceso de poda, las plantas movilizan las reservas de nutrientes acumuladas en las raíz y corona para comenzar a

recomponer los tallos y hojas que han sido removidos por la cosecha, produciendo asimilados que ayudan al tallo a crecer.

Según menciona Hernández et al., (2019) deduce que *Trichoderma* spp. podría presentar resultados favorables en cuanto a esta variable ya que tiene la capacidad de producir sustancias similares a las hormonas de crecimiento como auxinas y giberelinas, siendo estas últimas elementos que tienden a estimular la división o prolongación celular, ayudando al crecimiento de los internodios (distancia entre nudos), aumentando su longitud y mejorando al desarrollo de la planta en general; concepto que se ha buscado corroborar en estudios como el de Orlando, (2009) que al obtener una estadística sin una diferencia significativa sobre los resultados de esta variable, mantiene presente la acción benéfica del microorganismo pero justifica sus resultados adversos al deducir que son las condiciones ambientales, de mantenimiento y de riego las que pueden afectar la capacidad bio-activa de *Trichoderma* spp.

Cabe recalcar que a pesar de que el comercio de las rosas mueve gran parte de la economía nacional, y hemos sido testigos del uso de *Trichoderma* spp. en muchos de los grandes cultivos del cantón Cayambe, muy poca investigación de esta interacción existe al respecto, a pesar de que empíricamente los agricultores reconocen el beneficio de agente biológico en cuanto al rendimiento vegetal que este provoca.

4.2.2. Ancho de botón

Los resultados obtenidos en cuanto a esta variable constan de tres análisis distribuidos a cada mes de experimentación.

El ANOVA se realizó con el área bajo la curva (ABC) en el cual el tratamiento 4 (200 mL *Trichoderma* spp. + 200 mL Agente desbloqueador) expuso una diferencia significativa a nivel estadístico ($p < 0,05$) en la comparativa general a los 90 de la inoculación del biopreparado.

En la Tabla 5 se indican los resultados del ANOVA comparando estadísticamente las ABC de los tratamientos analizados con la prueba de Duncan a un nivel de significancia de 0,05.

Tabla 5.

Análisis de varianza de la variable “ancho de botón”.

	30 días	60 días	90 días
Tratamientos	Medias ± D.E.	Medias ± D.E.	Medias ± D.E.
T1	166,8±30,3 bc	125,9±24,4 a	161,3±8,3 a
T2	185,7±16,7 ab	163,8±29,1 a	168,4±7,6 a
T3	161,7±10,3 bc	155,3±20,5 a	152,9±22,8 a
T4	207,9±18,8 a	171,7±5,0 a	154,3±15,4 a
T5	143,8±21,5 c	146,4±30,6 a	155,8±16,5 a

Nota: D.E.: desviación estándar; Los valores por tratamiento (T1, T2, T3, T4, T5) son separados por las letras a, b y c, que sirven como indicadores de la semejanza o diferencia estadística entre los resultados.

Elaborado por: Los autores, 2021.

Las medias obtenidas mediante el ABC no presentaron una diferencia significativa a diferencia del primer mes en donde se observó que el T4 fue el mejor estadísticamente, pero en relación a los dos posteriores meses no se observa una diferencia notable, parámetro que puede atribuirse debido a que el hongo *Trichoderma* spp. tiene la función de acelerar el desarrollo y crecimiento de regiones cortadas, gracias a sustancias estimuladoras, las cuales tienen su efecto principal en los meristemas primarios, los cuales actúan como catalizadores del desarrollo, mejorando el tiempo de recuperación en especies de corte para su producción (West Analítica, 2018).

En un estudio realizado por (Aponte, 2015) en el cual se midieron estas variables, el cultivo de *Rosa* sp. se enfrentó a un ataque de oídio (*Podosphaera pannosa*), se obtuvieron resultados

similares a los expuestos dentro del presente trabajo infiriendo que la acción del hongo *Trichoderma* spp. se encuentra ejerciendo una función de defensa frente al ataque del patógeno concentrando su capacidad bioquímica en producir metabolitos antibióticos con lo cual reduciría el rango de emisión de sustancias bio-activas que promuevan el desarrollo de la especie en cuestión (*Rosa* sp), hipótesis que se confirmaría pues la plantación en donde se desarrolló el presente ensayo ha tenido algunos problemas recurrentes con *Sphaeroteca pannosa* en los últimos años.

West Analítica, (2018) y Valencia & Arbeláez, (1999) mencionan que en especies como el crisantemo incrementan el número de botones, la altura y el peso de la planta al aplicar *Trichoderma* spp. más no tiene el mismo efecto sobre algunas otras variables como el ancho del botón, además en estudios realizados en plantas de frijol se evidencian un aumento de altura y de peso, mismos resultados se encuentran en otras especies como en pasto estrella, pimiento, entre otras con muy pocos resultados favorables en cuanto al tamaño del botón.

Gracias al uso de este biopreparado el tiempo de producción se acorta, pero, sin embargo, dentro de esta variable a estudiar no se tiene una variación que destaque en relación a los tratamientos, debido a que el tiempo de cosecha de la rosa es de un ciclo y se cosecha la flor cuando llega a una apertura de botón óptima para realizar el corte en relación con el grosor de su tallo como lo menciona Calvache et al., (2010) dentro de su manual técnico-práctico del cultivo de rosas (*Rosa* sp.) para exportación, es por ello que no se encuentra una diferencia significativa al aplicar este tipo de producto dentro de este parámetro ya que por el motivo mencionado y la demanda del mercado no se puede llegar a tener el tiempo necesario para verificar resultados entre el producto y la flor.

Además como menciona (Quinche, 2009) en relación a este parámetro que no se obtuvo una diferencia estadística, se puede deber también a que todas las camas poseen las mismas

condiciones de riego, fertilización y manejo, lo que conlleva a que todos los tratamientos obtengan resultados similares a pesar de la aplicación del biopreparado.

4.2.3. Conteo de pelos absorbentes

Los análisis de varianza no detectaron ninguna diferencia estadística significativa entre los resultados de los tratamientos a los que se sometió las plantas de rosa (var. Atomic) a los 90 días de la aplicación de los mismos. En la tabla 6 se exponen los resultados del ANOVA obtenido de todas las mediciones a lo largo de los 90 días en que se llevó a cabo la experimentación.

Tabla 6.

Análisis de varianza de la variable “conteo de pelos absorbentes”.

90 días	
Tratamientos	Medias ± D.E.
T1	1067,5±497,5 a
T2	1981,0±685,8 a
T3	2874,6±1939,9 a
T4	3033,3±1955,2 a
T5	2065,0±554,9 a

Nota: D.E.: desviación estándar; Los valores por tratamiento (T1, T2, T3, T4, T5) son separados por la letra ‘a’ que sirve como indicado de la semejanza estadística entre los resultados.

Elaborado por: Los autores, 2021.

Ezziyyani et al., (2004) y Yang & Crowley, (2000), en los estudios realizados sobre la capacidad bioenraizante de *Trichoderma* spp. en plantas de pimiento mencionan que los resultados en raíces en pleno desarrollo son negativos, sin embargo, en raíces desarrolladas si se presentan resultados significativos, escenario que puede justificarse debido a la cantidad y

calidad de los exudados de la raíz en sus diferentes estados de madurez que puedan servirle a *Trichoderma* spp. ya que este hongo tiene la capacidad de adherirse a la raíz ayudando a mejorar la nutrición de la planta mediante la solubilización de una gran parte de compuestos que esta requiere, provocando un aumento en cuanto a la longitud de la raíz, el peso de la misma y otras características. Además de algunos factores que intervienen en el incremento y cambio fisiomorfológico varían según las comunidades microbianas asociadas a la rizósfera, la especie de planta, el sustrato o suelo, las prácticas culturales e incluso los exudados de las raíces.

Por ejemplo algunos estudios como los realizados por Martínez et al., (2013) confirma que *Trichoderma* spp. ayuda también al crecimiento y elongación de los pelos absorbentes, sin embargo al ser constantemente removidos y reemplazados, no se obtienen valores que indiquen un resultado favorable estadísticamente en relación a los tratamientos utilizados, ya que la función más observable es la elongación, crecimiento y aumento del peso seco de la raíz. A pesar de ello dentro del estudio realizado se obtiene una media mucho más grande en el T4 en relación a los demás tratamientos, aunque entre ellos no exista una diferencia estadística significativa a un alfa de 0,05, apoyando así el criterio de (Díaz et al., 2020) que cuando se utiliza bioestimulantes como ácidos fúlvicos, ácidos húmicos y microorganismos como *Trichoderma* spp. no se obtienen resultados negativos, pero el manejo de las dosis debería ser diferente si se planea obtener una diferencia significativa que apoye el uso de estos insumos en los cultivos.

5. Conclusiones

- El biopreparado de *Trichoderma* spp. se elaboró de manera exitosa, ya que su concentración (1×10^7 UFC/mL) estaba muy próxima al valor de 1×10^8 UFC/mL que establecen productos ya industrializados. La solución fue aplicada sin mayor inconveniente como estimulante de plantas de Rosa (*Rosa* sp. var Atomic).
- Se evaluó satisfactoriamente la respuesta agronómica del cultivo de rosa (*Rosa* sp. var. Atomic) bajo la aplicación a nivel de rizósfera de diferentes concentraciones de un biopreparado compuesto por *Trichoderma* spp. en la florícola FLORALSTAR ubicada en el sector de Juan Montalvo, cantón Cayambe, Ecuador.
- *Trichoderma* spp. demostró ser un aliado para el crecimiento del tallo de la variedad de rosa estudiada al presentar una diferencia significativa a nivel estadístico ($p < 0,05$) con el tratamiento 4 (200 mL *Trichoderma* spp. + 200 mL Agente desbloqueador) después de los 90 días de iniciada la experimentación. Sin embargo ningún tratamiento sobresalió estadísticamente cuando se trató de la respuesta agronómica esperado en el ancho de botón.
- No se logró determinar una respuesta directamente positiva en cuanto al enraizamiento pretendido por *Trichoderma* spp. con ningún tratamiento, puesto que no se obtuvo un resultado estadístico que diferencie una ventaja de ningún tratamiento sobre los demás, deduciendo que las calicatas y el conteo de pelos absorbentes, si bien son una herramienta útil en campo, no abarcan todo el espectro de la rizósfera para determinar un resultado satisfactorio contundente.

6. Recomendaciones

- Llevar experimentos similares en un campo aislado, donde las condiciones del ensayo puedan controlarse de mejor manera, esto debido a que en una florícola exportadora, siempre puede haber inconvenientes por el modo de producción, tiempos de corte, costo de manutención de cada planta, planes de fertilización, entre otros factores, que bien se pueden eliminar si el experimento se realiza a una escala mucho más pequeña.
- Tener plantas cuya manipulación pueda darse sin ningún problema. Actividad que en una florícola no puede realizarse ya que el solo hecho de sacar a la planta de su terreno y realizar una breve inspección, pone en riesgo el estado y salud vegetal, así como su valor económico, dado que el costo de una planta de florícola por los años que ha llevado mantenerla podría ascender hasta USD 2000 (dos mil dólares americanos) por planta.
- Tener en cuenta que este estudio representa una complejidad asombrosa pues al trabajar con un ser vivo como la planta, los resultados tanto positivos como negativos no pueden verse limitados solo a las variables y condiciones experimentales del proyecto, dado que en los mismos pueden estar interviniendo procesos bioquímicos, ecológicos y humanos que un solo estudio puede no tomar en cuenta.
- Realizar más estudios sobre esta especie y su conexión con agentes biológicos como biofertilizantes y biocontroladores que puedan alentar a una producción más limpia, pues este comercio mueve gran parte de la economía nacional lo que supone un alto consumo de pesticidas y fertilizantes químicos solubles, que afectan al ecosistema de manera general.

Bibliografía

- ACME, C. (2015). *Plan de desarrollo y Ordenamiento Territorial*. 103.
- Acurio, D., & España, C. (2017). EN PASTURAS DE RAYGRASS (*Lolium perenne*) Y TRÉBOL BLANCO (*Trifolium repens*). *La Granja: Revista de Ciencias de La Vida*, 25(1), 53–61.
- Amilcar, J., Napoleón, E., Stefanía, A., Alejandro, C., Patricia, C., Alejandro, C., Javier, F., Sulay, E., & Elizabeth, S. (2017). *Producción de biopreparados de Trichoderma spp. : una revisión / Production of biopreparations of Trichoderma spp. : a review*. May 2018.
- Aponte, D. (2015). *EL OÍDIO (Sphaerotheca pannosa) CON SU MÉTODO DE CONTROL BIOLÓGICO EN EL CULTIVO DE ROSA (Rosa sp.)*. [http://redi.uta.edu.ec/bitstream/123456789/22579/1/Tesis-130 Ingeniería Agronómica - CD 397.pdf](http://redi.uta.edu.ec/bitstream/123456789/22579/1/Tesis-130%20Ingeniería%20Agronómica%20-%20CD%20397.pdf)
- Argumedo, R., Alarcón, A., Ferrera, R., & Peña, J. J. (2009). Revisión / Review EL GÉNERO FÚNGICO. *Rev. Int. Contam. Ambient*, 25(4), 257–269.
- Calvache, A., Yanchapaxi, J., & Lalama, M. (2010). Cultivo de Rosas para Exportación. *Rumipamba*, XXIV(November), 8.
- Cano, M. A. (2011). Interacción de microorganismos benéficos en plantas: Micorrizas, *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* spp. una revisión. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 14(2), 15–31. <https://doi.org/10.31910/rudca.v14.n2.2011.771>
- Ceccon, E. (2014). *La revolución verde tragedia en dos actos Redalyc Sistema de Información Científica Universidad Nacional Autónoma de México México*. January 2008.
- Chávez, J., Torres, C., Espinosa, E., Diego, Z., Villafuerte, A., Zambrano, F., & Velázquez, J. (2020). *CRECIMIENTO FOLIAR Y CONTENIDO DE CLOROFILA EN ARROZ (Oryza*

sativa L.) *EN*. 7, 23–31.

Companioni, B., Domínguez, G., & García, R. (2019). *Trichoderma*: su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura. *Biotecnología Vegetal*, 19(4), 237–248.

Corrêa, S., Mello, M., Ávila, Z. R., Braúna, L. M., Pádua, R. R., & Gomes, D. (2007). Diagnóstico fitosanitario CEPAS DE *Trichoderma* spp. PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE *Sclerotium rolsfii* sacc. *Fitosanidad*, 11, 3–9.

Cubillos, J., & Valero, N. (2009). *Trichoderma harzianum* como promotor del crecimiento vegetal del maracuyá (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* Degener) *Trichoderma harzianum* as a plant growth promoter in yellow. *Agronomía Colombiana*, 27(1), 81–86.

Díaz, G., Rodríguez, G., Montana, L., Miranda, T., & Basso, C. (2020). Efecto de la aplicación de bioestimulantes y *Trichoderma* sobre el crecimiento en plántulas de maracuyá (*Passiflora edulis*) en vivero. *Bioagro*, 32(3), 195–204.

Dickinson, B. (2003). *BD Sabouraud Glucose Agar USO PREVISTO*. 1–5.

EXPOFLORES. (2020). *Estadístico mensual*. <https://expoflores.com/wp-content/uploads/2020/12/diciembre.pdf?fbclid=IwAR0gBMTyhzLwP96vMqy5GGKmeSdvmRre6b7zf6gWpSZPhKzhBQio2JyTGus>

Ezziyyani, M., Pérez Sánchez, C., Sid Ahmed, A., Requena, M., & Candela Castillo, M. (2004). “*Trichoderma harzianum*” como biofungicida para el biocontrol de “*Phytophthora capsici*” en plantas de pimiento (*Capsicum annum* L.). *Anales de Biología*, 0(26), 35–45.

Gao, L., Sun, M. H., Liu, X. Z., & Che, Y. S. (2007). Effects of carbon concentration and carbon to nitrogen ratio on the growth and sporulation of several biocontrol fungi. *Mycological Research*, 111(1), 87–92. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2006.07.019>

Guallasamin, K., & Simón, D. (2018). Huella de carbono del cultivo de rosas en Ecuador

comparando dos metodologías: GHG Protocol vs. PAS 2050/ Carbon footprint of the cultivation of roses in Ecuador comparing two methodologies: GHG Protocol vs. PAS 2050. *Letras Verdes. Revista Latinoamericana de Estudios Socioambientales*, 24, 27–56. <https://doi.org/10.17141/letrasverdes.24.2018.3091>

Hernández, D., Ferrera, R., & Alarcón, A. (2019). *Trichoderma*: IMPORTANCIA AGRÍCOLA, BIOTECNOLÓGICA, Y SISTEMAS DE FERMENTACIÓN PARA PRODUCIR BIOMASA Y ENZIMAS DE INTERÉS INDUSTRIAL. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences, ahead*, 0–0. <https://doi.org/10.4067/s0719-38902019005000205>

Howell, C. R. (2005). The Nature and Application of Biocontrol Microbes II : *Trichoderma* sp. Understanding the Mechanisms Employed by *Trichoderma virens* to Effect Biological Control of Cotton Diseases. *Phytopathology*, 14, 178–180.

Infante, D., Martínez, B., González, N., & Reyes, Y. (2002). MECANISMOS DE ACCIÓN DE *Trichoderma* FRENTE A HONGOS FITOPATÓGENOS. *Estudios De Asia Y África*, 37(2), 14–21.

Justice, A. H., Faust, J. E., & Kerrigan, J. L. (2018). Evaluating a novel method to introduce a mycorrhizal-like fungus, *Piriformospora indica*, via an inoculated rooting substrate to improve adventitious root formation. *HortTechnology*, 28(2), 149–153. <https://doi.org/10.21273/HORTTECH03914-17>

López, R., González, G., Vázquez, R., Olivares, E., Vidales, J., Carranza, R., & Ortega, M. (2014). Humic and fulvic acid extraction method and characterization by infrared spectrophotometry. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 1397–1407. <http://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v5nspe8/2007-0934-remexca-5-spe8-1397.pdf>

López, V., Bolaños, L., Zavala, E., & Lepe, M. (2003). *Morfológica En Diferentes Ecosistemas*.

- Martínez, B, Infante I, D., & Reyes II, Y. (2013). *Trichoderma* spp. and their role in the control of crop pests. *Rev. Protección Veg*, 28(1), 1–11.
- Martínez, Benedicto, Infante, D., & Peteira, B. (2015). Taxonomía polifásica y variabilidad en el género *Trichoderma*. *Revista de Protección Vegetal*, 30(5), 11–22.
- Martinez, H., Osorio, E., Estrada, B., López, J., Varela, S., & Torres, J. (2017). Requerimientos nutrimentales de la flor Ave de paraíso (*Strelitzia reginae* Aiton). *Agro Productividad En Acayucan, Veracruz, México*, 10 (3), 50–55.
- Mazrou, Y. S. A., Makhlouf, A. H., Elseehy, M. M., Awad, M. F., & Hassan, M. M. (2020). Antagonistic activity and molecular characterization of biological control agent *Trichoderma harzianum* from Saudi Arabia. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30(1). <https://doi.org/10.1186/s41938-020-0207-8>
- Mesa, A., Calle, J., & Marín, A. (2020). Metabolitos secundarios en *Trichoderma* spp. y sus aplicaciones biotecnológicas agrícolas. *Actualidades Biológicas*, 41(111), 32–44. <https://doi.org/10.17533/udea.acbi.v41n111a02>
- Montes, D., Castaño, E., Sánchez, S., & Díaz, Y. (2019). *Trichoderma* sp. as a corn growth promoter (*Zea mays*) in Valledupar , Cesar. *Universidad Popular Del Cesar, March*.
- Ovalle, H. (2013). *Conceptos básicos sobre agricultura ecológica y su situación actual en el mundo y.*
- Pazos-Rojas, L. A., Marín-Cevada, V., Elizabeth, Y., García, M., & Baez, A. (2016). Uso de microorganismos benéficos para reducir los daños causados por la revolución verde. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 3(7), 72–85.
- Quinche, O. (2009). *CONTROL DE BOTRYTIS (Botrytis cinerea) Y MILDIU VELLOSO (Peronospora sparsa) EN EL CULTIVO DE ROSA (Rosa sp. Variedad Forever Young)*

MEDIANTE EL USO DE Trichoderma harzianum Rifai.

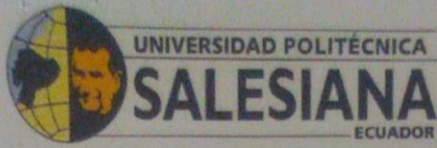
- Ramírez, C. (2015). "UTILIZACIÓN DE *Trichoderma* spp. Y HUMUS LÍQUIDO (TRICO-HUMUS) COMO ABONO FOLIAR EN LA FERTILIZACIÓN DE *Medicago sativa* (ALFALFA) Y SU EFECTO EN LOS RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS". *Escuela Superior Politécnica de Chimborazo*, 2015, 1–239.
- Rivera, M., Gómez, L., & Cubillos, J. (2017). Efecto de ácidos húmicos sobre el crecimiento y la composición bioquímica de *Arthrospira platensis* (Cianobacteria). *Revista Colombiana de Biotecnología*, 19(1), 71–80. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v19n1.58316>
- Rosales, L., Segura, M., González, G., Potisek, M., Orozco, J., & Preciado, P. (2015). De Agregados Y La Raíz De Melón En Casa Sombra. *Interciencia (Redalyc)*, 40(5), 317–323.
- Sánchez, L. (2006). Rosas, miles de rosas, pero también otras flores. *Gestión y Sociedad*, 1–5.
- Sandoval, M., Casacchia, S., & Ruiz, C. (2016). *INVESTIGACIÓN Sandoval et al. Caracterización de mecanismos [...]*. 3(3), 9–13.
- Torres, M., Ortiz, C., Bautista, C., Ramírez, J., Ávalos, N., Cappello, S., & De La Cruz, A. (2015). Diversidad de *Trichoderma* en el agroecosistema cacao del estado de Tabasco, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 86(4), 947–961. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2015.07.012>
- Troya, C., & Vaca, L. (2014). Protocolo para producción de cepas de *Trichoderma* spp. en laboratorios artesanales. *MAGAP*, 1–28.
- Valencia, J., & Arbeláez, G. (1999). Control biológico de la pudrición basal del tallo en Crisantemo (*Dendranthema grandiflorum*) ocasionada por *Sclerotinia sclerotiorum* con algunos aislamientos de *Trichoderma* sp. y *Gliocladium* sp. *Agronomía Colombiana*, 16(1), 1–4.

- Ventura, S., & Bernilla, B. S. (2014). Efecto de *Trichoderma viride* y *Bradyrhizobium yuanmingense* en el crecimiento de *Capsicum Annuum* en condiciones de laboratorio. *Rebiolest*, 2(2).
- Veobides, H., Guridi, F., & Vázquez, V. (2018). Humic substances as plants biostimulants under environmental stress conditions. *Cultivos Tropicales*, 39(4), 102–109. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362018000400015&lng=en&nrm=iso&tlng=es%0Ahttps://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20193105799
- Viera-Arroyo, W. F. (2020). Rol de los microorganismos benéficos en la Agricultura Sustentable. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 8(2), 67–68. <https://doi.org/10.36610/j.jsab.2020.080200067>
- Viera, W., Noboa, M., Martínez, A., Báez, F., Jácome, R., Medina, L., & Jackson, T. (2019). *Trichoderma asperellum* increases crop yield and fruit weight of blackberry (*Rubus glaucus*) under subtropical Andean conditions. *Vegetos*, 32(2), 209–215. <https://doi.org/10.1007/s42535-019-00024-5>
- Wei, X., Chen, J., Zhang, C., Liu, H., Zheng, X., & Mu, J. (2020). Ericoid mycorrhizal fungus enhances microcutting rooting of *Rhododendron fortunei* and subsequent growth. *Horticulture Research*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41438-020-00361-6>
- West Analítica. (2018). Uso de *Trichoderma* en Agricultura. *Agricultura Razonada*, 2847, 1–9.
- Woo, S., Ruocco, M., Vinale, F., Nigro, M., Marra, R., Lombardi, N., Pascale, A., Lanzuise, S., Manganiello, G., & Lorito, M. (2014). *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition*, 644–646. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00337-2>

- Yabid, E., Ramos, A., Ignacio, R., & Navarro, Z. (2008). Evaluación de sustratos y procesos de fermentación sólida para la producción de esporas de *Trichoderma* sp . Evaluating solid fermentation processes and substrates for producing *Trichoderma* sp . spores. *Revista Colombiana de Biotecnología*, X(2), 23–34.
- Yang, C. H., & Crowley, D. E. (2000). Rhizosphere microbial community structure in relation to root location and plant iron nutritional status. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(1), 345–351. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.1.345-351.2000>
- Zermeño, A., López, B., Melendres, A., Ramírez, H., Cárdenas, J., & Munguía, J. (2018). Extracto de alga marina y su relación con fotosíntesis y rendimiento de una plantación de vid. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 12, 2437. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i12.773>

Anexos

Anexo 1. Convenio Específico



CONVENIO DE COOPERACIÓN ENTRE IMPROPACK CIA LTDA Y LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA SEDE QUITO PARA FAVORECER EL DESARROLLO DE TRABAJOS DE TITULACIÓN POR PARTE DE ESTUDIANTES DEL NIVEL DE GRADO DE LA UPS.

Concurren a la celebración del presente Convenio, por una parte, IMPROPACK CIA LTDA, representada legalmente por JUAN CARLOS HOUDEK ROMÁN, a quien en adelante se le denominará Gerente General y, por otra parte, la UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA, representada por la Mgtr. María Sol Villagómez Ph.D., en su calidad de Vicerrectora de la Sede Quito y por así disponer el Estatuto Universitario el Dr. Jeffrey Zúñiga Ruilova, en calidad de Procurador, quienes en adelante se le denominará como La UNIVERSIDAD. Las partes libre y voluntariamente convienen en celebrar el presente convenio interinstitucional con sujeción a las siguientes cláusulas:

PRIMERA: ANTECEDENTES. -

1. El Art. 21 de la Ley Orgánica de Educación Superior, establece que: Se consideran trabajos de titulación en la educación técnica y tecnológica superior, y sus equivalentes, y en la educación superior de grado, los siguientes: examen de grado o de fin de carrera, proyectos de investigación, proyectos integradores, ensayos o artículos académicos, etnografías, sistematización de experiencias prácticas de investigación y/o intervención, análisis de casos, estudios comparados, propuestas metodológicas, propuestas tecnológicas, productos o presentaciones artísticas, dispositivos tecnológicos, modelos de negocios, emprendimientos. Proyectos técnicos, trabajos experimentales. Entre otros de similar nivel de complejidad.

Todo trabajo de titulación deberá consistir en una propuesta innovadora que contenga, como mínimo, una investigación exploratoria y diagnóstica, base conceptual, conclusiones y fuentes de consulta. Para garantizar su rigor académico, el trabajo de titulación deberá guardar correspondencia con los aprendizajes adquiridos en la carrera y utilizar un nivel de argumentación, coherente con las convenciones del campo del conocimiento.

2. Antecedentes IMPROPACK: IMPROPACK CIA LTDA. Con Ruc 1793025617001 se creó en el año 2016 como una empresa distribuidora de materiales e insumos de protección para empresas productoras de flores de exportación, en el año 2019 se crea la extensión AGRO-IMPROLAB la cual está encargada del desarrollo de insumos biológicos para la producción orgánica de productos, y cuenta con un laboratorio en el cantón Cayambe.
3. La Universidad Politécnica Salesiana del Ecuador creada mediante Ley N° 63, publicada en el Registro Oficial N° 499 de 5 de agosto del 1994, es una Institución de Educación Superior particular, católica. Es una persona jurídica de derecho privado, con finalidad social sin fines de lucro. Su domicilio principal y matriz se halla en la ciudad de Cuenca con 25 años de experiencia en las diferentes ramas de la educación superior universitaria. Entre otros, su fin es formar personas con

4. madurez humana que sepan hacer coherentemente la síntesis de ética, vida y cultura, para que actúen en la historia en la línea de la justicia, solidaridad y fraternidad, testimoniando los valores éticos más altos de ser humano

Con la resolución No. 161-SE-33-CACES-2020 el CACES acreditó a la UPS por el período de cinco años y de esta forma se ratifica el compromiso con la comunidad universitaria a nivel nacional y dentro de las redes académicas a nivel internacional.

SEGUNDO: OBJETO. -

Con los antecedentes señalados, IMPROPACK CIA LTDA y la Universidad, acuerdan celebrar el presente Convenio de Cooperación, mediante el cual, las partes suscriptoras se comprometen y se obligan recíprocamente a colaborar y cooperar conjuntamente para generar el proyecto de titulación que tendrá por encabezado "Capacidad bio-enraizante de *Trichoderma sp.* En rosas (*Rosa sp.*) de la variedad Atomic, Cayambe Ecuador", trabajo que será llevado a cabo por Leonardo Fabián Beltrán Avilés con C.I 172116255-8 Y José Carlos Proaño Aguilar con C.I. 172182162-5 estudiantes de la carrera de Ing. En Biotecnología de los Recursos Naturales. Este trabajo se realizará siempre y cuando sea de mutuo beneficio para las partes interesadas.

TERCERA: RESPONSABILIDADES. -

RESPONSABILIDADES DE LA EMPRESA IMPROPACK.:

Sin perjuicio de las obligaciones establecidas en la normativa que regula lo relativo a trabajos de grado, IMPROPACK., se compromete a:

1. Cumplir y hacer cumplir todas las Cláusulas del Convenio.
2. Designar al administrador del convenio que intervendrá en la supervisión seguimiento y evaluación del Convenio.
3. IMPROPACK CIA LTDA se compromete a Facilitar, al estudiante de la UPS la información, así como el apoyo técnico-profesional para la estructuración del Plan y desarrollo de los mismos.
4. Para la realización de cada proyecto se establecerá una propuesta del proyecto bajo el formato SENPLADES avalado y aprobado por el tutor asignado y por el Consejo de Carrera por cada alumno, en el cual se regularán las relaciones entre la Compañía y el alumno, de conformidad a los requerimientos institucionales.
5. El número de estudiantes, el tiempo a realizarse los proyectos, los horarios, actividades, serán determinadas por CEFOSEG y el o la estudiante según sus capacidades, necesidades y políticas internas, al tiempo de iniciación de cada proyecto.
6. IMPROPACK CIA LTDA facilitará el acceso a la información y autorizará el uso de aquella que se genere como fruto de los proyectos y procesos desarrollados de manera conjunta, con fines académicos y de divulgación científica con el respectivo reconocimiento de autorías.



7. Contar con un PROTOCOLO DE BIOSEGURIDAD que tanto el estudiante como el docente tutor o supervisor deberán conocer y aplicar obligatoriamente mientras duren las prácticas al interior de LA EMPRESA.

RESPONSABILIDAD DE LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA. -

1. Cumplir y hacer cumplir todas las Cláusulas del Convenio.
2. Designar al administrador del convenio que intervendrá en la supervisión seguimiento y evaluación del Convenio.
3. La U.P.S. se compromete, conforme a su propio reglamento de proyectos de titulación, a hacer un seguimiento de cada uno de los estudiantes.
4. Para la realización de cada proyecto se establecerá una propuesta del proyecto bajo el formato SENPLADES avalado y aprobado por el tutor asignado y por el Consejo de Carrera por cada alumno, en el cual se regularán las relaciones entre la Compañía y el alumno, de conformidad a los requerimientos institucionales.
5. Al finalizar el plazo del presente documento, el administrador del convenio deberá entregar un informe de las actividades realizadas con la institución contra parte.
6. Todos los proyectos de grado enmarcados bajo este convenio deberán determinar los derechos de autor establecidos en el Código Ingenios, según se registra en el anexo A, adjunto a este convenio.

CUARTA: PLAZO. -

El plazo de duración del presente Convenio, es de **un (1) AÑO** a partir de la suscripción del mismo; pudiendo prorrogar por igual periodo, a menos que una de las partes notifique a la otra, por escrito y con 90 días de anticipación, su intención de no renovarlo.

QUINTA: COORDINACIÓN DEL CONVENIO. -

IMPROPACK CIA LTDA designará un Coordinador del convenio, funcionario que tendrá la obligación de velar por el cabal y oportuno cumplimiento de todas y cada una de las obligaciones derivadas del mismo. El coordinador del Convenio deberá realizar el seguimiento, control y supervisión del convenio, para tales efectos se asignará a Juan Carlos Houdek Román.

La Universidad a través de la carrera de INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES designará al responsable del convenio, persona con quien IMPROPACK CIA LTDA., mantendrá contacto para ejecutar adecuadamente el convenio, para tales efectos el coordinador designado será la Mgtr. Silvia Velecela

SEXTA: FINANCIAMIENTO

El presente convenio de carácter general no implica, por sí solo, compromisos presupuestarios para ninguna de las partes, los que serán establecidos en los convenios específicos que se acuerden, según lo estipulado en la cláusula quinta.

SÉPTIMA: TERMINACIÓN DEL CONVENIO. -

Las partes darán por terminado el Convenio, de las siguientes formas:

-Por incumplimiento del objeto materia del convenio



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA
SALESIANA**
ECUADOR



- Por mutuo acuerdo, en cualquier momento, previo acuerdo de las partes
- Por causa de fuerza mayor
- Terminación unilateral, IMPROPACK CIA LTDA en cualquier momento dará por terminado, siempre que convenga a sus intereses, en tal caso se comunicará con 15 días de anticipación.

OCTAVA: PROPIEDAD INTELECTUAL. -

La información obtenida en los estudios e investigaciones que se realicen, serán de propiedad común de las instituciones intervinientes en este Convenio, las cuales, en todo informe, publicación y cita de los trabajos, deberán indicar su origen.

Las dos instituciones están facultadas para publicar los resultados de los trabajos y/o investigaciones realizadas cuando sea necesario, para lo cual deberán indicar a las personas responsables e instituciones participantes en este Convenio bajo los términos que constan del Art. 114 del código INGENIOS, haciéndose hincapié que el 40% de la explotación económica de su trabajo es un derecho irrenunciable.

NOVENA: DOMICILIO. -

IMPROPACK CIA LTDA.

Domicilio

Dirección: Cayambe, Juan Montalvo, Av. Loma Larga

Teléfono: 0987361077

Correo Electrónico: impropack.gerencia@gmail.com

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA:

Domicilio de la UPS Quito

Dirección: Av. 12 de Octubre 2422 y Presidente Wilson

Teléfono: 39628000 y 3962900

Correo electrónico: svelecela@ups.edu.ec

Cualquier cambio de dirección deberá ser notificado por escrito a las otras Partes para que surta sus efectos legales; de lo contrario tendrán validez los avisos efectuados a las direcciones antes indicadas.

DECIMA: CONTROVERSIAS. -

En caso de controversias, que se deriven de la aplicación de los términos del presente convenio, las partes agotarán todos los mecanismos amigables pertinentes para la solución de éstas; y, solo en el caso que no sea posible solucionarlos, podrán recurrir al procedimiento de mediación, en el Centro de Mediación de la Cámara de Comercio de Quito.

DÉCIMA PRIMERA: DOCUMENTOS HABILITANTES

Son documentos habilitantes y forman parte integrante de este instrumento los siguientes:



- Nombramiento de Ing. Juan Carlos Houdek Román Representante legal
- Copia de cédula
- Nombramiento de la Mgtr. María Sol Villagómez Vicerrectora UPS Sede Quito.
- Copia de cédula
- Nombramiento del Dr. Jeffrey Zúñiga Ruilova Procurador UPS
- Copia de cédula

DÉCIMA SEGUNDA: ACEPTACIÓN Y RATIFICACIÓN. -

Las partes declaran expresamente su aceptación de todo el contenido del presente Convenio, por haber sido elaborado en seguridad de sus respectivos intereses.

Para constancia de las declaraciones presentes y ratificándose en todo su contenido y fiel cumplimiento de lo estipulado, firman tres ejemplares de igual valor y tenor, en la ciudad de Quito, a los 27 días del mes de mayo del 2021.

Por: IMPROPACK



R.U.C. 1733025617001

Ing. Juan Carlos Houdek Román

GERENTE GENERAL

Por: UNIVERSIDAD SALESIANA

MARIA SOL
VILLAGOMEZ
RODRIGUEZ

Firmado digitalmente por MARIA SOL VILLAGOMEZ RODRIGUEZ
Número de negocio: 10000107001
=BANCO CENTRAL DEL ECUADOR
=ENTIDAD DE CERTIFICACION DE INFORMACION EJECUTIVA
Cedula: 10000107001
Fecha: 2021.05.27 14:40:13 -0500

Mgtr. María Sol Villagómez PhD.

VICERRECTORA



Firmado digitalmente por
JEFFREY GERARDO
ZUNIGA RUILOVA

Dr. Jeffrey Zúñiga Ruilova

PROCURADOR

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

Revisado por:	Mgtr. Nancy Bastidas	06-05-2021
Realizado por:	Lcto. Darwin Cáceres	06-05-2021

Aprobación Legal:	Dr. Jeffrey Zúñiga Ruilova	26-05-2021
Aprobación de Sede:	Mgtr. María Sol Villagómez R. Ph.D.	10-04-2021

Anexo 2. Fotografía inicial de una rosa de la variedad ATOMIC

Rosa sp. Variedad Atomic



Elaborado por: Los autores, 2021.

Anexo 3. Fotografía del etiquetado de las plantas

Etiquetado

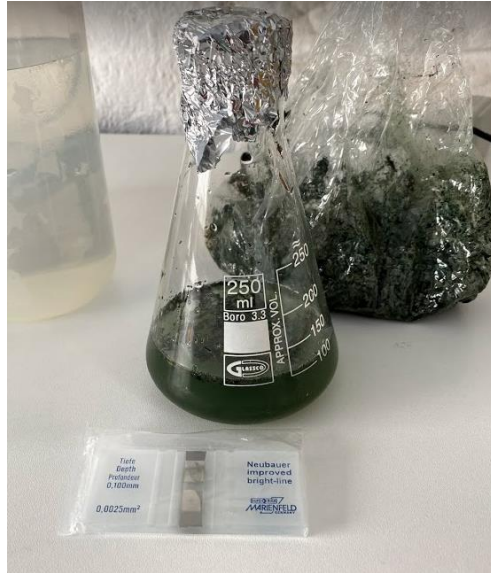


Elaborado por: Los autores, 2021.

Anexo 4. Fotografía de la separación por bloques y tratamientos del ensayo



Anexo 5. Muestra del biopreparado obtenido previo al análisis de concentración



Elaborado por: Los autores, 2021.

Anexo 6. Montaje de placas para microscopía

Etiquetado



Elaborado por: Los autores, 2021.

Anexo 7. Estados fenológicos de la rosa

Estados de la Rosa



Elaborado por: Los autores, 2021.