

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAÑETE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



Capacidad endofítica de cepas de *Trichoderma* sp. durante el establecimiento de vitroplantas de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) en

Cañete

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE

INGENIERO AGRÓNOMO

PRESENTADA POR:

José María Espinoza Astorayme

ASESOR:

Dra. Betsabe Leon Ttacca

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4343-2431>

DEDICATORIA

Agradezco a Dios por guiarme en vida y cuidarme en todo momento siendo fortaleza en todo momento en las buenas y en las malas.

A mis padres, por guiarme en mi vida estudiantil

A los docentes y compañeros de la Escuela de Agronomía de la Universidad Nacional de Cañete por su apoyo constante en el desarrollo de mi carrera profesional.

A mi esposa, por su aliento y ayuda durante todo este proceso

A mi hija Sophia por ser la mayor motivación a alcanzar esta gran meta.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, a Dios, el artífice de todos mis logros.

A la Dra. Betsabe León Tacca, por ser mi guía durante este proceso. A la Universidad Nacional de Cañete, mi casa de estudios donde forjé mis estudios en Ciencias Agrarias.

A mis compañeros y a mi familia, que de alguna u otra manera contribuyeron en el desarrollo de mi tesis.

Gracias a todos.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE TABLAS	x
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xii
I. Introducción.....	1
II. Marco Teórico.....	3
2.1. Antecedentes de la Investigación	3
2.2. Origen y Distribución del Arándano	6
2.3. El Arándano en el Perú y su Importancia Socioeconómica	6
2.4. Taxonomía del Arándano	7
2.5. Fenología	7
2.6. Descripción Botánica del Arándano	8
2.7. Propagación del Arándano	9
2.8. Medio de Cultivo.....	9
2.9. Propagación In Vitro a partir de Segmentos Foliare.....	9
2.10. Hongos Endófitos	11
2.11. Clasificación de los Hongos Endófitos.....	11
2.12. Relación Hongo Endófito y Planta Hospedante	11
2.13. Capacidad de los Hongos Endófitos.....	11
2.14. Biología del Trichoderma sp	12
2.15. Taxonomía.....	13
2.16. Fisiología	14
2.17. Condiciones Ambientales	14
2.18. Mecanismos de Acción.....	14
2.19. Mecanismos Combinados.....	16

2.20. Marco Conceptual	16
III. Materiales y Métodos	17
3.1. Definición de Variables.....	17
3.1.1. Variable Independiente.....	17
3.1.2. Variable Dependiente	18
3.2. Operacionalización de Variables.....	18
3.3. Tipo y Diseño de la Investigación.....	19
3.3.1. Tipo de Investigación	19
3.3.2. Diseño Experimental	20
3.3.3. Ubicación Geográfica y Descripción del Campo Experimental.....	23
3.4. Población y Muestra.....	23
3.4.1. Población	23
3.4.2. Muestra	23
3.5. Procedimiento de la Investigación	24
3.5.1. Adquisición de Vitroplantas de Arándano.....	24
3.5.2. Esterilización de Sustrato.....	24
3.5.3. Incremento y Uniformización de Inóculo de <i>Trichoderma</i> sp.....	25
3.5.4. Producción de Cepas de <i>Trichoderma</i> sp en Sustrato Arroz	26
3.5.5. Enraizamiento y Aclimatación de Vitroplantas de Arándano	27
3.5.6. Trasplante y Manejo en Vivero	28
3.5.7. Inoculación de <i>Trichoderma</i> en Vitroplantas de Arándano	29
3.5.8. Reaislamiento.....	31
3.6. Parámetros de Evaluación	32
3.7. Registro de Datos Meteorológicos	33
3.8. Análisis de Datos.....	34
IV. Resultados y Discusiones	35
4.1. Colonización endofítica de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. durante el establecimiento de vitroplantas de arándano (<i>V. corymbosum</i> L.) mediante dos métodos de inoculación	35

4.2. Efecto de Cepas de <i>Trichoderma</i> sp. en el Crecimiento de Vitroplantas de Arándano (<i>V. corymbosum</i> L) Mediante dos Métodos de Inoculación.....	38
V. Conclusiones.....	49
VI. Recomendaciones.....	51
VII. Referencias Bibliográficas.....	52
ANEXOS.....	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Diagrama de propagación <i>In vitro</i>	10
Figura 2 Colonias de <i>Trichoderma</i> sp.....	13
Figura 3 Conidios y conidióforos de <i>Trichoderma</i> sp.	13
Figura 4 Aleatorización de tratamientos	22
Figura 5 Lugar de ejecución de la investigación	23
Figura 6 Vitroplantas de arándano utilizadas en la investigación	24
Figura 7 Esterilización del sustrato	25
Figura 8 Uniformización de inóculo de cepas de <i>Trichoderma</i> sp., realizado en el laboratorio de Sanidad Vegetal de la UNDC, 2021	25
Figura 9 Cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito empleadas en la investigación	26
Figura 10 Producción de cepas de <i>Trichoderma</i> sp en sustrato arroz, realizado en laboratorio de Sanidad Vegetal de la UNDC, 2021.....	27
Figura 11 Enraizamiento y aclimatación de vitroplantas de arándano, realizado en laboratorio de Sanidad Vegetal de la UNDC, 2021	28
Figura 12 Trasplante de vitroplantas de arándano (Método1), realizado en el vivero de la UNDC, 2021	29

Figura 13 <i>Inmersión de raíces con suspensión de esporas de cepas de Trichoderma endofito en vitroplantas de arándano (Método 1), realizado en laboratorio de Sanidad Vegetal y vivero de la UNDC, 2021</i>	30
Figura 14 <i>Infestación del sustrato con cepas de Trichoderma endofito en vitroplantas de arándano (Método 2), realizado en laboratorio de Sanidad Vegetal y vivero de la UNDC, 2021</i>	31
Figura 15 <i>Reaislamiento de Trichoderma sp de plántulas de arándano, realizado en laboratorio de sanidad vegetal, 2021</i>	32
Figura 16 <i>Evaluación de parámetros de crecimiento de vitroplantas de arándano durante su establecimiento, realizado en el vivero y laboratorio de sanidad vegetal, 2021</i>	33
Figura 17 <i>Efecto de la inoculación de cepas de Trichoderma sp en el porcentaje de colonización endofítica en vitroplantas de arándano (V. corymbosum L.) a los 90 días de evaluación, realizado en laboratorio de Sanidad Vegetal de la UNDC, 2021</i>	36
Figura 18 <i>Altura de vitroplantas (cm) de arándano var. Biloxi tratadas con cepas de Trichoderma sp., en el vivero de la UNDC sede CNI, 2021</i>	40
Figura 19 <i>Número de hojas (unidades) de vitroplantas de arándano var. Biloxi tratadas con cepas de Trichoderma sp. en el vivero de la UNDC sede CNI, 2021</i>	41
Figura 20 <i>Efectos simples de la interacción métodos y cepas de Trichoderma sp en el número de hojas (unidades) de vitroplantas de arándano var. Biloxi en el vivero de la UNDC sede CNI, 2021</i>	42
Figura 21 <i>Diámetro de tallo (mm) de vitroplantas de arándano var. Biloxi tratadas con cepas de Trichoderma sp. en el vivero de la UNDC sede CNI, 2021</i>	43
Figura 22 <i>Efectos simples de la interacción métodos y cepas de Trichoderma sp en el diámetro de tallo (mm) de vitroplantas de arándano var. Biloxi en el vivero de la UNDC sede CNI, 2021</i>	44

Figura 23 <i>Número de brotes (unidades) de vitroplantas de arándano var. Biloxi tratadas con cepas de Trichoderma sp. en el vivero de la UNDC sede CNI, 2021</i>	45
Figura 24 <i>Biomasa aérea fresca y seca (g) de vitroplantas de arándano var. Biloxi tratadas con cepas de Trichoderma sp. en el vivero de la UNDC sede CNI, 2021</i>	46
Figura 25 <i>Biomasa radicular fresca y seca (g) de vitroplantas de arándano var. Biloxi tratadas con cepas de Trichoderma sp. en el vivero de la UNDC sede CNI, 2021</i>	47

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 <i>Operacionalización de Variables</i>	19
Tabla 2 <i>Identificación de tratamientos según las combinaciones de los niveles de cada factor</i>	20
Tabla 3 <i>Procedencia de cepas de Trichoderma sp. utilizadas en la investigación</i>	26
Tabla 4 <i>Resultados de Prueba de Normalidad y homogeneidad de varianzas en las variables determinantes evaluadas en la colonización endofítica y crecimiento vegetal de arándano</i>	34
Tabla 5 <i>Análisis de varianza de la colonización endofítica de cepas de Trichoderma sp. durante el establecimiento de vitroplantas de arándano (V. corymbosum L.) mediante dos métodos de inoculación, realizado en el laboratorio de Sanidad Vegetal de la UNDC, 2021</i>	35
Tabla 6 <i>Porcentaje de colonización de cepas de Trichoderma sp endófito durante el establecimiento de vitroplantas de arándano (V. corymbosum L.) mediante dos métodos de inoculación, realizado en laboratorio de Sanidad Vegetal de la UNDC, 2021</i>	36
Tabla 7 <i>Análisis de varianza de variables de crecimiento de vitroplantas de arándano (V. corymbosum L) var. Biloxi tratadas con cepas de Trichoderma sp mediante dos métodos de inoculación en el laboratorio de Sanidad Vegetal de la UNDC, 2021</i>	38
Tabla 8 <i>Prueba de comparación de medias para el factor Métodos de inoculación de las variables de crecimiento de vitroplantas de arándano (V. corymbosum L) var. Biloxi tratadas con cepas de Trichoderma sp. en el vivero de la UNDC sede CNI, 2021</i>	39

RESUMEN

Esta investigación fue conducida en el laboratorio de Sanidad Vegetal y vivero de la Universidad Nacional de Cañete, se determinó la colonización endofítica de 10 cepas de *Trichoderma* sp. durante el establecimiento y crecimiento de vitroplantas de arándano (*V. corymbosum* L.) mediante dos métodos de inoculación (Método 1: Inmersión de raíces con suspensión de esporas y Método 2: Infestación al sustrato por suspensión de esporas). El experimento se realizó bajo un diseño completo al azar (DCA) con arreglo factorial 11 x 2 (AxB) con 4 repeticiones por tratamiento, un total de 22 tratamientos. Los factores en estudio fueron: cepas de *Trichoderma* (Factor A) y los métodos de inoculación (Factor B). Para la colonización endofítica se empleó explantes (5 cm de altura) que fueron enraizados en sustrato esterilizado a base de turba, se inocularon las cepas al momento del trasplante y se mantuvo bajo condiciones controladas en túneles durante 90 días. El reisolamiento de las cepas se realizaron de secciones de tejido de las plantas en medio de cultivo de corn meal agar y se evaluó el porcentaje de colonización de las cepas. Otro grupo de vitroplantas enraizadas fueron trasplantadas e inoculadas con las cepas en bolsas de vivero conteniendo sustrato a base de cascarilla de arroz y turba, se mantuvo durante 3 meses en el vivero para evaluar altura de planta (AP), número de hojas (NH), diámetro de tallo (DT), número de brotes (NB), peso fresco (PFBA) y seco de la biomasa aérea (PSBA), y peso fresco (PFBR) y seco de la biomasa radicular (PSBR). Los datos fueron analizados con el software estadístico minitab versión 2.0. Los métodos de inoculación de cepas de *Trichoderma* no tuvieron efecto en la colonización endofítica en las vitroplantulas de arándano. Sin embargo, todas las cepas de *Trichoderma* colonizaron los tejidos, siendo la cepa HE-4 con mayor colonización (21.53 %) mientras que la cepa HE-94 (5.54%) presentó la menor colonización en las vitroplantas. A nivel de vivero, las vitroplantas inoculadas con el método 2 tienen mayor efecto que el método 1 en la AP, NH, DT y PFBA a diferencia de las demás variables no tienen efecto los métodos de inoculación. Asimismo, la aplicación de cepas de *Trichoderma* no influyen en la PSBR y NB que en las demás variables. Las cepas HE-4, y HE-94 presentaron los valores más altos en AP (18.87 y 18.24 cm) y PFBA PFBR, las cepas HE-93 y HE-94 en NH (29.79 y 29.29 unidades) y DT (2.1 y 2.08 mm); sin embargo, la cepa HE-3 fue la que tuvo menor efecto en todas las variables evaluadas. Los resultados sugieren que las cepas HE-93 y HE-94 son las que tuvieron mayor efecto en todas las variables.

Palabras claves: Hongo, endófito, inoculación, colonización, *In vitro*.

ABSTRACT

This research was conducted in the Plant Health laboratory and nursery of the National University of Cañete, was carried out the endophytic colonization of 10 strains of *Trichoderma* sp. during the establishment and growth of blueberry (*V. corymbosum* L.) in vitro plants using two inoculation methods (Method 1: Immersion of roots with spore suspension and Method 2: Infestation of the substrate by spore suspension). The experiment was carried out under a completely randomized design (DCA) with a factorial arrangement of 11 x 2 (AxB) with 4 repetitions per treatment, being a total of 22 treatments. The factors under study were: *Trichoderma* strains (Factor A) and inoculation methods (Factor B). For endophytic colonization, explants (5 cm high) were used, which were rooted in sterilized peat-based substrate, the strains were inoculated at the time of transplantation and kept under controlled conditions in tunnels for 90 days. The reisolation of the strains were carried out from tissue sections of the plants in a corn meal agar culture medium and the percentage of colonization of the strains were evaluated. Another group of rooted in vitro plants were transplanted and inoculated with the strains in nursery bags containing substrate based on rice husks and peat, kept for 3 months in the nursery to evaluate plant height (AP), number of leaves (NH), stem diameter (SD), number of shoots (NB), fresh (PFBA) and dry weight of aerial biomass (PSBA), and fresh (PFBR) and dry weight of root biomes (PSBR). The data were analyzed with the statistical software Minitab version 2.0. Inoculation methods of *Trichoderma* strains did not have any effect in endophytic colonization in vitro blueberry plants. However, all the *Trichoderma* strains colonized the tissues, being the HE-4 strain with the highest colonization (21.53%) while the HE-94 strain (5.54%) presented the lowest colonization in vitro plants. At the nursery level, in vitro plants inoculated with method 2 have a greater effect than method 1 on AP, NH, DT, and PFBA, unlike the other variables, the inoculation methods do not have any effect. Likewise, the application of *Trichoderma* strains does not influence the PSBR and NB as the other variables. The HE-4 and HE-94 strains presented the highest values in AP (18.87 and 18.24 cm) and PFBA PFBR, HE-93 and HE-94 strains in NH (29.79 and 29.29 units) and DT (2.1 and 2.08 mm); however, the HE-3 strain was the one that had the least effect on all the variables evaluated. The results suggest that the HE-93 and HE-94 strains are the ones that had the greatest effect on all the variables.

Keywords: Fungus, endophyte, inoculation, colonization, *In vitro*.

Capítulo I:

Introducción

En el transcurso de los últimos años, el cultivo de arándano *V. corymbosum*. en el Perú ha logrado un interés comercial a nivel mundial. Siendo los principales mercados de Europa y Estados Unidos, en donde su demanda es muy alta. Los requerimientos de los mercados internacionales en productos que contiene antioxidantes, han motivado a los productores enfocarse en el cultivo de arándano. La página especializada en inteligencia comercial FreshFruit.pe (2022) indica que el Perú al primer semestre del 2022 se consolidó como el primer proveedor de arándanos en el mundo, con un 25% de participación; este resultado duplica a Chile, segundo mayor exportador de la fruta, país que logró US\$ 564 millones de arándano exportado.

El cultivo de arándano en la provincia de Cañete ha tenido un incremento en áreas de producción durante los últimos años, con fines de exportación debido a los diferentes beneficios y propiedades que nos brinda, tanto nutricional y medicinal; sin embargo, existen escasos reportes y estudios sobre la microbiota endófito del arándano, debido al desconocimiento de los beneficios que tiene estos microorganismos, para la planta. Asimismo, en el valle de Cañete el productor utiliza de manera excesiva los productos químicos como única alternativa para solucionar los problemas fitosanitarios.

El control biológico de enfermedades en el cultivo de arándano es una alternativa amigable al uso del control químico, protegiendo la micro flora benéfica de la planta y suelo. Se introducirán hongos endófitos en plantas *In vitro* de arándano con la finalidad de obtener plantas colonizadas con microorganismos benéficos y luego se podrán ser trasplantadas en campo definitivo, los microorganismos endófitos no ocasionan daños o lesiones a las plantas, la interacción que existe entre planta hospedera y el endófito se considera muy importante, según Sánchez *et al.* (2013) debido a que el hongo endófito tiene una capacidad de elaborar compuestos activos, asimismo transformar los mecanismos de defensa de su planta hospedera, brindando resistencia o protección, contribuyendo así a la mejora del rendimiento y promoviendo el crecimiento constante de la planta. Por lo tanto, generando calidad de frutos e incrementando la rentabilidad de la producción.

El estudio sobre hongos endófitos, específicamente especies del género *Trichoderma* es muy limitado en el cultivo de arándano en la provincia de Cañete, es por ello que se desea brindar una nueva alternativa para la producción de plántulas asociadas con hongos endófitos con capacidad de generar resistencia a enfermedades y mejorar el rendimiento por lo tanto este trabajo de investigación tuvo como objetivos los siguientes:

Objetivo General

Determinar la capacidad endofítica de cepas de *Trichoderma* sp. durante el establecimiento de vitroplantas de arándano (*V. corymbosum* L.).

Objetivos Específicos

Analizar la colonización endofítica de cepas de *Trichoderma* sp. durante el establecimiento de vitroplantas de arándano (*V. corymbosum* L.) mediante dos métodos de inoculación.

Explicar el efecto de cepas de *Trichoderma* sp en el crecimiento de vitroplantas de arándano (*V. corymbosum* L) mediante dos métodos de inoculación.

Capítulo II:

Marco Teórico

2.1. Antecedentes de la Investigación

Viena (2015) en la evaluación en incidencia y severidad de *Verticillium dahliae* en el cultivo de cacao y su control con *Trichoderma* endófito, obtuvo como resultado de la incidencia en plantas de cacao de tres meses de edad colonizadas con el hongo endófito, a los dieciocho días de inoculación presentó diferencia significativa en los tratamientos, con un 22.41 de coeficiente de variabilidad. Los tratamientos con inóculo del hongo reportaron un menor porcentaje de incidencia (de entre 20 y 90%); asimismo, las plantas mostraron un crecimiento con severidad menor en el periodo mencionado. Los tratamientos TE-3 y TE-7 tuvieron valores de incidencia de 50 y 40 % y valores de severidad de 23,92 y 22,79%, respectivamente. Infieren que, los tratamientos inoculados con *Trichoderma* mostraron severidad y valores AUDPC menores al tratamiento control. TE-3 (13,06%) y TE-7 (44,31%) de severidad, con AUDPC entre 54,32 y 141,13; el tratamiento Control mostró un 59,82% de severidad y un AUDPC de 226,72.

Larico y León (2016) reportaron el efecto de métodos de aplicación y dosis de *Trichoderma viride*, en la aclimatación y crecimiento de vitroplantas de papa Var. Imilla negra, que fueron establecidas en invernadero en las estaciones de primavera e invierno. Como unidades formadoras de colonia (ufc) aplicaron tres dosis de *T. viride*: D0: 0, D1: 1×10^7 y D2: 1×10^6 (ufc). Con dos métodos; M1, infestación al suelo (ufc.gr de suelo⁻¹) y M2, inmersión de raíces de vitroplantas de 25 días de edad (1×10^7 ufc.ml de agua⁻¹). Estas fueron aclimatadas y conservadas durante seis meses en invernadero, evaluaron “el porcentaje de sobrevivencia de plántulas (S), altura de planta (AP), y número total (NT) y peso de tubérculos (PT) por planta”. Obtuvieron como resultado de S en el M1 con 49.26% mayor al del M2 con 40%. En PT de vitroplantas el M2, con 40.81 gr. planta⁻¹, presentó resultados mayores al M1. En los resultados de dosis, la D1 tuvo mejor efecto en S con 56.67% y PT con 52.80 gr. planta⁻¹, las dosis D2 y D0 expresaron un menor efecto en las variables señaladas.

Leon (2016) a fin de determinar el índice y porcentaje de colonización endofítica evaluó el efecto de 10 cepas nativas de *Trichoderma* sp, mediante la peletización de semillas de *Chenopodium quinoa* e infestación de sustratos (IS) con esporas de cepas de *Trichoderma* aisladas de *Chenopodium* (T1, T2, T3, T4 y T5) y *Theobroma cacao* (T6, T7, T8, T9 y T10). A los 30 y 60 días sembró semillas peletizadas con el hongo endofito a una dosis de 1×10^6 ufc.semilla⁻¹ y realizó aplicaciones foliares de 1×10^7 ufc.ml⁻¹, en las etapas fenológicas de ramificación, panojamiento, floración y grano lechoso. En el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC) en los cuatro registros de severidad, el total de cepas llegaron a

colonizar diversas partes de la planta; por lo que, los consideró como endófitos de la quinua. Evaluado a los 60 días, para la variable colonización el método de IS tuvo el mayor porcentaje de colonización con el 34.24 %; asimismo, la cepa T10 logró el mayor porcentaje de colonización con 60%, la T3 tuvo un 56.67% y la T2 con 43.33%.

Carbajal (2017) determinó la capacidad endofítica de hongos a partir de hojas aisladas en plántulas de café que fueron tomadas de plantas sanas, retirando las hojas marchitas. Como resultados reportó que, el *Trichoderma* sp alcanzó su crecimiento máximo el día nueve (novena evaluación) con 9 cm; asimismo, con un crecimiento de 7,14 cm en el día 5 (quinta evaluación) logró el control del crecimiento y desarrollo de *Colletotrichum* sp, que logró 1,82 cm; asimismo, el *Trichoderma* sp consiguió en promedio una mayor cantidad de hojas (11.3) y una mayor área foliar (79,34 cm²). En relación a la capacidad endofítica, las plantas inoculadas con *Trichoderma* sp, *Aspergillus* sp y *Verticilium* sp lograron un mayor control de *Colletotrichum* sp; observando un mayor número hojas, tamaño superior al promedio, mayor vigorosidad de las hojas y no mostraron síntomas de la enfermedad.

Ramos (2006) evaluó el efecto de hongos endofíticos en el desarrollo de vitroplantas de piña y banano. Para hallar los hongos endófitos que causan mayor promoción de crecimiento en estas dos especies vegetales inoculó 140 vitroplantas de banano cultivar Gran Enano y 140 de piña híbrido MD-2. A los 60 días, en el primero, reportó que las vitroplantas con inoculó de los tratamientos de *Trichoderma* (Endofítico 1 y Endofítico 2) y de *Fusarium* (6.8 *Fusarium* y Endofítico 4), manifestaron valores superiores en el diámetro del pseudotallo, altura de planta, N° de hojas activas, peso foliar, peso radical y desarrollo de raíces; en esta última se registró que el tratamiento Mycoral® indujo mayor crecimiento radicular. En la segunda especie vegetal evaluada, respecto a las variables mencionadas, reportó que los tratamientos con inóculo Endofítico 3 (*Fusarium*), 2.10 *Trichoderma*, 3.10 *Trichoderma* y 1.4 *Trichoderma* mostraron valores superiores respecto a los demás tratamientos. Asimismo, en la variable N° de hojas activas no hubo diferencia significativa entre inóculos, todos los tratamientos reportaron un mayor número respecto al testigo.

Moya (2016) estudió la diversidad de hongos endofíticos de *Citrus sinensis* ubicadas en las regiones de Ecuador, estableciendo el aislamiento de 49 hongos endófitos y epífitos, también se logró identificar molecularmente, 33 géneros de hongos y 18 distintas especies de hongos endófitos y epífitos, siendo el género *Epicoccum* sp. quien resultó ser el hongo endófito más abundante en la planta, la identificación se realizó de manera molecular mediante la extracción de ADN y su posterior secuenciación de las zonas ITS de los genes del

ribosoma, utilizando la herramienta BLAST, se logró realizar una comparación de las secuencias obtenidas con las del Banco de genes del NCBI.

Morales (2014) estudió el potencial de hongos endófitos procedentes de *Musa* spp. *Trichoderma atroviride* y *Fusarium oxysporum*, y el efecto combinado de estas cepas recolectadas, sobre el crecimiento de vitroplantas de banano. La inoculación de dichos hongos se hizo de manera individual y se agregó un testigo. El diseño utilizado fue en Bloque Aleatorio completo con diez tratamientos, las variables evaluadas fueron la capacidad antagónica del hongo endófito y el crecimiento y morfología de las raíces. Los resultados demostraron que las dos cepas de hongos endófitos tienen gran capacidad antagónica y promovieron el aumento del peso de follaje y raíces, sin embargo, de forma combinada el antagonismo fue menor.

Hernández *et al.* (2016) estudiaron la actividad endofítica de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* (Goddard) Zare y Gams cepa IMI SD 187 (KlamiC®) y su efecto en el desarrollo de vitroplantas de bananos y platanos. Para ello se utilizó los cultivares: „CEMSA ¾“ (AAB), „Pisang Ceilan“ (AAB), „FHIA-01“ (AAAB) y „FHIA18“ (AAAB). Las vitroplantas fueron trasplantadas en bolsas de polietileno negro y bandejas de polipropileno, utilizando guano de vacuno, para después ser distribuido por toda el área de aclimatación, las variables evaluadas fueron la colonización del hongo endófito y el desarrollo vegetativo. Utilizaron un Diseño Completo al Azar, con 70 repeticiones por tratamiento. Como resultado mostraron que existe un crecimiento significativo de vitroplantas tratados con KlamiC® en comparación con el testigo.

Caballero (2011) evaluó el efecto de los aislamientos de *Trichoderma* spp., sobre el crecimiento de las vitroplantas de banano del cultivar Gros Michel (AAA) en condiciones de invernadero. Reportó que las plantas inoculadas con el hongo endófito (HE) TCL1 incrementó el peso de la raíz en un 109% y el peso del follaje en un 148%, respecto al testigo absoluto; el HE TCL6 incrementó la altura de las plantas; los HE TV3, TD7 y TD6 indujeron a que las plantas desarrollaran mayor número de hojas y con el HE TCL4 observó un crecimiento en el ancho de la tercera hoja. Asimismo, los HE TC9, TC8, TCL1 y TD6, mostraron los pesos más altos, de la raíz con 0,67 y el follaje con 0,76.

Núñez y Pavone (2014) evaluaron en vivero la eficacia de *Trichoderma* sp (cepas TV72 - *T. harzianum* y TV190 - *T. asperellum*) en el biocontrol de *Pyricularia grisea* en plantas de arroz (*O. sativa* var. Cimarrón). Estas indujeron el incremento de velocidad en la germinación de granos, aumento de masa seca y mayor longitud radicular en primeras etapas fenológicas de las plantas; tanto en condiciones de secano y/o inundación. Respecto a los

reportes en la producción y calidad del grano, observaron menor rendimiento bajo secano y superiores para una lámina de agua de 5 cm. En láminas de agua de 5 y 15 cm, las plantas inoculadas con *Trichoderma* obtuvieron una mayor tasa de producción y una alta reducción de incidencia del manchado de granos. Las cepas TV72 y TV190 mostraron prometedores resultados en el control de *P. grisea* debido a su antagonista actividad extracelular.

2.2. Origen y Distribución del Arándano

Según Chacón (2014) el origen del arándano proviene del norte de América, corresponde a la familia de las Ericáceas y pertenece al género *Vaccinium*, se calcula unas veinticinco especies de las cuales solo tres tiene gran demanda del mercado, *V. ashei* (rabbiteyi), *V. corymbosum*, (highbush) y *V. angustifolium* (lowbush). De igual manera Castillo (2008) refiere que el arándano de porte bajo cubre una gran extensión en las regiones del norte de América y también crece de manera rústica. Huamantingo (2016) indica que el cultivo de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) tiene origen en el norte de América, y es parte de la familia de las Ericáceas, en el Perú la información que se puede obtener es escasa, las referencias obtenidas básicamente son de viveros ubicados en Cañete, Lima, Arequipa y Ica, debido a que es un cultivo reciente y prometedor.

De acuerdo a Chacón (2014) el arándano (*V. corymbosum*) se encuentra distribuida de forma muy amplia por todo el hemisferio sur y norte de América y en menor proporción se encuentra en África, Europa y Asia.

También Gómez (2010) refiere que el género *Vaccinium* tiene cerca de 450 especies los cuales se encuentran en todo el mundo desde las zonas más despejadas del trópico y neo trópico hasta las zonas más frías de los polos norte y sur

2.3. El Arándano en el Perú y su Importancia Socioeconómica

Armando (2016) refiere que en el Perú el cultivo de arándano se inició en el periodo de los años 2007 al 2008. Hasta el 2015, se estimaron 2.500 ha cultivadas, con una producción anual de 10.300 toneladas las cuales fueron exportadas casi al 100%. Asimismo, indica que el MINAGRI estima para el año 2016 una producción que supera las 20000 toneladas. La ventaja que tiene Perú es la ventana exportable que existe en Europa y Estados Unidos en los meses de abril, mayo, agosto y septiembre meses en que disminuye el abastecimiento de arándanos en dichos países.

Santa María *et al.* (2019) manifestó que en el periodo de enero y abril del 2019, la producción total de arándano aumento en 105% con 24,670 toneladas, en comparación del 2018 que solo obtuvo una producción de 12,027 toneladas.

Según Chacón (2014) el arándano (*Vaccinium* sp.) en los últimos diez años ha tenido una fuerte aceptación a nivel mundial debido a su alto valor nutricional, la demanda por los países avanzados se incrementa incluso a mayor velocidad que la producción.

El Santa María (2019) cita que en el 2018 la producción en el país fue de 92,200 miles de toneladas, aumentando la producción en 78,2% a diferencia del 2017, los departamentos de Lambayeque y la Libertad aportaron con el 17,5 y 78,9% de la producción total.

2.4. Taxonomía del Arándano

Castillo (2008) indica la taxonomía del arándano en la disposición siguiente:

Reino: Vegetal

Orden: Ericales

Familia: Ericáceas

Subgénero: Cyanococcus

Género: *Vaccinium* Especies:

[5 grupos] Las especies presentan cinco grupos:

Grupo 1.- *V. corymbosum* L. llamados arándanos altos del norte (Highbush), requieren de 800 a 1000 horas de frío (H.F).

Grupo 2.- *V. corymbosum* L. y *V. darrowi* denominados arándanos altos del sur, requieren de 200 a 400 horas de frío, en algunos casos hasta 600 H.F.

Grupo 3.- *V. angustifolium* y *V. myrtilloides* denominado arándanos bajos, los cuales requieren menos de 200 H.F.

Grupo 4.- *V. vigratum* y *V. reade* llamados arándanos ojos de conejo (Rabbiteye), su requerimiento es 400 a 800 H.F.

Grupo 5.- *V. corymbosum* y *V. angustifolium* nombrados arándanos medios a altos, su requerimiento es menor a los 400 H.F.i

2.5. Fenología

De acuerdo a Rivadeneira (2008) la fenología del cultivo de arándano *V. corymbosum* presenta dos etapas, reproductiva y vegetativa, los dos están condicionadas directamente por el manejo del cultivo y el clima.

a) Escala Reproductiva (R)

R1: Yema Hinchada diferenciada origina flores

R2: Yema Abierta. Inicio floración

R3 y R4: Botones de flor. Corola cerrada

R5: Flor abierta

R6: Cuaje. Fruto cuajado, caída de corola, división celular del fruto

R7: Fruto Verde 25% de su tamaño final

R8: Fruto Verde-rosado 50% de tamaño final R9: Fruto formado, cambiando color **b)**

Escala Vegetativa (V)

V1: Punta Verde. Yema vegetativa inicia su apertura

V2: Brotación. Hojas recién formadas, dispuestas en roseta.

V3: Brote nuevo. Brotes extendiendo entrenudos y hojas expandiendo láminas V4:

Rama nueva: Brote con entrenudos largos, hojas expandidas, engrosando láminas V5:

Rama formada. Rama cargadora, con yemas sin diferenciar.

2.6. Descripción Botánica del Arándano

Según Armando (2016) el arándano (*V. corymbosum*) es un arbusto perenne caducifolio de porte alto, tienen hojas simples y la forma puede ser lanceolada u ovalada, las estomas presentes en las hojas se encuentran ubicadas únicamente al envés de las hojas y pueden llegar a tener hasta 300 por cada milímetro cuadrado. Castillo (2008) dice que las flores presentan una corola de color rosada o blanco y el fruto presenta tamaño y diámetro variable el cual depende de la variedad, además tiene un color azul, es por ello que se denomina en inglés

“Blueberry”.

García (2010) describe la botánica del arándano enfocándose en cada parte de la planta:

- La raíz es superficial, se encuentra el 80% en los primeros 40 centímetros del suelo; es fina y fibrosa, no cuentan con pelos absorbentes. En el encuentro de raíces y área foliar se forma la corona, esta tiene la función de generar nuevos brotes.
- Las hojas son simples, alternadas, tiene un pedicelo corto, su forma es elípticolanceolada, caducas, finamente dentadas y nerviadas en el envés de la hoja.
- Las flores son axilares o terminales, dispuestas en racimos de 6 a 10 en cada yema. Corola de forma acampanada, de color blanco y tonos rosados en algunos cultivares. Pétalos de 4-5, totalmente fusionados. Estambres de 8 a 10 con anteras aristadas, las que se prolongan en tubos terminales con una abertura en el área del ápice. Pistilo simple. Ovario ínfero con 4 a 10 lóculos.
- El fruto es una falsa baya, esférica, el diámetro varía de 1 a 3 cm. Al acercarse a la maduración, presentan distintos grados de color, siendo el tono azul predominante al término de la etapa de maduración. La epidermis del fruto es protegida por secreciones cerosas.

2.7. Propagación del Arándano

De acuerdo a Cutz (2004) la propagación se puede realizar por estaquillado, semillas y mediante la micropropagación. La técnica del estaquillado no es muy utilizada ya que expresa bajo rendimiento y tienes problemas para enraizar. En cuanto a la propagación mediante el uso de semillas solo se utiliza para el estudio de nuevas variedades. La técnica de micropropagación es la más utilizada ya que permite plantas libres de enfermedades y virus, la única desventaja es el precio elevado.

2.8. Medio de Cultivo

De acuerdo a Krikorian (1991) para el desarrollo de los tejidos es necesario ciertos nutrientes orgánicos e inorgánicos, estos requerimientos están determinados mediante el análisis de las partes vegetativas de las plantas inferiores y superiores. Las células que están en desarrollo normalmente pueden fabricar sus propias proteínas, sin embargo, también necesitan ciertos nutrientes orgánicos en cantidades mínimas para activar el crecimiento. Desde un punto de vista general los tejidos vegetales se pueden desarrollar en cualquier medio que contenga las sales necesarias para el crecimiento de los órganos o tejidos vegetales.

Asimismo, indica que los nutrientes esenciales para el medio de cultivo deben ser las adecuadas, en el caso de los macroelementos debe de contener (C – H – O – N – P – K – Ca y Mg) y microelementos (Zn – Br - Cu – Mn – Mo – Fe – Cl). También existen antecedentes del uso de Níquel en el medio de cultivo.

2.9. Propagación In Vitro a partir de Segmentos Foliares

También Maticorena (2017) refiere que la propagación del cultivo de arándano se realiza desde el punto de vista comercial mediante micropropagación y para ello se utilizan técnicas de laboratorio como el cultivo de tejidos in vitro, el cual ha sido investigado muy ampliamente.

Según Brenes *et al.* (2015) se deben de seguir los siguientes procedimientos:

Primero. Tomar como fuente de material vegetal tallos jóvenes de 25 a 30 cm, con hojas similares en forma.

Segundo. Establecimiento *In vitro* de los segmentos nodales, en donde se deberá eliminar las hojas y seleccionar los segmentos nodales de cinco centímetros de largo con dos yemas axilares y cada uno se debe someter a una desinfección superficial, durante 30 minutos en agua corriente luego se debe de sumergir en alcohol, con agitador magnético durante un minuto seguido de la inmersión en cloruro de sodio NaCl al 3%, agitando durante diez minutos. Posteriormente en una cámara de flujo laminar se debe de enjuagar tres veces con agua des ionizada, hacer esta operación durante dos minutos cada enjuague.

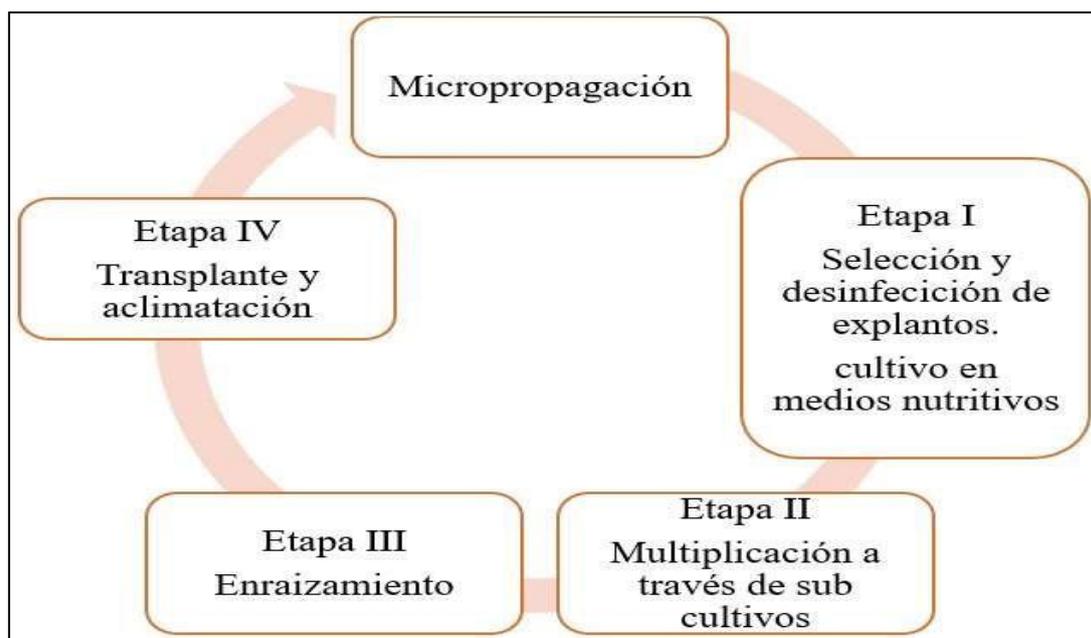
Tercero. Multiplicación in vitro a partir de hojas, que deberán provenir de plantas adultas (Campo) y colectadas del tercio superior medio y los tallos jóvenes previamente desinfectadas para evitar cualquier enfermedad.

Cuarto. Para el enraizamiento in vitro y aclimatación se deberá inocular cuatro microtallos por cada franco y en la octava semana se realizará la evaluación de microtallos que tengan raíz, para poder determinar el porcentaje de enraizados. A partir de la semana diez, los brotes deben de ser retirados de cada frasco, eliminando el medio de cultivo con agua corriente, luego se realiza la siembra en el sustrato que se elija, el proceso de aclimatación se realiza en condiciones controladas para un mayor desarrollo. El tipo de riego puede ser mediante nebulización, cuatro veces al día (un minuto cada dos horas). Luego de la tercera semana, en condiciones controladas se procede al conteo de número de plantas vivas, número de plantas con raíz, luego se realiza el trasplante en vasos de plástico de 260 ml, de preferencia con el mismo tipo de sustrato, para ayudar a su normal desarrollo, luego de seis meses las plantas deben de ser llevados a una sub estación o vivero.

Dicho procedimiento y etapas se puede observar en la figura 1 (Krunger y Bacchi, 1995).

Figura 1

Diagrama de propagación In vitro



Nota. El gráfico muestra el procedimiento y etapas de micropropagación de material vegetal.

Tomado del Vol. 1 del Manual de Fitopatología de Kruger y Bacchi (1995).

2.10. Hongos Endófitos

Según el Instituto de Investigaciones Agropecuarias (2018) los hongos endófitos son microscópicos y pueden vivir de forma natural en las plantas, los hongos endófitos viven en simbiosis con la planta, favoreciendo en su desarrollo, también hace a la planta más resistentes a las enfermedades y plagas. Existen diferentes hongos caracterizados como endófitos, en los cuales se encuentran los géneros *Metarhizium*, *Paecilomyces*, *Clonostachys*, *Trichoderma* y *Beauveria* todos ellos con gran capacidad de controlar enfermedades y plagas.

También Sessa (2016) denomina a los hongos endófitos microorganismos que de ninguna manera causan enfermedad a los vegetales.

De acuerdo a Sánchez *et al.* (2013) los hongos endófitos se encuentran en las plantas en general algas, pastos, plantas vasculares y musgos. De amplia distribución especial desde las plantas que están en los polos hasta en las zonas tropicales, también están en todos los campos agrícolas. La mayor cantidad de hongos endófitos de todo el mundo, se encuentran en los bosques tropicales y templados, el estudio de estos microorganismos se ha incrementado por generar diferentes metabolitos secundarios con distinta actividad biológica.

2.11. Clasificación de los Hongos Endófitos

Según Sánchez *et al.* (2013) los hongos endófitos pertenecen a diferentes Filo y se encuentran en distintas zonas de las plantas. El mayor grupo pertenece al Filo Ascomycota, sin embargo, también existen en los Zygomycota, Basidiomycota y Oomicota. A lo largo del tiempo los hongos endófitos se han clasificado en Clavicipitáceos y no Clavicipitáceos, establecidos por su historia de vida y su filogenia.

2.12. Relación Hongo Endófito y Planta Hospedante

También Sánchez *et al.* (2013) menciona que la relación que existe entre el hongo endófito y la planta inicia desde el mutualismo hasta la patogénesis. Cuando las causas patogénicas del hongo y las defensas del vegetal se encuentran en equilibrio se constituye una relación endofítica, de forma contradictoria cuando las defensas del vegetal se ven afectadas por algún tipo de estrés, el equilibrio se rompe y se vuelve a favor del hongo el cual se muestra como patógeno dando inicio a diferentes síntomas de enfermedad.

2.13. Capacidad de los Hongos Endófitos

De acuerdo a Bastías (2018) los hongos endófitos proporcionan alcaloides con distintas propiedades. Los vegetales junto al hongo forman una combinación de mecanismos de tolerancia establecida por los alcaloides fúngicos y se espera que los hongos tengan ciertas características de contención que permitan mantener el mutualismo, es por ello que es imprescindible que exista una interacción entre los hongos y el sistema inmune de la planta.

Un hongo endófito según Sánchez *et al.* (2013) puede originar ciertos metabolitos que inhabilitan al patógeno sobre todo a otros hongos endófitos. No obstante, puede que no inhabilite a las asociaciones de su mismo entorno. Ciertos hongos endófitos provocan efectos alelopáticos en la planta, mediante la producción de aleloquímicos o metabolitos secundarios, es por ello que intervienen en el crecimiento y desarrollo de las especies que se encuentran alrededor compitiendo por área y nutrimentos. Según Vera *et al.* (2018) refiere, que un nuevo tipo de control biológico puede realizarse al aplicar de forma individual o mixta diferentes inoculaciones de microorganismos.

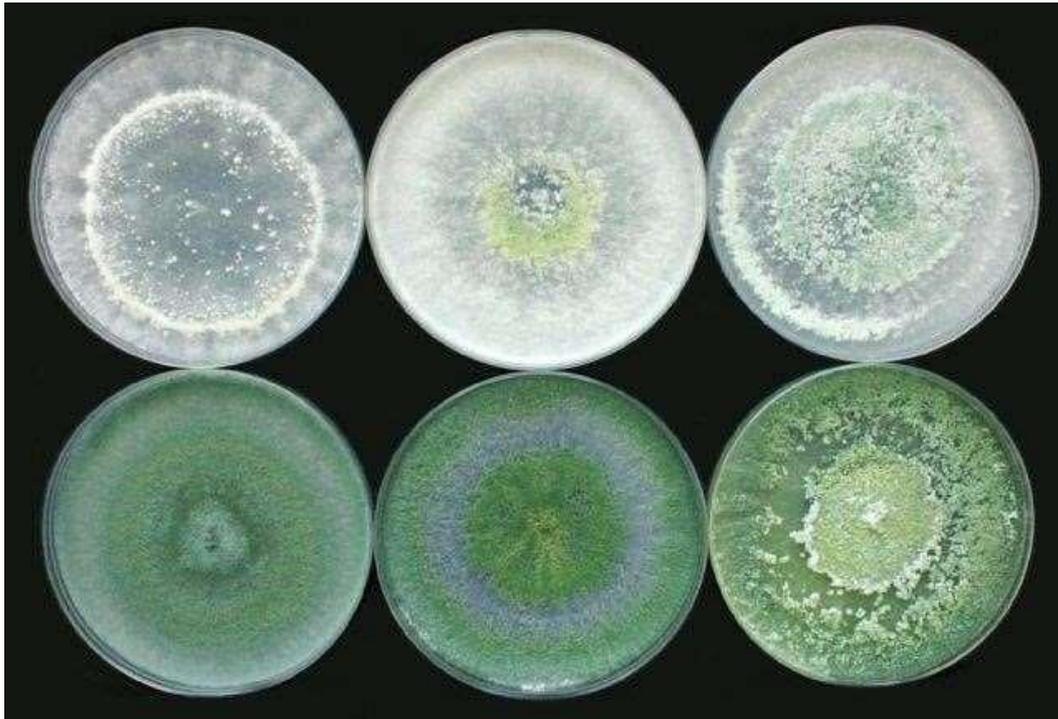
2.14. Biología del *Trichoderma* sp.

De acuerdo a Alvarez y Sivila (2013) los hongos del género *Trichoderma* se encuentran como los más prominentes agentes de biocontrol, debido a su a la capacidad antagónica frente a los patógenos que afectan a las plantas, presentan ciertas ventajas como poder vivir en la zona radicular y establecerse, para preservar la raíz de la planta, también pueden preservar las hojas, flores y semillas disminuyendo el ataque de las enfermedades en una diversidad de cultivos. Tiene la capacidad de dañar diversas partes del hongo patógeno (hifas, conidios y esclerocios); también puede controlar patógenos que originan enfermedades vasculares en el interior de la planta.

Según Infante *et al.* (2009) al inicio las colonias de *Trichoderma* son de color blanco, luego cambia a un color amarillento o verde oscuro, con formación de esporas y posterior liberación de ellas (Figura 2). Las especies de *Trichoderma* tienen clamidosporas, las cuales aporta a la resistencia de diversas condiciones ambientales dichas estructuras ayudan al hongo a persistir durante mayor tiempo. Asimismo, presenta estructuras morfológicas (Figura 3) como:

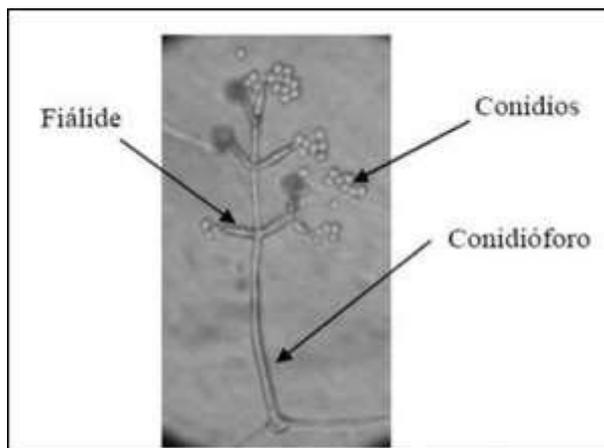
- a) El micelio: Normalmente es disperso y cuando es observado con el microscopio es muy delgado.
- b) El conidióforo: Es ramificado y tiene la forma de un árbol muy pequeño, con un conjunto de ramas irregulares de característica piramidal. También se puede presentar sobre las fiálides y crecer en forma directa del micelio.
- c) Las fiálides: Son las partes terminales donde se crean los conidios o esporas asexuales, el cual es de vital importancia para clasificarlas taxonómicamente según especies.
- d) Los conidios: Son los encargados de mantener las generaciones en las distintas fases del periodo vegetativo de la planta. Las células presentan un núcleo simple de cromosomas, la pared celular está formada por glucanos y quitina.

Figura 2 Colonias de *Trichoderma* sp.



Nota. Se observa las características en todo su ciclo del endófito *Trichoderma* sp. Tomado de *Trichoderma* sp: Aplicación y perspectivas de uso en agricultura e industria ecológica, por Błaszczuk *et al.* (2014).

Figura 3 Conidios y conidióforos de *Trichoderma* sp.



Nota. Se señala las partes de una muestra microscópica de *Trichoderma* sp. Tomado de Mecanismos de acción de *Trichoderma* sp frente a hongos fitopatógenos; publicado en la Revista de Protección Vegetal; por Infante *et al.* (2009)

2.15. Taxonomía

Según Villegas (2008) el hongo *Trichoderma* cuenta con veintisiete especies destacadas, *T. harzianum*, *T. polysporum*, *T. virens*, *T. viride*, *T. reesei*, *T. longibrachatum*, *T.*

pseudokoningii, *T. parceromosum*, *T. hamatum*, *T. lignorum* y *T. citroviride* las cuales tienen la siguiente taxonomía:

Reino: Fungi

División: Mycota

Subdivisión: Eumycota

Clase: Hyphomycetes

Orden: Moniliales

Familia: Moniliaceae

Género: *Trichoderma*

2.16. Fisiología

De acuerdo a Martínez *et al.* (2013) el hongo *Trichoderma* es aeróbico y tiene gran capacidad para soportar un extenso rango de temperaturas.

2.17. Condiciones Ambientales

De acuerdo a Villegas (2008) el riego y la humedad mejoran el medio ambiente de diversos microorganismos uno de ellos es el *Trichoderma*, el cual puede pasar de una fase latente a uno muy eficaz adaptándose de forma óptima. Sin embargo, a porcentajes de humedad mayores del 60% se afecta la adaptación y supervivencia por la falta de oxígeno. El pH ácido favorece la germinación de conidios y acelera el crecimiento de los conidióforos, de igual manera el pH ácido limita el desarrollo de bacterias y actinomicetos. La escasez de nutrientes básicos y temperaturas bajas causan un efecto negativo, al disminuir la efectividad del hongo sobre las plantas.

2.18. Mecanismos de Acción

De acuerdo a Alvarez y Sivila (2013) los antagonistas tienen diferentes modos de acción y la combinación de estos los hace aún más óptimos para ser controladores biológicos.

También Hernández *et al.* (2007) dicen que los microorganismos que tienen la capacidad de controlar a otros, son muy utilizados, ya que ejercen un efecto directo sobre los hongos patógenos, mediante la competencia por nutrientes básicos y la producción de antibióticos. También, la utilización de antagonistas ha incrementado la resistencia de determinados patógenos, tal como el aumento de fitoalexinas que promueven los mecanismos defensivos de los frutos y el aumento de enzimas líticas como el β -1,3glucanasa que promueven la destrucción celular de los patógenos.

Del mismo modo Hoyos *et al.* (2008) informan que el hongo *Trichoderma* es muy selectivo cuando ataca, ya que incluso retrasa la efectividad biocontroladora de hongos de su misma especie.

Micoparasitismo. Según Villegas (2008) el micoparasitismo se da cuando el hongo beneficia a la planta y ocurre el antagonismo frente a organismos fitopatógenos, los cuales son capaces de promover secreciones enzimáticas que resultan ser tóxicos fuera de la célula, esto conlleva a la destrucción y muerte de diversos hongos patógenos.

También Martínez *et al.* (2013) mencionan que determinadas acciones no son completamente visibles, ya que también dependerá del patógeno, como se aísla el *Trichoderma* y ciertas condiciones del medio ambiente. Sin embargo, las enzimas juegan un papel importante en el micoparasitismo, las hifas de *Trichoderma* ingresan a la planta hospedera mediante la acción de dichas enzimas, el aislamiento del hongo y la planta son cruciales incluso más que la especie biorreguladora.

De acuerdo a Garrido y Vilela (2019) en el lugar de conflicto entre el hongo *Trichoderma* y el patógeno se puede observar penetración y enrollamiento de las hifas.

De acuerdo a Infante *et al.* (2009) en los lugares donde ocurre la lisis son notorios como pequeñas aberturas, la hifa del micoparásito penetra las hifas del hongo hospedero. Este comportamiento ya ha sido estudiado y se tiene diversa información sobre las enzimas del *Trichoderma*.

Competencia. Tal como lo describe Martínez *et al.* (2013) una causa principal para que se logre la competencia es la limitación o insuficiencia de un requerimiento, puede ser falta de nutrientes o espacio, será considerado competencia cuando uno de ellos afecte a los otros organismos. Garrido y Vilela (2019) afirman que las especies de *Trichoderma* en laboratorio muestran gran velocidad en su desarrollo entre cuarenta y ocho y setenta y dos horas, logrando competir por nutrientes y espacio en el medio sembrado.

Antibiosis. Según Rubio y Fereres (2005) explica que la ruptura de la pared celular se da a causa de metabolitos o enzimas de algún organismo (exolisis), también se puede dar por la acción de ciertos antibióticos originados, por algún microorganismo que se encuentra en competencia por algún requerimiento básico, las cuales reaccionan en cantidades muy bajas. Existen antibióticos que retrasan el crecimiento de la célula, como el etileno o el cianuro de hidrogeno que también actúan en proporciones mínimas, sin embargo, estas no están consideradas en sentido estricto como antibióticos.

De acuerdo a Martínez *et al.* (2013) la cepa de *Trichoderma* tiene la capacidad de liberar simultáneamente distintos derivados antifúngicos, el cual detiene la posible aparición de microorganismos tolerantes, es por ello que se considera a la antibiosis desde el punto de vista práctico muy importante por la capacidad antagónica que tiene el hongo.

2.19. Mecanismos Combinados

Según Rubio y Fereres (2005) ciertos microorganismos que tienen la capacidad de controlar a otros patógenos utilizan distintos elementos de manera simultánea ante un determinado patógeno. Un ejemplo claro es *Trichoderma* que utiliza la competencia, micoparasitismo y antibiosis para controlar a otros fitopatógenos.

2.20. Marco Conceptual

Acción Antagónica. Capacidad que tienen ciertos microorganismos para promover ciertas enzimas para la defensa o el ataque.

Actividad Lítica. Penetración de la hifa del micoparásito sobre el patógeno.

Antibiosis. Sustancias que retrasan el crecimiento de la célula.

Arándano. Es un fruto que crece de un arbusto, su color característico es negro azulado o rojo.

Capacidad. Son ciertas características, que permiten diferenciar y lograr un objetivo.

Cepas. Grupo de células que presentan características homogéneas que provienen de la clonación.

Colonización. Es la ocupación de un agente en un determinado lugar.

Competencia. Conducta diferente de dos o más entidades frente a un mismo requerimiento.

Crecimiento Quimiotrófico. Elongación de forma directa frente a una incitación química.

Fitopatógeno. Microorganismo que tiene la capacidad de causar daño a la planta.

Hongos endófitos. Son hongos microscópicos naturales de las plantas, los cuales viven casi toda su vida dentro de los tejidos aportando muchos beneficios a la planta.

In vitro. Es una técnica utilizada para la propagación de plantas libres de plagas o enfermedades.

Inoculación. Es insertar un determinado agente con el fin de ver su desarrollo y proceso.

Mecanismos Combinados. Utilización de distintos elementos de manera simultánea ante un determinado patógeno.

Micoparasitismo. Se da cuando el hongo beneficia a la planta y ocurre el antagonismo frente a organismos fitopatógenos.

Quimiotrófico. Elongación directa a una incitación química.

Vitroplantas. Son especies vegetales que se desarrollan en un ambiente controlado.

Capítulo III

Materiales y Métodos

3.1. Definición de Variables

3.1.1. Variable Independiente

VI. 1. Se utilizaron 10 cepas de hongos endófitos del género *Trichoderma* y un testigo sin aplicación de hongo endófito. Las cepas fueron aisladas de tallos y hojas de plantas de arándano.

VI. 2. Métodos de inoculación. Para la introducción de cepas de *Trichoderma* endófito a los tejidos de las plantas de arándano, se realizaron mediante dos métodos de inoculación.

B1. Inmersión de raíces con suspensión de esporas

B2. Infestación al medio de cultivo con suspensión de esporas

3.1.2. Variable Dependiente

VD. 1. Colonización endofítica en vitroplantas de arándano. Se determinó el porcentaje de colonización endofítica de cepas de *Trichoderma sp.* en tejidos de vitroplantas de arándano durante el enraizamiento y establecimiento en vivero).

VD. 2. Se evaluó el crecimiento de vitroplantas de arándano por efecto de cepas de *Trichoderma* y mediante dos métodos de inoculación.

3.2. Operacionalización de Variables

La operacionalización de variables permite organizar, de manera precisa y breve, lo relevante de la información del proyecto de tesis. La tabla 1 explica la definición de variables, su dimensión, indicadores o variables respuesta y los indicadores, que es la unidad donde se obtendrán los datos de cada tratamiento.

Tabla 1 Operacionalización de Variables

VARIABLES	INDICADORES	INDICES
V. Independientes:		
Cepas de <i>Trichoderma sp.</i>	Factor A: cepas de <i>Trichoderma sp.</i> + 1 testigo	10 cepas de <i>Trichoderma</i> B1. Inmersión de raíces con suspensión de esporas a una concentración de 1×10^7 ufc. cm^{-3}
Métodos de inoculación	Factor B: Métodos de inoculación	B2. Infestación al sustrato con Suspensión de esporas a una concentración de 1×10^6 ufc. g^{-1} de sustrato.

V. dependientes

Crecimiento de Vitroplantas de arándano	Altura de planta	cm
	Número de hojas	Unidades
	Diámetro de tallo	cm
	Biomasa aérea y radicular	g
Colonización de los hongos endófitos	Porcentaje de colonización de cepas de <i>Trichoderma sp.</i> en tejidos de vitroplantas de arándano.	Porcentaje de colonización (%)

Nota. Elaboración propia.

3.3. Tipo y Diseño de la Investigación

3.3.1. Tipo de Investigación

En cuanto al enfoque de la investigación es de tipo cuantitativo, Díaz *et al.* (2002) definen la investigación de tipo cuantitativa como aquella en la que se recolecta y analizan datos cuantificables sobre un conjunto de variables. La investigación cuantitativa tiene el objetivo de determinar la relación que existe entre variables, además se obtienen resultados objetivos a través de una muestra que sea representativa de la población. En este sentido, la presente investigación evaluó la colonización endofítica y el crecimiento de los hongos endófitos por efecto de la inoculación de cepas de *Trichoderma* en vitroplantas de arándano.

En cuanto al grado de manipulación de la variable es de tipo experimental puro, Serrano *et al.* (2010) señalan que la investigación adquiere un enfoque experimental cuando el investigador manipula al aumento y disminución de una o más variables de estudio, para su efecto en las conductas observadas. En este sentido, un experimento consiste en manipular el valor de una variable independiente y observar su efecto en la variable dependiente. Las condiciones donde se desarrolla el experimento deben ser estrictamente controladas, con el objetivo de conocer la causa por la que se produce un evento en particular. Para nuestro caso se manipulará la variable independiente “cepas de *Trichoderma* y métodos de inoculación” para ver su efecto en la variable dependiente.

Según el nivel de investigación es explicativa. La investigación explicativa como el estudio de conocer las causas de hechos, circunstancias o fenómenos que son objeto de estudio, el objetivo es saber el porqué de un hecho, en qué condiciones se manifiestan y la relación que se muestra entre variables. Es así que se plantea explicar si las cepas de hongos endófitos y la interacción con los métodos de inoculación tienen efecto sobre las variables de

respuesta; colonización por los hongos endófitos, crecimiento de vitroplantas de arándano el cual se explicará mediante el análisis de varianza en un diseño experimental de DCA con arreglo factorial de 11 x 2 y cuatro repeticiones por tratamiento (Centro de Estudios Cervantinos, 2020).

3.3.2. *Diseño Experimental*

El experimento se realizó bajo un diseño completo al azar con arreglo factorial 11 x 2 con 4 repeticiones por tratamiento, un total de 22 tratamientos (Tabla 2) y 88 unidades experimentales. Los factores en estudio fueron: Cepas de *Trichoderma* endófitas (Factor A) y Métodos de inoculación (Factor B).

Tabla 2 *Identificación de tratamientos según las combinaciones de los niveles de cada factor*

T11	A6 (CEPA6)	B1. Inmersión de raíces con suspensión de esporas
Tratamientos	Nivel de Factor A	Nivel de Factor B
T1	A1 (CEPA1)	B1. Inmersión de raíces con suspensión de esporas
T2	A1 (CEPA1)	B2. Infestación al medio de cultivo con suspensión de esporas
T3	A2 (CEPA2)	B1. Inmersión de raíces con suspensión de esporas
T4	A2 (CEPA2)	B2. Infestación al medio de cultivo con suspensión de esporas
T5	A3 (CEPA3)	B1. Inmersión de raíces con suspensión de esporas
T6	A3 (CEPA3)	B2. Infestación al medio de cultivo con suspensión de esporas
T7	A4 (CEPA4)	B1. Inmersión de raíces con suspensión de esporas
T8	A4 (CEPA4)	B2. Infestación al medio de cultivo con suspensión de esporas
T9	A5(CEPA5)	B1. Inmersión de raíces con suspensión de esporas
T10	A5(CEPA5)	B2. Infestación al medio de cultivo con suspensión de esporas
T12	A6 (CEPA6)	B2. Infestación al medio de cultivo con suspensión de esporas
T13	A7 (CEPA7)	B1. Inmersión de raíces con suspensión de esporas
T14	A7 (CEPA7)	B2. Infestación al medio de cultivo con suspensión de esporas
T15	A8 (CEPA8)	B1. Inmersión de raíces con suspensión de esporas
T16	A8 (CEPA8)	B2. Infestación al medio de cultivo con suspensión de esporas
T17	A9 (CEPA9)	B1. Inmersión de raíces con suspensión de esporas
T18	A9 (CEPA9)	B2. Infestación al medio de cultivo con suspensión de esporas
T19	A10(CEPA10)	B1. Inmersión de raíces con suspensión de esporas
T20	A10(CEPA10)	B2. Infestación al medio de cultivo con suspensión de esporas
T21	A11 (TESTIGO)	B1. Inmersión de raíces con suspensión de esporas
T22	A11 (TESTIGO)	B2. Infestación al medio de cultivo con suspensión de esporas

Nota: Elaboración propia (2022)

El modelo aditivo lineal fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + B_j + (\alpha B)_{ij} + E_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ijk} = Es la respuesta obtenida en la unidad experimental correspondiente a la k-ésima repetición a la cual se le aplicó el i-ésimo nivel del factor A, con el j-ésimo nivel del factor B.

μ = Es el efecto de la media general. α_i

= Efecto del i-ésimo nivel del factor A.

B_j = Efecto del j-ésimo nivel del factor B.

$(\alpha B)_{ij}$ = Efecto de la interacción entre el i-ésimo nivel del factor A con j-ésimo nivel del factor B.

E_{ijk} = Es la variación del error asociado con la ijk unidades.

Para:

i = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 niveles del factor A.

j = 1, 2 niveles del factor B. k = 1, 2, 3, 4

repeticiones

La aleatorización de los tratamientos se realizó mediante el método de balotario, los resultados se muestran en la figura 4 y la estructura de los tratamientos en la tabla 2.

Figura 4

Aleatorización de tratamientos

T1: b1	T19: a10b1	T20: a10b2	T5: a3b1	T18: a9b2	T2: a1b2	T22: a11b2	T4: a2b2
T10: a5b2	T4: a2b2	T11: a6b1	T19: a10b1	T6: a3b2	T20: a10b2	T12: a6b2	T19: a10b1
T15: a8b1	T13: a7b1	T20: a10b2	T1: a1b1	T18: a9b2	T5: a3b1	T14: a7b2	T3: a2b1
T5: a3b1	T12: a6b2	T2: a1b2	T15: a8b1	T16: a8b2	T14: a7b2	T10: a5b2	T17: a9b1
T8: a4b2	T17: a9b1	T14: a7b2	T18: a9b2	T7: a4b1	T8: a4b2	T19: a10b1	T2: a1b2
T16: a8b2	T1: a1b1	T8: a4b2	T4: a2b2	T13: a7b1	T22: a11b2	T5: a3b1	T11: a6b1
T17: a9b1	T9: a5b1	T11: a6b1	T10: a5b2	T7: a4b1	T12: a6b2	T1: a1b1	T9: a5b1
T3: a2b1	T22: a11b2	T6: a3b2	T15: a8b1	T3: a2b1	T16: a8b2	T13: a7b1	T12: a6b2
T15: a8b1	T21: a11b1	T18: a9b2	T21: a11b1	T17: a9b1	T9: a5b1	T21: a11b1	T6: a3b2
T7: a4b1	T9: a5b1	T4: a2b2	T20: a10b2	T16: a8b2	T8: a4b2	T7: a4b1	T10: a5b2
T21: a11b1	T14: a7b2	T11: a6b1	T2: a1b2	T6: a3b2	T13: a7b1	T3: a2b1	T22: a11b2

Nota. Elaboración propia

Ti: Cibj = Cepa i Metodo j

3.3.3. Ubicación Geográfica y Descripción del Campo Experimental

El presente trabajo de investigación se ejecutó en el laboratorio de Sanidad Vegetal y vivero de la Escuela de Agronomía de la Universidad Nacional de Cañete – sede CNI (figura 5), Geográfica y políticamente se encuentra ubicado en las siguientes coordenadas:

Coordenadas

Longitud = 76°21'6.627"

Latitud = 13°3'50.458" Altitud

= 85 m.s.n.m.

Ubicación Política del Experimento

Departamento: Lima

Provincia: Cañete Distrito:

Imperial

Dirección: Urb. Santa Rosa de Hualcará, Canal María Angola S/ (Laboratorio CNI).

Figura 5 Lugar de ejecución de la investigación



Nota. Instalaciones de la Escuela de Agronomía de la Universidad Nacional de Cañete – Sede CNI.

3.4. Población y Muestra

3.4.1. Población

Para el objetivo específico 1, la población estuvo constituida por 330 vitroplantas de arándano inoculadas con 10 cepas de *Trichoderma* endófito. Sin embargo, para el objetivo específico 2 fueron de 352 plantas enraizadas.

3.4.2. Muestra

Para la evaluación de los parámetros de crecimiento de vitroplantas de arándano, el muestreo fue no probabilístico.

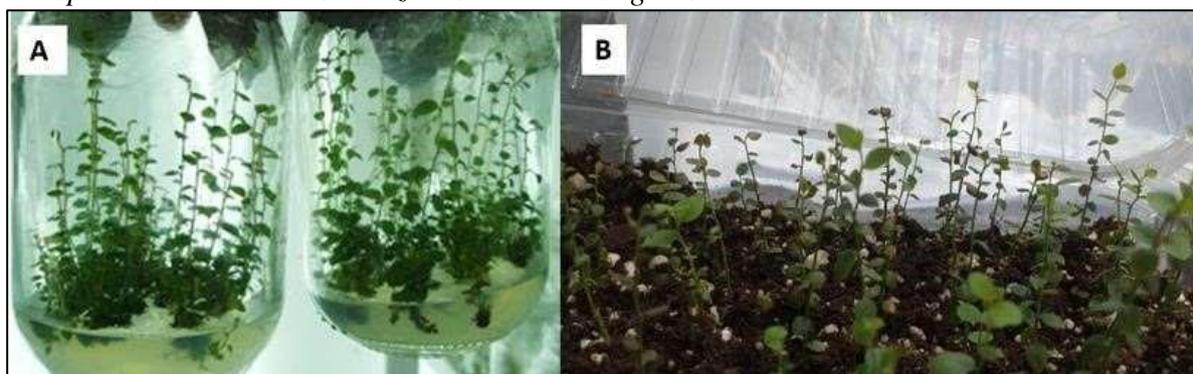
Para el objetivo específico 1, se seleccionaron dos plantas de cada unidad experimental, total seis plantas por tratamiento. Para el objetivo específico 2, se seleccionó una planta de cada unidad experimental, total 4 plantas por tratamiento.

3.5. Procedimiento de la Investigación

3.5.1. Adquisición de Vitroplantas de Arándano.

Para la colonización endofítica de las cepas de *Trichoderma*, se adquirió vitroplantas de arándano variedad Biloxi del laboratorio GENPLANT S.A.C, los explantes fueron de tamaño promedio de 5 cm de altura con buen desarrollo y en envases de vidrio con gel nutritivo apropiadas para enraizar y pre aclimatar. Así mismo, se adquirió vitroplantas de arándano enraizadas de un mes de edad de la empresa Nutriarandanos SAC para los ensayos de vivero (Figura 6). **Figura 6**

Vitroplantas de arándano utilizadas en la investigación



Nota. A) Vitroplantas en frascos de vidrio. B) Vitroplantas enraizadas de 1 mes de edad.

3.5.2. Esterilización de Sustrato

Para la etapa de enraizamiento se empleó como sustrato únicamente turba, se pesó 60 gramos de sustrato para cada unidad experimental (maceta), fue depositada dentro de bolsas de polipropileno y se esterilizó a 126°C por 45 minutos. Para el caso del establecimiento de vitroplantas en vivero, se empleó una mezcla de sustrato de turba y pajilla de arroz a una proporción de 70% de turba y 30% de pajilla de arroz, se pesó 150 gramos para cada planta, la mezcla se esterilizó a 126°C por 45 minutos (Figura 7).

Figura 7 *Esterilización del sustrato*



Nota. A) Pesado de turba y pajilla de arroz, B) Mezcla de sustrato para ser autoclavado y C) Sustrato autoclavado.

3.5.3. Incremento y Uniformización de Inóculo de *Trichoderma sp.*

Previamente las cepas de *Trichoderma* (Tabla 3) fueron activadas en placas de Petri conteniendo medio Extracto de Malta Agar (EMA) e incubadas a 25°C durante una semana, con la finalidad de inducir la producción de esporas (Figura 9). Para la uniformización de inóculo, se preparó una suspensión de esporas de *Trichoderma* y a través de diluciones seriadas se realizó el conteo de unidades formadoras de colonia (ufc) con el uso de un hematocimetro. Se estandarizó el inóculo de las 10 cepas a una concentración de esporas de $1 \times 10^7 \text{ ufc. cm}^{-3}$ y de $1 \times 10^6 \text{ ufc. g}^{-1}$ sustrato para la inoculación en raíces y sustrato respectivamente (figura 8).

Figura 8 Uniformización de inóculo de cepas de *Trichoderma sp.*, realizado en el laboratorio de Sanidad Vegetal de la UNDC, 2021



Nota. A) Cepas de *Trichoderma*, B) Diluciones seriadas, C) y D) Conteo de conidios.

Tabla 3 Procedencia de cepas de *Trichoderma sp.* utilizadas en la investigación

<u>CODIGO</u>	<u>CEPA</u>	<u>PROCEDENCIA</u>	<u>ÓRGANO PLANTA</u>
---------------	-------------	--------------------	----------------------

HE-1	<i>Trichoderma sp.</i>	CAÑETE	TALLO
HE-3	<i>Trichoderma sp.</i>	PISCO	SUELO
HE-4	<i>Trichoderma sp.</i>	PISCO	SUELO
HE-6	<i>Trichoderma sp.</i>	PISCO	SUELO
HE-91	<i>Trichoderma sp.</i>	CAÑETE	TALLO
HE-92	<i>Trichoderma sp.</i>	CAÑETE	RAICES
HE-93	<i>Trichoderma sp.</i>	PISCO	HOJA
HE-94	<i>Trichoderma sp.</i>	PISCO	TALLO
HE-118	<i>Trichoderma sp.</i>	PISCO	TALLO
HE-161	<i>Trichoderma sp.</i>	PISCO	TALLO

Nota. Cepas de hongos endófitos (HE) aislados de tallos, hojas, raíces y suelo de plantas de arándano. **Figura 9**

Cepas de Trichoderma sp. endófito empleadas en la investigación



Nota. Cepas de hongos endófitos (HE) en medio de cultivo papa dextrosa agar

3.5.4. Producción de Cepas de *Trichoderma sp* en Sustrato Arroz

De cultivos jóvenes se procedió a realizar repiques de cada cepa en medio EMA (extracto de malta agar) y fueron incubados a 25 °C durante una semana. Asimismo, se preparó bolsas de polipropileno de 6 por 12 pulgadas conteniendo 400 g del sustrato, en donde se adicionó 120 ml de agua destilada estéril (ADE) por cada bolsa, luego se esterilizó a 120 °C, a 15 lbs de presión durante 40 minutos; finalmente, la mitad de una placa Petri con medio

de cultivo EMA colonizado con *Trichoderma* sp se introdujo en el sustrato y se incubó durante cinco días a 25 °C en oscuridad para su colonización. Posteriormente, las bolsas fueron expuestas bajo luz artificial durante 10 días a temperatura ambiente 20 °C promedio (Figura 10).

Figura 10 Producción de cepas de *Trichoderma* sp. en sustrato arroz, realizado en laboratorio de Sanidad Vegetal de la UNDC, 2021



Nota. A) Bolsas de arroz con cepas de *Trichoderma* sp. en sustrato arroz en proceso de colonización y B) En producción de esporas.

3.5.5. Enraizamiento y Aclimatación de Vitroplantas de Arándano

Para el enraizamiento se utilizó la cabina de flujo laminar, con el uso de una pinza estéril, las vitroplantas fueron retiradas de los frascos a placas Petri estéril, luego se lavaron con agua destilada estéril para retirar restos de medio de cultivo. Las vitroplantas se colocaron sobre papel toalla esterilizado, con una pinza y bisturí se procedió a cortar el callo, luego la base de cada grupo de vitroplantas se sumergió por 10 segundos en hormona enraizante IBA (ácido indol butírico). Estas vitroplantas fueron inoculadas con las cepas de *Trichoderma* mediante 2 métodos, cuyo procedimiento se detalla en el punto 3.5.8, enseguida fueron transferidas a tapers de 1 litro con 60 g de sustrato esterilizado (turba), humedecido a capacidad de campo con 50 ml agua destilada estéril, se mantuvieron en un túnel a temperaturas mínimo y máximo de 18 °C y 25 °C, humedad relativa de 80% durante 45 días y en horas de la mañana se retiraron las mangas de plástico del túnel para su aclimatación. Posteriormente, las vitroplantas fueron colocadas sobre mesas en el vivero cubiertas con bolsas de polipropileno durante siete días para mantener la humedad (Figura 11).

Figura 11 Enraizamiento y aclimatación de vitroplantas de arándano, realizado en laboratorio de Sanidad Vegetal de la UNDC, 2021



Nota. A) Corte de callos. B) Lavado de vitroplantas, C) Vitroplantas listas para ser inoculados con cepas de *Trichoderma*. D) y E) Trasplante de vitroplantas. F) Vitroplantas en túnel y G) Vitroplantas en proceso de enraizamiento dentro del vivero.

3.5.6. *Trasplante y Manejo en Vivero*

Antes del trasplante se instaló en el vivero con una malla raschell de 80% sombra en el techo, el sustrato que se utilizó para el trasplante de vitroplantas aclimatadas fue la mezcla de turba con pajilla de arroz esterilizada, en proporciones de 1:1 (50% cada uno). Se rellenaron bolsas de polietileno de color negro, de medidas 10 cm de ancho y 20 cm de altura, de 1.5 litros de capacidad con 175 g de sustrato y se realizó la aplicación de los hongos endófitos según los métodos. Se procedió a realizar un orificio en el centro de la bolsa con sustrato y se colocó las vitroplantas enraizadas y se cubrió con sustrato hasta cuello de planta. Se efectuó un primer riego antes del trasplante para humedecer el sustrato en las bolsas, y un segundo riego un día después del trasplante, para dar condiciones a la planta a su adaptación en el vivero. Los riegos se realizaron con agua destilada estéril de manera interdiaria según la necesidad de la planta, durante un mes. Luego fue tres veces por semana hasta los tres meses. Un mes después del trasplante se realizó la fertilización con nitrofoska, 10 granitos para cada bolsa (Figura 12).

Figura 12 *Trasplante de vitroplantas de arándano (Método1), realizado en el vivero de la UNDC, 2021*



Nota. A) Preparación de bolsas con sustrato. B) Trasplante de vitroplantas. C) Aplicación de fertilizantes. D) Riego en plántulas de arándano.

3.5.7. Inoculación de *Trichoderma* en Vitroplantas de Arándano

Para la inoculación se emplearon dos métodos de inoculación (Larico y Leon, 2016; Leon *et al.*, 2018) que fueron adaptados para vitroplantas de arándano. A continuación, se describen los métodos:

Método 1. Inmersión de raíces con suspensión de esporas.

Para la etapa de enraizamiento, la base de las vitroplantas tratadas con la hormona enraizante IBA fueron sumergidas en 10 ml de la suspensión de esporas a una concentración de 1×10^7 ufc.cm⁻³ durante 1 min, transcurrido el tiempo fueron trasplantadas en tapers de 1 litro con el sustrato esterilizado (turba) y humedecido a capacidad de campo.

Sin embargo, para el establecimiento de vitroplantas en vivero se emplearon vitroplantas enraizadas. Estas fueron retiradas del sustrato sin dañar las raíces, luego las raíces con restos del sustrato se sumergieron en placas Petri con una suspensión de esporas de 1×10^7 ufc.cm⁻³ durante 3 minutos, transcurrido el tiempo fueron trasplantadas a bolsas negras de polietileno conteniendo sustrato esterilizado (turba y pajilla de arroz) previamente humedecidas a capacidad de campo. Una vitroplanta enraizada fue transferida a cada bolsa y se mantuvo durante 4 meses en el vivero de la UNDC – sede CNI (Figura 13).

Figura 13 *Inmersión de raíces con suspensión de esporas de cepas de *Trichoderma endofito* en vitroplantas de arándano (Método1), realizado en laboratorio de Sanidad Vegetal y vivero de la UNDC, 2021*



Nota. A) Suspensión de esporas de cepas de *Trichoderma* endófito. B) Aplicación de *Trichoderma* en raíces de vitroplantas de arándano. C) Trasplante de vitroplantas inoculadas en bolsas de vivero con sustrato.

Método 2: Infestación al sustrato por suspensión de esporas.

Para la etapa de enraizamiento, se aplicó una suspensión de esporas de 1×10^6 ufc.cc sustrato⁻¹ de cada cepa de *Trichoderma*. Un volumen de 50 ml de la suspensión fue incorporado dentro de las bolsas con el sustrato esterilizado, luego se realizó la mezcla y fueron transferidas a tapers de 1 litro, cinco vitroplantas fueron trasplantadas en cada taper, se cerró con bolsas de polipropileno y se mantuvo durante un mes en el laboratorio de biología con luz artificial, luego se llevó al túnel hasta los 3 meses de edad. Sin embargo, para el establecimiento de vitroplantas en vivero, se aplicó 10 ml de la suspensión de esporas y 130 ml de agua destilada esterilizada a cada bolsa con el sustrato esterilizado, luego se realizó la mezcla y fueron transferidas a bolsas negras de polietileno conteniendo sustrato esterilizado y humedecido. Una vitroplanta enraizada fue transferida a cada bolsa y se mantuvo durante 4 meses en el vivero (Figura 14).

Figura 14 Infestación del sustrato con cepas de *Trichoderma* endofito en vitroplantas de arándano (Método 2), realizado en laboratorio de Sanidad Vegetal y vivero de la UNDC, 2021



Nota. A) y B) Infestación del sustrato con cepas de *Trichoderma* endófito. C) y D) Frascos con sustrato infestado. E) y F) Trasplante en sustrato infestado.

3.5.8. Reaislamiento

El reaislamiento de las cepas de *Trichoderma* se realizó a los 90 y 120 días en placas Petri conteniendo medio Corn meal agar (CMA) según la metodología descrita por Bailey et al. (2008) modificada a partir de segmentos de tejidos de la planta de punta de raíz (PR), Raíz media (RM), tallos (T) y hojas (H). Las plántulas fueron retiradas de las macetas (tres por cada tratamiento), fueron lavadas con agua potable para retirar restos del sustrato de las raíces. De cada plántula se obtuvieron tres secciones (1 cm de tejido). Dentro de la cámara de bioseguridad, estas secciones fueron desinfestadas con hipoclorito de sodio al 2% por 5 min, seguido de alcohol 70° por 1 min, cuatro lavados con ADE, posteriormente se colocó sobre papel toalla para su secado. Se procedió a realizar corte de las secciones en segmentos de 5 mm de largo aproximadamente y se sembraron en placas Petri conteniendo medio Corn meal dextrosa agar (CMDA). Estas placas fueron incubadas a 25 °C por cinco días, y se registró como positivo (1) o negativo (0) para la colonización de *Trichoderma* sp (Figura 15). Estas placas fueron incubadas a 25 °C por tres días para la evaluación de colonización endofítica de las cepas.

Figura 15 Reaislamiento de *Trichoderma* sp de plántulas de arándano, realizado en laboratorio de sanidad vegetal, 2021



Nota. A) Retiro de vitroplantas enraizadas del sustrato. B) Lavado de raíces. C) y D) Vitroplantas para el reaislamiento de hongos. E) Obtención de segmentos de tejidos. F) Evaluación del crecimiento de *Trichoderma* sp en segmentos de tejidos en placas Petri conteniendo medio corn meal dextrosa agar (CMDA).

3.6. Parámetros de Evaluación

La evaluación se realizó en el vivero y laboratorio de Sanidad Vegetal como se muestran en la figura 16 de la siguiente manera:

Colonización

La evaluación se realizó a los 3 días del reaislamiento y se observó el crecimiento de colonias de los segmentos de tejidos. Se registró como positivo (+) donde hubo crecimiento micelial y negativo (-) donde no se observó crecimiento. Se realizaron 3 repeticiones (2 plántulas/repeticón) por cada tratamiento (cepa) y se determinó el porcentaje de colonización de cepas de *Trichoderma* en plántulas de arándano.

Altura de Planta

Se evaluó con una regla de 30cm, se tomó las medidas desde el cuello de la planta a nivel de la superficie del sustrato hasta el ápice del brote con mayor crecimiento. **Número de Hojas**

Se realizó el conteo manual de número de hojas por cada plántula.

Diámetro de Tallo

Se registró la evaluación del diámetro de tallo con un vernier digital o pie de rey del cuello de la plántula.

Peso Fresco Biomasa Aérea

Se realizó el corte de las ramas frescas desde el cuello de la planta y posteriormente se registró el peso fresco de biomasa en una balanza de precisión.

Peso Seco Biomasa Aérea

La Biomasa aérea fue colocada en sobres de manila, se colocó en una estufa a 50 °C durante 3 días para su secado, luego se realizó el peso de la biomasa seca en una balanza de precisión.

Peso Fresco Biomasa Radicular

Las raíces fueron lavadas con agua potable, se retiró restos de materia orgánica, posteriormente se registró el peso fresco de biomasa en una balanza de precisión.

Peso Seco Biomasa Radicular

La Biomasa radicular fue colocada en sobres de manila, se colocó en una estufa a 50 °C durante 3 días para su secado, luego se realizó el peso de la biomasa seca en una balanza de precisión.

Figura 16 Evaluación de parámetros de crecimiento de vitroplantas de arándano durante su establecimiento, realizado en el vivero y laboratorio de sanidad vegetal, 2021



Nota. A) Evaluación del diámetro del tallo. B) Numero de hojas, altura de planta y número de brotes. C) Biomasa seca. D) Peso de la biomasa

3.7. Registro de Datos Meteorológicos

Durante la investigación se instaló un termohigrómetro dentro del vivero y se registraron datos de temperatura y humedad relativa diariamente a las 6 a.m., 12 m y 6 p.m. durante los meses de marzo, abril, mayo y junio. La temperatura promedio mensual fue de

22.13, 21.93, 21 y 21.41°C, y una humedad relativa del 75.04, 76.53, 82.30 y 79.39 % respectivamente (Anexo 3).

3.8. Análisis de Datos

Previo al análisis de datos, se verifico el cumplimiento de normalidad con la prueba de Kolmogorov-Smirnov, ya que se cuenta con una base de datos con 92 observaciones, lo que conlleva a 92 residuales por variable. Para la prueba de Homogeneidad de varianza, se utilizó la prueba de Bartlett en todas las variables que cumplieron el supuesto de normalidad (Tabla 4). Luego se utilizó la prueba estadística de Fisher a través del análisis de varianza (ANVA) para determinar la significancia de las cepas de *Trichoderma* y métodos de inoculación en los parámetros de evaluación. Del mismo modo, se aplicó la prueba de contraste de Tukey para identificar las diferencias significativas de medias entre los tratamientos con un nivel de significancia de 0.05%. Los datos fueron procesados en un software estadístico InfoStat, versión 2008 (Di Rienzo *et al.*, 2008).

Tabla 4 Resultados de Prueba de Normalidad y homogeneidad de varianzas en las variables determinantes evaluadas en la colonización endofítica y crecimiento vegetal de arándano

	Supuestos (P valor)	
	Normalidad	Homogeneidad de varianzas
% Colonización endofítica	>0.100	>0.500
Altura de planta	>0.100	>0.139
Número de Hojas	>0.150	>0.163
Diámetro de tallo	>0.100	<0.013
Número de brotes	>0.100	>0.719
Biomasa fresca aérea	>0.150	>0.163
Biomasa seca aérea	>0.150	>0.210
Biomasa fresca radicular	>0.150	>0.889
Biomasa seca radicular	>0.100	>0.691

Variable

Nota: Elaboración propia (2021).

Capítulo IV:

Resultados y Discusiones

4.1. Colonización endofítica de cepas de *Trichoderma sp.* durante el establecimiento de vitroplantas de arándano (*V. corymbosum* L.) mediante dos métodos de inoculación

El análisis de varianza (ANDEVA) de la colonización endofítica de cepas de *Trichoderma sp.* en vitroplantas de arándano (*V. corymbosum* L.) mediante dos métodos de inoculación se muestran en la tabla 5, indican que el factor cepas de *Trichoderma sp.* (C) mostraron significancia al 5% de probabilidad ($p \leq 0,05$). Por el contrario, el factor métodos de inoculación (M) no son significativos. Del mismo modo, las interacciones de los factores mencionados resultaron ser no son significativas. Presento un coeficiente de variación (CV) de

32.05 %.

Tabla 5 Análisis de varianza de la colonización endofítica de cepas de *Trichoderma sp.* durante el establecimiento de vitroplantas de arándano (*V. corymbosum* L.) mediante dos métodos de inoculación, realizado en el laboratorio de Sanidad Vegetal de la UNDC, 2021

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
Modelo	3453.13	21	164.43	3.52	0.0002
MÉTODO	103.13	1	103.13	2.21	0.1443
CEPA	2639.58	10	263.96	5.65	<0.0001
MÉTODO*CEPA	710.42	10	71.04	1.52	0.1639
Error	2054.17	44	46.69		
Total	5507.29	65			

Nota. Elaboración propia.

En la tabla 6 y figura 17, se observa el efecto de inoculación de cepas de *Trichoderma sp.* en el porcentaje de colonización endofítica en vitroplantas de arándano (*V. corymbosum* L.) a los 90 días de evaluación, no hubo diferencia significativa entre métodos de inoculación. Sin embargo, numéricamente el método 1 (Inmersión de raíces con suspensión de esporas) presento el mayor porcentaje de colonización endofítica (14.27%) a diferencia del método 2 (infestación del sustrato con suspensión de esporas) que presento el menor porcentaje de colonización (12.37%). Por otro lado, se observa que las cepas de *Trichoderma* tuvieron efecto en la colonización de las vitroplantas de arándano con valores comprendidos entre 5.56 y 21.53 de porcentaje de colonización endofítica.

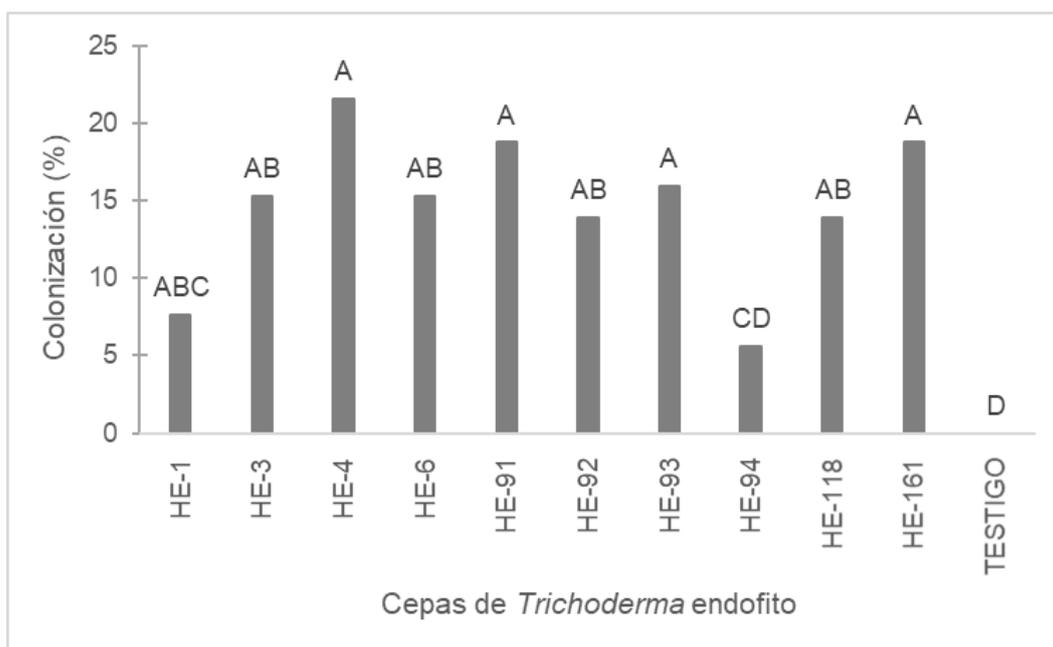
Siendo la cepa T10 quien logro la mayor colonización seguido de T3 y T2, mientras que la cepa T8 presento la menor colonización en plantas de arándanos de 60 días de edad.

Tabla 6 *Porcentaje de colonización de cepas de Trichoderma sp endófito durante el establecimiento de vitroplantas de arándano (V. corymbosum L.) mediante dos métodos de inoculación, realizado en laboratorio de Sanidad Vegetal de la UNDC, 2021*

CEPA	METODO 1 *	METODO 2*	Promedio (%)	
HE-1	6.94	8.33	7.64	BC
HE-3	18.06	12.5	15.28	AB
HE-4	18.06	25	21.53	A
HE-6	15.28	15.28	15.28	AB
HE-91	16.67	20.83	18.75	A
HE-92	12.5	15.28	13.89	AB
HE-93	15.28	16.67	15.97	A
HE-94	6.95	4.17	5.56	CD
HE-118	20.83	6.94	13.89	AB
HE-161	26.39	11.11	18.75	A
TESTIGO	0	0	0	D
Promedio (%)	14.27	12.37		

Nota. *Datos promedios de seis vitroplantas de arándano inoculadas por cada cepa. Método 1. Inmersión de raíces con suspensión de esporas. Método 2: Infestación al sustrato por suspensión de esporas. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$). **Figura 17**

Efecto de la inoculación de cepas de Trichoderma sp en el porcentaje de colonización endofítica en vitroplantas de arándano (V. corymbosum L.) a los 90 días de evaluación, realizado en laboratorio de Sanidad Vegetal de la UNDC, 2021



Nota. La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey al 5% de probabilidad. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

Con el reaislamiento se confirmó que todas las cepas de *Trichoderma* colonizaron los tejidos de plantas de arándano, lo cual indica que son hongos endófitos. Existen reportes donde indican que estos microorganismos viven en asociación con las plantas dentro de sus tejidos en los espacios intercelulares y dentro de la célula del huésped, absorbiendo nutrientes de ella en forma asintomática sin causar daño aparente (Carroll, 1988). Así mismo, las vitroplantas de arándano inoculadas con los hongos endófitos (*Trichoderma* sp.) no mostraron síntomas algunos de enfermedad durante el establecimiento en el vivero, lo que indica que estas plantas colonizadas crecieron asintomáticamente. De igual modo, se aislaron hongos endófitos de plántulas de *Theobroma gileri* previamente inoculadas (Evans *et al.*, 2003). En la investigación se inocularon las cepas de *Trichoderma* a nivel de raíces; sin embargo, estas cepas fueron capaces de colonizar diferentes órganos tales como: tallos y hojas de plántulas de arándano; considerándolos como hongos endófitos sistémicos (Stone *et al.*, 2000). Asimismo, en plántulas de quinua inoculadas con cepas de *Trichoderma* sp endófito reportaron el mismo comportamiento (Leon *et al.*, 2018).

En esta investigación la colonización endófitas de *Trichoderma* fue menor al 15%, debido a que se reaislaron de plantas jóvenes de 90 días después del trasplante. Se relaciona con los resultados obtenidos por Arnold *et al.* (2003), donde observaron que partes viejas de la planta albergan una mayor cantidad de endófitos en detrimento de las partes jóvenes; de donde señalan que la edad y el tiempo de exposición del inóculo, a la planta, influye en la diversidad y población de hongos endófitos en el tejido. A su vez, Bailey *et al.* (2008)

mencionan que la colonización por cepas de *Trichoderma* depende del tiempo y la oportunidad. Asimismo, el método de inoculación también influye en la colonización endofítica como lo menciona Bamisile *et al.* (2020). Por su parte, Mengistu (2020), los principales factores que pueden regular la colonización microbiana son. el genotipo de la planta, la etapa de crecimiento, el estado fisiológico, el tipo de tejidos vegetales, la competencia microbiana, algunas condiciones ambientales del suelo, así como algunas prácticas agrícolas.

Sin embargo, los métodos de inoculación empleados en la investigación no influenciaron en la colonización de cepas de *Trichoderma* en las plantas de arándano; no obstante, Bailey *et al.* (2008) reportaron que la colonización de endófitos en plántulas de *Theobroma* es influido por los métodos de inoculación.

4.2. Efecto de Cepas de *Trichoderma* sp. en el Crecimiento de Vitroplantas de Arándano (*V. corymbosum* L) Mediante dos Métodos de Inoculación

En la tabla 7 se observa que los análisis de varianza (ANDEVA) para las variables de altura de planta (AP), número de hojas (NH), diámetro de tallo (DT) y peso fresco de biomasa aérea (PFBA) de plantas de arándano var. biloxi tratadas con 10 cepas de *Trichoderma* sp, mostraron significancia al 5% de probabilidad ($Pr < 0.05$) para el factor métodos de inoculación (M); sin embargo, para las variables Número de brotes (NB), peso seco de biomasa aérea (PSBA), peso fresco de biomasa radicular (PFBR) y peso seco de biomasa radicular (PSBR) no mostraron significancia. Para el factor cepas de *Trichoderma* sp. (C), las variables de altura de planta (AP), número de hojas (NH), diámetro de tallo (DT), peso fresco (PFBA) y seco de biomasa aérea (PSBA), y peso fresco biomasa radicular (PFBR) de plantas de arándano var. biloxi mostraron significancia al 5% de probabilidad ($Pr < 0.05$); sin embargo, para las variables Número de brotes (NB) y peso seco de biomasa radicular (PSBR) no mostraron significancia.

No obstante, en la interacción de factores MxC mostró significancia al 5% de probabilidad ($Pr < 0.05$) en las variables número de hojas y diámetro de tallo en comparación de las demás variables no mostraron significancia.

Tabla 7 Análisis de varianza de variables de crecimiento de vitroplantas de arándano (*V. corymbosum* L) var. Biloxi tratadas con cepas de *Trichoderma* sp mediante dos métodos de inoculación en el laboratorio de Sanidad Vegetal de la UNDC, 2021

Fuente de variación	Grados de libertad	Altura de planta	Nro. de hojas	Nro. de brotes	Diámetro de tallo	Biomasa aérea		Biomasa radicular	
						Fresca	Seca	Fresca	Seca

Método de Inoculación (M)	1	**	**	N.S.	**	**	N.S.	N.S.	N.S.
Cepas de <i>Trichoderma</i> sp (C)	10	**	**	N.S.	**	**	**	**	N.S.
M x C	10								
Error	66								
Total	87	N.S.	**	N.S.	**	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

Nota. Elaboración propia.

La comparación de medias mediante la prueba de Tukey al 5% de probabilidad, mostró diferencias significativas entre los métodos de inoculación en las variables altura de planta, número de hojas, diámetro de tallo y peso de la biomasa fresca aérea a diferencia de las variables número de brotes, peso de la biomasa seca aérea, peso de la biomasa fresca y seca radicular no mostró diferencias significativas entre métodos de inoculación (Tabla 8). Las plantas de arándano inoculadas con el método 2 a través de la infestación al sustrato con cepas de *Trichoderma* fueron las que tuvieron mayor efecto que el método 1 (Inmersión de raíces con cepas de *Trichoderma* sp.) en las variables con diferencias significativas.

Tabla 8 Prueba de comparación de medias para el factor Métodos de inoculación de las variables de crecimiento de vitroplantas de arándano (*V. corymbosum* L) var. Biloxi tratadas con cepas de *Trichoderma* sp. en el vivero de la UNDC sede CNI, 2021

Nro. Método de inoculación	Altura de planta (cm)	de hojas	Diámetro de tallo (mm)	Nro. de brotes	Biomasa (g)			
					Aérea		Radicular	
					Fresca	Seca	Fresca	Seca
M1 Inmersión de raíces con cepas de <i>Trichoderma</i>	15.6 B	26.1 B	1.97 B	2.71 A	0.91 B	0.23 A	0.34 A	0.07 A

M2	<i>Infestación al sustrato con cepas de Trichoderma</i>	17.67	28.8	2.05 A	2.67	1.13	0.27	0.37	0.06
		A	A		A	A	A	A	A

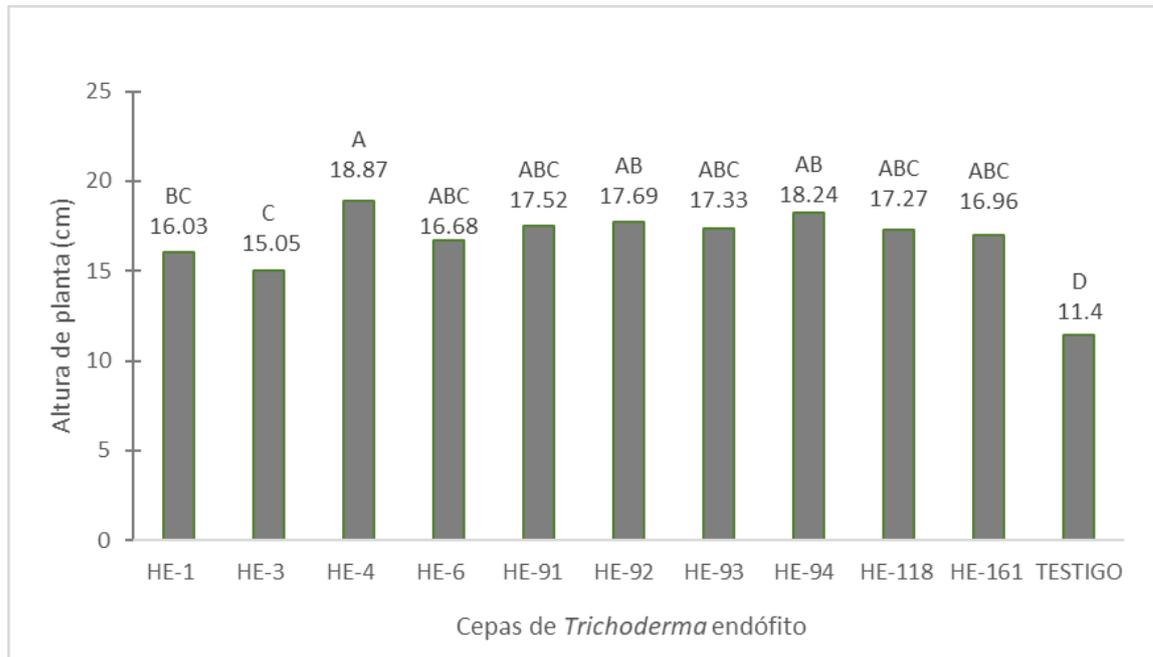
Nota. La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey al 5% de probabilidad.

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

En la variable altura de planta, la comparación de medias mediante la prueba de Tukey al 5% de probabilidad, mostró diferencias significativas entre las cepas de *Trichoderma* sp. Todos los tratamientos que recibieron aplicaciones de cepas de *Trichoderma* sp. fueron significativamente mayores con respecto al testigo. El que presentó mayor efecto en la altura de planta fue el tratamiento con la cepa HE-4 con 18.87 cm, seguido de las cepas HE-92 y HE94 con valores de 17.69 y 18.24 cm respectivamente sin diferencias significativas a comparación de la cepa HE-3 que presentó un menor valor con 15.05 cm; sin embargo, este valor es superior al testigo que presentó el valor más bajo con 11 cm (Figura 18).

Figura 18

Altura de vitroplantas (cm) de arándano var. Biloxi tratadas con cepas de Trichoderma sp., en el vivero de la UNDC sede CNI, 2021



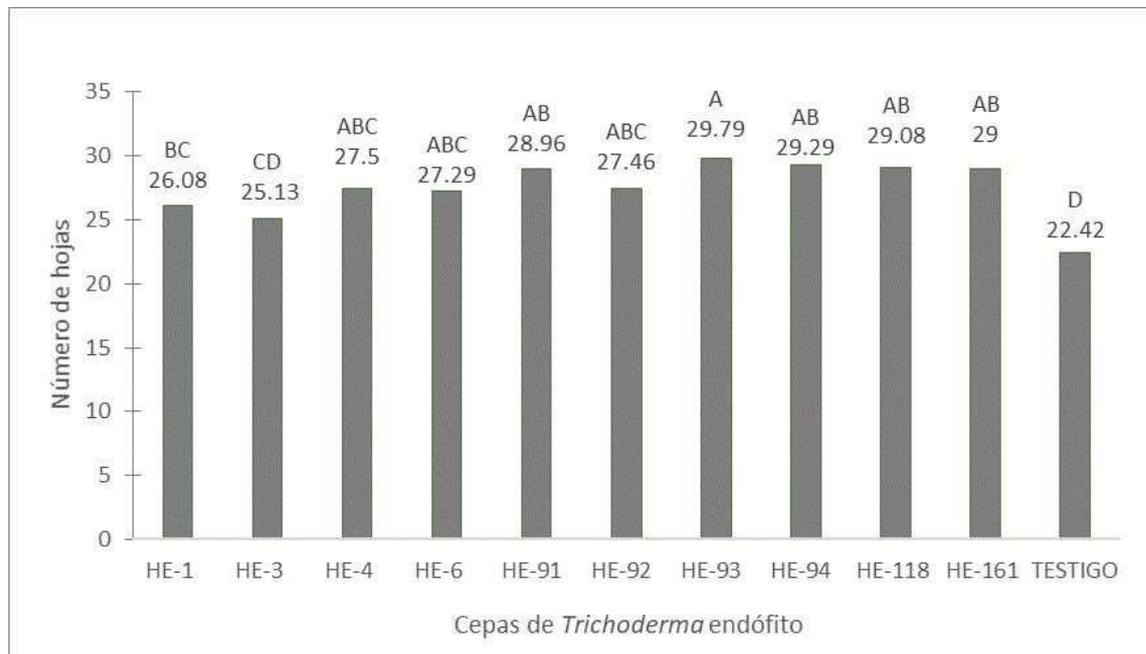
Nota. La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey al 5% de probabilidad. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

La comparación de medias de número de hojas mediante la prueba de Tukey al 5% de probabilidad, mostró diferencias significativas entre las cepas de *Trichoderma* sp. Los valores fueron significativamente mayores en los todos los tratamientos que recibieron aplicaciones de *Trichoderma* sp con valores comprendidos entre 25.13 a 29.79 unidades a diferencia del testigo (sin aplicación de *Trichoderma*) que presento el valor más bajo con 22.42 unidades. Las plantas tratadas con la cepa HE-93 tuvo mayor efecto en el número de hojas con 29.79 unidades, seguido de las cepas HE-91, HE-94, HE-118, HE-161 con 28.96, 29.29, 29.08 y 29 unidades respectivamente sin diferencias significativas; sin embargo, la cepa HE-3 presento el menor valor con 25.13 unidades de hojas, pero superior al testigo (Figura 19).

Figura

19

Número de hojas (unidades) de vitroplantas de arándano var. Biloxi tratadas con cepas de Trichoderma sp. en el vivero de la UNDC sede CNI, 2021



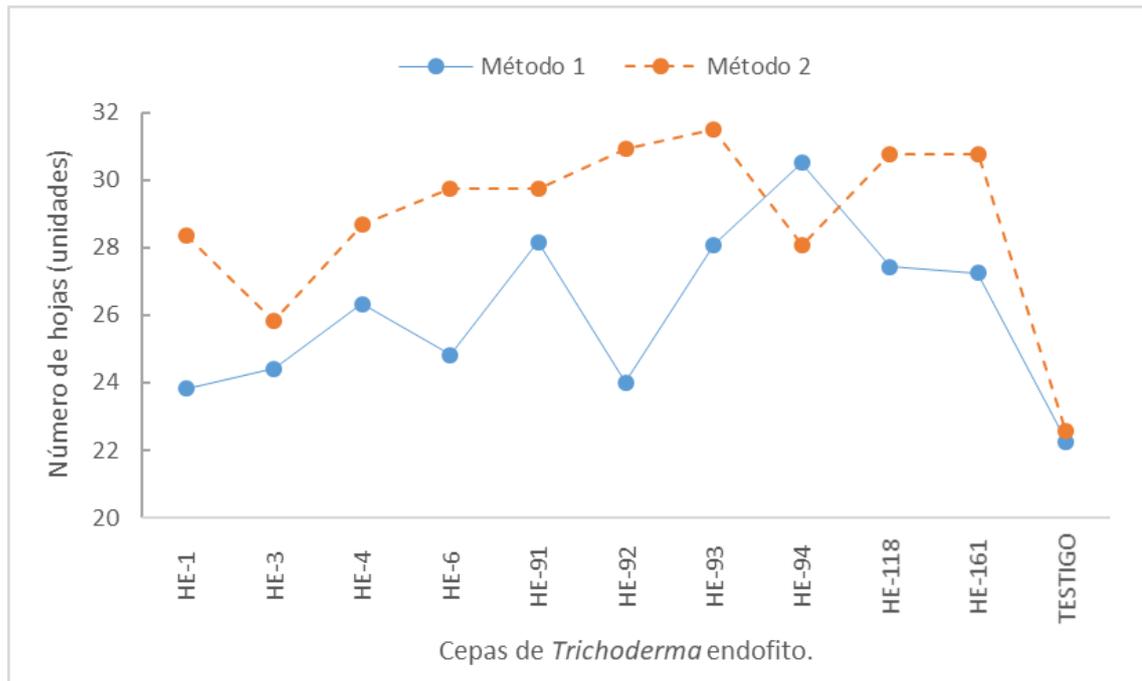
Nota. La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey al 5% de probabilidad. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

Además, en la Figura 20, se muestra gráficamente los efectos simples de la interacción métodos y cepas de *Trichoderma* sp. Donde se observa claramente que el número de hojas vario según las cepas y métodos de inoculación, siendo el mayor incremento en el método 2 con la cepa HE-93 con 31.5 unidades a diferencia del método 1 con 28.1 unidades de hojas.

20

Efectos simples de la interacción métodos y cepas de Trichoderma sp en el número de hojas (unidades) de vitroplantas de arándano var. Biloxi en el vivero de la UNDC sede CNI, 2021

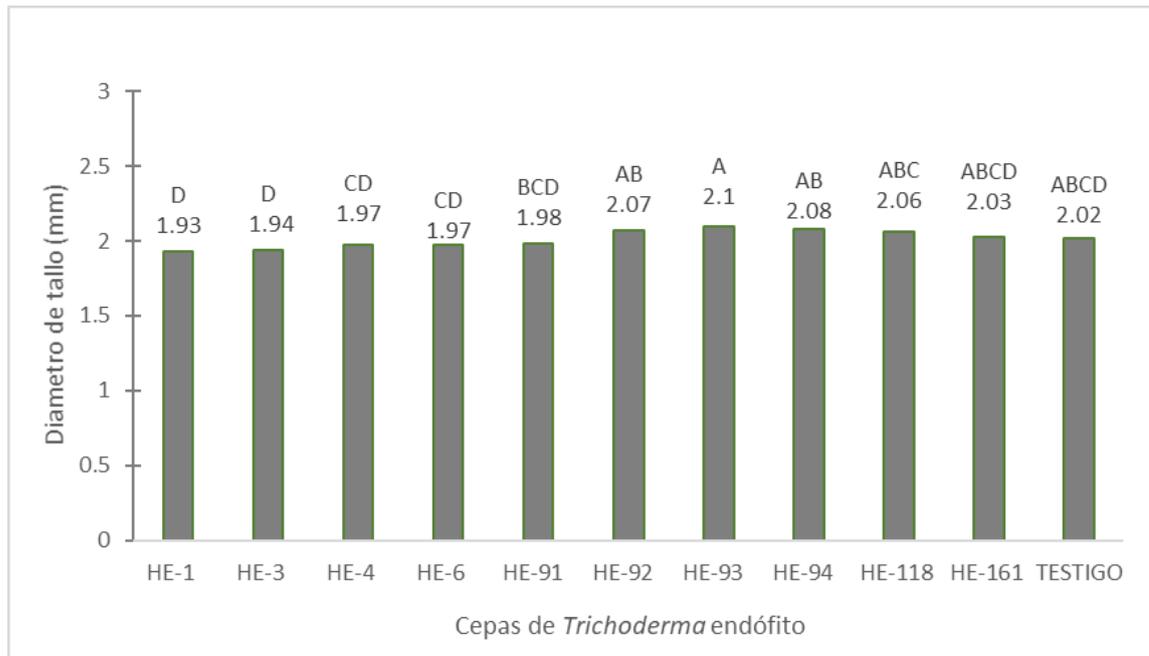
Figura



Nota: Método 1. Inmersión de raíces con suspensión de esporas. Método 2: Infestación al sustrato por suspensión de esporas.

Por otro lado, en la variable diámetro de tallo, se mostró diferencias significativas entre las cepas de *Trichoderma* sp.; sin embargo, no todas las plantas tratadas con las cepas fueron superiores al testigo. Solo cuatro tratamientos con cepas de *Trichoderma* sp. HE-92, HE-93, HE 94 y HE-118 fueron significativamente mayores al testigo. Siendo, el tratamiento HE-93 con mayor efecto en el DT con 2.1 mm, seguido de HE-92 y HE-94 con 2.07 y 2,08 mm respectivamente, y HE-118 con 2.06 mm comparado con las demás cepas con valores inferiores al testigo (2.03 mm) e incluso la cepa HE-161 resulto no tener diferencia significativa con el testigo (Figura 21).

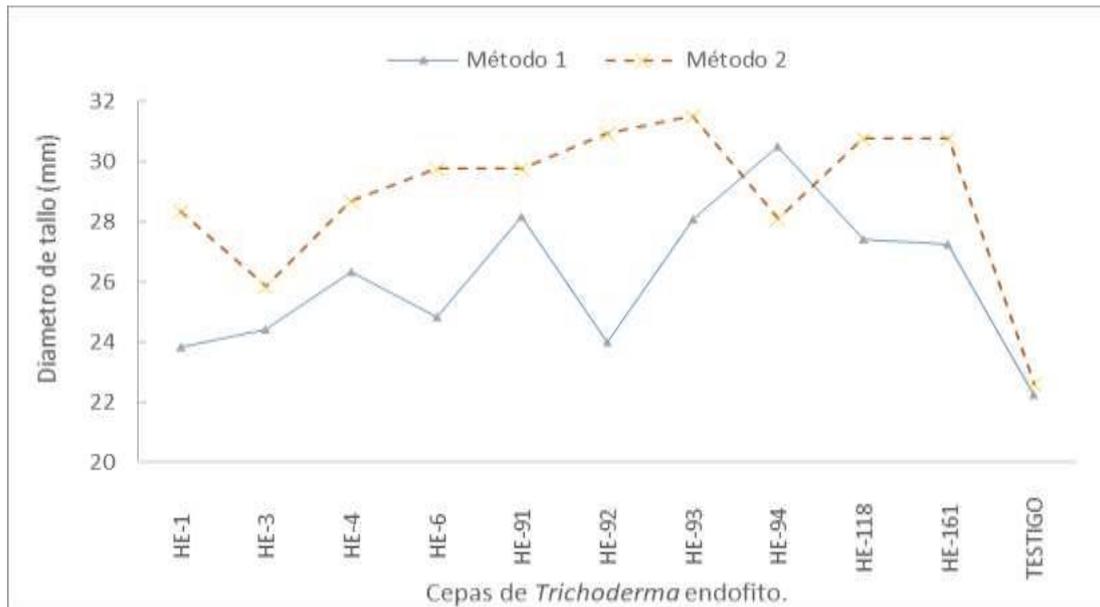
Figura



Nota. La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey al 5% de probabilidad. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

En la Figura 22, se muestra gráficamente los efectos simples de la interacción métodos y cepas de *Trichoderma* sp. Donde se observa claramente que el diámetro del tallo vario según las cepas y métodos de inoculación, se dio el mayor diámetro en el método 2 con la cepa HE93 con 2.21 mm a diferencia del método 1 con 2.00 mm.

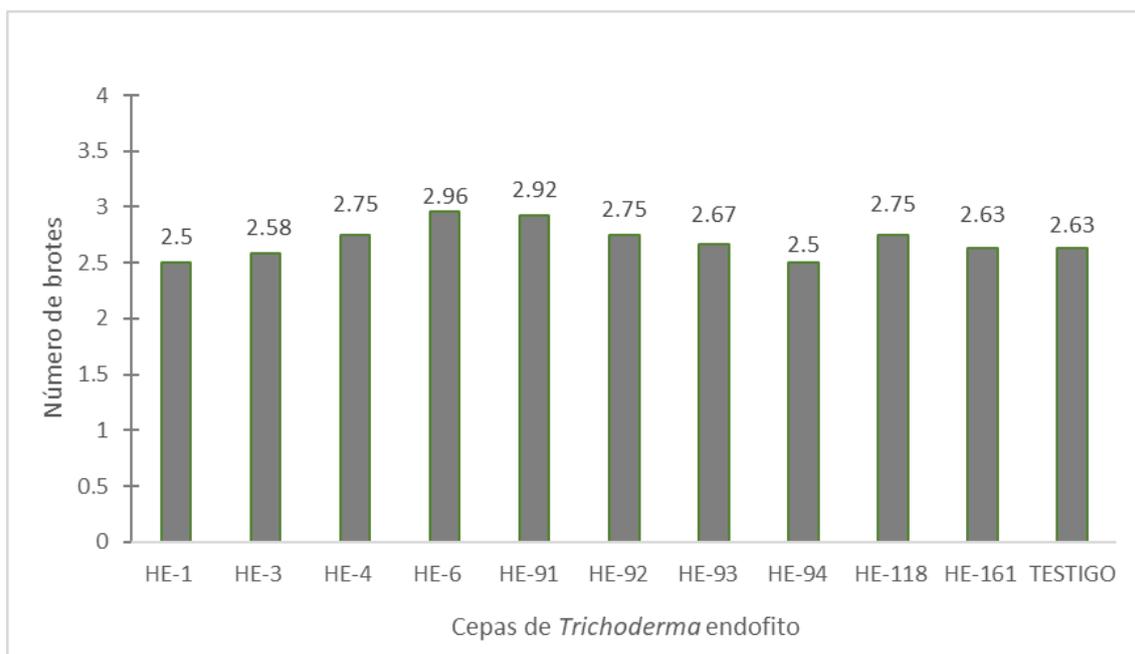
Figura



Nota. Método 1. Inmersión de raíces con suspensión de esporas. Método 2: Infestación al sustrato por suspensión de esporas.

No obstante, la aplicación de cepas *Trichoderma* sp. en vitroplantas de arándano no tuvo efecto en la variable número de brotes, no se mostró diferencias significativas entre las cepas de *Trichoderma* sp. y testigo. Sin embargo, numéricamente síes cepas superaron al testigo (2.63 unidades). Siendo, la cepa HE-6 con mayor número de brotes (2.96 unidades), seguido de HE-91 con 2.91 unidades, HE-4, HE-92 y HE-118 con 2.75 unidades, y HE-93 con 2.67 unidades (Figura 23).

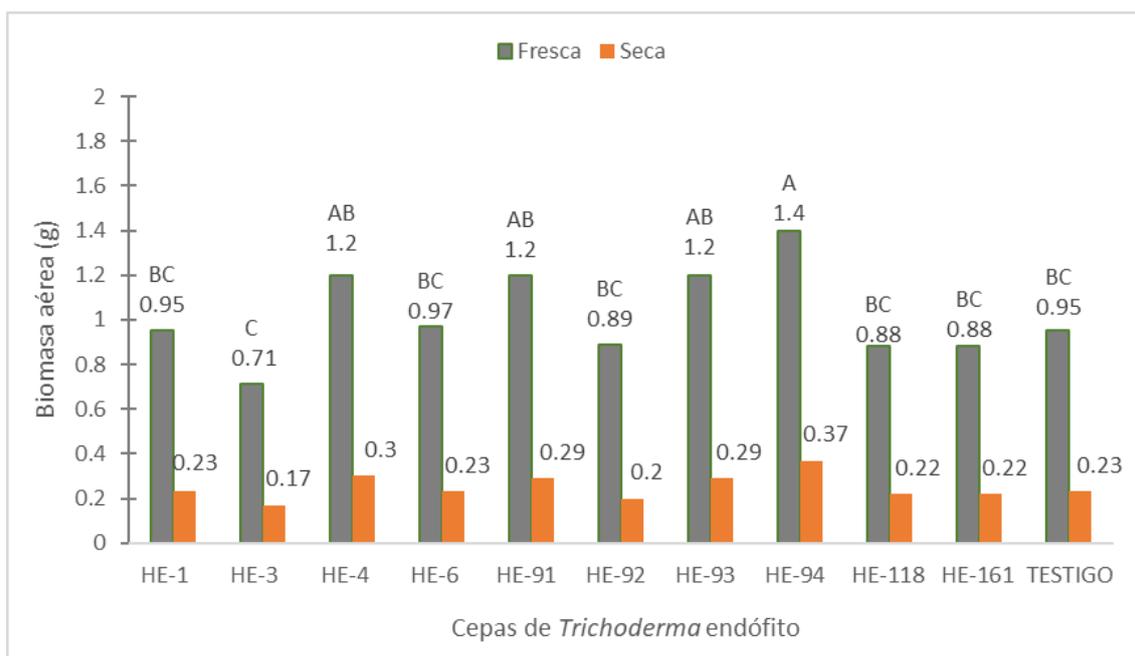
Figura 23 Número de brotes (unidades) de vitroplantas de arándano var. Biloxi tratadas con cepas de *Trichoderma* sp. en el vivero de la UNDC sede CNI, 2021



Nota: Datos promedios

Para el caso de la variable biomasa aérea fresca y seca (g), se mostró diferencias significativas entre las cepas; sin embargo, no todas las plantas tratadas con las cepas fueron superiores al testigo. Solo cuatro tratamientos con cepas de *Trichoderma* sp. fueron significativamente mayores al testigo. Siendo, el tratamiento HE-94 con mayor peso en la biomasa fresca y seca con 1.4 g y 0.37 g respectivamente, seguido de las cepas HE-4, HE-91 y HE-93 con 1.2 g en el peso fresco de la biomasa sin diferencias significativas entre cepas; sin embargo, las demás cepas no presentaron diferencias significativas con el testigo (0.95 g) e incluso la cepa HE-161 presento menor valor (0.71 g) que el testigo (Figura 24).

Figura 24 Biomasa aérea fresca y seca (g) de vitroplantas de arándano var. Biloxi tratadas con cepas de *Trichoderma* sp. en el vivero de la UNDC sede CNI, 2021

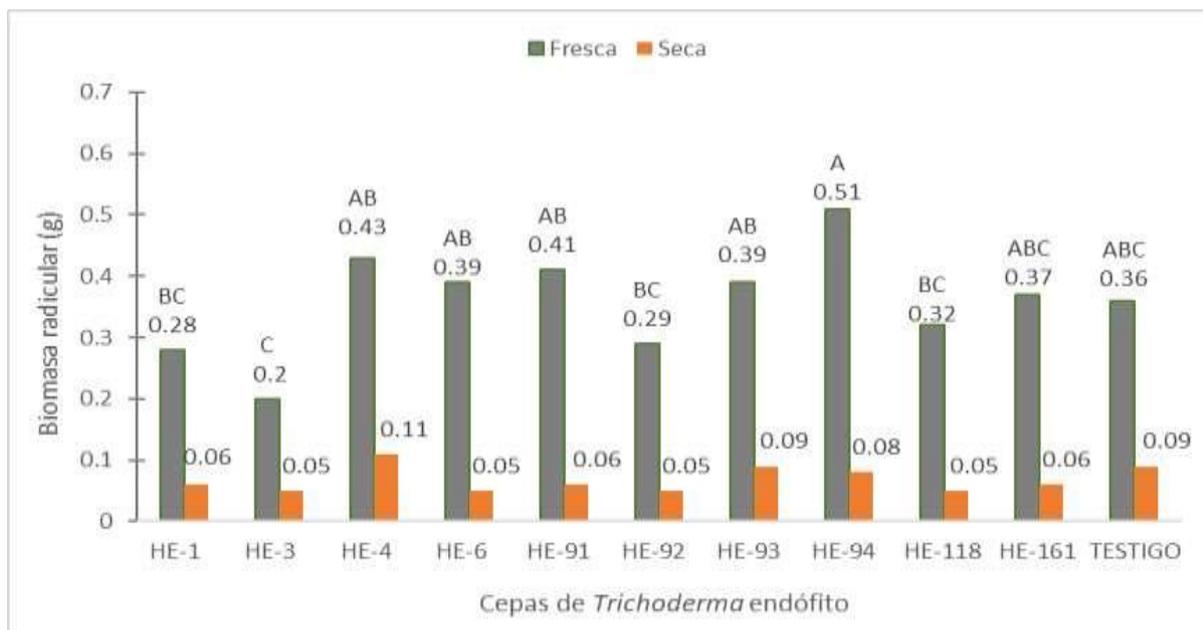


Nota. La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey al 5% de probabilidad.

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

En cuanto a la variable biomasa radicular fresca y seca (g), se mostró diferencias significativas entre las cepas (Figura 25); sin embargo, no todas las plantas tratadas con las cepas fueron superiores al testigo. Solo cinco tratamientos con cepas de *Trichoderma* sp. fueron significativamente mayores al testigo. Siendo, el tratamiento HE-94 con mayor peso en la biomasa fresca con 0.51 g., seguido de las cepas HE-4, HE-6, HE-91 y HE-93 con valores de 0.43, 0.39, 0.41 y 0.39 g sin diferencias significativas entre cepas; sin embargo, las demás cepas no presentaron diferencias significativas con el testigo (0.36 g) e incluso la cepa HE-3 presento menor valor (0.2 g) que el testigo.

Figura 25 Biomasa radicular fresca y seca (g) de vitroplantas de arándano var. Biloxi tratadas con cepas de *Trichoderma sp.* en el vivero de la UNDC sede CNI, 2021



Nota: La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey al 5% de probabilidad. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

En esta investigación, las cepas endófitas de *Trichoderma sp* mejoraron el crecimiento de vitroplantas de arándano y a su vez colonizaron los tejidos de estas. Investigaciones, indican que la colonización endofítica podría haber creado condiciones más favorables para promover el crecimiento de la planta (Harman, 2006; Toghueo *et al.*, 2016). Además, entre los posibles mecanismos usados por *Trichoderma sp.* para mejorar el crecimiento vegetal, se encuentra la activación de H^+ -ATPasa de membrana plasmática (PM), una enzima clave involucrada en la promoción del crecimiento celular y en el alargamiento de la planta (González *et al.*, 2019). Así mismo, la producción de hormonas como las auxinas, citoquininas y etileno están involucradas en el crecimiento y a su vez le confiere protección al ataque de patógenos (Castro y Rivilla, 2012). Sin embargo, Hoyos *et al.* (2009) mencionan que la colonización de estos hongos en las raíces de las plantas está más asociada con la promoción del crecimiento que la producción real de fitohormonas por antagonista.

Es así, que cepas endófitas de *Trichoderma sp* utilizadas en esta investigación tienen efecto positivo en las variables de crecimiento de vitroplantas de arándano var. Biloxi. Este hecho se atribuye a la solubilización de fosfatos y producción de ácido indol acético actuando directamente sobre la planta y la producción de metabolitos en el control de patógenos que puedan inhibir el crecimiento de las plantas (Hermosa *et al.*, 2012). A su vez, Delgado *et al.*

(2021) señalan que los endófitos actúan como agentes promotores del crecimiento de las plantas mediante la producción de fitohormonas. Asimismo, Nieto *et al.* (2017) describieron que la promoción del crecimiento depende de los organismos que interactúan y también está influenciado por las condiciones ambientales donde se produce la interacción, al igual sucedió con los resultados de la esta investigación, no todas las cepas de *Trichoderma* tuvieron efecto positivo en las variables de crecimiento. Similares resultados fueron reportados por González *et al.* (2019), de cuatro cepas endófitas de *Trichoderma asperellum* que fueron aplicadas el mismo día de la siembra, la cepa Ta. 85 produjo la mayor estimulación en cuanto al número de hojas, altura de las plantas y longitud de raíces en el cultivar de frijol. Asu vez, Hoyos *et al.* (2009) evaluaron la habilidad de 101 cepas de *Trichoderma* sp. para estimular el crecimiento de la planta y mostró que estas cepas pueden producir efectos positivos, nulos e incluso negativos sobre la longitud de la parte aérea, la longitud de las raíces y la masa seca de las plantas de frijol en estadios tempranos. Además, Mamani *et al.* (2021) señalan que el incremento en el crecimiento de plántones de café se debe a las cepas endófitas de *Trichoderma* que fueron aplicadas al suelo a nivel de vivero; del mismo modo existen reportes donde indican que con aplicación de *T. harzianum* en plántulas de café se obtuvo mayor longitud radicular, altura, diámetro de tallo y número de hojas (Guilcapi, 2010) y en otros cultivos mejoraron el rendimiento (Leon *et al.*, 2018; Mendoza, 2019).

V. Conclusiones

- Los métodos de inoculación no influyen en la colonización endofítica de cepas de *Trichoderma* en vitroplantas de arándano var. biloxi durante el enraizamiento y establecimiento. Todas las cepas de *Trichoderma* colonizaron los tejidos de vitroplantas de arándano, siendo la cepa HE-4 con mayor colonización (21.53 %)

mientras que la cepa HE-94 (5.54%) presento la menor colonización en vitroplantas de plantas de arándano los 90 días de evaluación.

- Las vitroplantas de arándano inoculadas con el método 2 (infestación al sustrato con cepas de *Trichoderma*) tienen mayor efecto que el método 1 (Inmersión de raíces con cepas de *Trichoderma* sp.) en la altura de planta, número de hojas, diámetro de tallos y biomasa aérea fresca a diferencia de las demás variables no tienen efecto los métodos de inoculación. Asimismo, la aplicación de cepas de *Trichoderma* no influyen en la biomasa radicular seca y número de brotes que en las demás variables; siendo, las cepas 93 y 94 con mayor efecto y las HE-3 con menor efecto en todas las variables de crecimiento.

VI. Recomendaciones

- Evaluar la colonización endofítica de las cepas de *Trichoderma* endófito (HE-93 y HE94) que tuvieron mayor efecto en todas las variables de crecimiento en diferentes edades de la planta, variedades, sistemas de manejo y condiciones ambientales.
- Aplicar diferentes dosis de las mejores cepas de *Trichoderma* endófito con el método 2 (infestación al sustrato) en plántulas de arándano a nivel de vivero y campo para evaluar el crecimiento vegetativo y rendimiento de frutos.

VII. Referencias Bibliográficas

- Alonso-Serrano, A., García-Sanz, L., León-Rodrigo, I., García-Gordo, E., Gil-Alvaro, B., & Ríos-Bravo, L. (2010). *Métodos de investigación de Enfoque Experimental*.
<https://Cupdf.Com/Document/Metodo-de-Investigacion-de-Enfoque-Experimental.Html>. <https://cupdf.com/document/metodo-de-investigacion-deenfoqueexperimental.html>
- Álvarez, S. E., & Sivila, N. (2013). *Producción artesanal de Trichoderma* (1era ed., Vol. 1). Universitaria de Jujuy. <https://bit.ly/3keAG9d>
- Armando-Romero, C. (2016). *El arándano en el Perú y el mundo* (1ra ed., Vol. 1). MINAGRI - DEEIA. <https://bit.ly/3pK0C09>
- Arnold, A. E., Mejía, L. C., Kylló, D., Rojas, E. I., Maynard, Z., Robbins, N., & Herre, E. A. (2003). Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *100*(26), 15649-15654.
- Bailey, B. A., Bae, H., Strem, M. D., Crozier, J., Thomas, S. E., Samuels, G. J., Vinyard, B. T., & Holmes, K. A. (2008). Antibiosis, mycoparasitism, and colonization success for endophytic *Trichoderma* isolates with biological control potential in *Theobroma cacao*. *Biological Control*, *46*(1), 24-35. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.01.003>
- Bamisile, B. S., Senyo Akutse, K., Dash, C. K., Qasim, M., Ramos Aguila, L. C., Ashraf, H. J., Huang, W., Hussain, M., Chen, S., & Wang, L. (2020). Effects of Seedling Age on Colonization Patterns of Citrus limon Plants by Endophytic *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* and Their Influence on Seedlings Growth. *Journal of Fungi*, *6*(1), 29. <https://doi.org/10.3390/jof6010029>
- Bastías Campos, D. (2018). *Mecanismos de resistencia a insectos en pastos que forman simbiosis con hongos endófitos* [Tesis de doctorado, Universidad de Buenos Aires]. Argentina. <https://bit.ly/3Cr7hQr>
- Błaszczuk, L., Siwulski, M., Sobieralski, K., Lisiecka, J., & Jedryczka, M. (2014). *Trichoderma* spp. - Application and prospects for use in organic farming and industry. *Journal of Plant Protection Research*, *54*. <https://doi.org/10.2478/jppr-2014-0047>
- Brenes Angulo, A., Castillo Matamoros, R., & Gómez-Alpízar, L. (2015). Micropropagación de Cuatro

- Cultivares de Arándano (*Vaccinium* spp.) a Partir de Segmentos Foliares de Dos Procedencias. *Agronomía Costarricense*, 39(1), 7-23.
- Caballero Hernández, Á. J. (2011). *Uso de hongos endofíticos de Trichoderma spp., para el biocontrol del Mal de Panamá (Fusarium oxysporum f. Sp. Cubense) raza tropical 1 en vitroplantas del cultivar Gros Michel (AAA)* [Tesis de maestría, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza]. Turrialba, Costa Rica. <https://bit.ly/3BofbZo>
- Carbajal Alarcón, Fr. S. (2017). *Identificación de hongos endófitos y su uso en la bioprotección de plántulas de café para reducir el daño de Colletotrichum coffeanum en San Martín— Perú* [Tesis de pre grado, Universidad Nacional de San Martín]. San Martín, Perú.
- <https://bit.ly/31doYFD>
- Carroll, G. (1988). Fungal endophytes in stems and leaves: From latent pathogen to Mutualistic symbiont. *Ecology*, 69(1), 2-9. <https://doi.org/10.2307/1943154>
- Castillo Jiménez, C. (2008). *Manual de Buenas Prácticas Agrarias Sostenibles* [Manual]. Andalucía, España. <https://bit.ly/30Z23gU>
- Castro, A., & Rivilla, C. (2012). *Trichoderma spp modos de acción eficacia y usos en el cultivo de café* [Boletín]. Caldas, Colombia. <https://biblioteca.cenicafe.org/handle/10778/577>
- Centro de Estudios Cervantinos. (2020). *15 Tipos de Investigación y sus características* [Grupo de Estudio]. CEC. https://www.centroestudioscervantinos.es/tipos-de-investigaciony Características/#5_Explicativa
- Chacón Rodríguez, K. D. (2014). *Aislamiento de mohos presentes en frutos de Vaccinium corybosum var. Biloxi «arándano» almacenados bajo Atmósferas Controladas*. [Tesis de pre grado, Universidad Nacional de Trujillo]. Trujillo, Perú. <https://bit.ly/3Gxz3NQ>
- Cutz Tax, A. J. (2004). *Micropropagación de tres variedades de arándano (Vaccinium ashei Readell)* [Tesis de pregrado, Universidad de San Carlos de Guatemala]. Guatemala.
- <https://bit.ly/3blb71H>
- Delgado, B. P., Ortega, J. A., Martínez, D. Y., & Coca, B. M. (2021). Los hongos endófitos y sus aplicaciones potenciales en la agricultura. *Revista de Protección Vegetal*, 36(3), Article 3. <http://revistas.censa.edu.cu/index.php/RPV/article/view/1167>
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., & Robledo, C. W. (2008). *InfoStat software estadístico, Manual del Usuario: Vol. Grupo Infostad (1.1)* [Computer software]. Universidad Nacional de Córdoba.

Evans, H. C., Holmes, K. A., & Thomas, S. E. (2003). Endophytes and mycoparasites associated with an indigenous forest tree, *Theobroma gileri*, in Ecuador and a preliminary assessment of their potential as biocontrol agents of cocoa diseases. *Mycological Progress*, 2(2), 149-160. FreshFruit.pe. (2022). *Campaña de arándano 2021/2022 finalizará con 30% de crecimiento*

[Información comercial]. Fresh Fruit - Expertos en inteligencia comercial.

<https://freshfruit.pe/2022/05/08/campana-de-arandano-2021-2022-finalizara-con-30decrecimiento/>

García-Rubio, J. C. (2010). *Descripción del arándano* [Gubernamental]. Publicaciones SERIDA.

<http://www.serida.org/publicacionesdetalle.php?id=5192>

Garrido Rondoy, M., & Vilela Severino, N. (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://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.02.05>

Gómez Martínez, M. guadalupe. (2010). *La poda en la productividad de arándano (Vaccinium spp.) en Michoacán* [Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Chapingo]. Chapingo, México. <https://bit.ly/3GtfgPg>

González-Marquetti, I., Infante-Martínez, D., Arias-Vargas, Y., Gorrita-Ramírez, S., HernándezGarcía, T., de la Noval-Pons, B. M., Martínez-Coca, B., Peteira, B., González-Marquetti, I., InfanteMartínez, D., Arias-Vargas, Y., Gorrita-Ramírez, S., Hernández-García, T., de la Noval-Pons, B. M., Martínez-Coca, B., & Peteira, B. (2019). Efecto de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg sobre indicadores de crecimiento y desarrollo de *Phaseolus vulgaris* L. cultivar BAT-304. *Revista de Protección Vegetal*, 34(2). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1010-27522019000200004&lng=es&nrm=iso&tlng=es

Guilcapi Pacheco, E. D. (2010). *Efecto de Trichoderma harzianum y Trichoderma viride, en la producción de plantas de café (Coffea arabica) variedad caturra a nivel de vivero* [Pregrado - Agronomía, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. Riobamba, Ecuador. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/334>

Harman, G. E. (2006). Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 96(2), 190-194. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0190>

Hermosa, R., Viterbo, A., Chet, I., & Monte, E. (2012). Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology*, 158(1), 17-25.

- Hernández-Lauzardo, A. N., Bautista-Baños, S., Velázquez-del Valle, M. G., & Hernández-Rodríguez, A. (2007). Uso de Microorganismos Antagonistas en el Control de Enfermedades Postcosecha en Frutos. *Revista mexicana de fitopatología*, 25(1), 66-74.
- Hernández-Socorro, M. A., Arévalo-Ortega, J., Marrero-Roque, D., & Hidalgo-Díaz, L. (2016). Efecto de KlamiC® en la estimulación del crecimiento de vitroplantas de plátanos y bananos. *Cultivos Tropicales*, 37(4), 168-172. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.25696.69120>
- Hoyos-Carvajal, L., Chaparro, P., Abramsky, M., Chet, I., & Orduz, S. (2008). Evaluación de aislamientos de *Trichoderma* spp. Contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* bajo condiciones in vitro y de invernadero. *Agronomía Colombiana*, 26(3), 451-458.
- Hoyos-Carvajal, L., Orduz, S., & Bissett, J. (2009). Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. *Biological Control*, 51(3), 409-416. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.07.018>
- Huamantingo Tello, J. A. (2016). *Evaluación del crecimiento de plantines de dos variedades de arándano (Vaccinium corymbosum L.) en tres pisos altitudinales a condiciones de vivero en Abancay—Apurímac* [Tesis de pregrado, Universidad Tecnológica de los Andes]. Apurímac, Perú. <https://bit.ly/3mjAGGt>
- Infante, D., Martínez, B., González, N., & Reyes, Y. (2009). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista de Protección Vegetal*, 24(1), 14-21.
- Instituto de Investigaciones Agropecuarias. (2018). *INIA desarrolla innovadora iniciativa que utiliza hongos endófitos nativos para controlar plagas y enfermedades en hortalizas* [Información técnica-científica]. Web INIA 2.0. <https://bit.ly/3Cp2KxN>
- Krikorian, A. D. (1991). Medios de cultivo: Generalidades, composición y preparación. En *Cultivo de tejidos en la agricultura, fundamentos y aplicaciones* (1ra ed., Vol. 1, p. 970). Centro Internacional de Agricultura Tropical. <https://bit.ly/3jKdKia>
- Krunger, T. L., & Bacchi, L. M. A. (1995). Fungos. En *Manual de Fitopatología* (Vol. 1, pp. 46-95). Editora Agronómica Ceres Ltda.
- Larico, J., & Leon, B. (2016). Efecto de métodos y dosis de aplicación de *Trichoderma* veride en la aclimatación y crecimiento de vitroplantas de papa variedad imilla negra durante las épocas de Invierno Primavera. *Revista Investigaciones Altoandinas*, 18(1), 47-54. <https://bit.ly/3vZEPms>
- Leon Ttacca, B. (2016). *Biocontrol del mildiu (Peronospora variabilis Gäum.) de la quinua (Chenopodium quinoa*

Willd.) con cepas de Trichoderma sp. Con capacidad endofítica [Tesis de doctorado, Universidad Nacional del Altiplano]. Puno, Perú.

<https://bit.ly/3GuthMH>

Leon Ttacca, B., Ortiz Calcina, N., Condori Ticona, N., & Chura Yupanqui, E. (2018). Cepas de *Trichoderma* con capacidad endofítica sobre el control del mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum.) y mejora del rendimiento de quinua. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 20(1), 19-30. <https://doi.org/10.18271/ria.2018.327>

Mamani-Huayhua, G., Leon-Ttacca, B., Palao-Iturregui, L. A., Borja-Loza, Y. R., Mamani-

Huayhua, G., Leon-Ttacca, B., Palao-Iturregui, L. A., & Borja-Loza, Y. R. (2021).

Biocontrol de la roya amarilla del cafeto (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.) con cepas de *Trichoderma* sp. Endófito. *Cultivos Tropicales*, 42(4).

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0258-

[59362021000400001&lng=es&nrm=iso&tlng=en](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0258-59362021000400001&lng=es&nrm=iso&tlng=en)

Martínez, B., Infante, D., & Reyes, Y. (2013). *Trichoderma* spp. Y su función en el control de plagas en los cultivos (N.º 1). 28(1), 11.

Maticorena Quispe, M. F. (2017). *Cinco tipos de poda en arándano (Vaccinium corymbosum L.*

cv. Biloxi) y su influencia en determinados parámetros productivos [Tesis de pregrado,

Universidad Nacional Agraria La Molina]. Lima, Perú. <https://bit.ly/3Eiqjce>

Mendoza Coari, P. P. (2019). *Influencia de cepas de Trichoderma endófito y microorganismos eficaces*

(EM) en la incidencia de “Kcona Kcona” (Eurysacca sp.) y rendimiento de quinua

(Chenopodium quinoa Willd.) [Tesis de maestría, Universidad Nacional del Altiplano].

Puno, Perú. <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/13488> Mengistu, A. A.

(2020). Endophytes: Colonization, Behaviour, and Their Role in Defense

Mechanism. *International Journal of Microbiology*, 2020, 6927219.

<https://doi.org/10.1155/2020/6927219>

- Morales García, D. (2014). *Bioprospección de hongos endófitos para el control biológico del nematodo barrenador Radopholus similis (cobb) Thorn en el cultivo del banano*. [Tesis de maestría, Instituto Tecnológico de Costa Rica]. Cartago, Costa Rica. <https://bit.ly/2Zv8VSI>
- Moya Maldonado, A. E. (2016). *Biodiversidad fúngica endófito y epífita de Citrus sinensis, naranja dulce, de dos localidades de la Región Litoral del Ecuador* [Trabajo de graduación, Pontificia Universidad Católica del Ecuador]. Quito, Ecuador. <https://bit.ly/3CtZpxO>
- Nieto-Jacobo, M. F., Steyaert, J. M., Salazar-Badillo, F. B., Nguyen, D. V., Rostás, M., Braithwaite, M., De Souza, J. T., Jimenez-Bremont, J. F., Ohkura, M., Stewart, A., & Mendoza-Mendoza, A. (2017). Environmental Growth Conditions of Trichoderma spp. Affects Indole Acetic Acid Derivatives, Volatile Organic Compounds, and Plant Growth Promotion. *Frontiers in Plant Science*, 8. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2017.00102>
- Núñez Muñoz, L., & Pavone Maniscalco, D. (2014). Tratamiento biológico del cultivo de arroz en condiciones de vivero empleando el hongo Trichoderma spp. *Interciencia: Revista de ciencia y tecnología de América*, 39(3), 185-190.
- Pita-Fernandez, S., & Pérttega-Díaz, S. (2002). Investigación cuantitativa y cualitativa. *Cad Aten Primaria*, 9, 76-78.
- PortalFrutícola. (2022). *Proarándanos: "Las exportaciones peruanas de arándanos crecieron en volumen más de 16 veces"* [Medio de comunicación]. PortalFruticola.com. <https://www.portalfruticola.com/noticias/2022/03/23/proarandanos-las-exportacionesperuanas-de-arandanos-crecieron-en-volumen-mas-de-16-vece/>
- Ramos Martínez, L. M. (2006). *Efecto de Hongos Endofíticos sobre Promoción de Crecimiento in Vitro plantas de Banano y Piña* [Tesis de pregrado, Universidad Zamorano]. Zamorano, Honduras. <https://bit.ly/3jKb3wR>
- Rivadeneira, M. F. (2008). *Etapas fenológicas en arándano durante las campañas 2006-2007* [Datos de investigación.]. Entre Ríos, Argentina. <https://bit.ly/3jLEcrD>
- Rubio Susan, V., & Fereres Castiel, A. (2005). *Control biológico de plagas y enfermedades de los cultivos* [Capítulo de documento]. España. <https://bit.ly/3GuzDM3>
- Sánchez-Fernández, R. E., Sánchez-Ortiz, B. L., Monserrat Sandoval-Espinosa, Y. K., Ulloa Benítez, Á., Armendáriz-Guillén, B., García-Méndez, M. C., & Macías-Rubalcava, M.

- L. (2013). Hongos endófitos: Fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 16(2), 132-146.
- Santa María, J. (2019). *Informe de seguimiento Agroeconómico—ISA* (IV Trimestre 2018; p. 34). Ministerio de Agricultura y Riego. <https://bit.ly/3pJWwFx>
- Santa María, J., Sanchez, R., Mendieta, J., & Galiano, A. (2019). *Informe de Seguimiento Agroeconómico* (Informe técnico IV Trimestre 2018; p. 34). Ministerio de Agricultura y Riego. <https://www.midagri.gob.pe/portal/seguimiento-agroeconomico-isa/isatrimestral-2018>
- Sessa Jusid, L. (2016). *Enfermedades de cultivos frutales del Uruguay: Hongos endófitos, patógenos latentes y fitopatógenos* [Tesis de maestría, Universidad de la República del Uruguay]. Montevideo, Uruguay. <https://bit.ly/3bhd138>
- Stone, J. K., Bacon, C. W., & White, J. F. (2000). An overview of endophytic microbes: Endophytism defined. *Microbial endophytes*, 3, 29-33.
- Toghueo, R. M. K., Eke, P., Zabalgogezcoa, Í., de Aldana, B. R. V., Nana, L. W., & Boyom, F. (2016). Biocontrol and growth enhancement potential of two endophytic *Trichoderma* spp. From *Terminalia catappa* against the causative agent of Common Bean Root Rot (*Fusarium solani*). *Biological Control*, 96, 8-20. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.01.008>
- Vera Loor, M. A., Bernal Cabrera, A., Leiva Mora, M., Vera Loor, A. E. A., Vera Coello, D., Solís Hidalgo, K., Terrero Yépez, P., Jiménez Guerrero, V. E., & Peñaherrera Villafuerte, S. (2018). Microorganismos endófitos asociados a *Theobroma cacao* como agentes de control biológico de *Moniliophthora roreri*. *Centro Agrícola*, 45(3), 81-87.
- Viena-Bardales, J. F. (2015). *Control biológico de Verticillium dahliae patógeno de cacao (Theobroma cacao), con aislamientos de Trichoderma spp endófito* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de San Martín]. San Martín, Perú. <https://bit.ly/3bigj6p>
- Villegas-Arenas, M. A. (2008). *Trichoderma pers. Características generales y su potencial biológico en la agricultura sostenible*. [Comercial]. ORIUS-BIOTECH. <https://oriusbiotech.com/Trichoderma-pers-caracteristicas-generales-y-su-potencialbiologico-en-la-agricultura-sostenible/>

ANEXOS

Anexo 1

Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	INDICADORES	ÍNDICES	MÉTODOS
----------	-----------	-----------	-----------	-------------	---------	---------

Problema general	Objetivo general	Hipótesis general	Variable independiente	Tratamientos	fc.	Tipo de investigación:
¿Cuál es la capacidad endofítica de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. durante el establecimiento de vitroplantas de arándano (<i>Vaccinium corymbosum</i> L.) en cañete 2020?	Determinar la capacidad endofítica de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. durante el establecimiento de vitroplantas de arándano (<i>V. corymbosum</i> L.)	Existe al menos una combinación de Factor A: sp y métodos de inoculación que tiene mayor capacidad endofítica durante el establecimiento de vitroplantas de arándano (<i>V. corymbosum</i> L.)	cepa de <i>Trichoderma</i> Cepas de <i>Trichoderma</i> sp. capacidad endofítica Métodos de inoculación	Factor A: Volumen de 10 ⁷ cepas de <i>Trichoderma</i> tsp. + 1 testigo Factor B: 2 métodos de inoculación	1x10 ⁷ cm ⁻³ de sustrato B1. Inmersión de raíces con suspensión de esporas B2. Infestación con suspensión de esporas	En cuanto al enfoque de investigación es de tipo cuantitativo, porque se plantea en la investigación evaluar: colonización endofítica y el crecimiento de los hongos endófitos por efecto de la inoculación de cepas de <i>Trichoderma</i> en vitroplantas de arándano. Nivel de investigación El nivel de investigación es explicativo ya que se plantea explicar si las cepas de hongos endófitos y la interacción con los métodos de inoculación tienen efecto sobre la variable dependiente. Método y diseño de investigación: mediante el análisis de varianza en un diseño experimental de DCA con arreglo factorial de 11X2 y cuatro repeticiones por tratamiento
Problemas específicos P.E.1: ¿En qué medida las cepas de <i>Trichoderma</i> sp. colonizan vitroplantas de arándano (<i>V. corymbosum</i> L.) mediante dos métodos de inoculación? P.E.2: ¿Cuál es el efecto de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. en el crecimiento de vitroplantas de arándano (<i>V. corymbosum</i>) mediante dos métodos de inoculación?	Objetivos específicos O.E.1: Determinar la colonización endofítica de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. durante el establecimiento de vitroplantas de arándano (<i>V. corymbosum</i> L.) mediante dos métodos de inoculación. O.E.2: Determinar el efecto de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. en el crecimiento de vitroplantas de arándano (<i>V. corymbosum</i>) mediante dos métodos de inoculación.	Hipótesis específicas HE 1: Existe una cepa de <i>Trichoderma</i> sp que tiene capacidad de colonización endofítica significativa durante el establecimiento de vitroplantas de arándano (<i>V. corymbosum</i> L.) mediante dos métodos de inoculación. HE 2: Las cepas de los hongos endófitos de <i>Trichoderma</i> sp tendrán efecto en el crecimiento de vitroplantas de arándano (<i>V. corymbosum</i> L.) mediante dos métodos de inoculación.	Variable dependiente Crecimiento de Vitroplantas de arándano. Altura de planta, número de hojas, diámetro de tallos y longitud radicular Porcentaje de colonización de cepas de <i>Trichoderma</i> sp	Cm Nº hojas Cm Cm Índice Colonización (%)	de	

Fuente: Elaboración propia (2022)

Anexo 2.

Mapa de ubicación del Proyecto



Nota. Imagen tomada del Google Maps (2022).

Anexo 3

Registro de temperatura y humedad relativa en el vivero durante la conducción de la investigación.

AÑO/MES/DIA	SEMANA	TEMPERATURA (°c)			HUMEDAD (%)		
		MAÑANA (6:00 AM)	MEDIODIA (12:00 PM)	TARDE (6:00 PM)	MAÑANA (6:00 AM)	MEDIODIA (12:00 PM)	TARDE (6:00 PM)
1/03/2021	1	18	25	21	94	65	75
2/03/2021	1	19	26	22	91	64	78
3/03/2021	1	17	24	19	96	63	77
4/03/2021	1	17	25	19	95	68	72
5/03/2021	1	18	26	23	92	62	70
6/03/2021	1	19	24	21	95	68	71
7/03/2021	1	20	27	23	89	60	65
8/03/2021	2	21	26	22	89	61	66
9/03/2021	2	21	25	21	85	62	67
10/03/2021	2	19	26	22	86	64	69
11/03/2021	2	20	25	23	88	67	73
12/03/2021	2	19	24	21	85	71	76
13/03/2021	2	18	24	21	87	74	76
14/03/2021	2	19	26	22	89	66	71
15/03/2021	3	19	25	22	88	68	72
16/03/2021	3	20	24	21	88	65	73
17/03/2021	3	21	24	21	90	63	74
18/03/2021	3	19	25	20	87	62	72
19/03/2021	3	21	26	22	86	60	72
20/03/2021	3	22	24	20	92	65	69
21/03/2021	3	18	25	22	87	63	75

22/03/2021	4	21	25	21	88	62	76
23/03/2021	4	20	27	23	85	60	72
24/03/2021	4	20	25	21	92	64	77
25/03/2021	4	20	26	20	88	58	70
26/03/2021	4	21	27	23	87	59	72
27/03/2021	4	20	28	21	90	60	73
28/03/2021	4	21	27	22	89	65	71
29/03/2021	5	19	25	21	89	63	72

30/03/2021	5	19	26	23	88	62	70
31/03/2021	5	18	25	24	87	64	73
1/04/2021	5	17	25	22	90	62	70
2/04/2021	5	18	26	21	88	65	72
3/04/2021	5	19	27	22	87	64	71
4/04/2021	5	17	26	21	86	66	72
5/04/2021	6	18	25	22	85	67	73
6/04/2021	6	19	26	22	88	65	71
7/04/2021	6	19	24	21	88	64	72
8/04/2021	6	20	25	20	89	65	74
9/04/2021	6	21	26	22	84	66	75
10/04/2021	6	20	25	21	86	65	73
11/04/2021	6	17	24	20	87	65	72
12/04/2021	7	18	26	22	88	67	71
13/04/2021	7	18	25	23	88	65	71
14/04/2021	7	20	26	22	86	67	74
15/04/2021	7	21	24	23	86	68	75
16/04/2021	7	19	25	22	85	70	73
17/04/2021	7	20	24	20	87	67	74
18/04/2021	7	21	26	21	91	66	78
19/04/2021	8	20	25	20	88	65	77
20/04/2021	8	21	25	22	92	65	76
21/04/2021	8	19	26	21	93	65	75
22/04/2021	8	19	25	20	94	64	75
23/04/2021	8	18	25	23	93	65	75
24/04/2021	8	17	26	24	95	65	74

25/04/2021	8	17	24	23	95	68	76
26/04/2021	9	18	26	22	95	68	77
27/04/2021	9	17	25	23	96	65	77
28/04/2021	9	19	26	22	93	68	76
29/04/2021	9	20	25	24	92	67	72
30/04/2021	9	18	24	21	94	78	71
1/05/2021	9	17	24	19	95	75	84
2/05/2021	9	18	24	20	94	70	82
3/05/2021	10	18	23	21	97	72	78
4/05/2021	10	17	25	19	96	73	81
5/05/2021	10	18	26	20	97	75	81
6/05/2021	10	19	23	21	95	74	82
7/05/2021	10	18	24	22	94	74	79
8/05/2021	10	17	25	20	93	71	82
9/05/2021	10	18	25	21	96	72	83
10/05/2021	11	19	24	20	94	69	79
11/05/2021	11	20	23	19	95	73	81
12/05/2021	11	18	23	21	95	75	82
13/05/2021	11	18	22	20	94	74	81
14/05/2021	11	17	24	21	97	76	79
15/05/2021	11	18	25	22	94	74	78
16/05/2021	11	19	24	19	95	74	79
17/05/2021	12	19	24	20	96	75	80
18/05/2021	12	20	23	21	92	69	81
19/05/2021	12	17	24	20	93	68	82
20/05/2021	12	18	25	21	92	68	79
21/05/2021	12	18	26	20	95	65	80
22/05/2021	12	17	24	20	97	69	81
23/05/2021	12	18	24	21	95	70	82
24/05/2021	13	19	23	22	95	72	81
25/05/2021	13	20	24	23	94	71	82
26/05/2021	13	18	23	22	97	72	82
27/05/2021	13	19	23	21	95	73	82
28/05/2021	13	18	25	21	94	68	79
29/05/2021	13	19	26	20	95	65	82
30/05/2021	13	19	24	21	94	75	81
31/05/2021	14	18	25	22	93	71	78
1/06/2021	14	18	24	22	94	68	73
2/06/2021	14	19	25	20	95	70	75

3/06/2021	14	17	24	21	94	70	76
4/06/2021	14	18	26	22	93	71	74
5/06/2021	14	18	25	23	96	69	75
6/06/2021	14	19	24	22	95	68	78
7/06/2021	15	20	23	21	94	67	77
8/06/2021	15	17	25	21	93	68	74
9/06/2021	15	18	24	22	94	69	75
10/06/2021	15	20	24	23	95	71	75
11/06/2021	15	19	23	22	95	71	77
12/06/2021	15	17	25	21	96	70	74
13/06/2021	15	18	24	23	94	72	75
14/06/2021	16	18	25	22	95	68	75
15/06/2021	16	19	24	21	96	65	76
16/06/2021	16	19	24	21	93	67	74
17/06/2021	16	20	23	22	92	68	75
18/06/2021	16	18	24	21	94	67	74
19/06/2021	16	17	25	21	92	67	76
20/06/2021	16	19	24	22	93	68	77
21/06/2021	17	18	24	21	95	69	76

Nota: Los datos fueron registrados de un termohigrómetro que se instaló en el vivero.

Anexo 4

Evaluación de colonización de cepas de *Trichoderma sp.* en tejidos de vitroplantas de arándano (*Vaccinium corymbosum*) var. Biloxi a los 90 días después del trasplante mediante dos métodos de inoculación, desarrollado en el laboratorio de Sanidad Vegetal-UNDC, 2021

MÉTODO	CEPA	REPETICION	PLANTA	SECCIONES	Número de segmentos colonizados				Colonización (%)
					TALLO	HOJA	PUNTA RAIZ	RAIZ MEDIA	
M1	HE-1	R1	P1	1	0	0	0	0	0
M1	HE-1	R1	P1	2	1	0	0	0	25
M1	HE-1	R1	P1	3	0	0	0	0	0
M1	HE-1	R1	P2	1	0	0	0	0	0
M1	HE-1	R1	P2	2	0	0	0	0	0
M1	HE-1	R1	P2	3	0	0	1	0	25
M1	HE-1	R2	P1	1	0	0	0	0	0
M1	HE-1	R2	P1	2	0	0	0	0	0
M1	HE-1	R2	P1	3	0	0	1	0	25
M1	HE-1	R2	P2	1	0	0	0	0	0
M1	HE-1	R2	P2	2	0	0	0	0	0
M1	HE-1	R2	P2	3	0	0	0	1	25
M1	HE-1	R3	P1	1	0	0	0	0	0
M1	HE-1	R3	P1	2	0	0	0	0	0
M1	HE-1	R3	P1	3	0	0	0	1	25
M1	HE-1	R3	P2	1	0	0	0	0	0
M1	HE-1	R3	P2	2	0	0	0	0	0
M1	HE-1	R3	P2	3	0	0	0	0	0
M1	HE-3	R1	P1	1	0	0	0	0	0
M1	HE-3	R1	P1	2	0	0	0	0	0
M1	HE-3	R1	P1	3	0	0	1	0	25
M1	HE-3	R1	P2	1	0	0	0	0	0
M1	HE-3	R1	P2	2	0	0	1	1	50
M1	HE-3	R1	P2	3	0	0	0	0	0
M1	HE-3	R2	P1	1	0	0	0	0	0
M1	HE-3	R2	P1	2	0	0	1	0	25
M1	HE-3	R2	P1	3	0	0	0	0	0
M1	HE-3	R2	P2	1	0	0	1	1	50
M1	HE-3	R2	P2	2	0	0	0	1	25
M1	HE-3	R2	P2	3	0	0	0	0	0
M1	HE-3	R3	P1	1	0	0	1	0	25
M1	HE-3	R3	P1	2	0	0	1	0	25
M1	HE-3	R3	P1	3	0	0	0	0	0
M1	HE-3	R3	P2	1	1	0	0	1	50
M1	HE-3	R3	P2	2	1	0	0	0	25
M1	HE-3	R3	P2	3	1	0	0	0	25
M1	HE-4	R1	P1	1	0	0	1	1	50
M1	HE-4	R1	P1	2	0	0	0	0	0
M1	HE-4	R1	P1	3	0	0	0	0	0
M1	HE-4	R1	P2	1	0	0	0	1	25

M1	HE-4	R1	P2	2	1	0	0	0	25
M1	HE-4	R1	P2	3	0	0	0	0	0
M1	HE-4	R2	P1	1	0	0	1	1	50
M1	HE-4	R2	P1	2	0	0	0	1	25
M1	HE-4	R2	P1	3	0	0	0	1	25
M1	HE-4	R2	P2	1	0	0	0	1	25
M1	HE-4	R2	P2	2	0	0	0	0	0
M1	HE-4	R2	P2	3	0	0	1	1	50
M1	HE-4	R3	P1	1	0	0	0	1	25
M1	HE-4	R3	P1	2	0	0	0	0	0
M1	HE-4	R3	P1	3	0	0	0	0	0
M1	HE-4	R3	P2	1	0	0	0	0	0
M1	HE-4	R3	P2	2	0	0	1	0	25
M1	HE-4	R3	P2	3	0	0	0	0	0
M1	HE-6	R1	P1	1	0	0	0	0	0
M1	HE-6	R1	P1	2	0	0	0	1	25
M1	HE-6	R1	P1	3	0	0	0	0	0
M1	HE-6	R1	P2	1	0	0	0	0	0
M1	HE-6	R1	P2	2	0	0	1	0	25
M1	HE-6	R1	P2	3	0	0	0	1	25
M1	HE-6	R2	P1	1	0	0	1	0	25
M1	HE-6	R2	P1	2	0	0	0	0	0
M1	HE-6	R2	P1	3	0	0	0	0	0
M1	HE-6	R2	P2	1	0	0	0	0	0
M1	HE-6	R2	P2	2	0	0	1	0	25
M1	HE-6	R2	P2	3	0	0	0	0	0
M1	HE-6	R3	P1	1	0	0	0	1	25
M1	HE-6	R3	P1	2	0	0	0	1	25
M1	HE-6	R3	P1	3	0	0	0	0	0
M1	HE-6	R3	P2	1	0	0	1	0	25
M1	HE-6	R3	P2	2	0	0	1	0	25
M1	HE-6	R3	P2	3	1	0	0	1	50
M1	HE-91	R1	P1	1	0	0	0	0	0
M1	HE-91	R1	P1	2	0	0	0	1	25
M1	HE-91	R1	P1	3	0	0	0	0	0
M1	HE-91	R1	P2	1	1	0	0	0	25
M1	HE-91	R1	P2	2	0	0	1	1	50
M1	HE-91	R1	P2	3	0	0	0	0	0
M1	HE-91	R2	P1	1	0	0	1	0	25
M1	HE-91	R2	P1	2	0	0	0	0	0
M1	HE-91	R2	P1	3	0	0	0	0	0
M1	HE-91	R2	P2	1	0	0	0	0	0
M1	HE-91	R2	P2	2	0	0	0	0	0
M1	HE-91	R2	P2	3	0	0	1	0	25
M1	HE-91	R3	P1	1	0	0	0	0	0
M1	HE-91	R3	P1	2	0	0	1	0	25
M1	HE-91	R3	P1	3	0	0	1	0	25

M1	HE-91	R3	P2	1	0	0	1	1	50
M1	HE-91	R3	P2	2	0	0	0	1	25
M1	HE-91	R3	P2	3	0	0	0	1	25
M1	HE-92	R1	P1	1	0	0	0	1	25
M1	HE-92	R1	P1	2	0	0	0	0	0
M1	HE-92	R1	P1	3	0	0	0	1	25
M1	HE-92	R1	P2	1	0	0	1	0	25
M1	HE-92	R1	P2	2	0	0	0	1	25
M1	HE-92	R1	P2	3	0	0	0	0	0
M1	HE-92	R2	P1	1	0	0	0	1	25
M1	HE-92	R2	P1	2	0	0	0	0	0
M1	HE-92	R2	P1	3	0	0	0	0	0
M1	HE-92	R2	P2	1	0	0	0	0	0
M1	HE-92	R2	P2	2	0	0	0	1	25
M1	HE-92	R2	P2	3	0	0	0	0	0
M1	HE-92	R3	P1	1	0	0	0	0	0
M1	HE-92	R3	P1	2	0	0	0	1	25
M1	HE-92	R3	P1	3	0	0	0	0	0
M1	HE-92	R3	P2	1	1	0	0	0	25
M1	HE-92	R3	P2	2	0	0	0	1	25
M1	HE-92	R3	P2	3	0	0	0	0	0
M1	HE-93	R1	P1	1	0	0	0	0	0
M1	HE-93	R1	P1	2	0	0	0	0	0
M1	HE-93	R1	P1	3	0	0	1	0	25
M1	HE-93	R1	P2	1	1	0	0	0	25
M1	HE-93	R1	P2	2	0	1	0	0	25
M1	HE-93	R1	P2	3	0	0	0	1	25
M1	HE-93	R2	P1	1	0	0	0	1	25
M1	HE-93	R2	P1	2	0	0	0	0	0
M1	HE-93	R2	P1	3	0	0	0	0	0
M1	HE-93	R2	P2	1	0	0	0	0	0
M1	HE-93	R2	P2	2	0	0	0	0	0
M1	HE-93	R2	P2	3	1	0	0	1	50
M1	HE-93	R3	P1	1	0	0	0	0	0
M1	HE-93	R3	P1	2	0	0	1	0	25
M1	HE-93	R3	P1	3	0	0	0	1	25
M1	HE-93	R3	P2	1	0	0	0	0	0
M1	HE-93	R3	P2	2	0	0	0	1	25
M1	HE-93	R3	P2	3	0	0	1	0	25
M1	HE-94	R1	P1	1	0	0	0		0
M1	HE-94	R1	P1	2	0	0	1	0	25
M1	HE-94	R1	P1	3	0	0	0	0	0
M1	HE-94	R1	P2	1	0	0	0	0	0
M1	HE-94	R1	P2	2	0	0	0	0	0
M1	HE-94	R1	P2	3	0	0	0	0	0
M1	HE-94	R2	P1	1	0	0	0	0	0
M1	HE-94	R2	P1	2	0	0	1	0	25
M1	HE-94	R2	P1	3	1	0	0	0	25

M1	HE-94	R2	P2	1	0	1	0	0	25
M1	HE-94	R2	P2	2	0	1	0	0	25
M1	HE-94	R2	P2	3	0	0	0	0	0
M1	HE-94	R3	P1	1	0	0	0	0	0
M1	HE-94	R3	P1	2	0	0	0	0	0
M1	HE-94	R3	P1	3	0	0	0	0	0
M1	HE-94	R3	P2	1	0	0	0	0	0
M1	HE-94	R3	P2	2	0	0	0	0	0
M1	HE-94	R3	P2	3	0	0	0	0	0
M1	HE-118	R1	P1	1	0	0	0	1	25
M1	HE-118	R1	P1	2	0	0	1	0	25
M1	HE-118	R1	P1	3	1	0	0	1	50
M1	HE-118	R1	P2	1	0	0	0	0	0
M1	HE-118	R1	P2	2	0	0	0	0	0
M1	HE-118	R1	P2	3	0	0	0	1	25
M1	HE-118	R2	P1	1	0	0	1	0	25
M1	HE-118	R2	P1	2	0	0	1	0	25
M1	HE-118	R2	P1	3	0	0	0	1	25
M1	HE-118	R2	P2	1	0	0	0	0	0
M1	HE-118	R2	P2	2	0	0	1	0	25
M1	HE-118	R2	P2	3	0	0	0	1	25
M1	HE-118	R3	P1	1	0	0	0	0	0
M1	HE-118	R3	P1	2	0	0	1	0	25
M1	HE-118	R3	P1	3	0	0	0	1	25
M1	HE-118	R3	P2	1	0	0	1	0	25
M1	HE-118	R3	P2	2	0	0	0	1	25
M1	HE-118	R3	P2	3	0	0	0	1	25
M1	HE-161	R1	P1	1	0	0	1	1	50
M1	HE-161	R1	P1	2	0	0	1	1	50
M1	HE-161	R1	P1	3	0	0	1	1	50
M1	HE-161	R1	P2	1	0	0	0	1	25
M1	HE-161	R1	P2	2	0	0	1	0	25
M1	HE-161	R1	P2	3	0	0	0	0	0
M1	HE-161	R2	P1	1	0	0	0	0	0
M1	HE-161	R2	P1	2	0	0	1	0	25
M1	HE-161	R2	P1	3	0	0	1	0	25
M1	HE-161	R2	P2	1	0	0	1	1	50
M1	HE-161	R2	P2	2	0	0	1	1	50
M1	HE-161	R2	P2	3	0	0	1	1	50
M1	HE-161	R3	P1	1	0	0	0	0	0
M1	HE-161	R3	P1	2	0	0	0	0	0
M1	HE-161	R3	P1	3	1	0	0	0	25
M1	HE-161	R3	P2	1	0	0	0	1	25

M1	HE-161	R3	P2	2	0	0	0	0	0
M1	HE-161	R3	P2	3	0	0	1	0	25
M1	Testigo	R1	P1	1	0	0	0	0	0

M1	Testigo	R1	P1	2	0	0	0	0	0
M1	Testigo	R1	P1	3	0	0	0	0	0
M1	Testigo	R1	P2	1	0	0	0	0	0
M1	Testigo	R1	P2	2	0	0	0	0	0
M1	Testigo	R1	P2	3	0	0	0	0	0
M1	Testigo	R2	P1	1	0	0	0	0	0
M1	Testigo	R2	P1	2	0	0	0	0	0
M1	Testigo	R2	P1	3	0	0	0	0	0
M1	Testigo	R2	P2	1	0	0	0	0	0
M1	Testigo	R2	P2	2	0	0	0	0	0
M1	Testigo	R2	P2	3	0	0	0	0	0
M1	Testigo	R3	P1	1	0	0	0	0	0
M1	Testigo	R3	P1	2	0	0	0	0	0
M1	Testigo	R3	P1	3	0	0	0	0	0
M1	Testigo	R3	P2	1	0	0	0	0	0
M1	Testigo	R3	P2	2	0	0	0	0	0
M1	Testigo	R3	P2	3	0	0	0	0	0
M2	HE-1	R1	P1	1	0	0	0	0	0
M2	HE-1	R1	P1	2	0	0	0	0	0
M2	HE-1	R1	P1	3	0	0	0	0	0
M2	HE-1	R1	P2	1	0	0	0	0	0
M2	HE-1	R1	P2	2	0	0	1	0	25
M2	HE-1	R1	P2	3	0	0	0	0	0
M2	HE-1	R2	P1	1	0	0	1	0	25
M2	HE-1	R2	P1	2	0	0	0	0	0
M2	HE-1	R2	P1	3	0	0	0	0	0
M2	HE-1	R2	P2	1	0	0	0	0	0
M2	HE-1	R2	P2	2	0	0	1	0	25
M2	HE-1	R2	P2	3	0	0	0	0	0
M2	HE-1	R3	P1	1	0	0	1	0	25
M2	HE-1	R3	P1	2	0	0	0	0	0
M2	HE-1	R3	P1	3	0	0	0	0	0
M2	HE-1	R3	P2	1	0	0	0	1	25
M2	HE-1	R3	P2	2	0	0	0	0	0
M2	HE-1	R3	P2	3	0	0	1	0	25
M2	HE-3	R1	P1	1	0	0	0	0	0
M2	HE-3	R1	P1	2	0	0	0	1	25
M2	HE-3	R1	P1	3	0	0	0	0	0
M2	HE-3	R1	P2	1	0	0	0	1	25
M2	HE-3	R1	P2	2	0	0	0	1	25
M2	HE-3	R1	P2	3	0	0	0	0	0
M2	HE-3	R2	P1	1	0	0	0	0	0
M2	HE-3	R2	P1	2	0	0	1	0	25
M2	HE-3	R2	P1	3	0	0	0	0	0
M2	HE-3	R2	P2	1	0	0	1	0	25

M2	HE-3	R2	P2	2	0	0	0	0	0
----	------	----	----	---	---	---	---	---	---

M2	HE-3	R2	P2	3	0	0	1	0	25
M2	HE-3	R3	P1	1	0	0	1	0	25
M2	HE-3	R3	P1	2	0	0	0	0	0
M2	HE-3	R3	P1	3	0	0	0	0	0
M2	HE-3	R3	P2	1	0	0	0	0	0
M2	HE-3	R3	P2	2	0	0	1	1	50
M2	HE-3	R3	P2	3	0	0	0	0	0
M2	HE-4	R1	P1	1	0	0	0	0	0
M2	HE-4	R1	P1	2	1	0	0	0	25
M2	HE-4	R1	P1	3	0	0	1	1	50
M2	HE-4	R1	P2	1	0	0	1	0	25
M2	HE-4	R1	P2	2	0	0	0	0	0
M2	HE-4	R1	P2	3	1	0	0	1	50
M2	HE-4	R2	P1	1	0	0	1	1	50
M2	HE-4	R2	P1	2	0	0	0	1	25
M2	HE-4	R2	P1	3	0	0	0	0	0
M2	HE-4	R2	P2	1	0	0	0	1	25
M2	HE-4	R2	P2	2	1	0	0	1	50
M2	HE-4	R2	P2	3	0	0	0	0	0
M2	HE-4	R3	P1	1	1	0	1	0	50
M2	HE-4	R3	P1	2	0	0	0	0	0
M2	HE-4	R3	P1	3	0	0	0	1	25
M2	HE-4	R3	P2	1	1	0	0	0	25
M2	HE-4	R3	P2	2	0	0	1	0	25
M2	HE-4	R3	P2	3	0	0	0	1	25
M2	HE-6	R1	P1	1	0	0	0	0	0
M2	HE-6	R1	P1	2	0	0	1	1	50
M2	HE-6	R1	P1	3	0	0	0	0	0
M2	HE-6	R1	P2	1	0	0	1	0	25
M2	HE-6	R1	P2	2	0	0	0	0	0
M2	HE-6	R1	P2	3	0	0	0	0	0
M2	HE-6	R2	P1	1	0	0	0	0	0
M2	HE-6	R2	P1	2	0	1	0	0	25
M2	HE-6	R2	P1	3	0	0	1	0	25
M2	HE-6	R2	P2	1	0	0	0	0	0
M2	HE-6	R2	P2	2	0	0	0	1	25
M2	HE-6	R2	P2	3	0	0	0	0	0
M2	HE-6	R3	P1	1	0	0	1	0	25
M2	HE-6	R3	P1	2	0	0	0	1	25
M2	HE-6	R3	P1	3	1	0	0	1	50
M2	HE-6	R3	P2	1	0	0	0	1	25
M2	HE-6	R3	P2	2	0	0	0	0	0
M2	HE-6	R3	P2	3	0	0	0	0	0
M2	HE-91	R1	P1	1	0	0	0	0	0
M2	HE-91	R1	P1	2	0	0	1	0	25
M2	HE-91	R1	P1	3	0	0	0	0	0
M2	HE-91	R1	P2	1	0	0	0	1	25

M2	HE-91	R1	P2	2	0	0	0	1	25
M2	HE-91	R1	P2	3	0	0	0	0	0
M2	HE-91	R2	P1	1	0	0	1	1	50
M2	HE-91	R2	P1	2	0	0	0	0	0
M2	HE-91	R2	P1	3	0	0	1	1	50
M2	HE-91	R2	P2	1	0	0	0	0	0
M2	HE-91	R2	P2	2	0	0	1	0	25
M2	HE-91	R2	P2	3	0	0	0	0	0
M2	HE-91	R3	P1	1	1	0	1	0	50
M2	HE-91	R3	P1	2	0	0	0	0	0
M2	HE-91	R3	P1	3	0	0	0	0	0
M2	HE-91	R3	P2	1	0	0	1	1	50
M2	HE-91	R3	P2	2	0	0	1	1	50
M2	HE-91	R3	P2	3	0	0	0	1	25
M2	HE-92	R1	P1	1	0	0	0	0	0
M2	HE-92	R1	P1	2	0	0	0	0	0
M2	HE-92	R1	P1	3	0	0	0	1	25
M2	HE-92	R1	P2	1	0	0	0	0	0
M2	HE-92	R1	P2	2	0	0	0	0	0
M2	HE-92	R1	P2	3	0	0	0	0	0
M2	HE-92	R2	P1	1	0	0	0	0	0
M2	HE-92	R2	P1	2	0	0	0	1	25
M2	HE-92	R2	P1	3	0	0	0	1	25
M2	HE-92	R2	P2	1	0	0	0	0	0
M2	HE-92	R2	P2	2	0	0	0	0	0
M2	HE-92	R2	P2	3	0	1	1	1	75
M2	HE-92	R3	P1	1	0	0	0	1	25
M2	HE-92	R3	P1	2	0	0	1	1	50
M2	HE-92	R3	P1	3	0	0	0	0	0
M2	HE-92	R3	P2	1	0	0	1	0	25
M2	HE-92	R3	P2	2	0	0	0	0	0
M2	HE-92	R3	P2	3	1	0	0	0	25
M2	HE-93	R1	P1	1	0	0	0	1	25
M2	HE-93	R1	P1	2	0	0	0	0	0
M2	HE-93	R1	P1	3	0	0	0	0	0
M2	HE-93	R1	P2	1	0	0	0	0	0
M2	HE-93	R1	P2	2	0	0	0	0	0
M2	HE-93	R1	P2	3	0	0	0	0	0
M2	HE-93	R2	P1	1	0	0	0	0	0
M2	HE-93	R2	P1	2	0	0	1	1	50
M2	HE-93	R2	P1	3	0	0	0	0	0
M2	HE-93	R2	P2	1	0	0	1	0	25
M2	HE-93	R2	P2	2	0	1	0	0	25
M2	HE-93	R2	P2	3	0	0	1	1	50
M2	HE-93	R3	P1	1	0	0	0	1	25
M2	HE-93	R3	P1	2	0	0	1	1	50
M2	HE-93	R3	P1	3	0	0	1	0	25

M2	HE-93	R3	P2	1	0	0	1	0	25
M2	HE-93	R3	P2	2	0	0	0	0	0
M2	HE-93	R3	P2	3	0	0	0	0	0
M2	HE-94	R1	P1	1	1	0	0	0	25
M2	HE-94	R1	P1	2	0	0	0	0	0
M2	HE-94	R1	P1	3	0	0	0	0	0
M2	HE-94	R1	P2	1	0	0	0	0	0
M2	HE-94	R1	P2	2	0	0	1	0	25
M2	HE-94	R1	P2	3	0	0	0	0	0
M2	HE-94	R2	P1	1	0	0	0	0	0
M2	HE-94	R2	P1	2	0	0	0	0	0
M2	HE-94	R2	P1	3	0	0	0	0	0
M2	HE-94	R2	P2	1	0	0	0	0	0
M2	HE-94	R2	P2	2	0	0	0	0	0
M2	HE-94	R2	P2	3	0	0	0	0	0
M2	HE-94	R3	P1	1	0	0	0	0	0
M2	HE-94	R3	P1	2	0	0	1	0	25
M2	HE-94	R3	P1	3	0	0	0	0	0
M2	HE-94	R3	P2	1	0	0	0	0	0
M2	HE-94	R3	P2	2	0	0	0	0	0
M2	HE-94	R3	P2	3	0	0	0	0	0
M2	HE-118	R1	P1	1	0	0	0	0	0
M2	HE-118	R1	P1	2	0	0	0	0	0
M2	HE-118	R1	P1	3	0	0	0	0	0
M2	HE-118	R1	P2	1	0	0	0	0	0
M2	HE-118	R1	P2	2	0	0	0	0	0
M2	HE-118	R1	P2	3	0	0	0	0	0
M2	HE-118	R2	P1	1	0	0	0	0	0
M2	HE-118	R2	P1	2	0	0	0	0	0
M2	HE-118	R2	P1	3	0	0	0	0	0
M2	HE-118	R2	P2	1	0	0	1	0	25
M2	HE-118	R2	P2	2	0	0	1	0	25
M2	HE-118	R2	P2	3	0	0	0	0	0
M2	HE-118	R3	P1	1	0	0	0	1	25
M2	HE-118	R3	P1	2	0	0	0	0	0
M2	HE-118	R3	P1	3	0	0	0	0	0
M2	HE-118	R3	P2	1	0	0	1	0	25
M2	HE-118	R3	P2	2	0	0	1	0	25
M2	HE-118	R3	P2	3	0	0	0	0	0
M2	HE-161	R1	P1	1	0	0	0	1	25
M2	HE-161	R1	P1	2	0	0	0	0	0
M2	HE-161	R1	P1	3	0	0	0	0	0
M2	HE-161	R1	P2	1	0	0	1	1	50
M2	HE-161	R1	P2	2	0	0	0	0	0
M2	HE-161	R1	P2	3	0	0	0	0	0
M2	HE-161	R2	P1	1	0	0	0	0	0
M2	HE-161	R2	P1	2	0	0	0	0	0
M2	HE-161	R2	P1	3	0	0	0	1	25

M2	HE-161	R2	P2	1	0	0	0	0	0
M2	HE-161	R2	P2	2	0	0	0	0	0
M2	HE-161	R2	P2	3	0	0	0	0	0
M2	HE-161	R3	P1	1	0	0	0	0	0
M2	HE-161	R3	P1	2	0	0	0	1	25
M2	HE-161	R3	P1	3	0	0	0	1	25
M2	HE-161	R3	P2	1	0	0	0	1	25
M2	HE-161	R3	P2	2	0	0	0	1	25
M2	HE-161	R3	P2	3	0	0	0	0	0
M2	Testigo	R1	P1	1	0	0	0	0	0
M2	Testigo	R1	P1	2	0	0	0	0	0
M2	Testigo	R1	P1	3	0	0	0	0	0
M2	Testigo	R1	P2	1	0	0	0	0	0
M2	Testigo	R1	P2	2	0	0	0	0	0
M2	Testigo	R1	P2	3	0	0	0	0	0
M2	Testigo	R2	P1	1	0	0	0	0	0
M2	Testigo	R2	P1	2	0	0	0	0	0
M2	Testigo	R2	P1	3	0	0	0	0	0
M2	Testigo	R2	P2	1	0	0	0	0	0
M2	Testigo	R2	P2	2	0	0	0	0	0
M2	Testigo	R2	P2	3	0	0	0	0	0
M2	Testigo	R3	P1	1	0	0	0	0	0
M2	Testigo	R3	P1	2	0	0	0	0	0
M2	Testigo	R3	P1	3	0	0	0	0	0
M2	Testigo	R3	P2	1	0	0	0	0	0
M2	Testigo	R3	P2	2	0	0	0	0	0
M2	Testigo	R3	P2	3	0	0	0	0	0

Nota. Método 1. Inmersión de raíces con suspensión de esporas. Método 2: Infestación al sustrato por suspensión de esporas

Anexo 5

Evaluación de variables de crecimiento de plántulas de arándano (*Vaccinium corymbosum*) var. Biloxi tratadas con cepas de *Trichoderma* sp mediante dos métodos de inoculación a los 120 días después del trasplante a nivel de vivero de la UNDC – Sede CNI, 2021

MÉTODO	CEPA	REPETICIÓN (g.)	Altura planta (cm)	Número hojas unidades	Diámetro de tallo (mm)	Número de brotes unidades	Biomasa hojas		Biomasa raíz	
							Fresca	Seca	Fresca	Seca
							M1	HE-1	R1	13.27
M1	HE-1	R2	16	23.33	1.78	2.33	0.81	0.22	0.25	0.19
M1	HE-1	R3	16.7	28.67	1.81	3	1.51	0.39	0.5	0.07
M1	HE-1	R4	17.67	21.33	1.88	2.67	0.91	0.24	0.36	0.05
M1	HE-3	R1	13.73	24	1.82	2	0.59	0.16	0.14	0.11
M1	HE-3	R2	14.8	26	1.82	3.33	0.61	0.16	0.14	0.03
M1	HE-3	R3	13.6	22	1.79	2.67	0.55	0.13	0.17	0.03
M1	HE-3	R4	13.9	25.67	1.88	3	0.64	0.13	0.22	0.04
M1	HE-4	R1	18.07	27	1.85	3.33	0.6	0.18	0.3	0.05
M1	HE-4	R2	18.53	28	1.95	2.33	1.65	0.48	0.71	0.1
M1	HE-4	R3	17.53	26	2.02	3.33	1.12	0.23	0.42	0.42
M1	HE-4	R4	15.17	24.33	2.01	3.33	0.58	0.16	0.27	0.04
M1	HE-6	R1	14.1	25	1.99	2.67	0.58	0.15	0.18	0.03
M1	HE-6	R2	14.5	25.67	2.01	3.67	0.93	0.2	0.34	0.05
M1	HE-6	R3	16.6	24.33	1.95	2	0.89	0.28	0.7	0.07
M1	HE-6	R4	16.63	24.33	1.95	3	0.95	0.25	0.27	0.04
M1	HE-91	R1	16.77	27.67	1.9	3.33	0.75	0.19	0.2	0.03
M1	HE-91	R2	15.9	28.67	1.95	2.67	1.43	0.37	0.44	0.06
M1	HE-91	R3	15.5	30	1.94	2.67	0.74	0.18	0.24	0.03
M1	HE-91	R4	15.63	26.33	2.04	3	0.89	0.18	0.44	0.05
M1	HE-92	R1	18.17	21.33	1.99	2.33	0.63	0.16	0.19	0.03
M1	HE-92	R2	15.3	21.33	1.98	3	0.56	0.15	0.18	0.03
M1	HE-92	R3	16.33	24	2.01	2.67	0.6	0.08	0.21	0.04
M1	HE-92	R4	18.33	29.33	2.01	3	0.95	0.26	0.39	0.05
M1	HE-93	R1	15.2	27.67	1.99	2.67	1.305	0.275	0.35	0.05
M1	HE-93	R2	18.03	28.33	1.99	2.67	1.65	0.35	0.27	0.27
M1	HE-93	R3	17.1	30.33	1.97	3	0.96	0.2	0.39	0.05
M1	HE-93	R4	16.03	26	2.04	2.67	0.79	0.3	0.45	0.07
M1	HE-94	R1	17.47	31.67	2.08	3	1.66	0.51	0.61	0.09
M1	HE-94	R2	14.87	29.67	1.97	2	0.79	0.21	0.3	0.04

M1	HE-94	R3	19.23	29.67	2.06	2.67	1.51	0.36	0.78	0.11
M1	HE-94	R4	17.73	31	2.07	2.67	1.45	0.4	0.47	0.07
M1	HE-118	R1	13.37	26.67	2.06	2	0.46	0.14	0.19	0.03
M1	HE-118	R2	15.37	27.33	2.02	2.67	0.88	0.18	0.3	0.05
M1	HE-118	R3	15.17	27	2.06	2.67	0.67	0.18	0.28	0.03
M1	HE-118	R4	19.27	28.67	2.01	2.67	0.96	0.27	0.36	0.04
M1	HE-161	R1	16.07	29.33	2.01	2	0.93	0.25	0.22	0.04
M1	HE-161	R2	14.7	26.33	2.09	3	0.74	0.13	0.76	0.11
M1	HE-161	R3	12.4	25.33	2	2.33	0.79	0.21	0.34	0.05
M1	HE-161	R4	17.87	28	2.03	2.67	1.17	0.33	0.29	0.05
M1	TESTIGO	R1	10.77	20.67	2.07	2.67	0.78	0.21	0.29	0.04
M1	TESTIGO	R2	10.73	22.33	2.07	2.67	0.86	0.2	0.29	0.05
M1	TESTIGO	R3	11	24	2.08	2.67	0.78	0.14	0.32	0.05
M1	TESTIGO	R4	11.47	22	2	2.33	1.01	0.28	0.39	0.06
M2	HE-1	R1	17.5	28.67	2.04	2.33	1.34	0.26	0.36	0.06
M2	HE-1	R2	14.03	26.67	2.16	2.67	0.79	0.19	0.13	0.03
M2	HE-1	R3	17.37	29.33	1.98	2.67	0.85	0.22	0.14	0.02
M2	HE-1	R4	15.7	28.67	1.96	2	0.78	0.18	0.24	0.04
M2	HE-3	R1	16.5	29.67	2.01	2.67	1.01	0.25	0.29	0.05
M2	HE-3	R2	17.53	24.67	2.11	2	0.91	0.17	0.29	0.05
M2	HE-3	R3	15.13	24	2.06	2	0.72	0.18	0.19	0.03
M2	HE-3	R4	15.23	25	2.01	3	0.66	0.17	0.18	0.03
M2	HE-4	R1	18.67	27	1.96	2	0.78	0.14	0.33	0.05
M2	HE-4	R2	19.63	29.33	1.96	2.67	1.29	0.31	0.24	0.04
M2	HE-4	R3	20.47	31.67	2	2.67	1.53	0.4	0.55	0.05
M2	HE-4	R4	22.87	26.67	1.97	2.33	2.03	0.49	0.58	0.09
M2	HE-6	R1	17.43	26.67	2.03	3.33	1.14	0.16	0.38	0.06
M2	HE-6	R2	17.5	28.67	1.92	3	0.78	0.19	0.27	0.05
M2	HE-6	R3	17.53	31	1.96	2.33	1.15	0.28	0.53	0.07
M2	HE-6	R4	19.17	32.67	1.92	3.67	1.37	0.32	0.43	0.06
M2	HE-91	R1	18.3	29.67	1.96	3	1.02	0.24	0.22	0.04
M2	HE-91	R2	17	29	1.95	3	1.28	0.3	0.36	0.05
M2	HE-91	R3	20.07	31	2.02	3	1.8	0.38	0.58	0.09
M2	HE-91	R4	21	29.33	2.11	2.67	1.74	0.44	0.76	0.1
M2	HE-92	R1	17.87	28	2.15	2.33	1.18	0.26	0.25	0.04
M2	HE-92	R2	17.07	35	2.14	2.67	1.06	0.24	0.37	0.06
M2	HE-92	R3	19	28.67	2.14	3	1.12	0.21	0.5	0.08
M2	HE-92	R4	19.47	32	2.15	3	1.02	0.27	0.26	0.04
M2	HE-93	R1	18.33	31	2.45	2.67	1.13	0.28	0.48	0.07
M2	HE-93	R2	17.7	33	2.16	2.67	1.46	0.38	0.56	0.09
M2	HE-93	R3	17.5	29.67	2.16	2.33	1.295	0.33	0.29	0.05
M2	HE-93	R4	18.73	32.33	2.06	2.67	1.04	0.22	0.33	0.05
M2	HE-94	R1	17.53	28.67	2.07	2.67	1.29	0.33	0.25	0.05
M2	HE-94	R2	20.87	29.67	2.21	2.33	1.77	0.48	0.69	0.1
M2	HE-94	R3	21.83	29	2.12	2.67	2.1	0.5	0.83	0.12

M2	HE-94	R4	16.37	25	2.02	2	0.64	0.17	0.17	0.03
M2	HE-118	R1	19.07	30	2.1	3	1.04	0.21	0.33	0.05
M2	HE-118	R2	19.43	30.67	2.16	2.67	0.87	0.23	0.21	0.04
M2	HE-118	R3	18.87	33.33	2.09	3.33	0.99	0.24	0.54	0.07
M2	HE-118	R4	17.6	29	2.01	3	1.2	0.31	0.33	0.05
M2	HE-161	R1	20.73	32.33	2.03	2.67	1.01	0.21	0.35	0.06
M2	HE-161	R2	20.2	30	2.03	2.67	0.86	0.23	0.44	0.08
M2	HE-161	R3	17.97	31	2.01	3.33	0.79	0.2	0.22	0.04
M2	HE-161	R4	15.7	29.67	2.01	2.33	0.76	0.21	0.35	0.06
M2	TESTIGO	R1	10.87	23	1.93	3.33	0.85	0.23	0.26	0.29
M2	TESTIGO	R2	12.57	21.67	2	2.67	1.51	0.41	0.71	0.08
M2	TESTIGO	R3	12.1	22.67	1.99	2.33	0.9	0.15	0.26	0.05
M2	TESTIGO	R4	11.67	23	2.04	2.33	0.93	0.23	0.37	0.06

Nota. Método 1. Inmersión de raíces con suspensión de esporas. Método 2: Infestación al sustrato por suspensión de esporas.

Anexo 6

Análisis de varianza del porcentaje de colonización de cepas de *Trichoderma sp.* en vitroplantas de arándano (*Vaccinium corymbosum*) var. Biloxi, realizada en el laboratorio de Sanidad Vegetal, 2021.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3453.13	21	164.43	3.52	0.0002
MÉTODO	103.13	1	103.13	2.21	0.1443
CEPA	2639.58	10	263.96	5.65	<0.0001
MÉTODO*CEPA	710.42	10	71.04	1.52	0.1639
Error	2054.17	44	46.69		
Total	5507.29	65			

Anexo 7

Análisis de varianza de la altura de planta (cm) de vitroplantas de arándano (*Vaccinium corymbosum*) var. Biloxi tratadas con cepas de *Trichoderma sp.* mediante dos métodos de inoculación en el vivero de la UNDC sede CNI, 2021.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	441.76	21	21.04	8.78	<0.0001
CEPA	325.95	10	32.59	13.61	<0.0001
MÉTODO	94.31	1	94.31	39.37	<0.0001
CEPA*MÉTODO	21.5	10	2.15	0.9	0.5405

Error	158.12	66	2.4
Total	599.88	87	

Anexo 8

Análisis de varianza del número de hojas (unidades) de vitroplantas de arándano (*Vaccinium corymbosum*) var. Biloxi tratadas con cepas de *Trichoderma sp* mediante dos métodos de inoculación en el vivero de la UNDC sede CNI, 2021.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	677.44	21	32.26	8.12	<0.0001
CEPA	390.76	10	39.08	9.84	<0.0001
MÈTODO	161.98	1	161.98	40.78	<0.0001
CEPA*MÈTODO	124.7	10	12.47	3.14	0.0024
Error	262.13	66	3.97		
Total	939.56	87			

Anexo 9

Análisis de varianza del diámetro de tallo (mm) de vitroplantas de arándano (*Vaccinium corymbosum*) var. Biloxi tratadas con cepas de *Trichoderma sp* mediante dos métodos de inoculación en el vivero de la UNDC sede CNI, 2021

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	0.63	21	0.03	8.2	<0.0001
CEPA	0.29	10	0.03	7.84	<0.0001
MÈTODO	0.14	1	0.14	37.67	<0.0001
CEPA*MÈTODO	0.21	10	0.02	5.62	<0.0001
Error	0.24	66	3.70E-03		
Total	0.88	87			

Anexo 10

Análisis de varianza de número de brotes (unidades) de vitroplantas de arándano (*Vaccinium corymbosum*) var. Biloxi tratadas con cepas de *Trichoderma sp* mediante dos métodos de inoculación en el vivero de la UNDC sede CNI, 2021.

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
------	----	----	----	---	---------

Modelo	0.35	21	0.02	1.14	0.3317
CEPA	0.16	10	0.02	1.12	0.3591
MÉTODO	3.00E-03	1	3.00E-03	0.2	0.6522
CEPA *MÉTODO	0.18	10	0.02	1.25	0.2754
Error	0.97	66	0.01		
Total	1.32	87			

Anexo 11

Análisis de varianza de biomasa fresca aérea (g) de vitroplantas de arándano (*Vaccinium corymbosum*) var. Biloxi tratadas con cepas de *Trichoderma sp* mediante dos métodos de inoculación en el vivero de la UNDC sede CNI, 2021

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>Gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	4.7	21	0.22	2.14	0.0102
CEPA	2.97	10	0.3	2.84	0.0054
MÉTODO	1.07	1	1.07	10.26	0.0021
CEPA*MÉTODO	0.66	10	0.07	0.63	0.7833
Error	6.91	66	0.1		
Total	11.61	87			

Anexo 12

Análisis de varianza de biomasa seca aérea (g) de vitroplantas de arándano (*Vaccinium corymbosum*) var. Biloxi tratadas con cepas de *Trichoderma sp* mediante dos métodos de inoculación en el vivero de la UNDC sede CNI, 2021

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	0.3	21	0.01	1.7	0.0543
CEPA	0.24	10	0.02	2.76	0.0066
MÉTODO	0.03	1	0.03	3.04	0.0859
CEPA*MÉTODO	0.04	10	4.20E-03	0.5	0.8859
Error	0.56	66	0.01		
Total	0.87	87			

Anexo 13

Análisis de varianza de biomasa fresca radicular (g) de vitroplantas de arándano (*Vaccinium corymbosum*) var. Biloxi tratadas con cepas de *Trichoderma sp* mediante dos métodos de inoculación en el vivero de la UNDC sede CNI, 2021.

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	0.7	21	0.03	1.29	0.2123
CEPA	0.55	10	0.06	2.14	0.0331
MÉTODO	0.02	1	0.02	0.68	0.413

CEPA*MÈTODO	0.13	10	0.01	0.51	0.8784
Error	1.7	66	0.03		
Total	2.4	87			

Anexo 14.

Análisis de varianza de biomasa seca radicular (g) de vitroplantas de arándano (*Vaccinium corymbosum*) var. Biloxi tratadas con cepas de *Trichoderma sp* mediante dos métodos de inoculación en el vivero de la UNDC sede CNI, 2021.

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	0.07	21	3.40E-03	1.05	0.42
CEPA	0.03	10	3.20E-03	0.98	0.4688
MÈTODO	7.10E-04	1	7.10E-04	0.22	0.6407
CEPA*MÈTODO	0.04	10	3.90E-03	1.2	0.3043
Error	0.21	66	3.20E-03		
Total	0.28	87			

Anexo 15

Galería de fotografías de la ejecución del proyecto de investigación

Foto 1. Vitroplantas de arándano listas para el reaislamiento de cepas de *Trichoderma* del método 1 Inmersión de Raíces



Foto 2. Vitroplantas de arándano listas para el reaislamiento de cepas de *Trichoderma* del método 2 Infestación al Sustrato.



Foto 3. Desarrollo de vitroplantas de arándano en Bolsas Polietileno



Foto 4. Desarrollo de vitroplantas de arándano en el vivero de la sede CNI Cañete.



Nota. Selección de plántulas de arándano para el reaslamiento en el laboratorio

Foto 5. Riego de las plántulas de arándanos con agua destilada



Foto 6. Desarrollo de vitroplantas de arándano en Bolsas Polietileno



Foto 7. Inmersión de Raíces de Vitroplantas de arándanos



Foto 8. Separación de las raíces con el sustrato



Foto 9. Limpieza de Raíces



Foto 10. Pesado en Fresco y Seco de Raíces



Anexo 16

Acta de Sustentación y Aprobación

 **UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAÑETE**
Ley de Creación N° 29488
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA

"Año de la Lucha Contra la Corrupción e Impunidad"

TÍTULO:

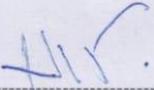
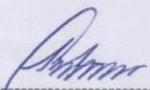
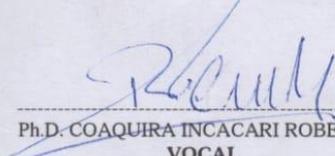
**CAPACIDAD ENDOFÍTICA DE CEPAS DE *Trichoderma sp.* DURANTE
EL ESTABLECIMIENTO DE VITROPLANTAS DE ARÁNDANO (*Vaccinium
corymbosum L.*) EN CAÑETE.**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGRÓNOMO**

Presentada por:

JOSE MARIA ESPINOZA ASTORAYME

Sustentada y aprobada ante el jurado:

 ----- Dr. ALVAREZ BERNAOLA LUIS ARMANDO PRESIDENTE	 ----- Mg. AYBAR PEVE LEANDO JOEL SECRETARIO
 ----- Ph.D. COAQUIRA INCACARI ROBERTO VOCAL	 ----- Dra. BETSABE LEON TTACCA ASESOR

San Vicente, 05 de Octubre de 2022

Sede Académica: Calle Canal Mariangola s/n, urbanización Santa Rosa de Hualcará - CNI
Distrito de Imperial – Provincia de Cañete Teléfono: 2847287



"Año de la Lucha Contra la Corrupción e Impunidad"

ACTA DE SUSTENTACIÓN

Los miembros del Jurado de tesis que suscriben, reunidos para evaluar la sustentación de tesis por el Bachiller **JOSE MARIA ESPINOZA ASTORAYME** de la promoción 2014 -I con N° de matrícula 1477326961, con el título: **CAPACIDAD ENDOFÍTICA DE CEPAS DE *Trichoderma sp.* DURANTE EL ESTABLECIMIENTO DE VITROPLANTAS DE ARÁNDANO (*Vaccinium corymbosum L.*) EN CAÑETE.**

Para cumplir con el Art. 31° del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional de Cañete para optar al título profesional de **INGENIERO AGRÓNOMO**.

Teniendo en consideración los méritos del referido trabajo así como los conocimientos demostrados por el sustentante, declaramos la tesis por: **UNANIMIDAD** **MAYORÍA**
Calificada como:

DESAPROBADO (0 -10)	APROBADO			
	BUENO (11-13)	MUY BUENO (14 - 16)	SOBRESALIENTE (17 -18)	EXCELENTE (19 -20)
		16		

En consecuencia, queda en condición de ser considerado **APTO** por la Comisión Organizadora – UNDC y recibir el Título Profesional de Ingeniero Agrónomo, de conformidad con lo estipulado en el Art. 32 del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional de Cañete, suscribimos la presente acta en 4 ejemplares.

San Vicente, 05 de Octubre de 2022

Dr. ALVAREZ BERNAOLA LUIS ARMANDO
PRESIDENTE

Mg. AYBAR PEVE LEANDO JOEL
SECRETARIO

Ph.D. COAQUIRA INCACARI ROBERTO
VOCAL

Dra. BETSABE LEON TTACCA
ASESOR

Anexo 16

Prueba de Similitud



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAÑETE

Ley de Creación Nº 29488

UNIDAD DE BIBLIOTECA CENTRAL

"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

San Vicente, 17 de Agosto del 2022

VICEPRESIDENCIA ACADEMICA

CONSTANCIA ANTIPLAGIO DEL SOFTWARE TURNITIN - UNDC

DATOS DEL ALUMNO:

Apellidos y Nombres : José Maria Espinoza Astorayme

Código de Alumno : 1477326961.

Escuela Profesional : Agronomía.

TITULO DEL TRABAJO DE INVESTIGACION:

"CAPACIDAD ENDOFÍTICA DE CEPAS DE *Trichoderma* sp. DURANTE EL ESTABLECIMIENTO DE VITROPLANTAS DE ARÁNDANO (*Vaccinium corymbosum* L.) EN CAÑETE.."

HACE CONSTAR:

El presente documento acredita que el Trabajo de Investigación presentado por el estudiante **"NO SE CONSIDERA PLAGIO INTENCIONAL AL TENER UN GRADO DE SIMILITUD DEL 9% Y NO SOBREPASAR EL MAXIMO DEL 30% DE SIMILITUD, CONSIDERADO EN EL REGLAMENTO PARA OTORGAR EL GRADO ACADEMICO DE BACHILLER Y TITULO PROFESIONAL EN LA UNDC;** por lo tanto, se considera originalidad del trabajo de Investigación presentado a *Unidad de Biblioteca Central - Universidad Nacional de Cañete.*



Firmado digitalmente por:
HUAMAN OJEDA PEDRO VICTOR
FIR 15430085 hard
Motivo: Soy el autor del
documento
Fecha: 17/08/2022 10:12:36-0500

Prof. Pedro V. Huamán Ojeda
Asistente de Biblioteca

FIRMA DIGITAL DE CONFORMIDAD

Se expide este documento para los fines pertinente

ADJ. TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PRESENTADO, CON LAS CORRECCIONES Y ESTADÍSTICA EN PDF.

Sede Académica: Casa de la Cultura Av. Mariscal Benavides 1370
San Vicente de Cañete – Lima - Perú