

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA FORESTAL Y**  
**MEDIO AMBIENTE**



**Evaluación de *Trichoderma* spp. aislados de la rizosfera en la germinación de semillas de algarrobo (*Neltuma pallida*)**

**Tesis para optar el título profesional de ingeniero Forestal y Medio Ambiente.**

**Autor**

**Bach. Yunior Jesús García García**

**Tumbes, 2025**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA FORESTAL Y**  
**MEDIO AMBIENTE**



**Evaluación de *Trichoderma* spp. aislados de la rizosfera en la germinación de semillas de algarrobo (*Neltuma pallida*)**

**Tesis aprobada en forma y estilo por:**

**Dr. Miguel Antonio Puestas Chully (presidente)**

**Dr. Rosa Liliana Solís Castro (secretario)**

**Dr. Ramón García Seminario (Vocal)**

**Tumbes, 2025**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA FORESTAL Y**  
**MEDIO AMBIENTE**



**Evaluación de *Trichoderma* spp. aislados de la rizosfera en la germinación de semillas de algarrobo (*Neltuma pallida*)**

**Los suscritos declaramos que la tesis es original en su contenido y forma.**

**Bach. Yunior Jesús García García (Autor)**

**Dr. Ramon Garcia Seminario (Asesor)**

**M.Sc. Luis Dicson Sánchez Abad (Co –asesor)**

**Blg. Leslie Diana Luis Arismendiz (Co –asesor)**

**Tumbes, 2025**

# ACTA DE SUSTENTACIÓN



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
EX FUNDO FISCAL LA CRUZ-CAMPUS UNIVERSITARIO  
SECRETARIA ACADÉMICA



ANEXO VIII

"Año de la recuperación y consolidación de la economía peruana"

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PRESENCIAL

En Tumbes, a los diecisiete días del mes de junio de dos mil veinticinco, siendo las 12... horas, con 25... minutos (12:25), de la tarde, de forma presencial en la sala de Investigación EIFMA, se reunieron el Jurado Calificador, designado por Resolución N° 0180-2023/UNTUMBES-VRACAD-FCA-D., **Dr. Miguel Antonio Puestas Chully** (Presidente), **Dra. Liliana Solis Castro** (Secretario), **Dr. Ramón García Seminario** (Vocal), reconociendo en la misma resolución además, al **Dr. Ramón García Seminario** como **Asesor**, se procedió a evaluar, calificar y deliberar la sustentación de la tesis, "**Evaluación de Trichoderma spp. aislados de la rizósfera en la germinación de semillas de algarrobo (Neituma pallida)**", para optar el Título Profesional de Ingeniero Forestal y Medio Ambiente, presentado por el **Bach. Yuniór Jesús García García**, Concluida la sustentación y absueltas las preguntas, por parte del sustentante y después de la deliberación, el jurado según el artículo N° 75 del Reglamento de Tesis para Pregrado y Posgrado de la Universidad Nacional de Tumbes, declara al: **Bach. YUNIOR JESÚS GARCÍA GARCÍA**; APROBADO, por UNANIMIDAD con el calificativo MUY BUENO.

Se hace conocer al sustentante, que deberá levantar las observaciones finales hechas al informe final de tesis, que el jurado le indica.

En consecuencia, queda APTO para continuar con los trámites correspondientes a la obtención del título profesional de Ingeniero Forestal y Medio Ambiente, de conformidad con lo estipulado en la Ley Universitaria N° 30220, el Estatuto, Reglamento General, Reglamento General de Grados y Títulos y Reglamento de Tesis de la Universidad Nacional de Tumbes.

Siendo las Trece horas y cinuenta minutos del mismo día, se dio por concluida la ceremonia académica, procediendo a firmar el acta en presencia del público asistente.

Tumbes, 17 de junio de 2025

<b>Dr. Miguel Antonio Puestas Chully</b> DNI N° 02660522 CODIGO ORCID 0009-0003-1979-9572 Presidente	<b>Dra. Liliana Solis Castro</b> DNI N° 17628592 CODIGO ORCID 0000-0002-1813-8644 Secretario
<b>Dr. Ramón García Seminario</b> DNI N° 03683231 CODIGO ORCID 0000-0003-0756-0935 Vocal	

C.C. - JURADOS (03) -ASESOR Y(CO)-INTERESADO-ARCHIVO (Decanato)  
S.acad.

# INFORME DE ORIGINALIDAD

## Evaluación de Trichoderma spp. aislados de la rizosfera en la germinación de semillas de algarrobo (Neltuma pallida)

por Yunior Jesus Garcia Garcia



Dr Ramon Garcia Seminario  
Asesor

---

Fecha de entrega: 12-jun-2025 10:32a.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2697670038

Nombre del archivo: Turnitin\_Yunior.docx (24.15M)

Total de palabras: 20100

Total de caracteres: 116949

## Evaluación de *Trichoderma* spp. aislados de la rizosfera en la germinación de semillas de algarrobo (*Neltuma pallida*)

### INFORME DE ORIGINALIDAD

**18%**

INDICE DE SIMILITUD

**14%**

FUENTES DE INTERNET

**2%**

PUBLICACIONES

**9%**

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE



Dr Ramon Garcia Seminario  
Asesor

### FUENTES PRIMARIAS

<b>1</b>	<b>Submitted to Universidad Nacional de Tumbes</b> Trabajo del estudiante	<b>5%</b>
<b>2</b>	<b>scielo.sld.cu</b> Fuente de Internet	<b>3%</b>
<b>3</b>	<b>www.scielo.org.mx</b> Fuente de Internet	<b>2%</b>
<b>4</b>	<b>orcid.org</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>5</b>	<b>hdl.handle.net</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>6</b>	<b>repositorio.untumbes.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>7</b>	<b>repositorio.unc.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>8</b>	<b>editorialalema.org</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1%</b>
<b>9</b>	<b>Submitted to Universidad Técnica De Cotopaxi</b> Trabajo del estudiante	<b>&lt;1%</b>
<b>10</b>	<b>repositorio.unica.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1%</b>

revfitotecnia.mx

11	Fuente de Internet	<1 %
12	Submitted to Universidad Nacional del Centro del Peru Trabajo del estudiante	<1 %
13	<a href="http://www.dspace.unitru.edu.pe">www.dspace.unitru.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
14	Submitted to universititeknologimara Trabajo del estudiante	<1 %
15	<a href="http://www.smf.org.mx">www.smf.org.mx</a> Fuente de Internet	<1 %
16	Submitted to Universidad Santo Tomas Trabajo del estudiante	<1 %
17	<a href="http://ouci.dntb.gov.ua">ouci.dntb.gov.ua</a> Fuente de Internet	<1 %
18	<a href="http://revistas.unal.edu.co">revistas.unal.edu.co</a> Fuente de Internet	<1 %
19	<a href="http://repositorio.unsch.edu.pe">repositorio.unsch.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
20	<a href="http://1library.co">1library.co</a> Fuente de Internet	<1 %
21	<a href="http://repositorio.unaj.edu.pe">repositorio.unaj.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
22	<a href="http://riunet.upv.es">riunet.upv.es</a> Fuente de Internet	<1 %
23	<a href="http://www.cio.mx">www.cio.mx</a> Fuente de Internet	<1 %
24	<a href="http://ica.mx1.uabc.mx">ica.mx1.uabc.mx</a> Fuente de Internet	<1 %



Dr Ramon Garcia Seminario  
Asesor

25	repositorio.unapiquitos.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
26	renati.sunedu.gob.pe Fuente de Internet	<1 %
27	www.revfacagronluz.org.ve Fuente de Internet	<1 %
28	www.ucipfg.com Fuente de Internet	<1 %
29	Submitted to Universidad Nacional Abierta y a Distancia, UNAD, UNAD Trabajo del estudiante	<1 %
30	cienciasagricolas.inifap.gob.mx Fuente de Internet	<1 %
31	ediciones.inca.edu.cu Fuente de Internet	<1 %
32	issuu.com Fuente de Internet	<1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 15 words

Excluir bibliografía

Activo



Dr Ramon Garcia Seminario  
Asesor

## **DEDICATORIA**

A mis queridos y honorables padres, gracias por su paciencia, apoyo constante y por haber creído en mis capacidades a lo largo de mi vida; gracias por la disciplina y valores inculcados desde el hogar, han sido mi mayor ejemplo de inspiración. Este logro también es de ustedes, porque sin su apoyo y dirección continuo no lo hubiera podido lograr. Los amo y quiero profundamente.

A mis hermanos Marcos, Sandro, Roger y Rubith por ser el motivo de salir adelante día a día, de superarme, los quiero mucho.

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios quien me da la fuerza para vivir y seguir respirando el aire puro que emana la naturaleza, motivo de fuerza mayor para alcanzar las más grandes metas de mi vida, permitiendo alcanzar todo a pesar de que el tiempo pueda conspirar.

Un agradecimiento muy especial a mi Asesor Dr. Ramón García Seminario, mi Co Asesor Mg. Dicson Sánchez Abad, Blga. Leslie Diana Luis Arismendiz, quienes por medio de sus conocimientos me ayudaron en este proceso de investigación, su trayectoria científica y enseñanzas fueron una pieza importante en esta etapa profesional.

## ÍNDICE

RESUMEN .....	xviii
I. INTRODUCCIÓN .....	20
II. REVISIÓN DE LITERATURA .....	22
2.1. Origen y distribución del algarrobo ( <i>Neltuma pallida</i> ) .....	22
2.2. Distribución del material genético de algarrobo ( <i>N. pallida</i> ) en el mundo.....	23
2.3. El género <i>Neltuma</i> y la especie <i>Neltuma pallida</i> .....	23
2.4. Clasificación Taxonomía.....	24
2.5. Descripción Botánica .....	25
2.6. Características edafoclimáticas .....	27
2.6.1. Suelo.....	27
2.6.2. Clima.....	27
2.7. Microbiota asociada a la rizosfera del algarrobo.....	27
2.8. Generalidades del género <i>Trichoderma</i> .....	29
2.9. Mecanismo de Acción de <i>Trichoderma spp</i> .....	30
2.10. Importancia y usos de <i>N. pallida</i> .....	31
2.11. Germinación.....	31
2.12. Vigor de la semilla.....	32
2.13. Antecedentes .....	32
III. MATERIALES Y METODOS.....	38
3.1. Fase de campo .....	38
3.1.1. Ubicación del área de estudio .....	38
3.1.2. Muestreo de individuos ( <i>N. pallida</i> ) .....	39
3.1.2.1. Muestreo al azar .....	39
3.1.3. Georreferenciación y codificación .....	41
3.1.4. Técnica de recolección de frutos de algarrobo a partir arboles “élite” .....	42

3.1.5.	Selección de árboles para captura de hongos en la rizosfera de plantas de plantas de algarrobo. ....	42
3.1.6.	Captura de Hongos mediante el uso de trampas de Arroz.....	44
3.1.7.	Recolección de trampas de hongos .....	45
3.1.8.	Escarificación biológica de semillas de <i>N. pallida</i> , mediante endozoocoria con <i>Capra hircus</i> .....	45
3.1.9.	Evaluación de <i>Trichermas spp.</i> en la germinación de semillas recuperadas biológicamente de algarrobo. ....	47
3.1.10.	Registro de datos obtenidos.....	50
	Germinación de semillas.....	50
3.2.	Fase de laboratorio .....	53
3.2.1.	Aislamiento de hongos ( <i>Trichoderma spp.</i> ) de la rizosfera de árboles de algarrobo. ....	53
3.2.2.	Caracterización Morfológica de hongos ( <i>Trichoderma spp.</i> ).....	54
3.2.3.	Identificación molecular en base al análisis de homología de la secuencia parcial del Gen espaciador transcrito interno (ITS) .....	55
3.2.4.	Extracción de ADN de hongos del género <i>Trichoderma</i> .....	55
a)	Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para la identificación de hongos .....	57
b)	Electroforesis .....	57
c)	Secuenciamiento de amplicones obtenidos y análisis informático ..	57
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	58
4.1.	Características morfológicas de los frutos y semillas de <i>Neltuma pallida</i> utilizadas en los experimentos y recuperación de semillas pos-ingestion de <i>Capra hircus</i> . ....	58
4.2.	Germinación de semillas de algarrobo ( <i>Neltuma pallida</i> ) recuperadas pos-ingestión de <i>Capra hircus</i> e inoculación con cepas nativas de <i>Trichoderma spp.</i> .....	63
4.2.2.	Porcentaje de germinación .....	69

4.3.2. Porcentaje de germinación acumulada.....	72
4.2.3. Porcentaje de germinación diaria .....	73
4.2.4. Velocidad media de germinación .....	74
4.2.5. Índice de Germinación .....	77
4.2.6. Porcentaje de coeficiente de Tinsom .....	78
4.3. Aislamiento y caracterización morfológica del Genero <i>Trichoderma</i> .....	79
4.4. Caracterización molecular hongos del género <i>Thichoderma</i> .....	85
V. CONCLUSIONES .....	87
VI. RECOMENDACIONES.....	88
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....	89
VIII.ANEXOS.....	106
ANEXO 1. Datos evaluados de germinación. ....	106
8.1. Datos de parámetros de germinación .....	106
8.2. Registro diario de numero semillas germinadas .....	108
ANEXO 2. Componentes de Extracción de ADN y PCR.....	109
1. El Conjunto de reactivos para la PCR contenía las siguientes concentraciones finales:.....	109
2. La amplificación se llevó a cabo en un termociclador de la marca FOUR E's Scientific bajo las siguientes condiciones de ciclo: .....	109
3. Componentes utilizados en la preparación del gel de agarosa, electroforesis.....	109
ANEXO 3. Secuencias de nucleótidos de las 5 cepas promisorias del Género <i>Trichoderma</i> , aisladas de la rizosfera.....	110
ANEXO 4. Galería de Fotos.....	112

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Ubicación geográfica y variables climatológicas de las zonas muestreadas en tres distritos de la Región de Tumbes, Perú, 2024. ....	39
<b>Tabla 2.</b> Métricas para la valoración de “árbol plus” de las especies de <i>N. pallida</i> .....	43
<b>Tabla 3.</b> Descripción de los tratamientos para el ensayo de inoculación de semillas con <i>Trichoderma</i> spp.....	49
<b>Tabla 4.</b> Medidas morfológicas de frutos de algarrobo del bosque seco. ....	58
<b>Tabla 5.</b> Características generales de las semillas pre-ingesta .....	59
<b>Tabla 6.</b> Características generales de las semillas pos-ingesta.....	59
<b>Tabla 7.</b> Supuesto de independencia con la prueba Durbin-Watson (D-W).....	64
<b>Tabla 8.</b> Supuesto de normalidad con la prueba Shapiro-Wilk (W).....	64
<b>Tabla 9.</b> Supuesto de homogeneidad de varianza con la prueba Levene (L). ....	64
<b>Tabla 10.</b> Análisis de varianza de los tratamientos evaluados.....	65
<b>Tabla 11.</b> Prueba HSD de Tukey de los tratamientos evaluados.....	66
<b>Tabla 12.</b> Agrupaciones según Tukey de los tratamientos evaluados .....	67
<b>Tabla 13.</b> Parámetros calculados para las semillas en función a los tratamientos biológicos aplicados. ....	75
<b>Tabla 14.</b> Caracterización morfológica de 15 cepas de <i>Trichoderma</i> spp. aisladas de la rizosfera del algarrobo en tres zonas distintas. ....	80
<b>Tabla 15.</b> Identificación molecular de hongos del género <i>Thichoderma</i> mediante secuenciación parcial del gen espaciador transcrito interno (ITS). ....	85

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Distribución de especies <i>N. pallida</i> en zona costera de Perú y Ecuador. .....	24
<b>Figura 2.</b> Caracterización morfológica del algarrobo: A) Hojas bipinnadas; B) Frutos; C) Semillas; D) Flores; E) Raíz; F) Germinación.....	26
<b>Figura 3.</b> Características macroscópicas de <i>Trichoderma</i> spp. A 7 días de crecimiento.....	29
<b>Figura 4.</b> Características microscópicas de cepas nativas de <i>Trichoderma</i> a 100X A) Conidios y Clamidosporas; B) Hifas; C) Fiálides. ....	30
<b>Figura 5.</b> Interacción microscópica de <i>Trichoderma</i> spp. con una planta: A) Interacción de T.spp. en rizoplano; B) Compuestos producidos en la raíz; C) Interacción con organismos fitopatógenos y nematodos.....	31
<b>Figura 6.</b> Zonas de muestreo en tres localidades de la Región de Tumbes. ....	38
<b>Figura 7.</b> Muestreo al azar de plantas “elite” de <i>N. pallida</i> . ....	40
<b>Figura 8.</b> Georreferenciación y codificación de árboles de algarrobo ( <i>N. pallida</i> ).41	
<b>Figura 9.</b> Reconocimiento y Selección de ejemplares de <i>N. pallida</i> . ....	43
<b>Figura 10.</b> Captura de <i>Trichoderma</i> spp. con el uso de trampas de arroz en rizósfera de <i>N. pallida</i> .....	44
<b>Figura 11.</b> Imagen referencial de trampas de arroz capturada de ( <i>Trichoderma</i> spp). ....	45
<b>Figura 12.</b> Aislamiento de colonias del género <i>Trichoderma</i> a partir de vasos de arroz cosido, rizosférico de una planta de <i>N. pallida</i> . ....	54
<b>Figura 13.</b> Característica interna y externa del fruto de <i>N. pallida</i> . ....	59
<b>Figura 14.</b> Características morfológicas de la semilla (transversal) de <i>N. pallida</i> 60	
<b>Figura 15.</b> Semillas pos- ingestión de <i>Capra hircus</i> : con presencia de endocarpio (A) y semillas libres de cubierta (endocarpio, mesocarpio y exocarpio) (B). ....	62
<b>Figura 16.</b> Semillas extraídas de heces de cabras: A) Semillas con heces; B) Semillas limpias; C) Semillas negras. ....	62
<b>Figura 17.</b> Evaluación de la germinación por tratamientos establecidos con 15 cepas de <i>Trichoderma</i> spp. y el control: A) Preparación de ensayo; B) Semillas germinadas referentes al tratamiento biológico I3a- r1. ....	63
<b>Figura 18.</b> Tratamiento germinativo de semillas de algarrobo inoculadas: A) T. spp - PH1C; B) <i>N. pallida</i> en desarrollo.....	68

<b>Figura 19.</b> Germinación del grupo control empleado en el experimento. ....	68
<b>Figura 20.</b> Tratamiento germinativo de semillas de algarrobo inoculadas: A) <i>T. asperellum</i> - IN4A; B) <i>N. pallida</i> en desarrollo.....	69
<b>Figura 21.</b> Tratamiento germinativo de semillas de algarrobo inoculadas: A) <i>Trichoderma harzianum</i> - IN4E; B) <i>N. pallida</i> en desarrollo. ....	70
<b>Figura 22.</b> Tratamiento germinativo de semillas de algarrobo inoculadas: A) <i>T. viride</i> - PH3B; B) <i>N. pallida</i> en desarrollo. ....	71
<b>Figura 23.</b> Porcentaje de germinación de semillas <i>N. pallida</i> tratadas con cepas fúngicas del género <i>Trichoderma</i> .....	72
<b>Figura 24.</b> Porcentaje de germinación acumulada de <i>N. pallida</i> con cepas pretratadas de <i>Trichoderma</i> spp. ....	73
<b>Figura 25.</b> Porcentaje de germinación diaria de <i>N. pallida</i> con cepas pretratadas de <i>Trichoderma</i> spp .....	74
<b>Figura 26.</b> Velocidad media de germinación de <i>N. pallida</i> con cepas pretratadas de <i>Trichoderma</i> spp. ....	74
<b>Figura 27.</b> Evaluación de las respuestas biológicas (índice de germinación) de semillas de <i>N. pallida</i> y <i>Trichoderma</i> spp.....	78
<b>Figura 28.</b> Evaluación de las respuestas biológicas (coeficiente de Tinsom) de semillas de <i>N. pallida</i> y <i>Trichoderma</i> spp.....	79
<b>Figura 29.</b> Características morfológicas de especie de <i>Trichoderma</i> : A) <i>T. harzianum</i> - IN4E34, B) <i>T. viride</i> - PH3B25, C) <i>T. asperellum</i> - IN4A32 D) <i>T. virens</i> - PH129 E) <i>T. atroviride</i> - I2A27; Cada columna representa los siguiente: 1) cultivo de agar dextrosa de papa (PDA) después de 3 días de incubación a 28 °C, 2) conidióforos, y 3) conidios de cada especie de <i>Trichoderma</i> observados bajo un microscopio óptico con aumento de 400x. ....	84
<b>Figura 30.</b> Georeferenciación y selección de ejemplares <i>N. pallida</i> para muestreo .....	112
<b>Figura 31.</b> Ejemplares de <i>N. pallida</i> en el bosque seco de Tumbes.....	113
<b>Figura 32.</b> Captura de hongos del género <i>Trichoderma</i> . A) Trampa de arroz sembrada al costado de la raíz de <i>Neltuma pallida</i> . B) Colocación de vaso hasta la mitad. C) Colección de Trampas rotuladas después de 7 días .....	113
<b>Figura 33.</b> Diversidad de hongos de la rizosfera de <i>N. pallida</i> creciendo en medio de cultivo PDA.....	114
<b>Figura 34.</b> Purificación de cepas obtenidas, género <i>Trichoderma</i> .....	114

<b>Figura 35.</b> Obtención de cepa pura ( <i>Trichoderma</i> spp.) y características macroscópica .....	115
<b>Figura 36.</b> Prueba de tinción, detección de <i>Trichoderma</i> spp. A) Marcando 10 µg en cinta transparente. B) Tinción de <i>Trichoderma</i> spp. con Azul de metileno con el uso de láminas cubre y porta objetos .....	115
<b>Figura 37.</b> Estructura de <i>Trichoderma</i> spp. visto en Microscopio a 400X.....	116
<b>Figura 38.</b> Caracterización morfológica a través de microscopía simple. A) Caracterizar estructuras y formas. B) Mediciones de estructuras. C) Datos Extraídos de Software. ....	116
<b>Figura 39.</b> Recolección de material genético, frutos de <i>Neltuma pallida</i> .....	117
<b>Figura 40.</b> Sistema silvopastoril, <i>Capra hircus</i> : utiliza frutos de algarroba como parte de su dieta en el bosque seco y comparte sitio con <i>N. pallida</i> para su supervivencia conjunta de ambas especies .....	117
<b>Figura 41.</b> Alimentación con pasto de corte Cuba algarrobo 22 .....	118
<b>Figura 42.</b> Alimentación con frutos de algarroba ( <i>Neltuma pallida</i> ) .....	118
<b>Figura 43.</b> Semillas recuperadas de <i>Capra hircus</i> por endozocooria. ....	119
<b>Figura 44.</b> Tratamientos pre-germinativos con <i>Trichoderma</i> spp. en semillas de <i>N. pallida</i> . ....	119
<b>Figura 45.</b> Germinación de semillas inoculas con cepas puras <i>Trichoderma</i> spp. ....	120
<b>Figura 46.</b> Evaluación de parámetros de germinación y efectividad de cada cepa pura de <i>Trichoderma</i> spp .....	120
<b>Figura 47.</b> Características morfológicas de <i>Trichoderma</i> spp.....	121
<b>Figura 48.</b> Mapa de ubicación de tres distritos de Tumbes y puntos georreferencia de obtención de muestras ( <i>N. pallida</i> ).....	122

## RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivos caracterizar la morfología de hongos del género *Trichoderma*, su identificación molecular, y el efecto sobre la germinación y crecimiento de semillas de algarrobo (*Neltuma pallida*). Se seleccionaron árboles juveniles con buena performance morfológica y sanitaria, de los cuales se extrajo muestras de suelo rizosférico. Se aislaron 70 colonias fúngicas en medio papa dextrosa Agar (PDA) y se determinaron, mediante claves taxonómicas, que 15 cepas presentaron las características morfológicas macro y microscópicas para el género *Trichoderma*. Los aislados fueron inoculados en semillas de algarrobo procedentes de la escarificación biológica de *Capra hircus* a una concentración de  $1 \times 10^8$  conidios/ ml. Se ensayaron 16 tratamientos, incluyendo el control, distribuidos en un diseño experimental completamente aleatorio (DCA), evaluándose parámetros de germinación y crecimiento. Se identificó molecularmente las cepas de *Trichoderma* que mostraron mayor potencial en la estimulación biológica. Las especies *T. harzianunm* - IN4E, *T. asperellum* - IN4A, *T. viride* - PH35 mostraron el mayor efecto estimulador de los parámetros de germinación y crecimiento de plántulas. Estos resultados nos sugieren que *T. asperellum* – IN4A puede ser utilizado en el mejoramiento de eficacia de los parámetros de germinación y crecimiento de plántulas de *N. pallida*.

**Palabras clave:** Algarrobo, *Trichoderma*, Rizosfera, Germinación, PCR, Secuenciación.

## ABSTRACT

The objectives of this study were to characterize the morphology of *Trichoderma* fungi, their molecular identification, and their effect on the germination and growth of carob (*Neltuma pallida*) seeds. Juvenile trees with good morphological and sanitary performance were selected from which rhizospheric soil samples were extracted. Seventy fungal colonies were isolated on potato dextrose agar (PDA) medium, and 15 strains exhibited the macro and microscopic morphological characteristics of the *Trichoderma* genus using taxonomic keys. The isolates were inoculated into carob seeds obtained by biological scarification with *Capra hircus* at a concentration of  $1 \times 10^8$  conidia/ml. Sixteen treatments, including the control, were tested in a completely randomized experimental design (CRD), and germination and growth parameters were evaluated. The *Trichoderma* strains that showed the greatest potential for biological stimulation were molecularly identified. The species *T. harzianum* - IN4E, *T. asperellum* - IN4A, and *T. viride* - PH35 showed the greatest stimulatory effect on germination and seedling growth parameters. These results suggest that *T. asperellum* – IN4A can be used to improve the efficacy of germination and seedling growth parameters of *N. pallida*.

Keywords: carob, *Trichoderma*, rhizosphere, germination, PCR, sequencing.

## I. INTRODUCCIÓN

Los bosques secos tropicales a nivel mundial son ecosistemas que se encuentran degradados por actividades antrópicas, agrícolas y/o comerciales; esta fragmentación de hábitats genera vulnerabilidad en la diversidad biológica, disminuyendo sus poblaciones y capacidad de sobrevivencia (González et al., 2019; FAO, 2020).

En América Latina la diversidad vegetal es la más amenazada, generando impactos negativos en su estructura y dinámica vegetal, poniendo en peligro de extinción la diversidad endémica, afectando en gran escala el ecosistema e incidiendo en el calentamiento global (Acosta et al., 2019).

La degradación de los bosques secos en el Perú se debe a diversas causas entre las que figuran, la tala ilegal (que disminuye la cobertura vegetal), el pastoreo excesivo y, sobre todo, la ausencia de políticas en el campo forestal y de vida silvestre en bosques tropicales áridos, han generado vacíos que no conducen a la sostenibilidad de estos ambientes (Aguilera, 2014; Otivo, 2015). Aunado a las variaciones climáticas, cambios de uso del suelo y la aparición de insectos plagas han ocasionado una tasa de mortalidad mayor en los últimos años, disminuyendo severamente el número de individuos de *Neltuma pallida*, (Cruz et al., 2011), afectando su estabilidad de sobrevivencia y generando pérdidas económicas en las poblaciones locales que dependen de este recurso (Kometter y Reynel, 2022).

El suelo es uno de los factores más importantes en las variaciones de la comunidad de microorganismos, debido a la diversidad en su composición física, química y microclimática que conlleva la presencia de una amplia variedad de nichos (Cofré, 2014). Entre los microorganismos presentes en el suelo, destacan distintas especies de hongos del género *Trichoderma*, que han demostrado eficacia en el tratamiento biológico de semillas y plantones, promoviendo su germinación y crecimiento; además del control de patógenos; brindando una alternativa

prometedora y ecológica al uso de productos químicos (Menten et al., 2010). Diversos estudios establecen una relación simbiótica necesaria entre estos hongos y cerca del 80 % de las familias de plantas terrestres (Ferrario, 2019), colonizando la raíz, generando estructuras de reserva (vesículas) y estructuras de intercambio de nutrientes para el crecimiento de las plantas (Druille et al., 2017).

Sin embargo, es posible también su aplicación en los ecosistemas forestales, especialmente en viveros, aumentando la velocidad de germinación de las semillas, biomasa fresca y seca de la parte aérea y de las raíces de las plantas (Lustosa et al., 2020), optimizando la producción de plantones y, en consecuencia, reducir la presión sobre los bosques naturales (Tabares, 2015).

Por lo consiguiente, esta investigación determinó la diversidad *Trichoderma spp.* presentes en la rizósfera de *N. pallida* en tres zonas distintas de la región de Tumbes, y se comprobó su efecto en la promoción de sus semillas germinadas (GER). Por lo que, se empleó el método de identificación morfológica e identificación molecular para hongos, estos métodos son muy utilizados en caracterización, avalados por distintos autores, como Sanabria et al., (2023) y Kadu, (2019) quienes afirman que la utilidad del método es muy variada, permitiendo la identidad de especies del género *Trichoderma* cercanas al 100 %.

Asimismo, se espera que esta investigación sea útil en la toma de decisiones por parte de las autoridades gubernamentales y locales, para establecer medidas que permitan mejorar la gestión forestal del bosque seco y los servicios ecosistémicos que brindan las especies de algarrobo en el marco de la sostenibilidad de estos ecosistemas; además, de generar un punto de partida para futuras investigaciones.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Origen y distribución del algarrobo (*Neltuma pallida*)

Cairati (2013), señala que el algarrobo es originario de la costa norte del Perú desde tiempos prehispánicos. Posteriormente se introdujo en Puerto rico y en la isla Molokai (Hawái), luego se estableció como cultivo en el nordeste de Brasil, India y Australia (Galera, 2000) (Figura 1).

*N. pallida* se distribuye en América del Sur abarcando los países de Perú, Colombia y Ecuador, desde el nivel del mar hasta los 1500 metros; con una precipitación de 150 a 1600 mm. Es la especie más dominante en la costa peruana; por lo mismo la más explorada a nivel científico; en 13 departamentos de Perú, principalmente los de zona costera (Dostert et al., 2012). k

El Organismo de Supervisión de los Recursos Forestales y de Fauna Silvestre (OSINFOR, 2018) indicó que las poblaciones de *N. pallida* en el Perú se distribuyen principalmente en la costa norte, en los departamentos de Lambayeque, Piura y Tumbes. Su ecosistema incluye bosques secos tropicales, con una superficie aproximada de 1,8 millones de hectáreas. Por otro lado, también se han identificado algunas poblaciones de *N. pallida* en el sur y en los Andes, en regiones como Cusco, Huamanga, Ayacucho y Calca. Asimismo, se logró registrar su presencia en los alrededores de la ciudad de Bagua, en el departamento de Amazonas (Carrillo et al., 2020).

## **2.2. Distribución del material genético de algarrobo (*N. pallida*) en el mundo.**

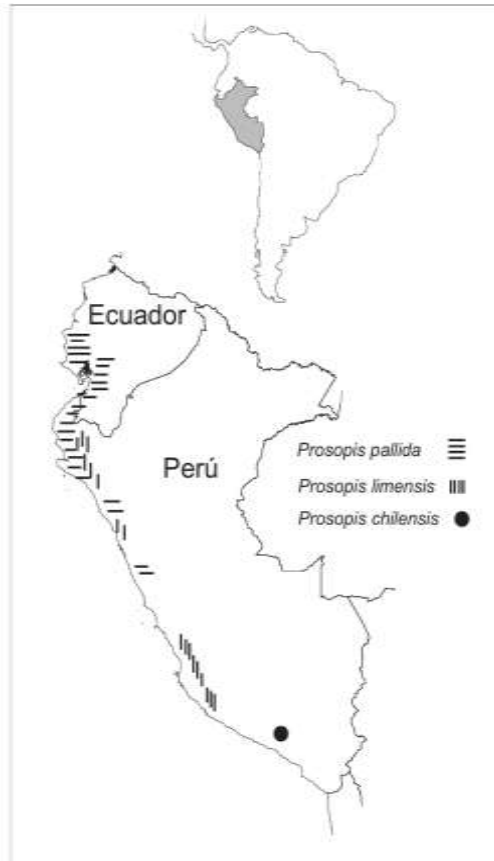
Estudios recientes sobre la taxonomía del algarrobo *Prosopis pallida* en la región costera peruano-ecuatoriana han sido objeto de diversas revisiones, siendo las más relevantes las realizadas por (Burkart 1976; Ferreyra 1987; Díaz-Celis 1995 y Pasiecznik et al. 2001). Estos autores coinciden en que *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. y *Prosopis pallida* (Humb. et Bonpl. ex Willd.) Kunth son las especies más comunes en dicha zona. Sin embargo, muchos de los problemas surgieron al distribuir el material genético del germoplasma sin el debido conocimiento de la especie proveniente, en el nordeste de Brasil, en Sudáfrica, Chad y entre otros lugares. Por lo que, el material empleado para los planes de reforestación no fue *P. juliflora* si no otras (FAO, 2014). Posteriormente, en un estudio realizado con técnicas moleculares (AFLPs) y características morfológicas se mostró distancias sustanciales entre las especies de *Prosopis spp.* de la región Peruano – Ecuatoriana (*P. pallida*, *P. limensis*, *P. juliflora*), demostrando que *P. juliflora* no habita en las regiones mencionadas, siendo el material indígena peruano distribuido y promovido en las diversas partes del mundo; dado que el material promovido en décadas anteriores habría sido *P. pallida* y/o *P. limensis* y no *P. juliflora*.

## **2.3. El género *Neltuma* y la especie *Neltuma pallida***

El género *Neltuma* (Subfamilia: Caesalpinioideae), al cual pertenece el algarrobo (*Neltuma pallida*), está compuesto por 43 especies de morfología arbustiva y arbórea, nativas de América (Barros, 2010; Burkart, 1976; Hughes et al., 2022). Este género fue nuevamente reconocido y utilizado en el trabajo de Hughes et al. (2022).

En este trabajo se tomó en cuenta la información morfológica y genética de las diferentes especies que se agrupaban en el género *Prosopis*. De este modo, se logró separar todo el extenso conjunto de especies pertenecientes a este género en unos únicos; siendo que *Prosopis pallida* paso a denominarse *Neltuma Pallida*. La nueva denominación y los nombres de las otras especies que experimentaron este cambio de género

ya se han aceptado por la comunidad científica. Por otro lado, es importante señalar que los cambios solo se llevaron a nivel de géneros, pero no a nivel de especie. Por lo tanto, se considera que la información impartida y los trabajos anteriores realizados en *P. pallida* permanecen en vigor para *N. pallida*.



**Figura 1.**

*Distribución de especies N. pallida en zona costera de Perú y Ecuador.*

*Nota: Tomado de Burghardt et al., 2010.*

#### **2.4. Clasificación Taxonomía**

Carrillo et al. (2020) establecen que el algarrobo está clasificado en las siguientes categorías taxonómicas:

Reino: Plantae

División: Fanerógama

Clase: Dicotiledonea

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae

Subfamilia: Mimosoideae

Tribu: Mimoseae

Género: *Prosopis*

Especie: *pallida*

Nombre común: Algarrobo

Nombre binomial: *Prosopis pallida* (Humb & Bonpl. Ex Willd) Kunth.

*Neltuma pallida* (Hughes et al., 2022).

## 2.5. Descripción Botánica

Carrillo et al. (2020), mediante el manual técnico para la conservación y propagación de algarrobo, estipula las siguientes características botánicas para el *N. pallida*:

El “algarrobo” *N. pallida* presenta árboles o arbustos xerófilos, con alturas que varían entre 3 y 20 metros. Su copa puede alcanzar más de 15 metros de diámetro, está conformada por ramas de crecimiento irregular y con follaje caducifolio.

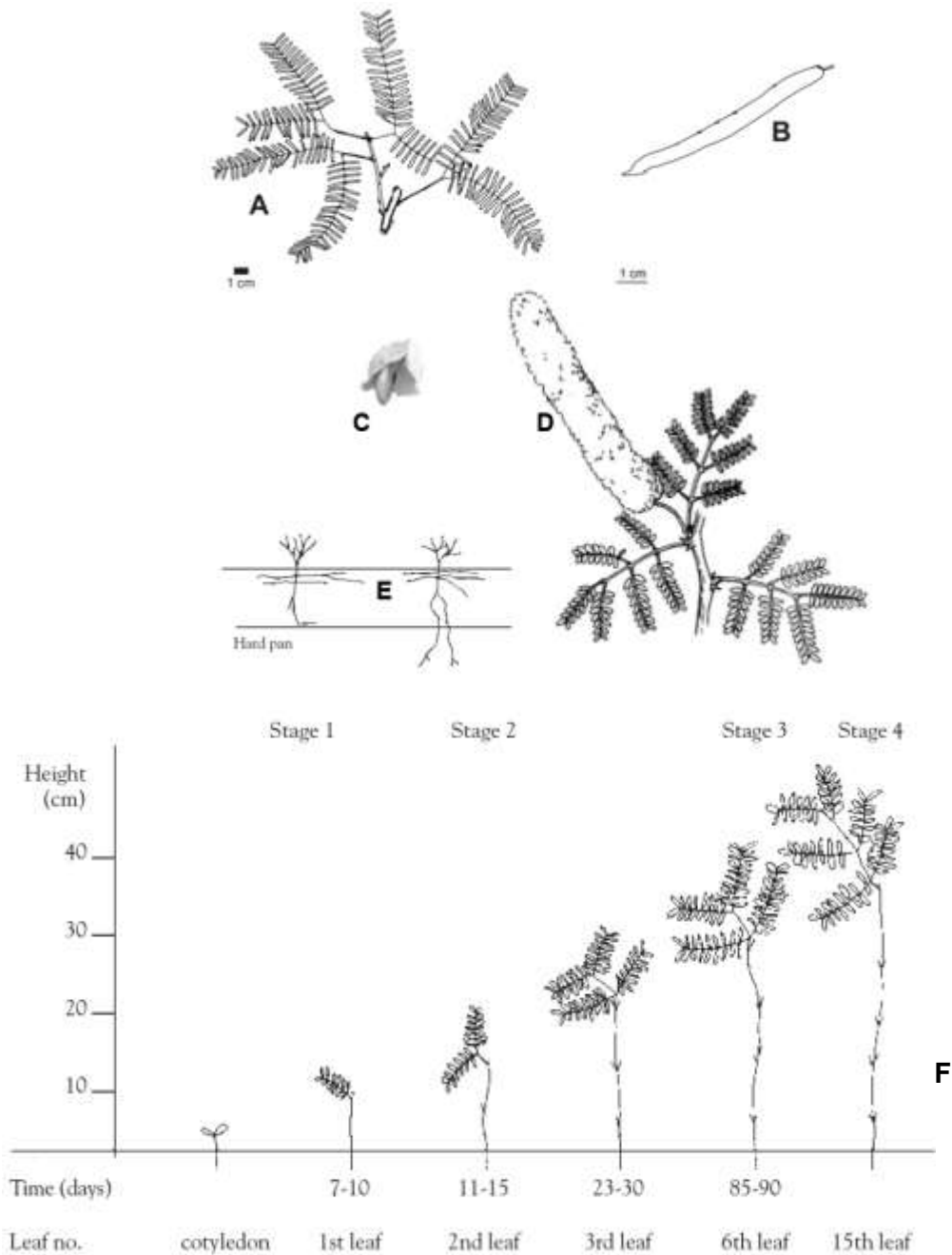
**Corteza:** Su corteza externa presenta un color pardo-grisácea a negruzca, con fisuras, textura leñosa y espinas ocasionales. En la parte interna de su corteza presenta una coloración banco a rojizo, con textura fibrosa y olor característico a barniz.

**Hojas:** Compuestas y generalmente bipinnadas, con peciolo corto y folíolos de forma elíptica, con margen entero y nervadura central marcada.

**Flores:** Agrupadas en espigas axilares alargadas. De tamaños pequeños, pentámeras, actinomorfas, hermafroditas y de color amarillo pálido.

**Frutos:** Vainas carnosas de pulpa dulce, con medidas de 10 a 30 cm de largo, 1 a 1,5 cm de ancho y 5 a 9 mm de espesor. Contiene de 20 a 30 semillas ovoides, aplanadas, de color gris a pardo.

**Raíz:** Generalmente presenta una raíz pivotante que pueden llegar a alcanzar 60 m permitiéndole acceder a aguas subterráneas. Presenta raíces laterales que pueden llegar a alcanzar a medir horizontalmente 60 m con profundidades entre 15 y 25 cm, eficaces para captar humedad superficial (Figura 2)



**Figura 2.**

*Caracterización morfológica del algarrobo: A) Hojas bipinnadas; B) Frutos; C) Semillas; D) Flores; E) Raíz; F) Germinación.*

*Nota: Tomado de Pasiecznik, 2001.*

## **2.6. Características edafoclimáticas**

### **2.6.1. Suelo**

*P. pallida* está adaptado a una alta diversidad de suelos y hábitats. Se encuentra tanto en dunas de arena como en suelos arcillosos, pedregosos, salinos y alcalinos, aunque prefiere también suelos bien drenados (Dostert et al., 2012).

### **2.6.2. Clima**

Se desarrollan en climas con temperaturas máximas hasta 45 °C en época de verano e inferiores a 5°C pudiendo originar la muerte del árbol; así mismo, las precipitaciones medias anuales para su desarrollo alcanzan los 250 a 500 mm (Dedios, 2017).

## **2.7. Microbiota asociada a la rizosfera del algarrobo**

Se ha reportado una gran diversidad microbiana benéfica en el género *Neltuma*, anteriormente denominado *Prosopis* (García, 2021; Flores et al., 2023; Reinoza y Valladolid, 2020).

El trabajo de investigación más reciente sobre la microbiota asociada al algarrobo se llevó a cabo en la Universidad Nacional de Tumbes. Este estudio, realizado por García (2021) aisló 50 bacterias fijadoras de nitrógeno en simbiosis y asociación con la rizósfera de *Prosopis spp.* “algarrobo” crecidas en medio de cultivo Trypticase Soy Agar (TSA), 41 de ellas tuvieron actividad fijadora de Nitrógeno cultivado en medio específico (Ashby's Mannitol Agar-ASHBY); sin embargo, solo se identificaron molecularmente, mediante análisis de homología de la secuencia parcial del gen del ADNr 16S 10 bacterias que mostraron mayor potencial en la fijación de Nitrógeno. Dentro de estas bacterias destacan los géneros: *Bacillus*, *Pantoea*, *Lyxinibacillus*, *Olivibater* y *Erwinia*, 5 bacterias de estas 3 últimas mostraron actividad solubilizadoras de fosfato.

Existen muy pocos estudios referentes al microbioma asociado al algarrobo (*Neltuma pallida*). Flores et al., (2023), realizaron un trabajo donde obtuvieron aislados del suelo y raíces de *Prosopis limensis* Bentham en el departamento de Lambayeque, Perú. Las muestras fueron extraídas de diversos puntos muestreados con énfasis en el de suelos salinos. Donde se obtuvieron bacterias tolerantes a la salinidad, estas bacterias se examinaron mediante el análisis de solubilización de fosforo, ácido indolacético, actividad desaminasa en un rango de 2 a 10 % y por último la caracterización molecular por medio de la secuencia parcial del gen de ADN 16S rDNA. Se encontraron un total de 78 aislamientos, de los cuales solamente tres aislados mostraron una alta tolerancia a la sal en un rango 10 % en producción in vitro de ACC, solubilización de fosfato y producción de IAA. Las cepas que resaltaron fueron *Pseudomonas spp.* 03 (MW604823), *Pseudomonas spp.* 13 (MW604824) y *Bordetella spp.* 31 (MW604826). Además de que estos microorganismos promovieron la germinación inicial en plantas de rábano para los tratamientos T2, T3 y T4 en un porcentaje de 129, 124, y 118 % respectivamente, después de haberse inoculado con los tres aislamientos puros, el potencial uso de estas cepas en plantas cultivadas expuestas a salinidad favorecerá su crecimiento y desarrollo al actuar simbióticamente.

Otro trabajo interesante es un estudio realizado por Reinoza y Valladolid (2020) sobre especies de *Pseudomonas* aisladas de la rizósfera de *Prosopis Limensis* Bentham y su potencial como promotores del crecimiento vegetal bajo estrés salino. Se aislaron bacterias *Pseudomonas* para evaluar su potencial para promover el crecimiento de las plantas bajo estrés salino. Expresión y tolerancia de la desaminasa del ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) a NaCl en caldo nutritivo suplementado con 5.0; Se determinaron NaCl al 7,5 y al 10 % en medio mínimo de Dworkin y Foster (DF) con ACC 3,0 mM como fuente de nitrógeno. Se inoculó *Raphanus sativus* L. con bacterias que expresaban ACC desaminasa y resistentes a NaCl al 10%.

## 2.8. Generalidades del género *Trichoderma*

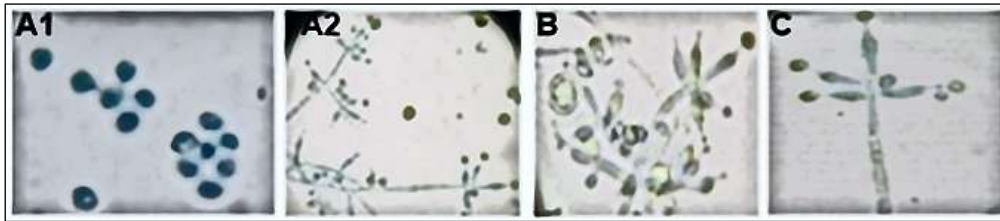
El género *Trichoderma* fue postulado por primera vez en 1794 por Persoon. Posteriormente, Rifai (1969) definió nueve especies de acuerdo con sus características fisiológicas y morfológicas. Con el paso del tiempo, la clasificación de *Trichoderma* aumentó y alcanzó más de 200 especies de acuerdo con su origen, formación y desarrollo evolutivo (Cortés-Hernández et al., 2023). Las colonias son de coloración verde oscuro a claro y a veces amarillento dependiendo la especie (Figura 3), y suelen tener un aroma a coco, son de fácil aislamiento ya que se encuentran muy cerca de la rizosfera, en materia orgánica en descomposición y en las cortezas de los árboles (Swain et al., 2018; Allende et al., 2022). Presenta tres tipos de propágulos (hifas, fiálides, clamidosporas y conidios) (Figura 4), que muestran actividad antagónica a patógenos en diferentes fases, desde la germinación de esporas hasta la esporulación (Howell, 2003; García et al., 2017). Dichas estructuras son bastante resistentes, ya que sobreviven en condiciones climáticas extremas como es la radiación ultravioleta y zonas demasiado frías (congeladas) y desérticas (Cai et al., 2020). Así también, su temperatura óptima de crecimiento está en un rango de 20 y 28 °C, el contenido de humedad es de 92 % para su desarrollo, mientras que para esporulación es de 93 a 95 %, se puede propagar en sustratos a base de maíz, sorgo, arroz y paja de trigo (Romero, 2009; Pineda et al., 2017).



**Figura 3.**

*Características macroscópicas de Trichoderma spp. A 7 días de crecimiento.*

*Nota: Tomado de Allende et al., 2022.*



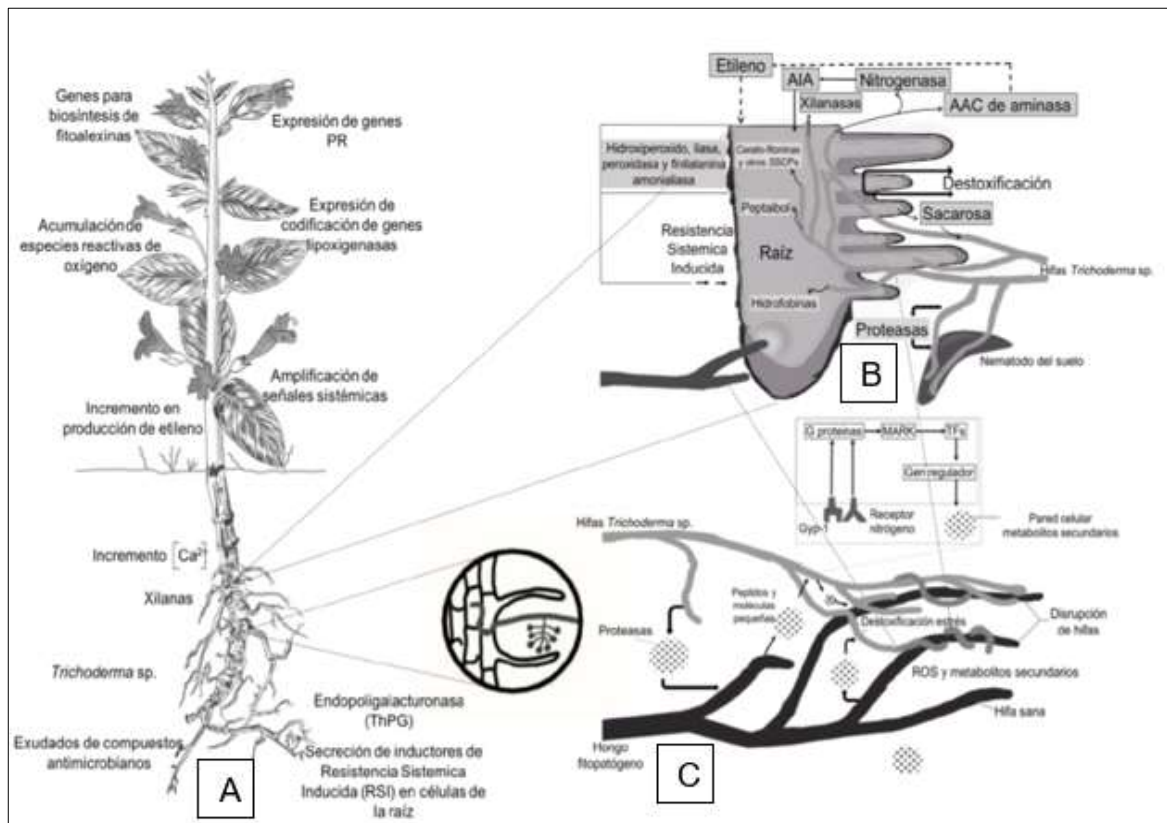
**Figura 4.**

*Características microscópicas de cepas nativas de Trichoderma a 100X A) Conidios y Clamidosporas; B) Hifas; C) Fiálides.*

*Nota: Tomado de García et al., 2017.*

## **2.9. Mecanismo de Acción de *Trichoderma spp***

Sánchez et al. (2023) indican que existe una complejidad de interacciones entre los microorganismos y las plantas, que están delicadamente sincronizados y estimuladas por mensajes químicos intercambiados consecutivamente (Figura 5). Shenouda y Cox, (2021) y Vicente et al., (2022) indican que los microorganismos secretan como parte de su metabolismo compuestos conocidos como efectores (proteínas y metabolitos) que al estar en contacto con las plantas influyen en su fisiología, crecimiento inicial y activan los receptores de inmunidad, en particular nucleótidos y proteínas, permitiendo a las plantas luchar contra los organismos invasores. Estos mismos autores reportan la existencia de más de 800 compuestos producidos por el género *Trichoderma*, cuya biosíntesis depende del tipo de cepa y expresión genética.



**Figura 5.**

*Interacción microscópica de Trichoderma spp. con una planta: A) Interacción de T.spp. en rizoplano; B) Compuestos producidos en la raíz; C) Interacción con organismos fitopatógenos y nematodos.*

*Nota: Tomado de Sánchez et al. (2023).*

## 2.10. Importancia y usos de *N. pallida*

Rodríguez et al. (2005) indicaron que su importancia del algarrobo radica en las economías rurales del bosque seco, debido a los diferentes usos que se ha venido dando desde tiempos de antaño, actualmente en la industria y derivados, medicina, construcción, alimento y artesanías. Además, un principal uso del fruto es en la alimentación del ganado caprino de zonas de pastoreo áridas (Marmillon, 1986).

## 2.11. Germinación

La germinación es el primer paso en el crecimiento y desarrollo del embrión, que se inicia tras la imbibición. Es impulsado por la capacidad intrínseca del embrión vegetal, que se encuentra dentro de la semilla, para reiniciar su

metabolismo y actividad de manera secuencial. Primero, la semilla crea una raíz (radícula) para llegar al agua del suelo (Choudhury y Karmakar, 2020).

### **2.12. Vigor de la semilla**

El vigor de la semilla es un parámetro de calidad importante que se emplea para determinar el nivel de la actividad y el rendimiento de la semilla durante la germinación y la emergencia. Proporcionando fiabilidad para una siembra segura en campo definitivo (Marcos-Filho, 2015).

### **2.13. Antecedentes**

Aban et al. (2017) detectaron hongos simbióticos en las raíces de *Drynaria quercifolia* L. y fueron identificados a nivel molecular. El propósito fue investigar la generación de auxinas (AIA) en caldo Sabouraud dextrosa con triptófano, la solubilización de fosfatos en agar Pikovskaya con fosfato tricálcico y la actividad desaminasa de ACC en agar levadura con 3,0 mM de ACC como fuente de nitrógeno. Se consiguieron cinco aislados de hongos, reconociéndose como *T. yunnanense*, *T. simmonsii*, *Meyerozyma guilliermondii*, y dos cultivos de un *Mucoromycotina* desconocido. Todos los hongos generaron AIA; *M. guilliermondii*, *T. simmonsii* y un *Mucoromycotina* no reconocido solubilizaron fosfato tricálcico, mientras que los cinco hongos mostraron una actividad desaminasa de ACC, lo que demuestra la capacidad de los hongos como biofertilizantes.

Santana et al. (2016) indicaron en una investigación llevada a cabo acerca del efecto de los inoculados de *Trichoderma harzianum* cepa-34 en semillas de tomate, el porcentaje de germinación alcanzo el 67,2 % en comparación a los tratamientos aplicados. Estos resultados demostraron que las semillas tratadas con *T. harzianum* pueden lograr una mayor velocidad y porcentaje de germinación. A sí mismo, Gonzales et al., (2006) reportaron incrementos significativos respecto al control en la germinación de semillas tomate silvestre (*S. torvum* Sw.).

Castro y Rivillas (2005) lograron incrementar hasta un 90 % la germinación de semillas de café tratadas con *T. harzianum* en comparación con 70 % en

el tratamiento control. Cubillos et al., (2009) evaluaron el efecto de *T. harzianum* durante 15 días después de inoculada en semillas de Maracuyá, encontrando incrementos en la germinación a partir de cuatro días después de la inoculación. Resultados que pueden estar relacionados con los reportes sobre la producción de factores de crecimiento (auxinas, giberelinas y citoquininas) por *T. harzianum*, los cuales son liberados al medio y estimulan la germinación y el desarrollo de las plantas (Altomare et al., 1999; Valencia et al., 2005).

*Trichoderma spp.* puede influir beneficiosamente en la germinación de semillas, el desarrollo de raíces, el desarrollo de cultivos y el rendimiento de granos (Woo y Pepe, 2018; Chagas et al., 2021; Chagas et al., 2022), debido principalmente a su capacidad de solubilización de fósforo y síntesis de la hormona ácido indol acético (Chagas et al., 2017; Braga, 2019; Bononi et al., 2020). Los bioestimulantes basados en microorganismos son capaces de establecerse, colonizar y reproducirse en el suelo (Moreira, 2024).

Chagas et al. (2022) señalaron que las semillas de soja tratadas con *Trichoderma asperellum* promovió la germinación y la emergencia de las semillas, dado a que existe una relación asociada entre el hongo y planta germinada, donde ambas se benefician y cumplen su ciclo de vida, el hongo por su parte ocupa el nicho de nutrientes y la planta influye en el crecimiento o desarrollo, o incluso satisface sus necesidades nutricionales.

Además, *Trichoderma spp.* son capaces de producir zeaxantina y giberelina, es decir, compuestos que aceleran la germinación de las semillas. Por lo que, muchos *Trichoderma spp.* cepas producen ácido glucónico, cítrico y cumárico, lo que provoca la liberación de iones de fósforo y microelementos, que posteriormente quedan disponibles para las plantas (Yedidia et al., 2004).

Marium et al. (2024) llevaron a cabo una investigación sobre la micoflora presente en la rizosfera de leguminosas de especies arbóreas (*A. pavonina*, *L. leucocephala* y *P. Juliflora*), en la cual se identificaron 26 aislados que

pertencen a 19 géneros de 26 especies distintas de hongos en *N. pallida*. Entre los hongos más destacados se encontraron *Trichoderma viridi* y *T. Americana*. También se identificaron varios géneros significativos, como *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* y *Phoma*.

Reyes et al. (2022) realizaron una investigación sobre el efecto de pretratamientos con *Trichoderma*, *Bacillus* y un Testigo en la germinación de semillas de *Agave victoriae-reginae*, los PG totales de los tres tratamientos fueron mayores, con valores en *Thichoderma spp* de 85 %, *Bacillus spp* 86,7 % y 74 % para el Testigo al término de los 26 días. Este estudio además señalo que la germinación de las semillas de *A. victoriae* comenzó en el 5 día después de la siembra, con 29,6 %, 19,6 % y 12,6 % para las semillas tratadas respectivamente; el incremento exponencial de la germinación ocurrió entre los días 8° y 12°, esto por lo general puede haberse debido a que todas las semillas fueron viables; dado a que su almacenaje fue menor a un año después de su colecta, logrando su aceptabilidad. Además, de las condiciones ambientales que fueron favorables durante el desarrollo del experimento, las semillas presentaron niveles muy bajos de latencia.

La respuesta de vegetales silvestres a los microorganismos incorporados con especial énfasis en *Thichoderma spp*. pueden mejorar la producción a gran escala a nivel de vivero, empleando entre si una asociación combinada. Estos resultados son contractados con los registros por Delgado et al., (2010) con la especie *Opuntia streptacantha* Lem, planta de zonas áridas, en la que los hongos del género *Thichoderma* obtuvieron la capacidad de disolver la testa de la semilla, sin afectar el endocarpio, lo cual facilita la emergencia del embrión. Además, los hongos liberaron exudados radicales, entre los cuales están los azúcares, mucilago, ácidos orgánicos, y aminoácidos, que pueden aportar nutrientes para los embriones, e incluso promover el posterior crecimiento de las plántulas (Ahmad et al., 2008; Gómez et al., 2013).

Además, algunos de los biocompuestos producidos por estos inoculantes con *Thichoderma spp*, estimulan el sistema inmune de la plántula, inhiben el

desarrollo de fitopatógenos, lo que representa una ventaja para las nuevas plántulas (Guillén et al., 2006).

En plantaciones forestales con especies de coníferas, la incorporación de microorganismos como micorrizas también ha mostrado aumentos en la supervivencia de las plántulas (Gómez et al., 2013). Esto demuestra el gran papel que tienen los microorganismos durante las primeras etapas del ciclo de vida de las especies vegetales, a través de interacciones bióticas como el mutualismo (Sieber, 2007). Por ello, es de vital importancia introducir este tipo de microorganismos *Trichoderma spp*, en la producción de especies forestales en vivero (Ortega et al., 2004).

Por otro lado, las semillas que logran germinar mayormente son las que cumplen características morfológicas deseables, referentemente a tamaño, peso, estructura, color y libres de ataques por patógenos en el medio natural; estas semillas a su vez son vigorosas genotípicamente (Sánchez et al., 2011). Otros factores que pueden atribuirse es la humedad del suelo, lo que favorece las condiciones ideales para detonar la germinación (Probert, 2000).

Santos et al. (2020) evaluaron efectos de aislados de *Trichoderma spp*. en la germinación de semillas de *Handroanthus serratifolius* (guayacán), las semillas se suspendieron junto con las cepas fúngicas purificadas, obteniéndose a *Trichoderma asperellum* – TAM03 con mayor porcentaje de germinación del 76,5%, este resultado demostró que *T. asperellum* – TAM03 afectó positivamente la germinación en comparación con otros tratamientos y el control; Sin embargo, las semillas tratadas con *Trichoderma spp* – Tc tuvieron el GSI más bajo, este resultado difiere del reportado por (Santos et al., 2018) quien no encontraron diferencias significativas entre los grupos de control y experimentales. Además, Pereira et al., (2019), quienes evaluaron cuatro cepas distintas de *Trichoderma spp*. no presentaron disminución en la tasa de germinación, al tratarse de plantas de lechuga, dado a que todos los hongos probados fueron beneficiosos.

Salto et al. (2019) investigaron acerca del efecto de la fertilización e inoculación con cepas nativas de rizobios sobre el crecimiento de plántulas de *Prosopis alba* en condiciones de vivero, en este trabajo evaluaron en condiciones de vivero, el efecto combinado de la inoculación con rizobacterias específicas y niveles de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) sobre el crecimiento y nodulación de plántulas de *P. alba*. Las semillas fueron inoculadas dos días después de la siembra con una mezcla que contenía tres aislados específicos de rizobacterias y se fertilizaron con tres NO<sub>3</sub><sup>-</sup> concentraciones (0, 2,8 y 21,6 mM). La inoculación combinada con NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 2,8 mM – aumentó el número de hojas y favoreció el diámetro del cuello, sin un efecto significativo sobre la altura total. La fertilización con NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 21,6 mM estimuló el crecimiento de las plántulas, produciendo las plántulas más altas con el mayor número de nudos con hojas y el menor porcentaje de plantas noduladas.

Barrera y Gonzales (2022) realizaron una investigación, con el objetivo de determinar el potencial de los endófitos de *P. limensis Benth.* "Johannesbrød" como promotor del crecimiento del maíz (*Zea mays* L.) en condiciones de estrés por salinidad y sequía. Estas bacterias fueron aisladas de raíces y ramas de algarrobo. En total obtuvieron 496 especies de bacterias endófitas. De estas, el 7,9 % demostró actividad de 1-aminociclopropano-1-carboxilato desaminasa, el 76,92 % produjo ácido indolacético y el 61,53 % fosfato disuelto. *Pseudomonas* 306 y *Klebsiella spp.* 162 presentaron tolerancia a la salinidad (8% NaCl) y a la sequía (20% polietilenglicol PEG-6000) y se redujo los efectos del estrés. En términos porcentuales, el mayor incremento del crecimiento del maíz se logró en suelo salino en cuanto a altura, longitud de raíz (36,98 - 43,4 %), biomasa fresca (25,48 - 26,96 %) y raíz seca (22,48 - 46,68 %), biomasa aérea fresca (26,61 - 33,81 %) y clorofila (2,61 - 33,81 %) y 2,6,8 % -1 hl, con sequía en biomasa aérea seca (26,61 - 27,63 %) y relación hoja/raíz (8,66 – 11 %). Pudieron demostrar el potencial de las bacterias endófitas como promotores del crecimiento del maíz en condiciones de salinidad y sequía.

Talbi et al. (2016), evaluaron el efecto de la doble inoculación con endomicorrizas y *Trichoderma harzianum* en el crecimiento de plantas de algarrobo, concluyendo que el valor potencial debido a inoculación con micorrizas sobre el crecimiento y desarrollo de la semilla de algarroba. Sin embargo, el uso de un inoculo de base funcional de hongos AM como técnica biotecnológica permitirá un mejor aprovechamiento de nutrientes de los sustratos de cultivo para obtener mejoras del crecimiento de las plantas utilizadas en la reforestación, restauración de ecosistemas degradados. Por consiguiente, una doble inoculación de plantas por endomicorrizas y *Trichoderma harzianum*, reforzar el sistema radicular y la fuerza de las plantas de vivero y fomentar su instalación después del trasplante en el medio ambiente.

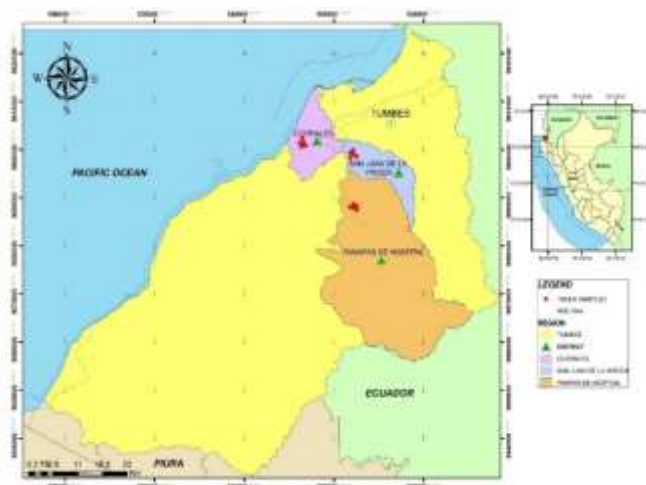
### III. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1. Fase de campo

##### 3.1.1. Ubicación del área de estudio

Este estudio fue realizado en la región de Tumbes, Perú; entre los años 2024 y 2025. La región de Tumbes, situada al Noroeste del Perú, ubicada entre la cordillera de los amotapes y la llanura costera de los manglares (SERNANP, 2022). Con una superficie de 4 669,20 km<sup>2</sup> (0,36 por ciento del territorio nacional).

La investigación se desarrolló en los distritos y/o localidades representativas de comunidades de algarrobo en tres zonas distintas de la región de Tumbes (muestreo proporcional con representación de todas las localidades productivas de algarrobo de Tumbes) a saber: Corrales (Estación Experimental del INIA); San Juan de la Virgen (Parque Ecológico de algarrobos); Pampas de Hospital (CCP-Pueblo Nuevo) (Figura 6), cuyos datos georreferenciales y climatológicos aparecen en la (Tabla 1).



**Figura 6.**

*Zonas de muestreo en tres localidades de la Región de Tumbes.*

**Tabla 1.**

*Ubicación geográfica y variables climatológicas de las zonas muestreadas en tres distritos de la Región de Tumbes, Perú, 2024.*

Provincia	Distrito	Zona muestreada	P (mm)	T° Media	T° Max	Coordenadas WGS84 17 S		A (m s. n. m.)
						Este	Norte	
Tumbes	Corrales	EEA- Los Cedros	21,70	27.5	33	552198.00	9600753.00	6
						552228.00	9600761.00	6
						552238.00	9600748.00	6
						552262.00	9600720.00	6
						552285.00	9600690.00	6
Tumbes	San Juan de la Virgen	Parque Ecológico de algarrobos	15,00	28	32	563646.00	9599232.00	26
						563661.57	9599254.87	26
						563652.00	9599265.00	26
						563634.00	9599274.00	26
						563626.00	9599259.00	26
Tumbes	Pampas de Hospital	Pueblo Nuevo	16,10	28	32.5	5664347.00	9587798.00	31
						564344.00	9587827.00	31
						564333.00	9587843.00	31
						564350.00	9587863.00	31
						564321.00	9587861.00	31

Nota. P= precipitación WGS 84 17 S= Sistema geodésico mundial de 1984 zona 17 sur

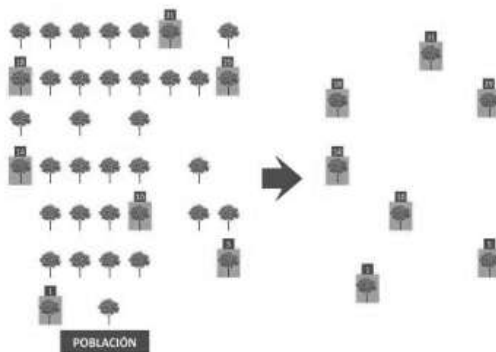
T°= Temperatura A= altitud

### 3.1.2. Muestreo de individuos (*N. pallida*)

#### 3.1.2.1. Muestreo al azar

Se realizó un muestreo al azar por especie según la distribución poblacional en el área de estudio, dado a que la misma probabilidad de ser seleccionado para integrar la muestra, permite obtener alrededor del 56 % de alelos raros. En la (Figura 7) se ilustra este tipo de muestreo. Para la evaluación fenotípica correspondiente a la clasificación de árboles semilleros, se realizó un recorrido por toda el área de estudio, donde se evaluó de forma individual a cada árbol de interés. Adicionalmente se escogieron los mejores arboles “elite” como lo sugiere carrillo et al., (2020). Para lo cual, se consideraron las siguientes características dasométricas para árboles forestales.

1. **Diámetro a la altura de pecho (DAP):** la medida de la circunferencia a la altura del pecho (CAP) se realizó a 1,30 m sobre el nivel del suelo con una cinta.
2. **Altura total:** se tomaron datos desde la base del tronco del árbol hasta la cima de la copa utilizando un Clinómetro marca SUUNTO.
3. **Altura fustal:** se consideró la medida desde la base del árbol hasta el inicio de la bifurcación o el desarrollo de las ramas principales, medida con una wincha.
4. **Estado sanitario:** se llevó a cabo una inspección detallada de toda la planta para observar la presencia de plagas o enfermedades.
5. **Diámetro y forma de la copa:** se consideró la proyección de la copa del árbol. A partir de esa proyección, se marcaron puntos en el suelo y se tomaron medidas en forma de cruz.



**Figura 7.**

*Muestreo al azar de plantas "élite" de N. pallida.*

*Nota: Tomado de carrillo et al., 2020.*

### 3.1.3. Georreferenciación y codificación

El Área de estudio se georreferencio, al igual que las muestras que se obtuvieron y los árboles plus (productores de frutos), según el software ArcMap 10.5 donde se determinó las áreas y los puntos centrales de las subparcelas donde albergaban la mayor cantidad de especímenes de *Neltuma pallida*, con la ayuda de un GPS basado en el sistema de coordenadas UTM - WGS 84, Zona 17 S. A su vez, se empleó el software Google Earth para contrastar los datos obtenidos, se observó la cobertura vegetal desde los sensores espaciales, así como la sectorización de los espacios de la presente investigación. Se codificaron los individuos de *N. pallida* georreferenciados en los diferentes sectores de estudio, empleando placas metálicas en la que se escribió el nombre común, nombre científico, número de individuos, nombre de la institución con un código de identificación adicional para futuros estudios (Figura 8). Se siguió, paulatinamente, una serie de medidas protocolares en el área de estudio para evitar alguna alteración al medio ambiente, estas placas se colocaron con un hilo transparente de resistencia y permanencia en el tiempo.



**Figura 8.**  
*Georreferenciación y codificación de árboles de algarrobo (N. pallida).*

#### **3.1.4. Técnica de recolección de frutos de algarrobo a partir arboles “élite”**

Se realizó una prospección para reconocer y seleccionar plantas jóvenes de *Neltuma pallida*, con características de expresión fenotípicas adecuadas; como, buena vigorosidad, libre de plagas y enfermedades y sin daños mecánicos, tal como lo sugiere García (2021).

La recolección del material vegetal de algarrobo (frutos) fue netamente del bosque seco de Tumbes en los tres sectores muestreados, siguiendo los proctólogos y sugerido por Justiniano et al. (2000) para especies forestales. Estos frutos se tomaron a una altura de 1,30 m de la superficie del suelo, es decir, que el árbol de donde se extrajo presento ramas bajas donde se quitaban con la mano. La recolección de estas semillas se realizó en fase de mayor dispersión natural y los frutos colectados estuvieron ubicados de ramas bajas y más altas, según el punto cardinal de orientación (este, oeste, norte, sur). Se precisó que el pericarpio del fruto cambiara de color, es decir, cuando el fruto estuvo con una maduración al 100%.

#### **3.1.5. Selección de árboles para captura de hongos en la rizosfera de plantas de plantas de algarrobo.**

Para la selección de árboles de algarrobo y poder capturar sus hongos de su rizosfera, se empleó el Manual Técnico de Conservación y Propagación de Especies de Algarrobo (*Neltuma spp*) sugerido por Carrillo et al. (2020). Donde se comparó el árbol candidato y arboles vecinos con la finalidad de elegir al árbol con mejor calificación (arboles sanos), se comparó cinco árboles en un radio de 20 metros vecindario, definiendo con un círculo de 10 a 20 metros de radio (Tabla 2) (Figura 9) en el que se registraron medidas y puntajes para cada árbol en comparación y candidatos. Luego se realizó un cálculo para obtener la diferencia de selección o puntaje final del árbol candidato, dependiendo de la dominancia del candidato con respecto al ejemplo comparativo resultante.

**Tabla 2.**

*Métricas para la valoración de “árbol plus” de las especies de N. pallida*

Árbol	Porcentaje de ramas con fruto <sup>A</sup> (0,3)	Palatabilidad <sup>B</sup> (0,2)	Forma de la copa <sup>C</sup> (0,2)	Estado fitosanitario <sup>D</sup> (0,15)	Forma del fuste <sup>E</sup>	Puntaje (1)
Posible Candidato						
1 vecino						
2 vecino						
3 vecino						
4 vecino						
A	porcentaje de ramas con frutos: 2,10 %; 1,75 %					
B	Palatabilidad: 2. Muy dulce; 1. Dulce					
C	Forma de la copa: 2. Aparasolada; 1. regular					
D	Nivel fitosanitario: Sano (2); Presencia de ataque biológico (1)					
E	La forma del fuste: Recto (2); Torcido (1)					

Nota. Adaptado de Aguirre y Fassbender (2013)



**Figura 9.**

*Reconocimiento y Selección de ejemplares de N. pallida.*

### 3.1.6. Captura de Hongos mediante el uso de trampas de Arroz

Para la captura de hongos de la rizosfera del algarrobo, se empleó el método descrito por Ávila y col. (2014) el cual sugiere el siguiente procedimiento: Se coció el arroz durante 10 minutos, posteriormente se colocó el arroz cocido (3 a 5 g por trampa) a vasos descartables estériles con una cuchara desinfectada por acción de calor en la misma olla. Inmediatamente se procedió a tapar el vaso con tela garza y se selló los bordes con una liga beige. Seguidamente se instaló la trampa de arroz boca abajo con la ayuda de una palana desinfectada con alcohol al 96%, a una profundidad de 30 cm (Figura 10), permitiendo observarse a aire libre la mitad del vaso rotulado correctamente, se dejó de 3-7 días con temperatura del lugar (Serralde et al., 2004).



**Figura 10.**

*Captura de Trichoderma spp. con el uso de trampas de arroz en rizósfera de N. pallida.*

### 3.1.7. Recolección de trampas de hongos

Las trampas se recolectaron después de siete días, en condiciones asépticas, se pasaron a una bolsa ziploc y se rotularon (Figura 11). Posteriormente, se trasladaron al laboratorio de Agrobiotec en un cooler, estas muestras se colocaron en una refrigeradora a 8 °C para luego ser procesadas (Junes y Ramírez, 2019).



**Figura 11.**

*Imagen referencial de trampas de arroz capturada de (*Trichoderma* spp).*

### 3.1.8. Escarificación biológica de semillas de *N. pallida*, mediante endozoocoria con *Capra hircus*

Se evaluó la eficacia de endozoocoria en condiciones de ex situ como consecuencia de la alimentación de cabras criollas (*Capra hircus*) asistida con pasto de corte (cuba 22) en la mañana, y en la tarde con frutos de algarrobo-(Salinas, 2021).

#### **Recuperación de semillas**

**Evaluación ex situ:** Alimentación (pasto de corte cuba 22 – frutos de algarrobo).

#### **a. Lugar**

La recuperación de las semillas ex situ se realizó en una unidad agropecuaria localizada en el centro poblado de Cieneguillo Sur, provincia de Sullana y Región de Piura (4° 59'6.69'' S, 80° 39'34.27''O, 78.58 m. s. n. m), caracterizada por un clima árido, de vida de matorral desértico, donde las condiciones climáticas de

precipitación promedio es de 95 mm al año y la temperatura media oscila entre 28°C (SENAMHI, 2020). Para el experimento se eligió un área de 200 m<sup>2</sup> (10 m de ancho por 20 metros de largo), con abundancia de sombra por *Neltuma pallida*.

**b. Animales**

Los animales contemplados en el estudio fueron cabras jóvenes de aproximadamente 1 año y medio de edad, separadas de los otros compartimentos (crías pos-destete, cabritos en crecimiento y cabras adultas).

**c. Alimentación**

El hato (cabras) se les proporciono una alimentación balanceada, esto fue en horas tempranas con forraje de corte (cuba 22), y por la tarde con frutos de algarrobo en cantidad de 1.5 a 2.5 kg.

**d. Colección de semillas escarificadas**

Se tomaron 3 kg de heces de cada corral durante los días de evaluación, las cuales se depositaron en bosas ZIPLOC herméticas a temperatura ambiente, y se transportaron hasta el Laboratorio AGROBIOTEC SAC, donde se extendieron en una malla de plástico expuestas al sol a una temperatura de 30°C para luego almacenarse para su posterior utilización en los experimentos respectivos.

**e. Estimación de semillas recuperadas**

La recuperación de la semilla se realizó en el laboratorio AGROBITEC SAC, a partir de las muestras colectadas de 3 kg. Se extrajo 22 submuestras de 30 g de heces de manera independiente, cuidadosamente se procedió a desintegrar cada pellet de heces utilizando guantes de látex a fin de no causar daño a las semillas. Se determinó la densidad de semillas, expresándose en términos de numero de semillas por 30g de heces, mediante la siguiente formula:

$$Densidad\ de\ semillas = \frac{\#semillas\ encontradas}{submuestra}$$

**f. Caracterización morfológica y rendimiento de semillas pre ingestión**

Se realizó una caracterización morfológica a las semillas antes de entrar en el tracto digestivo de las cabras, estas características de semillas fueron: peso (g), Longitud (cm), espesor medio del fruto (cm) y peso medio de semilla (g). Asimismo, se estimó el rendimiento, expresado como el número de semillas sanas por gramo de fruto (semillas sanas/g), que no presentaron aparentemente ataques por patógenos.

$$\text{Rendimiento} = \frac{\# \text{semillas sanas}}{\text{g de fruto}}$$

**g. Caracterización de semillas post ingestión**

Igual que en caso anterior, se realizó una evaluación de las características morfológicas con las mismas variables. Además, se tomó en consideración las tonalidades del color de las semillas.

**h. Selección de la semilla**

Las semillas que se recuperaron de las heces de los animales (cabras) en el experimento fueron seleccionadas de acuerdo con sus características morfológicas. Posteriormente lavadas, secadas y almacenadas para su posterior utilidad en los tratamientos a aplicarse.

**3.1.9. Evaluación de *Trichermas spp.* en la germinación de semillas recuperadas biológicamente de algarrobo.**

Para la estimación de la germinación; se trató las semillas de algarrobo en una primera instancia al pasar por el tracto digestivo de las cabras (Escarificación biológica) y en segunda instancia al aplicar los *Trichodermas spp* puros. Se evaluó el efecto sobre la germinación de semillas de algarrobo (*Neltuma pallida*) recuperadas del proceso de

escarificación biológica. Se incluyó un control (semillas extraídas de frutos sin tratamiento biológico, liberadas manualmente desde los frutos). Las semillas recuperadas se desinfectaron con hipoclorito al 1 %, alcohol al 70 % y agua destilada, enjugándose por 6 veces consecutivamente, antes se sumergieron en agua durante 24 horas para poder ver su viabilidad (Ramos et al., 2021)

Para la inoculación de las semillas, se conformaron un total de 16 tratamientos, que contuvieron 15 cepas puras y un control (Tabla 3) en un diseño experimental completamente Aleatorio (DCA) sugerido por Kuehl, (2001) con cuatro repeticiones por tratamiento. La unidad experimental estuvo constituida por una tarrina conteniendo 25 semillas, haciendo un total de 100 semillas por tratamiento y 1600 en todo el experimento (población total). Se tuvo en cuenta la forma y tamaño de las mismas, quedando descartadas las semillas de menor tamaño y las deformes. Se inocularon las semillas con cepas puras de *Trichoderma* ssp. a una concentración de  $1 \times 10^8$  conidios/ ml.

Para la siembra de semillas inoculadas se utilizó un sustrato a base de cascarilla de arroz, hojarasca de algarrobo y tierra agrícola en una proporción 3:2:1 extraído del hábitat de la especie forestal, se llenó en bolsas de papel Kraft de 2 kg y se esterilizó a una temperatura de 180 °C por el espacio de 60 min. Posteriormente, los sustratos se depositaron en tarrinas (previamente lavadas y desinfectadas con alcohol etílico 70 %), conteniendo el sustrato preparado y esterilizado.

**Tabla 3.**

*Descripción de los tratamientos para el ensayo de inoculación de semillas con Trichoderma spp.*

Tratamiento	Descripción	Semilla Placas/ tarrinas	Replicas (Tarrina)	Total, de semillas
T1	semilla cabras - cod.I3.a recuperada de heces de cabras más <i>Trichoderma</i> semilla	25	4	100
T2	cabras - cod.Ph1c recuperada de heces de cabras más <i>Trichoderma</i> semilla	25	4	100
T3	cabras - cod.I4.b recuperada de heces de cabras más <i>Trichoderma</i> semilla	25	4	100
T4	cabras - cod.I4.a recuperada de heces de cabras más <i>Trichoderma</i> semilla	25	4	100
T5	cabras - cod.IN4D recuperada de heces de cabras más <i>Trichoderma</i> semilla	25	4	100
T6	cabras - cod.PH3.B recuperada de heces de cabras más <i>Trichoderma</i> semilla	25	4	100
T7	cabras - cod.I2.A recuperada de heces de cabras más <i>Trichoderma</i> semilla	25	4	100
T8	cabras - cod.PH1B recuperada de heces de cabras más <i>Trichoderma</i> semilla	25	4	100
T9	cabras - cod.I5.A recuperada de heces de cabras más <i>Trichoderma</i> semilla	25	4	100
T10	cabras - cod.IN4A recuperada de	25	4	100

		heces de cabras más <i>Trichoderma</i> semilla			
T11	cabras - cod.IN4E	recuperada de heces de cabras más <i>Trichoderma</i> semilla	25	4	100
T12	cabras - cod.I4.B	recuperada de heces de cabras más <i>Trichoderma</i> semilla	25	4	100
T13	cabras - cod.I3.B	recuperada de heces de cabras más <i>Trichoderma</i> semilla	25	4	100
T14	cabras - cod.IN4B	recuperada de heces de cabras más <i>Trichoderma</i> semilla	25	4	100
T15	cabras - cod.I5.B	recuperada de heces de cabras más <i>Trichoderma</i> semillas intactas	25	4	100
T0	Control 1	extraídas de frutos sin tratar	25	4	100

### 3.1.10. Registro de datos obtenidos

#### Germinación de semillas

Se consideraron ocho parámetros: Porcentaje de germinación, Porcentaje de germinación acumulada, Velocidad media de germinación, Tiempo medio de germinación, Uniformidad germinativa, Valor germinativo, Índice de vigor y Porcentaje de coeficiente de Tinsom. La germinación de las semillas se evaluó diariamente hasta los 22 días. días desde la siembra, se consideró la semilla germinada cuando presentaba la emergencia de la radícula en una longitud de 2 mm.

**1- Porcentaje de germinación (%G):** se contaron todas las semillas germinadas por tratamiento biológico durante el tiempo que demoró el experimento. Para calcular el porcentaje de germinación se aplicó la siguiente fórmula (Flores et al., 2020).

$$\%G = \left(\frac{GA}{M}\right) * 100$$

Donde:

%G=Porcentaje de germinación.

GA=Germinación acumulada hasta la última evaluación.

M=Cantidad de semillas sembradas.

**2- Porcentaje de germinación acumulada (% GA):** se contaron todas las semillas germinadas diariamente por cada uno de los tratamientos biológicos durante el tiempo que demoro el experimento. Para calcular el porcentaje de germinación acumulada se aplicó la siguiente formula (Guerrero et al., 2023).

$$\%GA = \left(\frac{Nmax}{N}\right) * 100$$

Donde:

%GA=Porcentaje de germinación acumulada

Nmax= Número máximo de semillas germinadas por día.

N= Numero de semillas

**3- Velocidad medio de germinación (VMG):** se estimó la tasa a la que germinan las semillas en un período de tiempo específico. Se expreso el número de semillas que germinan por día, semana o cualquier otra unidad de tiempo. Para calcular la velocidad media germinación se aplicó la siguiente formula. (Moreno et al., 2013).

$$VMG = \frac{P1}{T1} + \frac{P2}{T2} + \dots + \frac{Pn}{Tn}$$

Donde:

VMG= Velocidad media de germinación

P= Numero de semillas germinadas

T= Tiempo de germinación

n= Día ultimo control

**4- Tiempo medio de germinación (TMG):** se calculó mediante la ecuación mostrada por (Martínez et al., 2012).

$$TMG = \frac{Spg}{Sg}$$

$$Spg = \frac{T1 + T0}{2} xG1 + \frac{T2 + T1}{2} xG2 + \dots + \frac{Te + Te - 1}{2} xGe$$

Donde:

TMG= Tiempo medio de Germinación

Spg= Suma de puntos medios por germinación sencillas.

Sg= Suma de semillas germinadas

**5- Uniformidad germinativa (UV):** para evaluar se determinó la Desviación Típica del Tiempo de Germinación (DTG).

**6- Valor Germinativo (VG):** para su determinación se utilizó la formula descrita por (Barone et al., 2016).

$$Spg = \frac{\frac{G1}{T1} + \frac{G2}{T2} + \dots + \frac{Ge}{Te}}{M}$$

Donde:

VG=Valor germinativo o índice de Maguire.

G<sub>i</sub>=G1 + G2 +G3 +. . . + Ge.

G<sub>i</sub>=Germinación sencilla de iésima evaluación.

T<sub>i</sub>= T1 + T2 + .... + Te.

**7- Índice de vigor (IVS):** Para estimar se empleó la formula descrita por (Guerrero, 2023).

$$IVS = \frac{PG(\%) * (AP(cm) * TR(cm))}{100}$$

Donde:

IVS= Índice de vigor de la semilla

%PG= Porcentaje de germinación

AP= Altura de plántula al término de la evaluación

TR= Tamaño de la raíz

**8- Porcentaje de coeficiente de Tinsom:** se calculó mediante la ecuación mostrada por (Flores et al., 2021).

$$PCT = \frac{\sum gi}{T}$$

PCT= Porcentaje de coeficiente de Tinsom

gi= Porcentaje de germinación en el día

T=Tiempo total de germinación

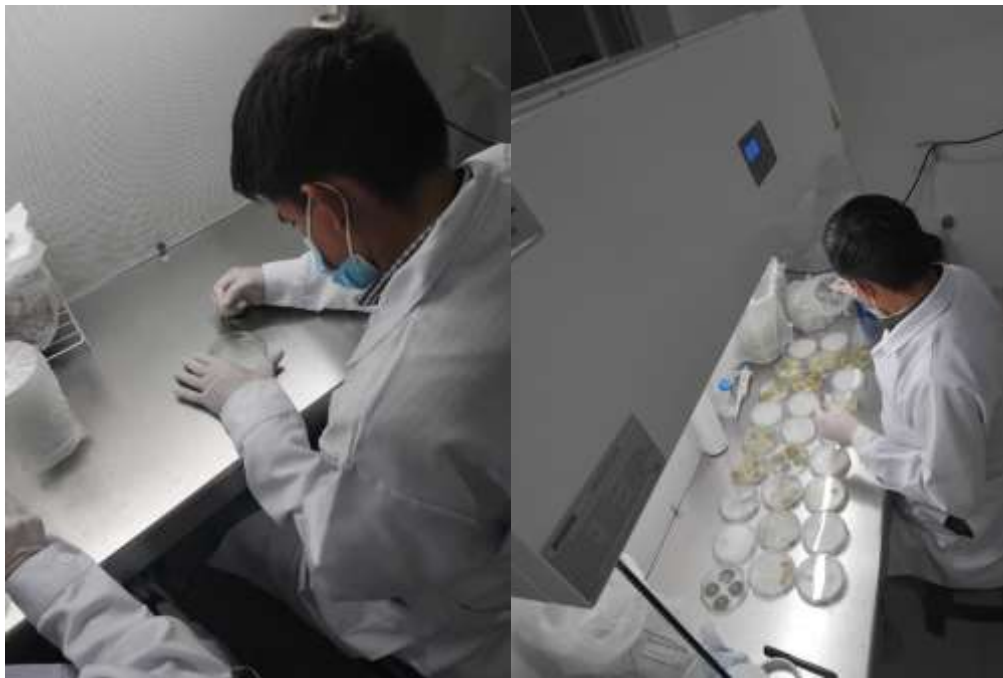
Los datos cuantitativos obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante un ANOVA y las pruebas de significación de DUNCAN (5%), para validar la hipótesis nula se realizaron las pruebas de interdependencia Durbin-Watson (D-W), normalidad Shapiro-Wilk (W), homogeneidad de varianza Levene (L) y Finalmente Tukey para la significancia de comparaciones múltiples en los tratamientos biológicos aplicados.

### 3.2. Fase de laboratorio

#### 3.2.1. Aislamiento de hongos (*Trichoderma spp.*) de la rizosfera de árboles de algarrobo.

Para aislar potenciales endofíticos *Trichoderma spp.* de la rizosfera del algarrobo (*Neltuma pallida*) a partir de las muestras obtenidas de vasos de arroz cosido, estas se procesaron en una cabina de flujo laminar (Figura 12). Se observaron las colonias de tonalidades verdes y por dio

de punzada directa con palillos finos se picó a una nueva placa Petri, en medio de Papa dextrosa Agar (PDA) con antibiótico (para evitar el crecimiento de bacterias), frecuentemente utilizados para la obtención de micelio. Posteriormente los aislamientos y purificación de hongos fueron realizados mediante el método de crecimiento sucesivo en medio PDA, se dejó incubar a 28-30°C por siete días hasta la obtención de una cepa purificada (Domínguez et al., 2013).



**Figura 12.**

*Aislamiento de colonias del género *Trichoderma* a partir de vasos de arroz cosido, rizosférico de una planta de *N. pallida*.*

### **3.2.2. Caracterización Morfológica de hongos (*Trichoderma* spp.)**

Para la caracterización morfológica de *Trichoderma* spp. se empleó el método descrito por Sanabria et al., (2023); Acuario y España, (2017).

Se cultivaron 15 aislados monospóricos de *Trichoderma* spp. en medio PDA durante 3 días a  $28 \pm 2$  °C. Se evaluó el crecimiento y el color de las colonias. Para describir los colores, se empleó el modelo de color RGB disponible en ArtyClick Colors (ArtyClick Pty Ltd, Sídney, Australia, <https://colors.artyclick.com/color-name-finder/>).

Las dimensiones de los conidióforos, fiálides y conidias se midieron utilizando un microscopio con cámara digital (3 MP, AMScope, EE. UU.), junto con el software AMScope versión 4.7. Se realizaron análisis descriptivos de las mediciones mediante el software InfoStat (versión 2017), reportando las medias acompañadas de sus respectivas desviaciones estándar. Para las mediciones macroscópicas se utilizaron tres réplicas biológicas por aislado, mientras que para las mediciones estructurales microscópicas se emplearon 45 réplicas por aislado.

Las características macro y microscópicas fueron comparadas con las claves de identificación de géneros de *Deuteromycetes* sugeridas por Gams y Bissett, (1998). Para especies de *Trichoderma* spp. por Girard, (1964) y la clave interactiva de la APS por Samuels et al., (1996).

### **3.2.3. Identificación molecular en base al análisis de homología de la secuencia parcial del Gen espaciador transcrito interno (ITS)**

La identificación molecular se efectuó a las mejores cepas puras de especies de *Trichoderma* spp, las cuales mostraron relevancia en los tratamientos biológicos de germinación de las semillas e índice de vigor de (*N. pallida*); los códigos (PH35, IN44E, IN4A, I2 y PH1). Las cepas fueron identificadas molecularmente siguiendo los siguientes pasos:

### **3.2.4. Extracción de ADN de hongos del género *Trichoderma***

Para la extracción de ADN de hongos provenientes de la rizosfera del algarrobo se utilizó el protocolo CTAB descrito por Kadu, (2019) siguiendo los siguientes pasos:

1. Se extrajo un fragmento de 1 cm<sup>2</sup> de micelio de un cultivo de 7 días y se colocó en un microtubo, asegurándose de no incluir partículas de agar.

2. El micelio se lavó con 1 ml de agua destilada estéril, luego se centrifugó a 12,000 rpm durante 2 minutos y se desechó el sobrenadante.
3. Se calentó el PRE-BUFFER junto con el CTAB al 10% a 60°C.
4. El micelio se maceró y se añadió el BUFFER CTAB 2X (395 µl del Pre-Buffer, 100 µl de CTAB al 10% y 5 µl de β-Mercaptoetanol).
5. Se incorporaron 2.5 µl de Proteinasa K a 20 mg/ml y se agitó en vortex.
6. Se incubó la mezcla a 55°C durante 1 hora, agitando cada 15-20 minutos durante el proceso de incubación.
7. Se añadió 700 µl de Fenol-Cloroformo-Alcohol Isoamílico (25:24:1).
8. Se centrifugó a 13,000 rpm por 15 minutos.
9. Se transfirió el sobrenadante a un nuevo microtubo.
10. Se añadió 1 volumen de cloroformo-alcohol isoamílico (24:1).
11. Se centrifugó nuevamente a 13,000 rpm durante 15 minutos.
12. Se recuperaron entre 250 y 300 µl de sobrenadante y se transfirieron a otro microtubo.
13. Se incorporó 0.1 volumen (25-30 µl) de Acetato de Sodio 3M (pH 5.2) y 500 µL de Isopropanol frío.
14. Se incubó la mezcla a -20°C durante 1 hora.
15. Se centrifugó a 13,000 rpm por 15 minutos y se descartó el sobrenadante.
16. Se añadió 400 µl de Etanol al 75% y se centrifugó a 13,000 rpm por 10 minutos.
17. Se eliminó el sobrenadante y se dejó secar el pellet durante aproximadamente 15 minutos.
18. El ADN se resuspendió añadiendo 50 µl de TE 1X (Tris-HCl 10 mM, pH 8.0 y 1 mM de EDTA, pH 8.0).
19. Se añadió 1 µl de RNasa a 10 mg/ml e incubó a 37°C durante 1 hora.
20. El ADN se almacenó a -20°C.

**a) Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para la identificación de hongos**

Se llevó a cabo la amplificación de la región ITS para la identificación taxonómica de hongos mediante la técnica PCR. Para ello, se utilizaron los cebadores ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (Anexo 1)

**b) Electroforesis**

Los amplicones de los *Trichoderma spp.* obtenidos de la rizosfera del algarrobo mediante PCR fueron sometidos a análisis en un gel de migración. Para preparar el gel, se disolvieron 2.2 g de agarosa en 120 ml de solución TAE, calentándose hasta que la agarosa se disolvió completamente. Posteriormente, se incorporaron 6 µl de bromuro de etidio, y la mezcla se dejó enfriar durante unos minutos. Luego, se vertió la solución en una cubeta de electroforesis y se colocó la peineta en el extremo negativo del gel para formar los pocillos una vez solidificado. Se preparó una mezcla con 2 µl de tampón de depósito (bromofenol azul) y 8 µl de los amplicones, los cuales fueron cargados en los pocillos. Luego de unos minutos, el gel se colocó sobre un transluminador para observar la migración de las moléculas de ADN. Finalmente, se utilizó un marcador de peso molecular para determinar el tamaño del amplicón (Anexo 1).

**c) Secuenciamiento de amplicones obtenidos y análisis informático**

Los amplicones obtenidos de los hongos asociados a la rizosfera de algarrobo fueron enviados a secuenciar mediante la técnica de Sanger. Las bandas de intensidad fuerte y moderada fueron previamente diluidas en agua ultra pura. El análisis bioinformático se llevará a cabo utilizando el software de código abierto BLAST nucleotide, y mediante la comparación de secuencias, se identificarán las especies de hongos asociadas a la rizosfera del algarrobo.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

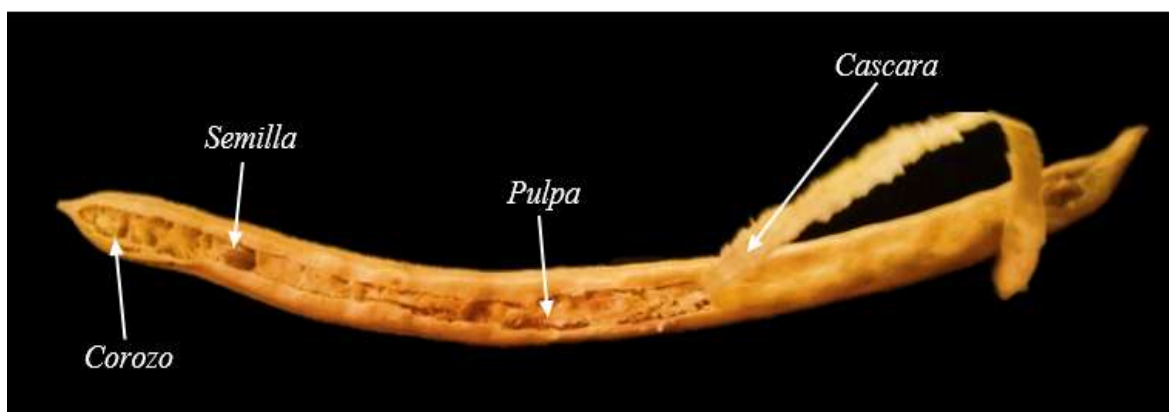
### 4.1. Características morfológicas de los frutos y semillas de *Neltuma pallida* utilizadas en los experimentos y recuperación de semillas pos-ingestion de *Capra hircus*.

El aspecto de los frutos (Figura 13) que se colectaron, indica que la semilla no presenta dehiscencia o liberación natural, lo que se infiere que los frutos fueron procesados por el tracto digestivo de herbívoros para la especie vegetal de *Neltuma pallida*. Se establecieron muestreos donde se observó que los frutos en su gran mayoría son atacados por insectos asociados a la especie, roedores que aprovechan la parte del mesocarpio y exocarpio, lo cual esparcen las semillas junto al endocarpio favoreciendo la germinación en su habitat natural. Los frutos de *N. pallida* colectados en el bosque seco tropical mostraron vainas con longitudes apropiadas y peso favorable para su respectivo almacenaje (Tabla 4), estos resultados concuerdan con los reportes de Carrillo et al., (2020) para frutos de algarrobo como parte de su conservación y propagación de especies silvestres cultivadas.

**Tabla 4.**

*Medidas morfológicas de frutos de algarrobo del bosque seco.*

Variable	Número	Media $\pm$ ES (g)	CV (%)
Peso del Fruto	75	6.57 $\pm$ 0.31	33.70%
Longitud del fruto	65	21.6 $\pm$ 0.33	16.60%
Espesor medio del fruto	25	5.35 $\pm$ 0.14	15.70%



**Figura 13.**

*Característica interna y externa del fruto de N. pallida.*

**Tabla 5.**

*Características generales de las semillas pre-ingesta*

Especie	Peso(g)	L(mm)	A(mm)	E(mm)	Color	Forma	Aspecto Externo
<i>Neltuma pallida</i>	0,04	6,12	4,23	2,18	Amarillo pálido claro	ovalada	Lisa, dura, brillante

Escala: L (largo); A (ancho); E (espesor).

**Tabla 6.**

*Características generales de las semillas pos-ingesta*

Especie	Peso(g)	L(cm)	A(cm)	E(cm)	Color	Forma	Aspecto Externo
<i>Neltuma pallida</i>	0,03	6,12	4,23	2,18	Amarillo pálido oscuro	ovalada	Lisa, blanda, brillante

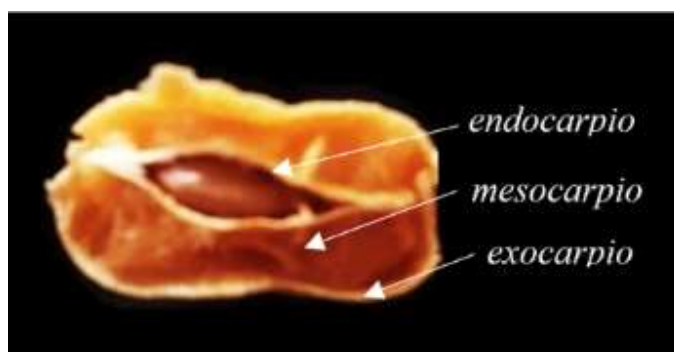
Escala: L (largo); A (ancho); E (espesor).

Las características de las semillas pre-ingestion (Tabla 5) presentaron un promedio de 22 semillas por fruto, el tamaño de las semillas con promedio de 6,12mm x 4,23 mm x 2,18 mm, y el peso por semilla fue de 0,039 g. Otras características que se

identificaron visualmente fueron: la forma (oval), el color (amarillo pálido claro), la cubierta externa fue lisa, brillante y dura a diferencia de las semillas pos-ingesta (Tabla 6) que presentaron tamaños iguales, pero diferentes en el peso 0,034g y características visuales como el color (Amarillo pálido oscuro), el aspecto externo (Lisa, blanda, brillante) y forma (Ovalada).

El rendimiento promedio de semillas aparentemente sanas libres de patógenos que se estimó fue de 7,2 % de peso de fruto respectivamente, 75 % de las semillas estuvieron sin ataques de larvas que perjudican la cubierta interna y externa del fruto y semillas, el peso promedio de las semillas sanas estuvo en  $40 \pm 12$  mg ( $n = 150$ ), se estimó que el número de semillas obtenidas de estiércol caprino fue 2 260 semillas en 5, 600 kg de frutos secos administrados; en comparación con otras especies forestales *N. pallida*, tiene una relación relevante en semillas dispersadas por *C. hircus*, lo cual favorece su germinación en zonas áridas (Mancilla et al., 2011).

Las semillas presentaron longitudes de 6,12 mm antes de entrar en el tracto digestivo de las cabras (*C. hircus*) (Figura 14), lo que se asemeja a lo reportado por Burkart, (1976) que obtuvo una medida de 6.50 mm, esto por su parte debidamente a la especie en si (*N. pallida*) en estudio. A sí mismo, este mismo autor reporto semillas recuperadas de tamaños pequeños 1,41 a 8,9 mm y 1,55 y 3,45 mm, lo que es similar a los registros que se obtuvieron.



**Figura 14.**

*Características morfológicas de la semilla (transversal) de N. pallida*

Las estructuras de las semillas al desintegrarse del estiércol caprino pos-ingestion; la mayoría estuvieron desprovistas de cubierta (endocarpio, mesocarpio y exocarpio) y aparentemente sin ataques de microorganismos plagas, como también se logró observar semillas cubiertas con endocarpio y semillas de tonalidades oscuras, las cuales no se consideraron para el experimento (Figura 15). Una parte de las semillas que fueron defecadas por (*C. hircus*) presentaron un aspecto normal y otras totalmente de color negras (Figura 16), la presencia de estas tonalidades indica que se trata de un proceso gradual. Por otra parte, el color de testa de las semillas son un indicativo en el resultado de la germinación; dado a que las semillas con tonos negros presentaron germinaciones defectuosas.

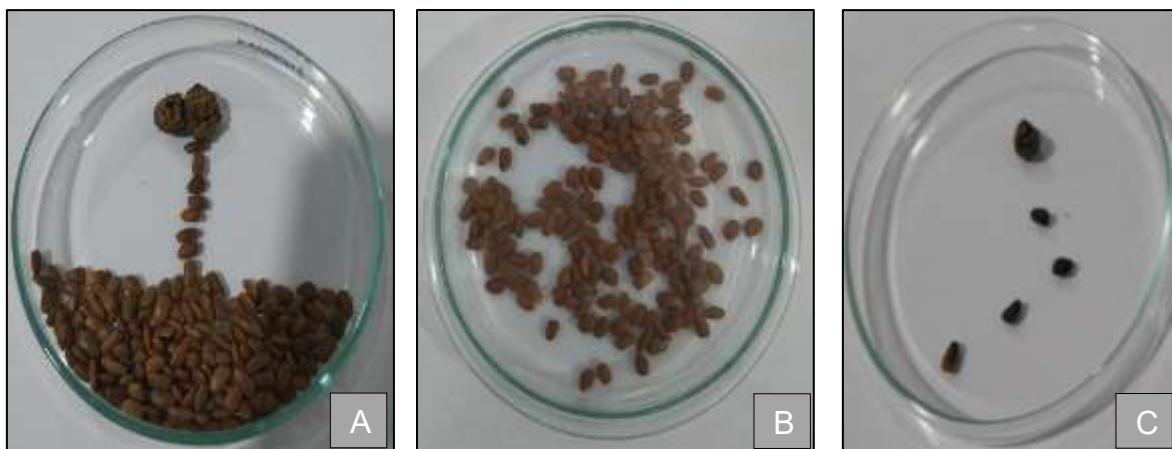
En una observación con heces frescas, los tamaños de las semillas son variados, en el tiempo (pos-ingestion), esto puede deberse al tiempo de colección, al permanecer en la superficie por varios días; presentando una radícula marcada a 1.5 - 2 mm, lo que supone a un proceso de inicio de la germinación. Estas observaciones también fueron reportadas por Campagna, (2018) con *P. flexuosa* en el desierto de Argentina.

Se categorizaron todas las semillas limpias (Figura 16) como "normales" ya que poseen la habilidad de germinar. Las semillas negras no se tomaron en cuenta en el recuento de semillas recuperadas, en el estudio, ya que no aportan beneficio sobre el ecosistema.



**Figura 15.**

*Semillas pos- ingestión de Capra hircus: con presencia de endocarpio (A) y semillas libres de cubierta (endocarpio, mesocarpio y exocarpio) (B).*

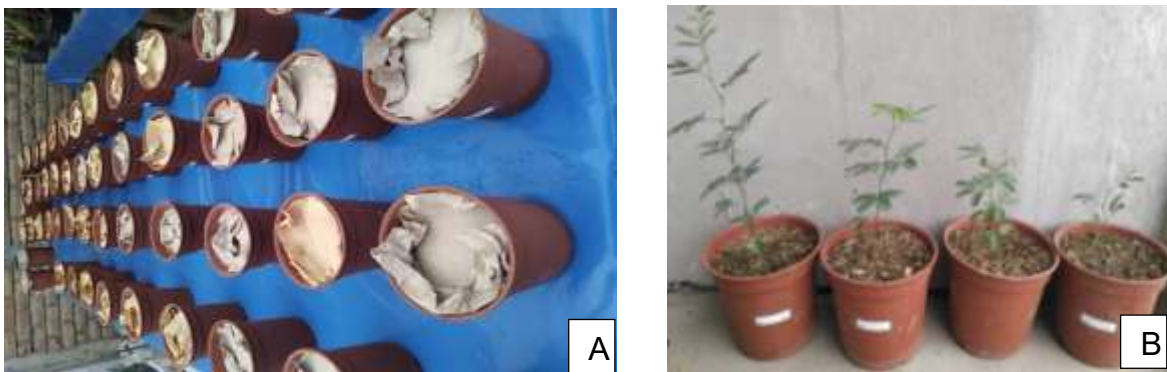


**Figura 16.**

*Semillas extraídas de heces de cabras: A) Semillas con heces; B) Semillas limpias; C) Semillas negras.*

El porcentaje de la recuperación de semillas de cabras fue 3,4 %, siendo estos valores similares al de otras especies del mismo género de *Neltuma*, con un 3 % para *P. flexuosa* (Campagna, 2018). Los resultados precisan que existe una intensidad en la masticación y remasticación durante la rumia por la especie *Capra hircus* por estar en manada y domesticada, así también lo reporto (Hofmann, 1989)

#### 4.2. Germinación de semillas de algarrobo (*Neltuma pallida*) recuperadas post-ingestión de *Capra hircus* e inoculación con cepas nativas de *Trichoderma* spp.



**Figura 17.**

*Evaluación de la germinación por tratamientos establecidos con 15 cepas de *Trichoderma* spp. y el control: A) Preparación de ensayo; B) Semillas germinadas referentes al tratamiento biológico I3a- r1.*

##### 4.2.1. Germinación

En análisis estadístico aplicado, fue el Análisis de Varianza con un Diseño Completamente Aleatorizado. Para ello, primero se hizo un análisis de los supuestos de independencia, normalidad y homogeneidad de la varianza.

Para la Independencia, se aplicó la prueba de Durbin-Watson, que se aprecia en la siguiente (Tabla 7).

**Tabla 7.***Supuesto de independencia con la prueba Durbin-Watson (D-W).*

Lag	Autocorrelación	D-W	p-valor
1	-0.3227273	2.636364	0.474

En cuanto al supuesto de independencia para el análisis de varianza, el valor estadístico (D-W) fue de 2,636364, que se encuentra cercano al valor ideal de 2. Ello, muestra que no hay autocorrelación significativa entre los residuos del modelo, con lo que manifiesta la independencia de las observaciones, confirmado por el valor de p (0,474).

El valor de la prueba de normalidad de Shapiro Wilk, fue de 0,96632 (Tabla 8), indicando que los residuos no se apartaban significativamente de una distribución normal, confirmado por el valor de p (0,0962), con lo cual no se rechaza la hipótesis nula de normalidad.

**Tabla 8.***Supuesto de normalidad con la prueba Shapiro-Wilk (W).*

Prueba	Estadístico W	p-valor
<b>Shapiro-Wilk</b>	0,96632	0,09626

Para la prueba de homogeneidad se aplicó la prueba de Levene (Tabla 9), cuyo valor F fue de 0,712, y el valor p resultante fue 0,7509, lo que indica que no había evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula y confirmando que las varianzas eran homogéneas entre los grupos. Por lo tanto, se concluyó que se cumplía la suposición de homogeneidad de varianzas.

**Tabla 9.***Supuesto de homogeneidad de varianza con la prueba Levene (L).*

Prueba	Df (Grados de libertad)	F valúe	p-valúe
<b>Levene's Test</b>	14	0,712	0,7509

Con los datos obtenidos en las tablas, se realizó el análisis de varianza (Tabla 10),

cuyo valor de F fue 475,1, lo que sugiere que existe una diferencia significativa entre los tratamientos biológicos. Este valor es considerablemente alto, indicando que hay variabilidad entre los tratamientos, además, el valor p fue extremadamente pequeño, menor que  $2e-16$ , con lo cual se rechaza la hipótesis nula. En otras palabras, los resultados sugieren que hay diferencias significativas entre los tratamientos.

**Tabla 10.**

*Análisis de varianza de los tratamientos evaluados*

<b>Fuente de variación</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrado medio</b>	<b>Valor F</b>	<b>p-valor</b>
Tratamiento	14	65042	4646	475.1	<2e-
Residuales	45	440	10		16

C.V= 5,11

Coefficiente de variación (CV)

El coeficiente de variación (CV) obtenido fue de 5,11, lo que indica que la variabilidad relativa de los datos es moderada. Un CV bajo, como este, sugiere que la dispersión o variabilidad en los datos es pequeña en comparación con la media, estableciendo que los valores observados son bastante consistentes y que no hay grandes fluctuaciones en torno a la media.

Prueba HSD de Tukey para las medias de los tratamientos biológicos aplicados se observa en la (Tabla 11).

Los resultados de la prueba HSD de Tukey muestran las medias de los tratamientos junto con sus estadísticas descriptivas. Se observa que los tratamientos IN4A, IN4E, y PH3.B tienen las medias más altas (98) en relación a los tratamientos I3.B, I4.B, I5.A (10-20).

**Tabla 11.***Prueba HSD de Tukey de los tratamientos evaluados*

Tratamiento	Media	Desviación estándar	r	Error estándar	Mínimo	Máximo	Q25	Q50	Q75
I3.a	78	2.309	4	1.563	76	80	76	78	80
I3.B	10	4.000	4	1.563	8	16	8	8	10
I4.a	94	5.164	4	1.563	88	100	91	94	97
I4.b	95	3.830	4	1.563	92	100	92	94	97
I4.B	15	2.000	4	1.563	12	16	15	16	16
I5.A	20	0.000	4	1.563	20	20	20	20	20
I5.B	81	3.830	4	1.563	76	84	79	82	84
IN4A	98	2.309	4	1.563	96	100	96	98	100
IN4B	25	2.000	4	1.563	24	28	24	24	25
IN4D	61	2.000	4	1.563	60	64	60	60	61
IN4E	98	4.000	4	1.563	92	100	98	100	100
PH1B	22	4.000	4	1.563	16	24	22	24	24
Ph1c	63	2.000	4	1.563	60	64	63	64	64
PH3.B	98	2.309	4	1.563	96	100	96	98	100
TESTIGO	60	3.266	4	1.563	56	64	59	60	61

MDS= 7,93

Diferencia mínima significativa (MDS)

La diferencia mínima significativa (MDS) entre los tratamientos fue 7,93, lo que demuestra una diferencia significativa entre los tratamientos (Figura 11).

En la (Tabla 12) se muestra las agrupaciones según Tukey de los tratamientos evaluados. El grupo A presentan los promedios más altos en términos de porcentaje de germinación, destacando los tratamientos IN4A, IN4E, PH3.B, I4.b e I4.a, con valores cercanos al 98 %. Estos tratamientos no presentan diferencias significativas entre sí, lo que sugiere que tienen un rendimiento homogéneo y superior en comparación con los demás. Sin embargo, presentan una diferencia estadísticamente significativa, respecto al resto de los tratamientos, lo que permite concluir que son los más efectivos en el proceso de la germinación.

**Tabla 12.***Agrupaciones según Tukey de los tratamientos evaluados*

Tratamiento	Promedio	Grupo
IN4A	98	A
IN4E	98	A
PH3.B	98	A
I4.b	94	A
I4.a	95	A
I5.B	81	B
I3.a	78	B
Ph1c	63	C
IN4D	61	C
TESTIGO	60	C
IN4B	25	D
PH1B	22	DE
I5.A	20	DE
I4.B	15	EF
I3.B	10	F

El grupo B, los tratamientos I5.B (81 %) y I3.a (78 %), presentaron los promedios más bajos en relación con los del grupo A, pero son superiores a los del grupo C y el testigo. Estos resultados sugieren que, aunque los efectos no sean tan pronunciados como en el grupo A, los tratamientos aplicados continúan teniendo un impacto positivo sobre la germinación.

En el grupo C, los tratamientos Ph1c (63 %) (Figura 18), IN4D (61 %) y el testigo (60 %) presentan promedios considerablemente más bajos que los del grupo A, lo que indica que su efectividad es inferior en comparación con los tratamientos de los grupos anteriores (Figura 18) (Figura 19). No obstante, se evidencia que los tratamientos ensayados no influyen en la germinación.



**Figura 18.**

*Tratamiento germinativo de semillas de algarrobo inoculadas: A) T. spp - Ph1c; B) N. pallida en desarrollo.*



**Figura 19.**

*Germinación del grupo control empleado en el experimento.*

Los grupos D, E y F, los tratamientos IN4B (25 %), PH1B (22 %), I5.A (20 %), I4.B (15 %) e I3.B (10 %), presentan los más promedios de germinación más bajos que los otros tratamientos. Que lo que se infiere que los, no estimulan la germinación de las semillas de Algarrobo y podrían ser discontinuados o revisados para optimizar sus efectos.

#### 4.2.2. Porcentaje de germinación

Como se observa en la (Figura 23), las semillas de *N. pallida* tratadas con las especies de *Trichodermas* PH3.B (*T. viride*), IN4E (*T. harzianum*), IN4A (*T. asperellum*) (Figura 20), presentaron un porcentaje de germinación del 98 %, lo que difiere con lo reportado por Santos et al., (2020), quienes obtuvieron un porcentaje de germinación del 76,5 % en semillas de *Handroanthus serratifolius* (Guayacán) tratadas con *T. asperellum* – TAM03, resultado que confirma una relación asociada entre estas dos especies forestales (Chagas et al., 2022).



**Figura 20.**

*Tratamiento germinativo de semillas de algarrobo inoculadas: A) T. asperellum - IN4A; B) N. pallida en desarrollo.*

La cepa IN4E - *T. harzianum* (Figura 21) obtuvo un valor máximo de germinación del 98 % durante la evolución al día 18; lo que concuerda con lo encontrado por

Castro y Rivillas., (2005) quienes obtuvieron un 90 % de germinación en semillas de café tratadas con *T. harzianum*. Por otro lado, Cubillos et al., (2009) también obtuvieron una estimulación del porcentaje de germinación en semillas de maracuyá inoculadas con *T. harzianum*, a partir del cuarto día. La producción de metabolitos (auxinas, giberelinas y citoquininas) sintetizados por *T. harzianum*, estarían involucrados en la estimulan de la germinación y crecimiento de las plantas (Altomare et al., 1999; Valencia et al., 2005).



**Figura 21.**

*Tratamiento germinativo de semillas de algarrobo inoculadas: A) Trichoderma harzianum - IN4E; B) N. pallida en desarrollo.*

La cepa PH3.B - *T. viride* (Figura 22) presentó una germinación de 98 %. Un estudio realizado por Marium et al. (2024) reporta aislados de *T. viridi* en leguminosas forestales, incluyendo *N. pallida*; aunque no hicieron ensayos experimentales, su estudio podría proporcionar mayor información del rol de este hongo en los procesos de germinación y crecimiento de las plantas.



**Figura 22.**

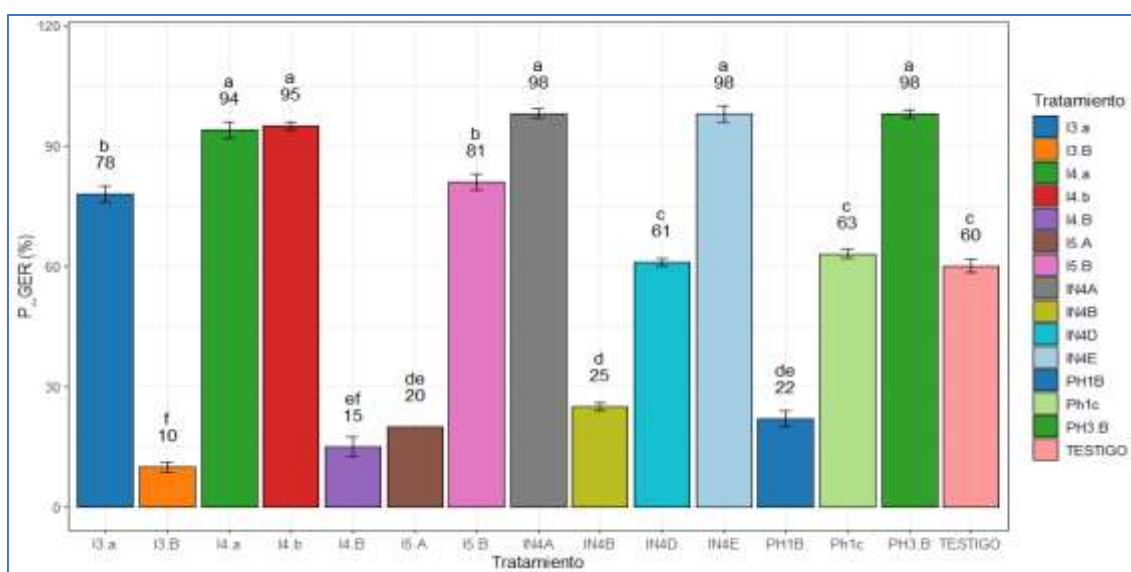
*Tratamiento germinativo de semillas de algarrobo inoculadas: A) T. viride - PH3.B; B) N. pallida en desarrollo.*

Las cepas purificadas (I4.a y I4.b) registraron valores del 94% y 95% respectivamente; con un descenso del 10 % en la cepa (I3A) pero no en el control, que alcanzó un valor máximo de germinación del 60 %. Este hallazgo discrepa del presentado por Santos et al., (2018) que no detectaron diferencias relevantes entre los grupos experimentales y de control.

La cepa PH1.B y I2.A (*T. atroviride* y *T. virens*) alcanzaron máximos índices de germinación del 22 y 20 % respectivamente. Estos resultados poseen ciertos impactos adversos en las plantas, dado que obstaculizan su crecimiento radicular, junto con la destrucción de gran cantidad de flora microbiana natural (Mendoza et al., 2013), Esto es evidente durante la evaluación, donde las semillas que consiguieron germinar en un corto periodo de tiempo terminaron siendo impactadas. Dado a que, no consiguieron una ampliación radicular; en el caso de la cepa I2.A, algunas de las semillas que consiguieron germinar perecieron en el transcurso del tiempo, por lo que no se registraron en la Figura 23 de % GE. Por lo tanto, la cepa PH1B conservó su germinación, aunque disminuyó su desarrollo y crecimiento en comparación con los otros tratamientos. Aunque existe un impacto

negativo en el % GE, estas cepas (*T. atroviride* y *T. virens*) podrían tener beneficios para el control de enfermedades presentes en la especie *N. pallida* y/o cultivos ornamentales, debido a su elevada capacidad de biocontrol contra *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* y *Phoma* (Marium et al., 2024).

En la mayoría de los tratamientos con cepas puras de *Trichoderma* spp, el proceso de germinación ocurrió a partir del día 6, lo que podría atribuirse al tratamiento pre-germinativo que se aplicó a las semillas con cepas purificadas de *Trichoderma* spp. selección de semillas y evaluación de su viabilidad antes de la aplicación del tratamiento biológico.



**Figura 23.**

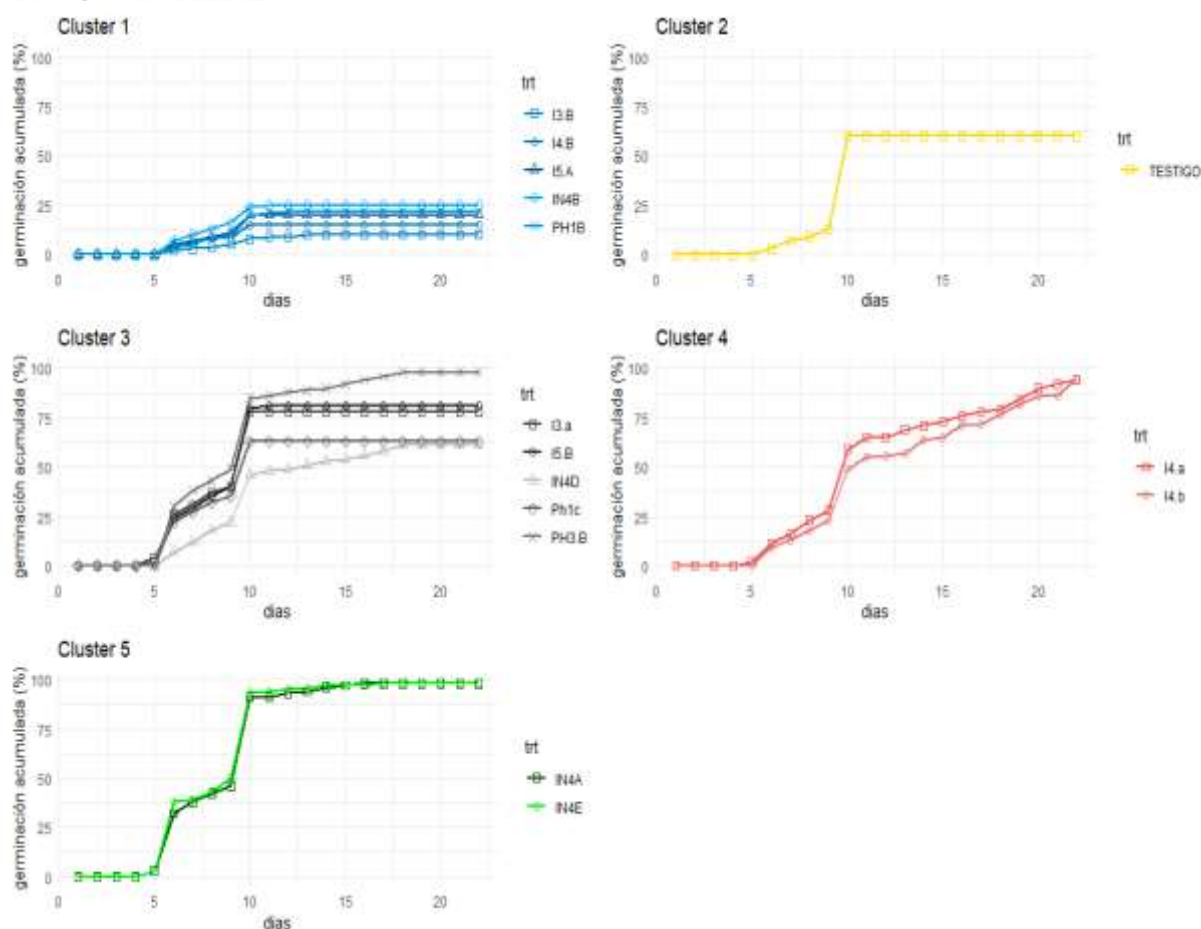
*Porcentaje de germinación de semillas N. pallida tratadas con cepas fúngicas del género Thichoderma*

#### 4.3.2. Porcentaje de germinación acumulada

En la Figura 24 se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de germinación acumulada al día 18 de evaluación. El tratamiento IN4E, alcanzo 98 %, lo que indica alta viabilidad de las semillas, solo limitada por una dormancia mínima propias de las semillas de especies leñosas del bosque seco. Las semillas escarificadas por cabras asociadas a la cepa IN4A superaron al Testigo con una germinación máxima al 98 %, pero no del poder de germinación. A los 18 días, el tratamiento PH3.B con PG de 98 %, respecto a los tratamientos I4.b y I4.a que obtuvieron porcentajes de 94 y 95 % al día 22. A los 10 días el Testigo mantuvo su

PG de 60 %, con respecto al tratamiento I3.B que alcanzo un PG de 10 % a los 11 días, muy por debajo de los demás tratamientos biológicos.

Porcentaje de Germinación Acumulada



**Figura 24.**

*Porcentaje de germinación acumulada de N. pallida con cepas pretratadas de Trichoderma spp.*

#### 4.2.3. Porcentaje de germinación diaria

En la Figura 25 se observa que los 6 primeros días fueron decisivos en la germinación de *Neltuma pallida*, debido a que presentaron raíces y cotiledones formados completamente. La cepa IN4E alcanzo un porcentaje de germinación máximo al 35 % mayor que la cepa PH3.B que solamente llevo a alcanzar el 30 % de GE en el mismo día. En el día 10 fue donde más semillas germinaron siendo el pico más representativo para la mayoría de los tratamientos, resaltando al Testigo con el 45 % del tratamiento PH1B llevo a alcanzar el 10 % de GE.

Porcentaje de Germinación Diaria

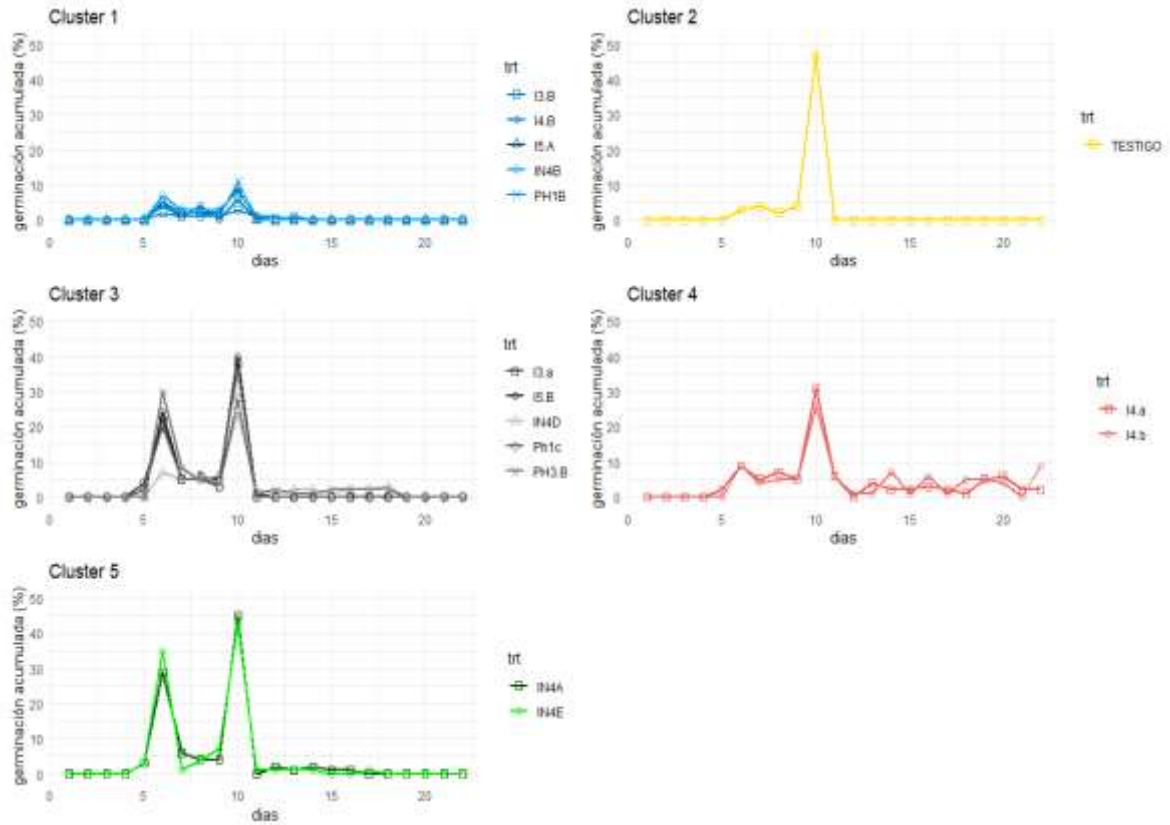


Figura 25.

Porcentaje de germinación diaria de *N. pallida* con cepas pretratadas de *Trichoderma spp*

4.2.4. Velocidad media de germinación

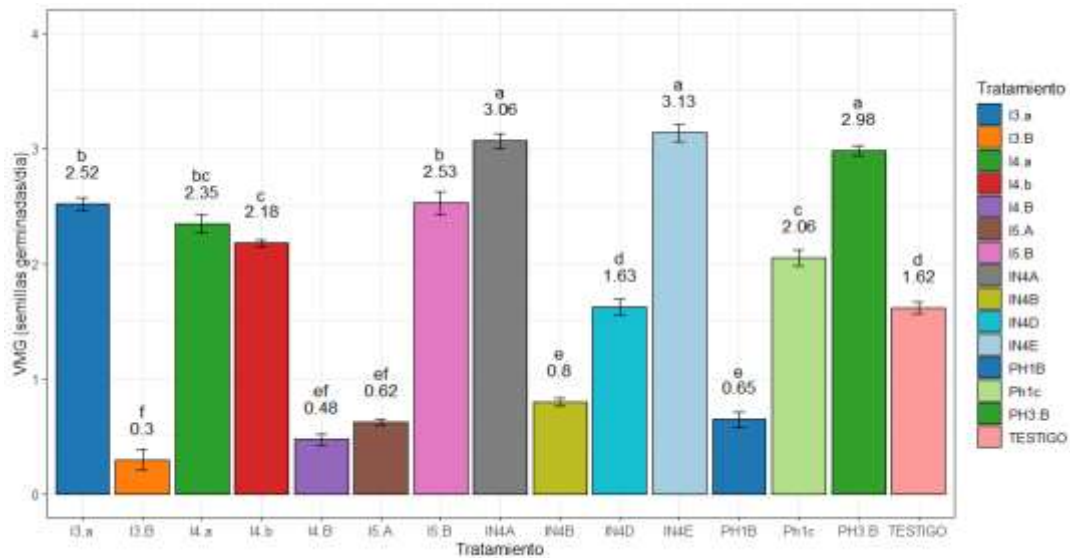


Figura 26.

Velocidad media de germinación de *N. pallida* con cepas pretratadas de *Trichoderma spp*.

En la Figura 26 se observa las mayores velocidades de germinación que se alcanzaron con los tratamientos IN4E, IN4A y PH3.B, con valores de 3.13, 3.06 y 2.98 respectivamente, comparados con el testigo que tuvo una VMG de 1.62. Los tratamientos I3.B, I4.B, IN4B, I5.A y PH1B no mostraron diferencias significativas con el testigo.

El tiempo medio de germinación (TMG) señala el tiempo medio que transcurre desde el comienzo de la germinación hasta la última semilla que ha germinado, más el tiempo de resistencia a la germinación.

**Tabla 13.**

*Parámetros calculados para las semillas en función a los tratamientos biológicos aplicados.*

<b>Tratamientos</b>	<b>TMG (días)</b>	<b>UG (días)</b>	<b>VG (%)</b>
I3.a	8.24	0.29	2.23
I3.B	9	0.38	0.38
I4.a	11.56	0.05	2.18
I4.b	12.71	0.04	4.34
I4.B	8.19	0.39	0.67
I5.A	8.4	0.41	1.74
I5.B	8.44	0.32	2.98
IN4A	8.62	0.19	8.43
IN4B	8.2	0.34	1.62
IN4D	10.23	0.13	1.9
IN4E	8.41	0.22	5.01
PH1B	8.94	0.35	0.32
Ph1c	8.13	0.29	1.92
PH3.B	9.01	0.14	2.26
TESTIGO	9.47	0.79	1.21

TMG: Tiempo Medio de Germinación; UG: Uniformidad Germinativa; VG: Valor Germinativo.

En la (Tabla 13) se puede apreciar que el tratamiento I4.b presenta un tiempo promedio de germinación de 12.17 días; durante este periodo, el porcentaje de germinación fluctuaba entre el 10 y el 15 %, siendo este tratamiento el que tenía un TMG superior. Los tratamientos IN4B y Ph1c tuvieron el tiempo de germinación más corto con 8.02 y 8.13 días respectivamente, destacando la cepa IN4E en el periodo de tiempo de germinación entre el 40 y el 46 % de semillas, lo que reflejo el rendimiento más alto. Por lo tanto, es posible afirmar que los tratamientos PH3B y

IN4B experimentaron tiempos medios de germinación más cortos y mostraron porcentajes de germinación superiores. Esto indica que los *Trichoderma* spp. inoculados en semillas pretratadas promueven la germinación, lo que es coincidente con Santana et al., (2016); Gonzales et al., (2006).

La Uniformidad Germinativa (UG) señala cuan uniforme es la germinación en cada uno de los tratamientos. Así se tiene que el tratamiento I4.b tuvo un valor de 0.04 días, lo que indica que, en el rango de 9.2 a 13.5 días (15 días) germinaron aproximadamente 18 semillas. Este bajo porcentaje de germinación en un periodo corto indica que diariamente germinaban 1 o 3 semillas, por la razón de que estas semillas, al momento de la siembra, no se tuvo el contenido de humedad adecuado. El valor para las semillas que fueron tratadas (PH3.B), fue el tratamiento con mayor porcentaje de germinación, de 18 días, el cual indica que del total de semillas germinadas en este tratamiento 55 lo hicieron en un intervalo de tiempo de 12.5 a 15.2 días (22 días).

A sí mismo, el (T) testigo represento el tratamiento con mayor UG con 0.79. Esto quiere decir que, de las 60 semillas que germinaron con este tratamiento, 28 lo hicieron en un intervalo de tiempo de 5.8 a 10.6 días (22 días). Se puede decir entonces que, las semillas sin ningún tratamiento (T) presentan menor rango de tiempo (10 días), comparado con los demás tratamientos pre-germinativos, los cuales presentan tiempos mayores; el T (testigo) es el menos uniforme en su germinación y presentando bajo poder de germinación.

Lo obtenido concuerda con la respuesta germinativa observada por Altomare et al., (1999); Valencia et al., (2005); Yedidia et al, (2004). Donde *Thichoderma* spp. estimulan la germinación al producir zeaxantina y giberelina, es decir, compuestos que generan una mayor uniformidad en la germinación. La uniformidad y capacidad germinativa de semillas pretratadas con hongos del género *Thichoderma* obtuvieron la capacidad de disolver la testa de la semilla, sin afectar el endocarpio, lo cual facilita la emergencia del embrión (Delgado et al., 2010).

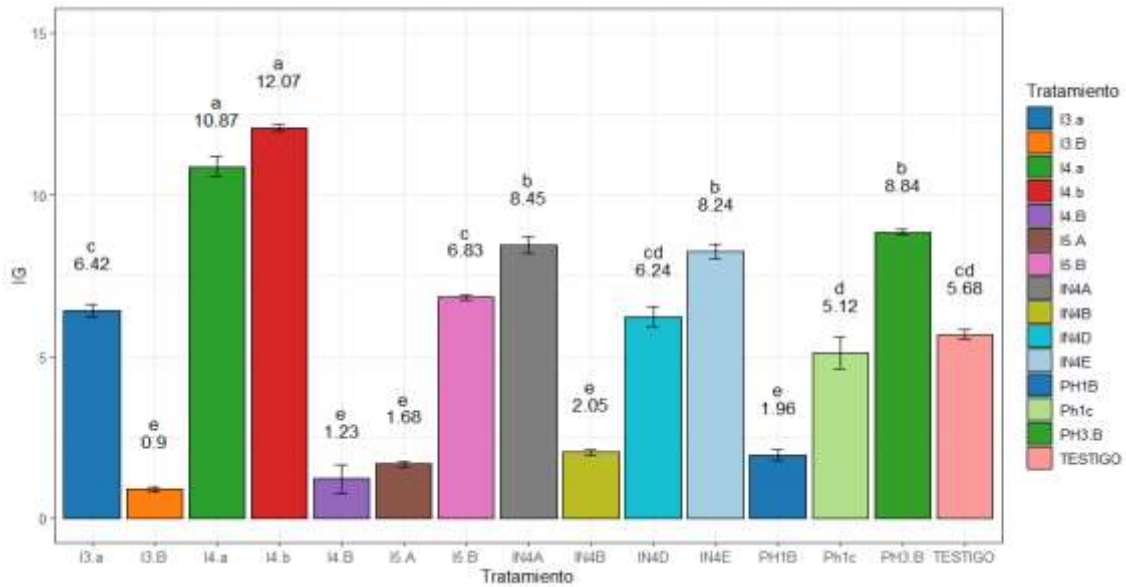
En relación con los resultados del Vigor Germinativo (VG), que es un indicativo de la cantidad promedio de semillas que germinaron por día expresados en porcentaje,

se observa que las semillas tratadas con cepas fúngicas de *Trichoderma* spp. la cepa que represento con un valor alto fue IN4E con valor 5,01 % mayor a los valores germinativos de los demás tratamientos. Esto indica que cada día germinan 5,1 semillas. A sí mismo, este tratamiento aplicado a semillas de *N. pallida*. Mejora la velocidad de germinación (Valor germinativo) por día; dado a que los hongos del género *Thichoderma* ablandan el tegumento y endospermo de las semillas duras, tal como afirman Sánchez et al., (2005); Pérez et al., (2016) y González et al., (2018). A sí mismo, muchos *Trichoderma* spp. cepas producen ácido glucónico, cítrico y cumárico, lo que provoca la liberación de iones de fósforo y microelementos, que posteriormente quedan disponibles para las plantas (Yedidia et al., 2004).

Los mejores tratamientos pregerminativos biológicos de semillas de *N. pallida*. Fueron aquellos que obtuvieron porcentajes altos de germinación (PH3.B, IN4E, I4.a, I4.b y IN4A) con porcentajes mayores al 90 %. Del mismo modo, la cepa que más destaco fue IN4E con un porcentaje máximo de 98 %. A sí mismo, estos tratamientos fueron los que presentaron mayores tiempos medios de germinación en un intervalo de 8.41 a 12.71 días. De igual forma, el tratamiento con la cepa fúngica IN4E produjo la germinación más uniforme, con una uniformidad germinativa de 18,0 días y con un mayor vigor germinativo de 5,1 %.

#### **4.2.5. Índice de Germinación**

En la Figura 27, el IG representa es el resultado de la germinación relativa de las semillas en relación con el crecimiento relativo de la raíz. Representa un indicador de la interacción de los factores que promueven o inhiben la germinación, así como de los respectivos factores que favorecen o impiden el crecimiento de la radícula. Este índice expresa tanto el porcentaje de semillas germinadas como el porcentaje de crecimiento que alcanza la radícula durante el bioensayo. Los resultados obtenidos muestran que el tratamiento I3.B presento el IG más bajo (0.9), mientras que los demás tratamientos obtuvieron valores superiores a 12. 01. Al considerar el promedio de los valores del IG de los tratamientos I4.B, I5.A, IN4B y PH1B (1.22), el IG del Tratamiento I3.B representa aproximadamente el 10 % de dicho promedio.

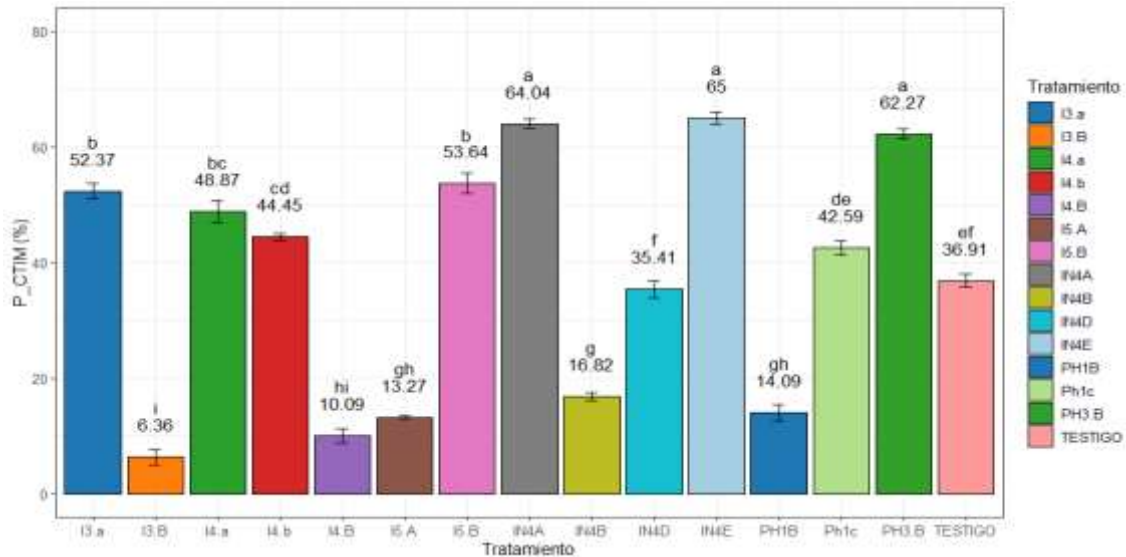


**Figura 27.**

*Evaluación de las respuestas biológicas (índice de germinación) de semillas de N. pallida y Trichoderma spp.*

#### 4.2.6. Porcentaje de coeficiente de Tinsom

En la Figura 28, los resultados obtenidos indican que el tratamiento IN4E mostro un PCT superior al 65 %, lo que indica la velocidad y uniformidad en el proceso de germinación, en comparación con otros tratamientos que se lograron obtener. El tratamiento Ph1c registró un valor máximo de 42.59 %, aunque fue inferior al tratamiento IN4D que logró un valor máximo de 35.41 %, pero no superó al Testigo que alcanzó un máximo de 36.91 %, respectivamente. Por lo tanto, los elevados niveles en PCT señalan tratamientos biológicos (semillas + hongos) beneficiosos, lo que sugiere que *Trichoderma spp.* fue beneficioso para las semillas, en cambio, los tratamientos con bajo PCT estarían asociados a cepas poco eficaces en el proceso de germinación de *N. pallida*.



**Figura 28.**

*Evaluación de las respuestas biológicas (coeficiente de Tinsom) de semillas de N. pallida y Trichoderma spp.*

#### **4.3. Aislamiento y caracterización morfológica del Género *Trichoderma***

Se obtuvieron doce aislados, en la Estación experimental del INIA (distrito de Corrales), donde se encuentra un banco de germoplasma de algarrobo (IN4E, IN4A, I4.b, I2.A, I5.B, IN4B, I3.B, I4.B, I5.A, IN4D, I4.a, I3.a), tres en el distrito de Pampas de Hospital-Sector Pueblo nuevo (PH3.B, Ph1c, PH1B). En San Juan de la Virgen no se encontraron especies del género *Trichoderma*.

Todos los aislamientos mostraron las características morfológicas propias del género *Thichoderma* (hifas septadas, ramificadas, conidióforos y pequeños conidios dispersos o agrupados) (Figura 29). Además, todos los aislamientos lograron cubrir completamente la superficie del medio PDA en la placa Petri de 90 mm luego de 3 días de incubación a  $28 \pm 2$  °C, a excepción del aislado I.4b que presento un crecimiento lento de 10.70 mm (Tabla 14).

**Tabla 14.**

*Caracterización morfológica de 15 cepas de Trichoderma spp. aisladas de la rizosfera del algarrobo en tres zonas distintas.*

Aislar	Colonia			Conidios			Fiálides		
	crecimiento (a)	Color	Rcolor GB código	Longitud (b)	Ancho(b)	Características	Longitud (b)	Ancho(b)	Características
<b>PH3.B</b>	31.57 ± 1.90	verde selva	#1C352D	2.97 ± 0.73	2.51 ± 0.16	subglobosa	8.93 ± 0.94	3.55± 0.51	lageniforme
<b>IN4E</b>	28.85 ± 0.83	verde ejercito	#4B5320	2.44 ± 0.46	2.36 ± 0.39	subglobosa	6.64 ± 1.79	2.98 ± 0.62	amouliforme
<b>IN4A</b>	29.50 ± 0.95	verde avellana	#617C58	1.95 ± 0.09	1.85 ± 0.47	elipsoidal	7.52 ± 1.04	3.13 ± 0.17	lageniforme
<b>I4.b</b>	10.70 ± 1.10	verde lunar	#3C493A	2.58 ± 0.48	2.52 ± 0.48	elipsoidal	7.32 ± 1.24	3.77 ± 0.91	baciliforme
<b>I2.A</b>	32.54 ± 0.62	verde selva	#1C352D	2.21 ± 0.55	2.12 ± 0.55	subglobosa ovoide	7.20 ± 0.78	3.59 ± 0.29	leganiforme
<b>Ph1c</b>	26.47 ± 0.49	verde camuflaje	#78866B	1.67 ± 0.08	1.61 ± 0.35	elipsoidal	6.45 ± 0.92	2.45 ± 0.25	ampuliforme a leganiforme
<b>I5.B</b>	28.54 ± 0.84	verde lunar	#354133	3.35 ± 0.93	2.47 ± 0.57	subglobosa	7.62 ± 0.21	3.35 ± 0.16	Lageniforme
<b>IN4B</b>	27.38 ± 1.10	verde rifle	#414833	2.94 ± 0.08	2.51 ± 0.49	Elipsoidal	8.41 ± 1.21	3.56± 0.49	Lageniforme
<b>I3.B</b>	28.26 ± 0.58	verde lunar	#3C493A	2.67 ± 0.41	2.64 ± 0.92	Elipsoidal	9.28 ± 0.75	3.74 ± 0.08	fusiforme
<b>I4.B</b>	27.60 ± 0.96	verde de rangun	#1C1E13	3.52± 0.55	2.56 ± 0.85	Elipsoidal	8.36 ± 2.17	3.48 ± 0.72	lageniforme

continua

<b>I5.A</b>	28.21 ± 0.87	verde lunar	#354133	3.74± 0.48	3.04 ± 1.16	subglobosa a ovoide	8.31 ± 1.52	3.41 ± 0.23	Lageniforme
<b>PH1B</b>	28.17 ± 0.81	verde mineral	#3F5D53	3.58 ± 0.54	2.83 ± 0.82	Elipsoidal	8.28± 1.12	3.37 ± 0.51	cilindrica
<b>IN4D</b>	27.41 ± 0.93	verde rifle	#414833	3.61 ± 0.45	2.97± 0.46	Elipsoidal	8.84 ± 0.44	3.31 ± 0.58	lageniforme
<b>I4.a</b>	28.53 ± 0.63	verde rangun	#1C1E13	2.46 ± 0.41	2.43 ± 0.75	Elipsoidal	8.78 ± 1.68	3.14± 0.21	lageniforme
<b>I3.a</b>	27.32 ± 0.91	verde aguacate	#B2C248	2.88 ± 0.67	2.65 ± 0.58	Elipsoidal	9.64 ± 1.07	3.09 ± 0.18	fusiforme

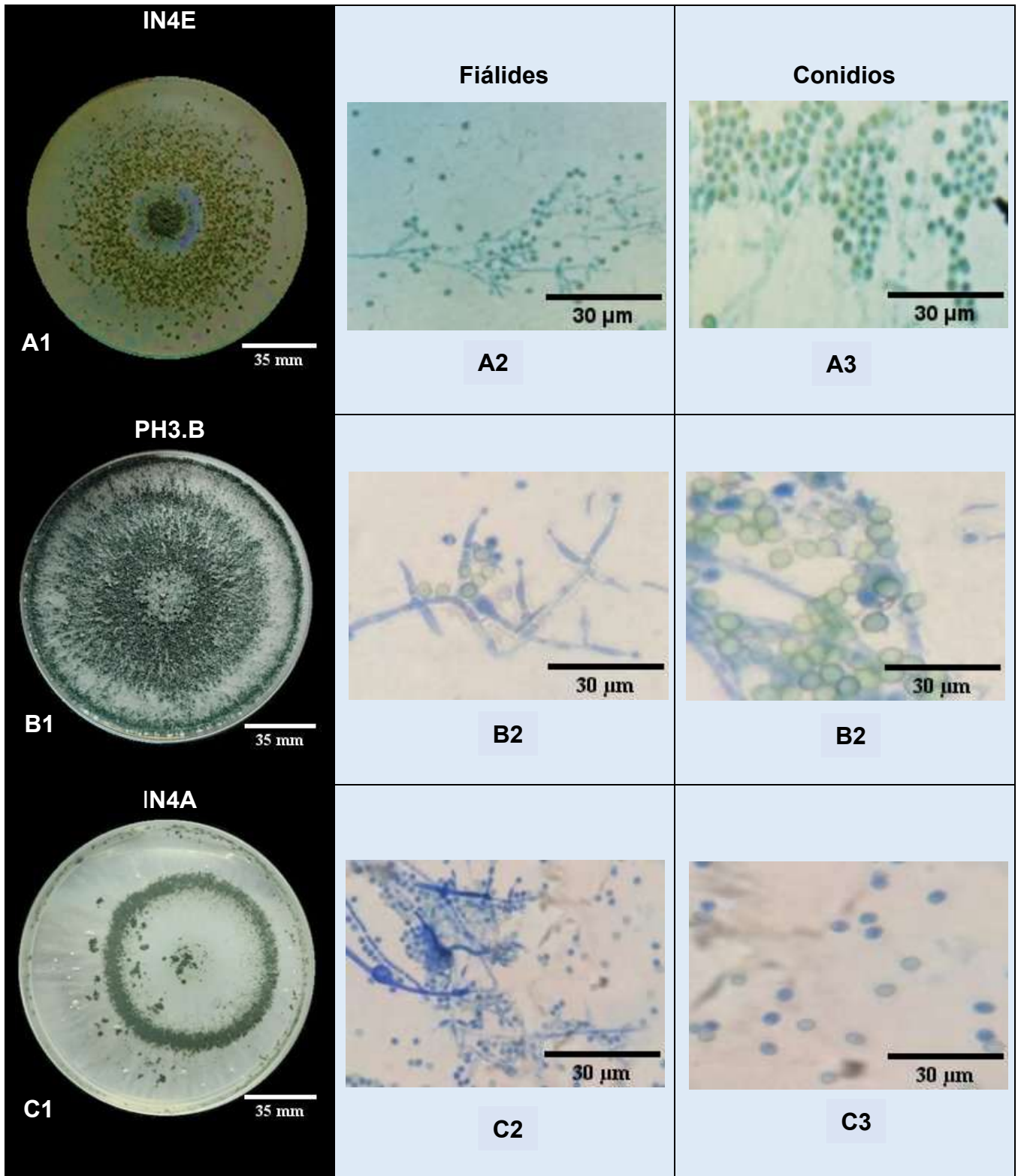
---

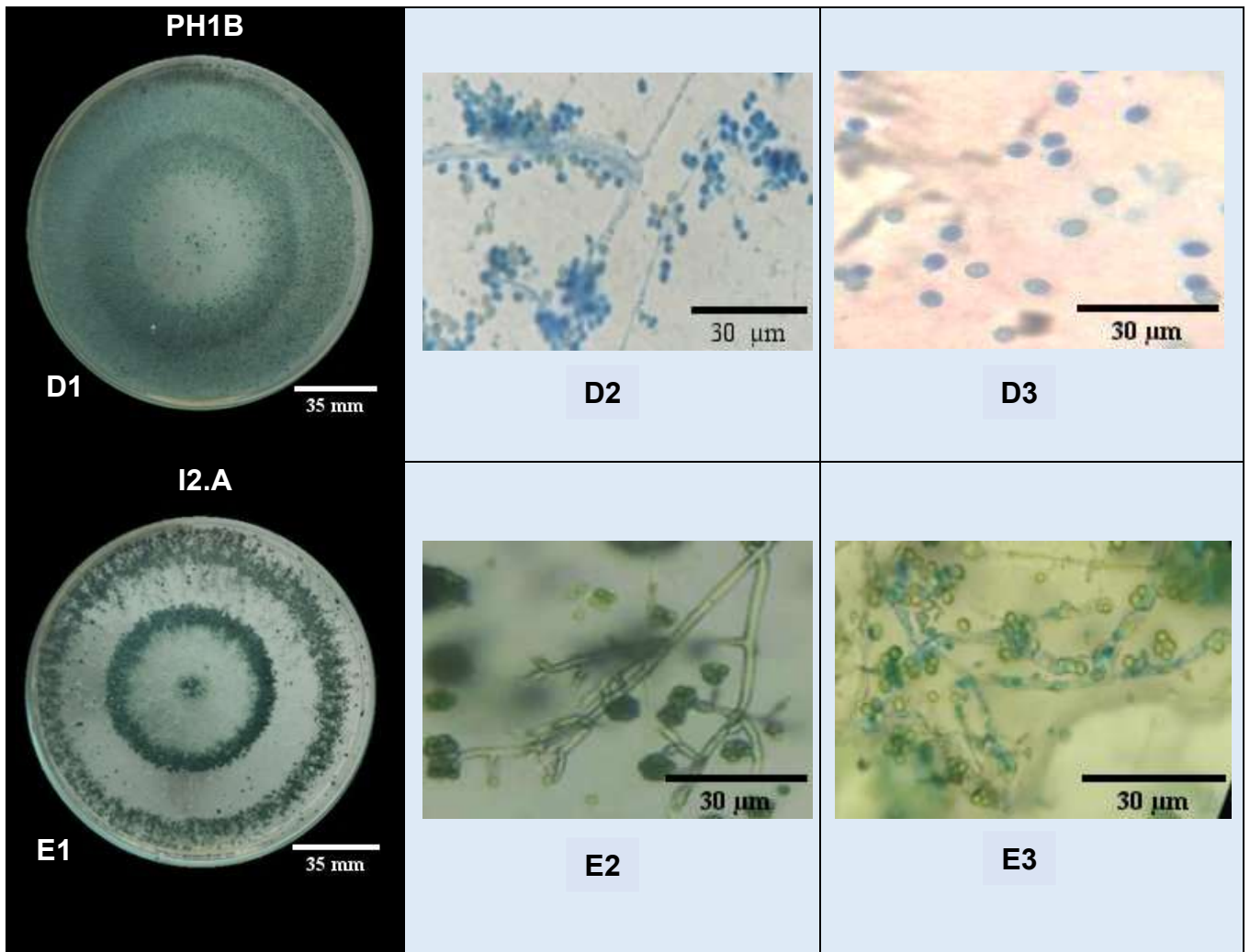
**a** Medido en mm d-1. Los valores son medias ± desviación estándar de tres repeticiones por cada aislamiento.

**b** Medido en µm. Los valores son medias ± desviación de 30 réplicas.

Las colonias del aislado Ph1c al principio del crecimiento presentaron una coloración de blanco a crema, a los 7 días posteriores variaron a verde camuflaje, con fiálides ampuliforme de  $6.45 \pm 0.92 \times 2.45 \pm 0.25 \mu\text{m}$  de largo y ancho. Los conidios eran elipsoidales y midieron  $1.67 \pm 0.8 \times 1.61 \pm 0.35 \mu\text{m}$  en promedio (Tabla 14). El aislado IN4E produjo conidióforos verde claro y amarillento que crecieron de manera dispersa por toda la placa con pigmento amarillo secretado (Figura 29 a). El cultivo monospórico de 3 días de edad tenía fiálides ampuliformes con una longitud y un ancho promedio de  $6.64 \pm 1.79 \times 2.98 \pm 0.62 \mu\text{m}$  y los conidios eran subglobosos con medidas promedio de  $2.44 \pm 0.46 \times 2.36 \pm 0.39 \mu\text{m}$ .

El aislado PH3.B obtuvo un crecimiento rápido a las 72 h, produciendo colonias de color verde selva con micelios aéreos blanquecinos, compactos y sin pigmentaciones en el reverso de la placa (Figura 29 b). El examen microscópico reveló fiálides lageniformes de  $8.93 \pm 0.94 \times 3.35 \pm 0.51 \mu\text{m}$  de largo y ancho. Los conidios eran subglobosos con un largo de  $2.97 \pm 0.73 \times 2.51 \pm 0.16 \mu\text{m}$ .





**Figura 29.**

*Características morfológicas de especie de Trichodermas: A) T. harzianum - IN4E, B) T. viride - PH3.B, C) T. asperellum - IN4A D) T. virens - PH1B E) T. atroviride - I2.A; Cada columna representa los siguiente: 1) cultivo de agar dextrosa de papa (PDA) después de 3 días de incubación a 28 °C, 2) conidióforos, y 3) conidios de cada especie de Trichoderma observados bajo un microscopio óptico con aumento de 400x.*

#### 4.4. Caracterización molecular hongos del género *Trichoderma*

Las 5 cepas fúngicas purificadas de *Trichoderma* que tienen la mayor eficacia en la germinación de semillas de *N. pallida* se determinaron a partir de las secuencias de los amplicones, a través del estudio del programa BLAST nucleotide y a través de la comparación de secuencias adquiridas, tomándose en cuenta el nombre científico (clasificación taxonómica), Max Score (Puntaje alto de secuenciación), Total Score (Suma de puntajes – calidad del alineamiento), Query Cover (Métrica – secuencia alineada), E value (significancia del alineamiento), Per. Ident (Porcentaje de identidad), Acc Len (Longitud de la secuencia/tamaño del material genético), Accession (Enlazado a una base de datos) (Tabla10). Las especies identificadas pertenecen al género *Trichoderma*.

Las especies identificadas en este estudio pertenecen al grupo de hongos del género *Trichoderma* (*Trichoderma viride*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum*, *Trichoderma atroviride*, *Trichoderma virens*) (Tabla 15). Estudios también reportan que estas especies son las más destacadas en la rizosfera de plantas forestales (Romero et al., 2008; Llacsá, 2016; Marium et al., 2024).

**Tabla 15.**

*Identificación molecular de hongos del género Trichoderma mediante secuenciación parcial del gen espaciador transcrito interno (ITS).*

Código	Nombre Científico	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
PH3.B	<i>Trichoderma viride</i>	952	952	100%	0	99.81%	602	MF495372.1
IN4E	<i>Trichoderma harzianum</i> 3	101	1013	100%	0	99.28%	653	KR856225.1
IN4A	<i>Trichoderma asperellum</i> 2	140	1402	100%	0	99.74%	765	KU341014.1
I2. A	<i>Trichoderma atroviride</i>	952	952	100%	0	99.81%	587	KT852829.1
PH1B	<i>Trichoderma virens</i> 9	114	1149	100%	0	99.68%	628	MW741898

Si bien, existen pocas evidencias de microbiota en la rizosfera del *N. pallida* (Ortega et al., 2004; Talbi, et al. 2016; Gómez et al., 2013; Aban et al., 2017), varias investigaciones indican la identificación de ciertos hongos del género *Trichoderma* en otras especies Forestales, como Guayacán (*Handroanthus serratifolius*) (Santos

et al., 2020), Algarrobo (*P. juliflora*), Leucaena (*L. leucocephala*), coralitos de Cuba (*A. pavonina*) (Marium et al., 2024), guayacán (*Tabebuia Chrysantha y billbergi*) (Llacsá, 2016).

Además, estos hongos juegan un papel crucial en la germinación temprana de las semillas y el crecimiento de las plantas; tal es el caso de *T. harzianum* por su función de generar (auxinas, giberelinas y citoquininas), las cuales resultan beneficiosas en la fase inicial de la germinación (Altomare et al., 1999; Valencia et al., 2005). Así mismo, *Trichoderma* spp. También posee la habilidad de disolver fósforo y producir la hormona ácido indol acético (Chagas et al., 2017; Braga, 2019; Bononi et al., 2020). Adicionalmente, ciertos biocompuestos generados potencian el sistema inmune de las plantas e impiden la aparición de fitopatógenos, lo que constituye un beneficio para las nuevas plántulas (Guillén et al., 2006). Esto evidencia, el crucial rol que desempeñan los microorganismos durante las primeras fases del ciclo vital de las especies vegetales, mediante interacciones bióticas como el mutualismo (Sieber, 2007). Componente crucial para la recuperación de especies forestales en riesgo crítico del bosque seco, tal como sucede con *N. pallida*.

Este estudio, es de gran relevancia ya que proporciona los primeros datos de hongos detectados en *N. pallida* del género *Trichoderma* en la región, que podrían tener un impacto en el ecosistema bosque seco. Por lo tanto, se requieren más investigaciones sobre su mecanismo de acción y su uso como una opción ecológica para el medio ambiente; de manera que se promuevan plantaciones forestales seguras y libres de enfermedades, lo cual beneficia a las poblaciones locales que dependen en su gran mayoría del bosque seco y en especial a la especie simbólica *N. pallida* de la costa norte de Perú.

## V. CONCLUSIONES

1. En la escarificación biológica con (*Capra hircus*) se recuperaron 3,4 % de semillas de *Neltuma pallida*. Este rendimiento es numéricamente significativo, equivalente a 8500 semillas por hectárea en un algarrobal denso.
2. De la rizosfera de *Neltuma pallida* se obtuvieron selectivamente un total de 70 aislamientos en medio general PDA, de los cuales 15 cepas de *Trichoderma* spp. presentaron morfología perteneciente a la especie, determinándose sus características macro y microscópicas particulares.
3. Todas las cepas de *Trichoderma* spp. identificadas morfológicamente tuvieron un efecto en la germinación de semillas de *Neltuma pallida*. Presentando un mayor potencial de estimulación en los porcentajes de germinación alcanzados del 98 %. Estas características representan una enorme posibilidad para la reproducción asistida de esta especie en peligro y la recuperación de las poblaciones naturales a largo plazo, lo que podría resultar en una posible reducción de los costos productivos a nivel de plantación y equilibrio del ecosistema.
4. Las cepas fúngicas de *Trichoderma* spp. con mayor potencial en la germinación fueron identificadas empleando técnicas moleculares, mediante análisis de secuencia parcial del Gen espaciador transcrito interno ITS, la identidad cercana al 100% pertenecieron a las especies (*T. viride*, *T. harzianum*, *T. asperellum*, *T. atroviride*, *T. virens*).

## VI. RECOMENDACIONES

1. Efectuar un análisis metagenómico de la rizosfera de *N. pallida*, con el objetivo de establecer el nivel de diversidad genética y la distribución de la población total de microorganismos existentes con especial énfasis en el de hongos.
2. Realizar experimentos de germinación y crecimiento de plántulas de algarrobo con los *Trichoderma* spp. aislados, tanto a nivel de vivero como en campo definitivo en mayores periodos de tiempo
3. Evaluar el potencial de los *Trichoderma* spp. en la fitorremediación de los suelos afectados por actividades mineras y/o petroleras.
4. Determinar los metabolitos sintetizados por los *Trichoderma* identificados, para su posible uso en la industria textil y en la agricultura orgánica (control biológico).

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Aban, J., Barcelo, R., Oda, E., Reyes, G., Balangcod, T., Gutierrez, R., & Hipol, R. (2017). Producción de auxinas, solubilización de fosfato y actividad de la ACC desaminasa de hongos simbióticos de la raíz (RSF) de Hierbabuena de la familia de las grosellas negras. *Boletín de Medio Ambiente, Farmacología y Ciencias de la Vida*, 6(5), 18–23.  
<http://doi.org/10.4067/S0716-078X2009000100011>
- Acosta, L., Cruz, S. Y., Mejía-Ordóñez, T., Rodríguez, F., Escoto, D., Sarmiento, E., & Larkin, J. L. (2019). Composición, estructura y diversidad florística del bosque seco en el Valle de Agalta, Honduras. *Madera y Bosques*, 25(2).  
<https://doi.org/10.21829/myb.2019.2521635>
- Acurio, D., y España, C. (2017). Aislamiento, caracterización y evaluación de *Trichoderma* spp. como promotor de crecimiento vegetal en pasturas de raygrass (*Lolium perenne*) y trébol blanco (*Trifolium repens*). *LA GRANJA. Revista de Ciencias de la Vida*, 25(1), 53- 61.  
<https://doi.org/10.17163/lgr.n25.2017.05>
- Aguilera, R. (2014). Algarrobo tropical (*Prosopis pallida*) recurso biológico estratégico para la sostenibilidad del bosque tropical seco caso: comunas provincia de Santa Elena – Ecuador. *Delos*, 20 (7), 1- 10.
- Ahmad, F., Ahmad, I., & Khan, M. (2008). Evaluación de bacterias rizosféricas de vida libre por sus múltiples actividades promotoras del crecimiento de las plantas. *Investigación microbiológica*, 163(2), 173-181. [https://Doi: 10.1016/j.micres.2006.04.001](https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.04.001).
- Alarcón, A., Ferrera, R., & Peña, J. (2009). Genero fúngico *Trichoderma* y su relación con contaminantes orgánicos e inorgánicos. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 25(4), 257-26.  
[https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S018849992009000400006](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018849992009000400006)

- Alban, L., Burghardt, A., Brizuela, M., Mom, M., y Palacios, R. (2003) Los algarrobos costeros peruanos-ecuatorianos. *Biodiversidad y Biogeografía I. Congreso Internacional de Bosques Secos Piura—Perú, 6 al 9 de noviembre del 2003 (Publicado en medio electrónico CD)*.
- Allende, R., Báez, K., Salazar, E., & Rojo, I. (2022). Biodiversidad de *Trichoderma* spp. en México y su potencial de utilización en la agricultura. *Agroecosistemas tropicales y subtropicales*, 25, 1-23.  
<https://doi.org/10.56369/tsaes.4297>
- Altomare, C., Norvell, W., Bjorkman, T., & Harman, G. (1999). Solubilización de fosfatos y micronutrientes por el hongo promotor del crecimiento y control biológico de las plantas *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. *Microbiología Aplicada y Ambiental*, 65(7), 2926–2933.  
<https://doi.org/10.1128/AEM.65.7.2926-2933.1999>
- Ávila, C., Goretti, M., y Lizcano, R. (2014). Aislamiento de *Trichoderma* spp., en las unidades productivas agrícolas del centro de formación agroindustrial la angostura de Campoalegre (Huila). 15- 20.  
<http://revistas.sena.edu.co/index.php/raaa/article/viewFile/145/166>
- Barone, J., Duarte, E., y Luna, C. (2016). Determinación de la eficacia de métodos de evaluación de calidad de semillas de especies forestales nativas de la Selva Atlántica. *Revista de Ciencia Forestales*. 24 (2),  
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=48150051008>
- Barrera, J.C. y Gonzales, L.M. (2022). *Bacterias endófitas de Prosopis limensis Benth. Como potenciales promotores de crecimiento en Zea mays L. bajo condiciones de estrés por salinidad y sequía*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo]  
<https://hdl.handle.net/20.500.12893/10885>
- Barrera, J.C. y Gonzales, L.M. (2022). *Bacterias endófitas de Prosopis limensis Benth. Como potenciales promotores de crecimiento en Zea mays L. bajo condiciones de estrés por salinidad y sequía*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo]  
<https://hdl.handle.net/20.500.12893/10885>

- Barros, S. (2010). El género *Prosopis*, valioso recurso forestal de las zonas áridas y semiáridas de América, Asia y África. *Ciencia y Investigación Forestal*, 16 (1), 91-127.  
<https://bibliotecadigital.infor.cl/handle/20.500.12220/18582>.
- Bononi, L., Barros, J., Pansa, C., Moitinho, M., y Melo, I. (2020). El solubilizante de fósforo *Trichoderma* spp. de los suelos amazónicos mejora el crecimiento de la planta de soja. *Informes científicos*. 10 (2). 2858.  
<https://www.nature.com/articles/s41598-020-59793-8>
- Braga, S. (2019). Efecto del ácido indolbutírico en el enraizamiento de estacas de tallo en *Myrciaria dubia* (HBK Mc Vaugh) Clon E3-F7, Yarinacocha – Ucayali, Perú. (Tesis de Pre-Grado, Universidad Nacional Intercultural de la Amazonía, Perú)
- Burghardt, A., Brizuela, M., Mom, M., Alban, L., & Palacios, R. (2010). Análisis numérico de las especies de *Prosopis* L. (Fabácea) de las costas de Perú y Ecuador. *Revista peruana de biología*, 17(3), 317-323.  
<http://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v17n3/a06v17n3>
- Burkart, A. (1976). Monografía del Género *Prosopis* (leguminosae Subfam. Mimosoideae). *Revista del Arboreto Arnold*, 57 (4), 450-525.  
<https://www.jstor.org/stable/43781999>.
- Cai, M., Idrees, M., Zhou, Y., Zhang, C., & Xu, J. (2020). Primer informe de la enfermedad del moho verde causada por *Trichoderma hengshanicum* en *Ganoderma lingzhi*. *Revista microbiológica*, 48(5), 427-430. [https://doi: 10.1080/12298093.2020.1794230](https://doi.org/10.1080/12298093.2020.1794230)
- Cairati, E. (2013). Historia cultural del algarrobo, desde la cuenca del Mediterráneo hasta la Costa Norte de Perú. *Otra modernidad*, (10), 186-204.
- Campagna, S. (2018). *Rol del ganado doméstico en la dispersión de semillas de Prosopis flexuosa* (Issue June). Universidad Nacional de Cuyo.
- Carrillo, F., García, J., Vásquez, J., Tuisima, L. L., y Escobar, H. A. (2020). Manual técnico para la conservación y propagación de especies de

algarrobo (*Prosopis* spp.). <https://repositorio.inia.gob.pe/items/0b87ba9c-4083-44fa-94df-1693f24a638a>

- Castro, Á., y Rivillas, C. (2005). Biorregulación de *Rhizoctonia solani* en germinadores de café. *Boletín de Agricultura Urbana*, 70–78. <https://doi.org/https://doi.org/10.38141/10779/0336>
- Cavero, P., Hananda, R., Gasparotto, R., Coelho, R., y Souza, J. (2015). Control biológico de la Sigatoka negra del banano con *Trichoderma*. *Ciencia Rural*, 45, 951–957.
- Chagas, A., Chagas, L., Martins, A., Colonia, B., & Oliveira, S. (2021). Productividad de la soja con *Trichoderma asperellum* Tratamiento de semillas en diferentes regiones del Cerrado brasileño. *Revista Brasileña de Ciencias Agrícolas*, 16 (4), 11-17. <https://doi.org/10.5039/agraria.v16i4a1171>
- Chagas, A., Lima, A., Costa, M., Olivera, D., Leao, A., Barreira, M., y Borges, L. (2022). Eficiencia de *Trichoderma asperellum* promotor del crecimiento de hortalizas y soja productividad. *Investigación, Sociedad y Desarrollo*, 11(6), 1–14. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i6.29200>
- Chagas, A., Sousa, M., Martins, A., Lima, C., Sousa, K., Santana, P., Lopes, M., y Chagas, L. (2022). Eficiencia de Trichoplus (*Trichoderma asperellum*) como promotor del crecimiento vegetal en soja en un campo del cerrado. *Investigación. Sociedad y Desarrollo*, 11(5), 1-13. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i5.27970>
- Chagas, L., Castro, H., Colonia, B., Carvalho, M., Molinero, L., y Chagas, A. (2017). Eficiencia de *Trichoderma* spp. como promotor del crecimiento del caupí (*Vigna unguiculata*) y análisis de la solubilización del fosfato y la síntesis de ácido indol acético. *Revista Brasileña de Botánica* 38: 1-11.
- Choudhury, A. y Karmakar, S. (2020). Germination: The Way of Entering into a New Life. *AgriCos*. 1(6).
- Cofre, M. (2014). *Comunidades nativas de hongos micorrícicos arbusculares: respuesta frente a distintas prácticas agrícolas y efectos sobre el*

*crecimiento de Glycine max (L.) Merril.* (Tesis de Doctorado, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

Cortés-Hernandez, F., Sánchez, G., y Alvarado, Gerardo. (2023). *Trichoderma* spp., una alternativa para la agricultura sostenible: una revisión. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 25 (2), 73-87.

Cruz, P., Quiroz, R., y Garatuza, J. (2011). Evaluación de cambios en la cobertura y uso de la tierra con imágenes de satélite en Piura - Perú. *Ecología Aplicada*, 10(1), 13–22.  
<http://www.scielo.org.pe/pdf/ecol/v10n1/a02v10n1.pdf>

Cubillos, J., Valero, N., & Mejía, L. (2009). *Trichoderma harzianum* como promotor del crecimiento vegetal del maracuyá (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* Degener). *Agronomía Colombiana*, 27(1), 81–86.  
[http://scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S012099652009000100011](http://scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012099652009000100011)

Dedios, N. (2017). Influencia de la Temperatura en la Floración del Algarrobo (*Prosopis pallida*) en los valles: Bajo Piura, Chira. Región Piura-Perú. *Revista ECI-Perú*, 14(1), 60–69.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.33017/RevECIPeru2017.0006>

Delgado, P., Ortega, M., Jiménez, J., & Flores, J. (2010). ¿Son importantes los hongos para romper la latencia de las semillas en especies del desierto? Evidencia experimental en *Opuntia streptacantha* (Cactáceas). *Biología vegetal*, 13(1), 154-159. <https://doi:10.1111/j.1438-8677.2010.00333.x>

Díaz-Celis A. (1995). Los algarrobos. CONCYTEC. Lima, Perú. 217.

Dominguez, A., Acuña, J., y Romero, T. Identificación y evaluación antagónica in vitro de cepas nativas de *Trichoderma* spp. sobre hongos fitopatógenos asociados al manchado del cáliz en jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 1-10.  
[https://www.researchgate.net/profile/Abraham-Monteon/publication/348832208\\_IDENTIFICACION\\_Y\\_EVALUACION\\_ANTAGONICA\\_IN\\_VITRO\\_DE\\_CEPAS\\_NATIVAS\\_DE\\_Trichoderma\\_spp SOBRE\\_HONGOS\\_FITOPATOGENOS\\_ASOCIADOS\\_AL\\_MANCHADO\\_DEL\\_](https://www.researchgate.net/profile/Abraham-Monteon/publication/348832208_IDENTIFICACION_Y_EVALUACION_ANTAGONICA_IN_VITRO_DE_CEPAS_NATIVAS_DE_Trichoderma_spp SOBRE_HONGOS_FITOPATOGENOS_ASOCIADOS_AL_MANCHADO_DEL_)

CALIZ\_EN\_JAMAICA\_Hibiscus\_sabdariffa\_L/links/60122610a6fdcc071b996200/IDENTIFICACION-Y-EVALUACION-ANTAGONICA-IN-VITRO-DE-CEPAS-NATIVAS-DE-Trichoderma-spp-SOBRE-HONGOS-FITOPATOGENOS-ASOCIADOS-AL-MANCHADO-DEL-CALIZ-EN-JAMAICA-Hibiscus-sabdariffa-L.pdf

- Dostert, N., Roque, J., Asunción, C., De la Torre, M., & Weigend, M. (2012). Ficha informativa: Datos botánicos del Algarrobo *Prosopis pallida* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Kunth. *Rompe Perú*  
<https://repositorio.promperu.gob.pe/server/api/core/bitstreams/a49fb3d5-5848-4363-8aa8-336684dbe2c8/content>
- Dostert, N., Roque, J., Cano, A., La Torre, M., y Weigend, M. (2012). Hoja botánica: Algarrobo. *Prosopis pallida* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Kunth. *Estudio de Perú-MINAM*.  
<https://repositoriodigital.minam.gob.pe/bitstream/handle/123456789/184/BIV01201.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Druille, M., Acosta, G., Acosta, A., Rossi, L., Bailleres, M., Golluscio, R. (2017). Eficiencia de uso de las precipitaciones de cultivares de *Cenchrus ciliaris* bajo dos frecuencias de defoliación. *Revista Argentina de Producción Animal*, 35(1), 139–257.  
[https://www.researchgate.net/publication/313658399\\_PP\\_61\\_Eficiencia\\_de\\_uso\\_de\\_las\\_precipitaciones\\_de\\_cultivares\\_de\\_Cenchrus\\_ciliaris\\_bajo\\_dos\\_frecuencias\\_de\\_defoliacion\\_Precipitation\\_use\\_efficiency\\_of\\_Cenchrus\\_ciliaris\\_cultivars\\_under\\_two\\_defoliation\\_](https://www.researchgate.net/publication/313658399_PP_61_Eficiencia_de_uso_de_las_precipitaciones_de_cultivares_de_Cenchrus_ciliaris_bajo_dos_frecuencias_de_defoliacion_Precipitation_use_efficiency_of_Cenchrus_ciliaris_cultivars_under_two_defoliation_)
- Espinoza, J., y Díaz, L. (2014). Desarrollo de negocios utilizando algarrobo orgánico en la asociación de comuneros “Sequion Olmos”. *Revista Del Instituto De investigación De La Facultad De Minas, Metalurgia Y Ciencias geográficas*, 17(34), 59-67. <https://doi.org/10.15381/iigeo.v17i34.11385>
- FAO. (2020). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. <https://doi.org/10.4060/ca8753es>
- FAO. (2014). Utilización de las especies de *Prosopis* introducidas: ¿puede la explotación económica contener a unas especies invasivas.  
<https://www.fao.org/4/y5507s/y5507s11.htm#:~:text=Los%20%C3%A1rbole>

s%20o%20arbustos%20Prosopis, en%20una%20amplia%20variedad%20ecol%C3%B3gica.

- Ferrario, M. (2019). Las comunidades de hongos micorrícicos arbusculares bajo diferentes usos del suelo en bosques de *Bulnesia sarmientoi*. (Tesis de Pre-Grado, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).
- Ferreira, R. (1987). Estudios sistemáticos de los algarrobos de la costa norte de Perú. Dirección de Investigación Forestal y Fauna. *Ministerio de Agricultura*, Lima, Perú. 31.
- Flores Clavo, R., Valladolid-Suyón, E., Reinoza-Farroñan, K., Asmat Ortega, C., Riboldi Monteiro, P. H., Apaza-Castillo, G. A., Zuñiga-Valdera, G., Fantinatti Garboggini, F., Iglesias-Osores, S., y Carreño-Farfán, C. R. (2023). Rhizobacterial Isolates from *Prosopis limensis* Promote the Growth of *Raphanus sativus* L. Under Salt Stress. *Curr Microbiol*, 80(8):269. <https://doi.org/10.1007/s00284-023-03379-w>
- Flores Clavo, R., Valladolid-Suyón, E., Reinoza-Farroñan, K., Asmat Ortega, C., Riboldi Monteiro, P. H., Apaza-Castillo, G. A., Zuñiga-Valdera, G., Fantinatti Garboggini, F., Iglesias-Osores, S., y Carreño-Farfán, C. R. (2023). Rhizobacterial Isolates from *Prosopis limensis* Promote the Growth of *Raphanus sativus* L. Under Salt Stress. *Curr Microbiol*, 80(8):269. <https://doi.org/10.1007/s00284-023-03379-w>
- Flores, A., & Méndez J. (2021). Evaluación cuantitativa de la germinación de *Quercus variabilis* Blume en tres tamaños de semilla. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 68(12), <https://www.scielo.org.mx/pdf/remcf/v12n68/2007-1132-remcf-12-68-202.pdf>
- Flores, M., Ortega, W., Ortega, A. (2020). Evaluación de tratamientos pregerminativos en semillas de *Euterpe precatoria* Mart. (Huasaí) en la ciudad de Pucallpa-Perú. *Revista Cubana de Ciencias Forestales*. 8(1), 88-103. <https://cfores.upr.edu.cu/index.php/cfores/article/view/490/pdf>
- Galera, F. (2000). Las especies del género *Prosopis* (Algarrobos) de América Latina con especial énfasis en aquellas de interés económico. FAO y

Universidad Nacional de Córdoba. ARG. (2013).

<http://www.fao.org/docrep/006/AD314S/AD314S00.htm#TOC>

Gams, W., y Bissett, J. (1998). Morphology and identification of *Trichoderma*. Harman GE, Kubicek CP (eds) *Trichoderma and Gliocladium*. London: Taylor and Francis.  
<https://biotanz.landcareresearch.co.nz/references/168bcb8e-b75f-4fd3-a06b-c3d12547d5c4>

García D y Moreno K. (2020). *Evaluación del potencial como promotoras de crecimiento en plantas bajo estrés salino de Bacillus spp. con actividad ACC desaminasa*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo]. <https://hdl.handle.net/20.500.12893/8874>

García, H., Martínez, A., Hermosa, M., Monte, E., Aguilar, C., y González, C. (2017). Caracterización morfológica y molecular de cepas nativas de *Trichoderma* y su potencial de biocontrol sobre *Phytophthora infestans*. *Revista mexicana de fitopatología*, 35 (3), 58-79. DOI: 10.18781/R.MEX.FIT.1605-4

García, M. (2021). *Identificación molecular de bacterias con potencial fijador de nitrógeno, asociadas a la rizósfera de Prosopis pallida "algarrobo"* (Tesis de Pre-Grado, Universidad de Tumbes, Perú)

Girard, R. (1964). *Técnicas de Microbiología Agrícola*. Acribia. Zaragoza-España.  
[https://www.casadellibro.com/libro-tecnicas-de-microbiologia-agricola/9788420000350/187327?srsItd=AfmBOoo72VYPPjvjZn7Ms\\_MLcc\\_KXbRR3ZnfwDf22s8sLX5rrjJo9DY7](https://www.casadellibro.com/libro-tecnicas-de-microbiologia-agricola/9788420000350/187327?srsItd=AfmBOoo72VYPPjvjZn7Ms_MLcc_KXbRR3ZnfwDf22s8sLX5rrjJo9DY7)

Gómez, M., Villegas, J., Sáenz, C., y Lindig, C. (2013). Efecto de la micorrización en el establecimiento de *Pinus pseudostrobus* en cárcavas. *Madera y Bosques* 19(3), 51-63. Doi: 10.21829/myb.2013.193327.

Gonzales, F., Hernández, A., Casanova, A., Méndez, M., y Bravo, E. (2006). Efecto de biorreguladores en el injerto herbáceos. *Boletín de Agricultura Urbana*, 30(2), 70–78.  
<https://www.grupoagricoladecuba.gag.cu/media/Agrotecnia/pdf/2006/Revista2/24.pdf>

- Gonzales, L. (2018). Efecto de tratamientos pregerminativos en semillas de *Dianthus barbatus* L. cv. 'Purple' bajo condiciones controladas. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 35(1), 58-68.  
[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-01352018000100058&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-01352018000100058&lng=en&nrm=iso&tlng=es)
- González, K. T., Thomas, E., Guillemín, M. L., Alcázar Caicedo, C., Moscoso Higuítá, L. G., González, M., y De Carvalho, D. (2019). Diversidad y estructura genética de cuatro especies arbóreas clave del Bosque Seco Tropical en Colombia. *Caldasia*, 41(1), 78-91.  
<https://doi:10.15446/caldasias.v41n1.71327>
- Guerrero, M., Alvarez, J., y Camacho, J. (2023). germinación y crecimiento de semillas de arveja var. 'Santa Isabel' sometidas a diferentes dosis de giberelinas. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*. 14(2), 1-14.  
<https://portal.amelica.org/ameli/journal/130/1304312005/html/>
- Guillen, R., Hernández, F., Gallegos, G., Rodríguez, R., Aguilar, C., Padrón E., & Reyes, M., (2006). *Bacillus* spp. como biocontrolador en suelos infestados con *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani* Kühn y *Phytophthora capsici* Leonina y su efecto en el desarrollo y rendimiento de pimiento (*Capsicum annum* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología* 23 (2), 105-113. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61224204>
- Hiiesalu, M., Pärtel, J., Davison, P., Gerhold, M., Metsis, M., y Moora, M. (2014). Riqueza de especies de hongos micorrízicos arbusculares: asociaciones con la riqueza de plantas y biomasa de pastizales. *New Phytologist*, 233-244. <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1111/nph.12765>
- Hofmann, R. (1989). Evolutionary steps of ecophysiological adaptation and diversification of ruminants: a comparative view of their digestive system. *Oecologia*, 78(4), 443–457. <https://doi.org/10.1007/BF00378733>
- Howell C.R. (2003). Mecanismos empleados por especies de *Trichoderma* en el control biológico de enfermedades de las plantas: historia y evolución de los conceptos actuales. *Enfermedad de las plantas*, 87(1), 4-10.  
<https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.1.4>

- Hughes, E., Ringelberg, J., Lewis P., & Catalano, S. (2022). Desintegración del género *Prosopis* L. (Leguminosae, Caesalpinioideae, clado mimosoide). *PhytoKeys*. 205, 147–189. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.205.75379>
- Junes, G. (2019) “evaluación de la actividad antagónica in vitro de cepas de trichoderma aislados de suelo agrícola frente a erylispe necator “oidio”. (Tesis de Pre-Grado, Universidad Nacional “san luis gonzaga” Ica - Perú)
- Justiniano, M.J., Nash, D., y Fredericksen, T.S. (2000). Ecología y silvicultura de especies menos conocidas. Tajibos o Lapachos *Tabebuia* spp. Gomes ex AP de Candolle Bignoniaceae. *Proyecto de Manejo Forestal Sostenible (BOLFOR)*. [https://pdf.usaid.gov/pdf\\_docs/PNACW360.pdf](https://pdf.usaid.gov/pdf_docs/PNACW360.pdf)
- Kadu, Tanvi y Gade, R. y Rathod, Jayant y Paraskar, Shyam y Malghane, Bhushan y Shedmake, Arpit. (2019). Rapid and Efficient Procedure for Genomic DNA Extraction from *Trichoderma* spp. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(1), 993-996. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.805.116>
- Kometter, R., & Reynel, C. (2022). *Los Bosques de “Algarrobo” (Prosopis spp) Están muriendo en la Costa Norte del Perú ¿Qué Hacer?*. <https://orcid.org/0000-0002-3545-6484><https://orcid.org/0000-0002-6173-9023>
- Kuehl, (2001). Diseño de experimentos Principios estadísticos de diseño y análisis de investigación. <https://bibliotecadeestadisticadeelpanduro.wordpress.com/2017/05/22/r-o-kuehl-2001-diseno-de-experimentos-principios-estadisticos-de-diseno-y-analisis-de-investigacion/>
- Llacsá, L. (2016). “Identificación de bacterias fijadoras de nitrógeno y hongos micorrícicos asociados a *Centrolobium ochroxylum* Rose ex Rudd. “amarillo” y *Loxopterygium huasango* Spruce ex Engler. “hualtaco” mediante técnicas de caracterización molecular, procedentes de la Zona de Amortiguamiento del Parque Nacional Cerros de Amotape” (Tesis de Pre-Grado, Universidad de Tumbes, Perú).

- Lucon, C. (2009). Promoción del crecimiento vegetal utilizando Trichoderma spp. [http://www.infobibos.com/Artigos/2009\\_1/trichoderma/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2009_1/trichoderma/index.htm).
- Lustosa, D., Araújo, A., Campo, B., y Vieira, T. (2020). Trichoderma spp. y sus efectos sobre la calidad fisiológica de las semillas y el desarrollo de plántulas de caoba africana, *Ciencias Agrícolas*. 15 (2020) 47-58.
- Machado, D., Tavares, A., Lopes, S., y Silva, A. (2015). Trichoderma spp. En emergencia y crecimiento de plántulas de cambara (*Gochnatia polymorpha*). *Árvore*, 39 (2), 167 –176.
- Mancilla-Leytón, J. M., Fernández-Alés, R., & Vicente, A. M. (2011). Plant-ungulate interaction: Goat gut passage effect on survival and germination of Mediterranean shrub seeds. *Journal of Vegetation Science*, 22(6), 1031–1037. <https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2011.01325.x>
- Marcos-Filho, Julio. (2015). Seed vigor testing: An overview of the past, present and future perspective. *Scientia Agricola*. 74(2). 363-374. <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0007>
- Marcos-Filho, Julio. (2015). Seed vigor testing: An overview of the past, present and future perspective. *Scientia Agricola*. 74(2). 363-374. <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0007>
- Marium, T., Kanwal, T., Shahnaz, D., y M. Javed, Z. (2024). Microflora Rizosfera Asociada a Leguminosas. *Revista Internacional de Biología Molecular*, 9(4), 429–433. [https://www.researchgate.net/publication/262008976\\_RHIZOSPHERE\\_MYCOFLORA\\_ASSOCIATED\\_WITH\\_LEGUMINOUS\\_TREES\\_AROUND\\_KARACHI\\_UNIVERSITY\\_CAMPUS](https://www.researchgate.net/publication/262008976_RHIZOSPHERE_MYCOFLORA_ASSOCIATED_WITH_LEGUMINOUS_TREES_AROUND_KARACHI_UNIVERSITY_CAMPUS)
- Marmillón, E. (1986). Manejo del algarrobo (*Prosopis alba*, *P. chilensis*, *P. flexuosa* y *P. nigra*) en las regiones semiáridas de Argentina. *Ecología y Manejo Forestal*, (16 84), 33-40. [https://doi.org/10.1016/0378-1127\(86\)90005-8](https://doi.org/10.1016/0378-1127(86)90005-8)
- Marmillon, E., (1986). Management of algarrobo (*Prosopis alba*, *P. Chilensis*, *P. Flexuosa*, and *P. Nigra*) in the semiarid regions of Argentina. *For. Ecol. Manag.* 16, 33–40. [https://doi.org/10.1016/0378-1127\(86\)90005-8](https://doi.org/10.1016/0378-1127(86)90005-8)

- Martinez, F., Miranda, D., y Magnitskiy, S. (2012). Temperatura de germinación de semillas de anón (*Annona squamosa* L.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 6 (2), 129-13.  
[https://www.academia.edu/18381747/Temperatura\\_de\\_germinaci%C3%B3n\\_de\\_semillas\\_de\\_an%C3%B3n\\_Annona\\_squamosa\\_L.\\_](https://www.academia.edu/18381747/Temperatura_de_germinaci%C3%B3n_de_semillas_de_an%C3%B3n_Annona_squamosa_L._)
- Mendoza, G., Wilson, J., y Colina, J. (2013). Efecto de *Trichoderma atroviride*, *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* sobre huevos de *Meloidogyne* sp. en condiciones de laboratorio. *Revista científica de Estudiantes*. 1 (2) 65-71. <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/ECCBB/article/view/479>
- Menten, J., y Moraes, M. (2010). Avances en el tratamiento de semillas y el tratamiento de recubrimiento de semillas: historia, tipos, características y beneficios. *Boletín informativo de Abrates*, 20, 52–53.
- Mom, P., Burgardt, D., Palacios, A., y Albán, L. (2002). Los algarrobos peruanos: *Prosopis pallida* y su delimitación. *Arnaldoa*, 9(1), 39–48.
- Moreira, A. (2024). Desarrollo agro morfológico del café (*Coffea arabica* L.) hib. Sarchimor4260 a la aplicación de trichoderma durante su primera etapa de crecimiento en el sitio definitivo (Tesis de Pre-Grado, Universidad Estatal del Sur de Manabí, Ecuador)
- Moreno, N., Miranda, D., Martínez, F. (2013). Germinación de semillas de anón (*Annona squamosa* L.) sometidas a estratificación. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 7 (1), 20-30.  
[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2011-21732013000100003](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2011-21732013000100003)
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2014). El genero *Prosopis* “Algarrobo” en America Latina y el Caribe. Distribución, bioecología, usos y manejo. *Estudios de Perú, FAO*.  
<https://www.fao.org/4/ad314s/ad314s01.htm>
- Ortega, U., Duñabeitia, M., Menéndez, M., González C. y Makada, J. (2004). Efectividad de la inoculación micorrízica en vivero sobre el crecimiento y las relaciones hídricas de *Pinus radiata* en diferentes regímenes hídricos. *Fisiología del árbol*, 24 (2), 65-73. Doi:10.1093/treephys/24.1.65.

- OSINFOR. (2018). Organismo de Supervisión de los Recursos Forestales y de Fauna Silvestre.  
<https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/1016216/APROVECHAMIENTO-FORESTAL-EN-BOSQUES-SECOS-final20200716-31706-1jygt7.pdf?v=1594954576>
- Otovo, J. 2015. Aportes para un manejo sostenible del ecosistema bosque tropical seco de Piura. Piura, *Asociación para la investigación y desarrollo integral (AIDER)*. 66p.
- Pasiecznik, N., Felker, P., Harris, P., Harsh, L., Cruz, G., Tewari, J., ... y Maldonado, L. (2001). The *Prosopis juliflora-Prosopis pallida* complex: a monograph (Vol. 172). Coventry: HDRA.
- Pereira, F., Oliveira, J., Muniz, P., Peixoto, G., Guimarães, R., & Carvalho, D. (2019). Promoción del crecimiento y productividad de lechuga utilizando cepas comerciales de *Trichoderma* spp. *Hortic. Bras*, 37 (1), 69–74.  
[https://www.researchgate.net/publication/332275560\\_Growth\\_promotion\\_and\\_productivity\\_of\\_lettuce\\_using\\_Trichoderma\\_spp\\_commercial\\_strains](https://www.researchgate.net/publication/332275560_Growth_promotion_and_productivity_of_lettuce_using_Trichoderma_spp_commercial_strains)
- Pérez, C., Carrillo, G., Vidal., E. y Ortiz, E. (2016). Efecto de la imbibición en la calidad fisiológica de semillas de jitomate. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(7),1765-1773.  
[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S2007-09342016000701765&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2007-09342016000701765&lng=es&nrm=iso)
- Pineda, J., Benavides, E., Duarte A., Burgos, C., Soto, C., Pineda, C., y Álvarez, S. (2017). Producción de biopreparados de *Trichoderma* spp: una revisión. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar. *Revista cubana ICIDCA* 1(1), 47-52. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223153894008>
- Probert, J., (2000). The Role of Temperature in the Regulation of Seed Dormancy and Germination. In: Fenner, M., Ed., *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*, 2nd Edition, CAB International, Wallingford, 261-292.  
<http://dx.doi.org/10.1079/9780851994321.0261>

- Ramos, C., Hidalgo, J., y Huaman, J. (2021) Coinoculación de *Rhizophagus irregularis* y *Trichoderma viride* en *Carica papaya* (Caricaceae) “papaya” en condiciones de invernadero. *Arnaldoa*. 28 (2), 349-364.  
<http://www.scielo.org.pe/pdf/arnal/v28n2/2413-3299-arnal-28-02-349.pdf>
- Reinoza K y Valladolid E. (2020). *Especies de Pseudomonas aisladas de la rizósfera de Prosopis limensis Benthams y su potencial como promotoras de crecimiento en plantas bajo estrés salino*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo]. <https://hdl.handle.net/20.500.12893/8873>
- Reyes, C., Quiroz, C., Ceja, J., Sánchez, R., y Reyes, J. (2022). Efectos del pretratamiento con *Trichoderma* y *Bacillus* en la germinación de semillas de *Agave victoriae-reginae* T. Moore seeds. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 13(69), 56–72. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v13i69.844>
- Rifai, A. (1969) Una revisión del género *Trichoderma*. Papeles micológicos. 116, 1-56.
- Rodríguez, R., Mabres, A., Luckman, B., Evans, M., Masiokas, M., y Ektvedt, T. (2005). Eventos de "El Niño" registrados en especies de bosque seco de las tierras bajas del noroeste del Perú. *Dendrocronología*, 22, 181-186.  
 DOI: 10.1016/j.dendro.2005.05.002
- Romero, G., Crosara, A., y Baraibar, A. (2008). *Trichoderma harzianum* un biocontrol y Biopromotor en vivero de especies forestales. *Ciencias e investigación Forestal*. 14 (2), 335-345. <https://doi.org/10.52904/0718-4646.2008.294>
- Romero, O., Huerta, M., Huato, M., Domínguez, F., y Arellano, D. (2009). Características de *Trichoderma harzianum*, como agente limitante en el cultivo de hongos comestibles. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 11(2), 143-151.  
[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0123-34752009000200015&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-34752009000200015&lng=en&nrm=iso)
- Salinas, J. (2021). “*Endozoocoria por cabras y venados: patrón temporal de defecación, sobrevivencia y germinación de semillas de algarrobo (prosopis pallida)*” (Tesis de Pre-Grado, Universidad Nacional Agraria la Molina, Perú)

- Salto, CS, Melchiorre, M., y Oberschelp, GPJ. (2019). Efecto de la fertilización e inoculación con cepas nativas de rizobios sobre el crecimiento de plántulas de *Prosopis alba* en condiciones de vivero. *Sistema Agroforestal*, 93(1), 621–629. <https://doi.org/10.1007/s10457-017-0156-8>
- Sanabria, A., Florentin, M., Insaurralde, L., Flores M., Romero, M., Sotelo P., y Barúa, J. (2023). Caracterización de especies de *Trichoderma* de suelos agrícolas de Paraguay. *Agronomía Colombiana* 41(3), 1-20. <https://doi:10.15446/agron.colomb.v41n3.111299>
- Sánchez, B., Garcia A., Terraza, T., y Reyes, A. (2005). Efecto de la hidratación discontinua sobre la germinación de tres cactáceas del desierto costero de Topolobampo, Ahome, Sinaloa. *Cactáceas y suculentas mexicanas*. 50 (1), 526-535. [https://www.researchgate.net/publication/259571563\\_Efecto\\_de\\_la\\_hidratacion\\_discontinua\\_sobre\\_la\\_germinacion\\_de\\_tres\\_cactaceas\\_del\\_desierto\\_costero\\_de\\_Topolobampo\\_Ahome\\_Sinaloa](https://www.researchgate.net/publication/259571563_Efecto_de_la_hidratacion_discontinua_sobre_la_germinacion_de_tres_cactaceas_del_desierto_costero_de_Topolobampo_Ahome_Sinaloa).
- Sánchez, G., Cortés, C., y Alvarado, G. (2023) *Trichoderma* spp. una alternativa para la agricultura sostenible: una revisión. *Revista colombiana de biotecnología*, 25 (2), 73 – 87. DOI: <https://10.15446/rev.colomb.biote.v25n2.111384>
- Sánchez, U., Ortega, I., Cano, I., González, A., Peña, C., Rivero, G., Sthormes, G., y Pacheco, D. (2011). Efecto de la escarificación de la semilla y del sustrato sobre el crecimiento de plántulas de *Agave salmiana*. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 28 (1), 40-50. <https://produccioncientificaluz.org/index.php/agronomia/article/view/26979/2764>
- Santana, Y., Del Busto, A., González, Y., Aguiar, I., Carrodegua, S., Luis Páez, P., y Díaz, G. (2016). Efecto de *Trichoderma harzianum* Rifai y FitoMas-E® como bioestimulantes de la germinación y crecimiento de plántulas de tomate. *Centro Agrícola*, 43(3), 5–12. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S02535785201600030001](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S02535785201600030001)

- Santos, F., Santos, E., Costa, L., Vieira, A., y Lustosa, C. (2020). Trichoderma spp. en el tratamiento de semillas de *Handroanthus serratifolius*: efecto sobre Germinación y desarrollo de las plántulas. *Heliyon*, 6(6), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04044>
- Santos, M., Costa, D., Matos, J., Silva, G., Vieira, T., y Lustosa, D. (2018). Tratamiento biológico de semillas de cupuaçu para el control de fitopatógenos y promoción de la germinación. *Cadernos de Agroecología*, 13 (1), 1-6. <https://cadernos.aba-agroecologia.org.br/cadernos/article/view/1017>
- Santos, M., Costa, D., Vieira, T., y Lustosa, D. (2019). Efecto del hongo Trichoderma spp. en la producción de plántulas en *Enterolobium Schomburgkii* (Benth.). *Revista australiana de ciencia de cultivos*, 13(10), 1706–1711. [https://doi: 10.21475/ajcs.19.13.10.p2023](https://doi:10.21475/ajcs.19.13.10.p2023)
- SERNANP, (2022). Reserva de Biosfera Noroeste Amotapes-Manglares. *Artículo del MINAM, Tumbes, Perú*. <https://www.gob.pe/institucion/sernanp/informes-publicaciones/3112925-reserva-de-biosfera-noroeste-amotapes-manglares>.
- Serralde, (2004). Análisis de poblaciones de micorrizas en maíz (*Zea mays*) cultivado en suelos ácidos bajo diferentes tratamientos agronómicos. *Revista corpoica*. 5 (1), 31-40. <https://revistacta.agrosavia.co/index.php/revista/article/view/22/24>
- Shenouda, M., & Cox, R. (2021). Los métodos moleculares desentrañan el potencial biosintético de las especies de Trichoderma. *Sociedad de real de química* 11(6), 3622-3635. <https://doi.org/10.1039/D0RA09627J>
- Shenouda, M., y Cox, R. (2021). Molecular methods unravel the biosynthetic potential of Trichoderma species. *The Royal Society of Chemistry's* 11(6), 3622-3635. <https://doi.org/10.1039/D0RA09627J>.
- Sieber, N. (2007). Hongos endofíticos en árboles forestales: son mutualistas. *Revisión de biología fúngica*, 21 (3) 75-89. [https://doi: 10.1016/j.fbr.2007.05.004](https://doi:10.1016/j.fbr.2007.05.004).

- Swain, H., Adak, T., Mukherjee, A., Bhattacharyya, P., y Behera, S. (2018). Nuevas cepas de *Trichoderma* aisladas de cortezas de árboles como posibles agentes de biocontrol y biofertilizantes para el arroz sembrado directamente. *Investigación microbiológica*, 214 (6), 83-90. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.05.015>
- Tabares, (2015). “*Viabilidad ambiental y socioeconómica del “Corredor de conservación de Áreas Protegidas Sur de los Andes Colombianos”*” (Tesis de pos- grado, Universidad para la cooperación internacional, Costa Rica).
- Talbi, Z., Chliyeh, M., Mouria, B., el Asri, A., Aguil, F., Ouazzani Touhami, A., Benkirane, R., y Douira, A. (2016). Effect of double inoculation with endomycorrhizae and *Trichoderma harzianum* on the growth of carob plants. *International Journal Of Advances In Pharmacy, Biology And Chemistry*. 5(1). 44-58. <https://www.ijapbc.com/files/05-02-16/07-4411.pdf>
- Valencia, H., Sánchez, J., & Valero, N. (2005). Producción de ácido indolacético por microorganismos solubilizadores de fosfato presentes en la rizosfera de *Espeletia grandiflora* y *Calamagrostis effusa* del Páramo el Granizo. *Estrategias adaptativas de plantas de páramo y del bosque altoandino en la cordillera oriental de Colombia*, 177-193.
- Vicente, I., Baroncelli, R., Hermosa, R., Monte, E., Vannacci, G., y Sarrocco, S. (2022). Papel y base genética de metabolitos secundarios especializados en la ecofisiología de *Trichoderma*. *Reseñas de biología fúngica*, 39 (3), 83-99. <https://doi:10.1016/j.fbr.2021.12.004>
- Woo, S. L., & Pepe, O. (2018). Consorcios microbianos: probióticos prometedores como bioestimulantes vegetales para la agricultura sostenible. *Fronteras en la ciencia vegetal*, 9(1801), 1–6. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01801>
- Yedia, I., Srivastava A., Kapulnik y., y Chet, I. (2004). Efecto de *Trichoderma harzianum* sobre las concentraciones de microelementos y el aumento del crecimiento de las plantas de pepino. *Suelo vegetal*, 235(2), 235-242. <https://doi:10.1023/A:1011990013955>

## VIII. ANEXOS

### ANEXO 1. Datos evaluados de germinación.

#### 8.1. Datos de parámetros de germinación

T	R	%PG	VMG	TMG	IG	%CT	UG	AP	LRAIZ	IV
I3.A	R1	80	2.76	7.75	6.20	55.45	0.257	20.54	10.69	1.76
	R2	76	2.41	8.37	6.36	50.55	0.278	23.48	13.14	2.35
	R3	76	2.35	8.58	6.52	49.82	0.294	22.53	13.82	2.37
	R4	80	2.55	8.25	6.60	53.64	0.324	22.47	13.62	2.45
PH1C	R1	64	2.08	8.19	5.24	43.09	0.274	15.35	19.10	1.88
	R2	64	2.04	8.25	5.28	42.91	0.327	14.45	23.25	2.15
	R3	60	1.94	8.20	4.92	40.36	0.286	15.26	21.09	1.93
	R4	64	2.16	7.88	5.04	44.00	0.287	13.33	20.05	1.71
I4.b	R1	96	2.34	11.96	11.48	48.18	0.042	14.13	27.77	3.77
	R2	92	2.01	13.52	12.44	39.64	0.037	15.66	31.34	4.51
	R3	100	2.28	12.72	12.72	46.73	0.040	14.35	33.20	4.76
	R4	92	2.08	12.65	11.64	43.27	0.047	14.26	33.00	4.33
I4.a	R1	100	2.43	12.00	12.00	50.00	0.043	14.90	18.94	2.82
	R2	92	2.28	11.87	10.92	46.55	0.044	12.72	13.42	1.57
	R3	88	2.25	11.23	9.88	47.09	0.054	11.58	17.68	1.80
	R4	96	2.43	11.13	10.68	51.82	0.054	14.79	17.93	2.55
IN4D	R1	60	1.81	8.80	5.28	38.73	0.226	21.55	11.54	1.49
	R2	64	1.66	10.25	6.56	37.09	0.124	21.91	14.04	1.97
	R3	60	1.56	10.73	6.44	33.45	0.074	21.65	15.80	2.05
	R4	60	1.48	11.13	6.68	32.36	0.083	22.08	15.64	2.07
PH3.B	R1	96	3.15	8.17	7.84	64.73	0.180	18.54	9.44	1.68
	R2	96	3.02	8.50	8.16	63.27	0.211	20.59	9.90	1.96
	R3	100	2.94	9.44	9.44	61.64	0.088	20.59	12.94	2.66
	R4	100	2.82	9.92	9.92	59.45	0.087	20.57	13.24	2.72
PH1B	R1	24	0.73	8.67	2.08	15.64	0.281	11.83	10.62	0.30
	R2	24	0.75	8.33	2.00	16.00	0.450	11.93	11.40	0.33
	R3	24	0.66	9.50	2.28	14.73	0.387	12.17	12.70	0.37
	R4	16	0.45	9.25	1.48	10.00	0.271	12.25	13.55	0.27
I5.A	R1	20	0.61	8.60	1.72	13.09	0.329	20.51	43.64	1.79
	R2	20	0.60	8.60	1.72	13.09	0.446	21.01	33.92	1.43
	R3	20	0.58	9.00	1.80	12.73	0.417	21.51	42.26	1.82
	R4	20	0.70	7.40	1.48	14.18	0.446	21.62	44.54	1.93
IN4A	R1	100	2.92	9.16	9.16	62.91	0.193	23.90	40.62	9.71
	R2	100	3.24	8.44	8.44	66.18	0.160	21.38	34.15	7.30
	R3	96	3.04	8.54	8.20	63.09	0.167	21.56	36.34	7.52
	R4	96	3.06	8.33	8.00	64.00	0.247	23.61	40.51	9.18
IN4E	R1	100	3.08	8.56	8.56	65.64	0.304	19.34	28.55	5.52
	R2	100	3.32	8.36	8.36	66.55	0.123	18.34	25.33	4.65
	R3	92	2.97	8.22	7.56	61.82	0.256	18.06	26.01	4.32
	R4	100	3.17	8.48	8.48	66.00	0.208	19.25	28.82	5.55

I4.B	R1	16	0.49	8.50	1.36	10.55	0.364	16.32	25.32	0.66
	R2	16	0.53	7.75	1.24	11.09	0.457	16.54	22.88	0.61
	R3	12	0.39	8.00	0.96	8.18	0.375	17.34	29.45	0.61
	R4	16	0.49	8.50	1.36	10.55	0.364	17.03	29.36	0.80
I3.B	R1	16	0.46	9.00	1.44	10.18	0.400	19.05	21.32	0.65
	R2	8	0.27	8.00	0.64	5.45	0.250	16.86	19.88	0.27
	R3	8	0.18	11.50	0.92	4.18	0.444	18.21	19.76	0.29
	R4	8	0.28	7.50	0.60	5.64	0.444	19.41	20.00	0.31
IN4B	R1	24	0.79	8.00	1.92	16.36	0.333	23.63	26.37	1.50
	R2	24	0.74	8.50	2.04	15.82	0.343	24.00	27.83	1.60
	R3	28	0.90	8.14	2.28	18.91	0.336	22.80	28.02	1.79
	R4	24	0.77	8.17	1.96	16.18	0.356	23.64	28.16	1.60
I5.B	R1	80	2.40	8.75	7.00	51.82	0.314	20.99	20.84	3.50
	R2	84	2.71	8.14	6.84	56.73	0.336	20.59	20.65	3.57
	R3	76	2.31	8.63	6.56	49.64	0.325	19.75	15.61	2.34
	R4	84	2.69	8.24	6.92	56.36	0.301	19.53	15.42	2.53
TESTIGO	R1	60	1.62	9.47	5.68	36.91	0.690	8.76	23.43	1.23
	R2	64	1.71	9.50	6.08	39.27	0.889	7.83	24.01	1.20
	R3	56	1.48	9.64	5.40	34.00	0.920	8.93	22.06	1.10
	R4	60	1.66	9.27	5.56	37.45	0.654	9.02	23.83	1.29

---

\*T= Tratamiento  
 \*R= Repetición  
 \*%PG= Porcentaje de germinación  
 \*VMG= Valor medio de germinación  
 \*TMG= Tiempo medio de germinación  
 \*IG= Índice de germinación  
 \*%CT= Porcentaje de coeficiente de Tinsom  
 \*UG= Uniformidad de germinación  
 \*AP= Altura de planta  
 \*LRAIZ= Longitud de raíz  
 \*IV= Índice de vigor

## 8.2. Registro diario de numero semillas germinadas

cod	rep	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	vuelsembr	Total	%GER
Qa	R1	0	0	0	0	2	1	1	2	0	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	20	80.00
Qa	R2	0	0	0	0	1	3	1	1	1	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	19	76.00
Qa	R3	0	0	0	0	1	4	1	1	1	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	19	76.00
Qa	R4	0	0	0	0	6	2	2	1	1	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	20	80.00
Phc	R1	0	0	0	0	1	4	2	1	0	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	16	64.00
Phc	R2	0	0	0	0	0	5	1	1	1	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	16	64.00
Phc	R3	0	0	0	0	0	6	0	1	1	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	15	60.00
Phc	R4	0	0	0	0	1	5	2	1	1	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	24	96.00
Mb	R1	0	0	0	0	0	3	1	2	1	7	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	21	84.00
Mb	R2	0	0	0	0	0	2	1	1	1	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	23	92.00
Mb	R3	0	0	0	0	0	2	1	1	1	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	23	92.00
Mb	R4	0	0	0	0	0	2	1	1	1	7	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	23	92.00
Ma	R1	0	0	0	0	0	2	1	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	23	92.00
Ma	R2	0	0	0	0	0	3	2	1	1	8	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	23	92.00
Ma	R3	0	0	0	0	1	2	1	1	1	6	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	22	88.00
Ma	R4	0	0	0	0	1	2	1	1	1	8	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	21	84.00
Ma	R1	0	0	0	0	0	4	1	1	1	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	24	96.00
Ma	R2	0	0	0	0	0	4	1	1	1	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	24	96.00
Ma	R3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	15	60.00
Ma	R4	0	0	0	0	0	2	1	1	1	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	15	60.00
Ma	R1	0	0	0	0	0	4	1	1	1	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	15	60.00
Ma	R2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	15	60.00
Ma	R3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	15	60.00
Ma	R4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	15	60.00
Ma	R1	0	0	0	0	0	4	1	1	1	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	15	60.00
Ma	R2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	15	60.00
Ma	R3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	15	60.00
Ma	R4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	15	60.00
Ma	R1	0	0	0	0	0	2	1	1	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	24	96.00
Ma	R2	0	0	0	0	0	2	1	1	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	24	96.00
Ma	R3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	24	96.00
Ma	R4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	24	96.00
Ma	R1	0	0	0	0	0	8	2	1	1	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	24	96.00
Ma	R2	0	0	0	0	0	8	0	1	1	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	24	96.00
Ma	R3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	24	96.00
Ma	R4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	24	96.00
Me	R1	0	0	0	0	0	8	0	1	1	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	25	100.00
Me	R2	0	0	0	0	2	10	0	0	2	8	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	25	100.00
Me	R3	0	0	0	0	0	9	1	1	1	9	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	23	92.00
Me	R4	0	0	0	0	1	8	0	2	1	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	23	92.00
Mg	R1	0	0	0	0	0	1	0	2	1	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	25	100.00
Mg	R2	0	0	0	0	0	1	0	1	1	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	25	100.00
Mg	R3	0	0	0	0	0	1	0	1	1	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	25	100.00
Mg	R4	0	0	0	0	0	1	0	1	1	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	25	100.00
Mb	R1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	4	16.00
Mb	R2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	4	16.00
Mb	R3	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	3	12.00
Mb	R4	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	4	16.00
Qb	R1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	4	16.00
Qb	R2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	4	16.00
Qb	R3	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	4	16.00
Qb	R4	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	4	16.00
Qb	R1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	2	8.00
Qb	R2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	2	8.00
Qb	R3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	2	8.00
Qb	R4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	2	8.00
Mg	R1	0	0	0	0	0	2	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	6	24.00
Mg	R2	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	6	24.00
Mg	R3	0	0	0	0	0	2	1	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	7	28.00
Mg	R4	0	0	0	0	0	2	1	1	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	7	28.00
Qb	R1	0	0	0	0	0	5	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	21	84.00
Qb	R2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	21	84.00
Qb	R3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	21	84.00
Qb	R4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	21	84.00
TESTIGO	R1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	15	60.00
TESTIGO	R2	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	14	56.00
TESTIGO	R3	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	14	56.00
TESTIGO	R4	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	14	56.00

## ANEXO 2. Componentes de Extracción de ADN y PCR

1. El Conjunto de reactivos para la PCR contenía las siguientes concentraciones finales:

Componente	Concentración Final
Buffer Taq	1X (Thermo Scientific)
Taq DNA Polimerasa Recombinante	1 U (Thermo Scientific)
MgCl <sub>2</sub>	2.5 mM (Thermo Scientific)
dNTP's	0.2 mM
Primer ITS1 e ITS4	0.6 pmol de cada uno
ADN	2 µl
Agua Ultra Pura	Para alcanzar un volumen final de 25 µl

2. La amplificación se llevó a cabo en un termociclador de la marca FOUR E's Scientific bajo las siguientes condiciones de ciclo:

Etapas	Temperatura	Tiempo
Pre-desnaturalización	94° C	6 min
Desnaturalización	94° C	30 s
Alineación	54° C	45 s
Extensión	72° C	45 s
Elongación final	72° C	5 min
Número de ciclos	-	35 ciclos

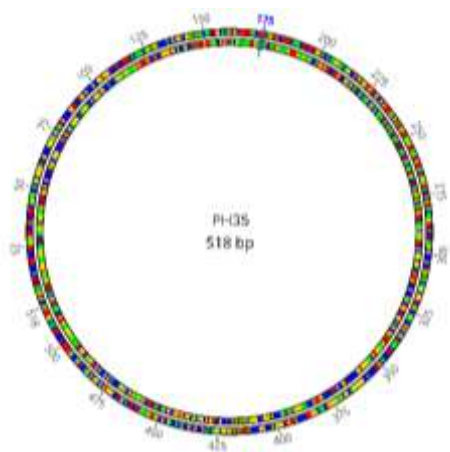
3. Componentes utilizados en la preparación del gel de agarosa, electroforesis.

Componente	Cantidad	Descripción
Agarosa	2.2 g	Utilizado para preparar el gel.
Solución TAE	120 ml	Buffer para preparar el gel.
Bromuro de etidio	6 µl	Intercalante para visualizar el ADN en el gel.
Tampón de depósito (bromofenol azul)	2 µl	Se usa para cargar los amplicones en los pocillos.
Amplicones	8 µl	ADN amplificado por PCR que se analiza en el gel.
Marcador de peso molecular	-	Sirve para estimar el tamaño del amplicón.

### ANEXO 3. Secuencias de nucleótidos de las 5 cepas promisorias del Género *Trichoderma*, aisladas de la rizosfera.

#### PH3B

CCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACCATACCAAACCTGTTGCCTCGGGCGGGGTACGCCCCGGGTGC  
 GTCGAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGGAGGGACCAACCAAACCTTTTCTGTAGTCCCCCTCGCGGACGTTA  
 TTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATGAATCAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG  
 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCA  
 CATTGCGCCCCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCGAACCCCTCCGGGGGG  
 TCGGCGTTGGGGACTTCGGGAACCCCTAAGACGGGATCCCGGCCCTAAATATAGTGGCGGTCTCGCCGCAGC  
 CTCTCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACGGGAGCGCGGGCGGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTC  
 TGAAATG



#### Nucleotide Statistics:

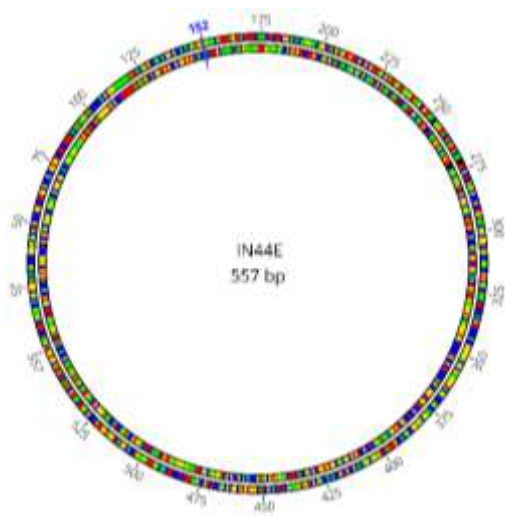
Length: 518 bp  
 Rough Tm: (restricted)

Molecular weight:  
 ssDNA: 159.531 kDa  
 dsDNA: 320.101 kDa

	Freq	%
<b>A:</b>	124	23.9%
<b>C:</b>	159	30.7%
<b>G:</b>	129	24.9%
<b>T:</b>	106	20.5%
<b>GC:</b>	288	55.6%
<b>All:</b>	518	100.0%

#### IN4E

CGTTACCAAACTGTTGCCTCGGGGATCTCTGCCCGGGTGCCTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCGCCGG  
 AGGACCAACCAAAAACCTTTATTGTATACCCCTCGCGGGTTTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTC  
 GTAGGCGTTTCGAAAAATGAATCAAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGC  
 GAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAAATTCNGTGAATCATCGAATCTTNNAACGCACATTCGCCCGCCA  
 GTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGAT  
 CGGCCCTGCCTTGGCGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCTGCGCAGTAGTT  
 TGCACACTCGCATCGGGAGAGCGGCGGTCCACAGCCGTTAAACACCCAACCTTCTGAAATGTTGACCTCGGAT  
 CAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA



#### Nucleotide Statistics:

Length: 557 bp  
 Rough Tm: (restricted)

Molecular weight:  
 ssDNA: 171.771 kDa  
 dsDNA: 344.201 kDa

	Freq	%	% non-ambig
<b>A:</b>	122	21.9%	22.0%
<b>C:</b>	162	29.1%	29.2%
<b>G:</b>	146	26.2%	26.4%
<b>T:</b>	124	22.3%	22.4%
<b>N:</b>	3	0.5%	
<b>GC:</b>	308	55.6%	55.6%
<b>All:</b>	557	100.0%	

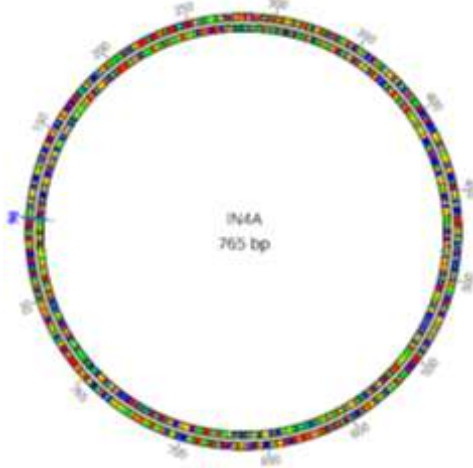
### IN4A

AGGAAGTAAAAAACGTAAACAAGGTCTCCGTAGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCA  
AACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGAACCA  
GGCGCCCGCCGAGGAACCAACCAAACTCTTTCTGTAGTCCCTCGCGGACGTATTTCTTTACAGCTCTGAGC  
AAAAATTCAAAATGAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAA  
TGCATAAGTAATGTGAATTGCAGAAATCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTAT  
TCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCGAACCCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGG  
ACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCATAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCA  
CAACTCGCACCGGGAGCGCGGCGCGTCCACGTCCGTAAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCA  
GGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAAGAAAAGAAACCAACAGGGATTGCCCCAGTAA  
CCGCGAGTGAAGCGCAACAGCTCAAATTTGAAATCTGGCCCTCCGGGTCCGAGTTGTAATTTGTAGAGGAT  
GCTTTTGGTGGGTGCCGCCCGAGTTCCCTGGAAC

#### Nucleotide Statistics:

Length: 765 bp  
Rough Tm: (restricted)

Molecular weight:  
ssDNA: 236.170 kDa  
dsDNA: 472.721 kDa



	Freq	%
<b>A:</b>	198	25.9%
<b>C:</b>	215	28.1%
<b>G:</b>	196	25.6%
<b>T:</b>	156	20.4%
<b>GC:</b>	411	53.7%
<b>All:</b>	765	100.0%

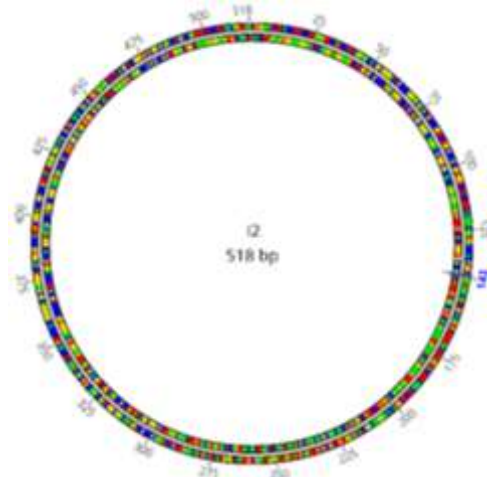
### I2.A

CGAGTTTACAACCTCCCAAACCAATGTGAACCATAACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCCGGGTGCG  
TCGCAGCCCCGGAACAGGCGCCCGCGGAGGGACCAACCAAACCTTTTTCTGTAGTCCCTCGCGGACGTTA  
TTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATCAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG  
ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAAATCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCA  
CATTGCGCCCCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCGAACCCCTCCGGGGGG  
TCGGCGTTGGGGACCTCGGGAGCCCCAAGACGGGATCCCGCCCCGAACCTACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGC  
CTCTCCTGCGCAGTAGTTTGACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGCGCGTCCACGTCCGTAAAAACACCCAACCTT  
TGAAATG

#### Nucleotide Statistics:

Length: 518 bp  
Rough Tm: (restricted)

Molecular weight:  
ssDNA: 159.533 kDa  
dsDNA: 320.105 kDa

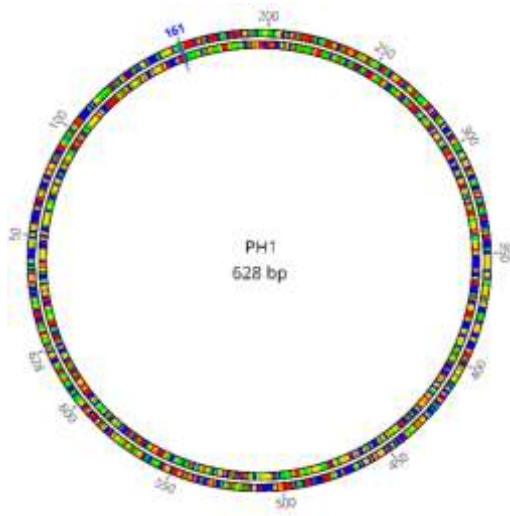


	Freq	%
<b>A:</b>	122	23.6%
<b>C:</b>	161	31.1%
<b>G:</b>	131	25.3%
<b>T:</b>	104	20.1%
<b>GC:</b>	292	56.4%
<b>All:</b>	518	100.0%

### PH1B

ATGTGACGTTACCAAACCTGTTGCCTCCGCAGGATCTCTGCCCCCGGTGCGTCGGACCCCCGACCAAGGTACC  
CGCCGGAGGACTATCCAAAGTTCTTACTGAATACCCCTCGCGGGTTTTTTTACTATCTGACCCATCTCGGCGC  
CCCTCGTGGGCGTTTGA AAAACGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGAATAATAAA  
ATCTTTAAATGCAATAAGTAATGTGAATTGTTCAATTCAGTGAATCATGTAATCTTTGAACGCACATTGCGCC  
CGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTG  
GGGATCGGCCCTTACGGGGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGGAGTAGGT

TGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGGTCCCCAGCCGTTAAACCCCTCAAACCTTCTAAAAAGAGTCCCCCACC  
 GGCATATTGATATGCTCCGAGACCTCAGCGATAAGAAACGGAACCTGTTCCCTCAGGTTATTGATGTGGCGCACC  
 GTAAGCAAACGAACGGTTTCTTCTTCTTAGTTAATTGCCAGGCGG



**Nucleotide Statistics:**

Length: 628 bp  
 Rough Tm: (restricted)

Molecular weight:  
 ssDNA: 193.380 kDa  
 dsDNA: 388.064 kDa

	<b>Freq</b>	<b>%</b>
<b>A:</b>	142	22.6%
<b>C:</b>	184	29.3%
<b>G:</b>	153	24.4%
<b>T:</b>	149	23.7%
<b>GC:</b>	337	53.7%
<b>All:</b>	628	100.0%

**ANEXO 4. Galeria de Fotos**



**Figura 30.**

*Georeferenciación y selección de ejemplares N. pallida para muestreo*



**Figura 31.**

*Ejemplares de N. pallida en el bosque seco de Tumbes*



**Figura 32.**

*Captura de hongos del género Trichoderma. A) Trampa de arroz sembrada al costado de la raíz de Neltuma pallida. B) Colocación de vaso hasta la mitad. C) Colección de Trampas rotuladas después de 7 días*



**Figura 33.**

*Diversidad de hongos de la rizosfera de N. pallida creciendo en medio de cultivo PDA.*



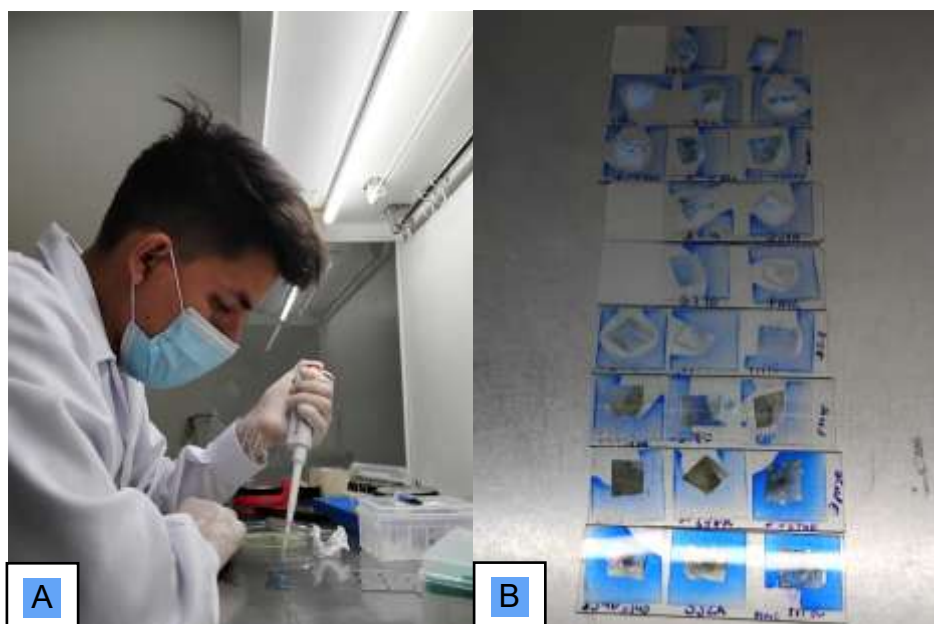
**Figura 34.**

*Purificación de cepas obtenidas, género Trichoderma*



**Figura 35.**

*Obtención de cepa pura (Trichoderma spp.) y características macroscópica*



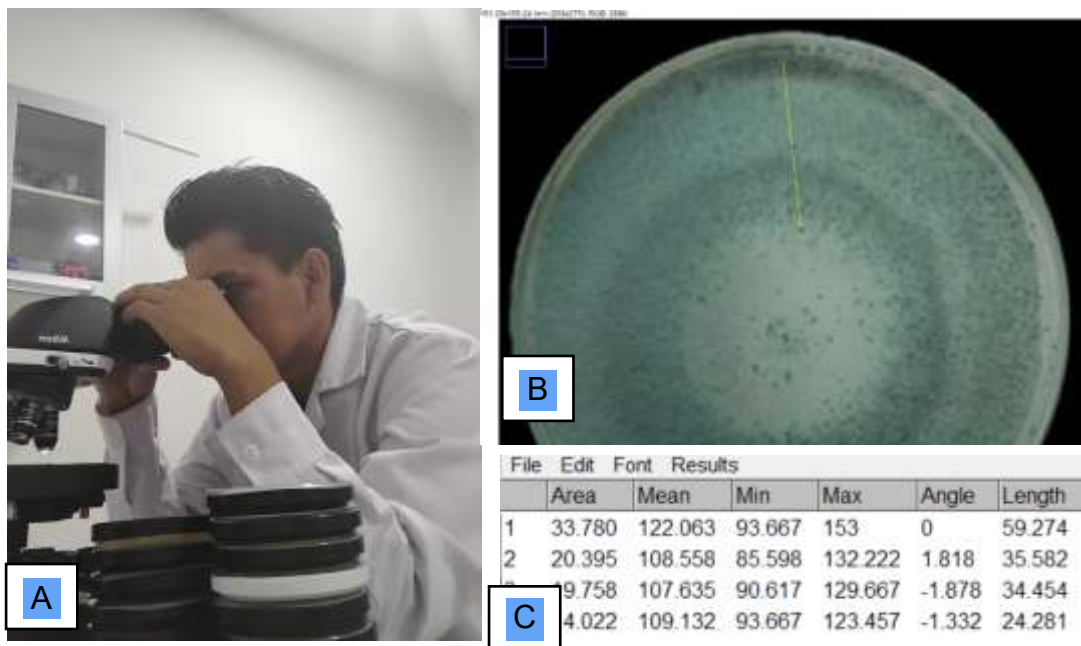
**Figura 36.**

*Prueba de tinción, detección de Trichoderma spp. A) Marcando 10  $\mu$ g en cinta transparente. B) Tinción de Trichoderma spp. con Azul de metileno con el uso de láminas cubre y porta objetos*



**Figura 37.**

*Estructura de Trichoderma spp. visto en Microscopio a 400X.*



**Figura 38.**

*Caracterización morfológica a través de microscopia simple. A) Caracterizar estructuras y formas. B) Mediciones de estructuras. C) Datos Extraídos de Software.*



**Figura 39.**

*Recolección de material genético, frutos de Neltuma pallida*



**Figura 40.**

*Sistema silvopastoril, Capra hircus: utiliza frutos de algarroba como parte de su dieta en el bosque seco y comparte sitio con N. pallida para su supervivencia conjunta de ambas especies*



**Figura 41.**

*Alimentación con pasto de corte Cuba algarrobo 22*



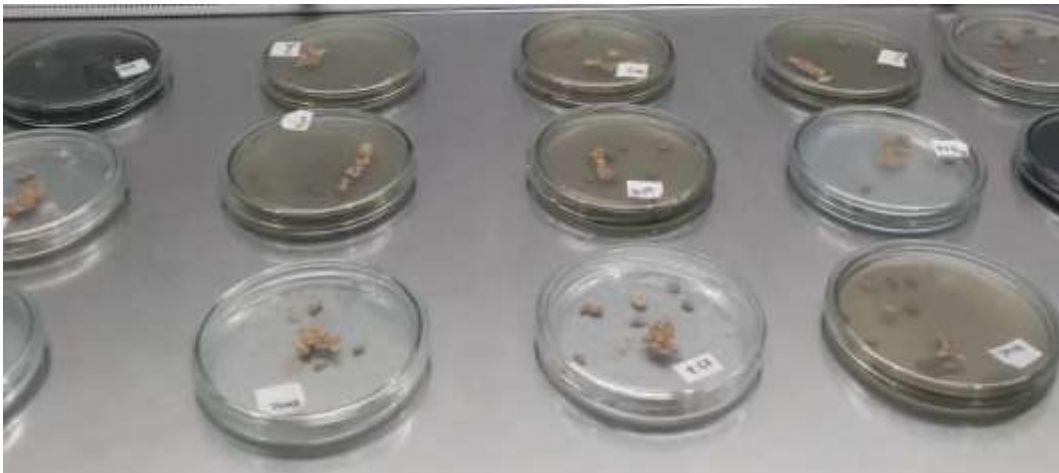
**Figura 42.**

*Alimentación con frutos de algarrobo (Neltuma pallida)*



**Figura 43.**

*Semillas recuperadas de Capra hircus por endozocoria.*



**Figura 44.**

*Tratamientos pre-germinativos con Trichoderma spp. en semillas de N. pallida.*



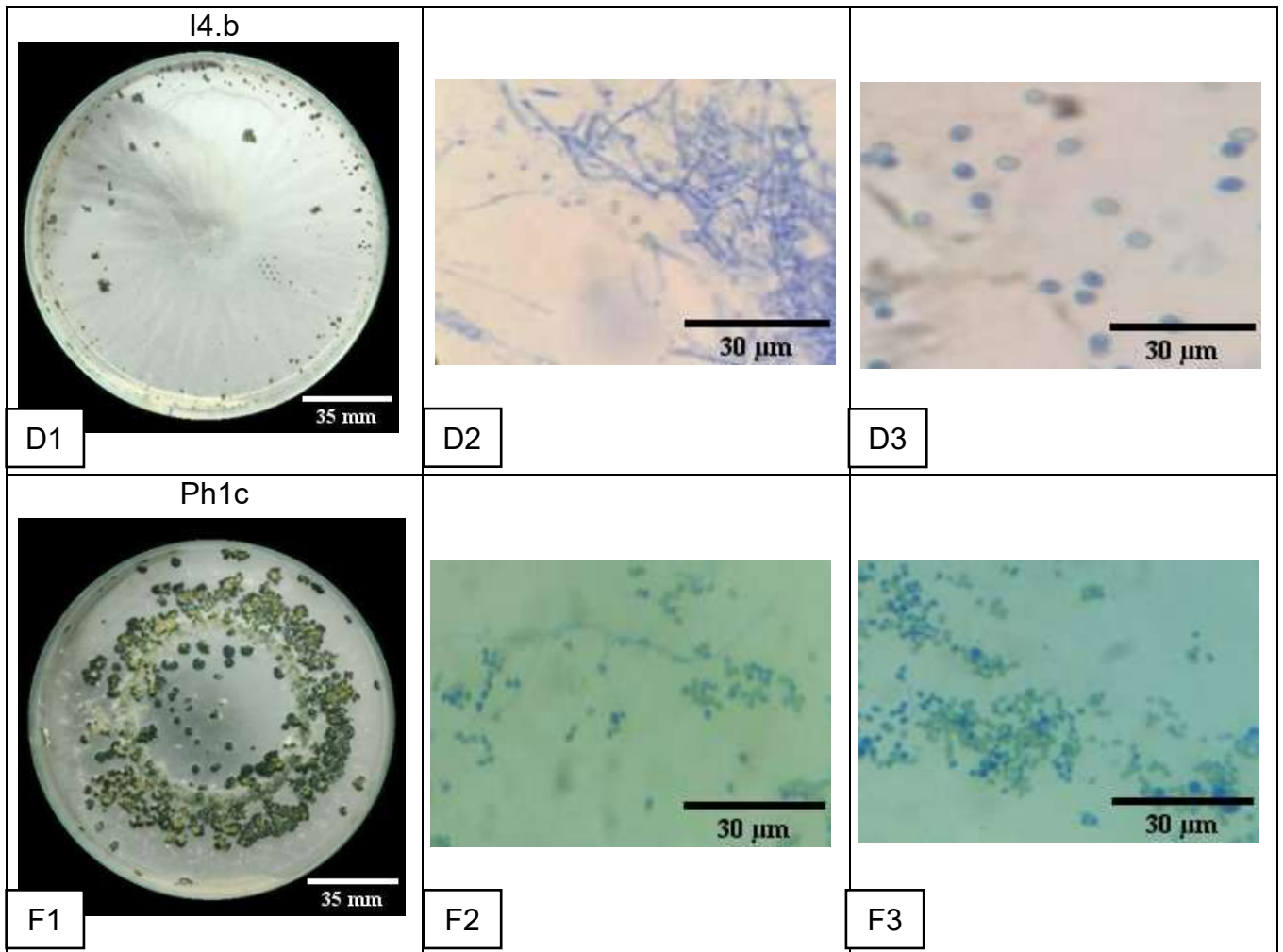
**Figura 45.**

*Germinación de semillas inoculas con cepas puras Trichoderma spp.*



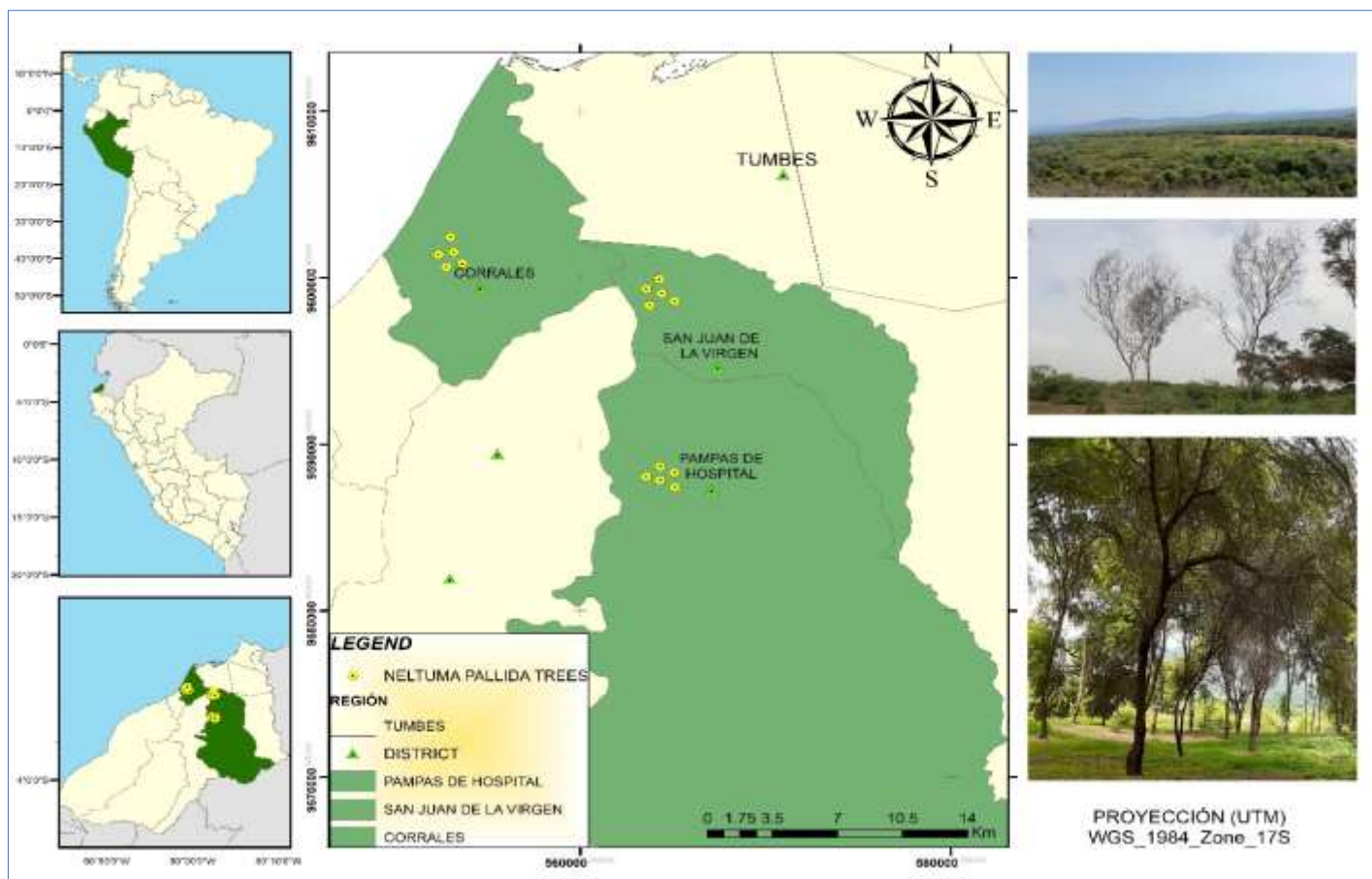
**Figura 46.**

*Evaluación de parámetros de germinación y efectividad de cada cepa pura de Trichoderma spp*



**Figura 47.**

*Características morfológicas de Trichoderma spp.*



**Figura 48.**

*Mapa de ubicación de tres distritos de Tumbes y puntos georreferencia de obtención de muestras (N. pallida)*

