



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE
MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA



Hongos con actividad ACC desaminasa asociados a la rizósfera de *Prosopis limensis* Benth. y su potencial como promotores de crecimiento vegetal

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO(A) EN
BIOLOGÍA MICROBIOLOGÍA – PARASITOLOGÍA

PRESENTADA POR:

Bach. Mayra Lessin Diaz Jalca

Bach. Josué Daniel Céspedes Silva

ASESORA:

Dra. Carmen Carreño Farfán

LAMBAYEQUE, PERÚ

2021

**Hongos con actividad ACC desaminasa asociados
a la rizósfera de *Prosopis limensis* Benth. y su
potencial como promotores de crecimiento vegetal**

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO(A) EN
BIOLOGÍA MICROBIOLOGÍA – PARASITOLOGÍA

APROBADA POR:

Dr. Guillermo Eduardo Delgado Paredes

PRESIDENTE

Dra. Gianina Llontop Barandiarán

SECRETARIA

Lic. Julio César Silva Estela

VOCAL

Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán

ASESORA

Lambayeque, Perú

2021

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	13
II. MARCO TEÓRICO	15
2.1 Antecedentes de la investigación	15
2.2 Base teórica	16
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
3.1 Materiales.....	19
3.1.1 Material biológico.....	19
3.1.2 Población y muestra	19
3.2 Métodos	19
3.2.1 Variables de la fase descriptiva	19
3.2.2 Variables de la fase explicativa.....	19
3.2.3 Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis.....	20
3.2.4 Lugar de muestreo y obtención de muestras.....	20
3.2.5 Aislamiento e identificación fenotípica de hongos	24
3.2.6 Preselección de hongos con actividad ACC desaminasa y tolerancia de cloruro de sodio	26
3.2.7 Selección de hongos según el efecto en la germinación de semillas de <i>Raphanus sativus</i> L. bajo estrés salino	26
3.2.8 Producción de índoles y solubilización de fosfatos en medios sólido y líquido	27
3.2.9 Efecto de tres hongos en la emergencia y desarrollo de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelos no salino y salino	30
3.2.10 Análisis estadístico de los datos	32
IV. RESULTADOS	34
4.1 Hongos identificados en la rizósfera de <i>Prosopis limensis</i> Benth “algarrobo” en Lambayeque, 2019	34

4.2	Hongos preseleccionados por la actividad ACC desaminasa y tolerancia al cloruro de sodio, Lambayeque 2019.....	34
4.3	Hongos seleccionados según el efecto en la germinación de semillas de <i>Raphanus sativus</i> L. bajo estrés salino.....	50
4.4	Características que evidencian promoción de crecimiento vegetal en las especies de hongos con actividad ACC desaminasa.....	50
4.5	Efecto de tres hongos con actividad ACC desaminasa en la emergencia y desarrollo de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelos no salino y salino.	54
4.5.1	Suelo no salino	54
4.5.2	Suelo salino	62
V.	DISCUSIÓN.....	70
VI.	CONCLUSIONES	74
VII.	RECOMENDACIONES.....	75
VIII.	REFERENCIAS	76

Índice de figuras

Figura 1. Diseño completamente aleatorio para determinar el efecto de hongos en <i>Raphanus sativus</i> L.....	21
Figura 2. Sector La Madrid de la Comunidad Campesina San José de Lambayeque, 2018. (https://www.google.com/maps/@6.7367447,79.9450498,740m/data=!3m1!1e3).....	22
Figura 3. Bosque artificial en el sector La Madrid de la Comunidad Campesina San José en Lambayeque, 2018.....	22
Figura 4. Diluciones de suelo rizosférico en solución salina esterilizada, Lambayeque 2019.....	25
Figura 5. Prueba in vitro de germinación de semillas de <i>Raphanus sativus</i> L, Lambayeque, 2019.....	29
Figura 6. Semillas de <i>Raphanus sativus</i> L. acondicionadas para la inoculación de hongos, Lambayeque, 2019.....	29
Figura 7. Medición de plantas de <i>Raphanus sativus</i> L., Lambayeque, 2019.....	33
Figura 8. Pesaje de la biomasa radicular de <i>Raphanus sativus</i> L., Lambayeque, 2019.....	33
Figura 9. Hongos filamentosos aislados en agar papa dextrosa, Lambayeque 2019.....	35
Figura 10. <i>Trichoderma</i> sp. desarrollado en agar papa dextrosa, Lambayeque 2019.....	35
Figura 11. Hongos filamentosos desarrollados en tubos con agar papa dextrosa, Lambayeque 2019.....	36
Figura 12. Colonia de <i>Aspergillus</i> sp.12 en agar papa dextrosa, Lambayeque 2019.....	38
Figura 13. Observación microscópica (400x) de <i>Aspergillus</i> sp. 21, Lambayeque 2019.....	38

Figura 14. Colonia de <i>Penicillium</i> sp. 43 en agar papa dextrosa, Lambayeque 2019.....	39
Figura 15. Observación microscópica (400x) de <i>Penicillium</i> sp. 32, Lambayeque 2019.....	39
Figura 16. Colonia de <i>Trichoderma</i> sp. 12 en agar papa dextrosa, Lambayeque 2019.....	40
Figura 17. Observación microscópica (400x) de <i>Trichoderma</i> sp. 6, Lambayeque 2019.....	40
Figura 18. Colonia de <i>Rizhoctonia</i> sp. 22 en agar papa dextrosa, Lambayeque 2019.....	41
Figura 19. Observación microscópica (400x) de <i>Rizhoctonia</i> sp. 17, Lambayeque 2019.....	41
Figura 20. Colonia de <i>Cunninghamella</i> sp. 1 en agar papa dextrosa, Lambayeque 2019.	42
Figura 21. Observación microscópica (400x) de <i>Cunninghamella</i> sp. 7, Lambayeque 2019.....	42
Figura 22. Colonia de <i>Cercospora</i> sp. 44 en agar papa dextrosa, Lambayeque 2019.	43
Figura 23. Observación microscópica (400x) de <i>Cercospora</i> sp. 65, Lambayeque 2019.	43
Figura 24. Colonia de <i>Monilia</i> sp. 9 en agar papa dextrosa, Lambayeque 2019.....	44
Figura 25. Observación microscópica (400x) de <i>Monilia</i> sp. 32, Lambayeque 2019.....	44
Figura 26. Colonia de <i>Mucor</i> sp.7 en agar papa dextrosa, Lambayeque 2019.	45
Figura 27. Observación microscópica (400x) de <i>Mucor</i> sp 21, Lambayeque 2019.	45

Figura 28. Colonia de <i>Oidiodendron</i> sp. 13 en agar papa dextrosa, Lambayeque 2019.....	46
Figura 29. Colonia de <i>Verticillium</i> sp. 25 en agar papa dextrosa, Lambayeque 2019.....	46
Figura 30. Observación microscópica (400x) de <i>Verticillium</i> sp. 54, Lambayeque 2019.	47
Figura 31. Hongos filamentosos desarrollados en medio DF con ACC como fuente de nitrógeno, Lambayeque 2019	48
Figura 32. Hongos desarrollados en caldo papa con cloruro de sodio, Lambayeque 2019.....	49
Figura 33. Germinación de semillas de <i>R. sativus</i> L., bajo estrés salino; testigo absoluto (a), testigo NaCl (b), <i>Trichoderma</i> spp. 2, 29 y <i>Penicillium</i> sp.16, Lambayeque 2019.	51
Figura 34. Coloración observada en la cuantificación de fósforo soluble, Lambayeque 2019.....	53
Figura 35. Halo de solubilización producido por <i>Trichoderma</i> sp. 2 en agar National Botanical Research Institute's phospate, Lambayeque 2019.....	53
Figura 36. Plantas de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo no salino, 15 días después de la inoculación de <i>Trichoderma</i> sp.32.....	57
Figura 37. Plantas de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo no salino, 20 días después de la inoculación de <i>Trichoderma</i> sp. 3.....	57
Figura 38. Plantas de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo no salino, 25 días después de la inoculación de <i>Trichoderma</i> sp. 2.	58
Figura 39. Plantas de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo no salino, 30 días después de la inoculación de <i>Trichoderma</i> sp. 32.....	58
Figura 40. Plantas de <i>Raphanus sativus</i> L., 30 días después de la inoculación de <i>Trichoderma</i> sp. 2.....	60

Figura 41. Raíces de <i>Raphanus sativus</i> L., 30 días después de la inoculación de <i>Trichoderma</i> sp. 3.....	60
Figura 42. Plántulas de <i>Raphanus sativus</i> L., en suelo salino, 15 días después de la inoculación de <i>Trichoderma</i> sp. 3.....	64
Figura 43. Plantas de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo salino, 15 días después de la inoculación de <i>Trichoderma</i> sp. 32.....	64
Figura 44. Plantas de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo salino, 20 días después de la inoculación de <i>Trichoderma</i> sp. 2.	65
Figura 45. Plantas de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo salino, 25 días después de la inoculación de <i>Trichoderma</i> sp. 3.....	65
Figura 46. Plantas de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo salino, 30 días después de la inoculación de <i>Trichoderma</i> sp. 3.....	66
Figura 47. Plantas de <i>Raphanus sativus</i> L., 30 días después de la inoculación de <i>Trichoderma</i> sp 3 en un suelo salino.....	68
Figura 48. Raíces de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelos no salino y salino, 30 días después de la inoculación con <i>Trichoderma</i> sp. 2.....	68

Índice de tablas

Tabla 1. Posición georeferencial de los puntos de muestreo en <i>Prosopis limensis</i> Benth, sector La Madrid, comunidad Campesina San José, Lambayeque 2018.....	23
Tabla 2. Análisis físico - químico de suelo no salino y salino en Lambayeque, 2020.....	31
Tabla 3. Número de aislados de hongos filamentosos en muestras de suelo rizosférico de <i>Prosopis limensis</i> Benth. en Lambayeque, 2019.....	37
Tabla 4. Frecuencia (%) de géneros de hongos filamentosos cultivables identificados en la rizósfera de <i>Prosopis limensis</i> en Lambayeque, 2019.....	47
Tabla 5. Cultivos de hongos con actividad ACC desaminasa, Lambayeque 2019.....	48
Tabla 6. Porcentaje de germinación de semillas de <i>Raphanus sativus</i> L. bajo estrés salino por efecto de hongos rizosféricos de <i>Prosopis limensis</i> Benth, Lambayeque 2019.	51
Tabla 7. Tasa de germinación de semillas de <i>Raphanus sativus</i> L. bajo estrés salino por efecto de hongos rizosféricos de <i>Prosopis limensis</i> Benth, Lambayeque 2019.....	52
Tabla 8. Índices de solubilización de fosfato, fósforo soluble e índoles producidos por hongos rizosféricos de <i>Prosopis limensis</i> Benth, Lambayeque 2019.....	52
Tabla 9. Rango de valores en los parámetros del desarrollo de <i>Raphanus sativus</i> L. inoculados con <i>Trichoderma</i> sp. en suelos no salino y salino.....	55
Tabla 10. Altura de plantas de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo no salino por efecto de <i>Trichoderma</i> spp.....	56
Tabla 11. Índices de efectividad de <i>Trichoderma</i> spp. en la altura de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo no salino.....	56

Tabla 12. Índices de efectividad de <i>Trichoderma</i> spp. en el número de hojas y peso de la biomasa aérea de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo no salino.....	59
Tabla 13. Índices de efectividad de <i>Trichoderma</i> spp. en el peso de raíces de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo no salino.....	59
Tabla 14. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los promedios de altura de <i>Raphanus sativus</i> L. en un suelo no salino a los 15, 20, 25 y 30 días después de la inoculación de <i>Trichoderma</i> sp.....	61
Tabla 15. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los valores número de hojas, biomasa aérea y peso de raíces de <i>Raphanus sativus</i> L. en un suelo no salino 30 días después de la inoculación de <i>Trichoderma</i> sp.....	61
Tabla 16. Emergencia de plántulas de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo salino por efecto de <i>Trichoderma</i> spp.	63
Tabla 17. Altura de plantas de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo salino por efecto de <i>Trichoderma</i> spp... ..	63
Tabla 18. Índices de efectividad de <i>Trichoderma</i> spp. en la altura de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo salino.....	63
Tabla 19. Índices de efectividad de <i>Trichoderma</i> sp. en el número de hojas y peso de la biomasa aérea de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo salino.....	67
Tabla 20. Índices de efectividad de <i>Trichoderma</i> spp. en el peso de raíces de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo salino.....	67
Tabla 21. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los promedios de altura de <i>Raphanus sativus</i> L. en un suelo salino, a los 15, 20, 25 y 30 días después de la inoculación de <i>Trichoderma</i> spp.....	69
Tabla 22. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los promedios del número de hojas, biomasa aérea y peso de raíces de <i>Raphanus sativus</i> L. en un suelo salino, 30 días después de la inoculación de <i>Trichoderma</i> spp.....	69

Resumen

El objetivo de la investigación fue determinar el potencial como promotores de crecimiento vegetal de los hongos con actividad 1 – aminociclopropano – 1 – carboxilatodesaminasa (ACCD) asociados a la rizósfera de *Prosopis limensis* Benth “algarrobo”. En condiciones *in vitro* se investigó la utilización del ACC como fuente de nitrógeno, la tolerancia al 10 % de cloruro de sodio, el efecto en la germinación de semillas de *Raphanus sativus* L. “rabanito” bajo estrés salino (80 mM NaCl), la producción de indoles, solubilización de fosfato tricálcico y el efecto de tres hongos en la emergencia y desarrollo de rabanito en suelos no salino ($CE_e = 2,66 \text{ dSm}^{-1}$) y salino ($CE_e = 23,68 \text{ dSm}^{-1}$). Se identificaron 13 géneros de hongos filamentosos, con predominancia de *Aspergillus* (31,7 %), *Penicillium* (27,0 %) y *Trichoderma* (15,8 %). El 60 % de *Trichoderma* spp. demostró la actividad ACC desaminasa. Estos hongos presentaron tolerancia a 10 % de NaCl, incrementaron el porcentaje y la tasa de germinación de semillas de rabanito bajo estrés salino, produjeron indoles (22,911 – 28,800 ppm) y solubilizaron fosfato tricálcico (2,598 – 4,120 ppm). Tres hongos del género *Trichoderma* incrementaron la emergencia, altura (22,81 – 100 %), número de hojas (37,88 – 72,37 %), peso de la biomasa aérea (67,18 – 100,2 %) y raíces (81,10 – 147,27 %) de las plantas de rabanito en los suelos no salino y salino. Se demostró el potencial para promover el crecimiento de plantas de *Trichoderma* spp.

Palabras clave: *Prosopis limensis*, hongos, ACC desaminasa, *Raphanus sativus*.

Abstract

The objective of the research was to determine the potential as promoters of plant growth of the fungus with activity 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase (ACCD) associated with the rhizosphere of *Prosopis limensis* Benth. "algarrobo". Under *in vitro* conditions, the utility of ACC as a nitrogen source, tolerance to 10 % sodium chloride, the effect on seed germination of *Raphanus sativus* L. "radish" under saline stress (80 mM NaCl), the production of indoles; solubilization of tricalcium phosphate and effect of three fungi on the appearance and development of radish in non-saline ($CE_e = 2.66 \text{ dSm}^{-1}$) and saline ($CE_e = 23.68 \text{ dSm}^{-1}$) soils was investigated. Thirteen genus of filamentous fungi were identified, with predominance of *Aspergillus* (31.7 %), *Penicillium*. (27.0 %) and *Trichoderma* (15.8 %). The 60 % of *Trichoderma* spp demonstrated the ACC deaminase activity. These fungi showed tolerance to 10 % NaCl, increased the percentage and germination rate of radish seeds under saline stress, they produce indoles (22,911 – 28,800 ppm), solubilization of tricalcium phosphate (2,598 - 4,120 ppm). Three fungi of the genus *Trichoderma* increased emergence, height (22,81 – 100 %), number of leaves (37,88 – 72,37 %), weight of aerial biomass (67,18 – 100,2 %) and roots (81,10 – 147,27 %) of radish plants in non-saline and saline soils. The potential to promote plant growth of *Trichoderma* spp was demonstrated.

Keywords: *Prosopis limensis*, fungi, ACC deaminase, *Raphanus sativus*.

I. INTRODUCCIÓN

La salinidad o elevada concentración de sales deteriora el suelo y se estima que en el 2050 estará afectado el 50 % de las tierras cultivables en el mundo (Palacio et al., 2016). En la costa del Perú el 40 % de la superficie cultivable, presenta salinidad, siendo más afectados Tumbes, Piura y Lambayeque (Soca et al., 2016). Las sales disminuyen el potencial hídrico del suelo, dificultan la adsorción del agua por las raíces (Saavedra, 2017) e inducen el estrés hídrico en las plantas, con efecto negativo en los cultivos agrícolas (Esquivel et al., 2013).

Las plantas responden al estrés incrementando el nivel de varias hormonas como el etileno, que a su vez es desfavorable para el desarrollo vegetal (Singh et al., 2015). Los microorganismos con actividad de la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato desaminasa (ACCD), entre los que se encuentran los hongos filamentosos (Viterbo et al., 2010) hidrolizan el precursor del etileno denominado 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) hasta alfacetobutirato y amonio, reduciendo el nivel de etileno e inhibición por el estrés, con incremento en el desarrollo vegetativo y rendimiento de las plantas (Saravanakumar et al., 2018; Viterbo et al., 2010).

En la comunidad Campesina San José, sector La Madrid (Junta de Usuarios Chancay de Lambayeque, 2014) se encuentran campos agrícolas que dejaron de ser cultivados por la excesiva salinidad (Santamaría, 2013); no obstante, algunas especies vegetales como *Prosopis limensis* Benth. “algarrobo” se adaptaron y desarrollaron. En estos suelos salinos las plantas prosperan gracias a sus mecanismos de resistencia (Chávez y González, 2009) y a la microbiota de la rizósfera con actividad ACC desaminasa (Saravanakumar et al., 2018; Gamalero et al., 2008). Estos microorganismos tienen el potencial para constituir biofertilizantes que pueden ser aplicados en los cultivos agrícolas en suelos con salinidad; sin embargo, previamente deben ser aislados y caracterizados con esta perspectiva.

El problema de la investigación fue: ¿Cuál es el potencial como promotores de crecimiento vegetal de los hongos con actividad ACC desaminasa asociados a la rizósfera de *P. limensis* Benth.?. La hipótesis fue: Los hongos con actividad ACC desaminasa asociados a la rizósfera de *P. limensis* Benth. toleran altas concentraciones de NaCl, producen indoles, solubilizan fosfatos y promueven la germinación y desarrollo de las plantas en suelos salino y no salino.

El objetivo general de la investigación fue: Determinar el potencial como promotores de crecimiento vegetal de los hongos con actividad ACC desaminasa asociados a la rizósfera de *P. limensis* Benth. Los objetivos específicos fueron: Identificar fenotípicamente el género de los hongos aislados de la rizósfera de *P. limensis* Benth. “algarrobo” en la Comunidad Campesina de San José, región Lambayeque, preseleccionar los hongos con actividad ACC desaminasa y tolerancia al cloruro de sodio, seleccionar los hongos según el efecto en la germinación de semillas de *Raphanus sativus* L. “rabanito” bajo estrés salino, comparar la producción de indoles y la solubilización de fosfato en medios sólido y líquido por los cinco hongos con mayor efecto en la germinación de semillas de rabanito y determinar el efecto de tres hongos en la emergencia y desarrollo de rabanito en suelos no salino y salino.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación

Saravanakumar et al. (2018) investigaron en *T. harzianum* TSK8 y *T. estonicum* SKS1 la actividad ACC desaminasa y el efecto de los hongos en el crecimiento de *Rhizophora mucronata* y *R. apiculata*. En condiciones de invernadero los hongos se aplicaron en los propágulos y en el suelo y a los 75 días se determinaron el número de raíces, altura y biomasa aérea y radicular. La actividad ACC desaminasa correspondió a $8,18 \pm 0,38$ y $9,32 \pm 1,25$ μmol alfacetobutirato mg^{-1} proteína hora⁻¹. Los hongos incrementaron significativamente el crecimiento de las plantas, alcanzando 41 % (SKS1) y 43 % (TSK8) en la biomasa de *R. mucronata* y 71 % (SKS1) en *R. apiculata*. Se demostró el potencial de *Trichoderma* sp. para ser utilizado como biofertilizantes en *Rhizophora* spp.

Aban et al. (2017) aislaron hongos simbióticos en las raíces de *Drynaria quercifolia* L. y se identificaron a nivel molecular, con el objetivo de investigar la producción de auxinas (AIA) en caldo Sabouraud dextrosa con triptófano, solubilización de fosfatos en agar Pikovskaya con fosfato tricálcico y actividad ACC desaminasa en agar levadura con 3,0 mM de ACC como fuente de nitrógeno. Se obtuvieron cinco aislados de hongos, identificándose *T. yunnanense*, *T. simmonsii*, *Meyerozyma guilliermondii* y dos cultivos de un *Mucoromycotina* no identificado. Todos los hongos sintetizaron AIA; *M. guilliermondii*, *T. simmonsii* y un *Mucoromycotina* no identificado solubilizaron fosfato tricálcico y los cinco hongos presentaron actividad ACC desaminasa, evidenciándose el potencial de los hongos como biofertilizantes.

Doni et al. (2014) determinaron el efecto de dos formulaciones de *Trichoderma* sp. SL 2 en plántulas de *Oryza sativa* L. “arroz”. El hongo se cultivó en PDA durante 7 días y se obtuvo una suspensión de 10^8 conidios L⁻¹, de la cual se inocularon 10 mL en coronta de maíz (T1) y bagazo de caña de azúcar (T2)

como sustratos. Después de 10 días de incubación a 30°C las formulaciones se inocularon en el suelo (5g kg⁻¹), incluyendo un testigo con agua y luego se trasplantaron plántulas de 5 días. Transcurridos 15 días del trasplante, se observó que T1 incrementó en forma significativa la longitud de las raíces y la biomasa de las plantas y no significativamente la altura y número de hojas. Se demostró el potencial de la formulación de *Trichoderma* sp. SL 2 para ser utilizado como inoculante en el cultivo de arroz.

Viterbo et al. (2010) investigaron el efecto de *Trichoderma asperellum* T203 con actividad ACC desaminasa en *Brassica napus* “canola”. El hongo se cultivó en medio sintético con ACC como fuente de nitrógeno y la actividad se expresó en μmol de α -cetobutirato mg⁻¹ proteína hora⁻¹. En condiciones in vitro semillas y raíces de plántulas se inocularon con el hongo y su transformante para investigar la colonización radicular. La actividad de *T. asperellum* en cultivo sumergido correspondió a $12,16 \pm 3,8 \mu\text{mol } \alpha\text{-cetobutirato mg}^{-1} \text{ proteína hora}^{-1}$. Se observó incremento significativo ($p < 0,05$) en la altura de las plántulas, pero no se encontraron diferencias en la colonización radicular entre hongo transformado y no transformado. Se evidenció el rol de la actividad ACC desaminasa en el crecimiento de las plántulas.

2.2 Base teórica

La agricultura intensiva sin responsabilidad ambiental afecta en forma negativa el suelo, generando salinidad o alcalinidad, disminución de la materia orgánica e incremento en el nivel de erosión entre otros problemas. La recuperación y mantenimiento de la sostenibilidad del sistema agrícola requiere tecnologías limpias como los biofertilizantes, constituidos por microorganismos promotores de crecimiento vegetal (Hermosa et al., 2012; Parra, 2012), que incluyen bacterias (Sánchez et al., 2016) y hongos (Viterbo et al., 2010).

Los hongos desempeñan funciones muy importantes en los ecosistemas; sin embargo, las actividades antropogénicas, principalmente la agricultura altera su hábitat y afectan la diversidad y fisiología (Pacasa et al., 2017) requiriéndose su aislamiento y propagación para ser reintroducidos como biofertilizantes (Siddikee et al., 2010).

Los suelos salinos tienen una conductividad eléctrica (CE) del extracto de saturación $>4 \text{ dSm}^{-1}$ a 25 C° y porcentaje de sodio intercambiable (PSI) $<15 \%$ (Lázaro et al., 2010). La concentración de sales disueltas en la zona radicular restringe el desarrollo de los cultivos. El Na^+ no representa más de la mitad de los cationes disueltos, los aniones principales son los cloruros y sulfatos (Lázaro et al., 2010), con pequeñas cantidades de bicarbonatos y nunca se encuentran carbonatos (Pinchao, 2013). Las sales más frecuentes son el cloruro de sodio (NaCl), cloruro de magnesio (MgCl), sulfato de sodio (Na_2SO_4) y sulfato de magnesio (MgSO_4), no son comunes los cloruros de potasio y sulfato de potasio y son muy raros los cloruros de calcio (Marchese, 2015).

El impacto de los microorganismos promotores de crecimiento vegetal puede ser de manera directa e indirecta. La promoción indirecta ocurre cuando se disminuye o evita el efecto deletéreo de los fitopatógenos. La promoción directa se refiere a que estos microorganismos incrementan la disponibilidad de nutrientes en la rizósfera de las plantas mediante la fijación de nitrógeno, aumento de la disponibilidad de hierro y fósforo, síntesis de reguladores del crecimiento, vitaminas y enzimas como la 1 aminociclopropano-1-ácido carboxílico (ACC) desaminasa (Penrose y Glick, 2003).

La actividad ACC desaminasa regula la concentración de etileno producido por la mayoría de las plantas en condiciones desfavorables y de esta manera disminuye en parte el estrés inducido por esta fitohormona, a la vez que promueve el crecimiento de las plantas (Saleem et al., 2007). La actividad ACC desaminasa ha sido reportada en los tres dominios: Archaea, Bacteria y Eucarya. Entre los eucariotas la enzima ha sido estudiada en los hongos *Trichoderma asperellum* y *Penicillium citrinum* (Viterbo et al., 2010), *Piriformospora indica* (Hermosa et al., 2012), *Hansenula saturnus*, *Issatchenkia occidentalis* y *Phytophthora sojae*. La presencia de la ACC desaminasa se confirma con la amplificación y análisis de la secuencia AcdS o gen estructural que codifica la enzima (Singh et al., 2015).

El etileno es una de las moléculas producidas por la planta, bajo estrés biótico (patógenos) o abiótico producido por la salinidad o la sequía (Viterbo et al., 2010). El etileno en una concentración óptima (10 gL^{-1}) es esencial en las

funciones relacionadas con el normal crecimiento y desarrollo de las plantas como la formación de raíces adventicias y pelos radiculares, aceleración de la germinación de semillas y ruptura de la dormancia de las semillas, entre otros; sin embargo, en una concentración elevada (25 gL^{-1}) induce defoliación, inhibición de la elongación de raíces, senescencia y caída de hojas, destrucción de la clorofila, epinastia e inhibición de la nodulación en las leguminosas. Por tanto, es primordial regular la producción de etileno en las raíces (Singh et al., 2015).

La biosíntesis del etileno se inicia cuando la enzima ACC sintasa convierte el S-adenosil metionina (SAM) en ácido-1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) y 5' metiltioadenosina (MTA) el cual posteriormente regenera a la L-metionina. A continuación, el ACC se convierte en etileno por acción de la ACC oxidasa. Según un modelo propuesto para la síntesis de etileno se observan dos picos de etileno cuando las plantas están en estrés. El primer pico se atribuye a la transcripción de genes que codifican para las proteínas de defensa de las plantas. El segundo pico más acentuado o "estrés por etileno" es consecuencia del estrés perjudicial para las plantas e inicia la senescencia, clorosis y abscisión de hojas (Singh et al., 2015).

Los hongos con actividad con ACC desaminasa (Viterbo et al., 2010) hidrolizan el precursor del etileno para producir alfacetobutirato y amonio y de esta manera reducen el nivel de etileno e inhibición por el estrés. La enzima ACC desaminasa es inducida en presencia del sustrato ACC (mínimo 100 nM), proceso que es lento y complejo y que también se puede observar en presencia de L-alanina, DL-alanina y D-serina. Una cantidad significativa del ACC exudado por las raíces o las semillas es hidrolizado por los microorganismos hasta alfacetobutirato y amonio. Como consecuencia, disminuye el ACC fuera de las raíces y para que se restablezca el equilibrio en el nivel de ACC interno y externo se incrementa la exudación de ACC en la rizósfera. La disminución de ACC afecta la biosíntesis de etileno y estimula el crecimiento de la planta hospedera (Singh et al., 2015).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales

3.1.1 Material biológico

Raíces y suelo rizosférico de *Prosopis limensis* Benth., semillas de rabanito, var. Champion y hongos con actividad ACC desaminasa.

3.1.2 Población y muestra

En la etapa descriptiva de la investigación, la población correspondió al suelo rizosférico de *P. limensis* Benth. del distrito de San José de Lambayeque y se investigaron 54 muestras probabilísticas de suelo rizosférico, número determinado por los investigadores en un muestreo piloto (Anexo A). En la etapa explicativa de la investigación la población y muestra de estudio correspondió a 96 plantas de rabanito distribuidas en cuatro tratamientos y tres repeticiones, bajo un diseño completamente aleatorio en dos suelos no salino y salino.

3.2 Métodos

3.2.1 Variables de la fase descriptiva

Variable cuantitativa	:Rango de tolerancia al NaCl, concentración de indoles, índice de solubilización de fosfatos y concentración de fósforo soluble.
-----------------------	--

3.2.2 Variables de la fase explicativa

Variables independientes	: Suelos no salino y salino Hongos (3) con actividad ACC desaminasa
Variable dependiente	: Emergencia y desarrollo de <i>R. sativus</i> L.

3.2.3 Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis

La investigación fue descriptiva en la primera etapa y explicativa en la segunda etapa. En la investigación descriptiva, la hipótesis se contrastó con el diseño de una Sola Casilla de Goode y Hatt y en la segunda etapa de la investigación explicativa con el diseño experimental completamente aleatorio, DCA (Hernández et al., 2014). Se realizaron dos ensayos en suelos no salino y salino, cada uno con cuatro tratamientos, correspondientes a un testigo sin hongos (T1) y tres tratamientos con hongos (T2 a T4), considerando tres repeticiones por tratamiento y un total de 12 unidades experimentales por ensayo (Figura 1).

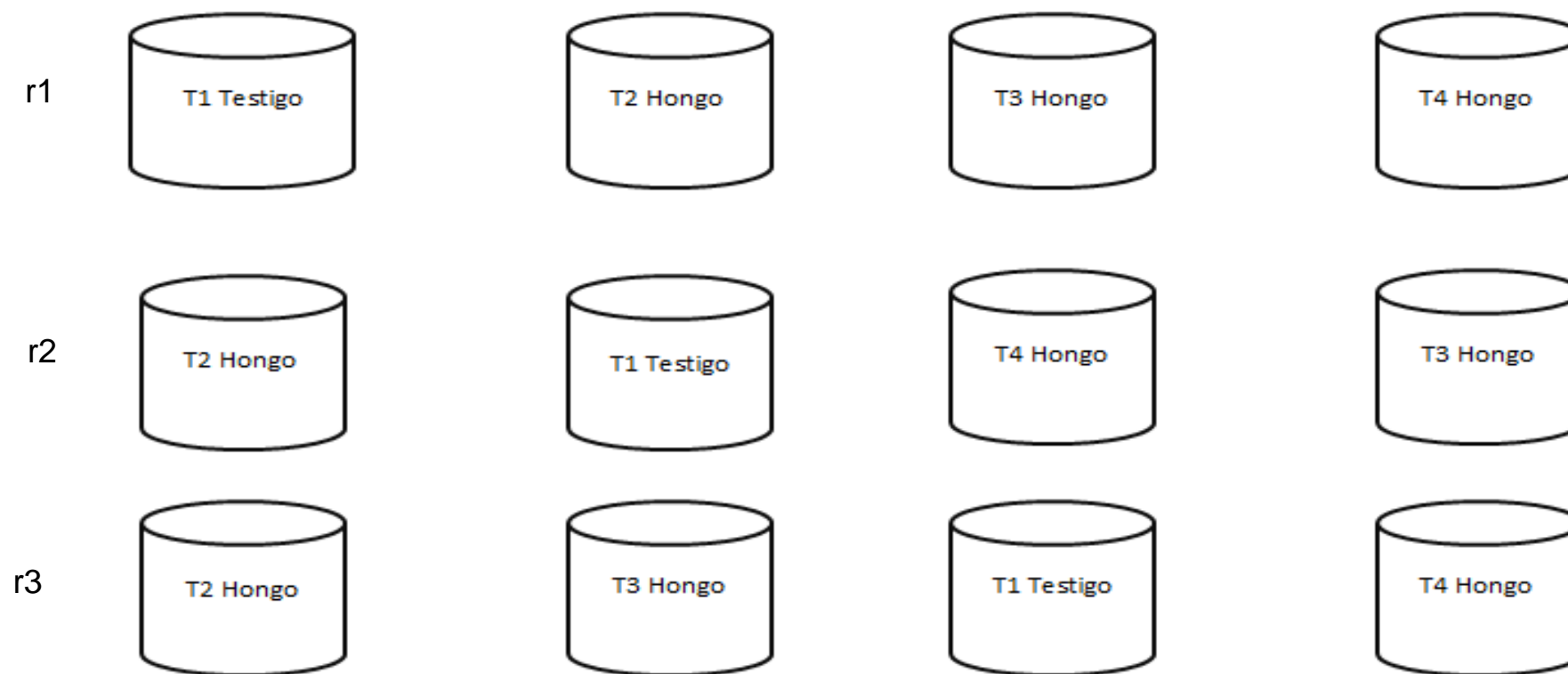
3.2.4 Lugar de muestreo y obtención de muestras

El muestreo se realizó en el distrito San José de Lambayeque comprendido entre las coordenadas geográficas 6°45'35.65" de latitud sur y 79°57'41.35" de longitud oeste (INDECI, 2003). En el distrito de San José, sector de riego La Madrid de la Comunidad Campesina San José se seleccionó un bosque artificial (7000 m²) con algarrobos, *Acacia macracantha* "faïque" y *Schinus molle* L. "molle" (Figuras 2, 3, tabla 1). El suelo fue salino – sódico, según el análisis físico – químico (conductividad eléctrica = CE_e = 23,68 dSm⁻¹ y porcentaje de sodio intercambiable, PSI = 24,65 %) realizado en el Instituto Nacional de Innovación Agraria, Estación Experimental Vista Florida de Chiclayo.

Las 54 muestras de raíces con suelo rizosférico se colectaron en 18 árboles de algarrobo, con un promedio de 11 años, un rango de altura de 16 – 18 m y un diámetro del tallo de 0,2133 – 0,2260 m (Anexo B). En cada árbol se tomaron tres muestras, para lo cual a 0,5 m de la base del tallo se marcaron tres puntos equidistantes y con una palana se retiró el suelo hasta una profundidad de 0,60 m, alcanzando las raíces laterales. Éstas junto con el suelo rizosférico adherido en una cantidad aproximada de 0,1 kg se depositaron en bolsas de papel y se llevaron al laboratorio de Investigación Biotecnología Microbiana de la Facultad de Ciencias Biológicas, en la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

Figura 1

*Diseño completamente aleatorio para determinar el efecto de hongos en *Raphanus sativus* L.*



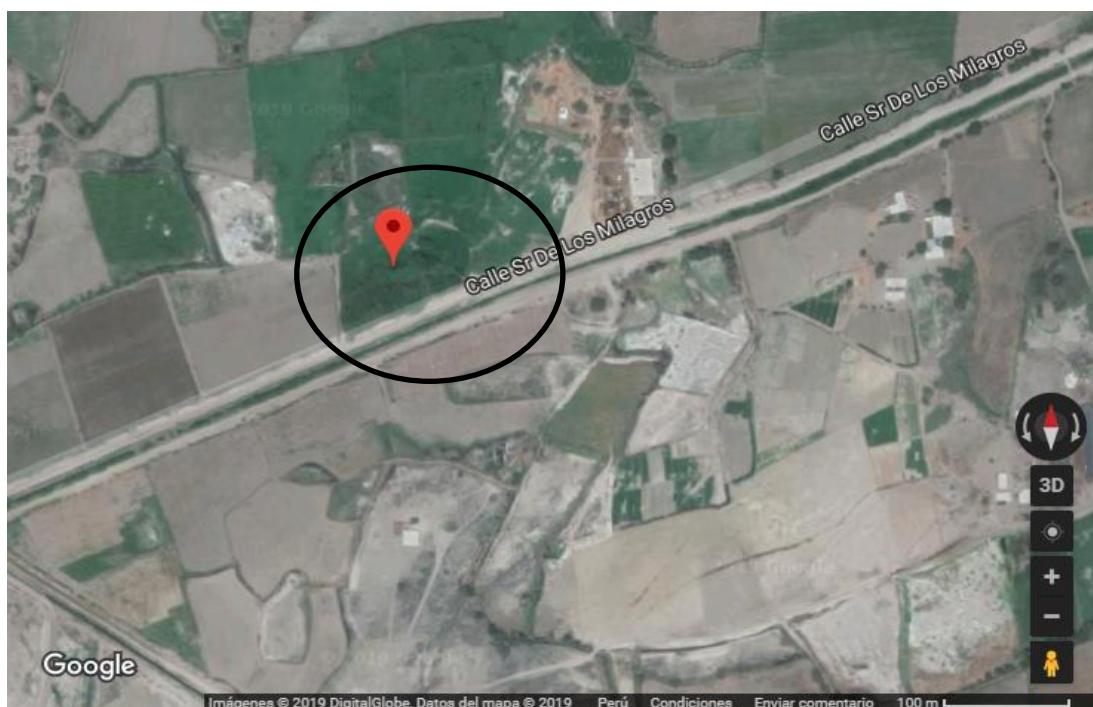
T1 : Testigo sin hongo

T2 a T4 : Tratamiento con hongos con actividad ACC desaminasa

Figura 2

Sector La Madrid de la Comunidad Campesina San José de Lambayeque, 2018.

(<https://www.google.com/maps/@6.7367447,79.9450498,740m/data=!3m1!1e3>)

**Figura 3**

Bosque en el sector La Madrid de la Comunidad Campesina San José en Lambayeque, 2018.



Tabla 1

Posición georeferencial de los puntos de muestreo en Prosopis limensis Benth, sector La Madrid, comunidad Campesina San José, Lambayeque 2018.

Árboles	N° de muestras	Posición georeferencial
A	A1	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252105
	A2	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252102
	A3	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252102
B	B1	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252150
	B2	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252170
	B3	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252150
C	C1	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252170
	C2	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252900
	C3	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252100
D	D1	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252140
	D2	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252500
	D3	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252100
E	E1	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252140
	E2	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252600
	E3	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252400
F	F1	-6.769702, -79.952676°46'10"S, 79°57'9"W17 6157419251585
	F2	-6.764084, -79.9684046°45'50"S, 79°58'6"W17S614002 9252209
	F3	-6.736889, 79.9431336°44'12"S, 79°56'35"W17S6168029255210
G	G1	-6.736882, -79.9431286°44'12"S, 79°56'35"W17 S 616802 9255211
	G2	-6.736891, -79.943136°44'12"S, 79°56'35"W17 S 616802 9255210
	G3	-6.736891, -79.943136°44'12"S, 79°56'35"W17 S 616802 9255210
H	H1	-6.7371, -79.9433816°44'13"S, 79°56'36"W17 S 616775 9255187
	H2	-6.737108, -79.9433786°44'13"S, 79°56'36"W17 S 616775 9255186
	H3	-6.737146, -79.9431796°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616797 9255182
I	I1	-6.737135, -79.9431626°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616799 9255183
	I2	-6.737135, -79.9431626°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616799 9255183
	I3	-6.737135, -79.9431626°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616799 9255183
J	J1	-6.737134, -79.9431516°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616800 9255183
	J2	-6.737135, -79.9431626°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616799 9255183
	J3	-6.737135, -79.9431626°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616799 9255183
K	K1	-6.73714, -79.9431566°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616800 9255182
	K2	-6.737135, -79.9431626°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616799 9255183
	K3	-6.737135, -79.9431626°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616799 9255183
L	L1	-6.77079, -79.941486°46'14"S, 79°56'29"W17 S 616976 9251461
	L2	-6.77079, -79.941486°46'14"S, 79°56'29"W17 S 616976 9251461
	L3	-6.77079, -79.941486°46'14"S, 79°56'29"W17 S 616976 9251461
M	M1	-6.737134, -79.9431696°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616798 9255183
	M2	-6.737123, -79.9431646°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616799 9255184
	M3	-6.737135, -79.9431626°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616799 9255183
N	N1	-6.737135, -79.9431626°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616799 9255183
	N2	-6.737135, -79.9431626°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616799 9255183
	N3	-6.737032, -79.9429986°44'13"S, 79°56'34"W17 S 616817 9255194
O	O1	-6.737032, -79.9429986°44'13"S, 79°56'34"W17 S 616817 9255194
	O2	-6.737036, -79.9430016°44'13"S, 79°56'34"W17 S 616817 9255194
	O3	-6.773736, -79.9243426°46'25"S, 79°55'27"W17 S 618870 9251132
P	P1	-6.737032, -79.9429986°44'13"S, 79°56'34"W17 S 616817 9255194
	P2	-6.737032, -79.9429986°44'13"S, 79°56'34"W17 S 616817 9255194
	P3	-6.737032, -79.9429986°44'13"S, 79°56'34"W17 S 616817 9255194
Q	Q1	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252100
	Q2	-6.709208, -79.9159476°42'33"S, 79°54'57"W17 S 619814 9258264
	Q3	-6.702732, -79.9058026°42'9"S, 79°54'20"W17 S 620937 9258978
R	R1	-6.736969, -79.9429416°44'13"S, 79°56'34"W17 S 616824 9255201
	R2	-6.736969, -79.9429416°44'13"S, 79°56'34"W17 S 616824 9255201
	R3	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252100

3.2.5 Aislamiento e identificación fenotípica de hongos

En las raíces y suelo rizosférico previamente deshidratados bajo sombra por 72 horas se obtuvo el suelo rizosférico (Vardharajula et al., 2011), se pesó 1 g de cada muestra, se mezcló con 9 mL de solución salina esterilizada (NaCl 0,85 %, p/v) se agitó en forma manual por 5 minutos, se tomó una alícuota y se sembró en agotamiento y estría en placas de Petri conteniendo agar papa dextrosa (PDA), con 5 % de NaCl y 0,05 mgL⁻¹ de Cloranfenicol (Pacasa et al., 2017; anexo C).

Transcurrida la incubación a 30°C, por 7 días, las colonias de los hongos se agruparon en morfotipos y se cultivaron en PDA con 5 % de NaCl durante 5 días. La identificación de estos cultivos puros de hongos se realizó en cultivos monospóricos, para lo cual se obtuvo una suspensión de conidios con un fragmento de micelio (0,1 cm²) en 5mL de solución salina esterilizada (NaCl 0,85 % p/v) y se sembró una alícuota en placas de Petri con agar agua con 5 % NaCl y Cloranfenicol.

Con la finalidad de observar las esporas germinadas, las placas de Petri con el PDA cultivado con los hongos se examinaron bajo el microscopio óptico, durante el periodo de incubación, cada 6 horas. Las esporas germinadas se sembraron en tubos con PDA, se incubaron a 30°C por 96 horas y los hongos desarrollados se identificaron mediante la técnica de microcultivo (Pacasa et al., 2017), realizando comparaciones de las estructuras con la clave taxonómica de Barnett y Hunter (1998).

El microcultivo se realizó en placas de Petri acondicionadas con un algodón humedecido con agua destilada esterilizada, para mantener la humedad. En el interior se colocó un triángulo de vidrio, como soporte de una lámina portaobjetos en cuya parte central se depositó un bloque de PDA de 0,5 cm², en cada uno de sus cuatro lados se sembró el hongo del cultivo monospórico y el bloque de PDA se cubrió con una laminilla cubreobjetos. A continuación, los hongos se incubaron a temperatura ambiente (25°C) por 96 horas, la laminilla cubreobjetos se retiró y se colocó solo una gota de azul de algodón depositada en el centro de una lámina portaobjetos. Las observaciones se realizaron con el objetivo de 40X del microscopio óptico.

Figura 4

Diluciones de suelo rizosférico en solución salina esterilizada, Lambayeque 2019.



3.2.6 Preselección de hongos con actividad ACC desaminasa y tolerancia de cloruro de sodio

La actividad ACC desaminasa de los hongos se determinó por la utilización del ACC (3mM) como fuente de nitrógeno (Aban et al., 2017; Penrose y Glick, 2003) en el medio mínimo Dworkin & Foster (DF) a un pH de 7,2 considerando un testigo del mismo medio con sulfato de amonio como fuente de nitrógeno (Anexos C, D).

Los hongos cultivados en 2 mL de medio mínimo DF por 5 días se inocularon en 5 mL del mismo medio, se incubaron a 30°C por 5 días y el desarrollo de micelio similar en el medio mínimo DF con ACC y sulfato de amonio evidenció la utilización del ACC como fuente de nitrógeno y la positividad para la actividad ACC desaminasa (Angulo et al., 2014).

A los hongos con actividad ACC se le determinó la tolerancia al cloruro de sodio (Qin et al., 2014), para lo cual se sembraron en caldo papa dextrosa suplementado con 5; 7,5; y 10 % NaCl a 30°C y el desarrollo de micelio denotó la tolerancia al NaCl. Los hongos con actividad ACC desaminasa y tolerantes a diferentes concentraciones de NaCl se cultivaron nuevamente en el medio mínimo Dworkin & Foster (DF) con 10 % NaCl y se incubaron a 28°C por 10 días para observar el micelio desarrollado por los hongos y verificar la actividad ACC desaminasa.

3.2.7 Selección de hongos según el efecto en la germinación de semillas de *Raphanus sativus* L. bajo estrés salino

En condiciones *in vitro* se determinó el efecto de los hongos en la germinación de semillas de *R. sativus* L. “rabanito”. Para la obtención del inóculo, los hongos se cultivaron dos veces consecutivas en 5 mL de medio mínimo DF con 0,85 M NaCl y 3mM de ACC, con agitación manual diaria por 5 minutos durante 9 días. La biomasa fungal se concentró por centrifugación, se lavó por tres veces (1 minuto por lavado) con una solución 0,03 M de MgSO₄, se resuspendió con Tween 80 al 0,03 % y su concentración se estandarizó a 10⁸ conidios mL⁻¹, utilizando la cámara de Neubauer (Corrales et al., 2012).

En el bioensayo se utilizaron 195 placas de Petri esterilizadas, en cuya base se acondicionaron tres capas de papel filtro humedecido con agua

destilada en el testigo ($CE_e = 0$) y una solución de 80 mM de NaCl ($CE_e = 6,94 \text{ dSm}^{-1}$). Las semillas de rabanito a las que previamente se les determinó el porcentaje de germinación se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 3 % (1 min), se enjuagaron con agua destilada esterilizada (cinco veces) y se inocularon por inmersión con 1 mL del inóculo de hongos, a 30°C por 10 horas (Figuras 5, 6).

Los tratamientos fueron un testigo absoluto con agua destilada esterilizada (Qin et al., 2014) un testigo positivo con la solución 80 mM NaCl, sin hongos y 13 tratamientos con la solución 80 mM NaCl y los hongos. Las semillas aplicadas con los tratamientos se depositaron por triplicado (40 semillas por placa) en las placas de Petri previamente adecuadas, éstas se cubrieron con papel aluminio y se mantuvieron en la estufa a 30°C durante 12 días.

Las semillas germinadas (con la radícula emergida: 2 o más mm de longitud) se contaron cada 3 días y después del conteo se descartaron (Qin et al., 2014). Con los valores de germinación se determinó el porcentaje de germinación. Asimismo, se calculó la tasa de germinación según la ecuación utilizada por Rueda et al. (2009): $M = n1/ t1 + n2/ t2 + n3/ t3 + n4/ t4 \dots n40/ t12$, donde $n1, n2, n3, n4 \dots n40$ representa el número de semillas germinadas en el tiempo $t1, t2, t3, t4 \dots T12$ días.

3.2.8 Producción de índoles y solubilización de fosfatos en medios sólido y líquido

Los índoles producidos *in vitro* por los hongos investigados, se cuantificaron mediante la técnica colimétrica de Salkowski (García et al., 2010). El inóculo (5 %) de cada hongo se sembró por triplicado en 5 mL de caldo tripticasa soya suplementado con triptófano (Anexo C), se incubó a 30°C por 7 días y se centrifugó (3000 rpm) durante 3 minutos. Se tomaron 0.4 mL de cada sobrenadante, se mezclaron con 1,6 mL del reactivo de Salkowski modificado y después de 30 minutos, la absorbancia se leyó en el espectrofotómetro de luz visible (Model Tenso Med NV-203) a 530 nm. Las concentraciones de índoles se calcularon con la ecuación de la curva de calibración obtenida con diluciones de una solución de 100 ppm de ácido indolacético.

La solubilización de fosfato tricálcico se investigó en medios sólido y líquido, determinándose el índice de solubilización y la concentración de fósforo soluble, respectivamente. Los hongos cultivados en agar papa dextrosa (PDA) durante 96 horas, se sembraron por duplicado, mediante la técnica de puntura superficial en agar National Botanical Research Institute's Phosphate (NBRIP) con 1 gL⁻¹ fósforo inorgánico (Lara et al., 2011, anexo C). Las placas de Petri se incubaron a 30°C y después de 96 horas se midió el diámetro de la colonia de los hongos, el diámetro de las colonias más el halo de solubilización y se calcularon los índices de solubilización de fosfato (García y Álvarez, 2012):

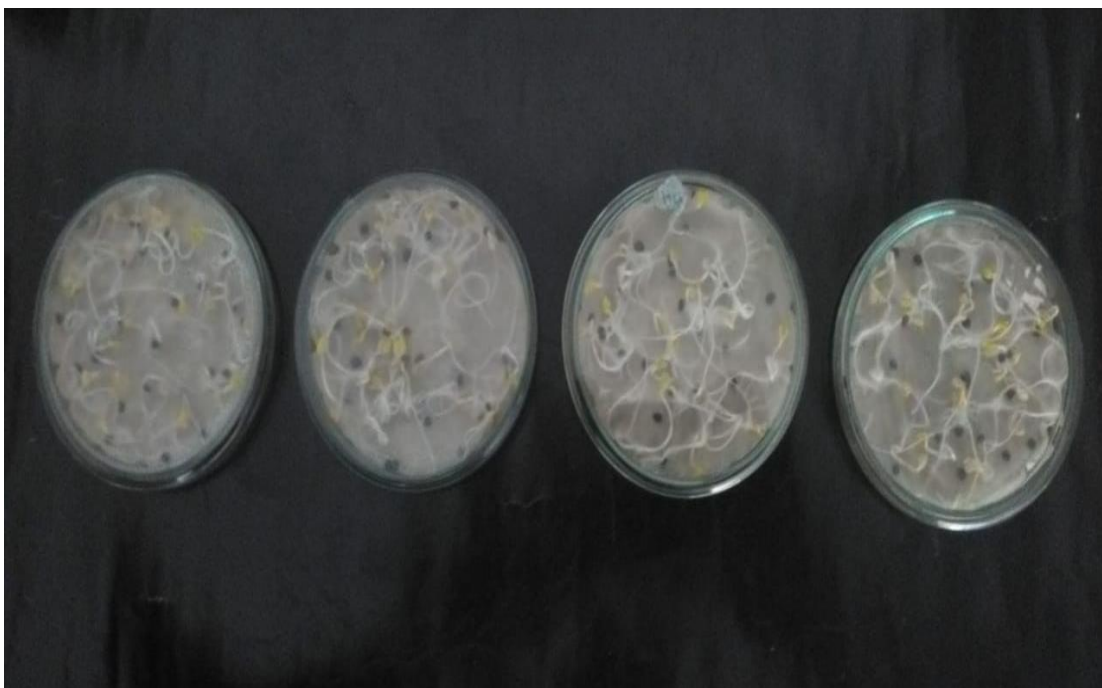
$$\text{Índice de solubilización} = \frac{\text{Diámetro de colonia} + \text{Diámetro de colonia con halo}}{\text{Diámetro de colonia}}$$

La cuantificación de fósforo soluble se realizó mediante la técnica del molibdato (Escobar et al., 2011). Para la obtención del inóculo, cada hongo se cultivó en 5 mL de caldo papa dextrosa a 30°C durante 96 horas, el caldo se centrifugó (3500 rpm) durante 5 minutos, el sedimento se lavó con solución salina esterilizada (NaCl 0,85 % p/v) y su concentración de células se estandarizó a 10⁸ conidios mL⁻¹ mediante el recuento en la cámara de Neubauer (Corrales et al., 2012).

El inóculo (5 %: 0,25 mL) de cada hongo se sembró por triplicado en 5 mL de caldo NBRIP y se incubó a 30°C, con agitación manual diaria por 5 minutos, durante 7 días. A continuación, los caldos cultivados se centrifugaron (3000 rpm) por 5 minutos y en el sobrenadante se cuantificó el fósforo soluble (Rodier y Rodi, 2005) considerándose una coloración azul positiva a la solubilización del fosfato. La absorbancia se leyó en el espectrofotómetro de luz visible (Model Tenso Med NV-203) a 690 nm y las concentraciones de fósforo soluble se calcularon con la ecuación de la curva de calibración, obtenida previamente con diluciones sucesivas de una solución de 10 ppm de fósforo.

Figura 5

Prueba in vitro de germinación de semillas de Raphanus sativus L., Lambayeque, 2019.

**Figura 6**

Semillas de Raphanus sativus L. acondicionadas para la inoculación de hongos, Lambayeque, 2019.



3.2.9 Efecto de tres hongos en la emergencia y desarrollo de *Raphanus sativus* L. en suelos no salino y salino

A los tres hongos con actividad ACC desaminasa, tolerancia al cloruro de sodio, con los mayores valores en la germinación de semillas de rabanito bajo estrés salino y en el índice solubilización de fosfato y concentración de fósforo soluble se les determinó el efecto de su aplicación en el desarrollo de rabanito en condiciones de invernadero, bajo un diseño completamente aleatorio con cuatro tratamientos: testigo sin hongos (T1) y tres tratamientos con hongos (T2 a T4).

En macetas de arcilla se acondicionaron 36 kg de suelo no salino y 36 kg de suelo salino a razón de 3 kg por maceta. El análisis físico químico de los suelos se realizó en el Instituto Nacional de Innovación Agraria, Estación Experimental Vista Florida de Chiclayo (Tabla 2). El análisis determinó un suelo normal o no salino con una textura franco–arenoso, reacción neutra ($\text{pH}=7,4$) y un contenido bajo de sales ($\text{CE}_e = 2,66 \text{ d Sm}^{-1}$) y un suelo salino franco–arenoso con reacción neutra ($\text{pH}=7,0$) y un contenido alto de sales ($\text{CE}_e = 8,23 \text{ d Sm}^{-1}$).

El cultivo de rabanito y la inoculación de los tres hongos se realizó entre el 1 de octubre al 30 de octubre de 2019, bajo condiciones del invernadero de la Facultad de Ciencias Biológicas en Lambayeque. Se registraron las temperaturas máximas ($35 - 38^\circ\text{C}$), mínimas ($15 - 18^\circ\text{C}$) y medias ($18 - 22^\circ\text{C}$), valores obtenidos en la estación Meteorológica de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

Los hongos seleccionados se cultivaron en 5 mL de medio mínimo DF con 3 mM de ACC y 0,85M NaCl (~5 %), a 30°C , con agitación manual diaria, por 5 minutos, durante 5 días. Los caldos cultivados se centrifugaron, el micelio obtenido se cultivó nuevamente en 5 mL del mismo medio mínimo DF y se incubó a 30°C con agitación manual diaria, por 5 minutos, durante 5 días.

Tabla 2*Análisis físico - químico de suelos no salinos y salino en Lambayeque, 2020*

		CE_e	MO	P	K	CaCO₃	CIC	PSI
Suelo	pH	(dSm⁻¹)	(%)	(ppm)	(ppm)	(%)	(meq/100g)	(%)
No salino	7,4	2,66	2,00	14,00	380	2,63	0,312	2,108
Salino	7,0	8,23	1,76	20,60	317	2,35	13,856	10,650

El medio mínimo DF cultivado se centrifugó (3000 rpm), el micelio sedimentado se lavó y resuspendió con una solución 0,03 M de MgSO_4 , se contaron las células mediante la cámara de Neubauer y la concentración se estandarizó a 10^8 conidios mL^{-1} (Corrales et al., 2012). Las semillas de rabanito se inocularon por inmersión con este inóculo fúngico durante 10 horas. En el testigo las semillas fueron sumergidas en agua destilada.

Las semillas inoculadas (cuatro por maceta) se sembraron en dos surcos (dos semillas en cada surco), a una distancia de 1 cm entre semillas y una profundidad de 2 cm y se realizaron los riegos requeridos con agua previamente decolorada (24 horas). A los 7 días se contaron las plántulas emergidas y cada 5 días a partir de los 15 días se midió la altura de las plantas. A los 30 días se determinó la altura, número de hojas, número de raíces, peso de la biomasa aérea y radicular (Figuras 7,8) y se calcularon los índices de efectividad (IE) en porcentaje (García et al., 2010):

$$\text{IE (\%)} = \frac{\text{Tratamiento con inoculación} - \text{Control sin inoculación}}{\text{Control sin inoculación}} \times 100$$

3.2.10 Análisis estadístico de los datos

Los valores de altura, número de hojas, peso de la biomasa aérea y número y peso de raíces fueron ordenados en tablas para las pruebas de normalidad (Shapiro – Wilk) y homogeneidad de varianzas (Bartlett). En caso de cumplirse la normalidad y homocedasticidad, se realizó el análisis de varianza, para determinar las diferencias entre los tratamientos y la prueba de comparaciones múltiples de Tukey para establecer la significancia entre ellos: $p < 0,05$ (Hernández et al., 2014). Se utilizaron los programas Microsoft Office Word y Excel versión 2016.

Figura 7

*Medición de altura de plantas de *Raphanus sativus* L., Lambayeque, 2019.*

**Figura 8**

*Pesaje de la biomasa radicular de *Raphanus sativus* L, Lambayeque, 2019.*



IV. RESULTADOS

4.1 Hongos identificados en la rizósfera de *Prosopis limensis* Benth “algarrobo” en Lambayeque, 2019

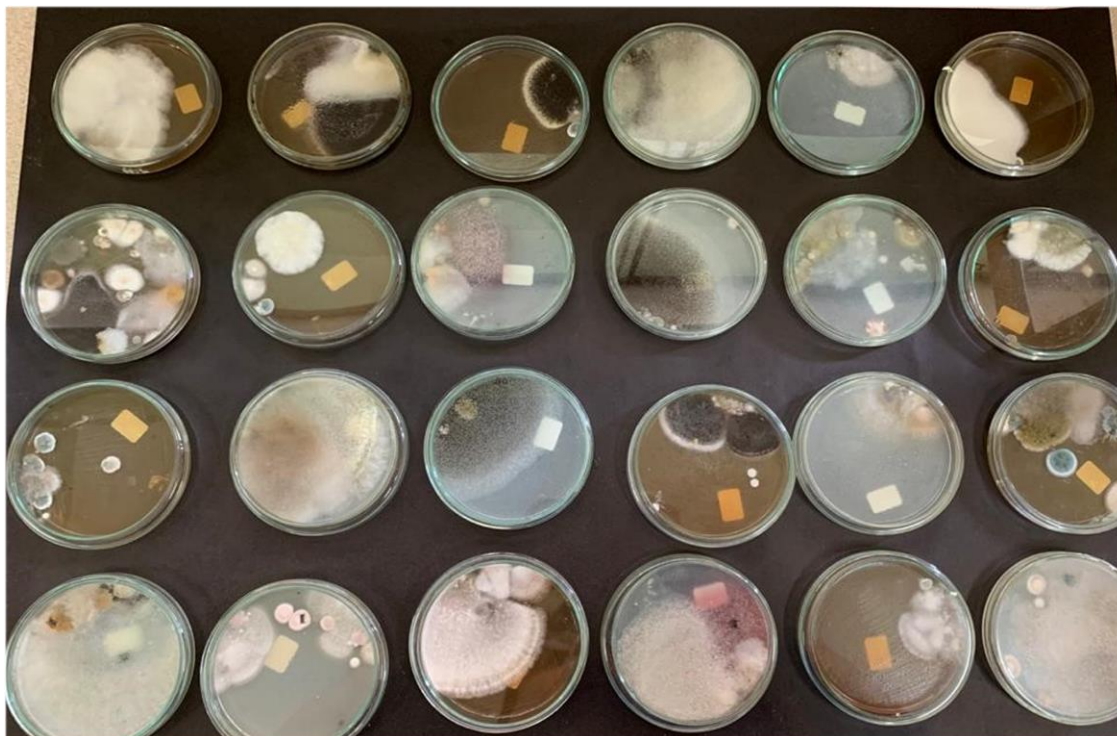
En el 46,3 % de las muestras de suelo rizosférico de algarrobo se aislaron hongos filamentosos (Figuras 9, 10), pero no levaduriformes. Se obtuvieron uno a cinco morfotipos de hongos por muestra, con un total de 63 cultivos de hongos filamentosos (Figura 11, tabla 3). Se identificaron fenotípicamente 13 géneros de hongos, con predominio de *Aspergillus* (31,7 %), *Penicillium* (27 %) y *Trichoderma* (15,8 %). El resto de géneros identificados (*Rhizoctonia*, *Cunninghamella*, *Monilia*, *Amblyosporium*, *Cercospora*, *Geotrichum*, *Gliocladium*, *Mucor*, *Oidiodendron* y *Verticillium*) presentó un rango de frecuencia de 1,6 a 7,9 % (Figuras 12 a 30, tabla 4).

4.2 Hongos preseleccionados por la actividad ACC desaminasa y tolerancia al cloruro de sodio, Lambayeque 2019

El 20,63 % de los hongos filamentosos de los géneros *Penicillium* (7) y *Trichoderma* (6) demostró positividad en la actividad ACC desaminasa, al desarrollar micelio similar en el medio mínimo Dworkin & Foster (DF) con ACC (Figura 31) y sulfato de amonio como fuente de nitrógeno durante 7 días. Entre los hongos con actividad ACC desaminasa el 53,48 % correspondió a *Penicillium* spp., el 46,16 % a *Trichoderma* spp. (Tabla 5) y todos estos hongos presentaron tolerancia a 5,0; 7,5 y 10 % de cloruro de sodio, NaCl (Figura 32). Estos siete hongos con actividad ACC desaminasa y tolerancia al cloruro de sodio se preseleccionaron.

Figura 9

Hongos filamentosos aislados en agar papa dextrosa, Lambayeque 2019.

**Figura 10**

Trichoderma sp. desarrollado en agar papa dextrosa, Lambayeque 2019.

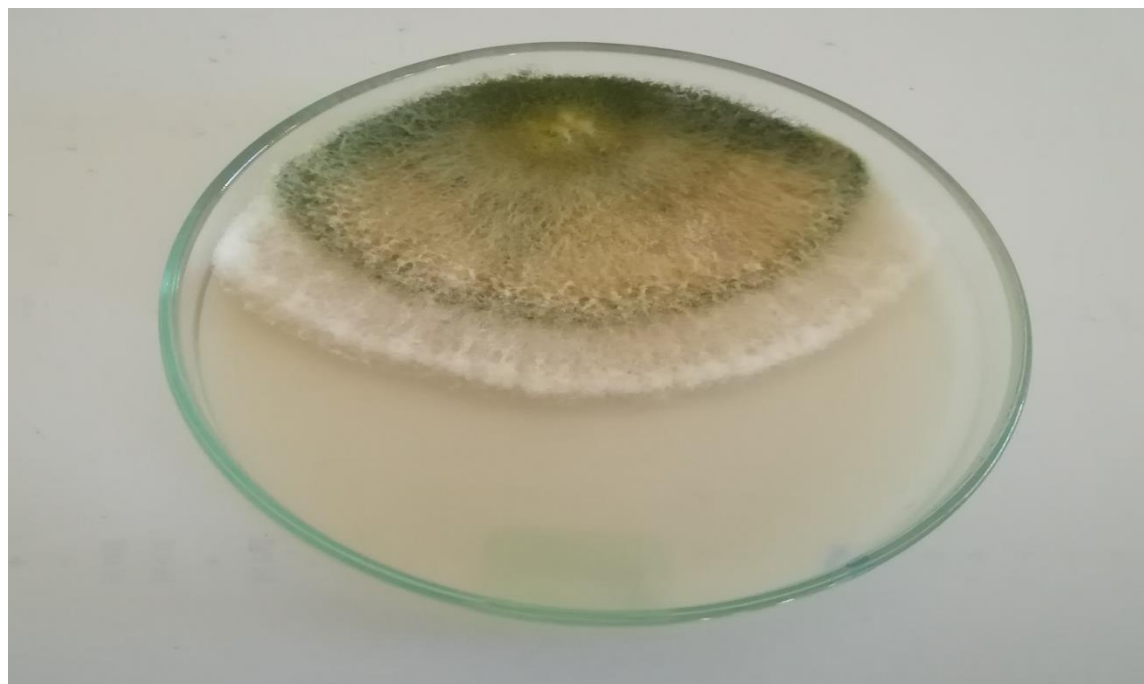


Figura 11

Hongos filamentosos desarrollados en agar papa dextrosa, Lambayeque 2019.



Tabla 3

Número de cultivos de hongos filamentosos obtenidos en suelo rizosférico de Prosopis limensis Benth. en Lambayeque, 2019

Código muestra de suelo rizosférico	Cultivos de hongos filamentosos	
	Nº	%
4	5	7,9
18	4	6,3
31	4	6,3
43	4	6,3
1	3	4,8
16	3	4,8
21	3	4,8
27	3	4,8
36	3	4,8
40	3	4,8
48	3	4,8
52	3	4,8
5	2	3,2
7	2	3,2
10	2	3,2
13	2	3,2
20	2	3,2
25	2	3,2
32	2	3,2
45	2	3,2
50	2	3,2
3	1	1,5
23	1	1,5
30	1	1,5
46	1	1,5
Total	63	100,0

Figura 12

Colonia de Aspergillus sp.12 en agar papa dextrosa, Lambayeque 2019.



Figura 13

Observación microscópica (400x) de Aspergillus sp. 21, Lambayeque 2019.

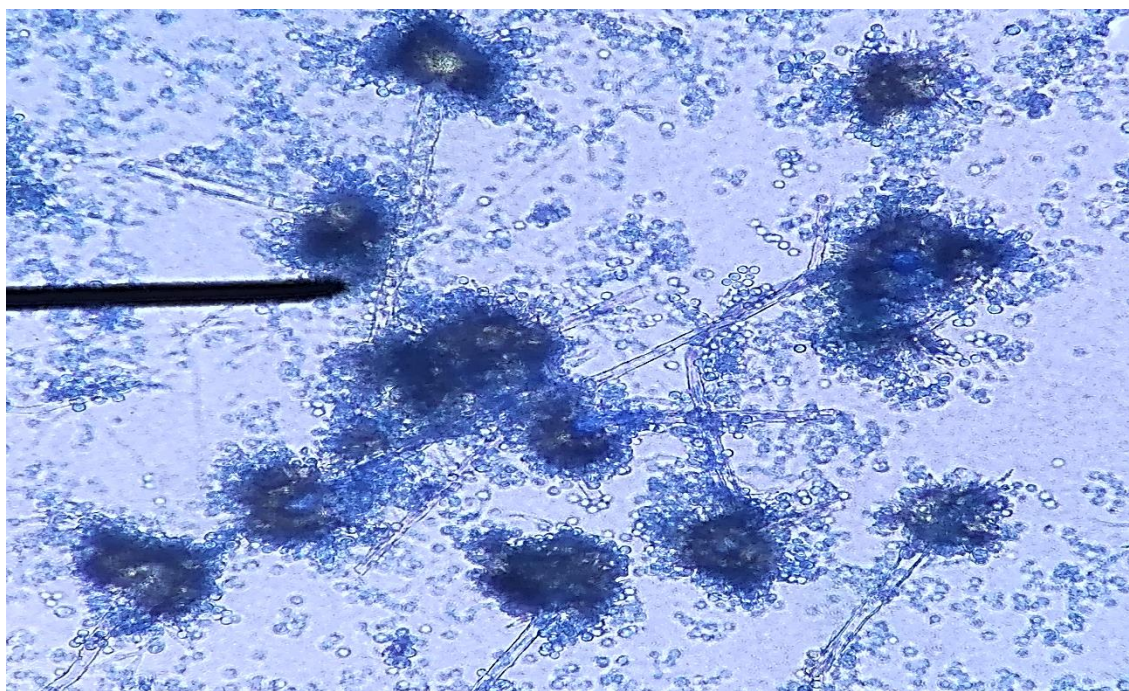


Figura 14

Colonia de Penicillium sp. 43 en agar papa dextrosa, Lambayeque 2019.

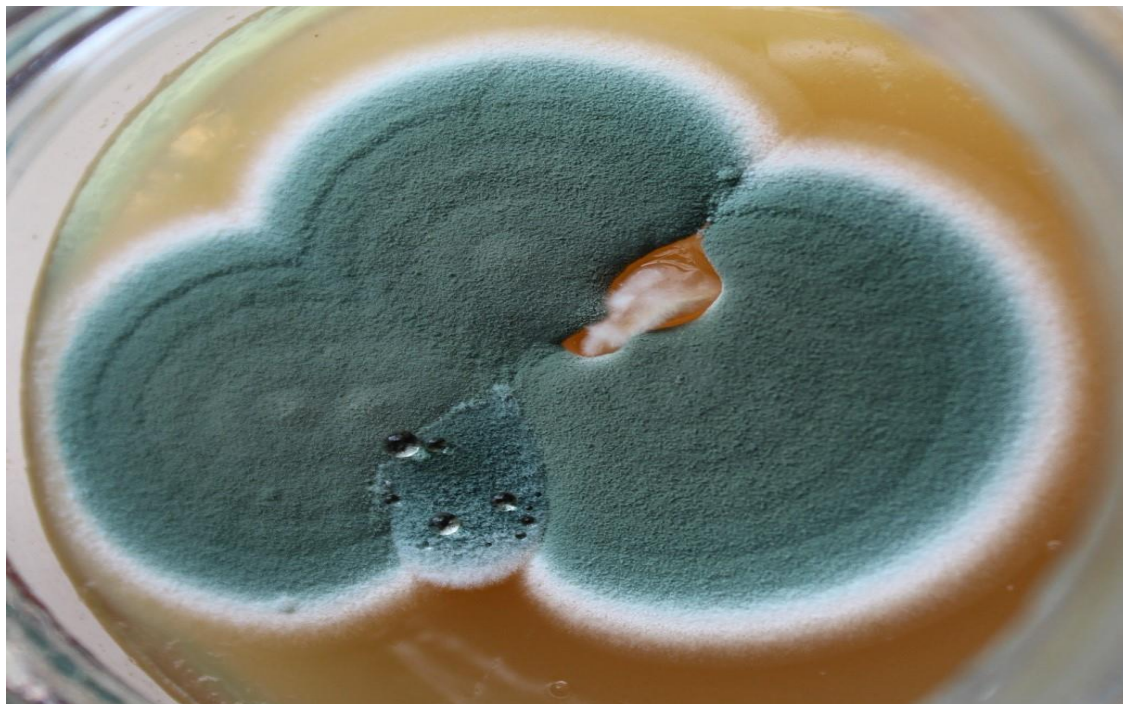


Figura 15

Observación microscópica (400x) de Penicillium sp. 32, Lambayeque 2019.

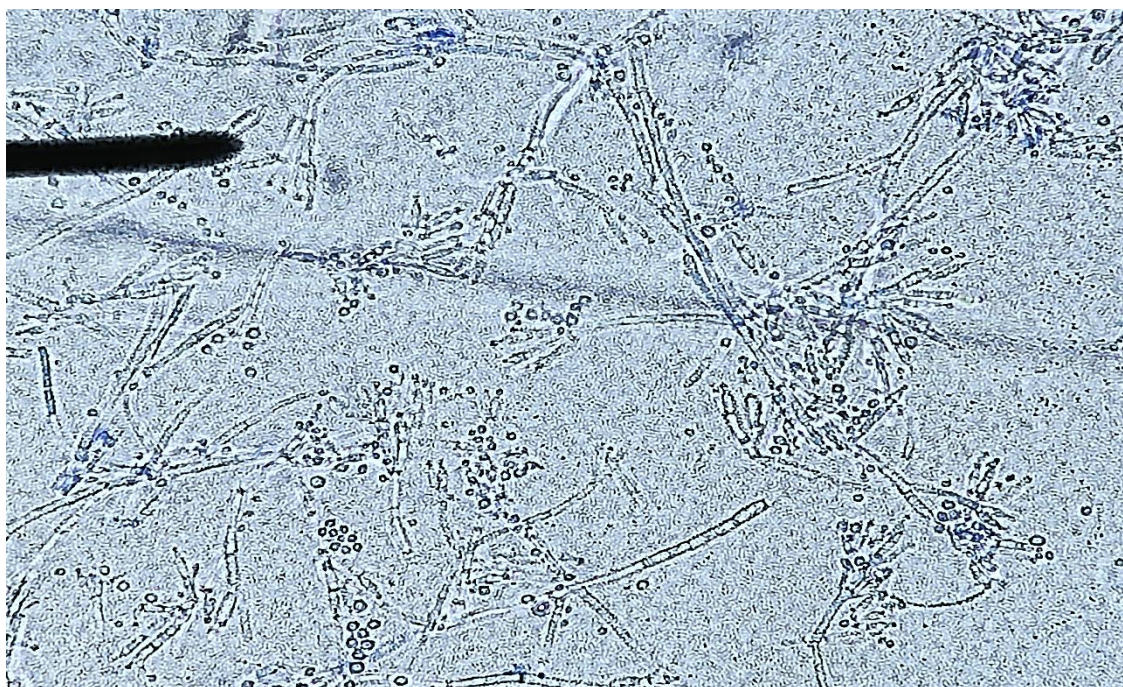


Figura 16

Colonia de Trichoderma sp. 12 en agar papa dextrosa, Lambayeque 2019.



Figura 17

Observación microscópica (400x) de Trichoderma sp. 6, Lambayeque 2019.

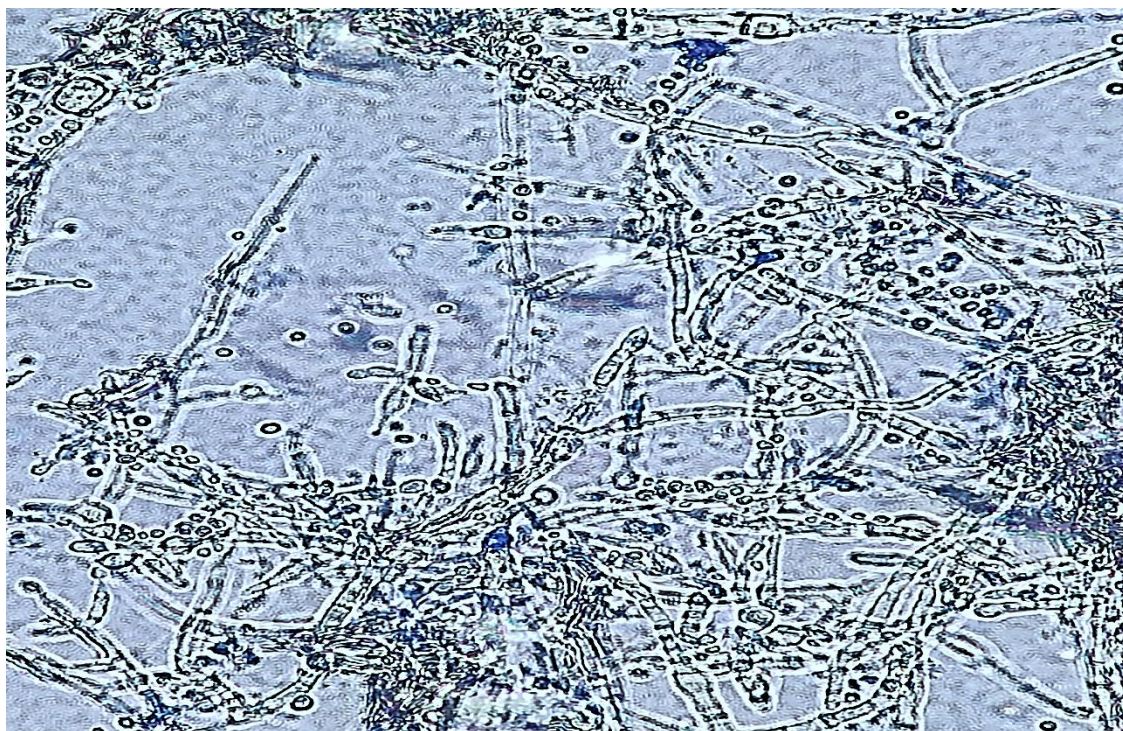


Figura 18

Colonia de Rizhoctonia sp. 22 en agar papa dextrosa, Lambayeque 2019.



Figura 19

Observación microscópica (400x) de Rhizoctonia sp. 17, Lambayeque 2019.

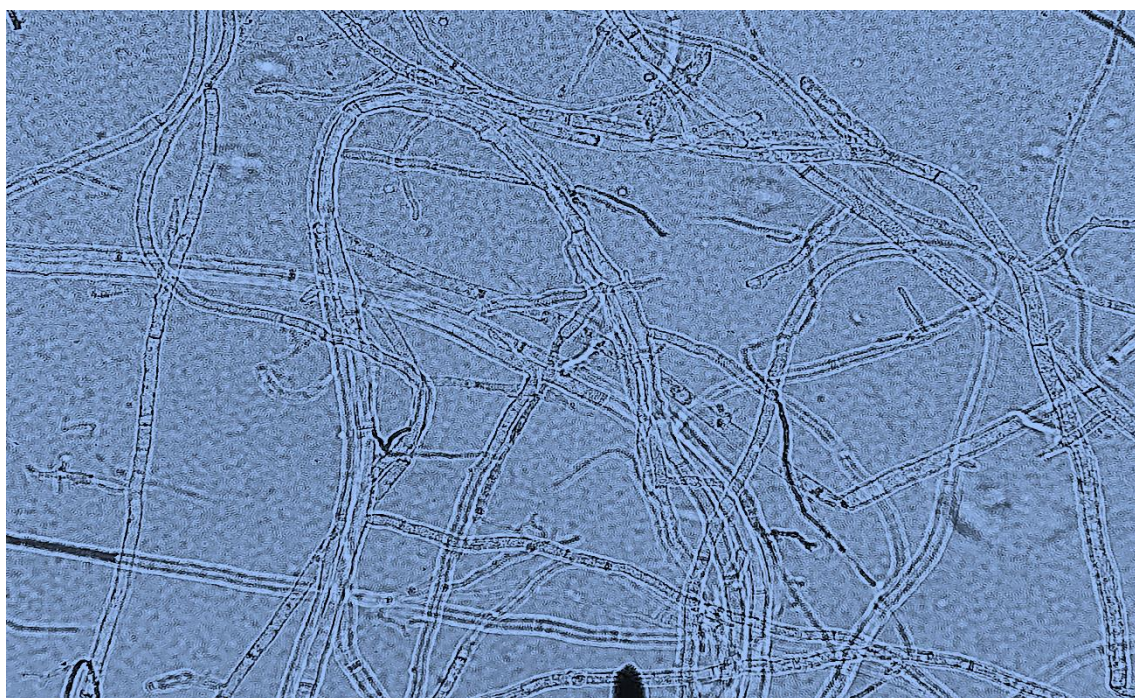


Figura 20

Colonia de Cunninghamella sp. 1 en agar papa dextrosa, Lambayeque 2019.



Figura 21

Observación microscópica (400x) de Cunninghamella sp. 7, Lambayeque 2019.

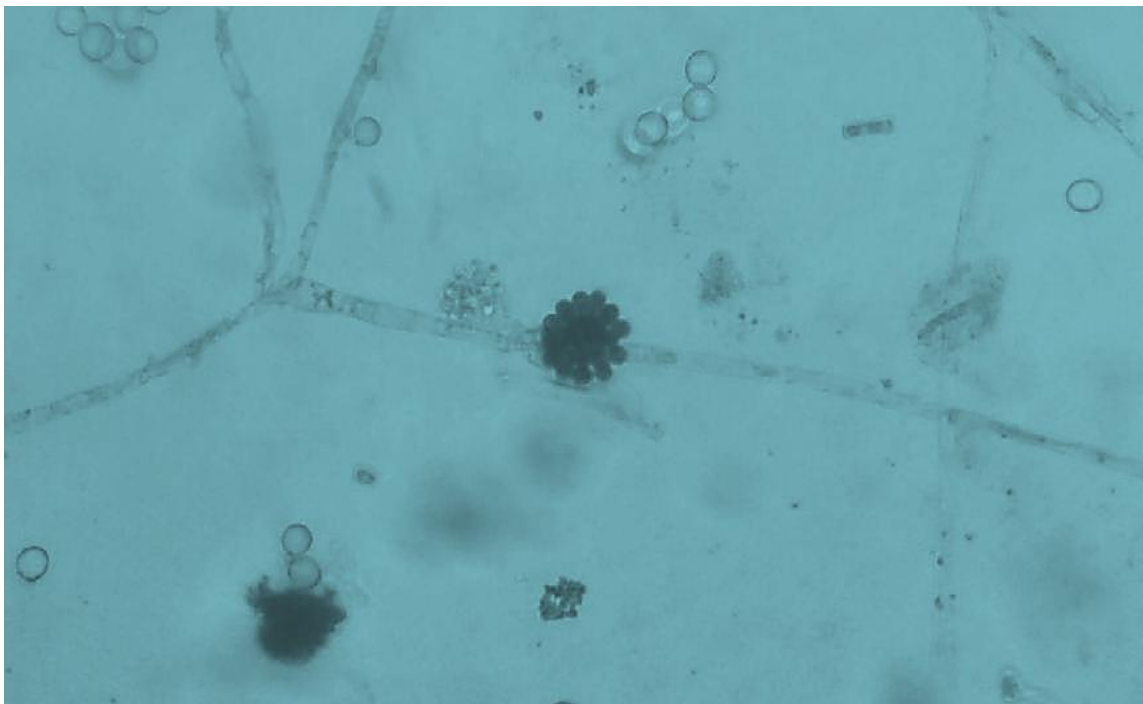
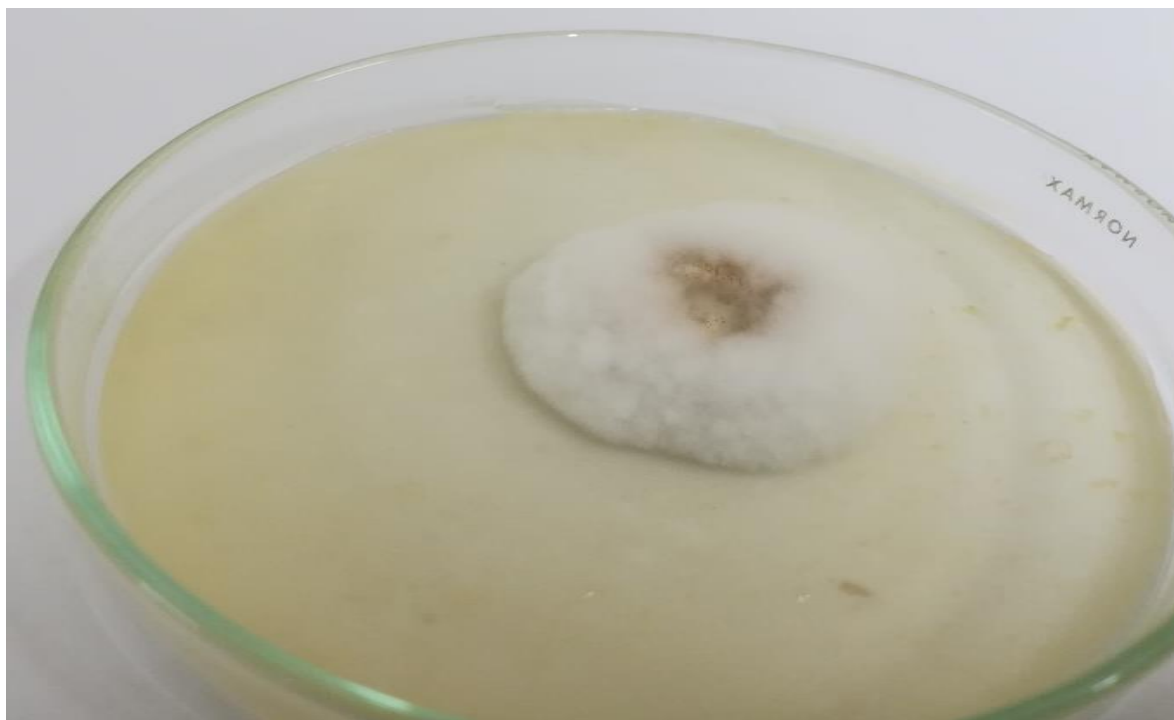


Figura 22

Colonia de Cercospora sp. 44 en agar papa dextrosa, Lambayeque 2019.

**Figura 23**

Observación microscópica (400x) de Cercospora sp. 65, Lambayeque 2019.

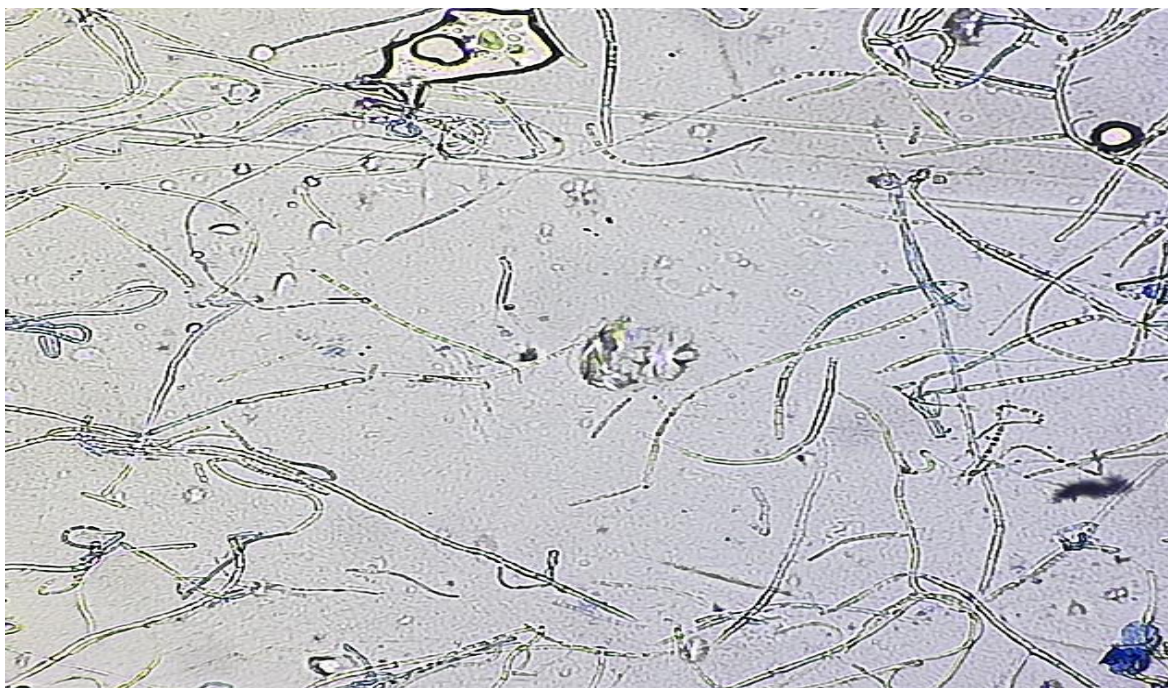


Figura 24

Colonia de Monilia sp. 9 en agar papa dextrosa, Lambayeque 2019.

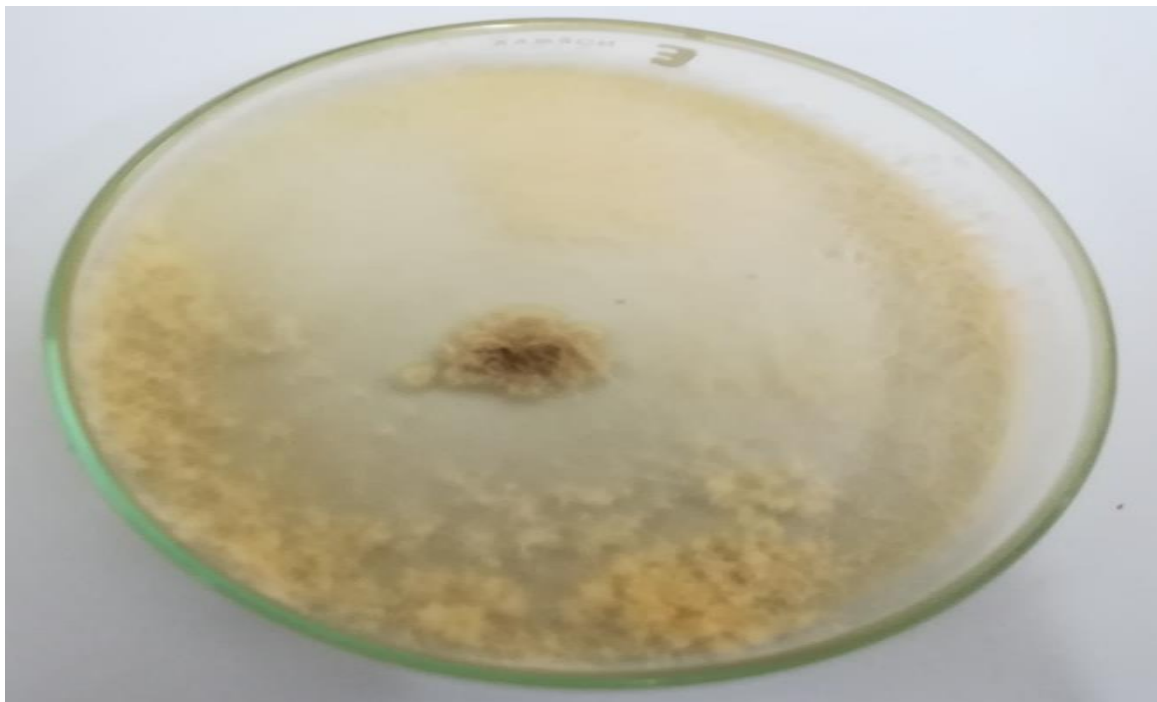


Figura 25

Observación microscópica (400x) de Monilia sp. 32, Lambayeque 2019.

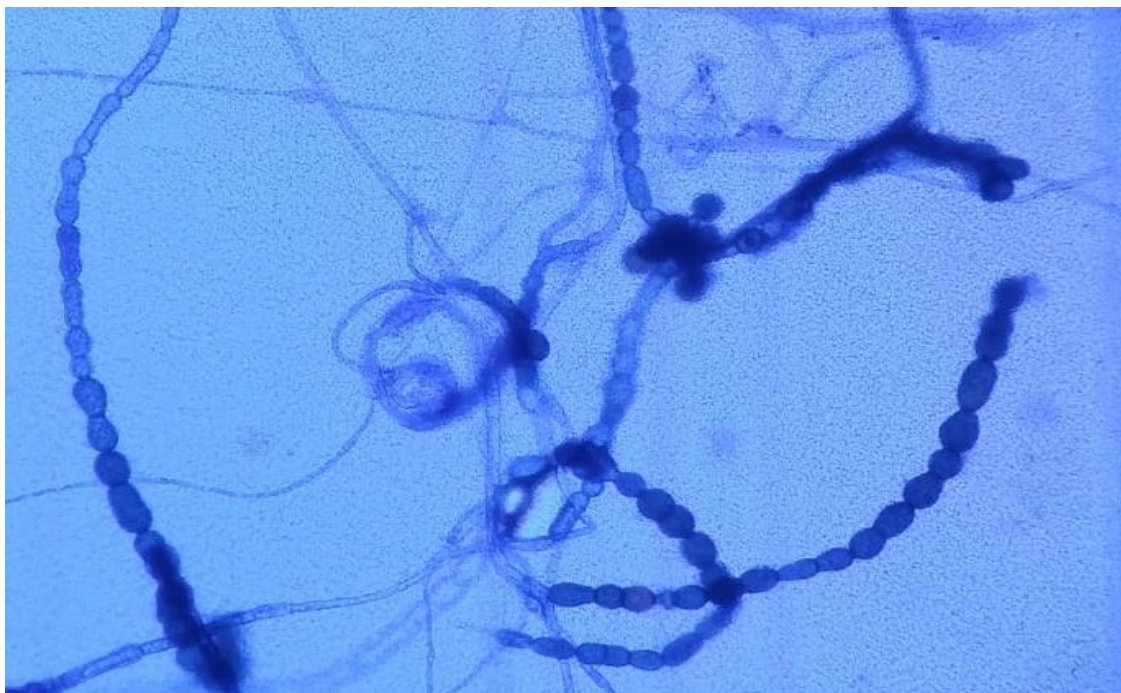


Figura 26

Colonia de Mucor sp.7 en agar papa dextrosa, Lambayeque 2019.



Figura 27

Observación microscópica (400x) de Mucor sp 21, Lambayeque 2019.



Figura 28

Colonia de Oidiodendron sp. 13 en agar papa dextrosa, Lambayeque 2019.



Figura 29

Colonia de Verticillium sp. 25 en agar papa dextrosa, Lambayeque 2019.

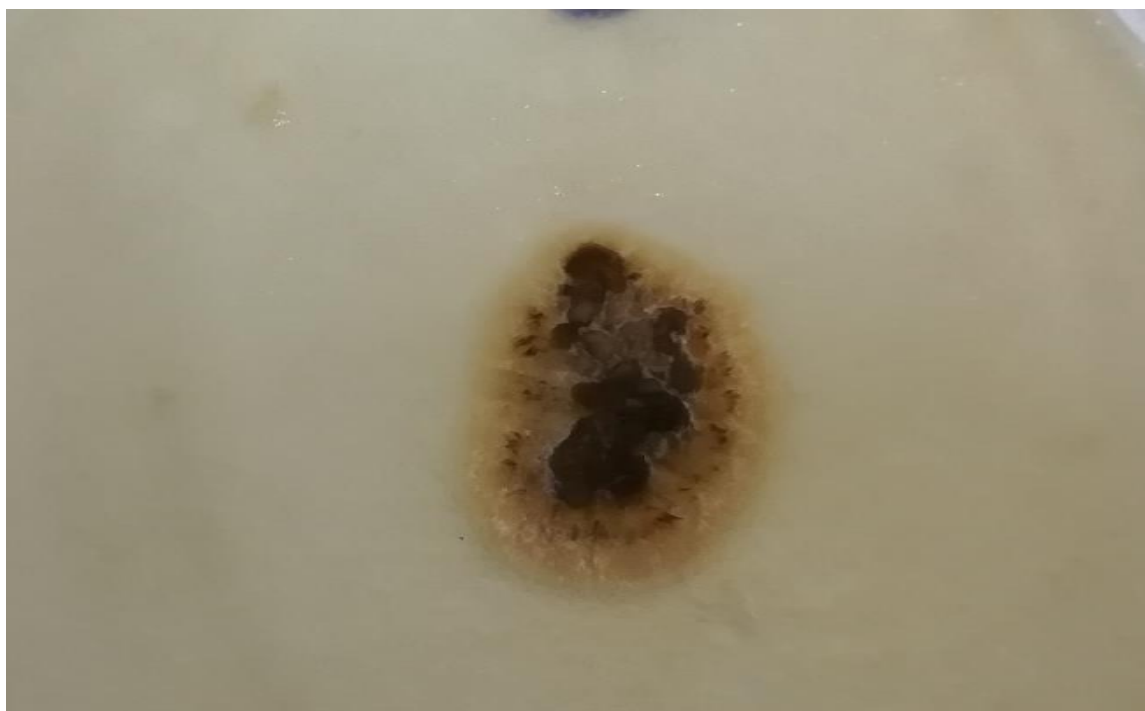


Figura 30

Observación microscópica (400x) de *Verticillium* sp. 54, Lambayeque 2019.

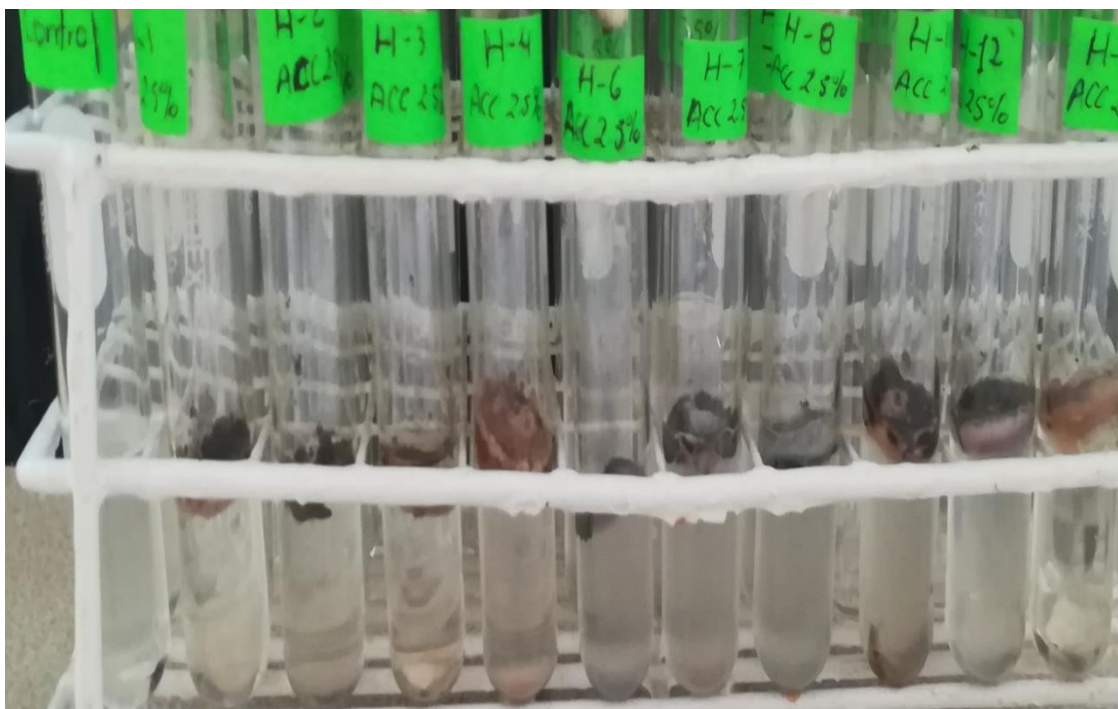
**Tabla 4**

Frecuencia (%) de géneros de hongos filamentosos cultivables identificados en la rizósfera de *Prosopis limensis* en Lambayeque, 2019

Géneros de hongos	Cultivos de hongos	
	Nº	%
<i>Aspergillus</i>	20	31,7
<i>Penicillium</i>	17	27,0
<i>Trichoderma</i>	10	15,8
<i>Rhizoctonia</i>	5	7,9
<i>Cunninghamella</i>	2	3,2
<i>Monilia</i>	2	3,2
<i>Amblyosporium</i>	1	1,6
<i>Cercospora</i>	1	1,6
<i>Geotrichum</i>	1	1,6
<i>Gliocladium</i>	1	1,6
<i>Mucor</i>	1	1,6
<i>Oidiodendron</i>	1	1,6
<i>Verticillium</i>	1	1,6
Total	63	100,0

Figura 31

Hongos filamentosos desarrollados en medio DF con ACC como fuente de nitrógeno, Lambayeque 2019.

**Tabla 5**

Cultivos de hongos con actividad ACC desaminasa, Lambayeque 2019.

Código muestra de suelo rizosférico	Código de hongos
4	<i>Trichoderma</i> spp. 2, 3, 24, 29, 31
7	<i>Penicillium</i> spp. 1,14
25	<i>Penicillium</i> spp. 4, 21
3	<i>Penicillium</i> sp. 17
23	<i>Penicillium</i> spp. 16
30	<i>Penicillium</i> sp. 37
46	<i>Trichoderma</i> sp. 32

Figura 32

Hongos desarrollados en caldo papa con cloruro de sodio, Lambayeque 2019.



4.3 Hongos seleccionados según el efecto en la germinación de semillas de *Raphanus sativus* L. bajo estrés salino

El porcentaje de semillas de rabanito germinadas bajo estrés salino fue de 1,67 % (*Penicillium* sp. 1) a 30,83 % (*Trichoderma* sp. 2) a los 3 días; 6,67 % (*Penicillium* sp. 1) a 53,33 % (*Trichoderma* sp. 2) a los 6 días; 15,83 % (*Trichoderma* sp. 24) a 75,0 % (*Trichoderma* sp. 2) a los 9 días y 40,0 % (*Penicillium* sp. 1) a 93,33 % (*Trichoderma* sp. 2 y *Penicillium* sp. 16) a los 12 días (Figura 33, tabla 6). En el testigo absoluto los porcentajes de germinación fueron de 25,00 % (3 días); 44,17 % (6 días), 70,83 % (9 días) y 90,83 % (12 días), en comparación con el testigo NaCl en el que los valores fueron de 4,17 % (3 días); 9,17 % (6 días); 13,33 % (9 días) y 18,33 % (12 días).

La inoculación de los hongos (11) incrementó la tasa de germinación de las semillas de rabanito, en comparación con el testigo positivo NaCl (2,37). Asimismo, con tres hongos (23,07 %), la tasa de germinación de rabanito fue mayor (12,84 – 14,11), que la del testigo absoluto con 12,45 (Tabla 7). Los hongos seleccionados fueron *Trichoderma* sp. 2, *Trichoderma* sp. 32, *Trichoderma* sp. 3, *Penicillium* sp. 16 y *Trichoderma* sp. 29 (Tabla 7)

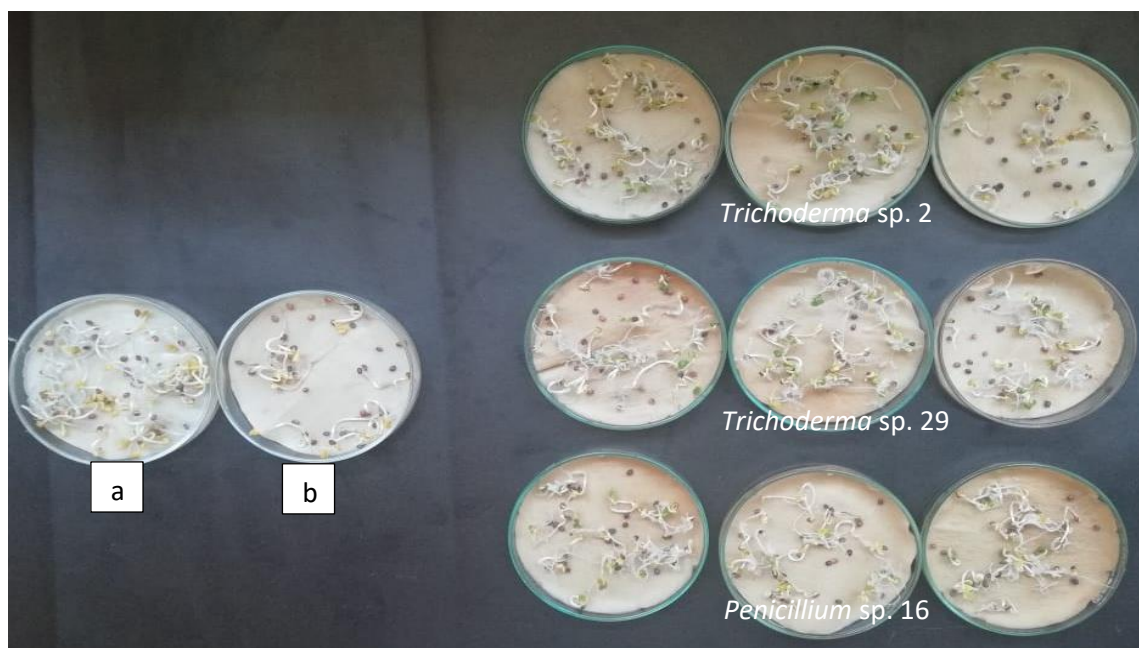
4.4 Características que evidencian promoción de crecimiento vegetal en las especies de hongos con actividad ACC desaminasa

Los cinco cultivos de hongos con los que se alcanzaron los mayores valores en la tasa de germinación de rabanito se seleccionaron para determinar las características que evidencian *in vitro* promoción de crecimiento vegetal. Estos hongos en condiciones *in vitro* produjeron indoles y solubilizaron fosfato tricálcico (Tabla 8, figuras 34, 35).

Se cuantificaron 11,022 a 28,800 ppm de indoles con *Penicillium* sp. 16 y *Trichoderma* sp. 32 respectivamente (Tabla 8). En la solubilización de fosfato tricálcico en medio líquido, se cuantificaron 0,275 a 4,120 ppm de fósforo soluble con *Trichoderma* sp. 29 y *Trichoderma* sp. 3 respectivamente (Tabla 8, figura 34). En la solubilización de fosfato tricálcico en medio sólido, se observaron halos o zonas transparentes alrededor de las colonias, alcanzándose índices de solubilización de 1,20 a 2,67 con *Trichoderma* sp. 2 y *Trichoderma* sp. 32 (Tabla 8, figura 35).

Figura 33

Germinación de semillas de *R. sativus* L., bajo estrés salino: testigo absoluto (a), testigo NaCl (b), *Trichoderma* sp. 2, 29 y *Penicillium* sp.16, Lambayeque 2019.

**Tabla 6**

Porcentaje de germinación de semillas de *Raphanus sativus* L. bajo estrés salino por efecto de hongos rizosféricos de *Prosopis limensis* Benth, Lambayeque 2019.

Tratamientos	Porcentaje de germinación*/días							
	3		6		9		12	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Testigo absoluto	10,00	25,00	17,67	44,17	28,33	70,83	36,33	90,83
Testigo NaCl	1,67	4,17	3,67	9,17	5,33	13,33	7,33	18,33
<i>Penicillium</i> sp.1	0,67	1,67	2,67	6,67	6,67	16,67	16,00	40,00
<i>Penicillium</i> sp.4	4,67	11,67	8,67	21,67	13,00	32,50	17,00	42,50
<i>Trichoderma</i> sp.3	8,33	20,83	16,33	40,83	24,00	60,00	32,67	81,67
<i>Penicillium</i> sp.14	7,33	18,33	17,33	43,33	24,67	61,67	34,33	85,83
<i>Penicillium</i> sp.16	9,67	24,17	19,33	48,33	29,67	74,17	37,33	93,33
<i>Penicillium</i> sp.17	6,33	15,83	15,33	38,33	23,67	59,17	31,67	79,17
<i>Penicillium</i> sp.21	5,67	14,17	7,33	18,33	12,33	30,83	16,00	40,00
<i>Trichoderma</i> sp.24	1,00	2,50	3,00	7,50	6,33	15,83	18,00	45,00
<i>Trichoderma</i> sp.2	12,33	30,83	21,33	53,33	30,00	75,00	37,33	93,33
<i>Trichoderma</i> sp.29	10,00	25,00	20,33	50,83	27,33	68,33	37,00	92,50
<i>Trichoderma</i> sp.31	3,67	9,17	9,00	22,50	12,67	31,67	18,00	45,00
<i>Trichoderma</i> sp.32	10,00	25,00	18,00	45,00	25,67	64,17	33,00	82,50
<i>Penicillium</i> sp.37	9,00	22,50	16,00	40,00	25,33	63,33	35,67	89,17

*Promedio de tres repeticiones

Tabla 7

Tasa de germinación de semillas de Raphanus sativus L. bajo estrés salino por efecto de hongos rizosféricos de Prosopis limensis Benth, Lambayeque 2019.

Tratamientos	Tasa germinación/días				Tasa de germinación
	3	6	9	12	
<i>Trichoderma</i> sp. 2	4,11	3,56	3,33	3,11	14,11
<i>Trichoderma</i> sp. 32	3,22	3,22	3,30	3,11	12,85
<i>Trichoderma</i> sp. 3	3,33	3,39	3,04	3,08	12,84
Testigo absoluto	3,33	2,94	3,15	3,03	12,45
<i>Penicillium</i> sp. 16	3,33	3,00	2,85	2,75	11,94
<i>Trichoderma</i> sp. 29	3,00	2,67	2,81	2,97	11,45
<i>Penicillium</i> sp. 37	2,44	2,89	2,74	2,86	10,94
<i>Penicillium</i> sp. 14	2,78	2,72	2,67	2,72	10,89
<i>Penicillium</i> sp. 17	2,11	2,56	2,63	2,64	9,94
<i>Penicillium</i> sp. 4	1,56	1,44	1,44	1,42	5,86
<i>Penicillium</i> sp. 21	1,89	1,22	1,37	1,33	5,81
<i>Trichoderma</i> sp. 31	1,22	1,50	1,41	1,50	5,63
Testigo NaCl	0,56	0,61	0,59	0,61	2,37
<i>Trichoderma</i> sp. 24	0,33	0,50	0,44	0,53	1,81
<i>Penicillium</i> sp. 1	0,22	0,44	0,52	0,50	1,69

Tabla 8

Índices de solubilización de fosfato, fósforo soluble e indoles producidos por hongos rizosféricos de Prosopis limensis Benth, Lambayeque 2019.

Hongos	Indoles (ppm)	Fósforo soluble (ppm)	IS
<i>Trichoderma</i> sp. 2	22,911	2,598	1,20
<i>Trichoderma</i> sp. 3	27,577	4,120	2,56
<i>Trichoderma</i> sp. 32	28,800	2,725	2,67
<i>Penicillium</i> sp. 16	11,022	1,379	1,25
<i>Trichoderma</i> sp. 29	18,911	0,275	1,54

Figura 34

Coloración observada en la cuantificación de fósforo soluble, Lambayeque 2019.

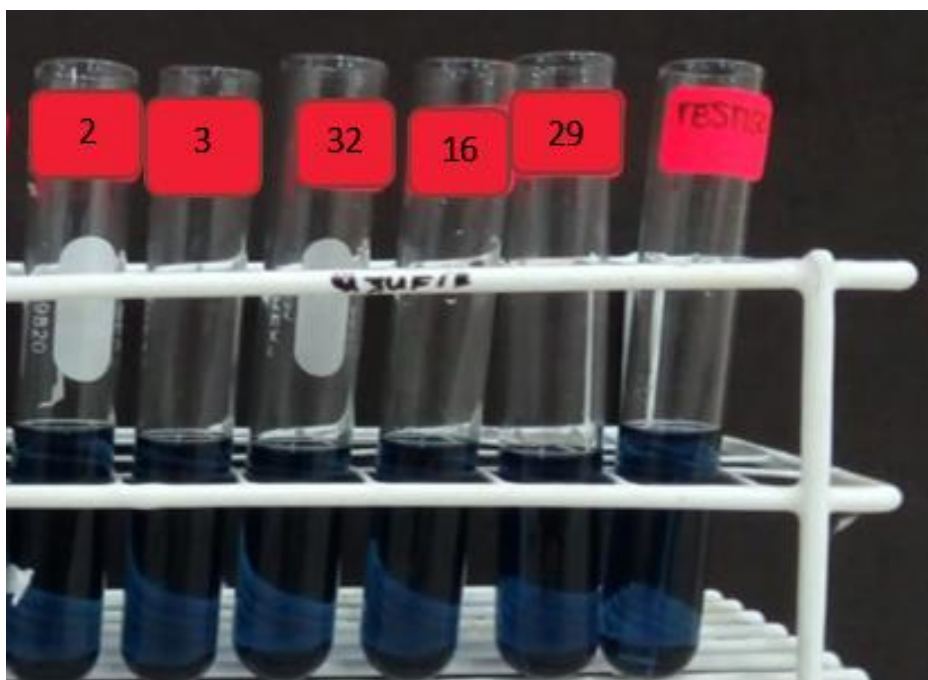
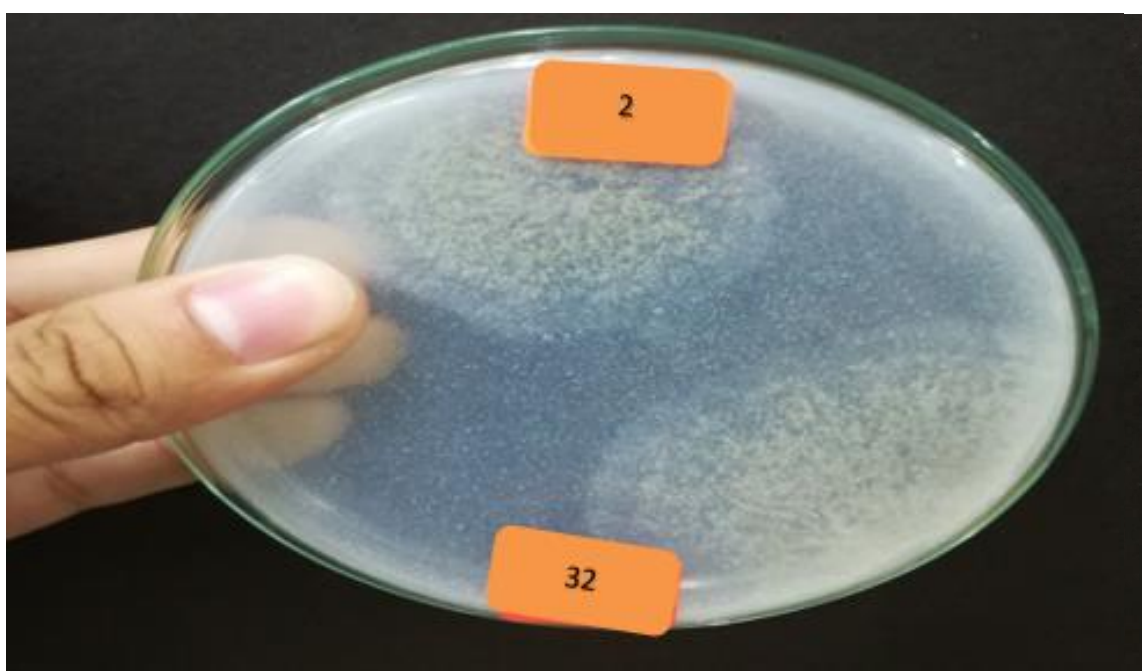


Figura 35

Halo de solubilización producido por Trichoderma sp. 2 en agar National Botanical Research Institute's phosphate, Lambayeque 2019.



4.5 Efecto de tres hongos con actividad ACC desaminasa en la emergencia y desarrollo de *Raphanus sativus* L. en suelos no salino y salino.

Los valores de altura de planta, número de hojas, peso de la biomasa aérea y peso de las raíces de *R. sativus* L. “rabanito” se incrementaron por efecto de la inoculación de los hongos, en relación con el testigo en suelos salino y no salino. La salinidad ($CE_e = 8,23 \text{ dSm}^{-1}$) disminuyó los valores de los parámetros del desarrollo vegetativo y rendimiento de rabanito; no obstante, *Trichoderma* spp. incrementaron los valores en comparación con el testigo no inoculado (Tabla 9).

4.5.1 Suelo no salino

El porcentaje de emergencia de las plantas de *Raphanus sativus* L. “rabanito” en el suelo no salino ($CE_e = 2,66 \text{ dSm}^{-1}$), fue de 100 % con *Trichoderma* spp. y el testigo. La altura de las plantas de rabanito se incrementó con la inoculación de *Trichoderma* spp. respecto al testigo (Tablas 10, 11, figuras 36 a 39), alcanzando con *Trichoderma* sp. 32 los mayores índices de efectividad de 61,50 % a los 15 días; 47,21 % a los 20 días; 29,66 % a los 25 días y 52,76 % a los 30 días.

El número de hojas, peso de la biomasa aérea y peso de raíces de las plantas de rabanito se incrementó con la inoculación de *Trichoderma* spp. respecto al testigo en el suelo no salino (Tablas 12, 13, figuras 40, 41) y se alcanzaron índices de efectividad de 72,37 % con *Trichoderma* sp. 32 (número de hojas); 98,99 % con *Trichoderma* sp. 2 (biomasa aérea) y 111,99 % con *Trichoderma* sp. 2 (peso raíces).

El análisis de varianza de los valores promedios evidenció alta significancia en la altura (15, 20, 25, 30 días), número de hojas, peso de la biomasa aérea y peso de raíces (Anexo E). La prueba de comparaciones múltiples de Tukey demostró que los mayores valores en la altura y número de hojas se alcanzaron en los tratamientos con *Trichoderma* sp. 32, con diferencias significativas frente al testigo (Tablas 14, 15). En cuanto a la biomasa aérea y peso de raíces, los mayores valores correspondieron a *Trichoderma* spp. 2 y 32 y 2 y 3, respectivamente con diferencias significativas frente al testigo (Tabla 15).

Tabla 9

Rango de valores en los parámetros del desarrollo de Raphanus sativus L. inoculados con Trichoderma spp. en suelos no salino y salino

Rango de valores en los parámetros del desarrollo	Suelo	
	No salino ($CE_e = 2,66 \text{ d Sm}^{-1}$)	Salino ($CE_e = 8,23 \text{ d Sm}^{-1}$)
Altura (cm)		
Testigo	7,47 – 16,58	4,96 – 12,33
<i>Trichoderma spp.</i>	10,71 – 25,33	9,92 – 24,42
Número de hojas		
Testigo	6,33	5,50
<i>Trichoderma spp.</i>	9,75 – 10,92	7,58 – 8,42
Peso de la biomasa aérea (g)		
Testigo	33,17	32,25
<i>Trichoderma spp.</i>	57,25 – 66,00	53,92 – 64,58
Peso de raíces (g)		
Testigo	41,00	35,08
<i>Trichoderma spp.</i>	74,25 – 86,92	64,50 – 86,75

Tabla 10

Altura de plantas de Raphanus sativus L. en suelo no salino por efecto de Trichoderma spp.

Tratamientos	Altura (cm/días)*			
	15	20	25	30
Testigo	7,47±1,92	9,99±1,61	13,63±1,69	16,58±1,88
<i>Trichoderma</i> sp. 2	11,01±1,71	14,13±2,04	16,73±2,53	21,75±2,18
<i>Trichoderma</i> sp. 3	10,71±1,10	14,00±1,76	17,00±1,86	21,92±2,78
<i>Trichoderma</i> sp. 32	12,06±1,75	14,71±1,81	17,67±2,74	25,33±2,93

*Promedio de doce mediciones

Tabla 11

Índices de efectividad de Trichoderma spp. en la altura de Raphanus sativus L. en suelo no salino

Tratamientos	IE* (%)/días			
	15	20	25	30
<i>Trichoderma</i> sp. 2	47,48	41,37	22,81	31,16
<i>Trichoderma</i> sp. 3	43,47	40,12	24,77	32,16
<i>Trichoderma</i> sp. 32	61,50	47,21	29,66	52,76

*Promedio de doce mediciones

Figura 36

Plantas de Raphanus sativus L. en suelo no salino, 15 días después de la inoculación de Trichoderma sp.32.

**Figura 37**

Plantas de Raphanus sativus L. en suelo no salino, 20 días después de la inoculación de Trichoderma sp. 3.



Figura 38

Plantas de Raphanus sativus L. en suelo no salino, 25 días después de la inoculación de Trichoderma sp. 2.

**Figura 39**

Plantas de Raphanus sativus L. en suelo no salino, 30 días después de la inoculación de Trichoderma sp. 32.

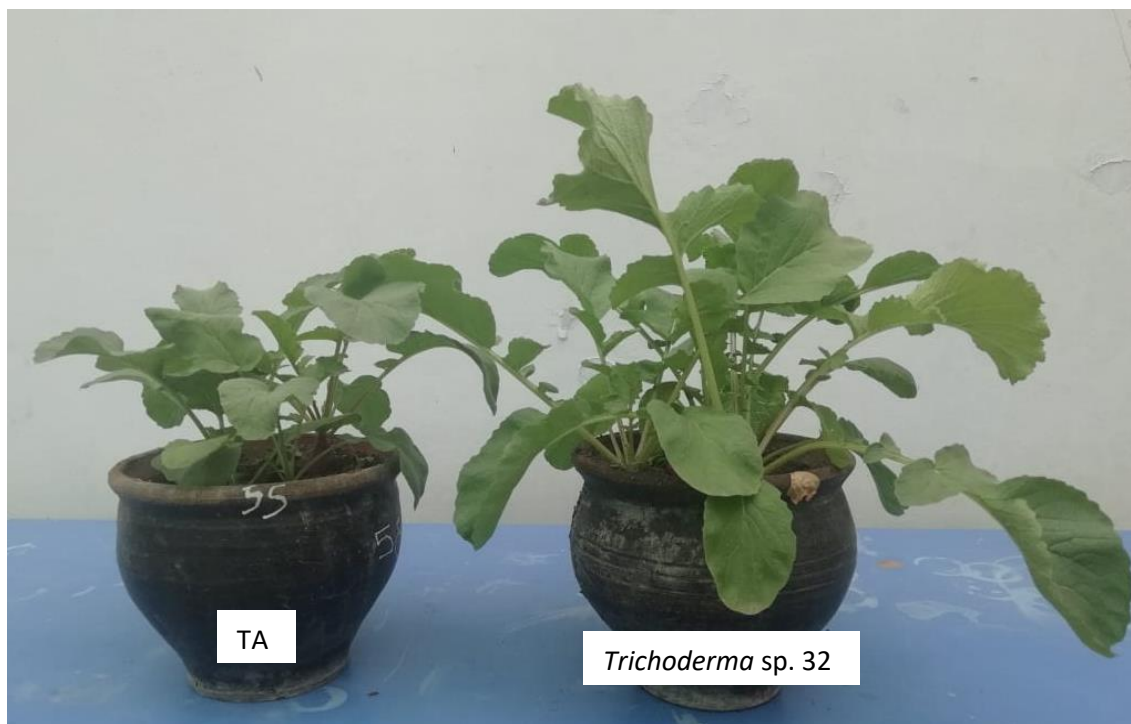


Tabla 12

Índices de efectividad de Trichoderma spp. en el número de hojas y peso de la biomasa aérea de Raphanus sativus L. en suelo no salino

Tratamientos	Hojas*		Biomasa aérea*	
	Nº	IE(%)	g	IE(%)
Testigo	6,33±1,78	-	33,17±1,27	-
<i>Trichoderma</i> sp. 2	9,75±1,54	53,95	66,00±1,60	98,99
<i>Trichoderma</i> sp. 3	10,50±2,50	65,79	57,25±1,48	72,61
<i>Trichoderma</i> sp. 32	10,92±2,39	72,37	65,33±2,42	96,98

* Promedio de tres repeticiones

Tabla 13

Índices de efectividad de Trichoderma spp. en el peso de raíces de Raphanus sativus L. en suelo no salino

Tratamientos	Peso (g)	IE(%)
Testigo	41,00±1,19	-
<i>Trichoderma</i> sp. 2	86,92±2,39	111,99
<i>Trichoderma</i> sp. 3	86,17±2,76	110,16
<i>Trichoderma</i> sp. 32	74,25±2,34	81,10

*Promedio de tres repeticiones

Figura 40

Plantas de Raphanus sativus L., 30 días después de la inoculación de Trichoderma sp. 2.



Figura 41

Raíces de Raphanus sativus L., 30 días después de la inoculación de Trichoderma sp. 3.



Tabla 14

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los promedios de altura de Raphanus sativus L. en un suelo no salino a los 15, 20, 25 y 30 días después de la inoculación de Trichoderma sp.

Tratamientos	Altura (cm)		Altura (cm)		Altura (cm)		Altura (cm)	
	15 días	Sign.	20 días	Sign.	25 días	Sign	30 días	Sign.
Testigo	7,46	b	9,99	b	13,62	b	16,58	b
<i>Trichoderma</i> sp. 2	11,01	a	14,12	a	16,73	a b	21,75	a
<i>Trichoderma</i> sp. 3	10,71	a	14,00	a	17,00	a b	21,91	a
<i>Trichoderma</i> sp. 32	12,06	a	14,71	a	17,66	a	25,33	a

Tabla 15

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los promedios del número de hojas, biomasa aérea y peso de raíces de Raphanus sativus L. en un suelo no salino 30 días después de la inoculación de Trichoderma sp.

Tratamientos	Número de hojas		Biomasa aérea		Peso de raíces	
	(N°)	Sign.	(g)	Sign.	(g)	Sign.
Testigo	6,33	b	33,16	c	41,00	c
<i>Trichoderma</i> sp. 2	9,75	a b	66,00	a	86,92	a
<i>Trichoderma</i> sp. 3	10,50	a	57,25	b	86,17	a
<i>Trichoderma</i> sp. 32	10,91	a	65,33	a	74,25	b

4.5.2 Suelo salino

El porcentaje de emergencia de las plantas de *Raphanus sativus* L. “rabanito” en el suelo salino ($CE_e = 8,23 \text{ dSm}^{-1}$), fue de 100 % con *Trichoderma* spp. y 91,67 % con el testigo (Tabla 16). La altura de las plantas de rabanito se incrementó con la inoculación de *Trichoderma* sp. respecto al testigo (Tablas 17, 18, figuras 42 a 46), alcanzando con *Trichoderma* sp. 3 índices de efectividad de 100,0 % a los 15 días; 93,02 % a los 20 días; 79,25 % a los 25 días y 97,97 % a los 30 días.

El número de hojas, peso de la biomasa aérea y peso de raíces de las plantas de rabanito se incrementó con la inoculación de *Trichoderma* spp. respecto al testigo en el suelo salino (Tablas 19, 20, figuras 47, 48) y se alcanzaron índices de efectividad de 53,03 % con *Trichoderma* sp. 32 (número de hojas); 100,26 % con *Trichoderma* sp. 3 (biomasa aérea) y 147,27 % con *Trichoderma* sp. 32 (peso raíces).

El análisis de varianza de los valores promedios evidenció alta significancia en la altura (15, 20, 25, 30 días), número de hojas, peso de la biomasa aérea y peso de raíces. La prueba de comparaciones múltiples de Tukey demostró que el mayor valor en la altura correspondió a *Trichoderma* sp. 3 a los 15, 20, 25 y 30 días con diferencias significativas frente al testigo (Tabla 21, anexo E). En cuanto al número de hojas los mayores valores se alcanzaron con *Trichoderma* sp. 32; en la biomasa aérea con *Trichoderma* sp. 3, en el peso de raíces con *Trichoderma* sp. 32 y se observaron diferencias estadísticas frente a los demás tratamientos (Tabla 22).

Tabla 16

Emergencia de plántulas de Raphanus sativus L. en suelo salino por efecto de Trichoderma spp.

Tratamientos	Emergencia de plántulas*	
	Nº	%
Testigo	3,67±0,47	91,67
<i>Trichoderma</i> sp. 2	4,00	100,0
<i>Trichoderma</i> sp. 3	4,00	100,0
<i>Trichoderma</i> sp. 32	4,00	100,0

*Promedio de tres repeticiones.

Tabla 17

Altura de plantas de Raphanus sativus L. en suelo salino por efecto de Trichoderma spp.

Tratamientos	Altura (cm/días)*±			
	15	20	25	30
Testigo	4,96±2,14	7,17±2,50	10,04±1,27	12,33±1,75
<i>Trichoderma</i> sp. 2	8,83±1,64	12,83±1,75	15,33±1,72	22,67±2,10
<i>Trichoderma</i> sp. 3	9,92±1,56	13,83±1,80	18,00±2,89	24,42±2,87
<i>Trichoderma</i> sp. 32	8,50±2,47	12,50±2,15	16,00±2,34	23,42±2,81

*Promedio de tres repeticiones.

Tabla 18

Índices de efectividad de Trichoderma spp. en la altura de Raphanus sativus L. en suelo salino

Tratamientos	IE* (%) / días			
	15	20	25	30
<i>Trichoderma</i> sp. 2	78,15	79,07	52,70	83,78
<i>Trichoderma</i> sp. 3	100,00	93,02	79,25	97,97
<i>Trichoderma</i> sp. 32	71,43	74,42	59,34	89,86

*Promedio de tres repeticiones.

Figura 42

Plántulas de *Raphanus sativus* L., en suelo salino, 15 días después de la inoculación de *Trichoderma* sp. 3.

**Figura 43**

Plantas de *Raphanus sativus* L. en suelo salino, 15 días después de la inoculación de *Trichoderma* sp. 32.

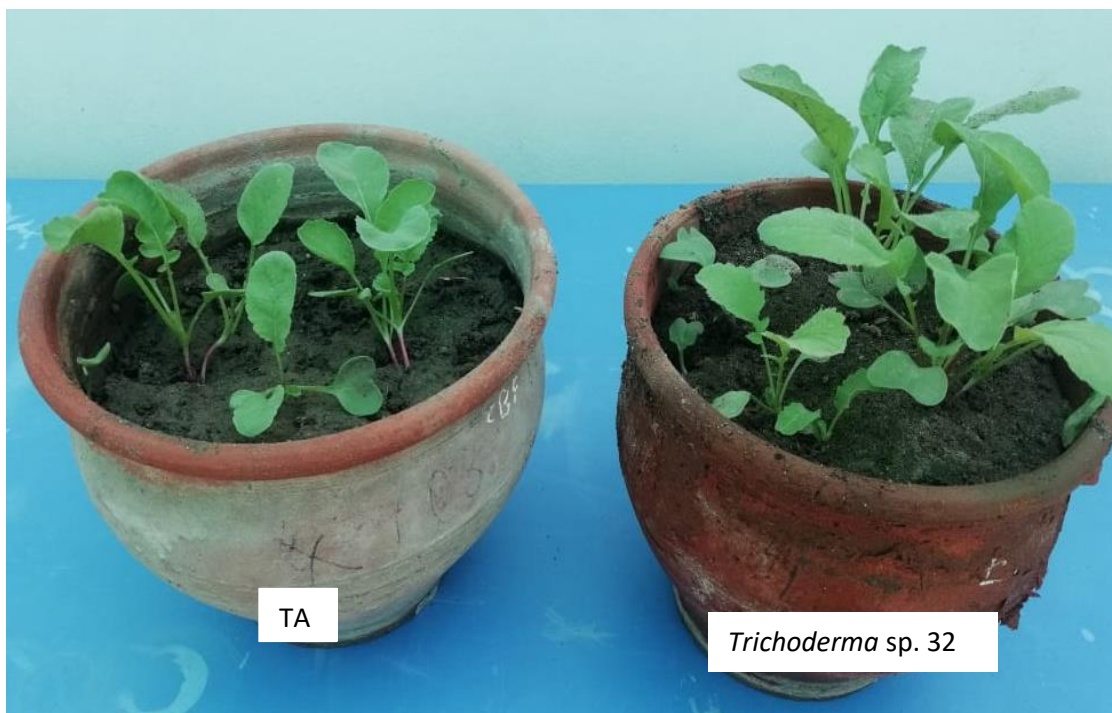
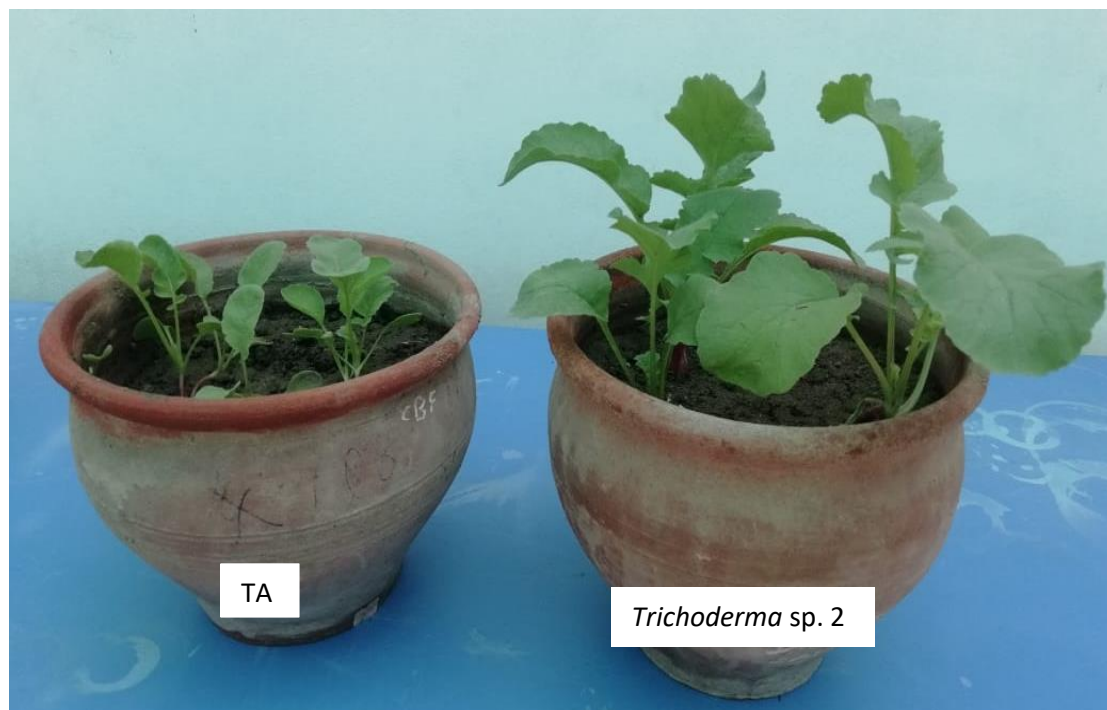


Figura 44

Plantas de Raphanus sativus L. en suelo salino, 20 días después de la inoculación de Trichoderma sp. 2.

**Figura 45**

Plantas de Raphanus sativus L. en suelo salino, 25 días después de la inoculación de Trichoderma sp. 3.

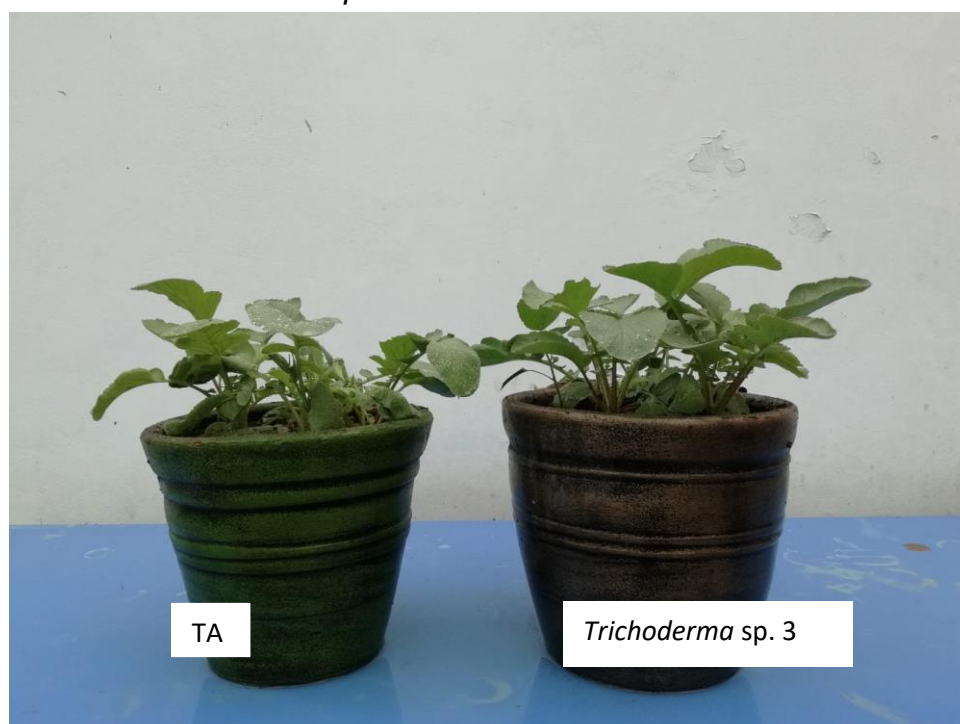


Figura 46

Plantas de Raphanus sativus L. en suelo salino, 30 días después de la inoculación de Trichoderma sp. 3.

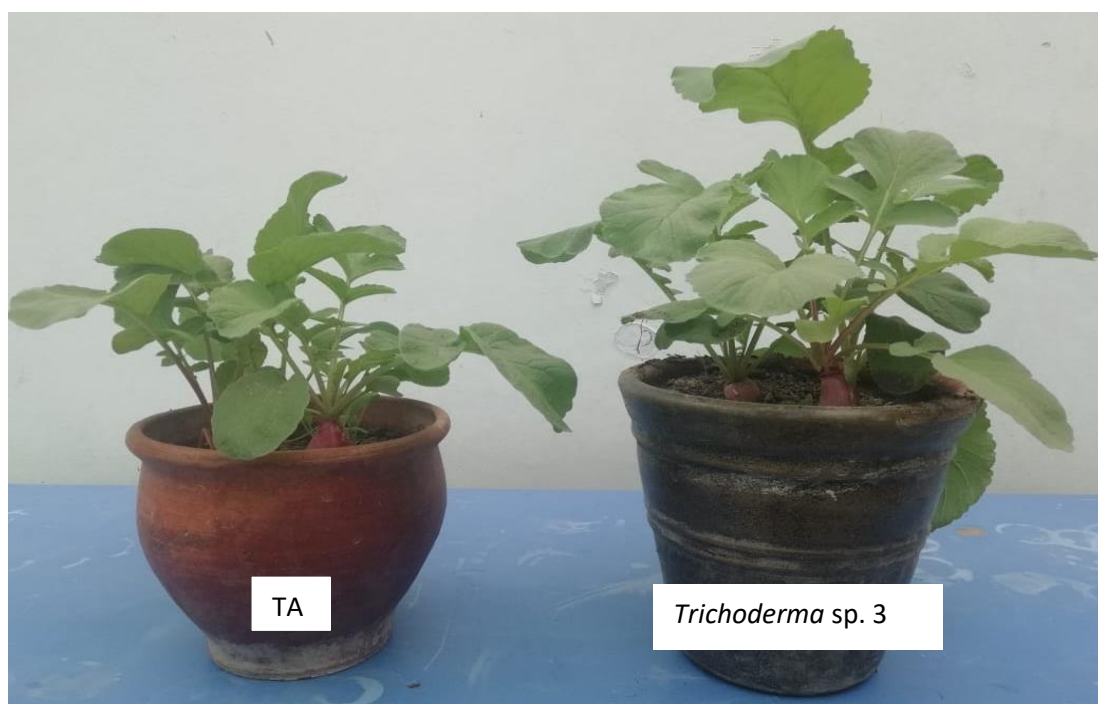


Tabla 19

Índices de efectividad de Trichoderma spp. en el número de hojas y peso de la biomasa aérea de Raphanus sativus L. en suelo salino

Tratamientos	Hojas*		Biomasa aérea*	
	Nº	IE(%)	g	IE(%)
Testigo	5,50±2,15	-	32,25±1,99	-
<i>Trichoderma</i> sp. 2	7,58±1,51	37,88	55,67±1,44	72,61
<i>Trichoderma</i> sp. 3	7,92±1,38	43,94	64,58±2,57	100,26
<i>Trichoderma</i> sp. 32	8,42±1,00	53,03	53,92±2,23	67,18

*Promedio de tres repeticiones

Tabla 20

Índices de efectividad de Trichoderma spp. en el peso de raíces de Raphanus sativus L. en suelo salino

Tratamientos	Peso (g)±	IE(%)
Testigo	35,08±2,50	-
<i>Trichoderma</i> sp. 2	83,83±2,52	138,95
<i>Trichoderma</i> sp. 3	64,50±2,88	83,85
<i>Trichoderma</i> sp. 32	86,75±1,71	147,27

*Promedio de tres repeticiones

Figura 47

Plantas de Raphanus sativus L., 30 días después de la inoculación de Trichoderma sp 3 en un suelo salino.

**Figura 48**

Raíces de Raphanus sativus L. en suelos no salino y salino, 30 días después de la inoculación con Trichoderma sp. 2.

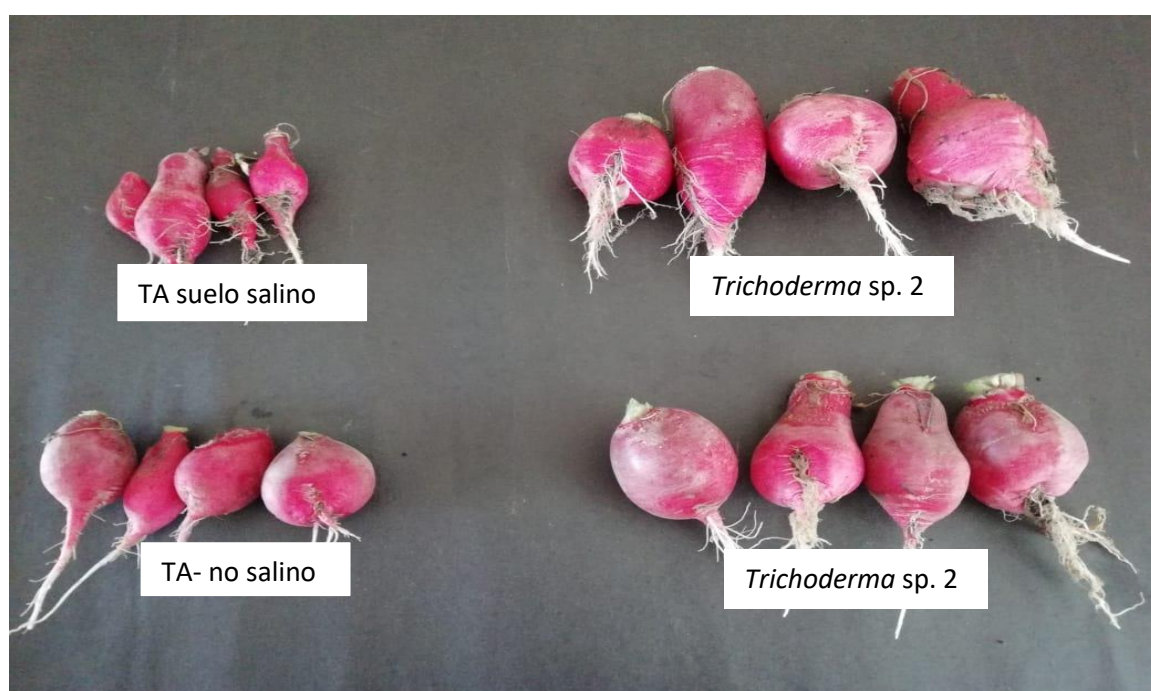


Tabla 21

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los promedios de altura de Raphanus sativus L. en un suelo salino, a los 15, 20, 25 y 30 días después de la inoculación de Trichoderma spp.

Tratamientos	Altura (cm)		Alltura (cm)		Altura (cm)		Altura (cm)	
	15 días	Sign.	20 días	Sign.	25 días	Sign	30 días	Sign.
Testigo	4,96	b	7,16	b	10,04	b	12,33	b
<i>Trichoderma</i> sp. 2	8,83	a	12,83	a	15,33	a	22,66	a
<i>Trichoderma</i> sp. 3	9,91	a	13,83	a	18,00	a	24,41	a
<i>Trichoderma</i> sp. 32	8,50	a	12,50	a	16,00	a	23,41	a

Tabla 22

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los promedios del número de hojas, biomasa aérea y peso de raíces de Raphanus sativus L. en un suelo salino, 30 días después de la inoculación de Trichoderma spp.

Tratamientos	Numero de hojas		Biomasa aérea		Peso de raíces	
	(N°)	Sign.	(g)	Sign.	(g)	Sign.
Testigo	5,50	b	32,25	c	35,08	c
<i>Trichoderma</i> sp. 2	7,58	a b	55,66	b	83,83	a
<i>Trichoderma</i> sp. 3	7,91	a b	64,58	a	64,50	b
<i>Trichoderma</i> sp. 32	8,41	a	53,91	b	86,75	a

V. DISCUSIÓN

El aislamiento de hongos en la rizosfera de *Prosopis* sp. coincide con Verma et al. (2008), quienes identificaron hongos micorrízicos arbusculares en *P. cineraria* (Khejri) e identificaron *Entrophora*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Sclerocystis* y *Scutellospora*. La predominancia de aislamientos de *Penicillium* spp. en el suelo también fue determinada por Pacasa et al. (2017) en suelos de agroecosistemas del altiplano (pH= 6,7-7,9; CE=0,03-0,18 dSm⁻¹). Estos investigadores identificaron *Mucor* sp. y *Trichoderma* sp, pero en baja frecuencia, concluyendo que el número y diversidad de hongos identificados varían dependiendo si el suelo está cultivado, en descanso, sin cobertura, con vegetación nativa o cultivo agrícola.

Los hongos del género *Penicillium* se han identificado en suelos con cultivos de quinua, papa, cebada y vegetación nativa (Pacasa et al., 2017). Hongos del género *Trichoderma* se encuentran en diversos suelos, donde crecen y esporulan muy rápido (Vinale et al., 2008) y se han identificado en la rizósfera de *Glycine max* L. “soya” (Zhang et al., 2017), maíz (Kumar et al., 2017), entre otros.

El micelio formado en el medio de cultivo con ACC desaminasa como fuente de nitrógeno, similar al del medio con sulfato de amonio, evidenció la actividad ACC desaminasa en hongos de los géneros *Trichoderma* y *Penicillium*. Se coincide con Saravanakumar et al. (2018) en *T. estonicum*, Zhang et al. (2019) en *T. longibrachiatum*, Zhang et al., (2017) en *T. harzianum*, Zhang et al. (2015) en *T. asperellum* y Aban et al. (2017) en *T. yunnanense* y *T. simmnosii*.

La enzima 1- aminociclopropano-1- caboxilato (ACC desaminasa) inducible por el sustrato ACC (Zhang et al., 2020), se encuentra en diversas bacterias y hongos (Singh et al., 2015) y los genes acds que la codifican son expresados bajo condiciones ambientales adversas como la salinidad (Gupta y Pandey, 2019). La enzima ACC desaminasa cataliza la hidrólisis del

ACC o precursor del etileno en α -cetobutirato y amonio, que posteriormente son metabolizados por los microorganismos (Singh et al., 2015).

El etileno en concentración óptima (10gL^{-1}) es esencial para la formación de raíces adventicias, pelos radicales y para la germinación de las semillas; no obstante, en alta concentración (25gL^{-1}) induce defoliación, inhibición de la elongación de raíces, senescencia foliar, caída de hojas, destrucción de la clorofila y epinastia. En condiciones desfavorables como la salinidad, el nivel de etileno se incrementa, causando en las plantas el estrés por “etileno” (Singh et al., 2015). La hidrólisis del ACC por los microorganismos disminuye el nivel de este compuesto en la rizosfera de las plantas. Para restablecer el equilibrio, las plantas exudan más ACC y como consecuencia disminuyen el ACC interno y el estrés (Esquivel et al., 2013).

El incremento en la germinación de las semillas de rabanito bajo estrés salino por efecto de *Trichoderma* spp. coincide con el reporte de Zhang et al. (2020), quienes investigaron en semillas de maíz el efecto de la aplicación del caldo cultivado con *T. harzianum* con actividad ACC desaminasa y determinaron que la tasa de germinación alcanzó 95 %, en comparación con 75 % en el control. Asimismo, en las semillas inoculadas se incrementó la actividad de la alfa amilasa, enzima relacionada con el proceso de germinación.

Por su parte, Yasmeen y Siddiqui (2017) inocularon *T. harzianum* en semillas de arroz y maíz y les aplicaron una solución nutritiva con 0, 50, 10 y 150 mM de cloruro de sodio. Estos investigadores determinaron que la germinación de las semillas disminuyó conforme incrementó la concentración de NaCl; no obstante, la disminución fue menor en los tratamientos con *T. harzianum*. El hongo aumentó el coeficiente de la tasa de germinación en los tratamientos con salinidad y el incremento fue significativo con 50 y 100 mM NaCl en arroz y maíz.

La caracterización metabólica de los microorganismos con la perspectiva de utilizarlos como biofertilizantes requiere la investigación de la producción de indoles, solubilización de fosfato y actividad ACC desaminasa (Parra et al., 2018). Se coincide con los reportes de Zhao y Zhang (2015) en *T. asperellum* y Aban et al. (2017) en *T. sinmonsii*.

La promoción de crecimiento en las plantas por *Trichoderma* spp. es consecuencia de su capacidad para solubilizar fosfato, producir sideróforos y fitohormonas como el AIA (Hidangmayun., 2018; Doni et al., 2013). Al respecto,

Zhao y Zhang (2015) demostraron que la inoculación de *T. asperellum* Q1 solubilizadora de fosfato y productora de ácidos indol acético, giberélico y abscísico aumentó el nivel de estas fitohormonas en las hojas de plántulas de *Cucumis sativus*, así como también incrementó el crecimiento de hojas, tallos y raíces. Los investigadores concluyeron que la producción de fitohormonas y solubilización de fosfato forman parte de los mecanismos de *Trichoderma* spp. para disminuir el estrés salino en las plantas.

Saravanakumar et al. (2018) investigaron en *Rhizophora mucronata* y *R. aquilata* el efecto de *T. harzianum* y *T. estonicum* con actividad ACC desaminasa y capacidad para solubilizar fosfato, aplicadas con KH_2PO_4 . Se registró incremento en la biomasa total de las plantas de 75 días, alcanzando 13 -14 g con *Trichoderma* spp. + KH_2PO_4 y 11,6 g con KH_2PO_4 en *R. mucronata*, así como 13,5 - 16,6 g y 9,7 g respectivamente en *R. apiculata*. De igual manera, aumentaron los contenidos de clorofila b (0,74 - 0,76 mg/g), clorofila total (0,54 - 1,55 mg/g) y taninos (0,33 - 0,34 mg/g) con *Trichoderma* spp. + KH_2PO_4 , en comparación con 0,63; 0,48 y 0,28 mg/g, respectivamente con KH_2PO_4 .

La producción de indoles, solubilización de fosfato y actividad ACC desaminasa fueron investigadas por Aban et al. (2017) en cinco hongos aislados de *Drynaria quercifolia* sp. Los investigadores determinaron actividad ACC desaminasa y producción de indoles en *T. yunnanense*, *T. simmonsii*, *Meyerozyma guilliermondii* y dos mucoromycotinas no identificados así como también, la solubilización de fosfato en *T. simmonsii*, *M. guilliermondii* y un mucoromycotina. Los resultados evidenciaron el uso potencial de los hongos para incrementar el crecimiento y rendimiento de los cultivos agrícolas.

La salinidad disminuyó el crecimiento y desarrollo de las plantas de rabanito, efecto negativo explicado por la alteración del balance de iones con acumulación de sodio y disminución de calcio y potasio en las hojas y raíces (Fu et al., 2017), disminución de la clorofila y la actividad fotosintética (Yasmeen y Siddiqui., 2018), inducción de estrés oxidativo por acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS) como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), ROS y anión superóxido, O^{2-} (Fu et al., 2017).

El impacto de la salinidad en las plantas de rábano fue disminuido con la aplicación de *Trichoderma* spp., coincidiendo con los reportes de Zhang et al.

(2020) en maíz, Yasmeen y Siddique (2018) en arroz, Kashyap et al. (2020) en tomate y Poveda (2020) en *Brassica napus*. Las especies de *Trichoderma* inducen en las plantas tolerancia al estrés abiótico causado por la salinidad, sequía y toxicidad por metales pesados (Hidangmayum y Dwivedi, 2018). Bajo salinidad se ha demostrado que *Trichoderma* sp. incrementan el contenido de prolina, importante para la osmoregulación de las células (Fu et al., 2017), restauran las cantidades de clorofila α , β , total y carotenoides y la actividad fotosintética (Yasmeen y Siddiqui, 2018) y aumentan los niveles de SOD (Yasmeen y Siddiqui, 2017), catalasa (Zhang et al., 2015), peroxidasa, polifenol oxidasa, (PDO); ascorbato peroxidasa (APX) y glutatión reductasa, GT (Zhan et al., 2019), cuya actividad regula el nivel de ROS en las células.

VI. CONCLUSIONES

- 6.1. En la rizósfera de *P. limensis* Benth. “algarrobo” en la comunidad campesina de San José, en Lambayeque se identificaron 13 géneros de hongos filamentosos con predominio de *Aspergillus* (31,7 %), *Penicillium* (27 %), *Trichoderma* (15,8 %) y en menor frecuencia *Rhizoctonia*, *Cunninghamella*, *Monilia*, *Amblyosporium*, *Cercospora*, *Geotrichum*, *Gliocladium*, *Mucor*, *Oidiodendron* y *Verticillium*.
- 6.2. Los hongos preseleccionados con actividad ACC desaminasa y tolerancia al 10 % de NaCl correspondieron a los géneros *Penicillium* y *Trichoderma*.
- 6.3. Los hongos *Trichoderma* sp. 2, *Trichoderma* sp. 3, *Trichoderma* sp. 32, *Trichoderma* sp. 29 y *Penicillium* sp. 16 fueron seleccionados por alcanzar los mayores valores en la tasa de germinación (11,45 – 14,11) de las semillas de rabanito bajo estrés salino en comparación con el testigo NaCl (2,37).
- 6.4. Los cinco hongos seleccionados por la mayor tasa de germinación de las semillas de rabanito produjeron indoles (22,911 – 28,800 ppm) y solubilizaron fosfato tricálcico (2,598 – 4,120 ppm) *in vitro*.
- 6.5. Los tres hongos del género *Trichoderma* seleccionados incrementaron la emergencia, altura (22,81 – 100 %), número de hojas (37,88 – 72,37 %), peso de la biomasa aérea (67,18 – 100,2 % y raíces (81,10 – 147,27 %) de las plantas de rabanito en suelos no salino ($CE_e = 2,66 \text{ dSm}^{-1}$) y salino ($CE_e = 8,23 \text{ dSm}^{-1}$).

VII. RECOMENDACIONES

- ✓ Caracterizar *Trichoderma* sp. 2, *Trichoderma* sp. 3 y *Trichoderma* sp. 32 utilizando técnicas moleculares.
- ✓ Determinar el efecto de *Trichoderma* sp. 2, *Trichoderma* sp. 3 y *Trichoderma* sp. 32 en el desarrollo y rendimiento de *Raphanus sativus* L. a nivel de campo comercial con problemas de salinidad.
- ✓ Determinar el efecto de *Trichoderma* sp. 2, *Trichoderma* sp. 3 y *Trichoderma* sp. 32 en el desarrollo y rendimiento de *Oryza sativa* “arroz”, *Solanum lycopersicum* L. “tomate” y *Zea mays* L. “maíz” en suelos salinos bajo condiciones de invernadero y campo.

VIII. REFERENCIAS

- Aban, J., Barcelo, R., Oda, E., Reyes, G., Balangcod, T., Gutierrez, R., y Hipol, R. (2017). Auxin production, phosphate solubilisation and ACC deaminase activity of root symbiotic fungi (RSF) from *Drynaria quercifolia* L. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, 6(5), 18–23. <http://doi.org/10.4067/S0716-078X2009000100011>
- Angulo, V., Sanfuentes, E., Rodríguez, F., y Sossa, K. (2014). Caracterización de rizobacterias promotoras de crecimiento en plántulas de *Eucalyptus nitens*. *Revista Argentina de Microbiología*, 46(4), 338-347. [http://doi.10.1016/S0325-7541\(14\)70093-8](http://doi.10.1016/S0325-7541(14)70093-8).
- Arias, E., y Piñeros, P. (2008). *Aislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestras de suelo de los páramos de Huasca y Cruz Verde*. [tesis de pregrado Pontificia Universidad Javeriana] <https://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis226.pdf>
- Barnett, H., y Hunter, B. (1998). Illustrated Genera of Imperfect Fungi (4^{ta}ed.) St. Paul, Minnesota, USA: *The American Phytopathological Society*. https://www.academia.edu/35499449/Illustrated_genera_of_imperfect_fungi_fourth_edition_Barnett_y_Hunter_pdf_pdf
- Calvay, A., y Santistebán, A. (2018). *Actinobacterias aisladas de raíces y suelo rizosférico de Portulaca oleracea L. como potenciales promotores del crecimiento de plantas en suelos salinos* [tesis de pregrado, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo] Repositorio Institucional: <http://repositorio.unprg.edu.pe/handle/UNPRG/3031>
- Chávez, L., y González, L. M. (2009). Mecanismos moleculares involucrados en la tolerancia de las plantas a la salinidad. *ITEA*, 105(4), 231-256. http://www.aida-itea.org/aida-itea/files/itea/revistas/2009/105-4/ITEA_105-4.pdf#page=5

- Contreras, H., y Carreño, C. (2018). Eficiencia de la biodegradación de hidrocarburos de petróleo por hongos filamentosos aislados de suelo contaminado. *Revista Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*, 1(1), 27-33. <http://doi.org/10.25127/ucni.v1i1.269>
- Corrales, L., Sánchez, L., Cuervo, J., Joya, J., y Márquez, K. (2012). Efecto biocontrolador de *Bacillus* spp. frente a *Fusarium* sp. bajo condiciones de invernadero en plantas de tomillo (*Thymus vulgaris* L.). *Nova-Publicación Científica en Ciencias Biomédicas*, 10(17), 64-82. <http://doi.org/10.22490/24629448.518>
- Delgado, D., y Ramos, L. (2009). *Temperatura y pH en la producción de pectinasas por Aspergillus niger nativo en bagazo de caña de azúcar (Saccharum officinarum) con cáscara de naranja (Citrus sinensis)* [tesis de pregrado, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo].
- Doni, F., Al-Shorgani, N. K. N., Abuelhassan, N. N., Isahak, A., Zain, C. R. C. M., y Yusoff, W. M. W. (2013). Microbial involvement in growth of paddy. *Current Research Journal of Biological Sciences*, 5(6), 285-290. <https://www.airitilibrary.com/Publication/alDetailedMesh?docid=20410778-201311-201510300019-201510300019-285-290>
- Doni, F., Isahak, A., Zain, C. R. C. M., Ariffin, S. M., Mohamad, W. N. A. W., y Yusoff, W. M. W. (2014). Formulation of *Trichoderma* sp. SL2 inoculants using different carriers for soil treatment in rice seedling growth. *Springerplus*, 3(1), 532. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-532>
- Escobar, C., Horna, Y., Carreño, C., y Mendoza, G. (2011). Caracterización de cepas nativas de *Azotobacter* spp. y su efecto en el desarrollo de *Lycopersicum esculentum* Mill. "tomate" en Lambayeque. *Scientia Agropecuaria*, 2 (1), 39-49 <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2011.01.05>
- Esquivel, R., Gavilanes, M., Cruz, R., y Huante, P. (2013). Importancia agrobiotecnológica de la enzima ACC desaminasa en rizobacterias, una revisión. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(3), 251-258. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rfm/v36n3/v36n3a10.pdf>

- Fu, J., Liu, Z., Li, Z., Wang, Y., y Yang, K. (2017). Alleviation of the effects of saline-alkaline stress on maize seedlings by regulation of active oxygen metabolism by *Trichoderma asperellum*. *PLoS One*, 12(6), e0179617. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179617>
- Gamalero, E., Berta, G., Massa, N., Glick, R., y Lingua, G. (2008). Synergistic interactions between the ACC deaminase-producing bacterium *Pseudomonas putida* UW4 and the AM fungus *Gigaspora rosea* positively affect cucumber plant growth. *FEMS Microbiology Ecology*, 64(3), 459-467. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00485.x>
- García, F., Muñoz, H., Carreño, C., y Mendoza, G. (2010). Caracterización de cepas nativas de *Azospirillum* spp. y su efecto en el desarrollo de *Oryza sativa* L “arroz” en Lambayeque. *Scientia Agropecuaria*, 1, 107-116. <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2010.02.01>
- García, S., y Alvarez, P. (2012). *Elección y evaluación de microorganismos solubilizadores de fosfatos en suelos calcáreos del Valle del Mantaro*. Lima, Perú. Universidad Agraria La Molina.
- Gupta, S., y Pandey, S. (2019). Unravelling the biochemistry and genetics of ACC deaminase - An enzyme alleviating the biotic and abiotic stress in plants. *Plant Gene*, 18, 100175. <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2019.100175>
- Hermosa, R., Viterbo, A., Chet, I., y Monte, E. (2012). Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology*, 158(1), 17-25. <https://doi.org/10.1099/mic.0.052274-0>
- Hernández, R., Fernández, C., y Baptista, P. (2014). *Metodología de la Investigación* (6ta ed.): Mc Graw, Hill Interamericana Editores S.A. <http://observatorio.epacartagena.gov.co/wpcontent/uploads/2017/08/metodologia-de-la-investigacion-sexta-edicion.compressed.pdf>
- Hidangmayum, A., y Dwivedi, P. (2018). Plant responses to *Trichoderma* spp. and their tolerance to abiotic stresses: a review. *J Pharmacogn Phytochem*, 7(1), 758-766.

- Instituto Nacional de Defensa Civil, INDECI. (2003). Proyecto INDECI-PNUD PER/02/051 Ciudades sostenibles: Mapa de Peligros de la Ciudad de San José.
http://bvpad.indeci.gob.pe/doc/estudios_CS/Region_lambayeque/lambayeque/sanjose_mp.pdf.
- Kashyap, P., Solanki, M., Kushwaha, P., Kumar, S., y Srivastava, A. (2020). Biocontrol potential of salt-tolerant *Trichoderma* and *Hypocrea* isolates for the management of tomato root rot under saline environment. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 20(1), 160-176. <https://doi.org/10.1007/s42729-019-00114-y>
- Kumar, K., Manigundan, K., y Amaresan, N. (2017). Influence of salt tolerant *Trichoderma* spp. on growth of maize (*Zea mays*) under different salinity conditions. *Journal of Basic Microbiology*, 57(2), 141-150. <https://doi.org/10.1002/jobm.201600369>
- Lara, C., Esquivel, L., y Peñata, N. (2011). Bacterias nativas solubilizadoras de fosfatos para incrementar los cultivos en el departamento de Córdoba-Colombia. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 9(2), 114-120. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612011000200013
- Lázaro, P., Saucedo, H., y Namuche, R. (2010). *Salinidad del Suelo. México: Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, Fundación Produce Nayarit A.C.*
- Marchese, A. (2015). *Estudio físico y químico de suelos agrícolas para la estimación del nivel de salinización en el sector bajo de San Pedro de Lloc* [tesis de pregrado, Pontificia Universidad Católica de Perú, Lima, Perú] <http://hdl.handle.net/20.500.12404/6442>
- Orhan, F. (2016). Alleviation of salt stress by halotolerant and halophilic plant growth-promoting bacteria in wheat (*Triticum aestivum*). *Brazilian Journal of Microbiology*, 47, 621-627. <http://doi:10.1016/j.bjm.2016.04.001>

- Palacio, R., Ramos, B., Coria, J., Nava, R., y Sáenz, J. (2016). Mecanismos de las PGPR para mitigar el estrés abiótico de plantas. *Árido-Ciencia*, 1(1), 4-11. <http://aridociencia.mx/numeros/2016/vin1/articulo2.pdf>
- Pacasa, F., Loza, M., Bonifacio, A., Vino, L., y Serrano, T. (2017). Comunidad de hongos filamentosos en suelos del agroecosistema de K'iphak'iphani, Comunidad Choquenaira-Viacha. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 8(1), 2-25. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=361349918002>
- Parra, L. (2012). *Efectos de distintos niveles de salinidad en especies halófilas en un saladar del Sud de Alicante* [tesis de pregrado, Universidad Politécnica de Valencia, Grandia, España]. <http://hdl.handle.net/10251/17673>
- Pinchao, J. (2013). *Estimación del potencial productivo del suelo (PPS) en un cultivo de maíz (Zea mays) afectado por salinidad en dos municipios del Valle del Cauca*. [tesis de pregrado, Universidad del Valle, Santiago de Cali, Colombia]. <http://hdl.handle.net/10893/7752>
- Penrose, D., y Glick, B. (2003). Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiologia Plantarum*, 118(1), 10-15. <http://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2003.00086>
- Poveda, J. (2020). *Trichoderma parareesei* favors the tolerance of rapeseed (*Brassica napus* L.) to salinity and drought due to a chorismate mutase. *Agronomy*, 10(1), 118. <https://doi.org/10.3390/agronomy10010118>
- Qin, S., Zhang, Y., Yuan, B., Yuan, P., Xing, K., Wang, J., y Jiang, J. (2014). Isolation of ACC desaminase-producing habitat-adapted symbiotic bacteria associated with halophyte *Limonium sinense* (Girard) Kuntze and evaluating their plant growth-promoting activity under salt stress. *Plant Soil*, 374, 753-766. <http://doi.org/10.1007/s11104-013-1918-3>
- Ramírez, J. (2015). *Caracterización de bacterias con actividad de ACC desaminasa, como promotoras del crecimiento en Lactuca sativa L. (Lechuga) bajo estrés salino*. [tesis de pregrado, Universidad de Guadalajara]. Repositorio Institucional: <http://repositorio.cucba.udg.mx:8080/xmlui/handle/123456789/5990>
- Rodier, J. y Rodi, L. (2005). *Análisis de Aguas*: Ediciones Omega.

- Rueda, E., Villegas, J., Gerlach, L., Tarazón, M., Murillo, B., García, J., Troyo, E. y Preciado, P. (2009). Efecto de la inoculación de bacterias promotoras de crecimiento vegetal sobre la germinación de *Salicornia bigelovii*. *Terra Latinoamericana*, 27(4), 345-354. <http://www.scielo.org.mx/pdf/tl/v27n4/v27n4a9.pdf>
- Saavedra, G. (2017). *Manual de producción de lechuga*. Boletín INIA N°09. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Santiago, Chile. <http://www.inia.cl/wp-content/uploads/ManualesdeProduccion/09%20Manual%20Lechuga.pdf>
- Saleem, M., Arshad, M., Hussain, S. y Bhatti, A. (2007). Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, (34), 635-648. <http://doi.org/10.1007/s10295-007-0240-6>.
- Sánchez, D., Pérez, J. y David, H. (2016). Efecto de las PGPB sobre el crecimiento de *Pennisetum clandestinum* bajo condiciones de estrés salino. *Revista colombiana de Biotecnología*, XVIII (I), 65-72. <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v18n1.50413>.
- Santamaría, J. (2013) *Evaluación de la salinidad de los suelos de la Comunidad Campesina San José – Lambayeque, tratados con vinaza, usando la técnica del prendimiento de esquejes de la especie Brachiaria mutica (Forssk) Staff. “gramalote” a nivel de bandejas* [tesis de pregrado, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú]
- Saravanakumar, K., MubarakAli, D., Kathiresan, K., y Wang, M. (2018). An evidence of fungal derived 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase promoting the growth of mangroves. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 7(4), 446-451. <http://doi: 10.1016/j.bjbas.2018.03.013>

- Siddikee, M., Chauhan, P., Anandham, R., Han, G., y Sa, T. (2010). Isolation, characterization and use for plant growth promotion under salt stress of ACC deaminase – producing halotolerant bacteria derived from coastal soil. *Journal Microbiology Biotechnology*, 20(11), 1577-1584. <https://doi.org/10.4014/jmb.1007.07011>
- Siddikee, M., Glick, B., Chauhan, S., Yim, W., y Sa, T. (2011). Enhancement of growth and salt tolerance of red pepper seedlings (*Capsicum annuum* L.) by regulating stress ethylene synthesis with halotolerant bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase activity. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(4), 427-34. <http://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.01.015>
- Singh, R., Shelke, G., Kumar, A., y Jha, P. (2015). Biochemistry and genetics of ACC deaminase: a weapon to “stress ethylene” produced in plants. *Frontiers in Microbiology*, (6), 937. <http://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00937>
- Soca, R., Rojas, J., Willems, L., Ocola, C., Fernández, R., y Pérez, J. (2016). Identificación de las tierras degradadas por la salinidad del suelo en los cultivos de caña de azúcar mediante imágenes de satélite. *Revista de Investigación de Física*, 19(1), 1-9. https://www.researchgate.net/profile/Renato_Soca_Flores/publication/306060607
- Vardharajula, S., Ali, S., Grover, M., Reddy, G., y Bandi, V. (2011). Drought-tolerant plant growth promoting *Bacillus* spp.: effect on growth, osmolytes, and antioxidant status of maize under drought stress. *Journal of Plant Interactions*, 6(1), 1-14. <http://doi:10.1080/17429145.2010.535178>.
- Verma, N., Tarafdar, J. C., Srivastava, K. K., y Panwar, J. (2008). Arbuscular mycorrhizal (AM) diversity in *Prosopis cineraria* L. Druce under arid agroecosystems. *Agricultural Sciences in China*, 7(6), 754-761. [https://doi.org/10.1016/S1671-2927\(08\)60111-X](https://doi.org/10.1016/S1671-2927(08)60111-X)

- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Woo, S. L., y Lorito, M. (2008). Trichoderma–plant–pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(1), 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.07.002>
- Viterbo, A., Landau, U., Kim, S., Chernin, L., y Chet, I. (2010). Characterization of ACC deaminase from the biocontrol and plant growth-promoting agent *Trichoderma asperellum* T203. *Federation of European Microbiological Societies*, 305(1), 42-48. <http://doi:10.1111/j.1574-6968.2010.01910.x>
- Yasmeen, R., y Siddiqui, Z. (2017). Physiological responses of crop plants against *Trichoderma harzianum* in saline environment. *Acta Botanica Croatica*, 76(2), 154-162. <https://doi.org/10.1515/botcro-2016-0054>
- Yasmeen, R., y Siddiqui, Z. S. (2018). Ameliorative effects of *Trichoderma harzianum* on monocot crops under hydroponic saline environment. *Acta physiologiae plantarum*, 40(1), 4. <https://doi.org/10.1007/s11738-017-2579-2>
- Zhang, F., Zhang, J., Chen, L., Shi, X., Lui, Z., y Li, C. (2015). Heterologous expression of ACC deaminase from *Trichoderma asperellum* improves the growth performance of *Arabidopsis thaliana* under normal and salt stress conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 94, 41-47. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.05.007>
- Zhang, F., Chen, C., Zhang, F., Gao, L., Liu, J., Chen, L., Fan, X., Liu, C., Zhang, K., He, Y., Chen, C., y Ji, X. (2017). *Trichoderma harzianum* containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase and chitinase improved growth and diminished adverse effect caused by *Fusarium oxysporum* in soybean. *Journal of plant physiology*, 210, 84-94. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2016.10.012>
- Zhang, S., Gan, Y., y Xu, B. (2019). Mechanisms of the IAA and ACC-deaminase producing strain of *Trichoderma longibrachiatum* T6 in enhancing wheat seedling tolerance to NaCl stress. *BMC plant biology*, 19(1), 22. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1618-5>.

- Zhang, F., Dou, K., Liu, C., Chen, F., Wu, W., Yang, T., Li, L., Liu, T., y Yu, L. (2020). The application potential of *Trichoderma* T-soybean containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate for maize production. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 110, 101475. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2020.101475>
- Zhao, L., y Zhang, Y. Q. (2015). Effects of phosphate solubilization and phytohormone production of *Trichoderma asperellum* Q1 on promoting cucumber growth under salt stress. *J Integr Agric*, 14(8), 1588-1597. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(14\)60966-7](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(14)60966-7)

ANEXOS

Anexo A

Cálculo de número de muestras de la rizósfera de *Prosopis limensis Benth.* para la obtención de hongos rizosféricos con actividad ACC desaminasa

(Alvitres, 2000)

$$n = \frac{z^2 (p \times q)}{t^2}$$

$$n = \frac{(1,96)^2 (0,90 \times 0,10)}{0,8^2}$$

$$n = 54,02$$

Donde:

n = Tamaño de la muestra

Z = 1,96 ($\alpha = 0,05$) valor estándar

p = prevalencia o presencia de hongos rizosféricos con actividad ACC desaminasa (0,90)

q = 1-p, ausencia (0,10)

T = error estimado (8%)

Anexo B

Características de los árboles *Prosopis limensis* Benth. en el sector La Madrid, comunidad Campesina San José, Lambayeque, 2018.

Árbol N°	Altura (m)	Diámetro (cm)
1	18	22,28
2	17	22,60
3	18	21,65
4	17	21,96
5	18	22,28
6	16	21,96
7	18	22,60
8	17	21,65
9	16	22,28
10	18	22,28
11	18	21,33
12	16	21,65
13	17	22,28
14	18	21,96
15	17	21,96
16	18	22,28
17	17	21,65
18	18	21,33

Donde:

$$\text{diámetro} = \text{perímetro} \div 3.1416$$

Anexo C

Medios de cultivo

a. Agar papa dextrosa, PDA (Delgado y Pérez, 2009)

El PDA (L) está compuesto por papa (250 g), dextrosa (20 g) y agar – agar (20 g). Las papas se pelan, se lavan, se pican y se hierven por 20 min con 500 mL de agua destilada. Después, las papas se maceran y el filtrado se mezcla con 20 g de agar – agar previamente disuelto con 500 mL de agua destilada.

La mezcla se completa a 1 L con agua destilada y se esteriliza en el autoclave. Al momento de servir, para 1 L de PDA, se agregan 2 mL de una solución de una cápsula de cloranfenicol de 250 mg en 10 mL de alcohol al 95%.

b. Medio National Botanical Research Institute, NBRIP (en Calvay y Santisteban, 2018)

El medio (L) NBRIP está compuesto por glucosa (10 g), $\text{Ca}_3(\text{PO}_2)$ (5,0 g), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0,1 g), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,25 g), KCl (0,2 g), $\text{MgCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (5,0 g), agar – agar (15,0 g) y agua destilada (1000 mL).

c. Caldo tripticasa soya suplementado con triptófano (García et al., 2010)

El caldo (L) TSA está constituido por peptona de caseína (17 g), peptona de harina de soya (3,0 g), D(+) glucosa (dextrosa) (2,5 g), cloruro de sodio (5,0 g), fosfato dipotásico (2,5 g), triptófano (0,01 g) y agua destilada (1000 mL).

d. Medio Dworkin & Foster (Penrose y Glick, 2003)

El medio Dworkin & Foster (por litro) está constituido por: KH_2PO_4 (4 g), Na_2HPO_4 (6 g), MgSO_4 (0.2 g), FeSO_4 (1 mg), H_3BO_3 (10 μg), MnSO_4 (10 μg), CuSO_4 (50 μg), Na_2MoO_4 (22.5 μg), ZnSO_4 (70 μg), sacarosa (5 g), y agar bacteriológico (20 g).

Anexo D

Para preparar una solución de 0,5M de ácido 1- aminociclopropano 1- carboxílico ACC primero disolver 0.1g de ACC en 2 mL de agua destilada ($C_4H_7NO_2$)
Calculándose una masa molar de 101,1 g/mol.

Para el cálculo de la molaridad de solución se utilizó la siguiente ecuación:

$$X = 1000\text{ml} \times \frac{\text{g de soluto}}{\text{ml de disolución}} \times \frac{1\text{mol}}{\text{masa molar del soluto g}}$$

$$X = 1000\text{ml} \times \frac{0,1\text{ g}}{2\text{ml}} \times \frac{1\text{mol}}{101,1\text{g}}$$

$$X = \frac{100}{202,2}$$

$$X = 0,5\text{ M}$$

Para lograr que el medio Dworkin & Foster tenga 3,0 mM ACC se requiere cierta cantidad de la solución de 0,5M, dicha cantidad se obtiene mediante la siguiente ecuación:

$$1\text{M} = 1\text{ mol}$$

$$1\text{ mol} = 1000\text{ mM}$$

$$\text{Entonces: } 0,5\text{M} \times 1000 = 500\text{ mM}$$

$$C1 \cdot V1 = C2 \cdot V2$$

$$500\text{mM} \cdot V1 = 3\text{mM} \cdot 1000\text{ mL}$$

$$V1 = \frac{3000}{500}$$

$$V1 = 6\text{ mL}$$

$$6\text{mL} \quad \underline{\hspace{1cm}} \quad 1000\text{mL}$$

$$2\text{mL} \quad \underline{\hspace{1cm}} \quad x$$

$$X=333,3$$

Para preparar el medio mínimo Dworkin & Foster con 3,0 mM ACC, los 2 mL de la solución ACC 0,5M llevarlos a 333,3 mL de medio de cultivo.

Anexo E

Pruebas de normalidad

	VARIABLES	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Altura 15 días	TESTIGO	,196	3	.	,996	3	,878
	<i>Trichoderma</i> sp. 2	,178	3	.	1,000	3	,958
	<i>Trichoderma</i> sp. 3	,385	3	.	,750	3	,000
	<i>Trichoderma</i> sp. 32	,315	3	.	,891	3	,358
Altura 20 días	TESTIGO	,176	3	.	1,000	3	,985
	<i>Trichoderma</i> sp. 2	,287	3	.	,930	3	,487
	<i>Trichoderma</i> sp. 3	,276	3	.	,942	3	,537
	<i>Trichoderma</i> sp. 32	,321	3	.	,882	3	,329
Altura 25 días	TESTIGO	,208	3	.	,992	3	,828
	<i>Trichoderma</i> sp. 2	,222	3	.	,985	3	,767
	<i>Trichoderma</i> sp. 3	,314	3	.	,893	3	,363
	<i>Trichoderma</i> sp. 32	,253	3	.	,964	3	,637
Altura 30 días	TESTIGO	,219	3	.	,987	3	,780
	<i>Trichoderma</i> sp. 2	,253	3	.	,964	3	,637
	<i>Trichoderma</i> sp. 3	,319	3	.	,885	3	,339
	<i>Trichoderma</i> sp. 32	,265	3	.	,953	3	,583

a. Corrección de significación de Lilliefors

Prueba de homogeneidad de varianzas

	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
Altura 15 días	4,289	3	8	,044
Altura 20 días	,602	3	8	,632
Altura 25 días	,154	3	8	,924
Altura 30 días	,845	3	8	,507

ANOVA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Altura 15 días	Entre grupos	35,413	3	11,804	26,070	,000
	Dentro de grupos	3,622	8	,453		
	Total	39,035	11			
Altura 20 días	Entre grupos	42,184	3	14,061	16,383	,001
	Dentro de grupos	6,866	8	,858		
	Total	49,050	11			
Altura 25 días	Entre grupos	29,054	3	9,685	4,689	,036
	Dentro de grupos	16,525	8	2,066		
	Total	45,579	11			
Altura 30 días	Entre grupos	117,182	3	39,061	15,337	,001
	Dentro de grupos	20,375	8	2,547		
	Total	137,557	11			

Altura 15 días

HSD Tukey^a

VARIABLES	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
TESTIGO	3	7,467	
<i>Trichoderma</i> sp. 3	3		10,713
<i>Trichoderma</i> sp. 2	3		11,013
<i>Trichoderma</i> sp. 32	3		12,060
Sig.		1,000	,144

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Altura 20 díasHSD Tukey^a

VARIABLES	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
TESTIGO	3	9,993	
<i>Trichoderma</i> sp. 3	3		14,000
<i>Trichoderma</i> sp. 2	3		14,127
<i>Trichoderma</i> sp. 32	3		14,710
Sig.		1,000	,786

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Altura 25 díasHSD Tukey^a

VARIABLES	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
TESTIGO	3	13,627	
<i>Trichoderma</i> sp. 2	3	16,733	16,733
<i>Trichoderma</i> sp. 3	3	17,000	17,000
<i>Trichoderma</i> sp. 32	3		17,667
Sig.		,079	,855

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Altura 30 díasHSD Tukey^a

VARIABLES	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
TESTIGO	3	16,583	
<i>Trichoderma</i> sp. 2	3		21,750
<i>Trichoderma</i> sp. 3	3		21,917
<i>Trichoderma</i> sp. 32	3		25,333
Sig.		1,000	,095

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Pruebas de normalidad

	VARIABLES	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Número de hojas	TESTIGO	,385	3	.	,750	3	,000
	<i>Trichoderma</i> sp. 2	,175	3	.	1,000	3	1,000
	<i>Trichoderma</i> sp. 3	,219	3	.	,987	3	,780
	<i>Trichoderma</i> sp. 32	,225	3	.	,984	3	,756

a. Corrección de significación de Lilliefors

Prueba de homogeneidad de varianzas

Número de hojas

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
2,147	3	8	,172

ANOVA

Número de hojas

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	39,104	3	13,035	5,325	,026
Dentro de grupos	19,583	8	2,448		
Total	58,688	11			

Número de hojas

HSD Tukey^a

VARIABLES	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
TESTIGO	3	6,333	
<i>Trichoderma</i> sp. 2	3	9,750	9,750
<i>Trichoderma</i> sp. 3	3		10,500
<i>Trichoderma</i> sp. 32	3		10,917
Sig.		,105	,799

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Pruebas de normalidad

	VARIABLES	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Biomasa	TESTIGO	,253	3	.	,964	3	,637
aérea	<i>Trichoderma</i> sp. 2	,175	3	.	1,000	3	1,000
	<i>Trichoderma</i> sp. 3	,175	3	.	1,000	3	1,000
	<i>Trichoderma</i> sp. 32	,385	3	.	,750	3	,000

a. Corrección de significación de Lilliefors

Prueba de homogeneidad de varianzas

Biomasa aérea

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
6,110	3	8	,018

ANOVA

Biomasa aérea

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2126,307	3	708,769	1115,440	,000
Dentro de grupos	5,083	8	,635		
Total	2131,391	11			

Biomasa aérea

HSD Tukey^a

VARIABLES	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
TESTIGO	3	33,167		
<i>Trichoderma</i> sp. 3	3		57,250	
<i>Trichoderma</i> sp. 32	3			65,333
<i>Trichoderma</i> sp. 2	3			66,000
Sig.		1,000	1,000	,741

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Pruebas de normalidad

	VARIABLES	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Peso de raíces	TESTIGO	,236	3	.	,977	3	,712
	<i>Trichoderma</i> sp. 2	,292	3	.	,923	3	,463
	<i>Trichoderma</i> sp. 3	,175	3	.	1,000	3	1,000
	<i>Trichoderma</i> sp. 32	,253	3	.	,964	3	,637

a. Corrección de significación de Lilliefors

Prueba de homogeneidad de varianzas

Peso de raíces

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
1,083	3	8	,410

ANOVA

Peso de raíces

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	5091,521	3	1697,174	697,767	,000
Dentro de grupos	19,458	8	2,432		
Total	5110,979	11			

Peso de raíces

HSD Tukey^a

VARIABLES	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
TESTIGO	3	35,083		
<i>Trichoderma</i> sp. 3	3		64,500	
<i>Trichoderma</i> sp. 2	3			83,833
<i>Trichoderma</i> sp. 32	3			86,750
Sig.		1,000	1,000	,179

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Suelo salino
Pruebas de normalidad

	VARIABLES	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Altura 15 días	TESTIGO	,300	3	.	,913	3	,429
	<i>Trichoderma</i> sp. 2	,385	3	.	,750	3	,000
	<i>Trichoderma</i> sp. 3	,385	3	.	,750	3	,000
	<i>Trichoderma</i> sp. 32	,276	3	.	,942	3	,537
Altura 20 días	TESTIGO	,292	3	.	,923	3	,463
	<i>Trichoderma</i> sp. 2	,253	3	.	,964	3	,637
	<i>Trichoderma</i> sp. 3	,253	3	.	,964	3	,637
	<i>Trichoderma</i> sp. 32	,238	3	.	,976	3	,702
Altura 25 días	TESTIGO	,178	3	.	,999	3	,954
	<i>Trichoderma</i> sp. 2	,219	3	.	,987	3	,780
	<i>Trichoderma</i> sp. 3	,208	3	.	,992	3	,826
	<i>Trichoderma</i> sp. 32	,343	3	.	,842	3	,220
Altura 30 días	TESTIGO	,328	3	.	,871	3	,298
	<i>Trichoderma</i> sp. 2	,328	3	.	,871	3	,298
	<i>Trichoderma</i> sp. 3	,269	3	.	,949	3	,567
	<i>Trichoderma</i> sp. 32	,328	3	.	,871	3	,298

a. Corrección de significación de Lilliefors

Prueba de homogeneidad de varianzas

	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
Altura 15 días	5,747	3	8	,021
Altura 20 días	1,499	3	8	,287
Altura 25 días	1,236	3	8	,359
Altura 30 días	,938	3	8	,466

ANOVA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Altura 15 días	Entre grupos	41,546	3	13,849	13,783	,002
	Dentro de grupos	8,038	8	1,005		
	Total	49,584	11			
Altura 20 días	Entre grupos	80,917	3	26,972	28,770	,000
	Dentro de grupos	7,500	8	,938		
	Total	88,417	11			
Altura 25 días	Entre grupos	103,748	3	34,583	14,229	,001
	Dentro de grupos	19,443	8	2,430		
	Total	123,190	11			
Altura 30 días	Entre grupos	285,188	3	95,063	50,983	,000
	Dentro de grupos	14,917	8	1,865		
	Total	300,104	11			

Altura 15 días

HSD Tukey^a

VARIABLES	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
TESTIGO	3	4,960	
<i>Trichoderma</i> sp. 32	3		8,500
<i>Trichoderma</i> sp. 2	3		8,833
<i>Trichoderma</i> sp. 3	3		9,917
Sig.		1,000	,369

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Altura 20 díasHSD Tukey^a

VARIABLES	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
TESTIGO	3	7,167	
<i>Trichoderma</i> sp. 32	3		12,500
<i>Trichoderma</i> sp. 2	3		12,833
<i>Trichoderma</i> sp. 3	3		13,833
Sig.		1,000	,389

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Altura 25 díasHSD Tukey^a

VARIABLES	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
TESTIGO	3	10,043	
<i>Trichoderma</i> sp. 2	3		15,333
<i>Trichoderma</i> sp. 32	3		16,000
<i>Trichoderma</i> sp. 3	3		18,000
Sig.		1,000	,233

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Altura 30 díasHSD Tukey^a

VARIABLES	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
TESTIGO	3	12,333	
<i>Trichoderma</i> sp. 2	3		22,667
<i>Trichoderma</i> sp. 32	3		23,417
<i>Trichoderma</i> sp. 3	3		24,417
Sig.		1,000	,445

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Pruebas de normalidad

	VARIABLES	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Número de	TESTIGO	,314	3	.	,893	3	,363
hojas	Trichoderma sp. 2	,328	3	.	,871	3	,298
	Trichoderma sp. 3	,269	3	.	,949	3	,567
	Trichoderma sp. 32	,253	3	.	,964	3	,637

a. Corrección de significación de Lilliefors

Prueba de homogeneidad de varianzas

Número de hojas

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
1,993	3	8	,194

ANOVA

Número de hojas

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	14,807	3	4,936	4,715	,035
Dentro de grupos	8,375	8	1,047		
Total	23,182	11			

Número de hojas

HSD Tukey^a

VARIABLES	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
TESTIGO	3	5,500	
Trichoderma sp. 2	3	7,583	7,583
Trichoderma sp. 3	3	7,917	7,917
Trichoderma sp. 32	3		8,417
Sig.		,077	,755

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Pruebas de normalidad

	VARIABLES	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Biomasa	TESTIGO	,369	3	.	,787	3	,085
aérea	<i>Trichoderma</i> sp. 2	,292	3	.	,923	3	,463
	<i>Trichoderma</i> sp. 3	,282	3	.	,936	3	,510
	<i>Trichoderma</i> sp. 32	,328	3	.	,871	3	,298

a. Corrección de significación de Lilliefors

Prueba de homogeneidad de varianzas

Biomasa aérea

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
10,055	3	8	,004

ANOVA

Biomasa aérea

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1694,682	3	564,894	65,141	,000
Dentro de grupos	69,375	8	8,672		
Total	1764,057	11			

Biomasa aérea

HSD Tukey^a

VARIABLES	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
TESTIGO	3	32,250		
<i>Trichoderma</i> sp. 32	3		53,917	
<i>Trichoderma</i> sp. 2	3		55,667	
<i>Trichoderma</i> sp. 3	3			64,583
Sig.		1,000	,883	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Pruebas de normalidad

	VARIABLES	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Peso de raíces	TESTIGO	,361	3	.	,806	3	,130
	<i>Trichoderma</i> sp. 2	,196	3	.	,996	3	,878
	<i>Trichoderma</i> sp. 3	,196	3	.	,996	3	,878
	<i>Trichoderma</i> sp. 32	,175	3	.	1,000	3	1,000

a. Corrección de significación de Lilliefors

Prueba de homogeneidad de varianzas

Peso de raíces

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
8,994	3	8	,006

ANOVA

Peso de raíces

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	4167,708	3	1389,236	93,821	,000
Dentro de grupos	118,458	8	14,807		
Total	4286,167	11			

Peso de raíces

HSD Tukey^a

VARIABLES	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
TESTIGO	3	41,000		
<i>Trichoderma</i> sp. 32	3		74,250	
<i>Trichoderma</i> sp. 3	3			86,167
<i>Trichoderma</i> sp. 2	3			86,917
Sig.		1,000	1,000	,995

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.