



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

EXTENSIÓN LA MANÁ

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES**

CARRERA DE AGRONOMÍA

PROYECTO DE TITULACIÓN

**EFFECTO BIOESTIMULANTE DE *Trichoderma harzianum rifai* EN SEMILLAS DE
Clitoria ternatea SOMETIDOS A DIFERENTES PERIODOS DE FRÍO Y REMOJO.**

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de Ingeniero/a

Agrónomo/a

AUTORAS:

Pastuña Toaquiza Diana Vanessa

Terán Molina Silvia Alexandra

TUTOR:

Ing. Pincay Ronquillo Wellington

**LA MANÁ – ECUADOR
AGOSTO – 2022**

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Nosotros, Pastuña Toaquiza Diana Vanessa y Terán Molina Silvia Alexandra declaramos ser autoras del presente proyecto de investigación: EFECTO BIOESTIMULANTE DE *Trichoderma harzianum rifai* EN SEMILLAS DE *Clitoria ternatea* SOMETIDOS A DIFERENTES PERIODOS DE FRÍO Y REMOJO siendo el Ing. Wellington Jean Pincay Ronquillo Tutor del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de nuestra exclusiva responsabilidad.



Pastuña Toaquiza Diana Vanessa
C.I. 0504545419



Terán Molina Silvia Alexandra
C.I. 1726099326

AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tutor del Trabajo de Investigación sobre el título. EFECTO BIOESTIMULANTE DE *Trichoderma harzianum* rifai EN SEMILLAS DE *Clitoria ternatea* SOMETIDOS A DIFERENTES PERIODOS DE FRÍO Y REMOJO de las señoritas Pastuña Toaquiza Diana Vanessa, Terán Molina Silvia Alexandra, de la Carrera de Ingeniería Agronómica, considero que dicho Informe Investigativo cumple con los requerimientos metodológicos y aportes científico-técnicos suficientes para ser sometidos a la evaluación del Tribunal de Validación de Proyecto que el Honorable Consejo Académico de la Facultad Académica de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la Universidad Técnica de Cotopaxi designe, para su correspondiente estudio y calificación.

La Maná, 9 de agosto del 2022



Ing. Pincay Ronquillo Wellington Jean

C.I: 1206384586

TUTOR


APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN

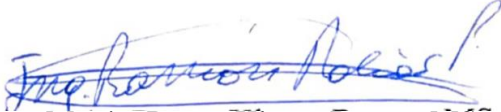
En calidad de Tribunal de Lectores, aprueban el presente informe de investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi, y por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, por cuanto las postulantes: Pastuña Toaquiza Diana Vanessa y Terán Molina Silvia Alexandra con el título de Proyecto de Investigación: EFECTO BIOESTIMULANTE DE *Trichoderma harzianum rifai* EN SEMILLAS DE *Clitoria ternatea* SOMETIDOS A DIFERENTES PERIODOS DE FRÍO Y REMOJO para ser sometido al acto de sustentación del proyecto.


Por lo antes expuesto, se autoriza realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

La Maná, 25 de agosto del 2022

Para constancia firman:


Ing. Zambrano Cuadro Natalia Geocondá MS.c.
C.I: 0910743285
LECTOR (PRESIDENTE)


Ing. Macías Pettao Klever Ramon MS.c.
C.I:1206241422
LECTOR 1 (MIEMBRO)


Ing. Ramirez Cruz Andres Fernando MS.c.
C.I:0704827674
LECTOR 2 (SECRETARIO)

AGRADECIMIENTO

A Dios, por todas sus bendiciones.

Por habernos acompañado y guiado a lo largo de nuestra carrera, por ser nuestra fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarnos, experiencias y sobre todo de superación.

Queremos agradecer a la Universidad Técnica de Cotopaxi Extensión La Maná.

A Nuestro Tutor Ing. Wellington Jean Pincay Ronquillo, por su guía mediante el proyecto de graduación, Ing. Tatiana Gavilánez por su apoyo, paciencia y valiosos consejos a lo largo del proceso de investigación.

Diana&Silvia

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante en mi formación profesional.

A mis padres Pastuña Cesar y Toaquizza Luz María, por ser el pilar importante y brindarme su apoyo incondicional y consejos en este proceso de mi vida.

A mi hija Melina Pastuña por ser la razón principal de mi existencia, mi mayor inspiración, mi fortaleza, y mi motor principal de superación y ser un ejemplo a seguir.

A mis hermanos, que me brindaron su apoyo, durante todo este proceso, por estar conmigo en todo momento. En especial a Tania Pastuña quien me ha apoyado incondicionalmente y me ha ayudado a cumplir este sueño.

Diana

DEDICATORIA

A Dios, por ser el inspirador y darnos fuerza para continuar en este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados.

A los seres más especiales en mi vida a mi madre Gladis Molina y mis abuelas Jacinta Puruncajas e Isabel Tapia, por todo su apoyo durante este proceso académico, sus consejos y cariño fueron un pilar fundamental para poder lograrlo, gracias por inculcar en mí el ejemplo de superación y valentía para no rendirme y no temer las adversidades porque Dios está conmigo siempre.

Silvia

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TÍTULO: EFECTO BIOESTIMULANTE DE *Trichoderma harzianum rifai* EN SEMILLAS DE *Clitoria ternatea* SOMETIDOS A DIFERENTES PERIODOS DE FRÍO Y REMOJO.

Autoras:

Pastuña Toaquiza Diana Vanessa

Terán Molina Silvia Alexandra

RESUMEN

El presente proyecto de investigación se desarrolló en el cantón La Maná, en el sector de la playita, aquí se buscó analizar el efecto del tiempo de remojo en soluciones de *trichoderma harzianum rifai* en la emergencia de las semillas de *clitoria ternatea* sometidas a diferentes periodos de frío.; Establecer el mejor tiempo de remojo en soluciones de *Trichoderma harzianum rifai* para las semillas de *Clitoria ternatea*. Determinar el tiempo de remojo adecuado en soluciones *Trichoderma harzianum rifai* para las semillas de *Clitoria ternatea* y evaluar algunas variables agronómicas de *Clitoria ternatea* obtenida a partir de estos tratamientos. Para esto, se usó un DCA factorial con 24 tratamientos. Los resultados en cuanto a emergencia mostraron que tanto el factor de frío como horas de remojo influyeron en este proceso y que el mejor tratamiento fue el T9 (0 días de frío y 3 horas de remojo en *trichoderma*) con un porcentaje de 43, 33%. En el caso de días a la emergencia se nota que los tratamientos sometidos a un menor periodo de frío o a ninguno (0 y 10 días) tomaron 4 días para su emergencia, mientras que los de 20 y 30 días lo hicieron en 6. Para la variable mortalidad en cambio, se observó que las semillas que sufrieron ese evento, lo hicieron por factores externos y no por influencia de alguno de los factores en estudio. Para el resto de variable morfológicas se muestra que la interacción entre los factores tiene una influencia positiva pero que, cuando son analizados de manera independiente, los días de frío son los que afectan de manera positiva en las variables de altura de plántula, diámetro del tallo, longitud de hojas funcionales y número de hojas funcionales a los 30 días, largo de raíz, peso de raíz, volumen de raíz y materia seca, resultando como mejor tratamiento en todos los casos el T9, esto podría estar asociado a que el factor de frío influyó en el desarrollo del embrión y que es estar sometido a periodos largos de frío ralentiza su metabolismo y proceso de emergencia de las semillas.

Palabras clave: *trichoderma harzianum rifai*, *Clitoria ternatea*, Emergencia

ABSTRACT

The present research project was developed in La Maná, in the sector of La Playita, here it was sought to analyze the effect of soaking time in solutions of *Trichoderma harzianum rifai* in the emergence of *Clitoria ternatea* seeds subjected to different periods of cold; to establish the best soaking time in solutions of *Trichoderma harzianum rifai* for *Clitoria ternatea* seeds; to determine the best soaking time in solutions of *Trichoderma harzianum rifai* for *Clitoria ternatea* seeds. To determine the adequate soaking time in *Trichoderma harzianum rifai* solutions for *Clitoria ternatea* seeds and to evaluate some agronomic variables of *Clitoria ternatea* obtained from these treatments. For this, a factorial DCA with 24 treatments was used. The results in terms of emergence showed that both the cold factor and hours of soaking influenced this process and that the best treatment was T9 (0 days of cold and 3 hours of soaking in *trichoderma*) with a percentage of 43.33%. In the case of days to emergence, it was noted that the treatments subjected to a shorter period of cold or none (0 and 10 days) took 4 days to emerge, while those of 20 and 30 days did it in 6. For the mortality variable, on the other hand, it was observed that the seeds that suffered this event, did it by external factors and not by the influence of any of the factors under study. For the rest of the morphological variables, it was shown that the interaction between the factors had a positive influence but that, when analyzed independently, the days of cold had a positive effect on the variables of seedling height, stem diameter, length of functional leaves and number of functional leaves at 30 days, root length, root weight, root volume, and dry matter, resulting in T9 as the best treatment in all cases. This could be associated with the fact that the cold factor influenced embryo development and that being subjected to long periods of cold slows down its metabolism and the seed emergence process.

Palabras clave: *trichoderma harzianum rifai*, *Clitoria ternatea*, *Emergence*

ÍNDICE

Contenido	
DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN.....	iv
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
ÍNDICE.....	x
ÍNDICE DE TABLAS	xiv
ÍNDICE DE FIGURAS	xvi
1. INFORMACIÓN GENERAL	1
2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO	2
3. JUSTIFICACIÓN.....	3
4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO	4
5. PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN.....	5
6. OBJETIVOS	6
6.1. Objetivo general	6
6.2. Objetivos específicos	6
7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS:.....	7
8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA.....	8
8.1. Conchita azul (<i>Clitoria ternatea</i>).....	8
8.1.1 Origen	8
8.1.2. Características	9
8.1.3. Variedades y Cultivares	9
8.1.4. Adaptación Climática.....	10
8.1.5. Usos	10
8.1.6. Semillas	10
8.1.7. Germinación	11
8.1.8. Características y dureza de las semillas	12
8.1.9. Latencia y dormancia de semillas	12
8.1.10. Almacenamiento de semillas en frío	13
8.1.11. Tratamiento de semillas	15

8.2. Bioestimulantes	16
8.3. Reguladores de crecimiento.....	16
8.4. Hongos.....	16
8.4.1. <i>Beauveria bassiana</i>	17
8.4.2. <i>Trichoderma</i>	17
8.4.3. <i>Trichoderma harzianum</i>	18
8.4.4. Hongos micorrízicos arbusculares (HMA).....	20
8.5. Rizosfera.....	20
8.6. Investigaciones similares	20
9. HIPÓTESIS	22
10. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	23
10.1. Ubicación y duración del ensayo	23
10.2. Tipo de investigación	23
10.2.1. Experimental	23
10.2.2 Documental.....	23
10.2.3 Analítica y descriptiva.....	23
10.3 Condiciones agro meteorológicas	24
10.4 Materiales y equipos	24
10.5 Factores en estudio.....	25
10.6 Tratamientos	25
10.7 Diseño experimental	26
10.8 Esquema del experimento	27
10.9 Análisis de varianza	28
10.10 Análisis estadístico	28
10.11 Variables de estudio.....	28
10.11.1 Porcentaje de emergencia	28
10.11.2 Número de días a la emergencia.....	28
10.11.3 Mortalidad de semillas.....	29
10.11.4 Altura de plántula	29
10.11.5 Diámetro del tallo de la plántula.....	29
10.11.6 Longitud de hojas funcionales a los 30 días.....	29
10.11.7 Número de hojas funcionales a los 30 días	29
10.11.8 Largo de raíz.....	29

10.11.9	Peso de raíz.....	29
10.11.10	Volumen de raíz.....	30
10.11.11	Materia Seca.....	30
10.12	Manejo del ensayo	30
10.12.1	Almacenamiento de semillas de clitoria en cuarto frío	30
10.12.2	Remojo de las semillas en Trichoderma.....	30
10.12.3	Siembra de las semillas en bandejas	30
11	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
11.1	Porcentaje de emergencia	31
11.1.1	Medias del porcentaje de emergencia.....	31
11.1.2	Interacciones del porcentaje de emergencia.....	32
11.2	Número de días a la emergencia	32
11.2.1	Interacciones del número de días a la emergencia	33
11.3	Mortalidad de semillas	33
11.3.1	Interacciones de la mortalidad de semillas.....	34
11.4	Altura de plántula.....	34
11.4.1	Medias de altura de plántula.....	35
11.4.2	Efectos simples de la altura de plántula.....	36
11.4.3	Interacciones de la altura de la plántula.....	36
11.5	Diámetro del tallo de la plántula	37
11.5.1	Medias del diámetro del tallo.....	38
11.5.3	Interacciones del diámetro del tallo	39
11.6	Longitud de hojas funcionales a los 30 días	39
11.6.1	Medias de la longitud de hojas funcionales	40
11.6.2	Efectos simples de la longitud de hojas funcionales.....	41
11.6.3	Interacciones de la longitud de hojas funcionales	41
11.7	Número de hojas funcionales a los 30 días	42
11.7.1	Medias del número de hojas funcionales.....	42
11.7.2	Efectos simples del número de hojas funcionales	43
11.7.3	Interacciones de número de hojas funcionales	43
11.8	Largo de raíz.....	44
11.8.1	Medias del largo de raíz.....	45
11.8.2	Efectos simples del largo de raíz	46

11.8.3. Interacciones del largo de raíz	46
11.9. Peso de raíz.....	47
11.9.1. Medias del peso de raíz.....	47
11.9.2. Efectos simples del peso de raíz	48
11.9.3. Interacciones del peso de raíz	48
11.10. Volumen de raíz.....	49
11.10.1. Medias del volumen de raíz	49
11.10.2. Efectos simples del volumen de raíz	50
11.10.3. Interacciones del volumen de raíz	50
11.11. Materia Seca	51
11.11.1. Medias de materia seca.....	51
11.11.2. Efectos simples de materia seca	52
11.11.3. Interacciones de materia seca	52
12. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES Y ECONÓMICOS)	54
13. PRESUPUESTO.....	55
14. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	56
14.1. Conclusiones.....	56
14.2. Recomendaciones	57
15. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Actividades y sistema de tareas en relación a los objetivos planteados	7
Tabla 2.	Taxonomía de la <i>Clitoria ternatea</i>	8
Tabla 3.	Taxonomía de la <i>beauveria bassiana</i>	17
Tabla 4.	Taxonomía de la <i>trichoderma harzianum</i>	19
Tabla 5:	Condiciones agrometereológicas del sector La Playita.....	24
Tabla 6:	Materiales empleados en la investigación con sus características.	24
Tabla 7:	Materiales y equipos para la investigación	25
Tabla 8:	Tratamientos empleados y descripción	26
Tabla 9:	Esquema del experimento	27
Tabla 10:	Esquema de análisis de varianza para DCA factorial A x B.....	28
Tabla 11:	Medias del porcentaje de emergencia de la interacción del efecto bioestimulante de <i>Trichoderma harzianum</i> rifai en semillas de <i>clitoria ternatea</i> sometidos a diferentes periodos de frio y remojo.	31
Tabla 12:	Medias de altura de plántula del efecto bioestimulante de <i>Trichoderma harzianum</i> rifai en semillas de <i>clitoria ternatea</i> sometidos a diferentes periodos de frio y remojo.	35
Tabla 13:	Efectos simples de la altura de plántula	36
Tabla 14:	Medias del diámetro del tallo de la plántula del efecto bioestimulante de <i>Trichoderma harzianum</i> rifai en semillas de <i>clitoria ternatea</i> sometidos a diferentes periodos de frio y remojo.	38
Tabla 15:	Medias de longitud de hojas funcionales del efecto bioestimulante de <i>Trichoderma harzianum</i> rifai en semillas de <i>clitoria ternatea</i> sometidos a diferentes periodos de frio y remojo.	40
Tabla 16:	Efectos simples de la Longitud de hojas funcionales.....	41
Tabla 17:	Medias del número de hojas funcionales del efecto bioestimulante de <i>Trichoderma harzianum</i> rifai en semillas de <i>clitoria ternatea</i> sometidos a diferentes periodos de frio y remojo.	42
Tabla 18:	Efectos simples del número de hojas funcionales	43
Tabla 19:	Medias del largo de raíz del efecto bioestimulante de <i>Trichoderma harzianum</i> rifai en semillas de <i>clitoria ternatea</i> sometidos a diferentes periodos de frio y remojo.	45
Tabla 20:	Efecto simpe del largo de raíz	46
Tabla 21:	Medias del peso de raíz del efecto bioestimulante de <i>Trichoderma harzianum</i> rifai en semillas de <i>clitoria ternatea</i> sometidos a diferentes periodos de frio y remojo.	47

Tabla 22: Efectos simples del peso de raíz.....	48
Tabla 23: Medias del volumen de raíz del efecto bioestimulante de <i>Trichoderma harzianum</i> rifai en semillas de <i>clitoria ternatea</i> sometidos a diferentes periodos de frio y remojo.	49
Tabla 24: Efectos simples del volumen de raíz.....	50
Tabla 25: Medias de la materia seca del efecto bioestimulante de <i>Trichoderma harzianum</i> rifai en semillas de <i>clitoria ternatea</i> sometidos a diferentes periodos de frio y remojo.	51
Tabla 26: Efectos simples de materia seca.....	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Interacción del porcentaje de emergencia del efecto bioestimulante trichoderma harzianum rifai en semillas de clitoria ternatea sometidas a diferentes periodos de frio y remojo.	32
Figura 2. Interacción de número de días a la germinación del efecto bioestimulante trichoderma harzianum rifai en semillas de clitoria ternatea sometidas a diferentes periodos de frio y remojo.	33
Figura 3. Interacción de la mortalidad de las semillas del efecto bioestimulante trichoderma harzianum rifai en semillas de clitoria ternatea sometidas a diferentes periodos de frio y remojo.	34
Figura 4. Interacción de altura de plántula del efecto bioestimulante trichoderma harzianum rifai en semillas de clitoria ternatea sometidas a diferentes periodos de frio y remojo.....	36
Figura 5. Interacción del diámetro del tallo del efecto bioestimulante trichoderma harzianum rifai en semillas de clitoria ternatea sometidas a diferentes periodos de frio y remojo.....	39
Figura 6. Interacción de la longitud de hojas funcionales del efecto bioestimulante trichoderma harzianum rifai en semillas de clitoria ternatea sometidas a diferentes periodos de frio y remojo.	41
Figura 7. Interacción del número de hojas funcionales del efecto bioestimulante trichoderma harzianum rifai en semillas de clitoria ternatea sometidas a diferentes periodos de frio y remojo.	43
Figura 8. Interacción del largo de raíz del efecto bioestimulante trichoderma harzianum rifai en semillas de clitoria ternatea sometidas a diferentes periodos de frio y remojo.	46
Figura 9. Interacción del peso de raíz del efecto bioestimulante trichoderma harzianum rifai en semillas de clitoria ternatea sometidas a diferentes periodos de frio y remojo.	48
Figura 10. Interacción del volumen de raíz del efecto bioestimulante trichoderma harzianum rifai en semillas de clitoria ternatea sometidas a diferentes periodos de frio y remojo.....	50
Figura 11. Interacción de la materia seca del efecto bioestimulante trichoderma harzianum rifai en semillas de clitoria ternatea sometidas a diferentes periodos de frio y remojo.	52

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Currículum del tutor	66
Anexo 2. Currículum de estudiantes	67
Anexo 3. Contrato de cesión no exclusiva de derechos de autor	69
Anexo 4. Certificado de Urkund	72
Anexo 5. Aval de traducción del idioma inglés	73
Anexo 6. Evidencias Fotográficas	74
Anexo 7. Croquis del diseño experimental	77

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título del proyecto:

Efecto bioestimulante de *Trichoderma harzianum rifai* en semillas de *Clitoria ternatea* sometidos a diferentes periodos de frío y remojo.

Fecha de inicio:

Mayo del 2022

Fecha de finalización:

Agosto del 2022

Lugar de ejecución:

Cantón La Maná

Facultad que auspicia:

Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Carrera que auspicia:

Ingeniería Agronómica

Proyecto de Investigación:

Sector Agrícola

Equipo de Trabajo:

Pastuña Toaquiza Diana Vanessa

Terán Molina Silvia Alexandra

Ing. Pincay Ronquillo Wellington Tutor del proyecto

Área de Conocimiento:

Agricultura, silvicultura y pesca

Línea de Investigación:

Tecnologías agrícolas

Sublínea de Investigación:

Tecnología para la agricultura

2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

Los bioestimulantes tienen la capacidad de producir sustancias fisiológicamente activas como auxinas, giberelinas, citoquininas, aminoácidos, péptidos y vitaminas, por contener células vivas o latentes de cepas microbianas. Mismas que al interactuar con la planta promueven diferentes eventos metabólicos en función de estimular su crecimiento y el desarrollo. Así, uno de los controladores biológicos y antagonista para control de enfermedades de plantas y, del cual también se ha reportado su eficacia como bioestimulante es *Trichoderma*; gracias a su capacidad para promover el crecimiento y el vigor en las plantas por la habilidad que poseen para hacer que las raíces sean más robustas, logrando mayor profundidad, por lo que son más resistentes a las sequías y pueden absorber más nutrientes (Castellanos & Santana, 2018).

Por otra parte, *Clitoria ternatea*, es una de las forrajeras de mayor importancia en el país debido a su capacidad para fijar nitrógeno e incorporarlo al suelo y por su valor nutritivo (Bautista, 2015). Sin embargo, esta y otras especies forrajeras de importancia económica tanto de regiones tropicales y templadas que han presentado problemas en su emergencia en mayor o menor proporción, asociándose a la presencia de latencia en sus semillas, siendo mayor en semillas recién colectadas, ésta puede encontrarse prácticamente en todos los grupos o clases de plantas forrajeras y *Clitoria ternatea* no es la excepción. Por lo tanto, es necesario buscar métodos que aseguren la germinación de estas semillas aun después de ser almacenadas por tiempos prolongados sin perjudicar su viabilidad (Reino et al. 2011). La pérdida de viabilidad es un fenómeno que está regido en gran parte por la tasa de respiración, entonces el aplicar medidas que reduzcan la tasa de respiración, sin producir por otra parte daños a la semilla, conseguirán prolongar la vida de la semilla almacenada. Esas medidas son el control de oxígeno, el control del contenido de humedad y sobre todo el control de la temperatura, lo cual disminuye tanto el nivel de la respiración anaeróbica como aeróbica, prolongando así la vida de las semillas y controlando su latencia, lo cual evitaría una emergencia irregular de las plantas y una reducción en los niveles de rendimiento en campo, entonces, la conservación de estas semillas por tiempos prolongados en frío, debido al efecto de la temperatura sobre la germinación, se relaciona con las enzimas que regulan la velocidad de las reacciones bioquímicas que ocurren en la semilla tras su rehidratación y permiten alargar su vida (Caroca et al. 2016)

Por lo antes expuesto el presente proyecto planteó analizar el efecto de un bioestimulante a base de *Trichoderma harzianum rifai* en semillas de *Clitoria ternatea* sometidas a diferentes periodos de frío y remojo, el cual se llevó a cabo en el Cantón La Maná, cuyo clima es subtropical, para el estudio de campo se planteó un diseño experimental completamente al azar factorial, como factor A periodos fríos a 4°C durante 10, 20 y 30 días de refrigeración y como factor B tiempos de remojo de la semilla en soluciones de *Trichoderma* líquida a una concentración de 2×10^{12} ufc a 3, 6, 12 y 24 horas, con 24 tratamientos, donde estudiaron las variables: días a la emergencia, porcentaje de emergencia, porcentaje de mortalidad, longitud, peso de raíz, volumen de raíz, altura de plántula, diámetro del tallo, número de hojas funcionales y materia seca.

3. JUSTIFICACIÓN

Clitoria ternatea, son forrajeras empleadas por los ganaderos de la región tropical, puesto que posee una serie de beneficios en los animales tales como: mayor ganancia de peso y producción de leche de los bovinos, mejora la calidad nutricional del forraje, además de aumenta la fertilidad del suelo al aportar nitrógeno atmosférico (Castro *et al.* 2018), por pertenecer a la familia Fabaceae, mediante su asociación con diversas cepas de *Rhizobium spp.*, éstas habitan en los nódulos de las raíces en forma de bacteroides y permiten la Fijación Biológica de Nitrógeno (FBN), transformando el nitrógeno en un compuesto asimilable por las plantas (Diaz *et al.* 2017). Entonces es indispensable tener a la *Clitoria ternatea* siempre disponibles para su siembra y aún más necesario el conocer la manera correcta de almacenarlas sabiendo que factores como la temperatura, humedad y la cantidad de oxígeno, influyen en el tiempo de viabilidad de las semillas, así también verificar que estas son semillas no dormantes, si el embrión se desarrolla completamente antes de los 28 días o por el contrario presentan dormancia (Pérez *et al.* 2014). Además, es importante obtener una germinación uniforme que asegure un buen establecimiento de las misma, para que esto se realice, se necesita que la semilla sea viable y sobre todo se mantenga esta viabilidad, es decir, que el período de tiempo durante el cual las semillas conservan su capacidad para germinar sea lo más extenso posible. Esto depende del tipo de semilla y de las condiciones de almacenamiento. Uno de los métodos empleados es la aplicación de frío, mismo que ralentiza su metabolismo y mantiene la constitución normal de las semillas permitiendo que las sustancias acumuladas en el endospermo o en los cotiledones se mantengan como alimento para el embrión durante su emergencia (Caviedes, 2019). Es decir, mantiene intactas todas las propiedades fisiológicas y

nutritivas de la semilla, para cuando se desee obtener las plántulas, generando una dormición fisiológica por actuar en el funcionamiento del metabolismo (Galíndez et al., 2016).

Por otra parte un bioestimulante es cualquier sustancia o microorganismos que, al aplicarse a las plantas, son capaces de mejorar su eficacia, en absorción y asimilación de nutrientes, tolerancia a estrés biótico, abiótico o mejorar alguna de sus características agronómicas, independientemente en el contenido de nutrientes (Valverde *et al.* 2020). Uno de los más utilizados son las cepas de *Trichoderma* como agentes de control biológico, debido a su alta capacidad reproductiva, habilidad para sobrevivir bajo condiciones ambientales desfavorables, eficiencia en la utilización de nutrientes, capacidad para modificar la rizósfera, fuerte agresividad contra hongos fitopatógenos y eficiencia en promoción del crecimiento en plantas e inducción de mecanismos de defensa. Las diferentes especies se caracterizan por tener un crecimiento micelial rápido y una abundante producción de esporas, que ayuda a la colonización de diversos sustratos y del suelo (Zin & Badaluddin, 2020).

En este contexto, el presente proyecto plantea el estudio del efecto de un bioestimulante de *Trichoderma harzianum rifai* en semillas de *Clitoria ternatea* sometidos a diferentes periodos de frío y remojo, como una alternativa a la obtención de plántulas de esta leguminosa.

4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

4.1. Beneficiarios directos

Al final de la investigación los beneficiarios directos serán aproximadamente 12 productores de la zona que se dedican a la ganadería, lo cual aprenderán la reproducción de plántulas, y siembra de la forrajera, conociendo cual es el tiempo más adecuado de remojo de la semilla en *Trichoderma* y que asegure los mejores criterios agronómicos de desarrollo, favoreciéndose en la obtención de plántulas vigorosas desde la etapa inicial.

4.2. Beneficiarios indirectos

Los beneficiarios indirectos son los estudiantes de la Universidad Técnica de Cotopaxi ya que por este medio obtendrán conocimiento además de ganar experiencia laboral sobre el uso de bioestimulantes y su influencia en el desarrollo del mismo.

5. PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

A nivel mundial, son muchas las investigaciones realizadas sobre el uso de bioestimulantes y particularmente de *Trichoderma*, como estimulante en la producción de plántulas, durante la etapa de vivero, por ejemplo, en Colombia es empleada para la propagación de especies maderables como *Cederela odorata*, *Albizia saman* y en una leguminosa de interés para pastoreo, *Leucaena leucocephala* (Castellanos et al. 2017), debido a sus efectos positivos en lo que ha crecimiento se refiere. Por otra parte, el frío como factor de almacenamiento de semillas es ampliamente usado en todo el mundo para alargar la vida de la gran mayoría de especies, reduciendo las pérdidas pos cosecha por aparición de plagas y enfermedades (Maqueira et al., 2021).

Sin embargo, la falta de investigaciones en Ecuador sobre la conservación de semillas a bajas temperaturas en combinación con el uso de productos bioestimulantes como la *Trichoderma*, en la etapa de semillero, no ha permitido determinar su eficacia ni difusión entre los propagadores de plántulas de *Clitoria ternatea*, pese a que este microorganismo es conocido como tratamiento pregerminativo que mejora las tasas de germinación de las semillas de especies forestales (Castillo et al. 2022). Así, se reportan algunos estudios en plántulas de café (*Coffea arabica* L), otras especies de árboles, papa (*Solanum tuberosum*), en el sector florícola y fréjol (*Phaseolus vulgaris*), pero ninguna en esta forrajera, existiendo entonces la necesidad de esta investigación para la obtención de resultados que permitan sustituir el uso de sustancias estimulantes de origen sistémico empleados para la germinación y emergencia de plantas que, por otra parte, acrecenta el uso indiscriminado de agroquímicos. Además, a pesar que no se conoce con exactitud el porcentaje de pérdida de semillas por un mal almacenamiento, se estima que bordea del cinco al veinticinco por ciento, representando un gran desafío la conservación de granos y semillas y resultando indispensable solucionar el problema por medio de alternativas que mantengan y prolonguen su viabilidad (Araméndiz et al. 2017).

Así, a nivel del cantón la Maná, se reflejan algunos estudios por parte de la Universidad Técnica de Cotopaxi en el uso de bioestimulantes y de *Clitoria ternatea*, sin embargo, a nivel de productor se mantiene latente el desconocimiento de esto, pese a todo el trabajo de difusión desplegado. Esta situación refleja claramente el desconocimiento sobre el empleo de productos amigables con el ambiente, prácticas de conservación de suelo o uso de alternativas biológicas y productos naturales para la etapa de semillero o vivero e incluso para el control de plagas y enfermedades (Domínguez et al. 2016).

Por los antecedentes expuestos, el presente proyecto planteó estudiar el efecto de un bioestimulante a base de *Trichoderma harzianum rifai* en semillas de *Clitoria ternatea* sometidos a diferentes periodos de frío y remojo. Cuyos resultados servirán para definir una alternativa que permita la obtención de plántulas sanas y vigorosas desde la etapa inicial y, que con base a los resultados obtenidos podrán ser recomendadas a los productores de la zona. Así también permitirá establecer un método de conservación de semillas, reflejando un posible periodo en el que el embrión se mantenga activo sin afectar su emergencia y germinación.

la mayor parte de investigaciones están orientados al control de enfermedades, esto porque el género *Trichoderma* contiene a las especies antagonistas más relevantes para el biocontrol de hongos fitopatógenos, utilizado principalmente por productores orgánicos y de buenas prácticas agrícolas para el manejo de enfermedades y potenciador de compost. El éxito y uso en la práctica agrícola, se debe a sus mecanismos de acción como la competencia por espacio, micoparasitismo, antibiosis y la producción de compuestos volátiles (Miguel et al., 2021).

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo general

- Analizar el efecto bioestimulante de *Trichoderma harzianum rifai* en semillas de *Clitoria ternatea* sometidos a diferentes periodos de frío y remojo.

6.2. Objetivos específicos

- Establecer el mejor tiempo de remojo en soluciones de *Trichoderma harzianum rifai* para las semillas de *Clitoria ternatea*.
- Determinar el mejor periodo de frío para las semillas de *Clitoria ternatea* remojadas de *Trichoderma harzianum rifai*.
- Evaluar algunas variables agronómicas de *Clitoria ternatea* obtenida a partir del tratamiento de semillas con *Trichoderma harzianum rifai*.

7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS:

Tabla 1 Actividades y sistema de tareas en relación a los objetivos planteados

Objetivos	Actividades	Resultados	Método de verificación
Establecer el mejor tiempo de remojo en soluciones de <i>Trichoderma harzianum rifai</i> para las semillas de <i>Clitoria ternatea</i> .	Evaluación por medio de la observación	El Tiempo de remojo que mejor influyó en la emergencia y germinación de semillas de <i>Clitoria ternatea</i>	Datos de emergencia Fotos
Determinar el mejor periodo de frío para las semillas de <i>Clitoria ternatea</i> remojadas de <i>Trichoderma harzianum rifai</i> .	Evaluación por medio de la observación y el registro de datos de germinación.	El mejor periodo de frío de la semilla de <i>Clitoria ternatea</i> en <i>Trichoderma harzianum</i> .	Datos de emergencia Fotos
Evaluar algunas variables agronómicas de <i>Clitoria ternatea</i> obtenida a partir del tratamiento de semillas con <i>Trichoderma harzianum rifai</i>	Evaluación de variables morfológicas en plántulas.	Datos de: altura de plántula largo de raíz peso de raíz Diámetro del tallo de la plántula Volumen de raíz Longitud de hojas funcionales a los 30 días Número de hojas funcionales a los 30 días Materia seca	Datos de las variables Fotos

Elaborado por: (Pastuña y Terán, 2022).

8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

8.1. Conchita azul (*Clitoria ternatea*)

Las fabáceas en asociación con otros cultivos de importancia económica y comercial, con el fin de mejorar sosteniblemente los sistemas de producción agrícolas, son ampliamente utilizadas en América Latina y el Caribe. Siendo introducidas en potreros para mitigar problemas en la alimentación vacuna, también disminuyen daños ambientales que causa el sector ganadero. En este sentido, *Clitoria ternatea* L. es una de las leguminosas más destacada en los trópicos y subtropicos del Ecuador, por lo que es multipropósito, posee propiedades beneficiosas para la salud, excelente calidad proteica para la alimentación de animales mono y poligástricos, también es recuperadora de suelos degradados, tiene mecanismos retentivos de gases de efecto invernadero, lo que explica su importancia medicinal, agropecuaria y ecológica (Pincay et al. 2021).

8.1.1 Origen

Bautista (2015), *Clitoria ternatea* es una leguminosa originaria de Asia, pero en la actualidad se encuentra cultivada en casi todo el mundo, resaltando países como México, Colombia, Chile, Ecuador y Perú entre otros.

Tabla 2. Taxonomía de la Clitoria ternatea

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Rosidae
Orden:	Fabales
Familia:	Fabaceae
Subfamilia:	Faboideae
Género:	Clitoria
Especie:	<i>ternatea</i> .

Fuente: (Lima et al., 2007)

Elaborado por: (Pastuña y Terán, 2022).

8.1.2. Características

La Clitoria o Zapatillo de la Reina, es una leguminosa es una leguminosa bianual o perenne de vida corta, forrajera que está ampliamente distribuida en las regiones tropicales y subtropicales donde se encuentran naturalmente en matorrales o en pastizales cultivada, semi arbustiva y trepadora alcanza una altura de 60 a 70 cm. Con tallos finos de 0.5 a 3 m de largo, hojas pineadas de cinco a siete folíolos oblongo- lanceoladas de 1.5 a 7.0 cm de largo y de 3.0 a 4.0 cm de ancho, ligeramente pubescentes, presenta características de crecimiento semi-arbustivo y semierecto hasta los 80 a 12 cm de altura y posteriormente se comporta como planta de crecimiento enredador. Posee raíces profundas que le permiten tolerar las sequias; sus hojas son pinnadas, elípticas de 3 a 5 cm. de largo, las flores son de color azul o blancas y se presentan simples o apareadas, las vainas son lineares, plantas y ligeramente pubescentes de 8 a 12 cm. de largo y de 0.7 a 1.2 cm. de ancho con 6 a 10 semillas (Ludeña, 2011).

Flores simples o pareadas, con pedicelos gemelos ubicados a 180° y con formas de embudo invertido, blancas o azuladas de 2.5 a 5.0 cm de longitud. Las vainas son alargadas y planas, de 6 a 12 cm de largo y de 0.7 a 1.2 cm de ancho, con más de 10 semillas (negras, verde olivo, café o moteadas) de 4.7 a 7.0 mm de largo y 3 mm de ancho. Sus raíces son fuertes y profundas (Ludeña, 2011).

Enredadera de hojas imparipinnadas con los folíolos 2-3 yugados, ovales: pedúnculos unifloros; lóbulos del cáliz lanceolados, acuminados; flores azules, con 10 estambres soldados en 2 cuerpos; hay también una forma con flores dobles; legumbre aplanada subsésil, valvas no acostilladas; semillas comprimidas (Ludeña, 2011).

8.1.3. Variedades y Cultivares

Se ha descrito la var. *angustifolia* (Hochst.) Bak. f., de folíolos oblongos u oblongo-lanceolados a estrechamente elípticos, redondeados en los extremos, emarginados y apiculados en el ápice, de 2-6 cm de largo y 0.4-2 cm de ancho; las flores son blancas con tintes azulosos de 2-4 cm de largo; bractéolas más pequeñas, de 5-9 mm de largo y 7-8 mm de ancho. Entre los cultivares reportados por la literatura se encuentran el CPI 13844, de Sri Lanka, el cual presenta fuerte ramificación basal, poco usual en otras razas, el CPI 30196 del sur de la India, el ‘Indio Hatuey’ y ‘Oriente’ de Cuba, y el ‘Negra’, ‘Jaspeada’, y ‘Conchita clara’ de México. Este último muy productivo y tolerante a la sequía (Abreu *et al.* 2014).

8.1.4. Adaptación Climática

Se adapta muy bien a los climas cálidos húmedos o subhúmedos de los trópicos y subtrópicos, desde el nivel del mar hasta los 1800 m, y en zonas con más de 800 mm de precipitación promedio anual, destacando su desarrollo en zonas con cerca de 1500 mm. También se reporta buen crecimiento en zonas de regadío con cerca de 400 mm de precipitación. No prospera en sitios muy húmedos y tolera sequías de corta duración (Abreu *et al.* 2014).

8.1.5. Usos

Esta planta puede utilizarse como forraje para ganado, debido a que su producción de materia seca en condiciones de temporal fluctúa entre las 9 y 12 ton/ha por año. En sistemas agroforestales, se pueden utilizar como cobertura, para control de malezas, donde el manejo puede ser para producción de semilla, para venta a ganado o usarla allí mismo como pastura, banco de proteína, barbecho mejorado, cobertura, abono verde, pastoreo, corte y acarreo, ensilaje, ornamental, medicinal (Bautista, 2015).

Bautista (2015), menciona que en la industria Fito farmacéutica tiene gran cantidad de aplicaciones como: Nootrópicos, ansiolítico, adaptógeno, atihistaminico, anticancer, colorante, antioxidante, antihiperlipidémico, antidiabético, antimicrobial, fungicida, insecticida, cosmético capilar. En la medicina tradicional India, Ayurveda la conoce desde hace más de 5.000 años. En el hinduismo es considerada la reencarnación de la madre Durga.

Este mismo autor manifiesta que en la alimentación se usa como colorante ya que cuenta con presencia de flavonoides, de las flores y del cual se extrae el color azul, la delfinina. Reemplazando el color artificial azul N° 1 y N° 2 los cuales son nocivos para la salud. Como cosmético, la flor se usa como anti caída del cabello. Contiene potentes antioxidantes como: Quercetina, B- sitosterol y taraxerol, los cuales mejoran la funcionalidad del folículo piloso y evita la caída del cabello. Se realiza una infusión de las flores de la Clitoria y se aplica sobre el cabello.

8.1.6. Semillas

Las semillas de *Clitoria ternatea* son de color negro de 4.5 a 6 mm de longitud y 3.4 mm de ancho. Se siembra en surcos distanciados desde 30 hasta 150 cm, sola o en mezcla con gramíneas de porte alto o medio. La cantidad de semilla que se debe emplear varía con el

método y la distancia de siembra; para la siembra en líneas separadas 90-150 cm se recomienda emplear 6.7-11.2 kg/ha, y para líneas separadas 30-60 cm, 5-7 kg/ha. Con semilla certificada se pueden emplear de 1 a 3 kg/ha para la siembra. También se puede sembrar en potreros ya establecidos pastoreando muy bajo o escarificando y preparando el suelo en cuadros de 0.5 a 1 m. En cualquier caso, se recomienda sembrar la semilla a una profundidad de 1.5 a 4 cm, y cubrirla ligeramente. La semilla germina adecuadamente a 25 °C, pero con frecuencia también se propaga a partir de estacas para la producción de semillas (Abreu *et al.* 2014).

Una de las formas más efectivas de preservar el germoplasma de especies vegetales silvestres y de promover la repoblación del medio natural del que proceden es mediante el almacenamiento de semillas en condiciones controladas, que permitan prolongar la duración de su viabilidad. Entre las metodologías que permiten una duración por un período de 24 meses, consiste en secarlas hasta un contenido de humedad entre 10 y 11% y almacenándolas a temperatura de 15° C. y así, Mantener la viabilidad de las semillas del *Clitoria ternatea* importante para la comercialización, el intercambio de material genético y los programas de conservación de germoplasma (Vazquez & Toledo, 2017).

8.1.7. Germinación

La madurez, la viabilidad (periodo durante el cual las semillas conservan su capacidad germinativa) y la latencia (incapacidad de germinar bajo condiciones ambientales y recursos óptimos) son factores intrínsecos de los que depende la germinación de las semillas así como de factores extrínsecos como la temperatura, el sustrato, la intensidad lumínica y la humedad (Castillo *et al.* 2022)

Según Villanueva *et al.* (2004), en semilla de clitoria, de reciente cosecha presenta problemas para germinar, pero almacenada por seis meses mejora la tasa de germinación en 20 %, la cual se incrementa hasta 80% mediante la escarificación con arenas y tratamientos con agua caliente, ácido sulfúrico e hidróxido de potasio. Ya que el principal problema que enfrenta los productores de *Clitoria ternatea* es que la característica morfofotónica de la semilla, particularmente su cubierta seminal impermeable, impide el aumento hídrico interno y de oxígeno, lo que ocasiona un bajo potencial germinativo y repercute en la obtención de plántulas poco homogéneas, ya sea en siembra directa o en su propagación sobre bandejas germinadoras (Pincay *et al.* 2021), muchos de los estudios entonces, han estado enfocados a probar diferentes

métodos para acelerar la germinación con el propósito de elegir y proponer el método más apropiado para facilitar procesos de restauración (Rios *et al.* 2020).

8.1.8. Características y dureza de las semillas

La semilla es la primera fase del desarrollo de una nueva planta. Es un embrión de planta perfectamente protegido por una serie de envueltas exteriores y acompañado por un almacén de alimento. Las partes esenciales de una semilla son, por lo tanto, estas tres: el propio embrión, las envueltas seminales y un tejido de almacén de alimento. El embrión es una planta en miniatura formada por un corto eje embrionario unido a una o dos «hojas» llamadas cotiledones. Las envueltas seminales: son capas que rodean completamente a la semilla, la protegen de posibles agresiones del medio ambiente y regulan los intercambios que se producen entre el interior y el exterior de la semilla, por ejemplo, absorción de agua y expulsión de material de desecho. Las hay de diversos tipos: permeables, impermeables, duras, blandas, mucilaginosas, etc. (De la cuadra, 2011).

Estas cubiertas necesitan condiciones tanto externas como internas para poder germinar siendo éstas la imbibición, que sea permeable al agua y al oxígeno y una adecuada temperatura caso contrario sufrirán por termo inhibición, apareciendo así diferentes tipos de dormición como la dormición por impermeabilidad, embrional y fisiológica (Arana, 2011), así en el apartado que se muestra en a continuación se especifica a que se refiere con dormancia y latencia.

8.1.9. Latencia y dormancia de semillas

El estado de dormición, latencia o letargo es definido como la incapacidad de una semilla intacta y viable, de germinar bajo condiciones de temperatura, humedad y concentración de gases que serían adecuadas para la germinación, además, se considera que la latencia es una adaptación que contribuye a la supervivencia del individuo, ya que restringe la germinación cuando los factores ambientales son desfavorables para el desarrollo de la plántula (Arana, 2011).

La latencia es un mecanismo en el cual las semillas pueden inhibir su germinación, siendo el embrión viable y con las condiciones ambientales favorables. La latencia primaria en algunas ocasiones es causada por el efecto del ácido abscísico durante el desarrollo de la semilla, las cuales no pueden germinar. Esta latencia está bajo la influencia de las hormonas de las plantas, y de las características morfológicas y estructurales de la semilla, tal como, el endospermo, pericarpio del fruto y propiedades de la cubierta seminal (Carranza *et al.* 2016).

La dormancia que concierne a las leguminosas y en este caso a las semillas de *Clitoria ternatea* es por impermeabilidad, ya que sus cubiertas seminales más externas son impermeables al agua, al oxígeno o ambas. Entonces estas no germinarán hasta que las cubiertas se ablanden por efecto del agua o de hongos o se rompan por alternancia de frío y calor (De la cuadra, 2011). Otro efecto que produce una germinación escasa es el tipo de semilla a la que pertenece, a diferencia de las especies ortodoxas, en las que la mejor manera de conservar la viabilidad consiste en mantener una tasa de respiración mínima, parece que las semillas de la mayoría de las recalcitrantes necesitan para sobrevivir una respiración activa. Así, se han notificado casos en los que las semillas recalcitrantes han resultado dañadas no sólo por un CH insuficiente y una temperatura demasiado baja, sino también por falta de oxígeno, como por ejemplo en Araucaria. (Willan, 1991)

8.1.10. Almacenamiento de semillas en frío

Entre los factores que influyen en la longevidad de la viabilidad de semillas, se citan el tiempo en almacenamiento y condiciones de almacenamiento. Las temperaturas bajas mantienen a las semillas vivas por años (Sánchez et al., 2011). Así, un método para mantener la latencia en las semillas y lograr un almacenamiento es someterlas a bajas temperaturas o deshidratarlas, aquí la semilla va a conservar su capacidad para germinar durante más tiempo, cuanto menos activo sea su metabolismo, considerando mantenerse dentro de unos límites, ya que por debajo del 2-5% de humedad se verá afectada el agua de constitución de la semilla, siendo esto perjudicial para la misma (InfoAgro, 2018).

Al igual que el contenido de humedad, la temperatura presenta una correlación negativa con la longevidad de la semilla; cuanto más baja es la temperatura, tanto menor es la tasa de respiración, y por ello tanto más prolongada la vida de la semilla almacenada. Harrington (1963, 1970) sugirió otra norma práctica para las semillas agrícolas: entre 50°C y 0°C, cada 5°C de descenso de la temperatura de almacenamiento supone duplicar la vida de la semilla. En el caso de las semillas ortodoxas, cuyo contenido de humedad puede reducirse hasta unos niveles bajos, se consigue una longevidad aún mayor mediante el almacenamiento a temperaturas inferiores a 0°C (Vazquez & Toledo, 2017).

Según la guía elaborada por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (2017), algunas semillas se mantienen bien a temperatura ambiente, como es el caso de muchos géneros de leguminosas y rosáceas, Eucalyptus, Tilia y muchos otros

frutos de semilla dura o hueso. Pero la mayoría de las especies sólo se mantienen bien durante períodos largos a temperaturas más bajas. En un almacenamiento de 3–5 años de la mayoría de las coníferas y de *Alnus* y *Betula*, parece que el factor decisivo es no superar la temperatura de +4°C. Por consiguiente, la temperatura debe estar entre 1 y 4°C. Cuando se trata de períodos de almacenamiento más largos, por ejemplo, de 5 a 15 años, la temperatura debe estar entre -4 y -10°C. En el caso de *Abies*, sin embargo, se utiliza una temperatura de -4°C cuando el período de almacenamiento es corto y entre -10° y -20°C cuando es más largo (Flechas & Medina, 2021).

El factor temperatura y el factor humedad están tan interrelacionados que es muy difícil separarlos. Las semillas que tienen un nivel de humedad relativamente alto pueden almacenarse durante períodos notablemente más largos a temperaturas próximas a la de congelación que a temperaturas más altas, aunque éstas (30°C) son menos perjudiciales cuando el contenido de humedad de la semilla es bajo. En resumen, cabe afirmar que el contenido de humedad crítico se encuentra a un nivel más elevado cuando las temperaturas de almacenamiento son bajas que cuando son intermedias o altas, es decir, hasta cierto punto una temperatura baja puede compensar un contenido de humedad alto, y viceversa. No obstante, es necesario evitar por completo los riesgos de daño por congelación debido a la formación de hielo en las semillas (Willan, 1991).

El poder contar con un método de conservación que logre asegurar y mantener la calidad de los granos es de gran importancia, pues garantiza satisfacer los abastecimientos de alimentos a la población y los animales por periodos prolongados, lo cual se ha visto amenazado por el incremento de la población humana que se observa en los últimos años (López *et al.* 2020).

Dentro de esta familia se destaca a la especie de *Clitoria ternatea*, ampliamente estudiada por su calidad nutritiva en la alimentación de los animales de pastoreo, y sobre todo por las mejoras que brinda al suelo (Suarez *et al.* 2012).

Sabiendo que, si bien las semillas de *Clitoria* no son ortodoxas, presentan al menos el 20% de semillas duras y su latencia física que dificulta la germinación, por lo que requieren ser tratadas para una mejor germinación. (Rios *et al.* 2020). Como la emergencia de semillas es un proceso en el cual se generan cambios morfológicos y fisiológicos que terminan en el crecimiento del embrión. Esta requiere de condiciones específicas de temperatura, niveles de oxígeno y luz, con las proporciones adecuadas para cada especie. Así, semilla absorbe agua, lo que resulta en

expansión y elongación del embrión y, cuando la radícula crece fuera de la testa el proceso de germinación ha terminado (Carranza *et al.* 2016).

8.1.11. Tratamiento de semillas

Con la finalidad de solucionar los inconvenientes generados por la cubierta seminal impermeable se han implementado diferentes tratamientos de semilla basados en la aplicación de ingredientes químicos, organismos biológicos y/o nutrientes directamente sobre las mismas y antes de la siembra, para promover su emergencia, crecimiento y desarrollo ante condiciones adversas.

Entre estos métodos se encuentran la escarificación química y biológica usando tratamientos pregerminativos de imbibición en ácido húmico, imbibición en agua a 80 °C por 5 minutos, imbibición en ácido sulfúrico al 90 % y 98%, uso de hipoclorito de sodio y ácido giberélico. Evaluando porcentaje de emergencia, altura de las plántulas (cm), longitud de la raíz (cm), peso de la raíz y biomasa forrajera (g/planta). Se realizó un análisis de tejido en las hojas a los 30 y 75 días después de la siembra para determinar la concentración de macronutrientes. Los datos se sometieron a un análisis de varianza y comparación de medias por Test de Tukey al nivel de significancia 0,05. Los resultados mostraron que cuando las semillas de *Clitoria ternatea* son embebidas con ácidos húmicos durante 24 h, mejora la emergencia de las semillas, también en etapas de crecimiento incrementan significativamente la altura de las plantas, longitud de la raíz, peso de la raíz y parte aérea. Además, la concentración de macronutrientes en los tejidos foliares (Pincay *et al.* 2021).

En cuanto a las soluciones con ácido sulfúrico al 90 % y 98% el porcentaje de germinación no fue mejor al testigo por un posible daño directo al embrión de la semilla. Mientras que para el resto de tratamientos promueven una germinación rápida y uniforme, eliminando la testa y permitiendo la adecuada imbibición de la semilla, lo que ocurre siempre y cuando no se presente una latencia fisiológica (Vásquez *et al.* 2019).

Esto permitiría que las semillas latentes, que se hallan en un estado fisiológico, en el cual, permanecen viables, pero no pueden germinar, incluso, en condiciones ambientales favorables, logren activar el metabolismo de la semilla y así lograr que la germinación se produzca sin problemas aun en ocasiones donde la sobrevivencia de las plántulas se vea amenazada (Balaguera *et al.* 2010).

8.2. Bioestimulantes

Los bioestimulantes son uno de los elementos más valiosos con que cuenta la agricultura ecológica, la cual se produce basándose en microorganismos que viven en el suelo, aunque en bajas poblaciones, y que al incrementarse mediante la inoculación artificial son capaces, entre otros beneficios, de poner a disposición de las plantas una parte importante de los elementos nutritivos que estas necesitan para su desarrollo sin afectar el equilibrio biológico del suelo (Pérez *et al.* 2013).

Estos productos están conformados por los microorganismos que son seres microscópicos, invisibles al ojo humano, sólo perceptibles a través de microscopios con aumento mínimo de ochocientas mil doscientas veces. Ellos existen en poblaciones extremadamente grandes. Son de reproducción muy rápida. En un periodo de treinta minutos a dos horas se forma nacer doce a cuarenta y ocho generaciones, lo que en términos humanos llevaría de trece a doce siglos (Bolaños *et al.* 2002). La velocidad de multiplicación depende de la especie, pero principalmente, de las condiciones del medio en que viven. Las condiciones óptimas se dan en una temperatura de 25 a 30°C, con riqueza en minerales, suficiente humedad y materia orgánica. Este grupo lo integran las bacterias, actinomicetos, hongos y levaduras (Ludeña, 2011).

8.3. Reguladores de crecimiento

Dentro de los bioestimulantes que favorecen la germinación se encuentran los que están conformados por los fitoreguladores de crecimiento como el ácido giberélico, ácido indolbutírico, zeatina. importantes para activar semillas latentes, aunque la hormona no controla la latencia de la semilla el balance giberélinas determina la habilidad de las semillas para germinar o las vías necesarias para la germinación. Las hormonas de las plantas incluyen etileno, auxinas, citoquininas, giberélinas y brasinoesteroides son sustancias químicas que controlan muchos procesos fisiológicos y bioquímicos en plantas (Carranza *et al.* 2016).

8.4. Hongos

Representan una importante fase del comportamiento de los microorganismos en el suelo pues son los que se manifiestan primero dentro de los procesos de transformación de materiales orgánicos. Forman redes y generan enzimas y metabolitos que ablandan materiales muy duros, como las celulosas y las ligninas presentes en materiales orgánicos de origen vegetal. A su vez, las raicillas y los micelios de los hongos ayudan a conservar los agregados, e igual ocurre con

los exudados gelatinosos segregados por las plantas y muchos otros organismos (Bolaños *et al.* 2002).

Algunos hongos entomopatógenos actúan como endófitos y son promotores del crecimiento. Estos beneficios pueden ser explicados por mejoras en procesos fisiológicos (Ortiz *et al.* 2020). A continuación, los hongos que actúan como controladores biológicos y promotores de crecimiento.

8.4.1. *Beauveria bassiana*

Es un hongo ascomiceto mitospórico que crece de forma natural en los suelos de todo el mundo, en la actualidad es muy utilizado como bioinsecticida en reemplazo a los productos de síntesis química. La mayoría de los productos a base de *B. bassiana* contienen conidios producidos por fermentación sólida, seguida por productos que contienen hifas combinadas con conidios, y los menos usados son productos que contienen blastosporas y conidios sumergidos, producidos por fermentación líquida (Malpartida *et al.*, 2013).

Tabla 3. Taxonomía de la *beauveria bassiana*

Reino:	Fungi
Sub-reino:	Dikarya
Filum:	Ascomycota
Clase:	Sordariomycetes
Orden:	Hypocreales
Familia:	Cordycipitaceae
Género:	Cordyceps
Especie:	<i>Beauveria bassiana</i>

Fuente: (Torrez *et al.* 2018).

Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

8.4.2. *Trichoderma*

Los hongos de mayor importancia asociados al suelo y a las plantas son *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* y *Trichoderma*. El *Aspergillus* y el *Penicillium* movilizan el fósforo y el nitrógeno del suelo. *Trichoderma* es antagonista de muchos fitopatógenos y ayuda a ablandar materiales orgánicos vegetales. Existen algunas levaduras que producen alcoholes que son utilizados por otros microorganismos como fuentes de energía.

Las especies del género *Trichoderma* representan un grupo de hongos filamentosos que pertenecen al Reino Mycetozoa, (Fungi), División Eumycota, Subdivisión Ascomycotina, Clase Euascomycetes, Orden Hypocreales, Familia Hypocraeaceae y Género *Trichoderma*. Estos hongos se caracterizan por predominar en los ecosistemas terrestres (suelos agrícolas, pastizales, bosques y desiertos) (Vukelić et al., 2021). Las cepas de *Trichoderma* más comercializadas para el control biológico son *Trichoderma viride*, *T. polysporum* y *T. harzianum*, la cual es la más utilizada y reportada en la literatura y tiene el potencial de sintetizar y liberar enzimas como polisacaridasas, celulasas, xilanasas y quitinasas, las cuales se han aprovechado en procesos; además pueden producir diversos metabolitos secundarios dentro de los que se encuentran algunas toxinas como la gliotoxina y hormonas de crecimiento como auxinas y giberelinas (Argumedo et al. 2009).

Existen además, evidencias de que este microorganismo tiene la capacidad de estimular la germinación y el crecimiento de las plántulas; reduciendo la resistencia mecánica de la testa en las semillas y facilita el rompimiento de la latencia (Castillo et al. 2022).

Por otra parte, Con base en esta capacidad enzimática, las especies de *Trichoderma* pueden potencialmente contribuir en la degradación de compuestos orgánicos contaminantes depositados en el suelo (Jiménez et al., 2017). De manera específica, la forma en que un microorganismo interactúa con un contaminante de naturaleza orgánica, es diferente a la de un contaminante de origen inorgánico. Los microorganismos pueden transformar los contaminantes orgánicos en compuestos que presenten menor o mayor toxicidad, con respecto al compuesto original. En contraste, algunos microorganismos pueden degradar completamente los contaminantes orgánicos, lo que implica su completa mineralización hasta compuestos inocuos como agua y dióxido de carbono (Argumedo et al. 2009).

8.4.3. *Trichoderma harzianum*

Este hongo es considerado como agente de biocontrol endófito natural, puede mejorar el desarrollo de las plantas, la absorción de nutrientes y la resistencia a los estreses bióticos y abióticos.

Tabla 4. Taxonomía de la *trichoderma harzianum*

Reino:	Fungi
Filum:	Ascomycota
Clase:	Sordariomycetes
Orden:	Hypocreales
Familia:	Hypocreaceae
Género:	<i>Trichoderma</i>
Especie:	<i>T. harzianum</i>

Fuente: (Vargas, 2014).

Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

Los mecanismos de biocontrol que utiliza el hongo están todavía por elucidar, pero fruto de numerosas investigaciones llevadas a cabo con cepas de este género, se obtienen las siguientes aproximaciones:

- El micoparasitismo se considera como un atributo de todas las especies y el mejor mecanismo de control biológico de distintas enfermedades fúngicas.
- En el proceso de destrucción de los patógenos por el hongo *T. harzianum*, intervienen una gran cantidad de enzimas que son capaces de segregar sustancias antibióticas.
- El mecanismo de “competencia” que posee se considera esencial para la prevención de enfermedades, pues la zona colonizada no podrá ser ocupada por ningún patógeno.
- Debido al aumento de desarrollo de las raíces que se genera por la secreción de fitohormonas, existe una mejora en la tolerancia al estrés hídrico (Wang *et al.* 2019).

Es indispensable la implementación de productos de origen biológico que mitiguen o reduzcan el daño ocasionado por los de síntesis química, ya que existen alrededor de 1500 bioproductos que se utilizan en todo el mundo, de los cuales el 50% corresponde a microorganismos donde se encuentra el uso de *Trichoderma spp*, el cual apareció en 1930, y en la actualidad se está fomentando su uso, ya que permite generar productos biológicos a base de este hongo para diferentes cultivos (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO]. 2017), misma que ha sido reportada como estimuladora del crecimiento en numerosos cultivos hortícola, plantas ornamentales y forestales desde la etapa de semillero (Pérez *et al.* 2013).

8.4.4. Hongos micorrízicos arbusculares (HMA)

Entre los microorganismos que se encuentran en el suelo están los hongos formadores de micorrizas conocidos también como hongos micorrízicos arbusculares (HMA), los cuales se destacan por su función ecológica y pueden tener una alta incidencia en la estabilidad de ecosistemas, donde las condiciones edáficas son extremas. La función más importante de las micorrizas es desbloquear y solubilizar los nutrientes del suelo relativamente inmóviles, tales como el zinc (Zn) y el fósforo (P), e igualmente poner los elementos minerales a disposición de la planta para obtener un aumento en su crecimiento. Además, le brinda protección contra patógenos, y a cambio de ello la planta le cede carbohidratos y proteínas para su sostenimiento metabólico. La planta y el hongo actúan como simbiosis: juntos son capaces de aumentar hasta un 25% la producción y no alteran el entorno ambiental (Restrepo *et al.* 2019).

8.5. Rizosfera

Dentro de la presente investigación es importante mencionar a la rizósfera ya que en esta estructura es donde se concentra la actividad del hongo y que permitirá la obtención de plántulas vigorosas y con mejores características agronómicas (Calvo & Zúñiga, 2010).

Entonces, la rizosfera es la fina capa de suelo que se queda adherida al sistema de raíces de las plantas después de sacudirlas. El tamaño de la rizosfera depende de la estructura particular del sistema de raíces y generalmente la zona de contacto con el suelo suele ser muy grande (Bautista, 2015).

8.6. Investigaciones similares

A continuación se muestran estudios similares a los propuestos en el presente proyecto dentro del país y fuera del mismo, basados en el uso de bioestimulantes para su emergencia. Así, en Ecuador se reporta una investigación realizada en la provincia de Cotopaxi y en la cual se evaluó el efecto de la escarificación química y biológica en la emergencia y crecimiento de semillas de *Clitoria ternatea* L. Utilizando los siguientes tratamientos pregerminativos: imbibición en agua por 12 h, imbibición en ácido húmico por 12 h, imbibición en ácido húmico por 24 h, imbibición en agua a 80 °C por 5 minutos e imbibición en ácido sulfúrico al 90 % por 45 minutos (Pincay *et al.* 2021). Demostrando que el mejor fue el ácido húmico por 24 h de acuerdo con las variables de altura, diámetro de planta, peso de raíz y volumen.

También se realizó un experimento en condiciones de laboratorio e invernadero, con el propósito de evaluar el efecto de la cepa nativa TCN-014 y la cepa comercial TCC-005 de *Trichoderma harzianum* sobre la germinación y el crecimiento temprano del maracuyá. Se adecuaron inóculos de 104, 106 y 108 conidias/mL y los resultados sugieren una acción efectiva de *T. harzianum* como promotor de crecimiento vegetal con todos los tratamientos (Pérez *et al.* 2013).

En Cuba, el antagonista más empleado también es *Trichoderma* spp ya que esta especie ha sido reportada como estimuladora del crecimiento en numerosos cultivos hortícola y plantas ornamentales desde la etapa de semillero de tomate, cuyo objetivo fue determinar el efecto bioestimulante de dos formulados líquidos de *Trichoderma harzianum* A-34 fermentado hasta la fase miceliar sin conidios y con conidios a dos dosis cada uno a (50 y 100 ml/l) en comparación con un testigo sin tratar, para lo que se utilizó un diseño completamente aleatorizado, concluyéndose que la dosis con conidios a 100 ml fue la mejor al analizar características morfológicas (Castro *et al.* 2022);

Así también Castellanos & Santana (2017) probaron en Colombia, la eficacia de este hongo en la germinación de especies forestales de interés económico evaluando el efecto bioestimulante de *Trichoderma harzianum Rifai* en la producción de postura de *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit., *Cedrela odorata* L. y *Albizia saman* (Jacq.) Merr. Se desarrollaron tres experimentos en condiciones de vivero, uno para cada especie. Se empleó un diseño completamente aleatorio con cuatro parcelas por tratamiento. En cada experimento los tratamientos fueron: *Trichoderma harzianum* a razón de 20 g.L-1, 40 g.L-1 y un testigo. Se evaluó el porcentaje de germinación y las variables morfométricas diámetro y altura del tallo, así como biomasa seca en raíz y parte aérea de la planta, resultando que ningún tratamiento con el hongo influyó en el porcentaje de germinación pero si en las características morfométricas, esto porque son capaces de promover el crecimiento y el vigor en las plantas por la habilidad que poseen para hacer que las raíces sean más robustas, logrando mayor profundidad, por lo que son más resistentes a las sequías y pueden absorber más nutrientes.

En Colombia, otro método de escarificación probado consistió en uno físico, sometiéndolo a diferentes periodos de remojo las semillas de *O. pyramidale* y uno químico con la siguiente metodología: aplicó un diseño experimental de tres bloques, tres repeticiones y 15 unidades de ensayos. Los tratamientos fueron: T1 (agua caliente a 80°C), T2 (NaClO al 0,5%), T3 (NaClO al 1,0%), T4 (NaClO al 2,0%), T5 (HCl al 1%). Mostrando que el tratamiento 1 (agua 80°C)

tuvo mayor influencia en la germinación de semillas de *O. pyramidale* concluyendo que los tratamientos por ebullición no solo contribuyen en el incremento de la germinación, sino que además las semillas logran mayor velocidad germinativa. una especie arbustiva con semillas no ortodoxas (Rios et al. 2020).

Estudios realizados en plantas de cerezo en Cuba, donde se evaluaron variables de germinación y morfológicas de las plantas, cuyas semillas fueron almacenadas a diferentes temperaturas mostraron que a estos se les puede aplicar periodos de almacenamiento de hasta 60 días en seco, sin afectar la viabilidad (Balaguera et al., 2010).

Por último, un ensayo realizado en México por Arana (2011), analizó la emergencia de semillas almacenadas a diferentes temperaturas, mostrando que existen grados de frío bajo los cuales las semillas se congelan y su embrión muere. Por el contrario, un frío de 5° permite mantener todas las reservas alimenticias

Todas estas investigaciones se relacionan con la presente ya que analiza varios métodos que coinciden con el tema de estudio.

9. HIPÓTESIS

Ho. El remojo en *Trichoderma harzianum* rifai no tiene efecto en las semillas de *Clitoria ternatea* sometidas a diferentes periodos de frío

Ha. El remojo en *Trichoderma harzianum* rifai tiene efecto en las semillas de *Clitoria ternatea* sometidas a diferentes periodos de frío

10. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

10.1. Ubicación y duración del ensayo

La presente investigación se realizó en el sector de la Playita, perteneciente a la parroquia el triunfo del cantón La Maná, ubicación geográfica WGS 84: Latitud S0°56' 21" Longitud W 79° 13' 25", altura 220 msnm. (Peñarrieta, 2015) . La investigación tendrá una duración de 90 días de trabajo de campo.

10.2. Tipo de investigación

10.2.1. Experimental

El ensayo mostrado es de tipo experimental ya que se basa en el establecimiento de un proyecto en el que analizaron variables que permitieron establecer el efecto de *Trichoderma* en la germinación de semillas de *Clitoria ternatea*, valorándolo en las unidades experimentales bajo estudio, obteniendo datos aleatorios.

10.2.2 Documental

La presente investigación es de tipo documental por la recopilación de información referente al tema en el apartado de fundamentación teórica, así también por la discusión de los resultados obtenidos con diferentes autores de investigaciones similares. Dicha información fue obtenida de trabajos científicos tales como: tesis; artículos científicos, folletos u otros escritos que estén relacionados con la problemática de esta investigación, así como también en el tema del trabajo

10.2.3 Analítica y descriptiva

Es considerada así al implicar habilidades como el pensamiento crítico y la evaluación de hechos e información relativa a la investigación que se está llevando a cabo. Encontrando los elementos principales detrás del tema analizado para comprenderlo en profundidad. Permitiendo rechazar o aprobar la hipótesis de partida.

10.3 Condiciones agro meteorológicas

Tabla 5: Condiciones agrometeorológicas del sector La Playita

Parámetros	Promedios
Altitud	223 m.s.n.m
Temperatura media anual °C	23°C
Humedad Relativa, %	89%.
Heliofanía, horas/luz/año	12.6%
Precipitación, mm/año	2854 mm.
Topografía	Regular
Textura	Franco arenoso

Fuente: Peñarrieta (2015).

Elaborado por: (Pastuña y Terán, 2022).

10.4 Materiales y equipos

En las tablas a continuación se muestran los materiales usados durante la investigación:

Tabla 6: Materiales empleados en la investigación con sus características.

Descripción	Características
Semillas de Clitoria ternatea	Color: negras, verde olivo, café o moteadas. Tamaño: 4.7 a 7.0 mm de largo y 3 mm de ancho Días a la germinación recién cosechadas: 7
Bioestimulante de la ficha	Ingrediente activo: <i>Trichoderma harzianum</i> 2×10^{12} UFC. Compatibilidad con herbicidas, fertilizantes e insecticidas de reacción ácida. ph: 4

Fuente: Podagro, (2020).

Elaborado por: Pastuña y Terán, (2022).

Tabla 7: Materiales y equipos para la investigación

Descripción	Cantidad
Semillas de clitoria	700
Bandejas germinadoras	4
<i>Trichoderma</i>	3
Tierra de Cacao	2qq
Diatomeas	1
Envases plásticos	6
Jeringa	1
Agua destilada	8 botellas
Guantes	8 pares
Mascarillas	8 pares
Estilete	1
Calibrador	1
Fundas para semillas	3
Cuaderno de campo	1

Elaborado por: Pastuña y Terán, (2022).

10.5 Factores en estudio

La presente investigación contó dos factores en estudio: Factor A: el tiempo de remojo de las semillas en solución de *Trichoderma* (3-6-12 y 24 horas) y Factor B: periodos de frío a las que las semillas fueron sometidas siendo 0-10-20 y 30 días.

10.6 Tratamientos

Basados en las variables dependientes e independientes se muestra a continuación los tratamientos de la presente investigación:

Tabla 8: *Tratamientos empleados y descripción*

Tratamientos	Descripción
T1	Testigo- semillas con 0 días de frío y 12 horas de remojo en agua
T2	Testigo- semillas con 0 días de frío y 24 horas de remojo en agua
T3	Testigo- semillas con 10 días de frío y 12 horas de remojo en agua
T4	Testigo- semillas con 10 días de frío y 24 horas de remojo en agua
T5	Testigo- semillas con 20 días de frío y 12 horas de remojo en agua
T6	Testigo- semillas con 20 días de frío y 24 horas de remojo en agua
T7	Testigo- semillas con 30 días de frío y 12 horas de remojo en agua
T8	Testigo- semillas con 30 días de frío y 24 horas de remojo en agua
T9	Semillas con 0 días de frío y 3 horas de remojo en <i>Trichoderma</i> 2ml/l
T10	Semillas con 0 días de frío y 6 horas de remojo en <i>Trichoderma</i> 2ml/l
T11	Semillas con 0 días de frío y 12 horas de remojo en <i>Trichoderma</i> 2ml/l
T12	Semillas con 0 días de frío y 24 horas de remojo en <i>Trichoderma</i> 2ml/l
T13	Semillas con 10 días de frío y 3 horas de remojo en <i>Trichoderma</i> 2ml/l
T14	Semillas con 10 días de frío y 6 horas de remojo en <i>Trichoderma</i> 2ml/l
T15	Semillas con 10 días de frío y 12 horas de remojo en <i>Trichoderma</i> 2ml/l
T16	Semillas con 10 días de frío y 24 horas de remojo en <i>Trichoderma</i> 2ml/l
T17	Semillas con 20 días de frío y 3 horas de remojo en <i>Trichoderma</i> 2ml/l
T18	Semillas con 20 días de frío y 6 horas de remojo en <i>Trichoderma</i> 2ml/l
T19	Semillas con 20 días de frío y 12 horas de remojo en <i>Trichoderma</i> 2ml/l
T20	Semillas con 20 días de frío y 24 horas de remojo en <i>Trichoderma</i> 2ml/l
T21	Semillas con 30 días de frío y 3 horas de remojo en <i>Trichoderma</i> 2ml/l
T22	Semillas con 30 días de frío y 6 horas de remojo en <i>Trichoderma</i> 2ml/l
T23	Semillas con 30 días de frío y 12 horas de remojo en <i>Trichoderma</i> 2ml/l
T24	Semillas con 30 días de frío y 24 horas de remojo en <i>Trichoderma</i> 2ml/l

Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

10.7 Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar (DCA) factorial A x B, con 24 tratamientos establecidos por la combinación del tiempo de frío (0, 10, 20 y 30 días) y horas de remojo (3, 6, 12 y 24 horas) y sus testigos, distribuidos aleatoriamente con tres repeticiones conformadas por diez unidades experimentales.

10.8 Esquema del experimento

En la tabla 6 se presenta el esquema del experimento en donde se utilizaron 30 semillas por tratamiento dando un total de 720 semillas.

Tabla 9: Esquema del experimento

Tratamientos	Repeticiones	Unidades experimentales	Total
T1	3	3	30
T2	3	3	30
T3	3	3	30
T4	3	3	30
T5	3	3	30
T6	3	3	30
T7	3	3	30
T8	3	3	30
T9	3	3	30
T10	3	3	30
T11	3	3	30
T12	3	3	30
T13	3	3	30
T14	3	3	30
T15	3	3	30
T16	3	3	30
T17	3	3	30
T18	3	3	30
T19	3	3	30
T20	3	3	30
T21	3	3	30
T22	3	3	30
T23	3	3	30
T24	3	3	30
Total			720

Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

10.9 Análisis de varianza

El esquema de análisis de varianza, con sus respectivos grados de libertad, se detalla a continuación:

Tabla 10: Esquema de análisis de varianza para DCA factorial A x B

Fuente de variación	Grados de libertad
Repeticiones	2
Factor A	3
Factor B	3
Factor A* Factor B	9
Error	30
TOTAL	47

Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

10.10 Análisis estadístico

El paquete estadístico se empleado para el análisis de los resultados es el software INFOSTAT, con la prueba de rangos múltiples de Tukey al 5% de error.

10.11 Variables de estudio

10.11.1 Porcentaje de emergencia

Se registró el número de semillas sembradas en cada tratamiento y réplica, calculando el porcentaje de emergencia hasta los treinta días y posteriormente se calculó con una regla de tres.

10.11.2 Número de días a la emergencia

Se registró el día de la fecha de siembra de cada semilla, y el día de la emergencia de las mismas considerándose la aparición del epicótilo. Se contabilizó el número de días transcurridos entre estos dos episodios.

10.11.3 Mortalidad de semillas

Se registraron las semillas que no emergieron en cada tratamiento y repetición, considerándolas como muertas y así obtener el porcentaje de mortalidad.

10.11.4 Altura de plántula

En las bandejas germinadoras, se seleccionaron al azar seis plántulas, mismas que fueron etiquetadas y, de las cuales se procedió a tomar la altura en centímetros (cm), desde el cuello del tallo hasta el ápice, usando una cinta métrica.

10.11.5 Diámetro del tallo de la plántula

A las mismas plántulas etiquetadas se les midió el diámetro del tallo usando un calibrador y registrando sus medidas en milímetros.

10.11.6 Longitud de hojas funcionales a los 30 días

Se procedió a medir la longitud de las hojas funcionales, considerándolas así al no presentar ningún tipo de daño morfológico, desde la base al ápice con una cinta métrica.

10.11.7 Número de hojas funcionales a los 30 días

Se contabilizaron la cantidad de hojas sin daños y que fueron consideradas como funcionales.

10.11.8 Largo de raíz

De las mismas plántulas etiquetadas y cuando presentaron la cuarta hoja, se procedió a extraerlas del suelo para medir la longitud de su raíz principal con una cinta métrica, registrando estos valores en centímetros (cm).

10.11.9 Peso de raíz

Las raíces de las plántulas que fueron usadas para medir el largo, fueron pesadas en una balanza y dicho valor fue registrado en gramos.

10.11.10 Volumen de raíz

Una vez medida el largo y peso de las raíces, a esas plántulas se les calculó el volumen de la raíz ayudándose con una probeta graduada en milímetros y agua.

10.11.11 Materia Seca

Para la obtención de esta variable se procedió pesar en fresco la parte aérea de la plántula seleccionada y posterior a esto, someterlas a un secado por 10 minutos. Posterior a esto, se registró el peso en seco y por diferencia de estos valores se obtuvo la materia seca.

10.12 Manejo del ensayo

10.12.1 Almacenamiento de semillas de clitoria en cuarto frío

Para cumplir con el período de frío de las semillas de *Clitoria ternatea*, estas se procedieron a guardar las bolsas herméticas aluminizadas debidamente rotuladas y ubicadas en un cuarto frío a 4°C, ubicado en el laboratorio de la Universidad Técnica de Cotopaxi Extensión La Maná. Por el tiempo que corresponda, según el tratamiento a evaluar.

10.12.2 Remojo de las semillas en Trichoderma

Una vez transcurridos los días correspondientes de frío para cada tratamiento, se procedió a preparar la solución de bioestimulante de *Trichoderma*, mezclando un litro de agua conteniente dos ml de producto, y, sumergiendo las semillas por las horas que correspondan por tratamiento (3, 6, 12 o 24).

10.12.3 Siembra de las semillas en bandejas

Se prepararon bandejas germinadoras rotuladas y con suelo previamente desinfectado con un producto comercial, se ubicó una semilla por hoyo a una profundidad de 0,5 cm, con un total de 180 semillas por bandeja. Se proporcionó riego de acuerdo a la necesidad a fin de mantener el suelo a capacidad de campo.

11 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

11.1. Porcentaje de emergencia

El análisis de sus medias se lo muestra en la tabla 8, evidenciando que si existe influencia e interacción entre esos dos factores, lo cual concuerda con lo mencionado por Castellanos & Santana (2017), quienes expresan que el remojo ablanda las cubiertas seminales de las semillas leguminosas y facilita la salida del embrión. En lo que se refiere al periodo de frío este pudo influenciar el porcentaje de germinación al ralentizar el metabolismo de las semillas, haciendo que entren en un periodo de latencia y por lo tanto requerir un mayor tiempo de remojo para que la impermeabilidad de la semilla se supere, tal como lo manifiesta (Arana, 2011).

11.1.1. Medias del porcentaje de emergencia

Tabla 11: Medias del porcentaje de emergencia de la interacción del efecto bioestimulante de *Trichoderma harzianum rifai* en semillas de *clitoria ternatea* sometidos a diferentes periodos de frío y remojo.

TRATAMIENTOS	DIAS DE FRIO	HORAS REMOJO	Medias
T9 0 F Y 3 R	0	3	43,33 4,49 a
T16 10 F Y 24 R	10	24	40,00 3,17 a b
T15 10 F Y 12 R	10	12	35,00 3,17 a b c
T14 10 F Y 6 R	10	6	33,33 4,49 a b c
T10 0 F Y 6 R	0	6	30,00 4,49 a b c
T21 30 F Y 3 R	30	3	26,67 4,49 a b c
T23 30 F Y 12 R	30	12	25,00 3,17 a b c
T18 20 F Y 6 R	20	6	20,00 4,49 a b c
T13 10 F Y 3 R	10	3	20,00 4,49 a b c
T20 20 F Y 24 R	20	24	18,34 3,17 a b c
T12 0 F Y 24 R	0	24	16,67 3,17 a b c
T19 20 F Y 12 R	20	12	15,00 3,17 a b c
T24 30 F Y 24 R	30	24	15,00 3,17 a b c
T17 20 F Y 3 R	20	3	13,33 4,49 c
T11 0 F Y 12 R	0	12	10,00 3,17 c
T22 30 F Y 6 R	30	6	10,00 4,49 c

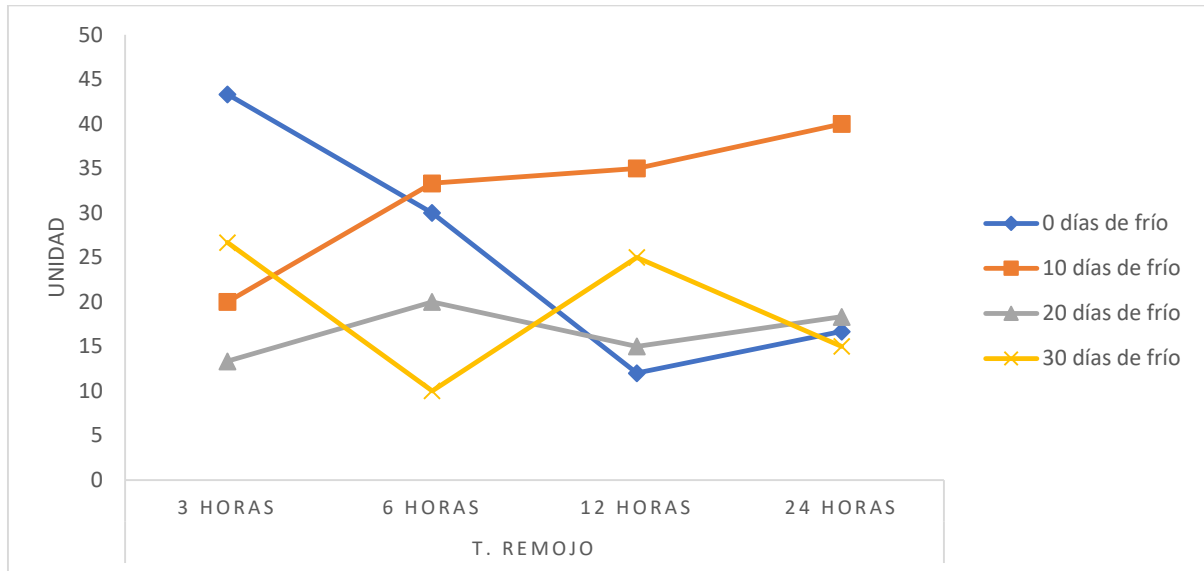
CV: 6,25

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

11.1.2. Interacciones del porcentaje de emergencia

Figura 1. Interacción del porcentaje de emergencia del efecto bioestimulante *trichoderma harzianum rifai* en semillas de *clitoria ternatea* sometidas a diferentes periodos de frío y remojo.



Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

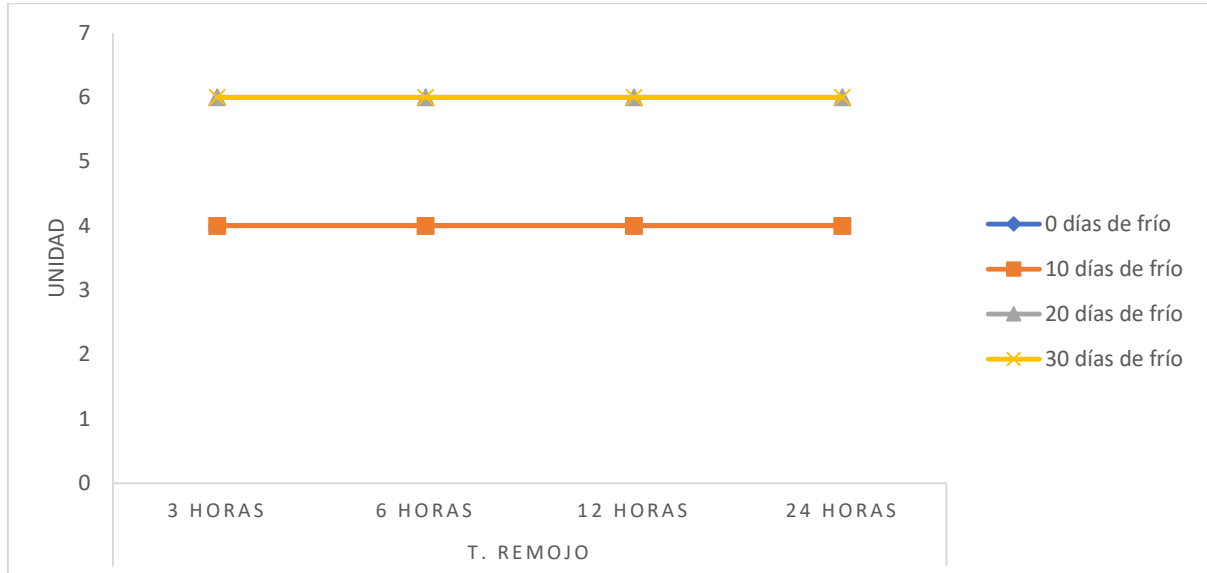
Como se puede observar en la gráfica el mejor tratamiento es el 0 día de frío y 3 horas de remojo en *trichoderma* siendo el tratamiento 30 días de frío y 6 horas de remojo en *trichoderma* el de menor valor.

11.2. Número de días a la emergencia

Al evaluar el número de días a la emergencia en cada tratamiento, se pudo apreciar que las semillas sometidas a menores días de frío y sin frío (T9, T10, T11, T12, T14, T15, T15, T16) fueron las que emergieron en menor tiempo, siendo este 4 día después de la siembra. Mientras que los tratamientos con mayor tiempo de frío se tardaron 6 días en emerger, posiblemente por la latencia en la que entró el embrión, lo cual le tomó más tiempo activar su metabolismo y producir enzimas necesarias para la degradación de la cubierta seminal (Hernández et al. 2021). Este último dato concuerda con los resultados publicados en una investigación cuyo objetivo fue evaluar el comportamiento de semillas de leguminosas arbustivas al almacenamiento en refrigeración a 4°C y, en el que reportaron que existe un grado de asociación entre el contenido de humedad y el porcentaje de emergencia en cada tratamiento mostrando que las semillas remojadas en agua germinaron entre el 96 hasta el 100 % en seis días en promedio (De la Cruz & Vargas, 2019).

11.2.1. Interacciones del número de días a la emergencia

Figura 2. Interacción de número de días a la germinación del efecto bioestimulante *trichoderma harzianum rifai* en semillas de *clitoria ternatea* sometidas a diferentes periodos de frío y remojo.



Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

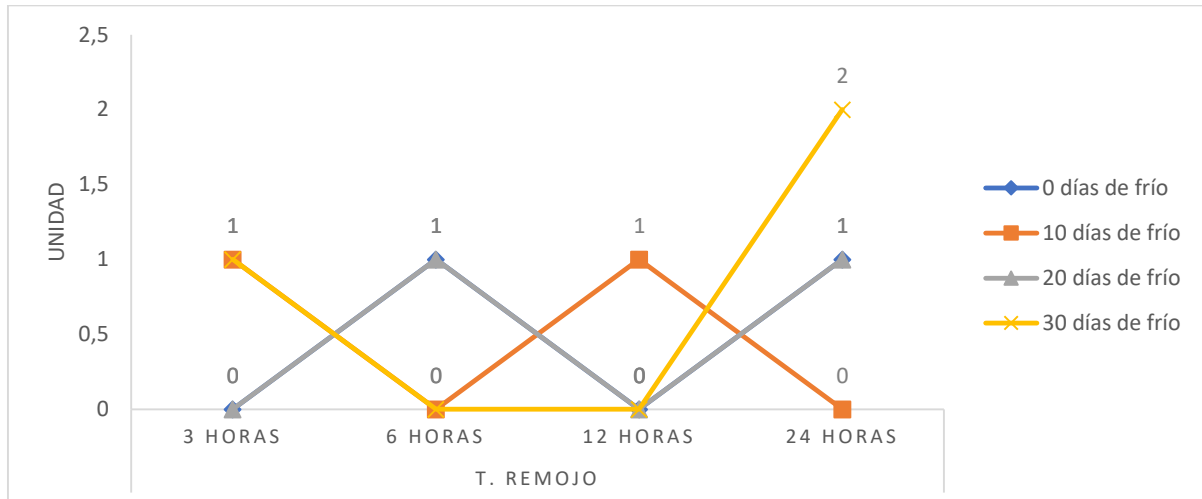
11.3. Mortalidad de semillas

La figura 3 muestra el porcentaje de mortalidad de semillas que se presentó dentro del ensayo así se puede observar que el tratamiento con mayor número de semillas muertas fue el T24; 30 días de frío con 24 horas de remojo en trichoderma, lo cual al compararse con los otros tratamientos permitiría adjudicar este evento a condiciones externas y no a uno de los factores en estudio. Sabiendo que una de las causas que llevan a la muerte del embrión de las semillas puede ser el encharcamiento y/o el marchitamiento fúngico, que es más común cuando las condiciones son húmedas y frías y ante la presencia de suelos compactados (Arista, 1993). Así también se indica que si bien el frío duerme al embrión no es responsable de su muerte cuando se mantiene en una temperatura que descienda los cuatro grados, caso contrario este se congela y, aunque para otras especies esto es un requisito para su germinación en *Clitoria* no es de utilidad.

Por último, es importante recordar que el estudio de la germinación de las semillas y supervivencia de las plántulas es una faceta de la biología de gran interés, ya que estos factores pueden condicionar la incorporación de individuos adultos a la población y con ello la regeneración de áreas (Arista, 1993).

11.3.1. Interacciones de la mortalidad de semillas

Figura 3. Interacción de la mortalidad de las semillas del efecto bioestimulante *trichoderma harzianum rifai* en semillas de *clitoria ternatea* sometidas a diferentes periodos de frío y remojo.



Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

Un estudio en el que se empleó agua para remojar, concuerda con los resultados obtenidos en la presente, aquí se muestra que de un total de 10 semillas por repetición, el número medio de semillas con embriones desarrollados fue 9.8, mientras que solo dos repeticiones mostraron una semilla con embrión no desarrollado; el número promedio de semillas con cotiledones en esta condición fue de 9.3 y con cotiledones incipientes fue cercano a uno. La viabilidad de las muestras varió del 70 a 100 %, con un promedio de 98 %, mostrando la influencia de tratamiento pregerminativo y que estos no se relacionan con la mortalidad.

11.4. Altura de plántula

Para la variable altura de plántula, el tratamiento 9 continúa siendo el mejor con una media de 7,28 cm, seguido por el T10 y T11 con un valor de 7,08 y 6,97 cm respectivamente y, sin presentar diferencias estadísticas entre sí. Estos valores pudieron presentarse probablemente debido a que si emergieron tempranamente, comparado con el resto de tratamientos tuvieron mayor tiempo de crecimiento y aprovechamiento de la luz solar como lo manifiesta Liusvert *et al.* (2012), donde se comprobó la influencia e intensidad de luz en el crecimiento de plántulas de una leguminosa, Por otra parte se evidencia la influencia en el crecimiento que tiene el hongo, como lo expresan Castellanos & Santana (2017), en su investigación sobre la influencia de *Trichoderma* en el crecimiento de leucaena y donde se evidenció que aporta de manera positiva.

El tratamiento con menor altura corresponden al T7 con una media de 2,54 cm y podría atribuirse a la relación de estimulación positiva ocasionado por la aplicación del hongo y que para este tratamiento no se realizó ya que su remojo fue en agua (12 horas) y por el tiempo de frío (30 días), así según Sánchez *et al.* (2011), la temperatura de refrigeración para algunas especies de leguminosas oscila entre los 12 °C, y temperaturas más bajas podrían congelar al embrión, ocasionándole la muerte o ralentizando sus periodos de crecimiento. El gráfico 2, permite apreciar la dispersión de los datos, resultado de la interacción entre estos dos factores.

11.4.1. Medias de altura de plántula

Tabla 12: Medias de altura de plántula del efecto bioestimulante de *Trichoderma harzianum rifai* en semillas de *clitoria ternatea* sometidos a diferentes periodos de frío y remojo.

TRATAMIENTOS	DIAS DE FRIO	HORAS REMOJO	Medias
T9 0F Y 3R	0	3	7,28 a
T10 0F Y 6R	0	6	7,08 a b
T11 0F Y 12R	0	12	6,97 a b
T2 0F Y 24R	0	24	6,81 a b
T14 10F Y 6R	10	6	6,32 b c
T12 0F Y 24R	0	24	6,26 b c
T13 10F Y 3R	10	3	6,21 b c
T15 10F Y 12R	10	12	5,98 c
T16 10F Y 24R	10	24	5,87 c
T3 10F Y 12R	10	12	5,33 c
T4 10F Y 24R	10	24	4,69 c
T5 20FY12R	20	12	3,62 d
T21 30R Y 3R	30	3	4,31 d
T17 20F Y 3R	20	3	4,06 d
T24 30F Y 24R	30	24	4,02 d
T22 30F Y 6R	30	6	3,96 d
T18 20F Y 6R	20	6	3,85 d
T23 30F Y 12R	30	12	3,83 d
T19 20F Y 12R	20	12	3,82 d
T20 20F Y 24R	20	24	3,61 d
T1 0F Y 12R	0	12	3,06 e
T6 20F Y 24R	20	24	3,01 e
T8 30F Y 24R	30	24	2,72 e
T7 30F Y 12R	30	12	2,54 e

CV: 5,43

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

11.4.2. Efectos simples de la altura de plántula

Tabla 13: Efectos simples de la altura de plántula

Factor A: Días de frío	Cm	Factor B: Horas remojo	cm
0 días	6,90 a	3 horas	5,47 a
10 días	6,10 b	6 horas	5,30 a
20 días	4,03 c	12 horas	5,15 ab
30 días	3,83 c	24 horas	4,94 b

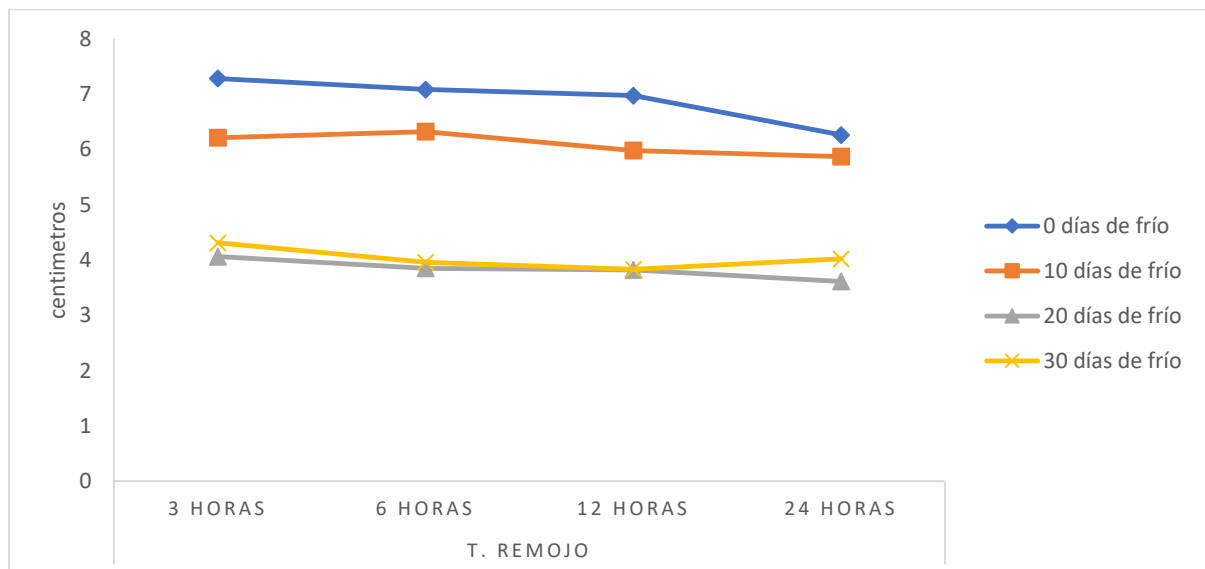
CV: 4,56

Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

Al analizar los efectos simples se observa que existen diferencias estadísticas significativas ya sea para el factor frío como horas de remojo. Sin embargo, entre los periodos de 3, 6 y 12 horas no existen diferencias y muestra similares alturas entre sí, obteniendo el mejor resultado el 0 día de frío y 3 horas de remojo en trichoderma.

11.4.3. Interacciones de la altura de la plántula

Figura 4. Interacción de altura de plántula del efecto bioestimulante *trichoderma harzianum rifai* en semillas de *clitoria ternatea* sometidas a diferentes periodos de frío y remojo.



Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

Mediante la gráfica, en altura de plántula se observa que hubo diferencias significativas entre los periodos de frío, siendo el que mejor resultado dio 0 días de frío con 3 horas de remojo en trichoderma, logrando determinar que a más días de frío menor altura de plántula.

11.5. Diámetro del tallo de la plántula

La tabla 11 muestra que, no existieron diferencias estadísticas significativas en el diámetro del tallo entre los tratamientos. Pese a que se aprecien dos grupos diferentes con las letras A y B la diferencia entre estos es de 0,07 cm entre las plántulas de mayor y menor diámetro. Dichos resultados concuerdan con estudios realizados en pasturas de leguminosas y en soya, en las cuales se evaluaron características morfológicas incluido el diámetro del tallo, después de la aplicación de *Trichoderma harzianum* como bioestimulante y, cuyos resultados concluyeron que no influye en el crecimiento en grosor del mismo y que esto se debería principalmente a las características de cada especie de plántula (Castellanos, 2017), lo cual discrepa con una investigación en la cual se probaron diferentes sustratos : tierra negra, peat moss (1), aserrín de mango + arena de río (2:1), aserrín de mango + peat moss (2:1), tierra negra + peat moss + aserrín de mango (1:1:1) y tierra negra + aserrín de mango (1:1) respectivamente, se midió el diámetro del tallo (mm) a lo largo de tres meses a partir de los 14 días posteriores a la siembra y se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos, demostrando posiblemente porque el material que compone a estos sustratos mejora propiedades físicas del suelo y por ende su intercambio catiónico, que facilita e incrementa los nutrientes disponibles para la planta (Domínguez & Espinosa, 2021).

Por otra parte, el máximo crecimiento de una planta de acuerdo con el concepto de Mitscherlich y Spillman se obtiene cuando ninguno de los factores de crecimiento está presente en menor cantidad de la requerida. Los factores que afectan el crecimiento de las plantas son: climáticos, bióticos y edáficos. En los primeros se incluyen precipitación, temperatura y la energía radiante. En los segundos los genéticos y los cultivos asociados. En los factores edáficos se mencionan las principales características físicas y químicas de los suelos que afectan el crecimiento de las plantas (Marín, 1977), y esto podría ser la razón por la cual en el presente ensayo el diámetro de tallo no pudo crecer y desarrollarse a pesar del remojo en el bioestimulante.

11.5.1. Medias del diámetro del tallo

Tabla 14: Medias del diámetro del tallo de la plántula del efecto bioestimulante de *Trichoderma harzianum rifai* en semillas de *clitoria ternatea* sometidos a diferentes periodos de frio y remojo.

TRATAMIENTO	HORAS		Medias	
	DIAS DE FRIO	REMOJO		
T4 10F Y 24R	10	24	0,18	a
T11 0F Y 12R	0	12	0,16	a
T3 10F Y 12R	10	12	0,16	a
T20 20F Y 24R	20	24	0,16	a
T18 20F Y 6R	20	6	0,16	a
T14 10F Y 6R	10	6	0,16	a
T10 0F Y 6R	0	6	0,15	a
T2 0F Y 24R	0	24	0,15	a
T6 20F Y 24R	20	24	0,15	a
T13 10F Y 3R	10	3	0,14	a b
T17 20F Y 3R	20	3	0,14	a b
T12 0F Y 24R	0	24	0,14	a b
T19 20F Y 12R	20	12	0,14	a b
T9 0F Y 3R	0	3	0,13	a b
T16 10F Y 24R	10	24	0,13	a b
T5 20FY12R	20	12	0,13	a b
T15 10F Y 12R	10	12	0,12	a b
T21 30R Y 3R	30	3	0,13	a b
T23 30F Y 12R	30	12	0,12	b
T22 30F Y 6R	30	6	0,12	b
T8 30F Y 24R	30	24	0,12	b
T7 30F Y 12R	30	12	0,12	b
T24 30F Y 24R	30	24	0,11	b
T1 0F Y 12R	0	12	0,11	b

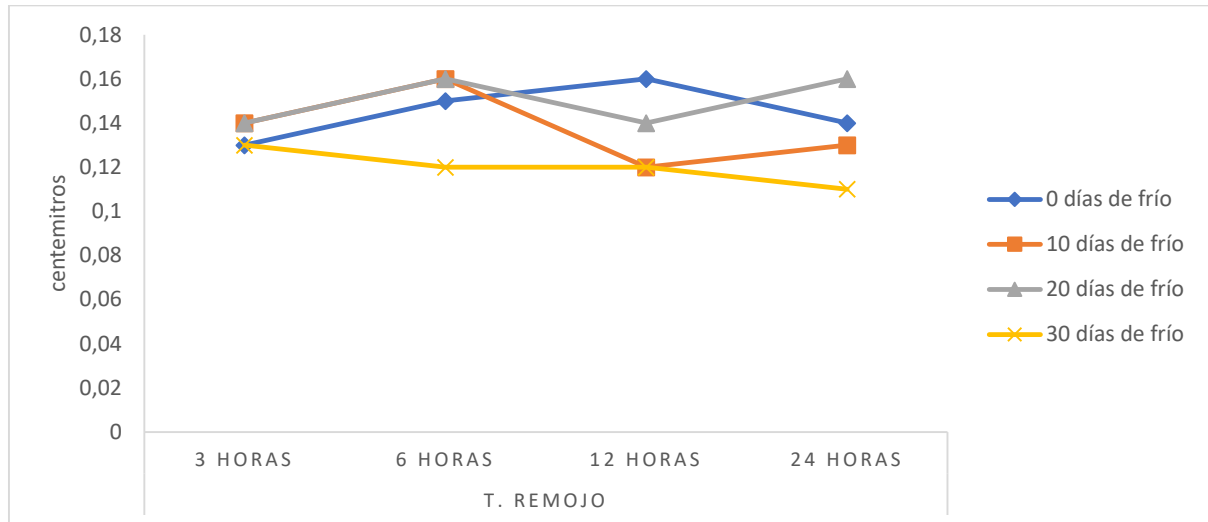
CV: 6,01

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

11.5.3. Interacciones del diámetro del tallo

Figura 5. Interacción del diámetro del tallo del efecto bioestimulante *trichoderma harzianum* rifai en semillas de *clitoria ternatea* sometidas a diferentes periodos de frío y remojo.



Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

Mediante la gráfica, en diámetro del tallo se observa que no hubo diferencias significativas entre los periodos de frío, siendo el que mejor resultado dio 10 días de frío con 6 horas de remojo en trichoderma, por el contrario 30 de días de frío con 24 horas de remojo en trichoderma obtuvo los resultados más bajos, demostrando que a mayor periodo de frío menor diámetro del tallo.

11.6. Longitud de hojas funcionales a los 30 días

Al medir la longitud de las hojas funcionales de las plántulas de cada tratamiento a los 30 días, los mejores promedios corresponden a 3,49 cm (T9), seguido por 3,04 cm (T3), mientras que el tratamiento de menor promedio de longitud fue de 1,35 (T22). Como se aprecia en la tabla 13, la diferenciación de medias forma seis grupos estadísticamente entre sí, que presentan diferencias estadísticas y se encuentran distribuidos de manera similar a las variables antes evaluadas, es decir que los periodos de frío más cortos presentaron los valores más altos. Y que, también se vieron influenciados por el empleo de bioestimulante, el cual estimula los procesos de crecimiento y desarrollo de las plantas, por producir y contener sustancias o microorganismos que aplicados, incrementan la absorción y asimilación de nutrientes, su tolerancia al estrés y mejoran sus características agronómicas, independientemente del contenido de nutrientes que aporten, razón por la cual se justificaría los resultados obtenidos (Jarre, 2020).

Por otra parte, el remojo ya sea en trichoderma como en agua, tiene un efecto en el ablandamiento de la cubierta seminal, lo cual genera una mayor absorción de agua y, por tanto, aumenta la solubilización y disponibilidad de nutrientes para la radícula y por ende la plántula iniciaría su desarrollo de mejor manera (Pincay et al. 2021). Esto debido a que los tratamientos pregerminativos que pueden ser escarificación manual de la semilla, la inmersión en agua caliente o fría, en ácido sulfúrico, rompen la latencia inducida por la testa al ablandar, perforar, rasgar o abrirla para hacerla permeable sin dañar el endospermo y el embrión (Viveros et al., 2018) y por ende permiten un mejor desarrollo morfológico.

11.6.1. Medias de la longitud de hojas funcionales

Tabla 15: Medias de longitud de hojas funcionales del efecto bioestimulante de *Trichoderma harzianum rifai* en semillas de *clitoria ternatea* sometidos a diferentes periodos de frio y remojo.

TRATAMIENTOS	DIAS DE HORAS		Medias	
	FRIO	REMOJO		
T9 0FY 3R	0	3	3,49	a
T3 10F Y 12R	10	12	3,04	a b
T11 0F Y 12R	0	12	3,01	a b
T12 0F Y 24R	0	24	3,00	a b
T10 0F Y 6R	0	6	2,97	a b
T13 10F Y 3R	10	3	2,96	a b
T4 10F Y 24R	10	24	2,78	b
T14 10F Y 6R	10	6	2,70	b
T16 10F Y 24	10	24	2,66	b
T2 0F Y 24R	0	24	2,56	b
T17 20F Y 3R	20	3	2,55	b
T7 30F Y 12R	30	12	2,39	b c
T15 10 F Y 12R	10	12	2,11	c d
T6 20F Y 24R	20	24	2,06	c d
T5 20F Y 12R	20	12	2,01	c d
T1 0F Y 12R	0	12	1,99	c d
T19 20F Y 12R	20	12	1,97	d e
T24 30F Y 24R	30	24	1,87	d e
T18 20F Y 6R	20	6	1,74	d e
T20 20F Y 24R	20	24	1,50	e
T8 30F Y 24R	30	24	1,49	e
T21 30F Y 3R	30	3	1,46	e f
T23 30F Y 12R	30	12	1,44	e f
T22 30 Y 6R	30	6	1,35	e f

CV:7,23

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

11.6.2. Efectos simples de la longitud de hojas funcionales

Tabla 16: Efectos simples de la Longitud de hojas funcionales

Factor A: Días de frío	Cm	Factor B: Horas remojo	Cm
0 días	3,03 a	3 horas	2,31 a
10 días	2,81 b	6 horas	2,04 a
20 días	1,71 c	12 horas	2,31 a
30 días	1,65 c	24 horas	2,53 a

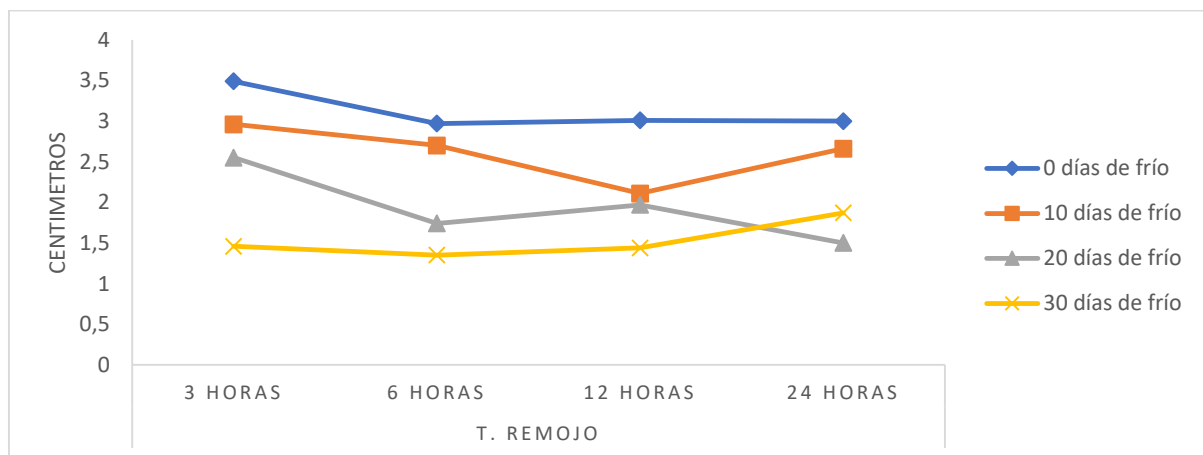
CV: 2,04

Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

Las medias de la longitud de hojas funcionales, demuestran que las horas de remojo no influyen sobre su crecimiento longitudinal, similar ocurre con los días de frío, donde se evidencian diferencias entre los días 0 y 10, del resto de periodos.

11.6.3. Interacciones de la longitud de hojas funcionales

Figura 6. Interacción de la longitud de hojas funcionales del efecto bioestimulante *trichoderma harzianum rifai* en semillas de *clitoria ternatea* sometidas a diferentes periodos de frío y remojo.



Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

Mediante la gráfica, en longitud de hojas funcionales se observa que hubo diferencias significativas entre los periodos de frío, siendo el que mejor resultado obtuvo 0 días de frío con 24 horas de remojo en *trichoderma* a diferencia de los 30 días de frío con 6 horas de remojo en *trichoderma*, logrando así determinar que a mayor exposición a frío menor longitud de hojas funcionales.

11.7. Número de hojas funcionales a los 30 días

En cuanto a las hojas funcionales, estas pudieron perderse ya sea por marchitamiento, secamiento o manipulación de las plántulas, así, al momento de la evaluación la media de hojas más alta fue para el T9 y T11 con 7 hojas, mientras que el T23 y T22 presentaron tan solo una hoja. Esta variable es probablemente la que mayor incidencia tuvo en el desarrollo y crecimiento de las plántulas, ya que se vio afectado o limitado el aparato fotosintético de las plántulas y por ende limitando la capacidad de producción de fotoasimilados necesarios para su crecimiento (Alberto & Gallegos 2008), razón por la cual se justifica también el valor obtenido en la variable anterior al estar relacionados estrechamente entre sí.

11.7.1. Medias del número de hojas funcionales

Tabla 17: Medias del número de hojas funcionales del efecto bioestimulante de *Trichoderma harzianum rifai* en semillas de *clitoria ternatea* sometidos a diferentes periodos de frio y remojo.

TRATAMIENTO	DIAS DE FRIO	HORAS REMOJO	Medias
T9 0F Y 3R	0	3	7 a
T11 0F Y 12R	0	12	7 a b
T12 0F Y 24R	0	24	6 b
T10 0F Y 6R	0	6	6 b
T2 0F Y 24R	0	24	6 b c
T3 10F Y 12R	10	12	5 c
T4 10F Y 24R	10	24	4 c d
T13 10F Y 3R	10	3	4 d
T14 10F Y 6R	10	6	4 d
T16 10F Y 24R	10	24	4 d
T17 20F Y 3R	20	3	4 d
T15 10F Y 12R	10	12	4 d
T19 20 F Y 12R	20	12	4 d
T24 30F Y 24R	30	24	4 d
T6 20F Y 24R	20	24	3 e
T18 20F Y 6R	20	6	3 e f
T1 0F Y 12R	0	12	2 e f
T5 20F Y 12R	20	12	2 e f
T7 30F Y 12R	30	12	2 f
T8 30F Y 24R	30	24	2 f
T20 20F Y 24R	20	24	2 f
T21 30F Y 3R	30	3	2 f
T23 30F Y 12R	30	12	1 g
T22 30F Y 6R	30	6	1 g

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

11.7.2. Efectos simples del número de hojas funcionales

Tabla 18: Efectos simples del número de hojas funcionales

Factor A: Días de frío	MEDIAS	Factor B: Horas remojo	MEDIAS
0 días	5,33 a	3 horas	3,19 ab
10 días	3,01 b	6 horas	2,78 b
20 días	2,31 c	12 horas	3,17 ab
30 días	1,76 d	24 horas	3,28 a

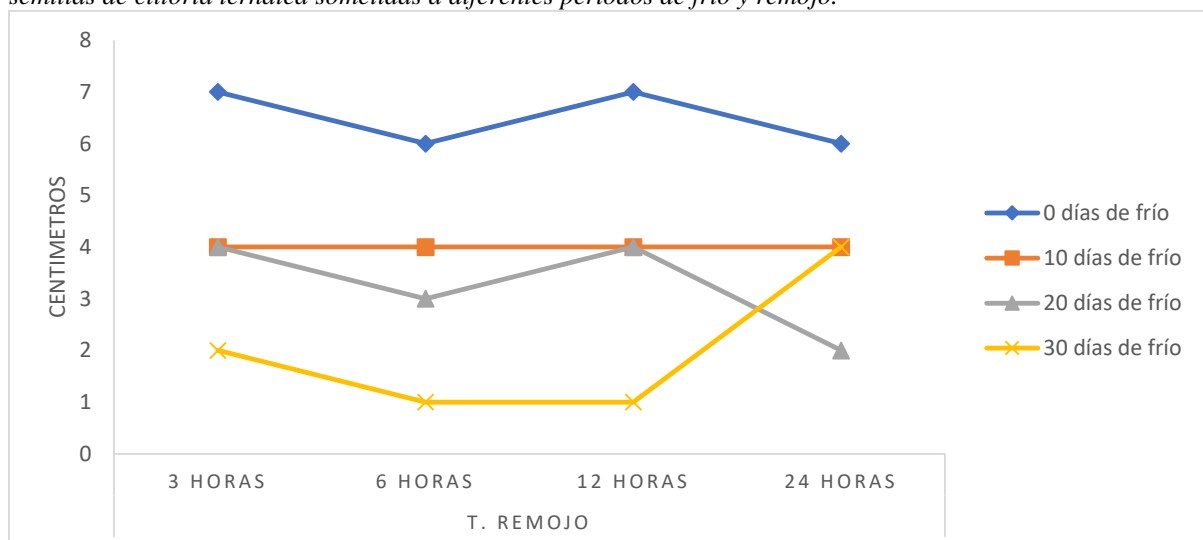
CV: 3,76

Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

El efecto simple del número de hojas funcionales deja expuesto que las semillas que no fueron sometidas a periodos de frío (0 días de frío), presentaron una mejor media como se observa en la tabla 16, seguida por la de diez días de frío. Mostrando que mientras a más tiempo de frío menor número de hojas; esto como se menciona en párrafos en anteriores podría relacionarse al hecho que, las que tardaron en emerger tuvieron menos tiempo de desarrollo al momento de la evaluación, por otra parte, el factor de espacio pudo haber sido determinante ya que las plántulas se vieron limitadas en crecimiento.

11.7.3. Interacciones de número de hojas funcionales

Figura 7. Interacción del número de hojas funcionales del efecto bioestimulante *trichoderma harzianum rifai* en semillas de *clitoria ternatea* sometidas a diferentes periodos de frío y remojo.



Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

Mediante la gráfica, en números de hojas funcionales se observa que hubo diferencias significativas entre los periodos de frío, siendo el que mejor resultado obtuvo 0 días de frío con 24 horas de remojo en *trichoderma* a diferencia de los 30 días de frío que muy independiente

de su remojo en trichoderma obtuvieron los resultados más negativos, logrando así determinar que a mayor exhibición a frío menor números de hojas funcionales.

11.8. Largo de raíz

Al medir el largo de la raíz, se observó que éstas tuvieron valores comprendidos entre 8,45 para el tratamiento T11, y 1,81 para el T22, estos valores discrepan con los reportados por Pincay *et al.* (2021), en donde al evaluar a los treinta días, el largo de la raíz está sobre los 20 cm en tratamientos cuyas semillas fueron embebidas en ácidos húmicos. Dichas diferencias podría estar relacionadas al espacio para el desarrollo radicular, ya que al modificar la profundidad efectiva del suelo, esta aumenta la densidad aparente y la resistencia mecánica; el aumento de la resistencia mecánica del suelo restringe el crecimiento de las raíces (Gaitán & Penón, 2003). Por ende, todas las variables relacionadas a este órgano se verán influenciadas por lo antes mencionado. Como se aprecia en los gráficos y tablas a continuación.

11.8.1. Medias del largo de raíz

Tabla 19: Medias del largo de raíz del efecto bioestimulante de *Trichoderma harzianum rifai* en semillas de *clitoria ternatea* sometidos a diferentes periodos de frio y remojo.

TRATAMIENTOS	DIAS DE HORAS		Medias	
	FRIO	REMOJO		
T11 0F Y 12R	0	12	8,45	a
T9 0F Y 3R	0	3	7,78	a
T2 0F Y 24R	0	24	7,06	a
T12 0F Y 24R	0	24	6,53	a b
T10 0F Y 6R	0	6	6,44	b
T17 20F Y 3R	20	3	6,36	b
T19 20F Y 12R	20	12	5,56	c
T13 10F Y 3R	10	3	5,44	c
T14 10F Y 6R	10	6	5,31	c
T3 10F Y 12R	10	12	5,28	c
T15 10F Y 12R	10	12	5,11	c
T16 10F Y 24R	10	24	4,69	c d
T18 20F Y 6R	20	6	4,61	c d
T1 0F Y 12R	0	12	4,57	d
T7 30F Y 12R	30	12	4,57	d
T6 20F Y 24R	20	24	4,26	d
T21 30F Y 3R	30	3	3,93	d
T24 30F Y 24R	30	24	3,89	d
T23 30F Y 12R	30	12	3,88	e
T4 10F Y 24R	10	24	3,64	e
T20 20F Y 24R	20	24	3,38	e
T5 20F Y 12R	20	12	3,19	f
T7 30F Y 12R	30	12	2,77	f
T22 30F Y 6R	30	6	1,81	f

CV: 3,62

Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

11.8.2. Efectos simples del largo de raíz

Tabla 20: Efecto simple del largo de raíz

Factor A: Días de frío	Cm	Factor B: Horas remojo	Cm
0 días	7,3 a	3 horas	3,19 ab
10 días	5,14 b	6 horas	2,78 b
20 días	4,98 b	12 horas	3,17 ab
30 días	3,38 c	24 horas	3,28 a

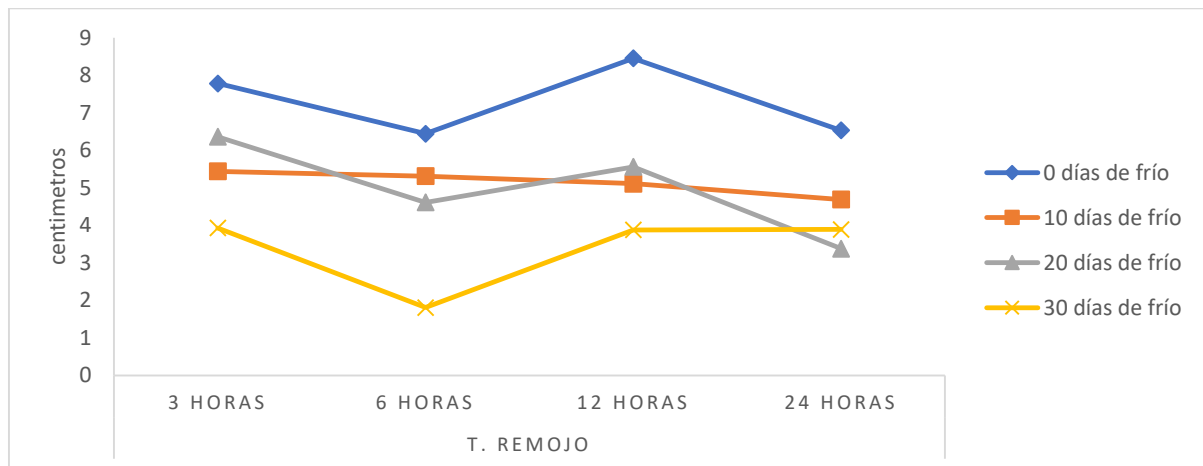
CV: 4,93

Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

Para el caso del largo de raíz y en concordancia con los resultados mostrados para las variables que preceden, se observa la misma tendencia de crecimiento en la que los tratamientos de 0 días y 10 días de frío presentan mayor largo de raíz, lo que se relaciona y justifica los resultados de la parte aérea, ya que existe estrecha relación entre estos órganos.

11.8.3. Interacciones del largo de raíz

Figura 8. Interacción del largo de raíz del efecto bioestimulante *trichoderma harzianum rifai* en semillas de *clitoria ternatea* sometidas a diferentes periodos de frío y remojo.



Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

Mediante la gráfica, en largo de raíz se observa que hubo diferencias significativas entre los periodos de frío, siendo el que mejor resultado obtuvo 0 días de frío con 12 horas de remojo en *trichoderma* a diferencia de los 30 días de frío que en general muy aparte de su factor remojo obtuvo los resultados más bajos, logrando así determinar que a mayor exposición a frío menor largo de raíz.

11.9. Peso de raíz

Como se puede observar en la tabla 24 el orden de los tratamientos es el mismo que para la variable anterior, al estar relacionadas, así, el T11 tuvo un peso de raíz de 0,07 gramos y el T22 0,01gramos, lo cual concuerda con los resultados mostrados en variables superiores y en específico en el número de hojas funcionales, donde este último tratamiento tan solo presentó una hoja. Estos valores discrepan con la investigación realizada por Pincay et al. (2021) donde muestran valores comprendidos entre 4,50 y 3,00 gramos en el mismo periodo de evaluación.

11.9.1. Medias del peso de raíz

Tabla 21: Medias del peso de raíz del efecto bioestimulante de *Trichoderma harzianum rifai* en semillas de *clitoria ternatea* sometidos a diferentes periodos de frio y remojo.

TRATAMIENTOS	DIAS FRIO	DE HORAS REMOJO	Medias
T11 0F Y 12R	0	12	0,07 a
T2 0F Y 24R	0	24	0,07 a
T9 0F Y 3R	0	3	0,06 a b
T12 0F Y 24	0	24	0,06 a b
T10 0F Y 6R	0	6	0,05 a b
T17 20F Y 3R	20	3	0,05 a b
T19 20F Y 12R	20	12	0,05 a b
T3 10F Y 12R	10	12	0,04 a b
T13 10F Y 3R	10	3	0,04 a b
T14 10F Y 6R	10	6	0,03 b
T15 10F Y 12R	10	12	0,03 b
T16 10F Y 24R	10	24	0,03 b
T18 20F Y 6R	20	6	0,03 b
T21 30F Y 3R	30	3	0,03 b
T24 30F Y 24R	30	24	0,03 b c
T23 30F Y 12R	30	12	0,03 b c
T20 20F Y 24R	20	24	0,03 b c
T1 0F Y 12R	0	12	0,02 c
T7 30F Y 12R	30	24	0,01 c
T6 20F Y 24R	20	24	0,01 c
T4 10F Y 24R	10	24	0,01 c
T5 20F Y 12R	20	12	0,01 c
T7 30F Y 12R	30	12	0,01 c
T22 30F Y 6R	30	6	0,01 c

CV: 9,43

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

11.9.2. Efectos simples del peso de raíz

Tabla 22: Efectos simples del peso de raíz

Factor A: Días de frío	Gr	Factor B: Horas remojo	Gr
0 días	0,03 bc	3 horas	0,05 a
10 días	0,03 c	6 horas	0,03 b
20 días	0,05 a	12 horas	0,04 ab
30 días	0,05 a	24 horas	0,03 b

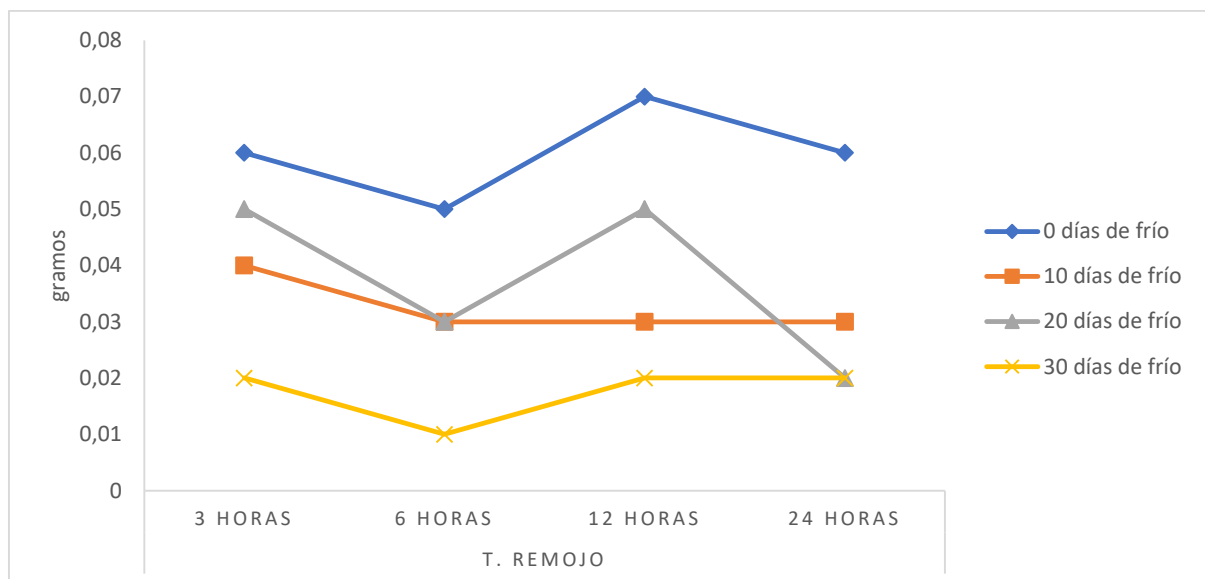
CV: 12,80

Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

El peso de raíz, se ha visto relacionado con su longitud y muestra que existen diferencias entre las medias de días de frío, mostrando que los mejores tiempos fueron de 3 y 12 horas de remojo.

11.9.3. Interacciones del peso de raíz

Figura 9. Interacción del peso de raíz del efecto bioestimulante *trichoderma harzianum rifai* en semillas de *clitoria ternatea* sometidas a diferentes periodos de frío y remojo.



Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

Mediante la gráfica, en peso de raíz se observa que hubo diferencias significativas entre los periodos de frío, siendo el que mejor resultado obtuvo 0 días de frío con 12 horas de remojo en *trichoderma* a diferencia de los 30 días de frío que a pesar de la aplicación de la *trichoderma* no lograron obtener resultados positivos, logrando así determinar que a mayor exhibición a frío menor peso de raíz.

11.10. Volumen de raíz

El volumen de la raíz se lo muestra en el gráfico 13, donde la mejor interacción es la de 12 de días de remojo en trichoderma y cero días de frío (T11), con un valor de 0,18 ml, pero que, no difiere estadísticamente con los tratamientos T2, T3, T1, T9, T12, T10, T17, T19 y T13 con sus medias de 0,13 y ,12 ml. Por último, los valores de medias más bajos fueron para los tratamientos T15, T16 y T18 con 0,11 ml.

11.10.1. Medias del volumen de raíz

Tabla 23: Medias del volumen de raíz del efecto bioestimulante de *Trichoderma harzianum* rifai en semillas de clitoria ternatea sometidos a diferentes periodos de frío y remojo.

TRATAMIENTOS	DIAS FRIO	DE HORAS REMOJO	Medias
T11 0F Y 12R	0	12	0,18 a
T2 0F Y 24R	0	24	0,18 a
T3 10F Y 12R	10	12	0,16 a b
T1 0F Y 12R	0	12	0,16 a b
T7 30F Y 12R	30	12	0,16 a b
T9 0F Y 3R	0	3	0,16 a b
T12 0F Y 24R	0	24	0,14 a b
T10 0F Y 6R	0	6	0,13 a b
T17 20F Y 3R	20	3	0,13 a b
T19 20F Y 12R	20	12	0,13 a b
T13 10F Y 3R	10	3	0,12 a b c
T14 10F Y 6R	10	6	0,12 a b c
T15 10F Y 12R	10	12	0,11 c
T16 10F Y 24R	10	24	0,11 c
T18 20F Y 6R	20	6	0,11 c
T21 30F Y 3R	30	3	0,11 c
T24 30F Y 24R	30	24	0,11 c
T23 30F Y 12R	30	12	0,1 c
T20 20F Y 24R	20	24	0,1 c
T22 30F Y 6R	30	6	0,1 c

CV: 3,40

Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

11.10.2. Efectos simples del volumen de raíz

Tabla 24: Efectos simples del volumen de raíz

Factor A: Días de frío	MI	Factor B: Horas remojo	MI
0 días	0,12 a	3 horas	0,14 a
10 días	0,13 a	6 horas	0,12 b
20 días	0,12 a	12 horas	0,12 b
30 días	0,12 a	24 horas	0,11 b

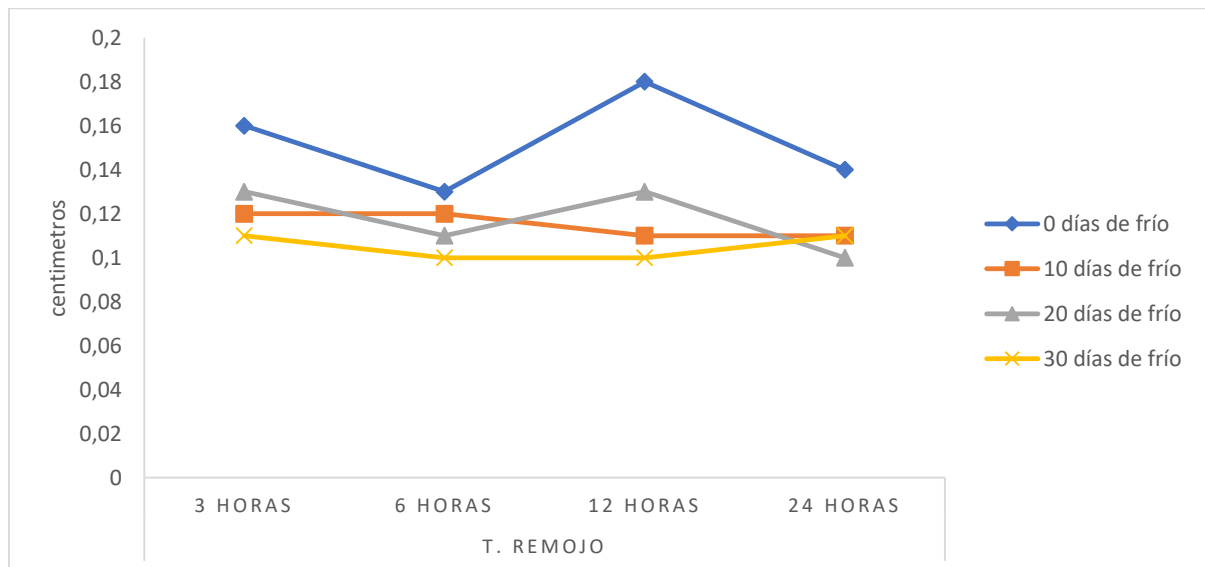
CV: 9,32

Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

Al analizar los efectos independientes de los factores en estudio se observan diferencias en sus medias que van de 0,01 y 0,02 entre sí, para el factor de días de frío y horas de remojo en trichoderma, lo cual estadísticamente muestra que no existen diferencias estadísticas significativas entre sí.

11.10.3. Interacciones del volumen de raíz

Figura 10. Interacción del volumen de raíz del efecto bioestimulante *trichoderma harzianum rifai* en semillas de *clitoria ternatea* sometidas a diferentes periodos de frío y remojo.



Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

Mediante la gráfica, en volumen de raíz se observa que hubo diferencias significativas entre los periodos de frío, siendo el que mejor resultado obtuvo 0 días de frío a diferencia de los 30 días de frío, logrando así determinar que a mayor exposición a frío menor volumen de raíz.

11.11. Materia Seca

Los resultados de materia seca muestran como mejor tratamiento al T9, con una media de 0,13 y seguido por el T2 con 0,11 mientras que el tratamiento con valor menor fue el T15 con 0,01, tal como se muestra en la tabla 23.

11.11.1. Medias de materia seca

Tabla 25: Medias de la materia seca del efecto bioestimulante de *Trichoderma harzianum* rifai en semillas de *clitoria ternatea* sometidos a diferentes periodos de frio y remojo.

TRATAMIENTOS		DIAS FRIO	DE HORAS REMOJO	Medias						
T9	0F Y 3R	0	3	0,13	a					
T2	0F Y 24R	0	24	0,11	a	b				
T11	0F Y 12R	0	12	0,09	a	b	c			
T12	0F Y 24	0	24	0,08		b	c	d		
T10	0F Y 6R	0	6	0,07		b	c	d	e	
T17	20F Y 3R	20	3	0,07		b	c	d	e	f
T19	20F Y 12R	20	12	0,06			c	d	e	f
T3	10F Y 12R	10	12	0,06			c	d	e	f
T13	10F Y 3R	10	3	0,05				d	e	f
T14	10F Y 6R	10	6	0,05				d	e	f
T15	10F Y 12R	10	12	0,04				d	e	f
T16	10F Y 24R	10	24	0,03					e	f
T18	20F Y 6R	20	6	0,03						f
T21	30F Y 3R	30	3	0,03						f
T24	30F Y 24R	30	24	0,03						f
T23	30F Y 12R	30	12	0,03						f
T20	20F Y 24R	20	24	0,02						f
T1	0F Y 12R	0	12	0,02						f
T7	30F Y 12R	30	12	0,02						f
T6	20F Y 24R	20	24	0,02						f
T4	10F Y 24R	10	24	0,02						f
T5	20F Y 12R	20	12	0,02						f
T7	30F Y 12R	30	12	0,02						f
T22	30F Y 6R	30	6	0,01						f

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

La diferenciación de medias de los tratamientos, mostrada en la tabla que antecede, muestra que el porcentaje de materia seca está relacionado con las variables morfológicas que se describieron con anterioridad, dependientes de su crecimiento foliar y desarrollo del mismo, así una mayor área foliar y duración de la misma podría conducir a una mayor cantidad de materia seca y por ende un rendimiento más alto (Estrada, 1999).

11.11.2. Efectos simples de materia seca

Tabla 26: Efectos simples de materia seca

Factor A: Días de frío	%	Factor B: Horas remojo	%
0 días	0,09a	3 horas	0,07a
10 días	0,08a	6 horas	0,06a
20 días	0,06b	12 horas	0,06a
30 días	0,06b	24 horas	0,05a

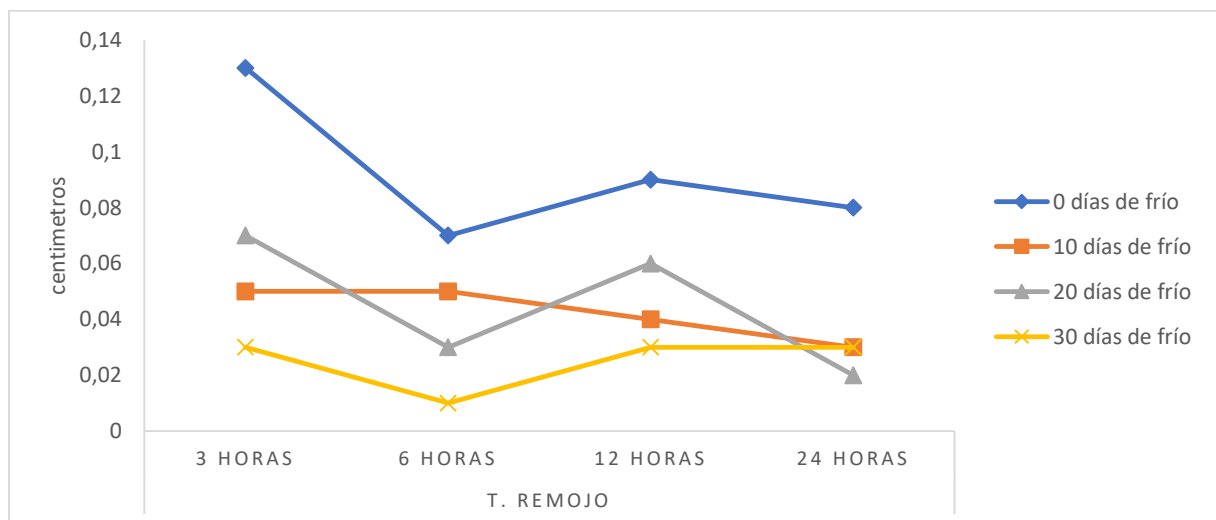
CV: 9,32

Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

El análisis de los factores de manera independiente, resalta a los tratamientos que fueron sometidos a menor tiempo de frío (0 y 10 días), como los mejores en cuanto a porcentaje de materia seca versus los días de 20 y 30.

11.11.3. Interacciones de materia seca

Figura 11. Interacción de la materia seca del efecto bioestimulante *trichoderma harzianum rifai* en semillas de *clitoria ternatea* sometidas a diferentes periodos de frío y remojo.



Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

La figura 8, representa las medias de interacción entre los días de frío y el número de horas de remojo que se dieron a las semillas y muestra cómo, los tratamientos sometidos a mayor tiempo de refrigeración obtuvieron el menor porcentaje de materia seca, esto podría relacionarse con el limitado crecimiento radicular que presentaron debido al espacio, ya que, aunque la arquitectura radicular es un parámetro genético, el tamaño del área de suelo otorgado para su desarrollo afectar la relación entre longitud y número de raíces y por ende el desarrollo de la parte aérea (Casanova et al. 2009).

Todo lo anteriormente mostrado, deja resaltado que el factor de influencia principal son los días de frío y no tanto las horas de remojo. Estos resultados podrían relacionarse con condiciones propias de la plántula y con el medio en el que se desarrollaron. Otra posible causa es la mencionada por Sánchez *et al.* (2011), donde se expresa que la temperatura del suelo es un factor importante al momento de la germinación y así también el paso de la luz a través de este, que permitiría el calentamiento y por ende una mejor emergencia, así las condiciones climáticas que presentó la zona durante el periodo de investigación pudieron haber afectado su proceso y en especial en las semillas sometidas a largos periodos de frío, lo cual parecía no facilita la superación de la cubierta seminal (González *et al.* 2008).

12. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES Y ECONÓMICOS)

Concluida la investigación, se establecieron los impactos generados por la propuesta.

Impacto técnico. El estudio efectuado permitirá ofrecer alternativas que mejoren la producción de plántulas de este cultivo y posiblemente de muchas otras, permitiendo así propagar semillas de una manera más eficiente y en mayor cantidad, logrando de esta manera un mejor uso de las semillas y sus recursos.

Impacto social. Los agricultores que conocerán sobre el uso del frío como una estrategia que les facilite la conservación de las semillas tendrán la posibilidad de reciclar la misma para poder usarla cualquier época de año evitando pérdidas poscosecha. Sumado al beneficio que conocerán el uso del hongo como promotor de germinación en cualquier época

Impacto ambiental. Conocerán sobre la aplicación de este hongo y su capacidad para mejorar propiedades y características no solo de la plántula sino también del suelo, al favorecer un buen desarrollo en las plántulas reduce la aplicación de productos de síntesis química., mitigando el daño ocasionado por los mismos.

Impacto económico. El obtener resultados que sean favorables y en beneficio de los agricultores o productores, generará una repercusión positiva en los mismos en cuanto al factor económico, ya que les permitirá generar un ahorro en el costo de producción, disminuir pérdidas por daño en las semillas además de lo ya mencionado en el impacto social, considerando que estos van ligados de la mano.

13. PRESUPUESTO

Los recursos económicos requeridos para el desarrollo del presente ensayo fueron exclusivos de las tesis y en la tabla a continuación se detallan los valores:

Descripción	Cantidad	Costo Unitario	Costo total
Semillas de clitoria	700	0,07\$	50\$
Bandejas germinadoras	4	4\$	16\$
<i>Trichoderma</i>	3	10\$	3\$
Tierra de Cacao	2qq	10\$	20\$
Diatomeas	1	16\$	16\$
Envases plásticos	6	0,50	3\$
Jeringa	1	0,25\$	0,25\$
Agua destilada	8 botellas	0,60 \$	4,80\$
Guantes	8 pares	0,75 \$	6\$
Mascarillas	8 pares	0,25\$	2\$
Estilete	1	1\$	1\$
Calibrador	1	1\$	1\$
Bolsa hermética aluminizada	3	0,10\$	0,30\$
Cuaderno de campo	1	1\$	1\$
Cinta métrica	1	0,60 \$	0,60 \$
Cinta de rotulado	1	0,70 \$	0,70 \$
Marcador permanente	1	0,75 \$	0,75 \$
Pasajes	2	0,35\$	0,70 \$
Traslado de tierra de cacao	2QQ	10\$	10\$
Balanza de humedad	1	0	0
Balanza de pesado eléctrica	1	0	0
Probeta	1	0	0
Mandil	1	10\$	10\$
Subtotal		63,57 \$	139 \$
Imprevistos (5%)		3,17	6,95
Total		66,47 \$	145,95\$

Elaborado por: Pastuña y Terán (2022).

14. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

14.1. Conclusiones

- El tiempo de remojo que fue más efectivo en el proceso de emergencia en base con sus interacciones fue el tratamiento T9 de 3 horas de remojo en *Trichoderma* con una media de germinación de 43,33%, lo cual indicó la influencia de *Trichoderma harzianum* en este proceso, sin embargo, para los testigos el de mejor germinación fue el T3 con 12 horas de remojo en agua, lo cual demostró una reducción en el tiempo de remojo cuando se usa el bioestimulante.
- Para el caso del factor frío, aquel que mostró una mayor influencia en la germinación fue el del T9 con 0 días de frío, confirmando que las semillas de *Clitoria ternatea* recién cosechadas presentaron mayor viabilidad, misma que se va perdiendo con el pasar de los días.
- Los análisis de los factores en estudio, días de frío y tiempo de remojo de manera independiente, mostraron el nulo efecto de esta última en las variables de altura de plántula, diámetro del tallo, longitud de hojas funcionales y número de hojas funcionales a los 30 días, evidenciando en cambio que si existe, influencia del tiempo de frío y que los mejores resultados se obtuvieron con los menores tiempos. Para el caso de largo de raíz, peso de raíz, volumen de raíz y materia seca se observó que existen diferencias entre estos factores y que los tiempos de remojo que brindaron mejores resultados fueron los de 3 y 6 horas de remojo. Esto debido a que, al momento que interactúan entre sí, se evidencia diferencias estadísticas, mismas que no son muy marcadas, posiblemente debido al límite de espacio al que fueron sometidas, lo cual disminuyó su desarrollo.
- Todas las variables estudiadas mostraron que los tratamientos con cero o diez días de frío en los diferentes niveles de remojo fueron los de mejores resultados, pese a que las diferencias entre sí fueron mínimas y en algunos casos sin una diferencia estadística significativa.
- En base con los resultados obtenidos de las variables evaluadas, se acepta la hipótesis alternativa la cual menciona que si existe influencia de la interacción de las horas de remojo con los días de frío en el presente ensayo.

14.2. Recomendaciones

- Realizar la investigación con plántulas sembradas a campo abierto para que el factor espacio no sea una limitante, éstas puedan tener un mejor desarrollo y obtener resultados fiables de desarrollo morfológico.
- Se sugiere también probar diferentes temperaturas de frío, que permitan corroborar los resultados obtenidos o a su vez, indicar posibles temperaturas donde no se vea afectada el desarrollo del embrión y la germinación sea uniforme.
- Por último, probar tiempos de remojo diferentes a los usados en este ensayo para verificar una posible influencia en su desarrollo vegetativo y materia seca.

15. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu, M. L. C., Vieira, R. A. M., Rocha, N. S., Araujo, R. P., Glória, L. S., Fernandes, A. M., De Lacerda, P. D., & Gesualdi, A. (2014). Clitoria ternatea L. as a potential high quality forage legume. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*.
<https://doi.org/10.5713/ajas.2013.13343>
- Alberto, J., & Gallegos, A. (2008). Relación entre índice de área foliar y rendimiento en frijol bajo condiciones de secano. *Agricultura Técnica En México*.
- Araméndiz Tatis, H., Cardona Ayala, C., & Ruíz Pérez, A. (2017). Efecto del almacenamiento en la calidad fisiológica de semilla de moringa (*Moringa oleifera* Lam.). *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*. <https://doi.org/10.31910/rudca.v20.n1.2017.65>
- Arana, S. V. & V. (2011). Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos. *Unidad de Genética Ecológica y Mejoramiento Forestal, INTA EEA Bariloche*
Arana@agro.Uba.Ar.
- Argumedo-Delira, R., Alarcón, A., Ferrera-Cerrato, R., & Peña-Cabriales, J. J. (2009). EL GÉNERO FÚNGICO *Trichoderma* Y SU RELACIÓN CON CONTAMINANTES ORGÁNICOS E INORGÁNICOS. *Rev. Int. Contam. Ambient*, 25(4), 257–269.
- Arista, M. (1993). Germinación de las semillas y supervivencia de las plántulas de *Abies pinsapo* Boiss. *Acta Botanica Malacitana*. <https://doi.org/10.24310/abm.v18i.8991>
- Balaguera, H. E., Álvarez, J. G., & Cárdenas, J. (2010). crecimiento inicial de *Hymenaea courbaril* L. en condiciones de vivero. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*. <https://doi.org/10.31910/rudca.v13.n2.2010.735>
- Bautista, P. (2015). *COMPORTAMIENTO AGRONÓMICO, COMPOSICIÓN QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE Clitoria ternatea EN DIFERENTES ESTADOS DE MADUREZ*. <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/1551/1/T-UTEQ-0187.pdf>
- Bolaños, L., Redondo-Nieto, M., Bonilla, I., & Wall, L. G. (2002). Boron requirement in the *Discaria trinervis* (Rhamnaceae) and *Frankia* symbiotic relationship. Its essentiality for *Frankia* BCU110501 growth and nitrogen fixation. *Physiologia Plantarum*.
<https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2002.1150410.x>
- Calvo, P., & Zúñiga, D. (2010). CARACTERIZACIÓN FISIOLÓGICA DE CEPAS de *Bacillus* spp. AISLADAS DE LA RIZÓSFERA DE PAPA (*Solanum tuberosum*).

- Ecología Aplicada*. <https://doi.org/10.21704/rea.v9i1-2.393>
- Caroca, R., Zapata, N., & Vargas, M. (2016). EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LA GERMINACIÓN DE CUATRO GENOTIPOS DE MANÍ (*Arachis hypogaea* L.). *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences*. <https://doi.org/10.4067/s0719-38902016000200002>
- Carranza, C., Castellanos, G., Deaza, D., & Miranda, D. (2016). Efecto de la aplicación de reguladores de crecimiento sobre la germinación de semillas de badea (*Passiflora quadrangularis* L.) en condiciones de invernadero. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*. <https://doi.org/10.17584/rcch.2016v10i2.5791>
- Casanova Lugo, F., Escamilla Bencomo, J., & Ramírez Avilés, L. (2009). MODELO TEÓRICO PARA LA ESTIMACIÓN DE LA DENSIDAD RADICULAR DE DOS ESPECIES LEÑOSAS. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*.
- Castellanos González, L., & Santana Díaz, T. (2017). Efecto bioestimulante de *Trichoderma harzianum* Rifai en posturas de *Leucaena*, Cedro y Samán. *Colombia Forestal*. <https://doi.org/10.14483/2256201x.11744>
- Castillo Reyes, F., Castillo Quiroz, D., Sáenz Ceja, J. E., Rueda Sánchez, A., & Sáenz Reyes, J. T. (2022). Efectos del pretratamiento con *Trichoderma* y *Bacillus* en la germinación de semillas de *Agave victoriae-reginae* T. Moore. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v13i69.844>
- Castro-Rincón, E., Mojica-Rodríguez, J. E., Corulla-Fornaguera, J. E., & Lascano-Aguilar, C. E. (2018). Abonos verdes de leguminosas: integración en sistemas agrícolas y ganaderas del trópico. *Agronomía Mesoamericana*. <https://doi.org/10.15517/ma.v29i3.31612>
- Castro Lizazo, I., Calero Hurtado, A., Rodríguez Hernández, M. G., Peláez Casas, A., Martínez Balmori, D., & Pérez Díaz, Y. (2022). Potencialidades de dos bioestimulantes en la germinación y el crecimiento de las plántulas de tomate. *Ciencia & Tecnología Agropecuaria*. https://doi.org/10.21930/rcta.vol23_num1_art:2343
- Caviedes Cepeda, G. M. (2019). Producción de semilla de maíz en el Ecuador: retos y oportunidades. *ACI Avances En Ciencias e Ingenierías*. <https://doi.org/10.18272/aci.v11i1.1100>
- De la Cruz Ascencio, A. D., & Vargas Simón, G. (2019). VIABILIDAD DE SEMILLAS DE PICH (*Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb.) CONSERVADAS EN

CONDICIONES DE REFRIGERACIÓN. *Kuxulkab*.

<https://doi.org/10.19136/kuxulkab.a25n53.3399>

De la cuadra, C. (2011). GERMINACION, LATENCIA Y DORMICION DE LAS SEMILLAS. *Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentacion*, 50(10), 1089–1092.
https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1992_03.pdf

Díaz-Prieto, L., Vázquez-Luna, D., Jarquín-Sánchez, A., Velázquez-Silvestre, A., & Lara-Rodríguez, D. (2017). Especies tropicales (FABACEAE): inversión asociada al aporte rizosférico de nitrógeno y fósforo al suelo. *Agroproductividad*.

Domínguez-Liévano, A., & Espinosa-Zaragoza, S. (2021). Evaluación de sustratos alternativos en la germinación y crecimiento inicial de *Hymenaea courbaril* L. en condiciones de vivero. *Revista Forestal Del Perú*.
<https://doi.org/10.21704/rfp.v1i36.1707>

Estrada, J. A. E. (1999). Área foliar, senescencia y rendimiento del girasol de humedad residual en función del nitrógeno. *Área Foliar, Senescencia y Rendimiento Del Girasol de Humedad Residual En Función Del Nitrógeno*.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura - FAO. (2017). *La situación actual de la sustitución de insumos agroquímicos por productos biológicos como estrategia en la producción agrícola: El sector florícola ecuatoriano* (p. 117).
<https://www.fao.org/3/ad232s/ad232s08.htm>

Flechas-Bejarano, N., & Medina-Rivera, R. (2021). Efecto del almacenamiento en la viabilidad, germinación y vigor de semillas de *Coffea arabica* L. *Revista Cenicafé*.
<https://doi.org/10.38141/10778/72206>

Gaitán, J., & Penón, E. (2003). Efecto de la resistencia mecánica del suelo sobre la densidad de raíces finas de *Eucalyptus globulus*. *Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales*.

Galíndez, G., Ceccato, D., Malagrina, G., Pidal, B., Chilo, G., Bach, H., Fortunato, R., & Ortega-Baes, P. (2016). Dormición física de las semillas de leguminosas nativas de Argentina. *Boletín de La Sociedad Argentina de Botánica*.
<https://doi.org/10.31055/1851.2372.v51.n1.14370>

González Ortega, M. P., Quiroz Marchant, I., García Rivas, E., & Gutiérrez Caro, B. (2008). Escarificación química con ácido sulfúrico como tratamiento pregerminativo para

- semillas de Toromiro (*Sophora toromiro* Skotts.) = Chemical scarification with sulphuric acid as pregerminative treatment for Toromiro (*Sophora toromiro* Skotts.) seeds. *Ciencia & Investigación Forestal*. <https://doi.org/10.52904/0718-4646.2008.95>
- Hernández Epigmenio, S., Rodríguez-Trejo, D. A., Granados Sánchez, D., & Cadena Meneses, J. A. (2021). Latencia física, morfoanatomía y análisis proximal de la semilla de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. *Entreciencias: Diálogos En La Sociedad Del Conocimiento*. <https://doi.org/10.22201/enesl.20078064e.2021.23.79675>
- InfoAgro. (2018). *El proceso de la germinación de semillas. Factores que afectan a la germinación*. 1–17. https://www.infoagro.com/documentos/el_proceso_germinacion_semillas__factores_que_afectan_a_germinacion.asp#menuHeaderSectores
- Jarre-mendoza, V. (2020). *Influencia de bioestimulantes sobre el crecimiento y el rendimiento de cultivos de ciclo corto en Manabí, Ecuador*. 41(4).
- Jiménez, E., Garcías, L., Carranza, M., Carranza, H., Morante, J., Martínez, M., & Cuásquer, J. (2017). Germination and growth of *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urb. in Ecuador. *Scientia Agropecuaria*. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2017.03.07>
- Lima, L. C. P., Garcia, F. C. P., & Sartori, Â. L. B. (2007). Leguminosae nas florestas estacionais do Parque Estadual do Itacolomi, Minas Gerais, Brasil: ervas, arbustos, subarbustos, lianas e trepadeiras. *Rodriguésia*. <https://doi.org/10.1590/2175-7860200758209>
- Liusvert Pérez Pérez, J., del Socorro Blanco Tirado, T., García Rodríguez, L., Veitía Rodríguez, N., Bermúdez Carabaloso, I., Collado, R., Torres, D., & Romero, C. (2012). Influencia del tipo e intensidad de luz en la formación y multiplicación de embriones somáticos de soya. *Colombia Biotecnología*.
- López-Valdez, A. P., Alvarado-Vázquez, M. A., Díaz-Jiménez, L., & Rocha-Estrada, A. (2020). Efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento en la concentración de algunas fitohormonas y germinación de las semillas del chile piquín *Capsicum annum* var. *glabriusculum* (Dunal) Heiser & Pickersgill. *Polibotánica*. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.50.6>
- Ludeña M., C. (2011). *Comportamiento agronómico y valoración nutricional de Kudzu tropical (*Pueraria phaseoloides*) y clitoria (*Clitoria ternatea*)*. 62.

- Malpartida-Zevallos, J., Narrea-Cango, M., & Dale-Larraburre, W. (2013). PATOGENICIDAD DE *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., SOBRE EL GUSANO DEFOLIADOR DEL MARACUYÁ *Dione juno* (Cramer) (Lepidoptera: Nymphalidae) EN LABORATORIO. *Ecología Aplicada*. <https://doi.org/10.21704/rea.v12i1-2.440>
- Maqueira-López, L. A., Roján-Herrera, O., Solano-Flores, J., & Milagros-Santana, I. (2021). Germinación de semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) a diferentes temperaturas. *Cultivos Tropicales*.
- Marín Morales, J. G. (1977). *Factores que afectan el crecimiento de las plantas*. (pp. 25–50). <http://hdl.handle.net/20.500.12324/22033>
- Miguel-Ferrer, L., Romero-Arenas, O., Andrade-Hoyos, P., Sánchez-Morales, P., Rivera-Tapia, J. A., Fernández-Pavía, S. P., Miguel-Ferrer, L., Romero-Arenas, O., Andrade-Hoyos, P., Sánchez-Morales, P., Rivera-Tapia, J. A., & Fernández-Pavía, S. P. (2021). Actividad antifúngica de *Trichoderma harzianum* y *T. koningiopsis* contra *Fusarium solani* asociado en la germinación y vigor de plántulas de chile Miahuateco. *Revista Mexicana de Fitopatología*.
- Ortiz-Espinoza, E., Villegas-Rodríguez, F., Ramírez-Tobías, H. M., Hernández-Arteaga, L. E. del S., & Marín-Sánchez, J. (2020). La inoculación con hongos endófitos entomopatógenos en semilla genera una respuesta fisiológica y promueve el crecimiento vegetal en plantas de chile poblano en invernadero. *Nova Scientia*. <http://doi.org/10.21640/ns.v12i25.2586>
- Peñarrieta Olvera, L. (2015). “PRODUCCIÓN DE SANDIA (*Citrullus lanatus*) CON DOS SISTEMAS DE TUTOREO EN EL CENTRO EXPERIMENTAL LA PLAYITA DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI EXTENSIÓN LA MANÁ 2015” [UNIVERSIDAD TECNICA DE COTOPAXI]. <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/3547/1/T-UTC-00824.pdf>
- Pérez-Martínez, L. V., Rodríguez-Castillo, N. A., Ríos, O. V., & Melgarejo, L. M. (2014). Germinación y dormancia de semillas. In *Germinación y dormancia de semillas*.
- Pérez, Y. ., Hurtado, A., & Ayala, L. (2013). Efecto bioestimulante de dos formulados líquidos de *Trichoderma harzianum* Rifai A-34 en la producción protegida de tomate el cultivo de tomate protegido. *40(3)*, 53–56.
- Pincay, R., Luna, R., Augusto, K., Cunuhay, E., Omar, H., & Suárez, E. (2021).

- Escarificación química y biológica en la emergencia y crecimiento de *Clitoria ternatea*
 Chemical and biological scarification in the emergence and growth of *Clitoria ternatea*.
Revista de Centro de Investigaciones Agropecuarias.
- Podagro. *cia. Ltda.* (Vol. 5, pp. 4–5). (2020). podagro
- Reino, J., Sanchez, J. A., Munoz, B., Gonzalez, Y., & Montejo, L. (2011). Efecto combinado de la escarificación y la temperatura en la germinación de semillas de leguminosas herbáceas. *Pastos y Forrajes*.
- Restrepo Giraldo, K. J., Montoya Correa, M. I., Henao Jaramillo, P., Gutiérrez, L. A., & Molina Guzmán, L. P. (2019). Caracterización de hongos micorrízicos arbusculares de suelos ganaderos del trópico alto y trópico bajo en Antioquia, Colombia. *Idesia (Arica)*. <https://doi.org/10.4067/s0718-34292019005000301>
- Rios Geovo, V., Córdoba-Tovar, L., Ramírez Mosquera, P. L., Copete Arroyo, J. H., & Ramos Barón, P. A. (2020). Métodos de escarificación química y sus efectos en la germinación de semillas de *Ochroma pyramidale* Cav. ex Lam. Urb. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*. <https://doi.org/10.22490/21456453.3727>
- Sánchez Arellano, J. G., Parra-Galindo, M. A., Silva-Olivas, M. F., & Pedroza-Pérez, D. (2011). EFECTO DE LA TEMPERATURA Y TIEMPO DE ALMACENAMIENTO SOBRE LA VIABILIDAD EN SEMILLAS DE ZÁMOTA (*Coursetia glandulosa*, Gray). *BIOtecnia*. <https://doi.org/10.18633/bt.v13i3.99>
- Suarez, H., Mercado, W., Ramirez, M., Bracho, B., Rivero, J., & Garcia, D. E. (2012). Caracterización morfoagronómica y evaluación del contenido proteínico en dos genotipos de *Clitoria ternatea* L. cultivados en un sistema de espalderas. *Pastos y Forrajes*.
- Torrez, A. A. A., Chevreuil, L. R., de Sousa, K. A., Sampaio, P. de T. B., Bruno, F. S., & Sales-Campos, C. (2018). Tratamientos químico y biológico en semillas de aniba rosaeodora para el control de *heilipus odoratus* (Coleoptera, Curculionidae, Molytinae) en viveros, Amazonas, Brasil. *Bosque*. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002018000200299>
- Valverde-Lucio, Y., Moreno-Quinto, J., Quijije-Quiroz, K., Castro-Landín, A., Merchán-García, W., & Gabriel-Ortega, J. (2020). Los bioestimulantes: Una innovación en la agricultura para el cultivo del café (*Coffea arábica* L) Biostimulants: An innovation in

- agriculture for coffee cultivation (*Coffea arabica* L.). *Journal of the Selva Andina Research Society*.
- Vargas, R. H. (2014). Antagonismo de trichoderma koningiopsis y trichoderma harzianum sobre fusarium oxysporum f. Sp. Cepae y phoma terrestris in vitro. *Trichoderma*, 1–126. <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/3193/AGvaverh.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Vásquez, W., Pupiales, P., Viera, P., Andrea, V., Carlos, S., Diego, F., & William, C. (2019). ESCARIFICACIÓN QUÍMICA Y APLICACIÓN DE ÁCIDO GIBERÉLICO PARA LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE CULTIVARES DE MORA (*Rubus glaucus* BENTH). *Interciencia*.
- Vazquez-Yanes, C., & Toledo, J. R. (2017). El almacenamiento de semillas en la conservación de especies vegetales. Problemas y aplicaciones. *Botanical Sciences*. <https://doi.org/10.17129/botsci.1366>
- Villanueva-Avalosa, J. F., Bonilla-Cárdenasa, J. A., Rubio Cejaa, J. V., & Bustamante-Guerrero, J. de J. (2004). Agrotecnia y utilización de *Clitoria ternatea* en sistemas de producción de carne y leche. *Técnica Pecuaria En Mexic*.
- Viveros Viveros, H., Hernández Palmeros, J. D., Velasco García, M. V., Robles Silva, R., Ruiz Montiel, C., Aparicio Rentería, A., Martínez Hernández, M. D. J., Hernández Villa, J., & Hernández Hernández, M. L. (2018). Análisis de semilla, tratamientos pregerminativos de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. y su crecimiento inicial. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v6i30.207>
- Vukelić, I. D., Prokić, L. T., Racić, G. M., Pešić, M. B., Bojović, M. M., Sierka, E. M., Kalaji, H. M., & Panković, D. M. (2021). Effects of trichoderma harzianum on photosynthetic characteristics and fruit quality of tomato plants. *International Journal of Molecular Sciences*. <https://doi.org/10.3390/ijms22136961>
- Wang, Z., Li, Y., Zhuang, L., Yu, Y., Liu, J., Zhang, L., Gao, Z., Wu, Y., Gao, W., Ding, G. chun, & Wang, Q. (2019). A Rhizosphere-Derived Consortium of *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum* Suppresses Common Scab of Potato and Increases Yield. *Computational and Structural Biotechnology Journal*. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2019.05.003>
- Willan, R. L. F. (1991). *Guía para la manipulación de semillas forestales*. Organización de

Las Naciones Unidas Para La Alimentación y La Agricultura FAO.

Zin, N. A., & Badaluddin, N. A. (2020). Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. In *Annals of Agricultural Sciences*.

<https://doi.org/10.1016/j.aos.2020.09.003>

ANEXOS

Anexo 1. Currículum del tutor



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

DATOS INFORMATIVOS PERSONAL DOCENTE

DATOS PERSONALES

APELLIDOS: PINCAY
RONQUILLO

NOMBRES: WELLINGTON
JEAN

ESTADO CIVIL: SOLTERO

CEDULA DE CIUDADANÍA: 1206384586



NÚMERO DE CARGAS FAMILIARES: 1

LUGAR Y FECHA DE NACIMIENTO: VINCES, ECUADOR 04 NOVIEMBRE 1988

DIRECCIÓN DOMICILIARIA: CALLES CALABI Y SACARIAZ IZA, CANTON LA MANÁ

TELÉFONO CONVENCIONAL: 791338 **TELÉFONO CELULAR:** 0980754794

EMAIL INSTITUCIONAL: wellington.pincay4586@utc.edu.ec

ESTUDIOS REALIZADOS Y TÍTULOS OBTENIDOS

NIVEL	TITULO OBTENIDO	FECHA DE REGISTRO	CÓDIGO DEL REGISTRO SENESCYT
TERCER	INGENIERO AGRÓNOMO	28/10/2013	1006-13- 1245059
CUARTO	MÁSTER UNIVERSITARIO EN AGROINGENIERÍA	25/10/2016	724188980

HISTORIAL PROFESIONAL

UNIDAD ADMINISTRATIVA O ACADÉMICA EN LA QUE LABORA:

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

ÁREA DEL CONOCIMIENTO EN LA CUAL SE DESEMPEÑA:

TECNOLOGÍAS Y CIENCIAS AGRÍCOLAS

FECHA DE INGRESO A LA UTC: 5 DE NOVIEMBRE DE 2018

Anexo 2. Curriculum de estudiantes



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
DATOS INFORMATIVOS PERSONAL
ESTUDIANTE

DATOS INFORMATIVOS PERSONALES DEL ESTUDIANTE**DATOS PERSONALES**

APELLIDOS: PASTUÑA
TOAQUIZA

NOMBRES: DIANA VANESSA

ESTADO CIVIL: SOLTERO

CEDULA DE CIUDADANÍA: 0504545419

NUMERO DE CARGAS FAMILIARES: 1

LUGAR Y FECHA DE NACIMIENTO: COTOPAXI- SIGCHOS- INSILIVI,
ECUADOR 12 DE JUNIO DEL 2000

DIRECCIÓN DOMICILIARIA: VIA A LA PLAYITA, CALLE PUJILI Y CAÑAR,
CANTON LA MANÁ

TELÉFONO CELULAR: 0992255854

EMAIL INSTITUCIONAL: diana.pastuna5419@utc.edu.ec

TIPO DE DISCAPACIDAD: NINGUNO

NUMERO DE CARNET CONADIS: NINGUNO

ESTUDIOS REALIZADOS Y TÍTULOS OBTENIDOS

NIVEL	TITULO OBTENIDO	FECHA DE REGISTRO
BACHILLERATO	TITULO DE BACHILLER EN CIENCIAS	06/03/2018





UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
DATOS INFORMATIVOS PERSONAL
ESTUDIANTE

DATOS INFORMATIVOS PERSONALES DEL ESTUDIANTE

DATOS PERSONALES

APELLIDOS: TERÁN MOLINA

NOMBRES: SILVIA ALEXANDRA

ESTADO CIVIL: SOLTERO

CEDULA DE CIUDADANÍA: 1726099326

NUMERO DE CARGAS FAMILIARES: NINGUNO

LUGAR Y FECHA DE NACIMIENTO: QUITO, ECUADOR 27 DE MARZO DE 1988

DIRECCIÓN DOMICILIARIA: AV 19 DE MAYO Y LOS ÁLAMOS, CANTON LA MANÁ

TELÉFONO CELULAR: 0998513743

EMAIL INSTITUCIONAL: silvia.teran9326@utc.edu.ec

TIPO DE DISCAPACIDAD: NINGUNO

NUMERO DE CARNET CONADIS: NINGUNO

ESTUDIOS REALIZADOS Y TÍTULOS OBTENIDOS



NIVEL	TITULO OBTENIDO	FECHA DE REGISTRO
BACHILLERATO	TITULO DE BACHILLER EN CIENCIAS	24/07/2017

Anexo 3. Contrato de cesión no exclusiva de derechos de autor

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte: Pastuña Toaquizza Diana Vanessa con C.C. 0504545419 y Terán Molina Silvia Alexandra con C.C. 1726099326, de estado civil soltera/os y con domicilio en La Mana, a quien en lo sucesivo se denominará **LOS CEDENTES**; y, de otra parte, el Ing. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez Ph. D., en calidad de Rector y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez Barrio El Ejido Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. - **LAS CEDENTES** es una persona natural estudiante de la carrera de **Ingeniería Agronómica**, titulares de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado: **“Efecto bioestimulante de *trichoderma harzianum rifai* en semillas de *clitoria ternatea* sometidos a diferentes periodos de frío y remojo”** la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad según las características que a continuación se detallan:

Historial académico. Abril 2018 – agosto 2022.

Aprobación HCA. -

Tutor. - Ing. Wellington Jean Pincay Ronquillo, MSc.

Tema: **“Efecto bioestimulante de *trichoderma harzianum rifai* en semillas de *clitoria ternatea* sometidos a diferentes periodos de frío y remojo”**

CLÁUSULA SEGUNDA. - **LA CESIONARIA** es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA. - Por el presente contrato, **LOS CEDENTES** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

CLÁUSULA CUARTA. - OBJETO DEL CONTRATO: Por el presente contrato **LOS CEDENTES**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.

b) La publicación del trabajo de grado.

c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.

d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.

f) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA. - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LOS CEDENTES** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

CLÁUSULA SEXTA. - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD. - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **LOS CEDENTES** podrá utilizarla.

CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. - LA CESIONARIA podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **LAS CEDENTES** en forma escrita.


CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la

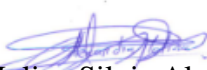
resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA. - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA. - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga a los 30 días del mes de agosto del 2022.


Pastuña Toaquiza Diana Vanessa
LA CEDENTE


Terán Molina Silvia Alexandra
LA CEDENTE

Ing. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez PhD.
EL CESIONARIO










Anexo 4. Certificado de Urkund



Document Information

Analyzed document	PDF PASTUÑA-TERAN.pdf (D143271689)
Submitted	2022-08-26 04:35:00
Submitted by	
Submitter email	kleber.espinosa@utc.edu.ec
Similarity	3%
Analysis address	kleber.espinosa.utc@analysis.urkund.com

Sources included in the report

SA	URKUND_TANIA_WALLANCAÑAY.pdf Document URKUND_TANIA_WALLANCAÑAY.pdf (D120066824)		2
SA	10.TESIS PAÚL CHOEZ.pdf Document 10.TESIS PAÚL CHOEZ.pdf (D111617801)		2
SA	Trabajo_Integración_Curricular_Edgar_Sebatián_Reinoso_Montesdeoca_FORESTAL.URKUND.pdf Document Trabajo_Integración_Curricular_Edgar_Sebatián_Reinoso_Montesdeoca_FORESTAL.URKUND.pdf (D112528204)		1
SA	PROYECTO FINAL.docx Document PROYECTO FINAL.docx (D45045627)		2
SA	TESIS M.M.docx Document TESIS M.M.docx (D137700256)		3
SA	Hongo trichoderma Harzianum.pdf Document Hongo trichoderma Harzianum.pdf (D142276604)		1
SA	tesis bedon 2016.docx Document tesis bedon 2016.docx (D18240053)		2
SA	URKUND_TESIS.pdf Document URKUND_TESIS.pdf (D136579918)		1
SA	JannethCurichumbi.pdf Document JannethCurichumbi.pdf (D110989709)		1

Entire Document

Anexo 5. Aval de traducción del idioma inglés**AVAL DE TRADUCCIÓN**

En calidad de Docente del Idioma Inglés del Centro de Idiomas de la Universidad Técnica de Cotopaxi; en forma legal CERTIFICO que:

La traducción del resumen al idioma Inglés del proyecto de investigación cuyo título versa: **EFFECTO BIOESTIMULANTE DE *trichordema harzianum rifai* EN SEMILLAS DE *clitoria ternatea* SOMETIDOS A DIFERENTES PERIODOS DE FRÍO Y REMOJO** presentado por: **Diana Vanessa Pastuña Toaquizza, Silvia Alexandra Terán Molina** egresados de la Carrera de: **Agronomía**, perteneciente a la **Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales**, lo realizó bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical del Idioma.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo al peticionario hacer uso del presente aval para los fines académicos legales.

La Maná, 26 Agosto del 2022

Atentamente,



Firmado digitalmente por:
**SEBASTIAN
FERNANDO RAMON
AMORES**

Mg. Ramón Amores Sebastián Fernando
DOCENTE DEL CENTRO DE IDIOMAS
C.I: 050301668-5

Anexo 6. Evidencias Fotográficas

Figura 1: Desinfección de tierra



Elaborado por: Pastuña & Terán

Figura 2: Ingreso de las semillas rotuladas en la cámara de refrigeración del laboratorio de Germoplasma



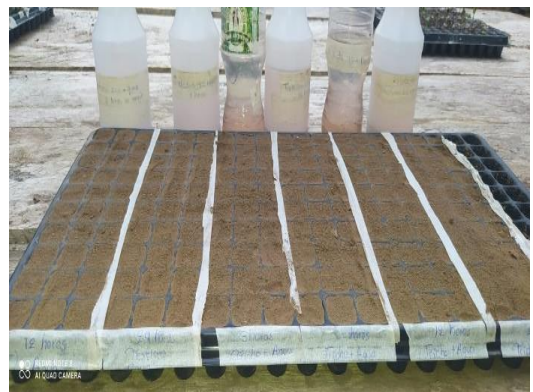
Elaborado por: Pastuña & Terán

Figura 3: Preparación de la solución de trichoderma



Elaborado por: Pastuña & Terán

Figura 4: Rotulación de la bandeja germinadora



Elaborado por: Pastuña & Terán

Figura 5: Siembra de semillas de *Clitoria ternatea*



Elaborado por: Pastuña & Terán

Figura 6: Germinación de semillas



Elaborado por: Pastuña & Terán

Resgriro de las variables en el laboratio a los 30 días

Figura 7: Toma de datos en laboratorio



Elaborado por: Pastuña & Terán

Figura 8: Altura de planta



Elaborado por: Pastuña & Terán

Figura 9: Diametro de tallo



Elaborado por: Pastuña & Terán

Figura 10: Numero de hojas



Elaborado por: Pastuña & Terán

Figura 11: Longitud de hojas



Elaborado por: Pastuña & Terán

Figura 12: Largo de raiz



Elaborado por: Pastuña & Terán

Figura 13: Peso de raíz



Elaborado por: Pastuña & Terán

Figura 14: Volumen de raíz



Elaborado por: Pastuña & Terán

Figura 14: Peso fresco de la parte aérea de la plantula



Elaborado por: Pastuña & Terán

Figura 14: Secado de plantula (Balanza de humedad)



Elaborado por: Pastuña & Terán

