



# **UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI**

## **FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

### **CARRERA DE AGRONOMÍA**

#### **PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

**“EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE *Metarhizium spp.*  
FRENTE A FACTORES ABIÓTICOS: ENSAYOS *IN VITRO* Y EN  
PLÁNTULAS DE TOMATE RIÑÓN”**

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de  
Ingeniera Agrónoma

**Autora:**  
Chanchicocha Chillagana Jennyfer Vanesa

**Tutora:**  
Arévalo Granda Johanna Valentina

**LATACUNGA-ECUADOR**

**Marzo 2026**

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Chanchicocha Chillagana Jennyfer Vanesa, con cédula de ciudadanía No. 1751995679, declaro ser autora del presente Proyecto de Investigación: **“EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE *Metarhizium spp.* FRENTE A FACTORES ABIÓTICOS: ENSAYOS IN VITRO Y EN PLÁNTULAS DE TOMATE RIÑÓN”**, siendo la Ingeniera Mg. Johanna Valentina Arévalo Granda, Tutora 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 mi exclusiva responsabilidad.

Latacunga, 23 de febrero del 2026

Jennyfer Vanesa Chanchicocha Chillagana  
C.C: 1751995679  
**ESTUDIANTE**

## CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTORA

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **CHANCHICOCHA CHILLAGANA JENNYFER VANESA**, identificada con cédula de ciudadanía 1751995679 de estado civil soltera, a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, la Doctora Idalia Eleonora Pacheco Tigselema, en calidad de Rectora, 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.** - **LA CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de Agronomía, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “**EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE *Metarhizium spp.* FRENTE A FACTORES ABIÓTICOS: ENSAYOS IN VITRO Y EN PLÁNTULAS DE TOMATE RIÑÓN**”, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

### **Historial Académico**

Inicio de la carrera: Octubre 2021 – Marzo 2022

Finalización de la carrera: Octubre 2025 – Marzo 2026

Tutora: Ing. Johanna Valentina Arévalo Granda, Mg.

**Tema: “EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE *Metarhizium spp.* FRENTE A FACTORES ABIÓTICOS: ENSAYOS IN VITRO Y EN PLÁNTULAS DE TOMATE RIÑÓN”**

**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, **LA CEDENTE** 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 **LA CEDENTE**, 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.
- e) 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 **LA CEDENTE** 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 **LA CEDENTE** 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 **LA CEDENTE** 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 23 días del mes de febrero del 2026.

Jennyfer Vanesa Chanchicocha Chillagana

Dra. Idalia Pacheco Tigselema, Ph.D.

**LA CEDENTE**

**LA CESIONARIA**

## **AVAL DE LA TUTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

En calidad de Tutora del Proyecto de Investigación con el título:

**“EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE *Metarhizium spp.* FRENTE A FACTORES ABIÓTICOS: ENSAYOS IN VITRO Y EN PLÁNTULAS DE TOMATE RIÑÓN”** de Chanchicocha Chillagana Jennyfer Vanesa de la carrera de Agronomía, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la pre-defensa.

Latacunga, 23 de febrero del 2026

Ing. Johanna Valentina Arévalo Granda, Mg.  
C.C: 1715849582  
**DOCENTE TUTORA**

## **AVAL DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN**

En calidad de Tribunal de Lectores, aprobamos 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, la postulante: Chanchicocha Chillagana Jennyfer Vanesa, con el título del Proyecto de Investigación: **“EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE *Metarhizium spp.* FRENTE A FACTORES ABIÓTICOS: ENSAYOS IN VITRO Y EN PLÁNTULAS DE TOMATE RIÑÓN”**, ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del trabajo de titulación.

Por lo antes expuesto, se autoriza grabar los archivos correspondientes en un CD, según la normativa institucional.

Latacunga, 23 de febrero del 2026

Ing. Mercy Lucila Ilbay Yupa, Ph.D.

C.C: 0604147900

**LECTOR 1 (PRESIDENTE)**

Ing. Alexandra Isabel Tapia Borja, Mg.

C.C: 0502661754

**LECTOR 2 (MIEMBRO)**

Ing. Wilman Paolo Chasi Vizuete, Mg.

CC: 0502409725

**LECTOR 3 (MIEMBRO)**

## **AGRADECIMIENTO**

*Expreso mi más profundo agradecimiento a Dios por brindarme salud, fortaleza y sabiduría para culminar esta etapa tan importante de mi formación académica. A mis padres, que son un pilar fundamental en mi vida, les agradezco por su amor incondicional, sacrificio y apoyo constante a lo largo de mi vida. Gracias por creer en mí incluso en los momentos más difíciles y por ser mi mayor inspiración para seguir adelante.*

*A mi tutora de tesis, por su orientación, paciencia y valiosos conocimientos compartidos durante el desarrollo de esta investigación.*

*A los docentes de la carrera, quienes con profesionalismo, paciencia y dedicación contribuyeron a mi formación académica y científica.*

*A mi pareja y compañeros, por su apoyo moral, motivación y compañía durante este proceso.*

*Finalmente, a todas aquellas personas que de una u otra manera aportaron al desarrollo de esta investigación, mi sincero agradecimiento.*

***Jennyfer Vanesa Chanchicocha Chillagana***

## **DEDICATORIA**

*Dedico este trabajo principalmente a Dios, por iluminar mi camino y darme la fortaleza necesaria para superar cada obstáculo.*

*A mis padres, quienes son el pilar fundamental de mi vida, por su amor, esfuerzo y sacrificio. Este logro también les pertenece a ustedes.*

*A mi familia y mi pareja, por su apoyo incondicional y palabras de aliento en cada etapa de mi formación.*

*Y a mí misma, por la perseverancia, dedicación y esfuerzo constante para alcanzar esta meta académica.*

***Jennyfer Vanesa Chanchicocha Chillagana***

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

**TÍTULO: “EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE *Metarhizium spp.* FRENTE A FACTORES ABIÓTICOS: ENSAYOS IN VITRO Y EN PLÁNTULAS DE TOMATE RIÑÓN”,**

**Autora:**

Chanchicocha Chillagana Jennyfer Vanesa

**RESUMEN**

La presente investigación tuvo como objetivo, evaluar el comportamiento de *Metarhizium spp.* frente a diferentes niveles de salinidad, pH y temperatura bajo condiciones controladas, tanto a nivel in vitro como en plántulas de tomate riñón (*Solanum lycopersicum* var. Pietro). En este sentido, se realizó inicialmente la caracterización macroscópica, microscópica y molecular de *Metarhizium spp.* Se llevó a cabo el estudio bajo un enfoque cuantitativo y experimental, aplicando el Diseño Completamente al Azar, tomando como factores el día de evaluación y el tratamiento aplicado. A nivel in vitro, se evaluó el crecimiento micelial del hongo bajo pH 5, 6, 7, y 8; salinidad de 0mM, 100mM, 300mM y 500mM de cloruro de sodio y temperatura a 10°, 20°, 28° y 35°C durante 7 días. Por otro lado, se evaluó el desarrollo fisiológico de las plántulas inoculadas con *Metarhizium spp.* regadas con soluciones Hoagland modificadas bajo las mismas condiciones de pH y salinidad, en el caso de temperatura, se controló la temperatura a 0°, 10°, 22° y 30°C durante 21 días, a excepción del tratamiento a 0°C que se evaluó por 30 días. Las variables analizadas fueron altura, número de hojas, área foliar, longitud radicular, y biomasa radicular. Los resultados reflejaron que el hongo analizado pertenece a la especie *Metarhizium anisopliae*; que el mayor crecimiento micelial, a nivel in vitro, se obtuvo a 28 °C, pH 5 y 6 junto a salinidad 0mM, confirmando la dependencia del hongo a las condiciones fisicoquímicas del medio, se observó además que *M. anisopliae* tolera variaciones de pH y temperatura. Por otro lado, la temperatura de 22 °C y pH de 6, promovió el mejor desarrollo de plántulas inoculadas con *M. anisopliae*, mientras que concentraciones altas de sal ejercieron un impacto negativo sobre todas las variables evaluadas en las plántulas. Por lo tanto, se concluye que los factores abióticos influyen sobre el comportamiento de *Metarhizium anisopliae* y en la respuesta fisiológica de las plántulas de tomate riñón inoculadas con el hongo.

**Palabras claves:** *Metarhizium anisopliae*, factores abióticos, bioestimulantes, tomate riñón

**TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI**  
**FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCE AND NATURAL RESOURCES**

**THEME:** “EVALUATION OF THE BEHAVIOR OF *Metarhizium spp.* IN RESPONSE TO ABIOTIC FACTORS: IN VITRO AND IN TOMATO SEEDLING TRIALS,”

**Author:**

Chanchocha Chillagana Jennyfer Vanesa

**ABSTRACT**

The objective of this research was to evaluate the behavior of *Metarhizium spp.* under different levels of salinity, pH, and temperature under controlled conditions, both in vitro and in kidney tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* var. Pietro). In this regard, the macroscopic, microscopic, and molecular characterization of *Metarhizium spp.* was initially performed. The study was carried out using a quantitative and experimental approach, applying a completely randomized design, taking into account the day of evaluation and the treatment applied as factors. In vitro, the mycelial growth of the fungus was evaluated under pH 5, 6, 7, and 8; salinity of 0mM, 100mM, 300mM, and 500mM sodium chloride; and temperatures of 10°, 20°, 28°, and 35°C for 7 days. On the other hand, the physiological development of seedlings inoculated with *Metarhizium spp.* and watered with modified Hoagland solutions under the same pH and salinity conditions was evaluated. In the case of temperature, the temperature was controlled at 0°, 10°, 22°, and 30°C for 21 days, except for the treatment at 0°C, which was evaluated for 30 days. The variables analyzed were height, number of leaves, leaf area, root length, and root biomass. The results showed that the fungus analyzed belongs to the species *Metarhizium anisopliae*; that the greatest mycelial growth, in vitro, was obtained at 28°C, pH 5 and 6 together, and salinity 0 mM, confirming the fungus's dependence on the physicochemical conditions of the medium. It was also observed that *M. anisopliae* tolerates variations in pH and temperature. On the other hand, a temperature of 22 °C and pH of 6 promoted the best development of seedlings inoculated with *M. anisopliae*, while high salt concentrations had a negative impact on all variables evaluated in the seedlings. Therefore, it is concluded that abiotic factors influence the behavior of *Metarhizium anisopliae* and the physiological response of kidney tomato seedlings inoculated with the fungus.

**KEYWORDS:** *Metarhizium anisopliae*, Abiotic factors, Bio stimulants, Tomato

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN DE AUTORÍA .....	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTORA.....	iii
AVAL DE LA TUTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	v
AVAL DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN .....	vi
AGRADECIMIENTO.....	vii
DEDICATORIA .....	viii
RESUMEN .....	ix
ABSTRACT .....	x
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	xi
ÍNDICE DE TABLAS.....	xv
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xviii
1. INFORMACIÓN GENERAL .....	1
1.1. Título .....	1
1.2. Lugar de ejecución.....	1
1.3. Institución, unidad académica y carrera que auspicia .....	1
1.4. Nombres de equipo de investigadores .....	1
1.5. Área de Conocimiento .....	1
1.6. Línea de investigación .....	1
1.7. Línea de Vinculación.....	1
2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO.....	2
3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO .....	4
4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN .....	5
5. OBJETIVOS.....	6
5.1. General.....	6
5.2. Específicos.....	6

6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN CON LOS OBJETIVOS PLANTEADOS .....	7
7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA .....	9
7.1. Factores abióticos en los sistemas agrícolas .....	9
7.2. <i>Metarhizium</i> spp. como hongo endófito y entomopatógeno .....	9
7.3. El crecimiento micelial como un indicador fisiológico .....	10
7.4. Esporulación como un mecanismo de supervivencia .....	10
7.5. Interacción planta – microorganismo bajo condiciones de distintos factores abióticos	10
7.6. Mecanismos de tolerancia contra los distintos factores abióticos en los hongos .....	11
7.7. Producción de compuestos bioactivos .....	11
7.8. Ensayos <i>in vitro</i> para las evaluaciones .....	11
7.9. Ensayos en plántulas .....	12
7.10. Diseño experimental y el control de las variables .....	12
7.11. Aplicaciones prácticas y la sostenibilidad agrícola .....	12
8. VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICAS E HIPÓTESIS .....	13
8.1. Hipótesis .....	13
9. METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL .....	13
9.1. Área de estudio .....	13
9.3. Diseño experimental .....	14
9.4. Variables .....	16
9.4.1 Independientes .....	16
9.4.2 Dependientes .....	16
9.4.3 Variables de control .....	16
9.5. Caracterización morfológica y molecular del hongo <i>Metarhizium</i> spp. ....	17
9.5.1. Caracterización macroscópica (cultivo en PDA) .....	17
9.5.2. Caracterización microscópica para los conidios y conidióforos .....	17

9.5.3. Caracterización molecular (extracción de ADN, PCR del Fragmento ITS y secuenciación Sanger y análisis bioinformático).....	17
9.6. Evaluación del impacto de los diferentes factores abióticos sobre el desarrollo de <i>Metarhizium spp</i> a nivel <i>in vitro</i> .....	18
9.6.1. Ensayo de pH.....	18
9.6.2. Ensayo de salinidad (NaCl).....	19
9.6.3. Ensayo de temperatura.....	20
9.7. Evaluación del impacto de los diferentes factores abióticos sobre las plántulas de Tomate Riñón inoculadas con <i>Metarhizium spp</i> .....	21
9.7.1. Preparación del Sustrato.....	21
9.7.2. Recuento de Conidios.....	21
9.7.3. Desinfección de las semillas de Tomate Riñón, variedad Pietro.....	22
9.7.4. Preparación de la solución Hoagland.....	23
9.7.5. Aplicación de las diferentes condiciones de distintos factores abióticos.....	23
9.8. Monitoreo diario y registro de observaciones.....	23
9.10. Análisis estadísticos.....	24
9.10.1. Fase <i>in vitro</i> (objetivo 2).....	24
9.10.2. Fase en plántulas de tomate riñón (objetivo 3).....	24
9.11. Materiales y equipos.....	25
10. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	25
10.1. Caracterización morfológica y molecular del hongo <i>Metarhizium spp</i> .....	25
10.1.1. Evaluación macroscópica y microscópica (cultivo en PDA).....	25
10.1.2. Amplificación del fragmento ITS.....	27
10.1.3. Secuenciación y análisis bioinformático.....	28
10.2. Evaluación del impacto de los diferentes factores abióticos (salinidad, pH, temperatura) sobre el desarrollo de <i>Metarhizium anisopliae</i> a nivel <i>in vitro</i> .....	29
10.2.1. Efecto de la temperatura sobre el área micelial de <i>Metarhizium anisopliae</i> .....	29

10.2.2. Efecto del pH sobre el área micelial de <i>Metarhizium anisopliae</i> en condiciones in vitro.....	30
10.2.3. Efecto de la salinidad sobre el área micelial de <i>Metarhizium anisopliae</i> en condiciones in vitro .....	32
10.2.3. Cuadro resumen de las variables evaluadas dentro del objetivo específico 2 .....	33
10.3. Evaluación el impacto de los diferentes factores abióticos (salinidad, pH, temperatura) sobre el desarrollo de plántulas de tomate riñón inoculadas con <i>Metarhizium anisopliae</i> ..	34
10.3.1. Efecto del pH sobre el desarrollo de plántulas de tomate riñón .....	34
10.3.2 Efecto de la salinidad sobre el desarrollo de plántulas de tomate .....	47
10.3.3. Efecto de la temperatura y la post-helada sobre el desarrollo de plántulas de tomate .....	60
10.3.3.4. Cuadro resumen de las variables evaluadas dentro del objetivo específico 3 ...	77
11. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES Y ECONÓMICOS) .....	79
11.1 Impacto Social .....	79
11.2 Impacto Ambiental .....	79
11.3 Impacto Económico .....	80
12. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	81
12.1. Conclusiones.....	81
12.2. Recomendaciones .....	82
13. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	83

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Actividades y sistema de tareas en relación con los objetivos planteados	7
<b>Tabla 2.</b> Niveles de tratamientos empleados	14
<b>Tabla 3.</b> Diseño experimental fase <i>in vitro</i>	15
<b>Tabla 4.</b> Diseño experimental fase en plántulas	15
<b>Tabla 5.</b> Materiales y equipos de laboratorio	25
<b>Tabla 6.</b> Análisis de varianza para la variable área micelial (cm <sup>2</sup> ) en función de la temperatura para el último día de evaluación (día 7)	29
<b>Tabla 7.</b> Análisis de varianza para la variable área micelial (cm <sup>2</sup> ) en función del pH para el último día de evaluación (día 7)	31
<b>Tabla 8.</b> Análisis de varianza para la variable área micelial (cm <sup>2</sup> ) en función de la salinidad para el último día de evaluación (día 7)	32
<b>Tabla 9.</b> Cuadro resumen de los factores abióticos sobre el crecimiento <i>in vitro</i> de <i>Metharizium anisopliae</i> . (ANOVA, Tukey $\alpha = 0,05$ )	34
<b>Tabla 10.</b> ANOVA factorial para la variable altura (cm) en función del pH	34
<b>Tabla 11.</b> Análisis de varianza para la variable altura (cm) en función del pH para los días 7, 14 y 21	35
<b>Tabla 12.</b> Número de hojas promedio en función del pH para los días 7, 14 y 21	37
<b>Tabla 13.</b> ANOVA factorial para la variable área foliar (cm <sup>2</sup> ) en función del pH	38
<b>Tabla 14.</b> Análisis de varianza para la variable área foliar (cm <sup>2</sup> ) en función del pH para los días 7, 14 y 21	38
<b>Tabla 15.</b> Análisis de varianza para el efecto del pH sobre la longitud de raíz (cm) de plántulas de tomate (día 21)	40
<b>Tabla 16.</b> Análisis de varianza para el efecto del pH sobre el peso húmedo de raíz(g) en plántulas de tomate (día 21)	42
<b>Tabla 17.</b> Análisis de varianza para el efecto del pH sobre el peso seco de raíz (g) en plántulas de tomate (día 21)	43
<b>Tabla 18.</b> Análisis de varianza para el efecto del pH sobre el peso húmedo de brotes (g) en plántulas de tomate (día 21)	45
<b>Tabla 19.</b> Análisis de varianza para el efecto del pH sobre el peso seco de brotes (g) en plántulas de tomate (día 21)	46
<b>Tabla 20.</b> ANOVA factorial para la variable altura (cm) en función de la salinidad	47

<b>Tabla 21.</b> Análisis de varianza para la variable altura (cm) en función de la salinidad para los días 7, 14 y 21	48
<b>Tabla 22.</b> Número de hojas promedio en función de la salinidad para los días 7, 14 y 21	50
<b>Tabla 23.</b> ANOVA factorial para la variable área foliar (cm <sup>2</sup> ) en función de la salinidad	51
<b>Tabla 24.</b> Análisis de varianza para la variable área foliar (cm <sup>2</sup> ) en función de la salinidad para los días 7, 14 y 21	51
<b>Tabla 25.</b> Análisis de varianza para el efecto de la salinidad sobre la longitud de raíz (cm) en plántulas de tomate (día 21)	53
<b>Tabla 26.</b> Análisis de varianza para el efecto de la salinidad sobre el peso húmedo de raíz (g) en plántulas de tomate (día 21)	55
<b>Tabla 27.</b> Análisis de varianza para el efecto de la salinidad sobre el peso seco de raíz (g) en plántulas de tomate (día 21)	56
<b>Tabla 28.</b> Análisis de varianza para el efecto de la salinidad sobre el peso húmedo de brotes (g) en plántulas de tomate (día 21)	58
<b>Tabla 29.</b> Análisis de varianza para el efecto de la salinidad sobre el peso seco de brotes (g) en plántulas de tomate (día 21)	59
<b>Tabla 30.</b> ANOVA factorial para la variable altura (cm) en función de la temperatura	61
<b>Tabla 31.</b> Análisis de varianza para la variable altura (cm) en función de la temperatura para los días 7, 14 y 21	61
<b>Tabla 32.</b> Número de hojas promedio en función de la temperatura para los días 7, 14 y 21	63
<b>Tabla 33.</b> ANOVA factorial para la variable área foliar (cm <sup>2</sup> ) en función de la temperatura	64
<b>Tabla 34.</b> Análisis de varianza para la variable área foliar (cm <sup>2</sup> ) en función de la temperatura para los días 7, 14 y 21	64
<b>Tabla 35.</b> ANOVA factorial para la variable altura (cm) en función de la temperatura	66
<b>Tabla 36.</b> Análisis de varianza para la variable altura (cm) para el día 30	66
<b>Tabla 37.</b> Número de hojas promedio en función de la temperatura	67
<b>Tabla 38.</b> ANOVA factorial para el área foliar en función de la temperatura	68
<b>Tabla 39.</b> Análisis de varianza para la variable área foliar para el día 30	69
<b>Tabla 40.</b> Análisis de varianza para el efecto de la temperatura sobre la longitud de la raíz (cm) en plántulas de tomate (día 21)	70
<b>Tabla 41.</b> Análisis de varianza para el efecto de la temperatura sobre el peso húmedo de raíz (g) en plántulas de tomate (día 21)	71

<b>Tabla 42.</b> Análisis de varianza para el efecto de la temperatura sobre el peso seco de raíz (g) en plántulas de tomate (día 21)	73
<b>Tabla 43.</b> Análisis de varianza para el efecto de la temperatura sobre el peso húmedo de brotes (g) en plántulas de tomate (día 21)	75
<b>Tabla 44.</b> Análisis de varianza para el efecto de la temperatura sobre el peso seco de brotes (g) en plántulas de tomate (día 21)	76
<b>Tabla 45.</b> Cuadro resumen de los efectos de los factores abióticos sobre plántulas con y sin inoculación de <i>Metharizium anisopliae</i> . (ANOVA, Tukey $\alpha = 0,05$ )	78

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Ubicación del laboratorio de la Universidad Técnica de Cotopaxi	13
<b>Figura 2.</b> Características macroscópicas (día 4)	26
<b>Figura 3.</b> Características macroscópicas (día 6)	26
<b>Figura 4.</b> Características macroscópicas (día 7)	26
<b>Figura 5.</b> Características microscópicas	27
<b>Figura 6.</b> Características microscópicas	27
<b>Figura 7.</b> Electroforesis en gel de agarosa del ADN genómico extraído de <i>Metarhizium anisopliae</i>	28
<b>Figura 8.</b> Ensamblaje y análisis de secuencias de ADN	28
<b>Figura 9.</b> Análisis bioinformático BLASTn®	29
<b>Figura 10.</b> Prueba de Tukey para la variable área micelial (cm <sup>2</sup> ) en función de la temperatura para el último día de evaluación (día 7)	30
<b>Figura 11.</b> Prueba de Tukey para la variable área micelial (cm <sup>2</sup> ) en función del pH para el último día de evaluación (día 7)	31
<b>Figura 12.</b> Prueba de Tukey para la variable área micelial (cm <sup>2</sup> ) en función de la salinidad para el último día de evaluación (día 7)	33
<b>Figura 13.</b> Prueba de Tukey para la variable altura (cm) en función del pH para los días 7, 14 y 21	36
<b>Figura 14.</b> Número de hojas promedio en función del pH para los días 7, 14 y 21	37
<b>Figura 15.</b> Prueba de Tukey para la variable área foliar (cm <sup>2</sup> ) en función del pH para los días 7, 14 y 21	39
<b>Figura 16.</b> Prueba de Tukey para el efecto del pH sobre la longitud de raíz (cm) en plántulas de tomate (día 21)	41
<b>Figura 17.</b> Prueba de Tukey para el efecto del pH sobre el peso húmedo de raíz (g) en plántulas de tomate (día 21)	42
<b>Figura 18.</b> Prueba de Tukey para el efecto del pH sobre el peso seco de raíz (g) en plántulas de tomate (día 21)	44
<b>Figura 19.</b> Prueba de Tukey para el efecto del pH sobre el peso húmedo de brotes (g) en plántulas de tomate (día 21)	45
<b>Figura 20.</b> Prueba de Tukey para el efecto del pH sobre el peso seco de brotes (g) en plántulas de tomate (día 21)	47

<b>Figura 21.</b> Prueba de Tukey para la variable altura (cm) en función de la salinidad para los días 7, 14 y 21	49
<b>Figura 22.</b> Número de hojas promedio en función de la salinidad para los días 7, 14 y 21	50
<b>Figura 23.</b> Prueba de Tukey para la variable área foliar (cm <sup>2</sup> ) en función de la salinidad para los días 7, 14 y 21	52
<b>Figura 24.</b> Prueba de Tukey para el efecto del pH sobre la longitud de la raíz (cm) en plántulas de tomate (día 21)	54
<b>Figura 25.</b> Prueba de Tukey para el efecto del pH sobre el peso húmedo de raíz (g) en plántulas de tomate (día 21)	55
<b>Figura 26.</b> Prueba de Tukey para el efecto del pH sobre el peso seco de raíz (g) en plántulas de tomate (día 21)	57
<b>Figura 27.</b> Prueba de Tukey para el efecto del pH sobre el peso húmedo de brotes (g) en plántulas de tomate (día 21)	58
<b>Figura 28.</b> Prueba de Tukey para el efecto del pH sobre el peso seco de brotes (g) en plántulas de tomate (día 21)	60
<b>Figura 29.</b> Prueba de Tukey para la variable altura (cm) en función de la temperatura para los días 7, 14 y 21	62
<b>Figura 30.</b> Número de hojas promedio en función de la temperatura para los días 7, 14 y 21	63
<b>Figura 31.</b> Prueba de Tukey para la variable área foliar (cm <sup>2</sup> ) en función de la temperatura para los días 7, 14 y 21	65
<b>Figura 32.</b> Medias para la variable altura (cm) en función de la temperatura para el día 30	67
<b>Figura 33.</b> Número de hojas promedio en función de la temperatura	67
<b>Figura 34.</b> Medias para la variable área foliar en función de la temperatura para el día 30	69
<b>Figura 35.</b> Prueba de Tukey para el efecto del pH sobre la longitud de raíz (cm) en plántulas de tomate (día 21)	71
<b>Figura 36.</b> Prueba de Tukey para el efecto del pH sobre el peso húmedo de raíz (g) en plántulas de tomate (día 21)	72
<b>Figura 37.</b> Prueba de Tukey para el efecto del pH sobre el peso seco de raíz (g) en plántulas de tomate (día 21)	74
<b>Figura 38.</b> Prueba de Tukey para el efecto del pH sobre el peso húmedo de brotes (g) en plántulas de tomate (día 21)	75
<b>Figura 39.</b> Prueba de Tukey para el efecto del pH sobre el peso seco de brotes (g) en plántulas de tomate	77

## **1. INFORMACIÓN GENERAL**

### **1.1. Título**

Evaluación del comportamiento de *Metarhizium spp.* frente a factores abióticos: ensayos in vitro y en plántulas de tomate riñón.

### **1.2. Lugar de ejecución**

Laboratorios de Biotecnología y Fitopatología, Universidad Técnica de Cotopaxi, Cantón Latacunga – Provincia de Cotopaxi – Zona 3.

### **1.3. Institución, unidad académica y carrera que auspicia**

Universidad Técnica de Cotopaxi. Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales. Carrera de Agronomía.

### **1.4. Nombres de equipo de investigadores**

- **Tutora:** Ing. Arévalo Granda Johanna Valentina, Mg
- **Investigadora:** Chanchicocha Chillagana Jennyfer Vanesa

### **1.5. Área de Conocimiento**

- Agricultura, Silvicultura y Pesca - Ciencias Agrícolas – Microbiología Agrícola

### **1.6. Línea de investigación**

- Biotecnología aplicada a la sostenibilidad agrícola

### **1.7. Línea de Vinculación**

- Producción agropecuaria sostenible y protección de cultivos

## 2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

La agricultura moderna en la actualidad está enfrentando una serie de desafíos que se derivan de diversos incrementos de factores abióticos, que afectan de manera directa la producción de los cultivos. Dentro de los factores de mayor importancia se encuentra la salinidad, los cambios de temperatura y de pH del suelo, que son productos incluso del cambio climático, además del uso inadecuado y aplicación de las prácticas agronómicas. Bajo este contexto, es necesario la implementación de alternativas biológicas para la mejora y resistencia de cada uno de los cultivos para alcanzar mejores desarrollos y desempeños cuando son expuestos a situaciones adversas (Espinosa et al. (2025); (Burgos, 2024).

Existe una creciente evidencia sobre los beneficios obtenidos de *Metarhizium spp.*, sin embargo, aún no se conocen elementos puntuales sobre cómo se desarrolla bajo condiciones que sean controladas con distintos factores abióticos, sobre todo en estudios in vitro. Es por esta falta de información que se hace difícil la comprensión de sus mecanismos fisiológicos además de los adaptativos que garantizan su crecimiento y funcionalidad. Para ello es importante medir su desempeño bajo condiciones de temperatura, pH y salinidad, buscando favorecer un mayor nivel de conocimiento. Es así que se plantea el ensayo con el tomate riñón, que es sensible a cambios ambientales, justificando de esa forma la investigación desde un enfoque experimental con resultados sólidos (Manzanarez, 2024).

La investigación sobre los organismos benéficos como lo es el caso de *Metarhizium spp.* ha sido ampliado por la necesidad de interacciones con las plantas. Este hongo ha sido estudiado de manera tradicional como un biocontrolador entomopatógeno. Su capacidad para la colonización de las raíces favorece la mejora de absorción de los nutrientes y la generación de bioestimulantes que pueden ser usados en condiciones adversas. No obstante, para la implementación de estas estrategias es importante el conocimiento de su comportamiento bajo las condiciones de distintos factores abióticos. En este sentido, cada uno de los ensayos in vitro representa una de las estrategias fundamentales para su análisis y observación del crecimiento, resistencia y esporulación (López, 2021).

El cultivo del tomate riñón es considerado una de las principales hortalizas que son producidas en Ecuador, sobre todo en la zona andina constituyendo una de las principales fuentes para los productores medianos y pequeños (Chisaguano, 2024). Sin embargo, es conocido sus elevados niveles de sensibilidad a cambios de pH, temperatura, salinidad. es ante esta problemática que es importante la incorporación de microorganismos que sean capaces y

eficaces para conferir toda la tolerancia de una serie de condiciones adversas de manera novedosa y ecológica. En este marco *Metarhizium spp.* esta presentado como uno de los candidatos que son prometedores según su versatilidad fisiológica (Silva, 2024).

La presente investigación integra la evaluación del comportamiento del hongo tanto en los diferentes ensayos in vitro como con las plántulas de tomate riñón las cuales serán expuestas a diferentes elementos abióticos específicos. Es a través de este enfoque que se establecerán correlaciones de cada resultado obtenido a nivel de laboratorio además de las respuestas fisiológicas bajo un modelo de interés vegetal. Durante la experimentación se abarcarán las variables de pH, salinidad y temperatura. De igual forma se medirán el crecimiento micelial, rendimiento de las plántulas buscando así la obtención completa del desempeño del hongo bajo condiciones de estrés, facilitando así la comprensión de la reacción del microorganismo bajo las condiciones adversas.

Finalmente, con la investigación se aportarán una serie de conocimientos científicos que pueden ser aplicados para una producción sostenible en una serie de cultivos que son estratégicos, por lo que es fundamental el conocimiento sobre su respuesta frente a las diferentes condiciones, permitiendo así el avance hacia la formulación de distintas alternativas biotecnológicas adaptadas a las realidades presentadas en cada región.

La presente investigación es favorable dada la necesidad de comprender como este tipo de microorganismos pueden contribuir a la disminución de los efectos de factores abióticos que son generados en estos cultivos sensibles, el incremento de la salinidad de los suelos, además de las variaciones térmicas además de los cambios bruscos del pH son una de las principales amenazas que se presentan en la agricultura. Bajo este contexto, *Metarhizium spp.* surge como una base fundamental para mejorar el proceso de tolerancia de las plantas fortaleciendo de igual forma una sostenibilidad agrícola. Sin embargo, la falta de información es una de las limitantes para el desarrollo de protocolos y lineamientos para ser usados en condiciones adversas.

La justificación también está sustentada por la importancia de generar una serie de conocimientos buscando fortalecer los procesos de biotecnología en la agricultura local. Es así como se buscan las alternativas que son más ecológicas y sostenibles con los hongos benéficos como proyecciones prometedoras, los cuales poseen características que lo favorecen como un organismo versátil tanto para el control de plagas como para una promoción del crecimiento vegetal. Sin embargo, todo su desempeño bajo las condiciones de distintos factores abióticos es desconocido, por lo que la investigación permitirá proporcionar parte de esa información brindando así una información útil para cada institución académica.

Este estudio es una base importante para los productores locales donde el cultivo del tomate riñón forma una de sus principales comercializaciones dentro de su actividad económica. Esta producción se ve de manera frecuente amenazada por una serie de problemas edáficos y ambientales que son los que reducen toda su producción. Es así que existe una necesidad urgente de conocer alternativas efectivas y que sean sostenibles con el tiempo buscando de esa forma alcanzar a contrarrestar todos estos efectos que son generados, buscando así no solo un impacto con niveles académicos sino también que sean aplicables en las actividades agrícolas.

Finalmente, toda la investigación garantiza el aporte de una serie de conocimientos para ser aplicados a nuevas investigaciones a nivel biotecnológico durante el manejo de los cultivos bajo condiciones adversas. Al establecer los datos sobre su conocimiento, tolerancia y toda la funcionalidad del *Metarhizium spp.* lo que genera una serie de fundamentos que son técnicos y esenciales para todo bioinsumo a nivel nacional, cuya pertinencia científica radica en una mayor comprensión de cada proceso biológico que pueda favorecer los sistemas de producción reduciendo a su vez el uso de elementos químicos.

### **3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO**

Los beneficiarios de este proyecto, son los habitantes de la comunidad además de todos los participantes dentro del ámbito académico de la universidad que estén vinculados al área de la microbiología y los procesos de producción vegetal. A través de cada uno de los resultados obtenidos, se podrá actualizar la información científica sobre el comportamiento del hongo bajo las condiciones de estrés, promoviendo de esa forma los nuevos proyectos que permitan un mejor desarrollo sostenible para los cultivos de interés. De igual forma se tendrá un mejor acceso a metodologías que son experimentales y rigurosas para potenciar las formaciones del personal especializado. De igual forma los productores locales que producen el tomate riñón en la medida que las diferentes observaciones puedan ser usadas en sus prácticas agrícolas para una mayor tolerancia a las condiciones adversas.

Los beneficiarios indirectos conforman las organizaciones agrícolas, las instituciones vinculadas a todo el proceso de desarrollo rural y cada una de las empresas que se especialicen en la producción de bioinsumos. Toda esta información permitirá obtener mayores bases para diversas intensidades y formulaciones, que buscan la implementación de productos que sean innovadores de bajo impacto a nivel ambiental. Asimismo, con las comunidades agrícolas para las zonas vulnerables se podrán ver favorecidas con la implementación de nuevas tecnologías

que enfrenten estos posibles cambios en las variables climáticas y del suelo, favoreciendo a su vez a mayores alternativas biológicas que reducen los hábitos para el uso de elementos químicos, generando así un impacto positivo sobre la biodiversidad y la población involucrada.

#### **4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN**

Con el aumento progresivo de cada una de las condiciones que originan el estrés hídrico se puede generar una seria amenaza a nivel mundial. Los diferentes factores como la salinización del suelo, alteraciones del pH e incluso las fluctuaciones térmicas reducen de manera considerable la productividad de los cultivos. En Ecuador este conjunto de inconvenientes se ha intensificado debido a un mal funcionamiento y la gran variabilidad climática. Aunque se ha intentado promover las diferentes prácticas sostenibles los diferentes agricultores aún se ven limitados. Frente a esta realidad es importante la exploración de alternativas con niveles biológicos que permitan una mejora para la mayor resistencia de todas las plantas, buscando dar respuesta a los vacíos en esta toma de decisiones.

*Metarhizium spp.* es reconocido de manera mundial como uno de los principales hongos entomopatógenos que son capaces de controlar las diversas plagas agrícolas. No obstante, con las investigaciones recientes también se ha encontrado resultados que son benéficos para las plantas actuando a su vez como un bioestimulante. Sin embargo, se desconoce de manera detallada como este microorganismo puede alcanzar a tolerar las condiciones adversas con elementos de salinidad, pH o incluso los cambios de temperatura. Esta falta de conocimiento e información impide una predicción del comportamiento de las plantas ante estas adversidades, limitando de esa forma su aplicación. Por ello, es necesario la comprensión de las diferentes respuestas del hongo ante estos cambios de variables. (Amandio, 2022).

A nivel regional, las zonas que son características en la producción de tomate riñón en Ecuador enfrentan una serie de problemáticas producto del deterioro de los suelos y cada una de las condiciones ambientales adversas. Este cultivo es altamente susceptible a los cambios de las diferentes variables, lo que afecta de manera directa la realidad económica y agrícola del país de interés. Además, no existen alternativas tecnológicas para garantizar su permanencia por lo que es importante el uso de microorganismos como un material para garantizar la producción confiable. Para comprender todo su potencial es fundamental evaluar todo su crecimiento micelial, además de la capacidad de esporulación y toda su estabilidad fisiológica con la presencia de diferentes condiciones de factores abióticos, permitiendo observar cómo el microorganismo puede contribuir a la tolerancia de las plantas (Verdugo & Alvarez, 2025).

Asimismo, con la falta de estudios de manera integral tanto *in vitro* como a nivel experimental para las plantas se hace difícil la obtención de la información para un panorama completo sobre el proceso de interacción del hongo. Una evaluación a nivel de laboratorio permitiría obtener con mayor precisión las posibles limitaciones fisiológicas del hongo, siendo el ensayo con las plántulas las que revelaran toda su capacidad para poder actuar como un bioestimulante bajo condiciones reales. Con la ausencia de esos datos no es adecuado la implementación de los diseños en diferentes sistemas agrícolas que suelen ser afectados por las condiciones ambientales, lo que generaliza un problema base.

Dilucidar el comportamiento de *Metarhizium spp.* al ser expuesto a diferentes condiciones ambientales permitirá tener información relevante para la selección de cepas adaptadas a distintas condiciones ambientales, optimizando así estrategias de un buen manejo sostenible, contribuyendo a su vez la mejora en calidad, productividad y resiliencia del cultivo a cada condición adversa enfrentada.

En este contexto, surge la gran necesidad de desarrollar estudios sistemáticos que permitan evaluar y analizar de manera válida el comportamiento de *Metarhizium spp.* sobre las condiciones adversas que se pueden presentar en la realidad. Para lo cual se propone su abordaje no solo con plantas sino también a nivel *in vitro*, para obtener datos cuantitativos sobre su crecimiento, desarrollo y el desempeño como un bioestimulante. Toda esta información permitirá establecer criterios con adecuados niveles técnicos para su implementación en las actividades agrícolas, contribuyendo así en un avance científico y tecnológico.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1. General**

Evaluar el comportamiento de *Metarhizium spp.* frente a diferentes factores abióticos (salinidad, pH y temperatura) en condiciones controladas, mediante ensayos *in vitro* y en plántulas de tomate riñón.

### **5.2. Específicos**

- Caracterizar morfológica y molecularmente el hongo *Metarhizium spp.*
- Evaluar el impacto de los factores abióticos (salinidad, pH, temperatura) sobre el desarrollo de *Metarhizium spp.* a nivel *in vitro*.
- Evaluar el impacto de factores abióticos (salinidad, pH, temperatura) sobre el desarrollo de plántulas de tomate riñón inoculados con *Metarhizium spp.*

## 6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN CON LOS OBJETIVOS PLANTEADOS

**Tabla 1.** Actividades y sistema de tareas en relación con los objetivos planteados

OBJETIVO ESPECÍFICOS	ACTIVIDADES	METODOLOGÍA	RESULTADOS
Caracterizar morfológica y molecularmente el hongo <i>Metarhizium spp.</i>	1.Observación y descripción macroscópica y microscópica del hongo durante 7 días.  2.Extracción de ADN.  3. Amplificación de la región ITS del hongo mediante la técnica de PCR.  4.Secuenciación del fragmento ITS.  5. Análisis bioinformático.	-Cultivar el hongo en medio PDA e incubar a 28 °C. -Registro del crecimiento micelial, color, textura. -Observación microscópica mediante un montaje con azul de lactofenol. -Revisión bibliográfica y claves para determinación de especie.  -Extracción de ADN genómico a partir del micelio utilizando un Kit Comercial.  -Evaluación de calidad del fragmento ITS mediante electroforesis en gel de agarosa.  -Secuenciación Sanger del fragmento ITS de la cepa del hongo en el laboratorio IDgen.  -Identificación de la especie de <i>Metarhizium spp.</i> mediante alineamiento pareado utilizando el software (BLAST)	Descripción morfológica del hongo. -Identificación molecular del hongo.
Evaluar el impacto de los factores abióticos (salinidad, pH, temperatura) sobre el desarrollo de <i>Metarhizium</i>	1.Reactivación de la cepa de <i>Metarhizium</i> .  2. Preparación de los diferentes medios de cultivo con sus respectivos ajustes.	-Reactivación del hongo en medio PDA e Incubación a 28 °C.  -Ajustes de las variables pH, salinidad, Temperatura	-Cepas activas y puras -Medios de cultivo sin contaminar. -Implementación de los ensayos. - Base de datos

spp. a nivel in vitro.	<p>3.Siembra del hongo en cajas Petri.</p> <p>4.Registro fotográfico</p> <p>5.Cálculo de áreas de crecimiento.</p>	<p>en el medio de cultivo PDA.</p> <p>-Inoculación del hongo en cajas Petri según el factor abiótico.</p> <p>- Registro fotográfico por 7 días para calcular el área.</p>	<p>-Organización, procesamiento y análisis de datos.</p> <p>-Comparaciones estadísticas ante las diferentes condiciones de factores abióticos.</p>
<p>Evaluar el impacto de factores abióticos (salinidad, pH, temperatura) sobre el desarrollo de plántulas de tomate riñón inoculados con <i>Metarhizium spp.</i></p>	<p>1.Selección y desinfección de sustrato y semillas de tomate riñón var. pietro.</p> <p>2.Preparación de una disolución de las esporas del hongo <i>Metarhizium spp.</i></p> <p>3.Inmersión de semillas en la disolución del hongo.</p> <p>4.Siembra en macetas por tratamientos.</p> <p>5.Preparación y ajustes de la solución Hoagland.</p> <p>6.Mediciones de las variables.</p>	<p>-Esterilización del sustrato (tierra negra y perlita) en el Autoclave.</p> <p>-Desinfección de las semillas de tomate riñón var. pietro, con hipoclorito de cloro y agua destilada.</p> <p>-Recuento de conidios</p> <p>-Sumergir las semillas en la disolución del hongo por una noche.</p> <p>-Siembra de las semillas en las macetas.</p> <p>- Preparación de soluciones Hoagland madre y Hoagland modificada (pH y salinidad) para el riego de plantas en cada tratamiento.</p> <p>-Mediciones de las variables por 21 días y 30 días (Factor temperatura).</p>	<p>-Plántulas inoculadas.</p> <p>-Datos obtenidos</p> <p>-Organización, procesamiento y análisis de datos.</p> <p>-Comparaciones estadísticas de las variables bajo diferentes condiciones de factores abióticos.</p>

Elaborado por: Chanchicocha,2026.

## 7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

### 7.1. Factores abióticos en los sistemas agrícolas

Los factores abióticos son limitantes para los procesos de producción agrícola a nivel mundial, afectando el rendimiento y la fisiología de una gran variedad de cultivos. Dentro de ellos destacan el pH, la salinidad y las variaciones en las temperaturas, los cuales son elementos esenciales para una mayor absorción de agua, balance hídrico, fotosíntesis y la respiración. En cultivos que son sensibles como lo es el caso del tomate riñón, se generan una serie de desequilibrios que reducen su crecimiento, su capacidad productiva y la masa vegetal.

La intensificación de estos cambios a nivel climático se ha venido incrementando con una mayor frecuencia e intensidad, lo que hace necesario la búsqueda de estrategias biológicas que fortalecen toda la resiliencia de cada uno de los cultivos. Bajo este contexto, es fundamental conocer como cada uno de los microorganismos benéficos como lo es el caso de los hongos entomopatógenos presentan funciones duales contribuyendo a la adaptación vegetal dentro de ambientes adversos. Evaluar su tolerancia en las diferentes condiciones constituye un fundamento que es clave para su proceso eficiente (García, 2022).

### 7.2. *Metarhizium spp.* como hongo endófito y entomopatógeno

*Metarhizium spp.* es ampliamente conocido por su gran capacidad entomopatógena, actuando como uno de los biocontroladores naturales mediante un mecanismo de infección que incluye durante su proceso la adhesión, la penetración de la cutícula y su producción de las diferentes enzimas hidrolíticas. Sin embargo, diferentes investigaciones en la actualidad demuestran su gran capacidad y habilidad para el establecimiento de las relaciones endófitas con las diversas plantas, colonizando a su vez los tejidos radiculares y promoviendo los diferentes procesos fisiológicos favorables como lo es el proceso de absorción de cada uno de los nutrientes, las síntesis de las fitohormonas y todo el aumento de la actividad antioxidante

Esta unidad de manera funcional posiciona a cada uno de los microorganismos tanto para su control biológico como para todo el proceso de bioestímulo vegetal. Su comportamiento bajo las diferentes condiciones de factores abióticos aún no se conoce de manera precisa, por lo que es fundamental garantizar los estudios como un bioinsumos resilientes. La comprensión de todo su proceso fisiológico y cada una de las respuestas adaptativas permitirá el avance hacia cada una de las formulaciones para cada sistema agrícola de manera vulnerable, especialmente en los cultivos hortícolas que son sensibles (Guamantaqui, 2024).

### **7.3. El crecimiento micelial como un indicador fisiológico**

El crecimiento micelial es uno de los parámetros más utilizados dentro de los estudios microbiológicos, ya que permiten una evaluación de la capacidad de cada hongo para su proceso de colonización dentro de un sustrato manteniendo su actividad metabólica. Frente a este tipo de factores abióticos, con una velocidad de expansión del micelio, la densidad y la morfología de cada una de las hifas constituyen indicadores de manera directa de toda su tolerancia fisiológica. Los elementos como la salinidad, el pH modifican la disponibilidad del agua, la presión osmótica y la estabilidad enzimática, mientras que la temperatura afecta la síntesis de proteínas y su proceso de integridad dentro de las membranas celulares.

A través del análisis de cada uno de estos elementos para *Metarhizium spp.* se puede identificar los límites fisiológicos para determinar su potencial en ambientes adversos. Con cada uno de los ensayos in vitro mediante un medio de cultivo como el PDA se pueden alcanzar los datos para las estandarizaciones de dichas variables y la obtención de los patrones que son comparativos confiables entre los tratamientos y cada control (Santiago et al., 2024).

### **7.4. Esporulación como un mecanismo de supervivencia**

La esporulación representa uno de los principales procesos que son claves para la persistencia de *Metarhizium spp.* debido a que todas sus esporas permiten un adecuado proceso de dispersión, germinación y capacidad infectiva. Bajo las condiciones de los factores abióticos, suele variar la producción de los conidios, modificando de esa forma el comportamiento del agente bioestimulante. Los cambios entre los diferentes factores como lo son el pH, la salinidad elevada, son elementos que suelen afectar la integridad de la pared celular y la formación de las estructuras reproductivas. De igual forma, la temperatura funciona como un factor determinante para la tasa metabólica (Cruz et al., 2025).

### **7.5. Interacción planta – microorganismo bajo condiciones de distintos factores abióticos**

La interacción entre *Metarhizium spp.* y las diferentes plantas se basa en un conjunto de mecanismos fisiológicos que son complejos que incluyen en cada proceso de colonización radicular, la producción de los reguladores del crecimiento, el incremento de la absorción de cada nutriente y la activación de las rutas bajo sus defensas. Bajo las condiciones de distintos factores abióticos, todo este conjunto de mecanismos puede ser identificado o verse incluso comprometido según su capacidad de manera adaptativa dentro de los microorganismos.

En las plántulas de tomate, el cual es un cultivo que es altamente sensible a las variaciones ambientales, la inoculación con los hongos benéficos puede garantizar la mitigación de los efectos negativos como lo es la reducción de la biomasa o del balance hídrico. El desarrollo de la planta bajo las diferentes condiciones de los factores abióticos es indispensable para demostrar toda su funcionalidad a nivel bioestimulante de *Metarhizium spp.* y la validación de su aplicación práctica en los sistemas productivos reales (Chisaguano, 2024).

#### **7.6. Mecanismos de tolerancia contra los distintos factores abióticos en los hongos**

Santos da Paixão (2022) señala que *Metarhizium spp.* se caracteriza por el desarrollo de diversos mecanismos que permite mantener la integridad de la pared celular y de las membranas, así como el mantenimiento de la estabilidad enzimática y la viabilidad de las esporas, frente a diferentes condiciones adversas, tales como:

- Acumulación de osmólitos como glicerol y trehalosa.
- Producción de proteínas de choque térmico (HSP).
- Activación de sistemas antioxidantes para la neutralización de especies reactivas de oxígeno

#### **7.7. Producción de compuestos bioactivos**

El hongo *Metarhizium spp.* puede contribuir de manera indirecta en el proceso del crecimiento vegetal mediante el proceso de síntesis de compuestos bioactivos, como lo son los reguladores de crecimiento (auxinas, citoquinas, giberelinas) y los metabolitos secundarios que favorecen la absorción de los nutrientes y las tolerancias a los distintos factores abióticos lo que permite que se mantenga estable el desarrollo vegetativo del cultivo. En este sentido, el uso de hongos entomopatógenos como biofertilizantes es una aplicación poco estudiada en la actualidad, ya que las investigaciones principalmente se centran en su aplicación para el control de plagas. Sin embargo, González-Guzman et al. (2020) reporta que algunas especies de *Metarhizium spp.* tienen la capacidad de formar consorcios a nivel radicular, donde además de ser antagonistas de microorganismos patógenos, colonizan las raíces y mejoran la fertilidad del suelo, beneficiando la nutrición y el desarrollo de los cultivos.

#### **7.8. Ensayos *in vitro* para las evaluaciones**

Los ensayos realizados *in vitro* constituyen uno de los principales elementos y métodos que son controlados y reproducibles buscando de esa forma analizar el crecimiento, la esporulación y toda la tolerancia de *Metarhizium spp.* frente a los diferentes factores abióticos.

Estos elementos permiten la manipulación de cada una de las variables como el pH, la temperatura y variaciones en la salinidad que pueden presentarse como factores externos, proporcionando de esa forma una serie de datos que son confiables sobre cada límite fisiológico en el que el hongo se pueda adaptar.

De igual forma, los ensayos facilitan la comparación de manera sistemática para cada tratamiento, así como toda la identificación de las condiciones que son óptimas para su proceso de desarrollo. Este enfoque es fundamental para garantizar a establecer los protocolos a nivel experimental previo al proceso de aplicación en las plantas, asegurando la viabilidad y funcionalidad de cada uno de los microorganismos en condiciones de laboratorio (Guamantaqui, 2024).

### **7.9. Ensayos en plántulas**

Los ensayos en plantas permiten evaluar de forma integral el sistema planta – hongo bajo diferentes condiciones que son controladas para los distintos factores abióticos. En el caso de las plántulas de tomate riñón, medir variables como la biomasa radicular, el tamaño y peso de la planta, el crecimiento de los brotes, entre otros parámetros fisiológicos, permite obtener una serie de datos que sugiere un papel importante de *Metarhizium spp.* como bioestimulante de la planta (Amandio, 2022).

### **7.10. Diseño experimental y el control de las variables**

El Diseño Completamente al Azar (DCA) permiten realizar evaluaciones de cada uno de los efectos de los distintos factores abióticos que pueden alterar al hongo y a la planta (Hernández, 20214). Las manipulaciones de las diferentes variables como la temperatura, la salinidad y el pH, en conjunto con las réplicas y los controles, garantizan la validez estadística y científica en la obtención de cada resultado. Este enfoque permite realizar una distinción entre los efectos que pueden ser atribuidos directamente al hongo y aquellos generados por los factores externos.

### **7.11. Aplicaciones prácticas y la sostenibilidad agrícola**

Para alcanzar una comprensión adecuada del hongo frente a las diferentes condiciones de distintos factores abióticos es necesario contribuir de manera directa con el desarrollo de cada uno de los bioinsumos de manera sostenible y efectiva. Su uso adecuado puede favorecer la reducción y la dependencia de los diferentes fertilizantes e incluso pesticidas químicos, mejorando así la resiliencia de cada uno de los cultivos y aumentando la productividad en cada

una de las regiones que presentan mayor vulnerabilidad. Además, proporciona toda la información de manera científica que favorece a la integración de nuevas estrategias y un manejo integrado para la incorporación de los hongos que son benéficos como los agentes biológicos y bioestimulantes, para la promoción de prácticas agrícolas favorables al medio ambiente (Chaudary et al.,2023).

## 8. VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICAS E HIPÓTESIS

### 8.1. Hipótesis

**H0:** Los factores abióticos no influyen en el comportamiento de *Metarhizium* spp. dentro de los ensayos *in vitro* y en plántulas de tomate riñón.

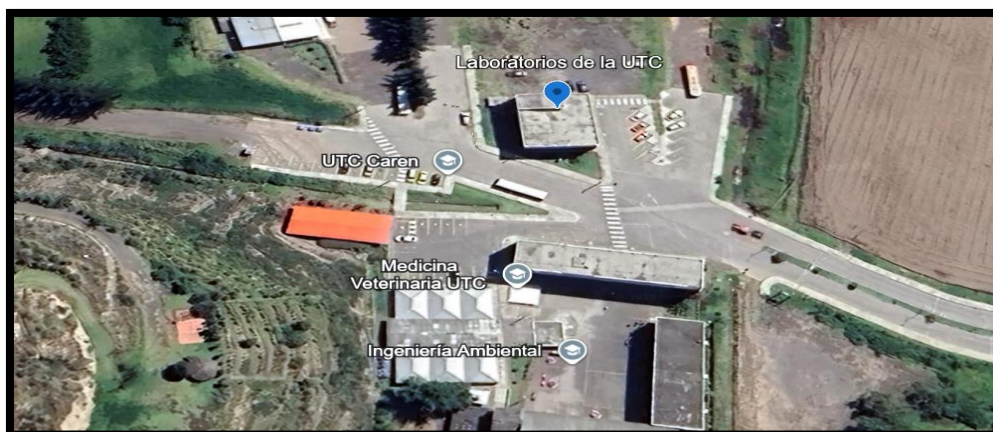
**H1:** Los factores abióticos influyen en el comportamiento de *Metarhizium* spp. dentro de los ensayos *in vitro* y en plantas de tomate riñón.

## 9. METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL

### 9.1. Área de estudio

El presente estudio fue desarrollado en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Técnica de Cotopaxi campus Salache, en donde se llevó a cabo el proceso de purificación, cultivo y caracterización macroscópica, microscópica y molecular del hongo *Metarhizium* spp. La zona de estudio está ubicada en las coordenadas Latitud: 00°59'47.68" N; Longitud: 78°37'19.16" O (Figura 1), a una altitud aproximada de 2703 msnm, con una temperatura de 20°C, precipitación de 550 mm anuales.

*Figura 1. Ubicación del laboratorio de la Universidad Técnica de Cotopaxi*



**Fuente:** Google Earth (2025)

## 9.2. Enfoque de la investigación

El estudio se basa en un enfoque cuantitativo y experimental, orientado a la medición objetiva de las respuestas biológicas de las variables seleccionadas, evaluadas bajo condiciones controladas. Se manipularon factores abióticos como el pH, la salinidad y la temperatura, así como la presencia o ausencia de inoculación con *Metarhizium spp.*, con el fin de cuantificar tanto las respuestas del hongo, tales como el crecimiento micelial y la esporulación, como las respuestas fisiológicas y de crecimiento de las plántulas de tomate riñón (*Solanum lycopersicum*), incluyendo variables como la altura de planta, número de hojas, área foliar y biomasa. Los datos obtenidos fueron analizados mediante técnicas estadísticas inferenciales, con el propósito de establecer relaciones entre los tratamientos.

## 9.3. Diseño experimental

El estudio se desarrolló bajo condiciones controladas y constó de dos fases: una fase in vitro y otra fase de evaluación en plántulas de tomate riñón.

Para ambas fases fue empleado un Diseño Completamente Al azar (DCA) con arreglo factorial, considerando 2 factores: tratamiento y día de evaluación. El factor tratamiento incluyó los distintos niveles de temperatura, pH y salinidad (tabla 2), evaluados de forma independiente mientras que el factor día correspondió a los tiempos de muestreo establecidos.

**Tabla 2.** Niveles de tratamientos empleados

Fase	pH	NaCl (mM)	Temperatura °C
<i>In vitro</i>	5, 6, 7, 8	0, 100, 300 y 500	10, 20, 28, 35
En plántulas	5, 6, 7, 8	0, 100, 300, 500	0, 10, 22, 30

**Elaborado por:** Chanchicocha, 2026.

*Nota:* los niveles de los tratamientos fueron seleccionados bajo la revisión bibliográfica de las investigaciones de Senizza et al. (2023) y Aycamaya (2025) donde indican que *Metarhizium spp.* tolera rangos amplios de pH (5-8), salinidad (0-500 mM) y temperaturas con rangos moderados (10-35°C) lo que justifica los tratamientos aplicados en el ensayo.

En la Tabla 3, se observa el diseño experimental para la fase in vitro en la que se aplicaron 3 repeticiones con 7 días de evaluación para analizar el crecimiento en área de *Metarhizium spp.*

**Tabla 3.** *Diseño experimental fase in vitro*

<b>Fase in vitro</b>	<b>Tratamiento</b>	<b>Nivel</b>	<b>Nº repeticiones</b>	<b>Total cajas</b>
<b>Salinidad</b>	Control	0 mM*	3	3
<b>Salinidad</b>	Bajo	100 mM	3	3
<b>Salinidad</b>	Medio	300 mM	3	3
<b>Salinidad</b>	Alto	500 mM	3	3
<b>pH</b>	Ácido	5.0	3	3
<b>pH</b>	Control	6.0	3	3
<b>pH</b>	Normal	7.0	3	3
<b>pH</b>	Alcalino	8.0	3	3
<b>Temperatura</b>	Baja	10 °C	3	3
<b>Temperatura</b>	Media	20°C	3	3
<b>Temperatura</b>	Control	28 °C	3	3
<b>Temperatura</b>	Alta	35 °C	3	3

**Elaborado por:** Chanchicocha,2026.

\* La salinidad 0mM hace referencia a que se mantuvieron las concentraciones propias del medio y no se añadió NaCl.

En la Tabla 4, se observa el diseño experimental para la fase de la evaluación en plántulas en la que se aplicaron 5 repeticiones por tratamiento.

**Tabla 4.** *Diseño experimental fase en plántulas inoculadas con Metarhizium spp.*

<b>Fase en plántulas</b>	<b>Tratamiento</b>	<b>Nivel</b>	<b>Nº repeticiones</b>	<b>Total plántulas</b>
<b>Salinidad</b>	Control Negativo*	0 mM**	5	5
<b>Salinidad</b>	Control	0 mM	5	5
<b>Salinidad</b>	Bajo	100mM	5	5
<b>Salinidad</b>	Medio	300mM	5	5
<b>Salinidad</b>	Alto	500mM	5	5
<b>pH</b>	Control Negativo	6.0	5	5
<b>pH</b>	Ácido	5.0	5	5
<b>pH</b>	Control	6.0	5	5
<b>pH</b>	Normal	7.0	5	5
<b>pH</b>	Alcalino	8.0	5	5
<b>Temperatura</b>	Control Negativo	22°C	5	5
<b>Temperatura</b>	Control	22 °C	5	5
<b>Temperatura</b>	Bajo	0°C	5	5
<b>Temperatura</b>	Medio	10 °C	5	5
<b>Temperatura</b>	Alto	30 °C	5	5

**Elaborado por:** Chanchicocha,2026.

\* El control negativo fueron plántulas que no fueron inoculadas con *Metarhizium spp.*

\*\* La salinidad 0mM hace referencia a que se mantuvieron las concentraciones propias de la Solución Hoagland y no se añadió NaCl.

## 9.4. Variables

### 9.4.1 Independientes

#### a) Ensayos *In vitro*

- **Salinidad:** 0, 100, 300, 500 mM NaCl.
- **pH:** 5.0, 6.0, 7.0 y 8.0.
- **Temperatura:** 10°, 20°, 28 °, 35 °C.

#### b) Ensayos en plántulas de Tomate Riñón

- **Salinidad:** 0, 100, 300, 500 mM NaCl.
- **pH:** 5.0, 6.0, 7.0 y 8.0.
- **Temperatura:** 0°, 10°, 22 °, 30 °C.
- **Inoculación:** Presencia y ausencia de *Metarhizium* en las plántulas de tomate riñón.

### 9.4.2 Dependientes

#### a) Ensayos *In vitro*

- Crecimiento micelial (Área medida en centímetros cuadrados).

#### b) Ensayos en plántulas de Tomate Riñón

- Altura de la planta
- Cantidad de hojas
- Área de las hojas
- Longitud de la raíz (al final del ensayo)
- Peso Húmedo de brotes y raíz (al final del ensayo)
- Peso Seco de brotes y raíz (al final del ensayo)

### 9.4.3 Variables de control

- Medio de cultivo (PDA).
- Variedad de la semilla
- Tipo de sustrato
- Solución Hoagland

## **9.5. Caracterización morfológica y molecular del hongo *Metarhizium spp.***

En concordancia con el objetivo planteado, se llevó a cabo la caracterización morfológica y molecular del hongo *Metarhizium spp.*, con el propósito de corroborar su identidad taxonómica. Para ello, se consideraron de manera integrada las características macroscópicas y microscópicas del cultivo, así como el análisis molecular del ADN, siguiendo metodologías estandarizadas comúnmente empleadas en estudios micológicos y de identificación fúngica.

### **9.5.1. Caracterización macroscópica (cultivo en PDA)**

La evaluación macroscópica del hongo se realizó a partir de su crecimiento en medio Agar Papa Dextrosa (PDA), para ello se reactivó la cepa del hongo *Metarhizium spp.* mediante la inoculación del hongo en medio PDA estéril. Luego, se incubó por un periodo de 7 días a una temperatura de 28°C. Durante este tiempo, se analizaron distintas características de la colonia, entre ellas la coloración, morfología, textura superficial, borde y la velocidad de crecimiento (Chaudary et al.,2023).

### **9.5.2. Caracterización microscópica para los conidios y conidióforos**

La caracterización microscópica se efectuó a partir del micelio obtenido de un cultivo de *Metarhizium spp.* de 7 días de desarrollo en medio PDA. Para la observación microscópica, Se tomó micelio de las colonias jóvenes a los 7 días y se lo colocó en un porta objetos sobre una gota de azul de lactofenol, el cual tiñe las estructuras del hongo y permite diferenciar los conidios, hifas y conidióforos. Se enfocó a 40X y se midió el tamaño de los conidios (Humber, 2005).

### **9.5.3. Caracterización molecular (extracción de ADN, PCR del Fragmento ITS y secuenciación Sanger y análisis bioinformático)**

Para la identificación molecular, se realizó la extracción de ADN genómico a partir de micelio fresco de *Metarhizium spp.* El material fue transferido a tubos de ensayo, a los cuales se añadieron 500uL de una solución buffer de extracción compuesto por Tris-HCl, EDTA, CTAB, NaCl y 2uL de  $\beta$ -mercaptoetanol. La muestra fue sometida a maceración y agitación en vórtex por 30 segundos, seguida de una incubación a 60°C durante 30 minutos. Posteriormente, se añadió 500uL de cloroformo frío y se procedió a la centrifugar a 14000rpm por 8 minutos, permitiendo la separación de las fases. El sobrenadante obtenido fue transferido a un nuevo tubo y sometido a un proceso de precipitación utilizando el mismo volumen de etanol absoluto frío, 150uL de acetato de sodio y 300uL de etanol al 70%, permaneciendo así durante toda la

noche. Posteriormente se centrifugó a 14000rpm por 17 minutos, se descartó el sobrenadante. Finalmente, el pellet resultante fue lavado por dos ocasiones con etanol 70% y una tercera vez con etanol al 96%. Se dejó secar el pellet y se resuspendió el ADN en 50uL de agua ultrapura, se incubó por 30 minutos a 37°C y se almacenó a -20°C (Flores, 2021).

Para la amplificación mediante PCR de la región ITS del ADN fúngico, se prepararon cuatro reacciones: dos con ADN del hongo, un control negativo y un control positivo. Se preparó una master mix utilizando 12,5uL de DreamTaq 2X (Thermo Scientific) para cada reacción, 2,5uL del primer ITS1 10uM (TCCGTAGGTGAACCTGCGG), 2,5uL del primer ITS4 10uM (TCCTCCGCTTATTGATATGC) y 2,5uL de agua ultrapura y 5uL del ADN de la muestra, agua o control positivo. El volumen final de reacción fue de 25uL. La amplificación se realizó en un termociclador de punto final donde se programó el perfil térmico que incluyó una desnaturalización inicial a 95°C por 3 minutos; 35 ciclos de desnaturalización a 95°C por 30 segundos, annealing a 55°C por 30 segundos y extensión a 72°C por 1 minuto; una extensión final de 72°C por 5 minutos y finalmente se mantuvieron las muestras a 4°C (White et al., 1990). Se realizó la verificación de la ampliación a través de la electroforesis en gel de agarosa al 1,5%, la cual se corrió a 100V por 30 minutos.

Los amplicones de la región ITS fueron secuenciados por Secuenciación de terminación de cadena Sanger. Las secuencias crudas obtenidos fueron analizadas con el software Geneious Prime v2025.0.3. Durante el proceso de análisis se eliminaron regiones de baja calidad, y se obtuvo la secuencia consenso, la cual fue comparada frente a la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI) con el uso de la herramienta BLASTn® (Basic Local Alignment Search Tool) (NCBI, 2023).

## **9.6. Evaluación del impacto de los diferentes factores abióticos sobre el desarrollo de *Metarhizium spp* a nivel *in vitro***

### **9.6.1. Ensayo de pH**

Para este factor se definieron 4 tratamientos (5, 6, 7, 8) con tres repeticiones por tratamiento. Se prepararon 4 botellas de 75mL cada una de medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA), siguiendo las instrucciones del fabricante (39g de PDA en 1000 mL), es decir, disolviendo 2,925 g de PDA en 75mL de agua destilada. En cada botella se ajustó el pH con NaOH o HCl para obtener un pH de 5, 6, 7, 8. El pH 6 fue el pH del medio de cultivo el cual fue tomado como el pH de control. Se esterilizó el medio mediante autoclave y se dispensó. Posteriormente, la inoculación de las cajas con agar PDA se la realizó tomando un disco de crecimiento

esporular de *Metarhizium spp.* de 7 días y colocándolo en la mitad de cada caja Petri con ayuda de una punta de micropipeta de 1000uL y una jeringa estéril. Las cajas fueron incubadas a una temperatura de 28 °C durante siete días. Cada día se tomó fotografías del crecimiento de cada caja. Finalmente, se realizó el cálculo del área mediante el software Image J.

### 9.6.2. Ensayo de salinidad (NaCl)

Se establecieron cuatro tratamientos a los cuales se les añadió cloruro de sodio (NaCl) para ajustar la concentración de sal a 100 mM para el Tratamiento 1 (T1), 300 mM para el tratamiento 2 (T2) y 500 mM para el tratamiento 3 (T3). Para ello se realizaron los siguientes cálculos de las concentraciones:

$$M = \frac{n}{V}$$

Donde:

M: corresponde a la molaridad

n: cantidad de moles

V: Volumen

$$n = \frac{m}{PM}$$

Donde:

M: masa

PM: Peso molecular

Por lo tanto:

$$M = \frac{m}{PM * V}$$

$$m = M * PM_{NaCl} * V$$

Para el T1 con salinidad de 100 mM (0,1M) NaCl:

$$V = 3 * 25mL = 75mL = 0,075L \text{ agar PDA}$$

$$m_{NaCl} = 0,1 \frac{mol}{L} * 58,44 \frac{g}{mol} * 0,075L = 0,43g NaCl$$

Para el T2 con salinidad de 300 mM NaCl:

$$m_{NaCl} = 0,3 mol/L * 58,44 g/mol * 0,075L = 1,31 g NaCl$$

Para el T3 con salinidad de 500 mM NaCl:

$$m_{NaCl} = 0,5 \frac{mol}{L} * 58,44 \frac{g}{mol} * 0,075L = 2,19 g NaCl$$

Se prepararon 4 botellas con 75 ml 75mL cada una de medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA), siguiendo las instrucciones del fabricante (39g de PDA en 1000 mL), es decir, disolviendo 2,925 g de PDA en 75mL de agua destilada. En cada botella se añadió la cantidad de NaCl para cada tratamiento. En una botella se mantuvieron las condiciones propias del medio, por lo que fue considerada el control y se la rotuló como salinidad 0mM. Se esterilizó el medio mediante autoclave y se dispensó. Posteriormente, la inoculación de las cajas con agar PDA se la realizó tomando un disco de crecimiento esporular de *Metarhizium spp.* de 7 días y colocándolo en la mitad de cada caja Petri con ayuda de una punta de micropipeta de 1000uL y una jeringa estéril. Las cajas fueron incubadas a una temperatura de 28 °C durante siete días. Cada día se tomó fotografías del crecimiento de cada caja. Finalmente, se realizó el cálculo del área mediante el software Image J.

### **9.6.3. Ensayo de temperatura**

Para el ensayo de temperatura, se establecieron 4 tratamientos con tres repeticiones cada una. Las temperaturas evaluadas en cada tratamiento fueron a 10°C, 20°C, y 35°C el control se estableció a 28°C. Se preparó 300mL de medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA), siguiendo las instrucciones del fabricante (39g de PDA en 1000 mL), es decir, disolviendo 11,7 g de PDA en 300mL de agua destilada. Se esterilizó el medio mediante autoclave y se dispensó. La inoculación de las cajas con agar PDA se la realizó tomando un disco de crecimiento esporular de *Metarhizium spp.* de 7 días y colocándolo en la mitad de cada caja Petri con ayuda de una punta de micropipeta de 1000uL y una jeringa estéril. Las cajas fueron incubadas en las temperaturas correspondientes (10°C, 20°C, 28°C y 35°C) durante siete días. Cada día se tomó fotografías del crecimiento de cada caja. Finalmente, se realizó el cálculo del área mediante el software Image J.

## 9.7. Evaluación del impacto de los diferentes factores abióticos sobre las plántulas de Tomate Riñón inoculadas con *Metarhizium spp.*

### 9.7.1. Preparación del Sustrato

Se preparó 75 macetas (60 macetas con el hongo *Metarhizium spp* y 15 macetas sin el hongo) con sustrato compuesto por 50% correspondió a tierra negra y el 50% a perlita, es decir, se mezcló 6 kg de tierra negra y 6 kg de perlita, dando un total de 12 kg de sustrato. El sustrato fue esterilizado en la autoclave por 45 min. Finalmente se dispuso 160g del sustrato en cada maceta.

### 9.7.2. Recuento de Conidios

Para el recuento de conidias, se seleccionó una caja con cultivo del hongo *Metarhizium spp.* con crecimiento esporular de 7 días, posteriormente se raspó la superficie con un bisturí y se transfirieron todas las esporas un frasco con 50 mL de agua destilada estéril. Se mezcló la suspensión con ayuda de un vórtex y se tomó 50uL que fueron colocados en una cámara Neubauer.

- **Cámara Neubauer para su recuento:** Se seleccionaron 5 cuadrantes de los 25 cuadrantes del cuadro central y se contó el total de conidias tomando como regla el recuento de las conidias que topen el filo izquierdo y el filo superior, las conidias que tomaron el filo derecho y el inferior no fueron contadas.

La concentración de conidios por mililitro se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$C = \frac{\sum \text{conidias}}{5 \text{ cuadrantes}} \times \frac{25 \text{ cuadrantes}}{1 \text{ cuadrado}} \times \frac{1 \text{ cuadrado}}{0,3 \text{ mm}^3} \times \frac{1000 \text{ mm}^3}{1 \text{ cm}^3} \times \frac{1 \text{ cm}^3}{1 \text{ mL}} \times FD$$

$$C = \frac{883 \text{ conidios}}{5 \text{ cuadrantes}} \times \frac{25 \text{ cuadrantes}}{1 \text{ cuadrado}} \times \frac{1 \text{ cuadrado}}{0,3 \text{ mm}^3} \times \frac{1000 \text{ mm}^3}{1 \text{ cm}^3} \times \frac{1 \text{ cm}^3}{1 \text{ mL}} \times FD$$

$$C = 4,415 \times 10^7 \frac{\text{conidios}}{\text{mL}}$$

Para alcanzar la concentración de conidios deseada ( $2 \times 10^7$  conidios/ml) se procede de la siguiente forma:

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

$$4,415 \times 10^7 \frac{\text{conidios}}{\text{mL}} * 50 \text{ mL} = 2 \times 10^7 \frac{\text{conidios}}{\text{mL}} * V_2$$

$$V_2 = 110.38 \text{ mL}$$

$$V_{H_2O} = 110.38 \text{ mL} - 50 \text{ mL} = 60.38$$

Finalmente, se añadió 60,38 mL de agua destilada estéril en el frasco que contenía la suspensión de 50 ml de conidios.

### 9.7.3. Desinfección de las semillas de Tomate Riñón, variedad Pietro

En una solución de 500 mL de hipoclorito de cloro al 1% (100 mL de cloro comercial al 5% con 400 mL de agua destilada), se colocaron las 75 semillas para su desinfección y se agitó por 10 minutos. Luego, las semillas fueron lavadas y enjuagadas en agua destilada estéril por tres ocasiones. Posteriormente, las semillas fueron incorporadas a la solución de  $2 \times 10^7$  conidios por mL y se dejó reposar por 12 horas. Las semillas utilizadas como control negativo fueron desinfectadas y sumergidas solo en agua destilada estéril por 12 horas.

Se sembraron 60 macetas con semillas desinfectadas e inoculadas con el hongo *Metarhizium spp.* las cuales se utilizaron para los para los tratamientos y 15 macetas fueron utilizadas como control negativo en donde se sembró únicamente semillas sumergidas en agua destilada estéril sin el hongo.

Para el estudio de la influencia del pH sobre el desarrollo de plantas inoculadas con *Metarhizium spp.* se establecieron 25 macetas, de estas en 5 macetas sembradas con semillas en suspensión del hongo se estudió el efecto del pH 5, en 5 macetas el efecto del pH 6 (control), en 5 el efecto del pH 7, en 5 el pH 8 y 5 macetas fueron el control negativo.

Para el estudio de la influencia de la salinidad sobre el desarrollo de plantas inoculadas con *Metarhizium spp.* se establecieron 25 macetas, de estas en 5 macetas sembradas con semillas en suspensión del hongo se estudió el efecto de la salinidad a 100mM de NaCl, en 5 el efecto de la salinidad a 300mM de NaCl, en 5 el de la salinidad a 500mM de NaCl, 5 macetas sembradas con semillas inoculadas con el hongo fueron consideradas como salinidad 0mM de NaCl (control) y 5 macetas fueron el control negativo.

Para el estudio de la influencia de la temperatura sobre el desarrollo de plantas inoculadas con *Metarhizium spp.* también se establecieron 25 macetas, de estas en 5 macetas sembradas con semillas en suspensión del hongo se estudió el efecto de la temperatura a 10°C, en 5 el efecto de la temperatura a 22°C (Temperatura ambiente, control), en 5 el efecto de la temperatura a 30°C, y 5 macetas fueron el control negativo. Se sembraron 5 macetas extras que se

mantuvieron por 21 días a temperatura control (22°C); posteriormente se dejó una noche a 0°C y se evaluó por 9 días más.

#### **9.7.4. Preparación de la solución Hoagland**

Para regar las macetas y lograr mantener cada una de las condiciones señaladas se procedió a la preparación de la solución Hoagland, en un frasco de 5 litros previamente esterilizado, se añadieron 25 mL de la solución A, 25 mL de la solución B y se completó con 4950 mL de agua destilada estéril.

Luego se distribuyó en 4 botellas un total de 400 mL cada una, y en estas se ajustó los pH a 5, 6 (control), 7, y 8.

Posteriormente a los 3400 mL restantes se les ajustó el pH a 6. De estos se volvió a distribuir 400 mL en cuatro botellas a las cuales se les ajustó la salinidad a 0mM (0g) de NaCl (control); 100mM (2,34 g) de NaCl; 300mM (7,31 g) de NaCl y 500mM (11,6 g) de NaCl.

$$m_{NaCl=100mM} = 0,1 \frac{mol}{L} * 58,44 \frac{g}{mol} * 0,4L = 2,34 g NaCl$$

$$m_{NaCl=300mM} = 0,3 \frac{mol}{L} * 58,44 \frac{g}{mol} * 0,4L = 7,01 g NaCl$$

$$m_{NaCl=500mM} = 0,5 \frac{mol}{L} * 58,44 \frac{g}{mol} * 0,4L = 11,69 g NaCl$$

#### **9.7.5. Aplicación de las diferentes condiciones de distintos factores abióticos**

Con la preparación y aplicación de tres factores pH (5, 6, 7,8), la salinidad con valores de (0,100, 300 y 500 mM de NaCl) y los cambios de temperatura con valores entre (0,10,22,30°C), se evaluó por 21 días las diferentes variables para hacer la comparación de los tratamientos, y adicionalmente se evaluó 9 días más el factor de temperatura para poder hacer la comparación del tratamiento 0°C junto con la temperatura de 22°C con y sin hongo.

### **9.8. Monitoreo diario y registro de observaciones**

Los ensayos *in vitro* fueron evaluados por 7 días en donde se registró el área micelial del hongo obtenida a través del de la aplicación del software ImageJ. Los ensayos en plántulas se evaluaron por 21 días a excepción del tratamiento de temperatura en su nivel de 0°C el cual fue evaluado por 30 días. En los ensayos de plántulas se midieron las variables altura de la

planta, cantidad de hojas, área de las hojas, longitud de la raíz (al final del ensayo), peso húmedo de brotes y raíz (al final del ensayo), peso seco de brotes y raíz (al final del ensayo).

## **9.10. Análisis estadísticos**

### **9.10.1. Fase *in vitro* (objetivo 2)**

Los datos correspondientes a las variables asociadas al crecimiento *in vitro* de *Metarhizium spp.* fueron organizados por medio de Excel en hojas de cálculo para su análisis estadístico posterior.

Para la evaluación del efecto de factores abióticos en el desarrollo *in vitro* de *Metharizium spp.* en los datos obtenidos del área del crecimiento del hongo (cm<sup>2</sup>) fueron analizadas mediante estadística inferencial utilizando un análisis de varianza (ANOVA) de una vía y un análisis de comparación múltiple mediante la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ).

### **9.10.2. Fase en plántulas de tomate riñón (objetivo 3)**

Los datos correspondientes a las variables asociadas a plántulas de Tomate Riñón, fueron organizados en hojas cálculo mediante Excel y sometidos a análisis estadístico. Posteriormente se aplicó un ANOVA factorial, considerando como factor cada tratamiento y el día de evaluación, considerando como unidad experimental cada plántula evaluada.

Cuando la interacción tratamiento x día mostró diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), se aplicó un ANOVA de una vía individual para cada uno de los días evaluados y en el caso de reflejar diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0,05$ ) se aplicó la prueba de comparación múltiple de Tukey con nivel de significancia al 5% para identificar diferencias entre medias. Sin embargo, para aquellas variables sin interacción significativa, se efectuó el análisis únicamente en el último día de evaluación, ya que corresponde a la mayor expresión de crecimiento.

**Adicionalmente, aquellas variables que reflejaron ausencia de variabilidad o la presencia de valores nulos que impidieran la aplicación de pruebas inferenciales, fueron analizadas mediante estadística descriptiva por medio del cálculo de promedios y desviación estándar.**

En ambos casos, los análisis se realizaron con el software InfoStat, adoptando un nivel de significancia del 5 % ( $\alpha = 0,05$ ).

### 9.11. Materiales y equipos

La disponibilidad de los siguientes materiales y equipos garantizó la ejecución eficiente de todos los ensayos, con mediciones precisas de las variables para su cumplimiento de estándares de bioseguridad y calidad dentro del laboratorio (Tabla 5).

**Tabla 5.** *Materiales y equipos de laboratorio*

<b>Equipos / Materiales</b>	<b>Marca / Procedencia</b>	<b>Modelo / Presentación</b>	<b>Cantidad</b>
<b>Cabina de flujo laminar</b>	BIOBASE	BBS-H1300	1
<b>Microscopio</b>	ZEISS	Axiolab	1
<b>Autoclave</b>	TUTTNAVER	2540M	1
<b>Incubadora</b>	REBELK	RISO	1
<b>Incubadora</b>	BINDER	BD56	1
<b>Micropipetas</b>	BOECO	M-200 HL	3
<b>Placas Petri</b>	PYREX	90 mm	50
<b>PDA (agar dextrosa)</b>	DIFCO / Sigma	-	5 kg
<b>HCl</b>	MERCK	37% solución	1 L
<b>NaOH</b>	MERCK	1 M solución	1 L
<b>NaCl</b>	MERCK	Cristal puro	1 kg
<b>Semillas de tomate</b>	TOMATO SEEDS CO.	Variedad Pietro	100 g
<b>Solución Hoagland</b>	ELABORACIÓN PROPIA	-	5 L
<b>Cámara Neubauer</b>	HEMOCYTOMETER	Modelo estándar	1
<b>Balanza analítica</b>	HOCHOICE	HC500	1
<b>Termohigrómetro</b>	TFA	30.1037	1
<b>Calefactor</b>	GENERAL ELECTRIC	Modelo doméstico	1
<b>Refrigeradora</b>	PANASONIC	F-45	1

Elaborado por: Chanchicocha 2026.

## 10. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 10.1. Caracterización morfológica y molecular del hongo *Metarhizium* spp.

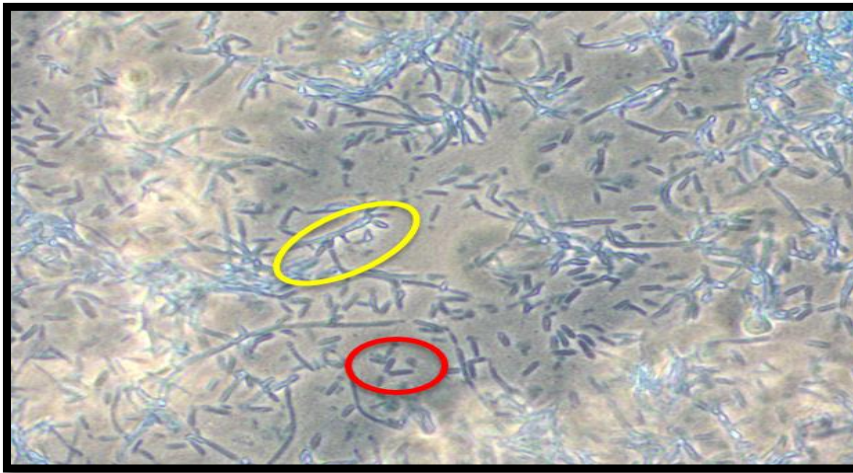
#### 10.1.1. Evaluación macroscópica y microscópica (cultivo en PDA)

A nivel macroscópico las colonias de *Metarhizium anisopliae*, desarrollaron un crecimiento de tipo filamentososo, presentando inicialmente una coloración blanca (Figura 2), la cual fue cambiando progresivamente cambiando hacia verde oscuro conforme avanzó el proceso de esporulación (Figura 3 y 4). La textura observada fue algodonosa, con bordes irregulares y una superficie lisa, reflejando a su vez su proceso de desarrollo fúngico que es óptimo bajo las condiciones implementadas y controladas, coincidiendo con descripciones reportadas en la literatura especializada como los trabajos realizados por Santos da Paixão



Se observa en la Figura 5, el conjunto de características a nivel microscópico, las cuales incluyen hifas alargadas, septadas y ramificadas (amarillo), así como también conidios unicelulares (rojo). En la figura 6 se presentan fragmentos de conidióforos (azul), un mayor número de conidios (amarillo) de forma cilíndrica e incluso truncados, los cuales están dispuestos en cadenas, con longitudes de 2,003  $\mu\text{m}$ ; 6,655  $\mu\text{m}$  7,220  $\mu\text{m}$ , es decir, menores de 10  $\mu\text{m}$ , característicos de *Metarhizium anisopliae* y un diámetro de 2  $\mu\text{m}$ , siendo elementos presentados que coinciden con la descripción realizada por Humber (2005) y De la Cruz (2016).

**Figura 5.** *Características microscópicas*



**Elaborado por:** Chanchicocha 2026.

**Figura 6.** *Características microscópicas*



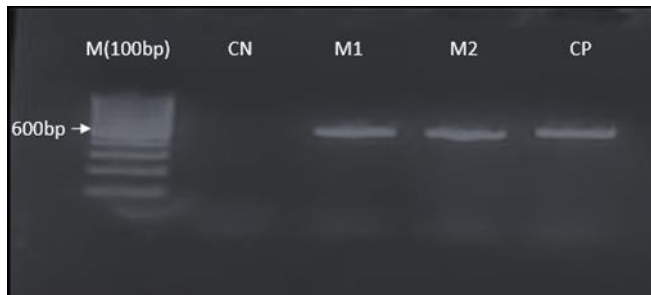
**Elaborado por:** Chanchicocha 2026.

### 10.1.2. Amplificación del fragmento ITS

Tras realizar la extracción y ampliación del fragmento ITS, se obtuvieron bandas fluorescentes del amplicón esperado aproximadamente a 600bp (Figura 7), validando que el

ADN no estuvo degradado ni contaminado, y que se obtiene un producto de Huber buena calidad aptos para el secuenciamiento, estos elementos son validados y concuerdan con las descripciones realizadas por Aymacaña, (2025) y Humber (2005).

**Figura 7.** Electroforesis en gel de agarosa del fragmento amplificado ITS de *Metarhizium anisopliae*

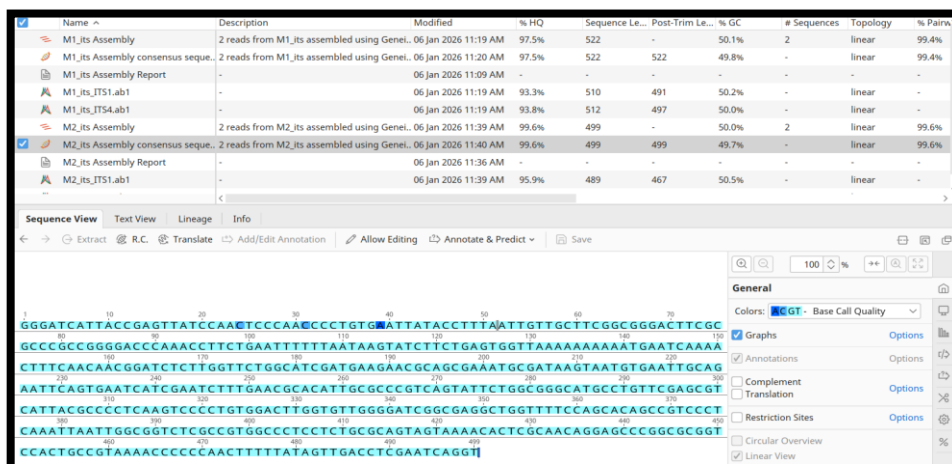


Elaborado por: Chanchicocha 2026.

### 10.1.3. Secuenciación y análisis bioinformático

En las secuencias obtenidas se eliminaron regiones de baja calidad, obteniéndose un porcentaje de calidad HQ de 99,6 % y una longitud de 499 pares de bases (Figura 8). Las secuencias depuradas fueron comparadas con la base de datos del NCBI mediante la herramienta BLASTn®, lo que permitió confirmar la identidad del hongo como un complejo de *Metarhizium anisopliae*, con el 99,60% de identidad (Figura 9). Este conjunto de criterios coincide con los estudios de calidad que han sido reportados por identificaciones moleculares como las realizadas por Humber (2005) y De la Cruz (2016).

**Figura 8.** Ensamblaje y análisis de secuencias de ADN



Elaborado por: Chanchicocha,2026.

**Figura 9.** Análisis bioinformático BLASTn®

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Metarhizium sp. F4 genes for 18S rRNA ITS1 5.8S rRNA ITS2 28S rRNA partial and complete cds	Metarhizium sp.	913	913	100%	0.0	99.80%	524	LC849541.1
Uncultured Metarhizium clone Ma-m1 internal transcribed spacer 1 partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene an...	uncultured Metar...	911	911	100%	0.0	99.60%	521	KP738826.1
Metarhizium robertsii isolate M004 small subunit ribosomal RNA gene partial sequence: internal transcribed spac...	Metarhizium robe...	911	911	100%	0.0	99.60%	583	PX661503.1
Metarhizium guizhouense isolate TELT11 internal transcribed spacer 1 partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gen...	Metarhizium guiz...	911	911	100%	0.0	99.60%	531	FV804112.1
Metarhizium robertsii isolate M008 internal transcribed spacer 1 partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and j...	Metarhizium robe...	911	911	100%	0.0	99.60%	507	MW820168.1
Metarhizium anisopliae isolate MaLV-1 18S ribosomal RNA gene partial sequence: internal transcribed spacer 1...	Metarhizium anis...	911	911	100%	0.0	99.60%	586	KX236318.1
Metarhizium anisopliae strain FRIM isolate FRIM95 internal transcribed spacer 1 partial sequence: 5.8S ribosom...	Metarhizium anis...	911	911	100%	0.0	99.60%	529	MG020735.1
Metarhizium sp. strain GH15 small subunit ribosomal RNA gene partial sequence: internal transcribed spacer 1 5...	Metarhizium sp.	911	911	100%	0.0	99.60%	556	MN602862.1
Fungal sp. isolate 27-1 internal transcribed spacer 1 partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal tran...	fungal sp.	911	911	100%	0.0	99.60%	534	OR457695.1
Metarhizium anisopliae isolate A1 18S ribosomal RNA gene partial sequence: internal transcribed spacer 1 5.8S r...	Metarhizium anis...	909	909	100%	0.0	99.60%	561	KX806556.1
Metarhizium ninghaense strain ARSEF 2162 small subunit ribosomal RNA gene partial sequence: internal transcri...	Metarhizium ning...	909	909	100%	0.0	99.60%	773	HM055447.1

Elaborado por: Chanchicocha, 2026.

## 10.2. Evaluación del impacto de los diferentes factores abióticos (salinidad, pH, temperatura) sobre el desarrollo de *Metarhizium anisopliae* a nivel *in vitro*

### 10.2.1. Efecto de la temperatura sobre el área micelial de *Metarhizium anisopliae*

Sobre el efecto de la temperatura sobre el crecimiento micelial en área de *Metarhizium anisopliae*, el análisis de varianza aplicado refleja diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 6). Con base a estos resultados, se realizó una prueba de Tukey, la cual se presenta en la Figura 10.

**Tabla 6.** Análisis de varianza para la variable área micelial (cm<sup>2</sup>) en función de la temperatura para el último día de evaluación (día 7)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2568,06	3	856,02	1528,44	< 0,0001
Tratamiento	2568,06	3	856,02	1528,44	< 0,0001
Error	4,48	8	0,56		
Total	2572,54	11			

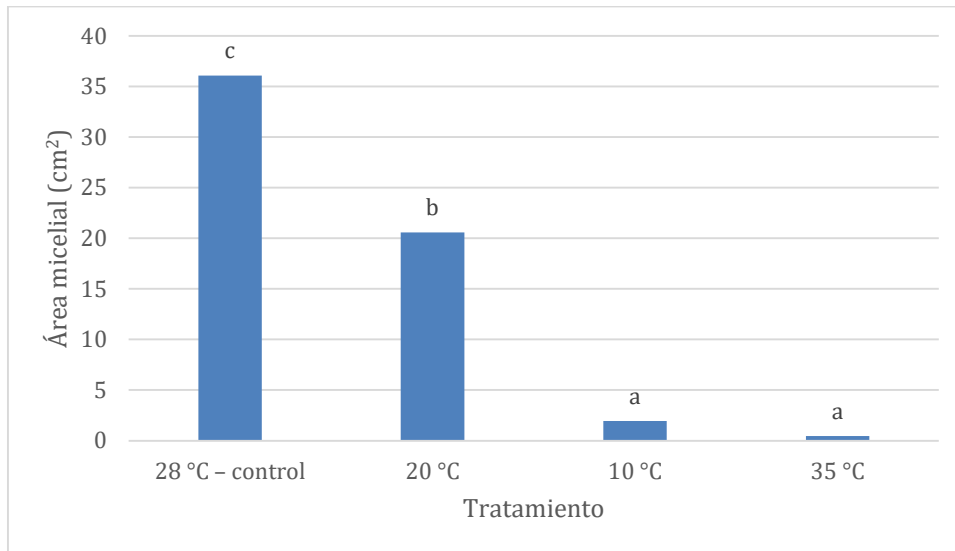
Nota. Nivel de significancia de 0,05

La prueba de Tukey refleja que la mayor área micelial se registró a 28 °C (36,06 cm<sup>2</sup>), lo que le permite diferenciarse del resto de tratamientos aplicados, por lo que indica que a esta temperatura se favorece el desarrollo del hongo (Figura 10).

Por su parte, a 20 °C se observa un crecimiento de 20,57 cm<sup>2</sup> siendo significativamente menor que el tratamiento control, pero superior a las temperaturas restantes. En este sentido, los tratamientos de 10 y 35 °C presentaron los valores más bajos de área micelial sin diferencias

significativas entre ellos, indicando que tanto las bajas como altas temperaturas pueden limitar de forma considerable el crecimiento de *Metarhizium anisopliae*.

**Figura 10.** Prueba de Tukey para la variable área micelial ( $\text{cm}^2$ ) en función de la temperatura para el último día de evaluación (día 7)



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

Con base a esto, Ramatsitsi et al. (2023) señalan que al evaluar diferentes aislamientos fúngicos a temperaturas de 10 y 40 °C no presentaron crecimiento, siendo las temperaturas óptimas entre 27 y 32 °C sin evidenciar diferencias significativas entre los aislamientos. En ese sentido, los resultados obtenidos se respaldan con estas observaciones, donde la mayor área micelial se asocia a la temperatura de 28 °C, tolerando incluso temperatura de 20°C, pero no extremas como 10°C y 35°C.

### 10.2.2. Efecto del pH sobre el área micelial de *Metarhizium anisopliae* en condiciones *in vitro*

Acerca del efecto del pH sobre el crecimiento micelial de *Metarhizium anisopliae* el análisis de varianza indica que existen diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 7). Por lo tanto, con base a estos resultados, se aplicó una prueba de Tukey la cual se presenta en la Figura 11.

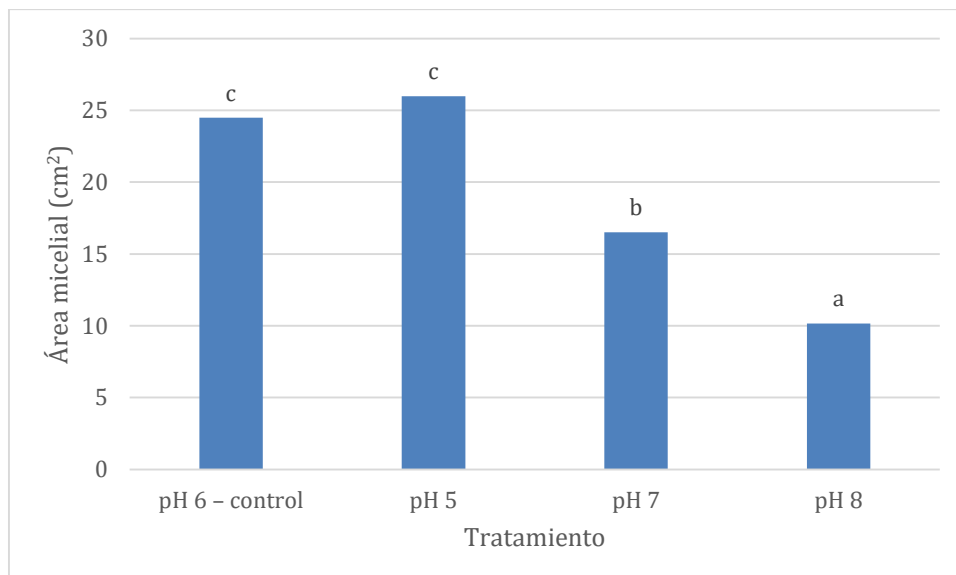
**Tabla 7.** Análisis de varianza para la variable área micelial ( $\text{cm}^2$ ) en función del pH para el último día de evaluación (día 7)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	488,02	3	162,67	192,10	0,0001
Tratamiento	488,02	3	162,67	192,10	0,0001
Error	6,77	8	0,85		
Total	494,80	11			

Nota. Nivel de significancia de 0,05

Con base a la prueba de Tukey (Figura 11), los valores más altos de área micelial se registraron en pH 5 ( $25,97 \text{ cm}^2$ ) y pH 6 – control ( $24,48 \text{ cm}^2$ ), sin presentar diferencias significativas entre sí, indicando que el hongo presenta un desarrollo óptimo en medios ligeramente ácidos. Por otro lado, a pH 7 se observó un crecimiento inferior a los dos tratamientos anteriores con  $16,50 \text{ cm}^2$ . En contraste, a pH 8, se registra la menor área micelial ( $10,16 \text{ cm}^2$ ) diferenciándose estadísticamente de los demás tratamientos. Estos resultados indican que el rango de pH óptimo para el desarrollo micelial de *Metarhizium anisopliae*. se sitúa entre 5 y 6, mientras que valores neutros y alcalinos afectan negativamente la expansión del micelio del hongo.

**Figura 11.** Prueba de Tukey para la variable área micelial ( $\text{cm}^2$ ) en función del pH para el último día de evaluación (día 7)



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

Con base a esto, Crosby et al. (2025) señala que hongos entomopatógenos como *Metarhizium anisopliae*. toleran un amplio rango de pH, pero tienden a mostrar mejores tasas de crecimiento en medios ligeramente ácidos o neutros, reduciendo su velocidad de expansión

en ambientes alcalinos. Estos resultados son consistentes con los observados dentro del período experimental, donde *Metarhizium anisopliae*, presentó un mejor desarrollo entre pH 5 y 6, y el menor desarrollo micelial se observó a pH 8.

### **10.2.3. Efecto de la salinidad sobre el área micelial de *Metarhizium anisopliae* en condiciones in vitro**

Sobre el efecto de la salinidad sobre el crecimiento de *Metarhizium anisopliae*, el análisis de varianza aplicado refleja diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 8). En este sentido, se aplicó una prueba de Tukey la cual se presenta en la Figura 12.

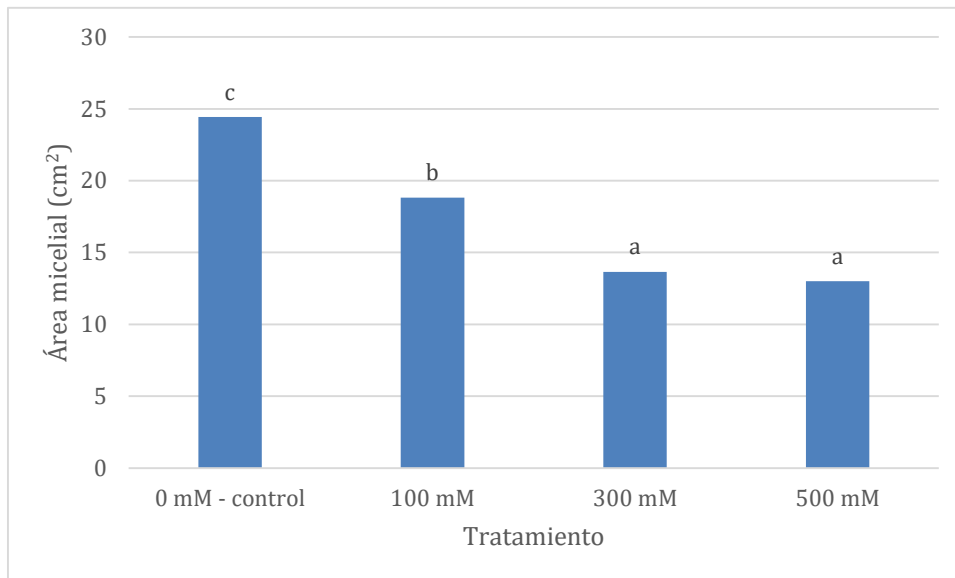
**Tabla 8.** Análisis de varianza para la variable área micelial ( $cm^2$ ) en función de la salinidad para el último día de evaluación (día 7)

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Modelo	286,83	3	95,61	33,23	0,0001
Tratamiento	286,83	3	95,61	33,23	0,0001
Error	23,02	8	2,88		
Total	309,85	11			

*Nota.* Nivel de significancia de 0,05

La prueba de Tukey refleja que el mayor crecimiento micelial se registra en el tratamiento control de 0 mM con 24,43  $cm^2$ , el cual difiere estadísticamente respecto al resto de niveles de salinidad, evidenciando que la ausencia de sal, favorece el desarrollo del micelio. A 100 mM se observa un crecimiento intermedio de 21,83  $cm^2$ , el cual, aunque es menor al control, es superior a los tratamientos de mayor concentración salina. Por su parte, los niveles de 300 mM y 500 mM presentaron los valores más bajos de área micelial, sin diferencias significativas entre ellos. De esta manera, los resultados muestran una tendencia decreciente del crecimiento micelial a medida que aumenta la concentración de sal, sugiriendo que la salinidad ejerce un efecto inhibitorio sobre el desarrollo del hongo (Figura 12).

**Figura 12.** Prueba de Tukey para la variable área micelial ( $\text{cm}^2$ ) en función de la salinidad para el último día de evaluación (día 7)



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

De esta manera, los resultados obtenidos concuerdan con las observaciones de Chaudhary et al. (2023) reportan que *Metarhizium anisopliae* presentan un mejor desarrollo en condiciones sin incremento de salinidad, algunas cepas pueden tolerar concentraciones moderadas de sal sin perder su viabilidad, donde a mayores concentraciones puede verse afectada la actividad metabólica, la producción micelial y de esporas.

### 10.2.3. Cuadro resumen de las variables evaluadas dentro del objetivo específico 2

Los resultados reflejan que el mayor desarrollo del área micelial se obtuvo bajo las condiciones de 28 °C, pH 5 a 6 y 0 mM de incremento de salinidad, lo que evidencia que el crecimiento del micelio es altamente dependiente de los factores físico-químicos del medio (Tabla 9).

En este contexto, la temperatura de 28 °C favoreció la expansión del micelio, lo que sugiere que la misma se considera óptima para el desarrollo del hongo, ya que permite una mayor actividad enzimática que trae como resultado una mayor elongación de hifas y, por lo tanto, una mayor colonización, se observa además que el hongo tolera temperatura de hasta 20°C. Por otra parte, valores de pH 5 a 6 promueven el desarrollo del micelio, lo que indica que el hongo presenta una mayor adaptación a condiciones ligeramente ácidas, pero tolera el pH hasta 8.

Finalmente, la ausencia de incremento en la salinidad es clave para el desarrollo óptimo del micelio, lo que sugiere que el hongo es sensible ante la salinidad, donde las altas concentraciones de sal son tolerables, pero limitan la expansión de las hifas.

**Tabla 9.** Cuadro resumen de los factores abióticos sobre el crecimiento *in vitro* de *Metharizium anisopliae*. (ANOVA, Tukey  $\alpha = 0,05$ )

Variable	Temperatura	pH	Salinidad
Area micelial (cm <sup>2</sup> )	28 °C	pH5-pH6	0 mM
Condiciones tolerables	20°C-28°C	5,6,7,8	0mM-100mM-300mM-500mM

*Nota.* Los valores indicados en la tabla representan el nivel de cada tratamiento que mostró mayor desarrollo ( $p < 0,05$ )

### 10.3. Evaluación el impacto de los diferentes factores abióticos (salinidad, pH, temperatura) sobre el desarrollo de plántulas de tomate riñón inoculadas con *Metarhizium anisopliae*

#### 10.3.1. Efecto del pH sobre el desarrollo de plántulas de tomate riñón

- *Altura (cm)*

El ANOVA factorial (Tabla 10) evidencia una interacción significativa entre tratamiento y día ( $p < 0,05$ ) indicando que el efecto de los tratamientos varió a lo largo del tiempo, por lo que se realizó un análisis independiente por día para identificar diferencias entre tratamientos en cada fecha de evaluación.

**Tabla 10.** ANOVA factorial para la variable altura (cm) en función del pH

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	91,21	11	8,29	120,32	< 0,0001
Día	79,01	2	39,50	573,20	< 0,0001
Tratamiento	10,65	3	3,55	51,50	< 0,000 1
Día *	1,56	6	0,26	3,76	0,0038
Tratamiento					
Error	3,31	48	0,07		
Total	94,52	59			

*Nota.* Nivel de significancia de 0,05

En este contexto, el análisis de varianza realizado por día (Tabla 11) reflejó diferencias significativas entre tratamientos en los días 7, 14 y 21 ( $p < 0,05$ ). Por lo tanto, se aplicó una prueba de Tukey para cada uno de los días, cuyos resultados se presentan en la Figura 13.

**Tabla 11.** *Análisis de varianza para la variable altura (cm) en función del pH para los días 7, 14 y 21*

Día	gl (trat)	gl (error)	F	p-valor	CM error
7	3	16	18,66	< 0,0001	0,05
14	3	16	9,14	< 0,0001	0,07
21	3	16	28,23	< 0,0001	0,09

*Nota.* gl (trat): grados de libertad – tratamiento; gl (error): grados de libertad – error; CM error: cuadrado medio del error.

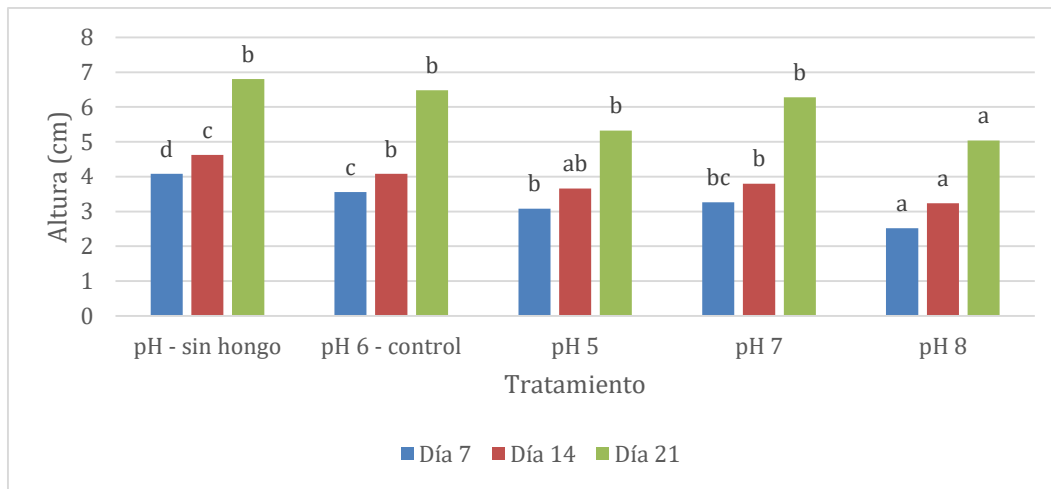
El análisis de Tukey para los días 7, 14 y 21 evidencia que el pH ejerció una influencia marcada durante los primeros días de evaluación, mientras que su efecto tendió a disminuir conforme avanzaba el desarrollo de las plántulas (Figura 13)

En este sentido, para el día 7, se observaron diferencias claramente definidas entre los tratamientos, donde el tratamiento de pH sin inoculación y a pH 6 con inoculación presentan los valores de altura más altos, seguido con los tratamientos a pH 5 y 7 con comportamientos similares. Sin embargo, a pH 8 se muestra el valor más bajo, sugiriendo que el crecimiento es particularmente sensible a medios alcalinos.

Para el día 14, se evidenció una ligera reducción entre la amplitud de las medias, donde el pH – sin hongo mantuvo la mayor altura, pero los tratamientos pH 6 con inoculación, pH 5 y 7 comenzaron a reflejar comportamientos similares, mientras que a pH 8 siguió registrando el menor crecimiento.

Finalmente, para el día 21, los tratamientos a excepción de aquel a pH 8, se agruparon en una misma categoría estadística. Esto, refleja que valores ligeramente ácidos a neutros favorecen un crecimiento más marcado, mientras que ambientes alcalinos pueden generar una reducción en la altura de la planta. Además, debido a que no se observan diferencias significativas entre los tratamientos con y sin inoculación, no puede decirse que la presencia de *Metarhizium anisopliae*. favorece el crecimiento de las plántulas de tomate frente a diferentes condiciones de pH.

**Figura 13.** Prueba de Tukey para la variable altura (cm) en función del pH para los días 7, 14 y 21



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

Con base a los resultados obtenidos, Zhang (2025) menciona que, dentro del desarrollo del tomate, el pH es un factor que influye directamente sobre la productividad de la especie. En este sentido, el autor señala que un intervalo de pH ligeramente ácido a neutro, suele mejorar tanto el crecimiento vegetativo como otros parámetros de rendimiento. Asimismo, condiciones alcalinas pueden asociarse con menor desarrollo y calidad de las plantas.

- **Número de hojas**

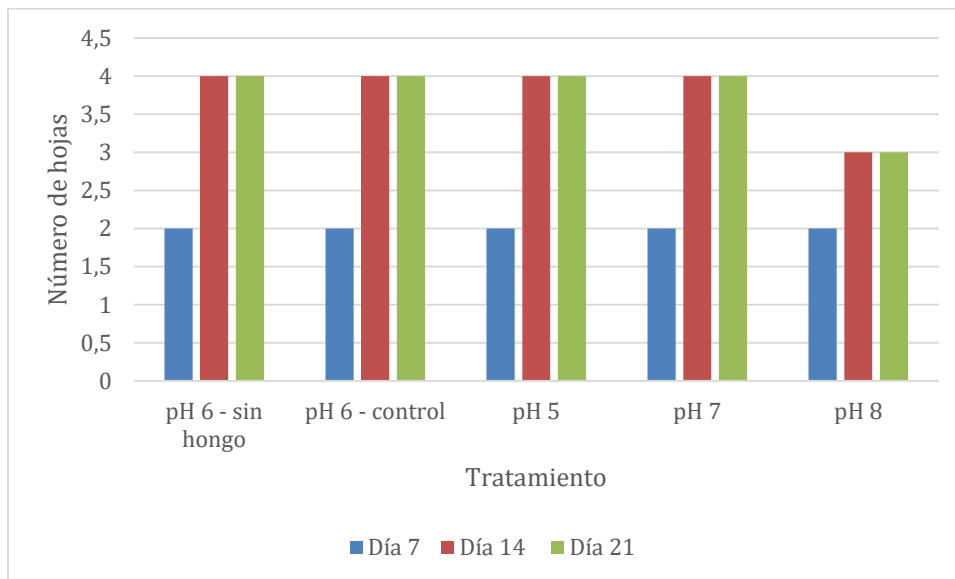
Acerca de la influencia del pH sobre el número de hojas, los tratamientos presentaron un comportamiento similar durante las etapas iniciales del desarrollo (Tabla 12). Al día 7, las plántulas presentaron dos hojas en promedio, indicando que el desarrollo inicial de hojas de las plántulas no tuvo influencia por parte del pH.

Por otra parte, a partir del día 14, los tratamientos de pH 5, pH 6 sin hongo, control y 7, alcanzaron cuatro hojas en promedio, donde a pH 8 se observó un menor desarrollo foliar. Esta diferencia se mantuvo al día 21, donde todos los tratamientos conservaron hojas a excepción de aquel a pH 8, que permaneció con tres hojas.

**Tabla 12.** Número de hojas promedio en función del pH para los días 7, 14 y 21

Tratamiento	Día 7	Día 14	Día 21
<b>pH 6 – sin hongo</b>	2 ± 0,00	4 ± 0,00	4 ± 0,00
<b>pH 6 - control</b>	2 ± 0,00	4 ± 0,00	4 ± 0,00
<b>pH 5</b>	2 ± 0,00	4 ± 0,00	4 ± 0,00
<b>pH 7</b>	2 ± 0,00	4 ± 0,00	4 ± 0,00
<b>pH 8</b>	2 ± 0,00	3 ± 0,00	3 ± 0,00

De esta manera, los resultados señalan que valores de pH entre ácidos y cercanos a la neutralidad, favorecen la emisión y mantenimiento de hojas, mientras que las condiciones alcalinas limitan el desarrollo foliar, teniendo un efecto negativo sobre el crecimiento vegetativo del tomate. Además, al no verse diferencias entre los tratamientos con y sin inoculación, no puede decirse que la presencia de *Metarhizium anisopliae* favorece la emisión de hojas (Figura 14).

**Figura 14.** Número de hojas promedio en función del pH para los días 7, 14 y 21

En este sentido, este comportamiento concuerda con lo reportado por Zhang et al. (2025), el cual señala que un rango de pH de ligeramente ácido a neutro, favorece el crecimiento vegetativo en el tomate, incluyendo la producción de hojas y otras estructuras, mejorando la absorción de nutrientes y la actividad fisiológica. Asimismo, condiciones de pH alcalinos pueden limitar la disponibilidad de ciertos nutrientes como hierro y fósforo, causando deficiencias nutricionales que repercuten negativamente en el desarrollo de órganos vegetativos como hojas.

- *Área foliar (cm<sup>2</sup>)*

El ANOVA factorial (Tabla 13) refleja una interacción significativa entre los tratamientos y los días evaluados ( $p < 0,05$ ), indicando que los tratamientos no tuvieron un comportamiento homogéneo a lo largo de tiempo. En este sentido, se realizó un análisis individual por día para determinar diferencias dentro de los tratamientos aplicados.

**Tabla 13.** ANOVA factorial para la variable área foliar (cm<sup>2</sup>) en función del pH

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	12,02	11	1,09	95,36	< 0,0001
Tratamiento	0,76	3	0,25	22,09	< 0,0001
Día	10,49	2	5,24	457,48	< 0,0001
Día *	0,78	6	0,13	11,28	< 0,0001
Tratamiento					
Error	0,55	48	0,01		
Total	12,57	59			

Nota. Nivel de significancia de 0,05

En el análisis de varianza realizado por día (Tabla 14) se observa diferencias significativas entre los tratamientos aplicados durante el periodo de análisis ( $p < 0,05$ ). En este sentido, se aplicó una prueba de Tukey para cada día evaluado, cuyos resultados se presentan en la Figura 15.

**Tabla 14.** Análisis de varianza para la variable área foliar (cm<sup>2</sup>) en función del pH para los días 7, 14 y 21

Día	gl (trat)	gl (error)	F	p-valor	CM error
7	3	16	8,07	0,0017	0,01
14	3	16	16,65	< 0,0001	0,07
21	3	16	14,99	0,0001	0,43

Nota. gl (trat): grados de libertad – tratamiento; gl (error): grados de libertad – error; CM error: cuadrado medio del error.

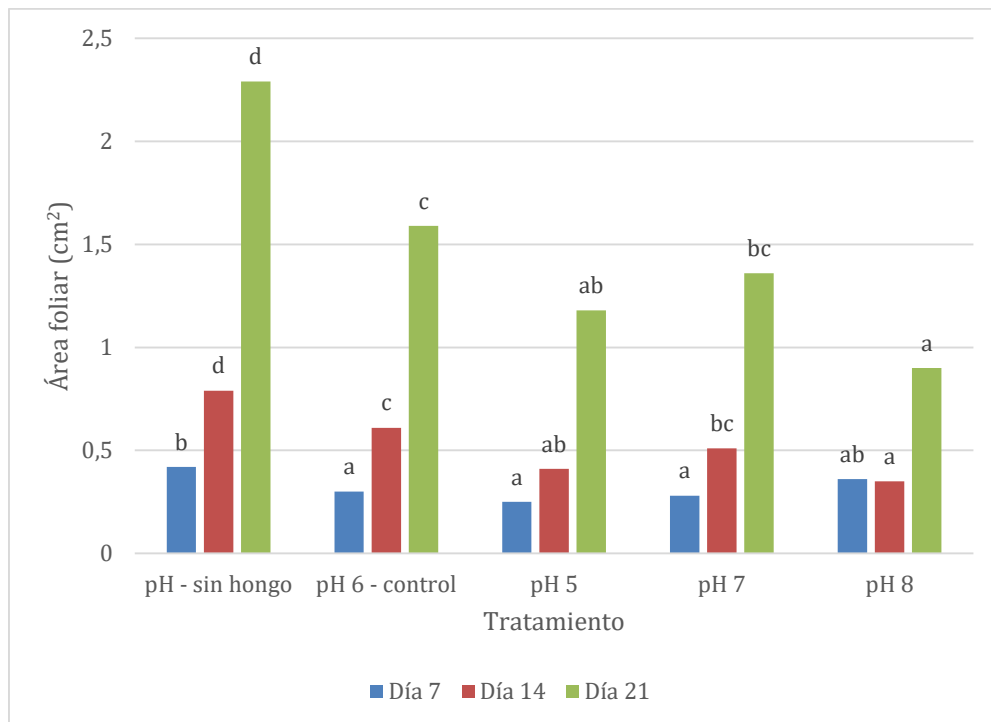
En este contexto, el análisis de Tukey refleja que el efecto del pH sobre el área foliar se incrementó conforme pasaban los días de evaluación (Figura 15). En el día 7 solo se detectaron 2 grupos estadísticos, por lo que puede decirse que la influencia del pH todavía no era plenamente marcada.

Para el día 14, el tratamiento pH – sin hongo presentó el mayor valor de área foliar, seguido por pH 6 – control, mientras que a pH 8 se observó el menor desarrollo. Esta tendencia

permite evidenciar que a medida que el pH aumenta, se compromete el desarrollo foliar de la planta.

En el día 21, las diferencias fueron aún más claras. Los tratamientos a pH 6 reflejaron los mayores valores de área foliar, mientras que a pH 8 se registró el valor más bajo. De esta manera, puede decirse que los valores cercanos a pH 6 favorecen la expansión foliar, mientras que condiciones más alcalinas, restringen el desarrollo foliar. Asimismo, los resultados evidencian que la variable se encuentra influenciada de forma dominante por el pH, ya que al comparar ambos tratamientos con y sin inoculación, los resultados más favorables se observan en el tratamiento donde la planta no se encontraba bajo la influencia de *Metarhizium anisopliae*.

**Figura 15.** Prueba de Tukey para la variable área foliar (cm<sup>2</sup>) en función del pH para los días 7, 14 y 21



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

Los resultados obtenidos se alinean con lo reportado por Barrows & Hartemink (2023), los cuales destacan el papel crítico del pH dentro de la respuesta fisiológica de las plantas. En ese sentido, en rangos ligeramente ácidos, la disponibilidad de nutrientes aumenta, lo que favorece a procesos de división y expansión celular que permiten el incremento del área foliar. Por el contrario, medios alcalinos reducen la disponibilidad de ciertos nutrientes, generando deficiencias que se manifiestan en la reducción del crecimiento y superficie de la hoja.

- **Longitud de raíz (cm)**

Sobre el efecto del pH sobre la longitud de la raíz en plántulas de tomate, el análisis de varianza para el día 21 refleja diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 15). Con base a esto, se aplicó una prueba de Tukey cuyos resultados se presentan en la Figura 16.

**Tabla 15.** Análisis de varianza para el efecto del pH sobre la longitud de raíz (cm) de plántulas de tomate (día 21)

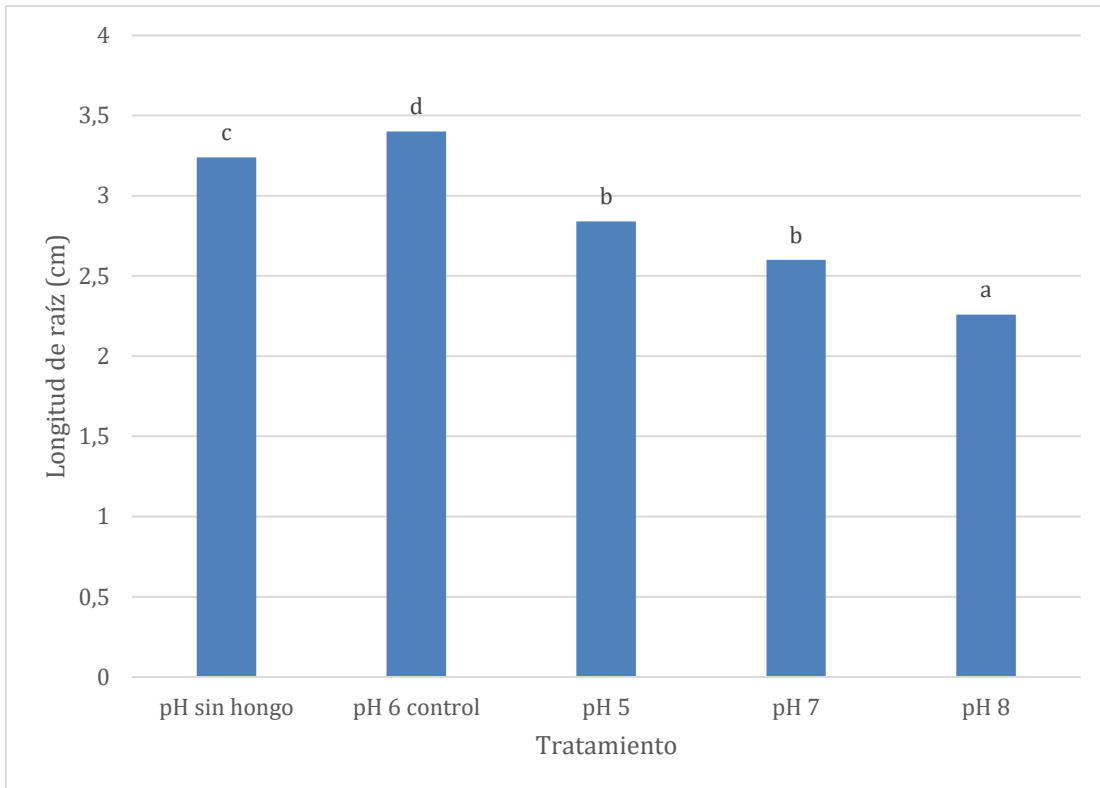
<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Modelo	4,32	4	1,08	8,07	0,0005
Tratamiento	4,32	4	1,08	8,07	0,0005
Error	2,68	20	0,13		
Total	6,99	24			

Nota. Nivel de significancia de 0,05

En este sentido, el control presentó un mayor desarrollo radicular de 3,40 cm constituyendo un grupo significativamente diferente al resto de tratamientos, seguido por el tratamiento pH sin hongo con 3,2 cm y el pH 5 con 2,84 cm. Por su parte, el tratamiento a pH 7 registró un valor intermedio de 2,60 cm, mientras que a pH 8 se identificó el menor valor de longitud de raíz (2,26 cm), indicando una reducción progresiva del crecimiento radicular a medida que el medio se volvía más alcalino.

Por lo tanto, los resultados sugieren que valores de pH ligeramente ácidos favorecen el desarrollo del sistema radicular, mientras que condiciones alcalinas, limitan la elongación de la raíz. Asimismo, puede decirse que la inoculación de *Metarhizium anisopliae* pudo tener un efecto positivo sobre el desarrollo radicular, ya que los resultados obtenidos en el tratamiento a pH 6 con inoculación son superiores a los reflejados por el tratamiento con el mismo nivel de pH, pero sin inoculación.

**Figura 16.** Prueba de Tukey para el efecto del pH sobre la longitud de raíz (cm) en plántulas de tomate (día 21)



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

Con base a esto, Devi et al. (2025) señalan que el pH es un factor clave que determina la disponibilidad de nutrientes, y que, a su vez, afecta directamente la acumulación de biomasa radicular. En este sentido, medios ligeramente ácidos favorece la solubilidad macro y micronutrientes, permitiendo su absorción y, por lo tanto, inducen el crecimiento vegetativo. Asimismo, Miao et al. (2023) señalan que interacciones planta-microorganismos bajo condiciones adecuadas, pueden favorecer la acumulación de biomasa a nivel radicular, ya que favorecen la síntesis de compuestos bioactivos como auxinas, citoquininas y giberelinas (González-Guzman et al., 2020).

- ***Peso húmedo de raíz (g)***

El análisis de varianza aplicado en el día 21 para evaluar el efecto del pH sobre el peso húmedo de la raíz en plántulas de tomate, refleja diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 16). En ese sentido, se utilizó posteriormente una prueba de Tukey la cual se presenta en la Figura 18.

**Tabla 16.** Análisis de varianza para el efecto del pH sobre el peso húmedo de raíz(g) en plántulas de tomate (día 21)

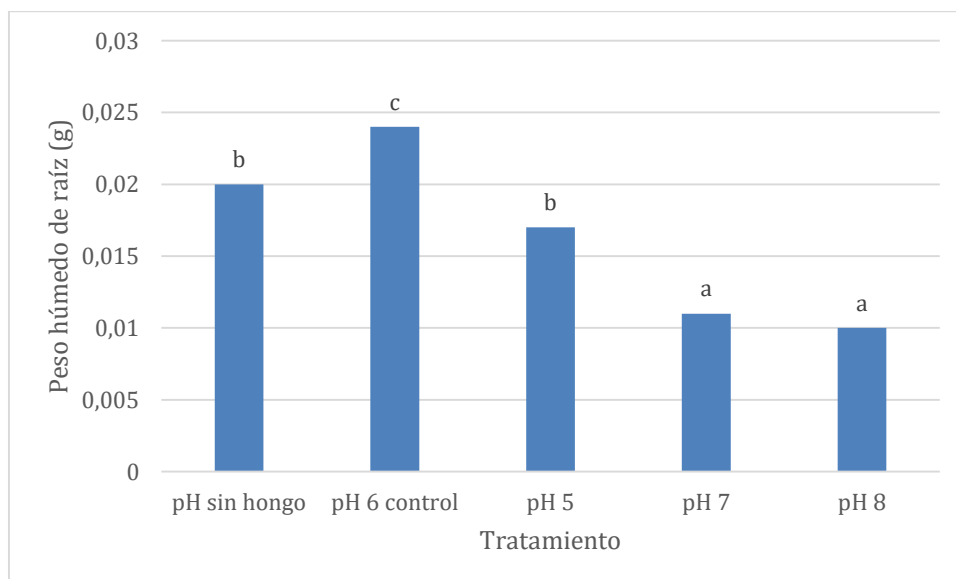
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	$6,6 \times 10^{-04}$	4	$1,7 \times 10^{-04}$	47,57	< 0,0001
Tratamiento	$6,8 \times 10^{-04}$	4	$1,7 \times 10^{-04}$	47,87	< 0,0001
Error	$7,1 \times 10^{-05}$	20	$3,6 \times 10^{-06}$		
Total	$7,5 \times 10^{-04}$	24			

Nota. Nivel de significancia de 0,05

Los resultados obtenidos reflejan que el tratamiento control registró el mayor valor promedio de peso húmedo de raíz con 0,024 g, siendo significativamente diferente respecto al resto de tratamientos, seguido por pH sin hongo con 0,020 y pH 5 con 0,017 g. En contraste, los tratamientos a pH 7 y 8 presentaron los valores más bajos con 0,011 g y 0,010 g respectivamente.

Estos resultados indican que condiciones ligeramente ácidas favorecen la acumulación de biomasa radicular, mientras que un pH neutro o alcalino, reducen significativamente el peso húmedo de la raíz de tomate. A su vez, el hecho de que el tratamiento a pH 6 inoculado reflejara resultados superiores al no inoculado, podría inferirse que *Metarhizium anisopliae* tiene un efecto positivo dentro de la acumulación de biomasa radicular. (Figura 17).

**Figura 17.** Prueba de Tukey para el efecto del pH sobre el peso húmedo de raíz (g) en plántulas de tomate (día 21)



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

Los resultados obtenidos se alinean con lo reportado por Hassan (2023), el cual menciona que cuando el pH se desplaza a valores neutros o alcalinos, la disponibilidad de algunos micronutrientes puede disminuir, reduciendo la acumulación de biomasa en órganos como la raíz. Asimismo, los autores mencionan que, para cultivos como el tomate, rangos ligeramente ácidos favorecen el desarrollo eficiente del sistema radicular. Además, Miao et al. (2023) señalan que interacciones planta-microorganismos pueden modular respuestas fisiológicas para favorecer la acumulación de biomasa tanto a nivel radicular como aéreo, donde en el caso de *Metharizium spp.*, favorece la síntesis de compuestos bioactivos asociados al desarrollo vegetativo (González-Guzman et al., 2020).

- **Peso seco de la raíz (g)**

Sobre el efecto del pH sobre el peso seco de raíz en plántulas de tomate, el análisis de varianza para el día 21 refleja diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 17). Con base a esto, se aplicó una prueba de Tukey cuyos resultados se presentan en la Figura 18.

**Tabla 17.** Análisis de varianza para el efecto del pH sobre el peso seco de raíz (g) en plántulas de tomate (día 21)

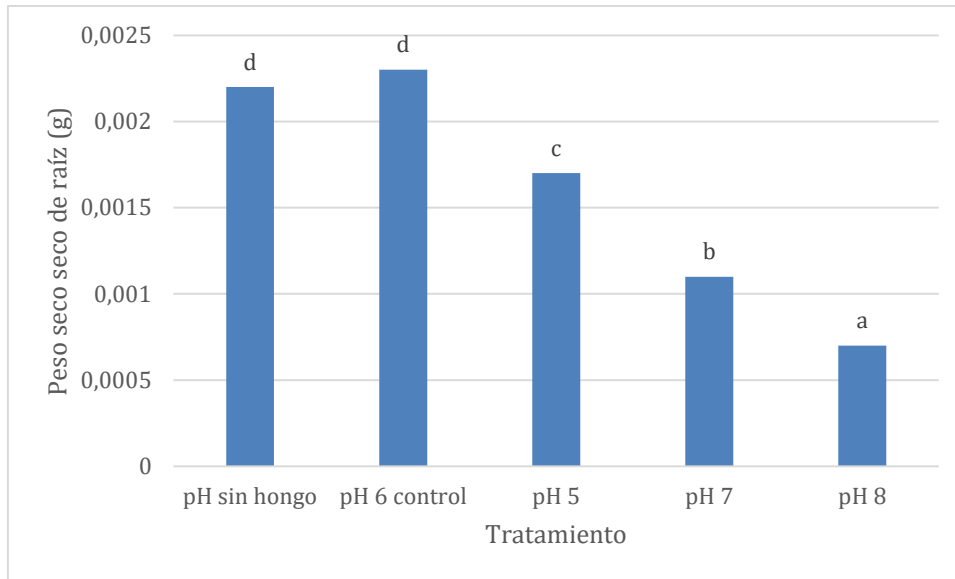
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	$9,2 \times 10^{-06}$	4	$2.3 \times 10^{-06}$	75,12	< 0,0001
Tratamiento	$9,2 \times 10^{-06}$	4	$2.3 \times 10^{-06}$	75,12	< 0,0001
Error	$6,4 \times 10^{-07}$	20	$3,2 \times 10^{-08}$		
Total	$9,8 \times 10^{-06}$	24			

Nota. Nivel de significancia de 0,05

Los resultados obtenidos reflejan que el mayor valor fue registrado para el tratamiento control con 0,0023 g y por pH sin hongo (0,0022) donde no se evidenciaron diferencias significativas entre ellos. En contraste, los tratamientos pH 7 y pH 8 mostraron los valores más bajos con 0,0011 g y 0,0007 g respectivamente.

Estos resultados indican que condiciones ligeramente ácidas favorecen la acumulación de biomasa seca radicular, mientras que valores de pH más neutros y alcalinos reducen progresivamente el desarrollo de la raíz. Además, al no observarse diferencias significativas entre los tratamientos a pH 6 con y sin inoculación, no puede decirse que *Metarhizium anisopliae* tenga un efecto directo sobre el comportamiento de la variable (Figura 18).

**Figura 18.** Prueba de Tukey para el efecto del pH sobre el peso seco de raíz (g) en plántulas de tomate (día 21)



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

Los resultados obtenidos se alinean a los reportado por Tran et al. (2024), los cuales mencionan que, a valores ligeramente ácidos, la disponibilidad de fósforo y micronutrientes es óptima, lo que favorece su absorción y la síntesis de compuestos estructurales que desencadenan la formación de biomasa radical. Sin embargo, cuando el pH se desplaza hacia condiciones neutras a ligeramente alcalinas, se limita la absorción de nutrientes por parte de la raíz, reduciendo la síntesis de biomasa y, por lo tanto, la acumulación de materia seca en los tejidos radiculares.

- ***Peso húmedo de los brotes (g)***

El análisis de varianza para el día 21 aplicado para evaluar el efecto del pH sobre el peso húmedo de brotes en plántulas de tomate, refleja diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 18). En ese sentido, se utilizó posteriormente una prueba de Tukey la cual se presenta en la Figura 19.

**Tabla 18.** Análisis de varianza para el efecto del pH sobre el peso húmedo de brotes (g) en plántulas de tomate (día 21)

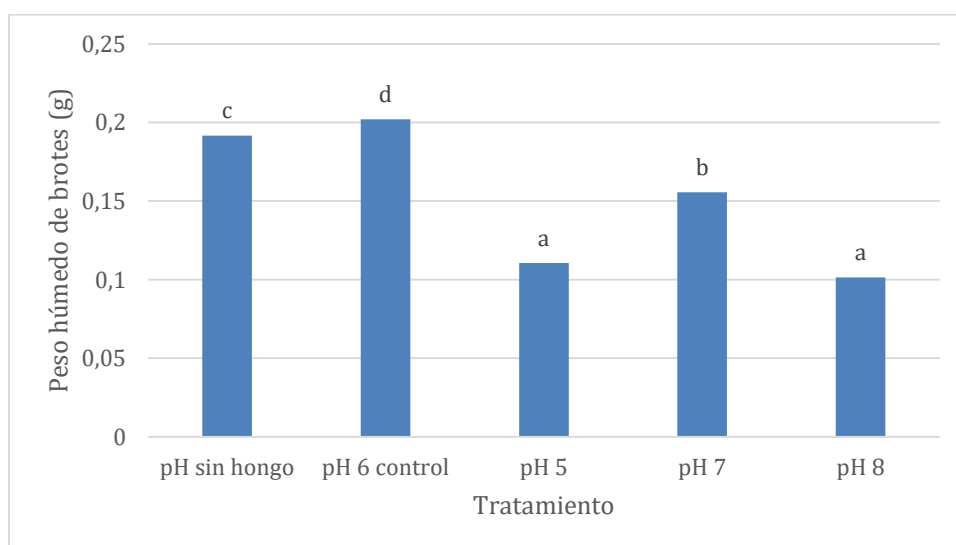
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,10	4	0,02	53,43	< 0,0001
Tratamiento	0,10	4	0,02	53,43	< 0,0001
Error	0,01	20	$7 \times 10^{-04}$		
Total	0,11	24			

Nota. Nivel de significancia de 0,05

Los resultados reflejan que el mayor valor registrado se asocia al tratamiento pH 6 control con 0,2021 g, siendo estadísticamente diferente al resto de tratamiento. En este sentido, el siguiente tratamiento con mejor respuesta es el pH sin hongo (0,1917 g) seguido por pH 7 (0,1556 g). Por otro lado, los tratamientos de pH 5 y 8 mostraron los menores valores de peso con 0,1105 y 0,1014 g respectivamente.

De esta manera, el crecimiento aéreo es favorecido por condiciones ligeramente ácidas, mientras que los pH ácidos y alcalinos redujeron la acumulación de biomasa fresca en los brotes. Asimismo, el hecho de que el mejor comportamiento de la variable se asocie al tratamiento pH 6 control al compararse con pH sin hongo, permite inferir que *Metarhizium anisopliae* junto a condiciones adecuadas de pH favorece a la acumulación de biomasa asociada a brotes. (Figura 19).

**Figura 19.** Prueba de Tukey para el efecto del pH sobre el peso húmedo de brotes (g) en plántulas de tomate (día 21)



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

Con base a esto, Astija (2020) reporta que el crecimiento vegetativo para el tomate se favorece en condiciones ligeramente ácidas, donde se mantienen disponibles diferentes elementos esenciales para la expansión celular y el desarrollo de brotes. Asimismo, el estrés por pH se asocia con condiciones ácidas y alcalinas que pueden alterar la conductancia estomática y la disponibilidad de elementos que generan un menos desarrollo de órganos aéreos.

Además, Miao et al. (2023) señalan que interacciones planta-microorganismos entre algunas cepas de hongo, modulan respuestas fisiológicas que permiten la acumulación de biomasa en la planta, como por ejemplo, el incremento de compuestos bioactivos que favorecen el crecimiento de la planta (González-Guzman et al., 2020).

- **Peso seco de brotes (g)**

El análisis de varianza aplicado el día 21 para evaluar el efecto del pH sobre el peso seco de brotes en plántulas de tomate, refleja diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 19). De esta manera, se aplicó una prueba de Tukey la cual se presenta en la Figura 20.

**Tabla 19.** Análisis de varianza para el efecto del pH sobre el peso seco de brotes (g) en plántulas de tomate (día 21)

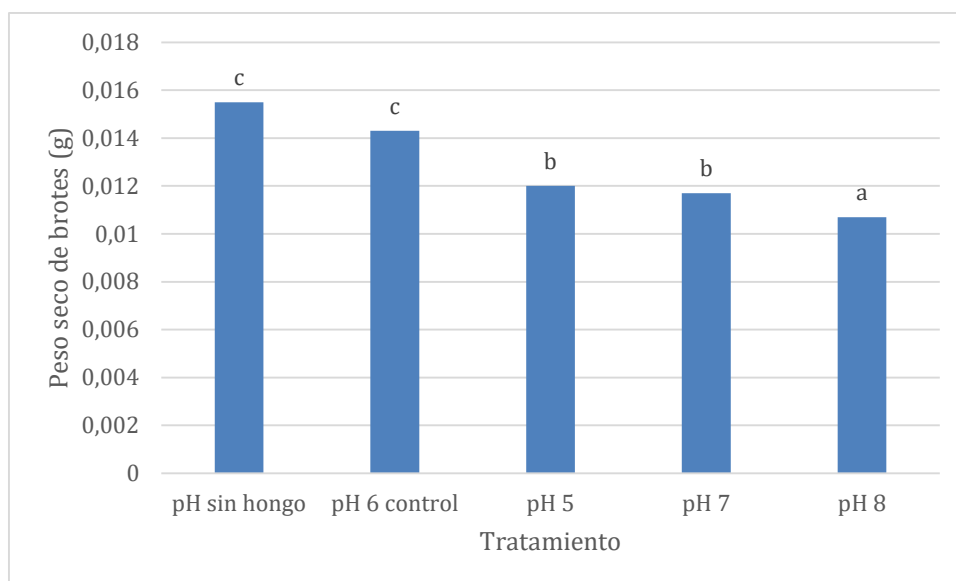
<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Modelo	$1,7 \times 10^{-04}$	4	$4,1 \times 10^{-05}$	12,16	< 0,0001
Tratamiento	$1,7 \times 10^{-04}$	4	$4,1 \times 10^{-05}$	12,16	< 0,0001
Error	$6,8 \times 10^{-05}$	20	$3,4 \times 10^{-06}$		
Total	$2,3 \times 10^{-04}$	24			

Nota. Nivel de significancia de 0,05

El peso seco de brotes presentó diferencias entre los niveles de pH evaluados (Figura 20). El mayor valor promedio se registró en el tratamiento control con 0,0155 g, seguido por pH 5 con 0,0120 g y pH 7 con 0,0117 g. El menor peso se observó en el tratamiento a pH 8 con 0,0107 g

De esta manera, se evidenció una disminución del peso seco de brotes conforme el pH se alejaba del valor de 6, particularmente en condiciones alcalinas, indicando que el pH es un factor que influye directamente en la acumulación de biomasa aérea. Además, debido a que el mejor comportamiento de la variable se observa en el tratamiento pH sin hongo, no puede decirse que *Metarhizium anisopliae* tenga algún efecto sobre el peso seco de brotes.

**Figura 20.** Prueba de Tukey para el efecto del pH sobre el peso seco de brotes (g) en plántulas de tomate (día 21)



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

Con base a esto, Jackson & Meetei (2020) reportan que los pH ligeramente ácidos favorecen la disponibilidad de micro y macronutrientes esenciales que repercuten en el incremento de biomasa seca. Asimismo, valores de pH fuera de estos rangos, como medios alcalinos y ácidos, provocan limitaciones en la disponibilidad de elementos estructurales reduciendo la producción de materia seca y la asignación de carbono hacia tejidos aéreos.

### 10.3.2 Efecto de la salinidad sobre el desarrollo de plántulas de tomate

- **Altura (cm)**

El ANOVA factorial (Tabla 20) reflejó una interacción significativa entre tratamiento y día ( $p < 0,05$ ) indicando que el efecto de los tratamientos no fue homogéneo a lo largo del tiempo. Por lo tanto, se realizó un análisis independiente por día para identificar diferencias entre tratamientos en cada fecha de evaluación.

**Tabla 20.** ANOVA factorial para la variable altura (cm) en función de la salinidad

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	317,56	11	28,87	195,39	< 0,0001
Tratamiento	291,83	3	97,28	658,40	< 0,0001
Día	11,11	2	5,55	37,59	< 0,0001
Día * Tratamiento	14,62	6	2,44	16,49	< 0,0001
Error	7,09	48	0,15		
Total	324,65	59			

*Nota.* Nivel de significancia de 0,05

El análisis de varianza realizado por día (Tabla 21) señaló diferencias significativas entre los tratamientos aplicados en los días 7, 14 y 21 ( $p < 0,05$ ), por lo que se aplicó una prueba de Tukey para cada uno de los días evaluados, los resultados se presentan en la Figura 21.

**Tabla 21.** Análisis de varianza para la variable altura (cm) en función de la salinidad para los días 7, 14 y 21

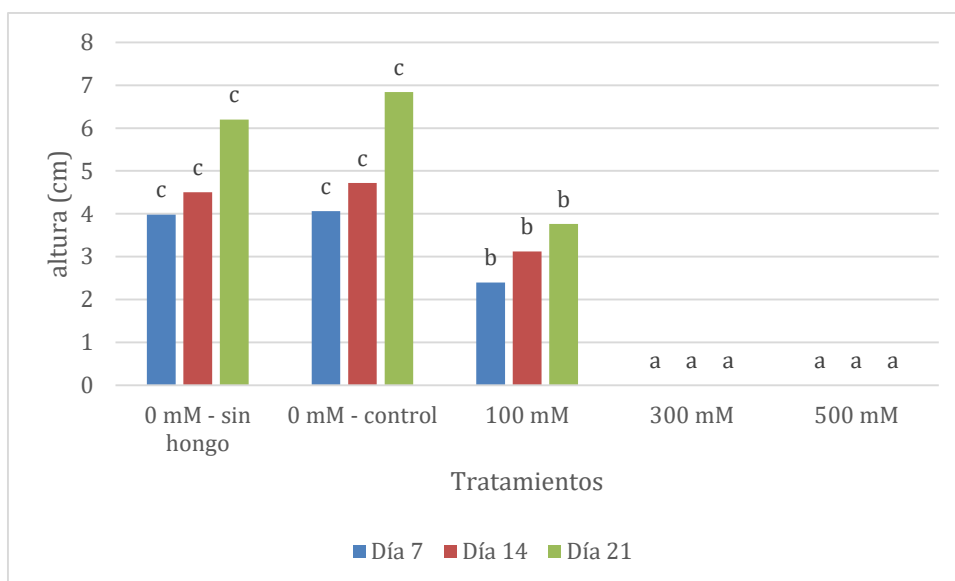
Día	gl (trat)	gl (error)	F	p-valor	CM error
7	3	16	155,00	< 0,0001	0,13
14	3	16	234,13	< 0,0001	0,12
21	3	16	276,72	< 0,0001	0,20

*Nota.* gl (trat): grados de libertad – tratamiento; gl (error): grados de libertad – error; CM error: cuadrado medio del error

La prueba de Tukey realizada en los días 7, 14 y 21 evidenció un efecto marcado de la salinidad sobre la altura de las plántulas evaluadas (Figura 21). En este sentido, durante todo el período de evaluación, los tratamientos libres de sal reflejaron los mayores valores de altura, ubicándose como un grupo estadísticamente superior sin diferencias significativas entre ellos, sugiriendo que la inoculación del hongo no tiene un efecto sobre la tolerancia a la salinidad. A su vez, el tratamiento con 100 mM presentó un crecimiento significativamente inferior al control, pero superior al resto de tratamientos, lo que puede sugerir que las plantas presentan tolerancia a un estrés salino moderado.

En contraste, las concentraciones de 300 y 500 mM provocaron una inhibición total del crecimiento desde el primer día de evaluación, manteniéndose sin valores de altura hasta el día 21, evidenciando que niveles altos de salinidad, impiden completamente el desarrollo vegetativo de las plantas. Además, al no evidenciar diferencias significativas entre los tratamientos libres de sal con y sin inoculación, no puede decirse que *Metarhizium anisopliae* tenga un efecto sobre el comportamiento de la variable.

**Figura 21.** Prueba de Tukey para la variable altura (cm) en función de la salinidad para los días 7, 14 y 21



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

Por lo tanto, los resultados obtenidos concuerdan con los mencionado por Avila et al. (2023), quienes mencionan que el exceso de sales induce estrés osmótico e iónico, reduciendo la disponibilidad de agua y por tanto desencadenando daños fisiológicos que limitan la absorción de nutrientes y la elongación del tallo, donde el tomate de manera particular, es un cultivo hortícola sensible frente a altas concentraciones de NaCl.

En contraste, Chaudary et al. (2023) señalan que el género *Metarhizium* al ser aplicado como tratamiento en plántulas pueden mejorar los parámetros de crecimiento en plantas de tomate bajo estrés salino, sin embargo, en el contexto de los resultados obtenidos, la variable altura bajo condiciones de salinidad tuvo resultados inferiores a aquellos libres de sal, y a su vez, no se evidenciaron diferencias entre los tratamientos sin sal con y sin inoculación.

- **Número de hojas**

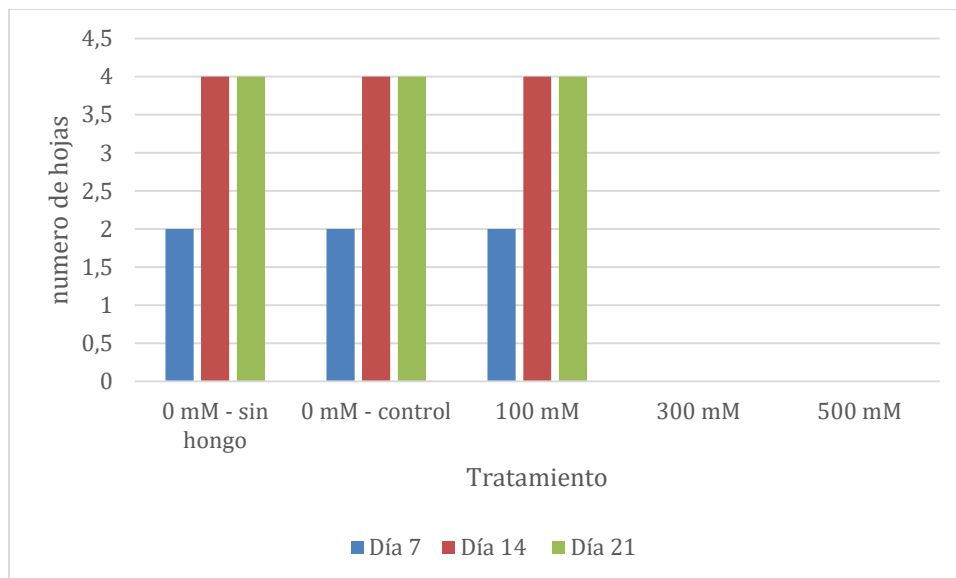
El número de hojas reflejó una respuesta dependiente de la concentración salina durante todo el período evaluado (Tabla 22). Dentro de los tratamientos sin salinidad y 100 mM se observó un desarrollo foliar normal, aumentando hasta cuatro hojas hasta el día 21.

En contraste, las concentraciones de 300 y 500 mM provocaron una inhibición completa del desarrollo foliar desde el inicio de la evaluación. Asimismo, en estos tratamientos no se registró desarrollo de hojas, evidenciando un efecto negativo de la salinidad elevada sobre el crecimiento aéreo de las plantas.

**Tabla 22.** Número de hojas promedio en función de la salinidad para los días 7, 14 y 21

Tratamiento	Día 7	Día 14	Día 21
<b>0 mM – sin hongo</b>	2 ± 0,00	4 ± 0,00	4 ± 0,00
<b>0 mM - control</b>	2 ± 0,00	4 ± 0,00	4 ± 0,00
<b>100 mM</b>	0 ± 0,00	0 ± 0,00	0 ± 0,00
<b>300 mM</b>	0 ± 0,00	0 ± 0,00	0 ± 0,00
<b>500 mM</b>	0 ± 0,00	0 ± 0,00	0 ± 0,00

De esta manera, los resultados reflejan que las concentraciones salinas iguales o superiores a 300 mM inhiben el desarrollo de hojas verdaderas, mientras que hasta 100 mM la plantas mantienen su capacidad de desarrollo foliar (Figura 22).

**Figura 22.** Número de hojas promedio en función de la salinidad para los días 7, 14 y 21

Con base a esto, Roşca et al. (2023) mencionan que concentraciones relativamente bajas de sal, pueden ser tolerables en fases iniciales de crecimiento en tomate, permitiendo cierto desarrollo vegetativo, aunque con efectos negativos graduales. Asimismo, niveles altos de sal, generan respuestas de estrés que superan la capacidad adaptativa de la planta, generado perturbaciones en procesos celulares, nutricionales y metabólicos que pueden llevar a la restricción del crecimiento y emisión de hojas. A su vez, Chaudary et al. (2023) mencionan que la inoculación del género *Metharizium* puede favorecer el crecimiento en las plántulas, lo que permitiría explicar que no existiera diferencias dentro del número de hojas entre los tratamientos libres de sal y 100 mM.

- *Área foliar (cm<sup>2</sup>)*

El ANOVA factorial (Tabla 23) reporta una interacción significativa entre los tratamientos y los días evaluados ( $p < 0,05$ ), indicando que el efecto de los tratamientos no fue el mismo a lo largo del período evaluado. Por lo tanto, se realizó un análisis individual por día para determinar diferencias dentro de los tratamientos aplicados.

**Tabla 23.** ANOVA factorial para la variable área foliar (cm<sup>2</sup>) en función de la salinidad

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	24,69	11	2,24	115,95	< 0,0001
Tratamiento	20,91	3	6,97	360,02	< 0,0001
Día	1,69	2	0,85	43,67	< 0,0001
Día *	2,09	6	0,35	18,01	< 0,0001
Tratamiento					
Error	0,93	48	0,02		
Total	25,62	59			

Nota. Nivel de significancia de 0,05

El análisis de varianza realizado por día (Tabla 24) refleja diferencias significativas dentro de los tratamientos aplicados durante el periodo de análisis ( $p < 0,05$ ). Por lo tanto, se aplicó una prueba de Tukey para cada día evaluado, cuyos resultados se presentan en la Figura 23.

**Tabla 24.** Análisis de varianza para la variable área foliar (cm<sup>2</sup>) en función de la salinidad para los días 7, 14 y 21

Día	gl (trat)	gl (error)	F	p-valor	CM error
7	3	16	124,79	< 0,0001	0,01
14	3	16	78,90	< 0,0001	0,02
21	3	16	169,80	< 0,0001	0,03

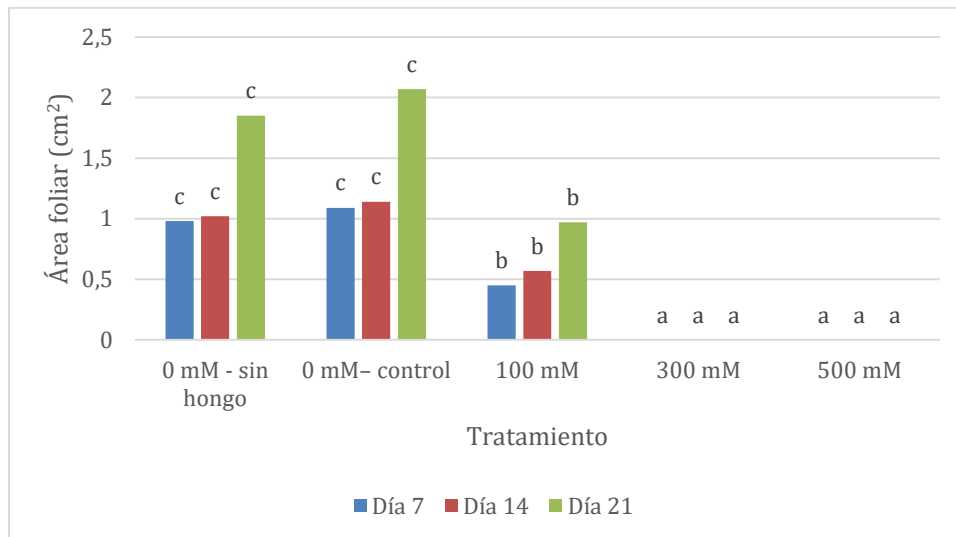
Nota. gl (trat): grados de libertad – tratamiento; gl (error): grados de libertad – error; CM error: cuadrado medio del error

En este contexto, la salinidad afectó significativamente el desarrollo del área foliar durante el período de análisis (Figura 23). Desde el día 7, los tratamientos libres de sal reflejan el mayor valor de área foliar sin diferencias significativas entre ellos, seguido por el tratamiento a 100 mM. En contraste, los tratamientos 300 mM y 500 mM no registraron área foliar.

Este patrón se mantuvo hasta el último día de evaluación, donde los tratamientos sin salinidad alcanzaron los mayores valores de área foliar sin diferencias estadísticas entre sí, lo que podría sugerir que la inoculación del hongo no tiene una influencia directa sobre la

tolerancia a la salinidad por parte de la plántula. A su vez, 100 mM reflejó un crecimiento moderado de 0,97 cm<sup>2</sup> y los tratamientos a 300 mM y 500 mM continuaron sin presentar valores de área foliar.

**Figura 23.** Prueba de Tukey para la variable área foliar (cm<sup>2</sup>) en función de la salinidad para los días 7, 14 y 21



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

Con base a los resultados obtenidos, Kamal et al. (2024) mencionan que altas concentraciones de sal causa estrés osmótico e iónico, alterando la fisiología de la planta. En ese sentido, este ambiente restringe la división y expansión celular necesaria para la formación de hojas y la expansión del área foliar. Por otra parte, respecto a la respuesta observada por el tratamiento de 100 mM, Borres et al. (2025) señalan que concentraciones moderadas pueden ser parcialmente toleradas por las plántulas, sin embargo, a medida que la concentración aumenta, la capacidad de adaptación disminuye y el crecimiento queda severamente comprometido.

Por otro lado, el hecho de que el tratamiento de 100 mM reflejara resultados inferiores a los obtenidos para aquellos libres de sal, se contrasta con lo mencionado por Chaudary et al. (2023) quienes mencionan que la inoculación del género *Metharizium* en plantas, favorece el crecimiento bajo estrés salino.

- **Longitud de raíz (cm)**

El análisis de varianza aplicado en el día 21 para evaluar el efecto de la salinidad sobre la longitud de la raíz en plántulas de tomate, refleja diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 25). De esta manera, se aplicó una prueba de Tukey la cual se presenta en la Figura 24

**Tabla 25.** Análisis de varianza para el efecto de la salinidad sobre la longitud de raíz (cm) en plántulas de tomate (día 21)

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Modelo	63,54	4	15,89	1985,70	< 0,0001
Tratamiento	63,54	4	15,89	1985,70	< 0,0001
Error	0,16	20	0,01		
Total	63,70	24			

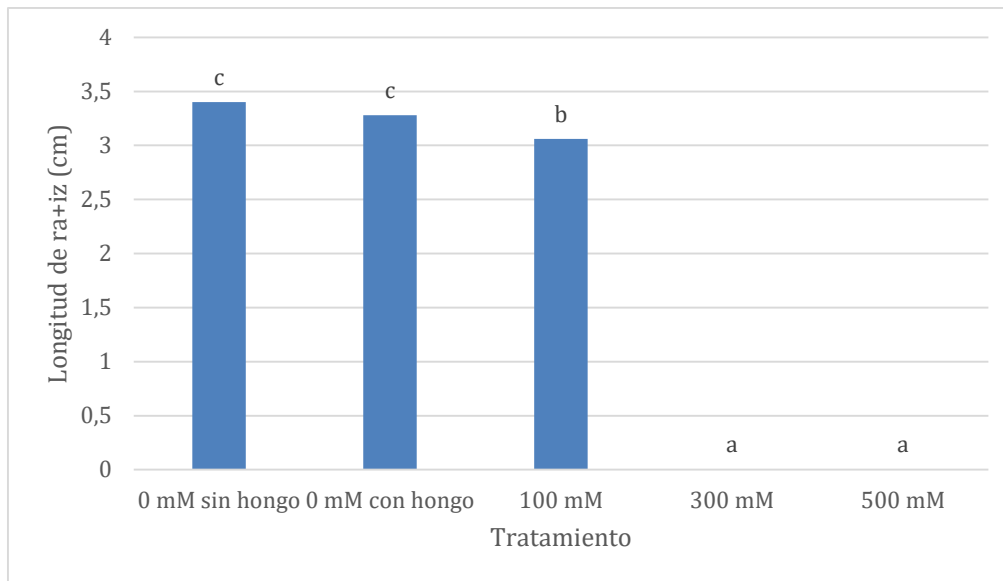
Nota. Nivel de significancia de 0,05

Los resultados reflejan que, los tratamientos libres de sal con hongo y sin hongo presentaron el mayor crecimiento radicular con 3,28 cm y 3,15 cm respectivamente, sin evidenciarse diferencias significativas entre sí, seguido por 100 mM con 3,06 cm, lo que sugiere que un nivel de salinidad moderado permite el desarrollo radicular.

Sin embargo, en los tratamientos de 300 mM y 500 mM no se registró crecimiento de raíz, evidenciando un efecto inhibitorio por parte de niveles altos de salinidad sobre la elongación radicular.

Por lo tanto, los resultados obtenidos reflejan una respuesta negativa frente a niveles altos de salinidad, ya que ocasionan la supresión completa del crecimiento radicular en las plántulas de tomate. Además, debido a que no se observaron diferencias estadísticas entre los tratamientos con y sin inoculación, no puede decirse que *Metarhizium anisopliae* tenga un efecto directo sobre el comportamiento de la variable (Figura 25).

**Figura 24.** Prueba de Tukey para el efecto de salinidad sobre la longitud de la raíz (cm) en plántulas de tomate (día 21)



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

Con base a los resultados obtenidos, Rivera et al. (2022) reportan que altas concentraciones de sal desencadenan limitaciones en la elongación celular y la división meristemática de las raíces producto del estrés osmótico. Asimismo, los autores mencionan que, concentraciones moderadas de sal pueden ser fisiológicamente toleradas, pero al superar el umbral crítico, los mecanismos de respuesta de la planta se saturan generando una inhibición del crecimiento.

Además, los resultados obtenidos para el tratamiento de 100 mM contrastan los obtenidos por Chaudary et al. (2023) los cuales señalan que la inoculación de *Metharizium* en plantas, favorece el crecimiento bajo estrés salino.

- ***Peso húmedo de la raíz (g)***

El análisis de varianza aplicado en el día 21 para evaluar el efecto de la salinidad sobre el peso húmedo de la raíz en plántulas de tomate, refleja diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 26). En este sentido, se aplicó una prueba de Tukey la cual se presenta en la Figura 25.

**Tabla 26.** Análisis de varianza para el efecto de la salinidad sobre el peso húmedo de raíz (g) en plántulas de tomate (día 21)

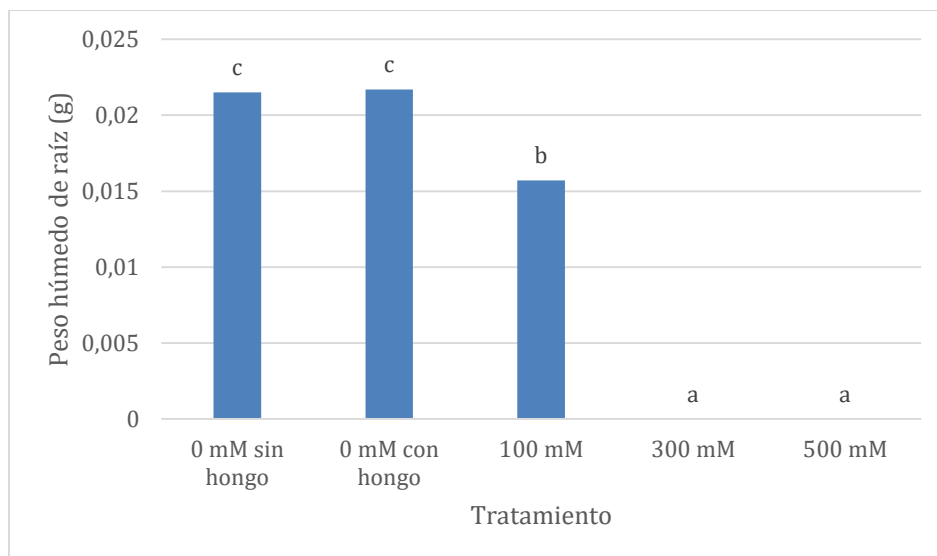
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	$2,7 \times 10^{-3}$	4	$6,7 \times 10^{-4}$	373,32	< 0,0001
Tratamiento	$2,7 \times 10^{-3}$	4	$6,7 \times 10^{-4}$	373,32	< 0,0001
Error	$3,6 \times 10^{-5}$	20	$1,8 \times 10^{-6}$		
Total	$2,7 \times 10^{-3}$	24			

Nota. Nivel de significancia de 0,05

Los resultados reflejan que los tratamientos libres de sal con y sin inoculación alcanzaron los mayores valores de peso con 0,0217 g y 0,0215 g respectivamente, sin diferencias estadísticas entre sí, lo que sugiere que la inoculación no tiene influencia sobre la acumulación de biomasa radicular bajo estas condiciones. A su vez, el tratamiento 100 mM con 0,0157 g, permite evidenciar una pequeña reducción del desarrollo radicular bajo un nivel de salinidad intermedio. En contraste, los tratamientos de 300 y 500 mM no registraron valores de peso, lo que indica una inhibición total de crecimiento radicular bajo altos niveles de sal.

De esta manera, estos resultados demuestran que la salinidad ejerce un efecto negativo directo sobre la acumulación de biomasa radicular, donde incluso el desarrollo de la raíz se ve completamente suprimido (Figura 25).

**Figura 25.** Prueba de Tukey para el efecto de salinidad sobre el peso húmedo de raíz (g) en plántulas de tomate (día 21)



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

Con base a los resultados obtenidos, Liu et al. (2024) reporta que altas concentraciones de sal genera un estrés osmótico intenso que junto con la toxicidad de iones sodio y cloruro, causan

desequilibrios nutricionales y fisiológicos sobre las células radiculares, reduciendo no solo la longitud de las raíces sino también la masa fresca de las mismas, trayendo como resultado de la restricción del crecimiento celular y la inhibición de procesos de elongación. Asimismo, el hecho de que el tratamiento de 100 mM reflejara resultados inferiores a los obtenidos para aquellos libres de sal, se contrasta con lo mencionado por Chaudary et al. (2023) quienes mencionan que la inoculación del género *Metharizium* en plantas, favorece el crecimiento bajo estrés salino.

- **Peso seco de la raíz (g)**

El análisis de varianza aplicado el día 21 para evaluar el efecto de la salinidad sobre el peso seco de la raíz en plántulas de tomate, refleja diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 27). De esta manera, se aplicó una prueba de Tukey la cual se presenta en la Figura 26.

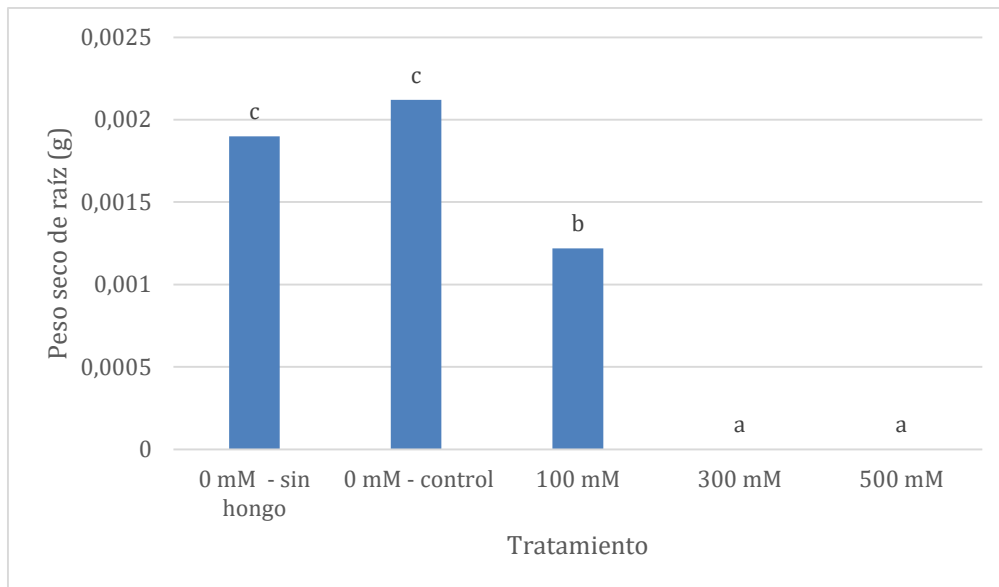
**Tabla 27.** Análisis de varianza para el efecto de la salinidad sobre el peso seco de raíz (g) en plántulas de tomate (día 21)

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Modelo	$3,1 \times 10^{-05}$	4	$7,9 \times 10^{-06}$	396,65	< 0,0001
Tratamiento	$3,1 \times 10^{-05}$	4	$7,9 \times 10^{-06}$	396,65	< 0,0001
Error	$4,0 \times 10^{-07}$	20	$2,0 \times 10^{-08}$		
Total	$3,2 \times 10^{-05}$	24			

*Nota.* Nivel de significancia de 0,05

Los resultados reflejan que los tratamientos libres de sal presentaron los mayores valores promedio de peso seco de raíz (0,0021 g para el tratamiento inoculado y 0,0019 g para el no inoculado), sin existir diferencias significativas entre sí, lo que sugiere que la inoculación no tiene influencia sobre la acumulación de biomasa radicular bajo estas condiciones. Por su parte, el tratamiento de 100 mM alcanzó un peso de 0,0012 g, mientras que los tratamientos de 300 y 500 mM inhibieron completamente el desarrollo radicular, no evidenciándose valores de peso en ambos tratamientos (Figura 26).

**Figura 26.** Prueba de Tukey para el efecto de salinidad sobre el peso seco de raíz (g) en plántulas de tomate (día 21)



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

Con base a esto, Gandullo et al. (2021) reportan que en *Solanum lycopersicum* se ha observado que la salinidad provoca una inhibición en el desarrollo del sistema radicular, lo que se traduce en menor acumulación de biomasa seca. Además, en concentraciones intermedias, la especie muestra cierto grado de plasticidad y adaptación, pero al superar la capacidad fisiológica de la planta, se puede llegar a reducir la acumulación de materia seca. Por otro lado, los resultados obtenidos para el tratamiento de 100 mM contrastan los obtenidos por Chaudary et al. (2023) los cuales señalan que la inoculación de *Metharizium* en plantas, favorece el crecimiento bajo estrés salino.

- **Peso húmedo de los brotes (g)**

El análisis de varianza aplicado en el día 21 para evaluar el efecto de la salinidad sobre el peso húmedo de brotes en plántulas de tomate, refleja diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 28). En este sentido, se aplicó una prueba de Tukey la cual se presenta la Figura 27.

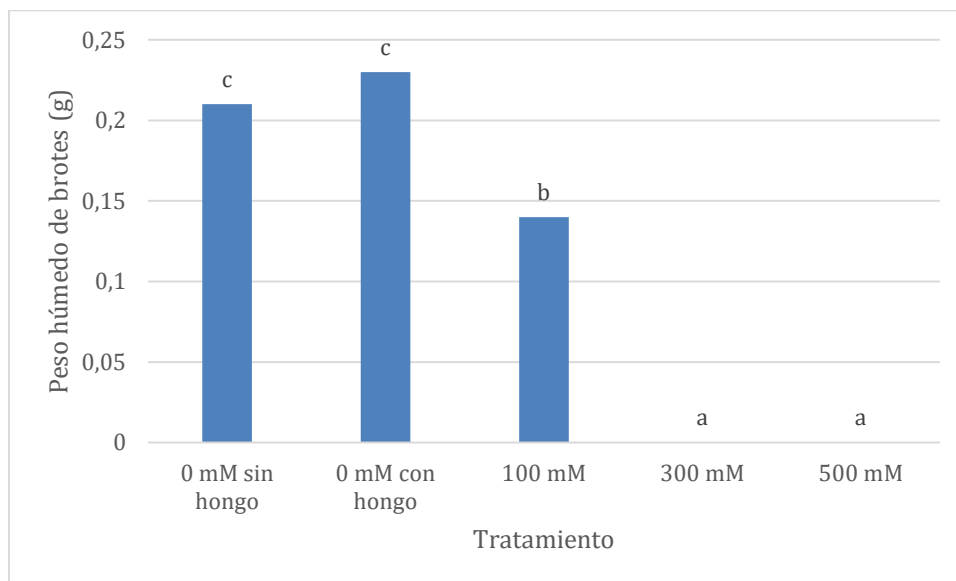
**Tabla 28.** Análisis de varianza para el efecto de la salinidad sobre el peso húmedo de brotes (g) en plántulas de tomate (día 21)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,24	4	0,06	206,36	< 0,0001
Tratamiento	0,24	4	0,06	206,36	< 0,0001
Error	0,01	20	2,9 x10 <sup>-04</sup>		
Total	0,25	24			

Nota. Nivel de significancia de 0,05

Los tratamientos sin salinidad presentaron los mayores valores de peso con 0,2280 g para el tratamiento inoculado y 0,2210 g para el no inoculado, no evidenciándose diferencias significativas entre sí, lo que sugiere que la inoculación no tiene influencia sobre la acumulación de biomasa radicular bajo estas condiciones. Por su parte, dentro del tratamiento de 100 mM se evidenció una reducción importante de la biomasa aérea (0,1442 g). Finalmente, los tratamientos de 300 y 500 mM no registraron desarrollo de brotes (Figura 27).

**Figura 27.** Prueba de Tukey para el efecto de la salinidad sobre el peso húmedo de brotes (g) en plántulas de tomate (día 21)



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

Kumar et al. (2025) reportan que concentraciones superiores a 100 mM de NaCl provocan reducciones en el peso fresco de brotes de tomate debido a una menor conductancia estomática y daño oxidativo. Asimismo, los autores mencionan que altos niveles de salinidad, generan un estrés osmótico severo que limitan la absorción de agua, provocando un colapso del crecimiento aéreo. Asimismo, el hecho de que el tratamiento de 100 mM reflejara resultados inferiores a los obtenidos para aquellos libres de sal, se contrasta con lo mencionado por Chaudary et al. (2023)

quienes mencionan que la inoculación del género *Metharizium* en plantas, favorece el crecimiento bajo estrés salino.

- **Peso seco de los brotes (g)**

El análisis de varianza aplicado el día 21 para evaluar el efecto de la salinidad sobre el peso seco de brotes en plántulas de tomate, refleja diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 29). De esta manera, se aplicó una prueba de Tukey la cual se presenta la Figura 28.

**Tabla 29.** Análisis de varianza para el efecto de la salinidad sobre el peso seco de brotes (g) en plántulas de tomate (día 21)

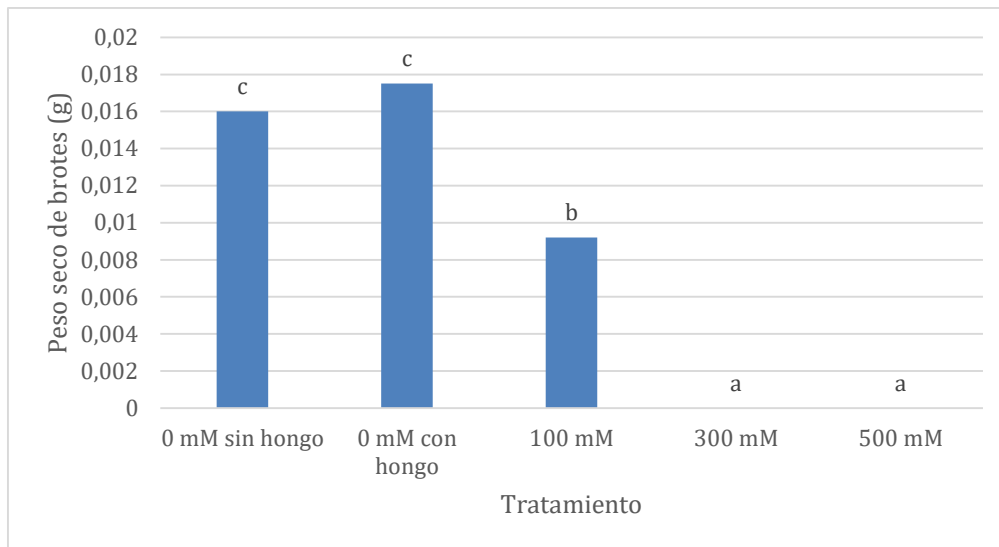
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	$1,5 \times 10^{-03}$	4	$3,7 \times 10^{-04}$	148,94	< 0,0001
Tratamiento	$1,5 \times 10^{-03}$	4	$3,7 \times 10^{-04}$	148,94	< 0,0001
Error	$5,0 \times 10^{-05}$	20	$2,5 \times 10^{-06}$		
Total	$1,5 \times 10^{-03}$	24			

Nota. Nivel de significancia de 0,05

Lo resultados obtenidos reflejan que, el mayor valor promedio se registró en el tratamiento sin salinidad con inoculación (0,0175 g) y sin inoculación (0,0160 g), sin evidenciar diferencias significativas entre sí, lo que sugiere que la inoculación no tiene influencia sobre la acumulación de biomasa radicular bajo estas condiciones. Por su parte, el tratamiento de 100 mM alcanzó un valor de peso de 0,0092 g, mientras que los tratamientos de 300 y 500 mM no registraron peso seco de brotes, lo que indica una inhibición total del desarrollo aéreo.

De esta manera, los resultados reflejan una relación inversa entre la concentración salina y la acumulación de biomasa seca en brotes, donde los niveles elevados de salinidad limitan el crecimiento aéreo de las plántulas (Figura 28).

**Figura 28.** Prueba de Tukey para el efecto de la salinidad sobre el peso seco de brotes (g) en plántulas de tomate (día 21)



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

Con base a los resultados obtenidos, Sultana et al. (2025) mencionan que altos niveles de salinidad genera un estrés osmótico e iónico combinado, los cuales generan desequilibrios celulares que reducen el crecimiento y acumulación de materia seca en los órganos aéreos, incluyendo la reducción de la fotosíntesis, reflejando un efecto sistemático negativo sobre el crecimiento vegetativo. Por otro lado, los resultados obtenidos para el tratamiento de 100 mM contrastan los obtenidos por Chaudary et al. (2023) los cuales señalan que la inoculación de *Metharizium* en plantas, favorece el crecimiento bajo estrés salino.

### **10.3.3. Efecto de la temperatura y la post-helada sobre el desarrollo de plántulas de tomate**

#### **10.3.3.1. Temperatura**

- **Altura (cm)**

El ANOVA factorial (Tabla 30) evidencia una interacción significativa entre tratamiento y día ( $p < 0,05$ ) indicando que el efecto de los tratamientos varió a lo largo del tiempo, por lo que se realizó un análisis independiente por día para identificar diferencias entre tratamientos en cada fecha de evaluación.

**Tabla 30.** ANOVA factorial para la variable altura (cm) en función de la temperatura

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	219,88	11	19,99	115,21	< 0,0001
Día	18,13	2	9,07	52,25	< 0,0001
Tratamiento	147,14	3	49,25	283,85	< 0,0001
Día *	54,01	6	9,00	51,88	< 0,0001
Tratamiento					
Error	8,33	48	0,17		
Total	228,21	59			

Nota. Nivel de significancia de 0,05

El análisis de varianza realizado por día (Tabla 31) refleja diferencias significativas entre tratamientos en los días 7, 14 y 21 ( $p < 0,05$ ). En función de estos resultados, se aplicó la prueba de Tukey para cada uno de los días, cuyos contrastes se presentan por medio del gráfico de medias correspondiente (Figura 29).

**Tabla 31.** Análisis de varianza para la variable altura (cm) en función de la temperatura para los días 7, 14 y 21

Día	gl (trat)	gl (error)	F	p-valor	CM error
7	3	16	34,41	< 0,0001	0,19
14	3	16	38,92	< 0,0001	0,12
21	3	16	265,87	< 0,0001	0,21

Nota. gl (trat): grados de libertad – tratamiento; gl (error): grados de libertad – error; CM error: cuadrado medio del error

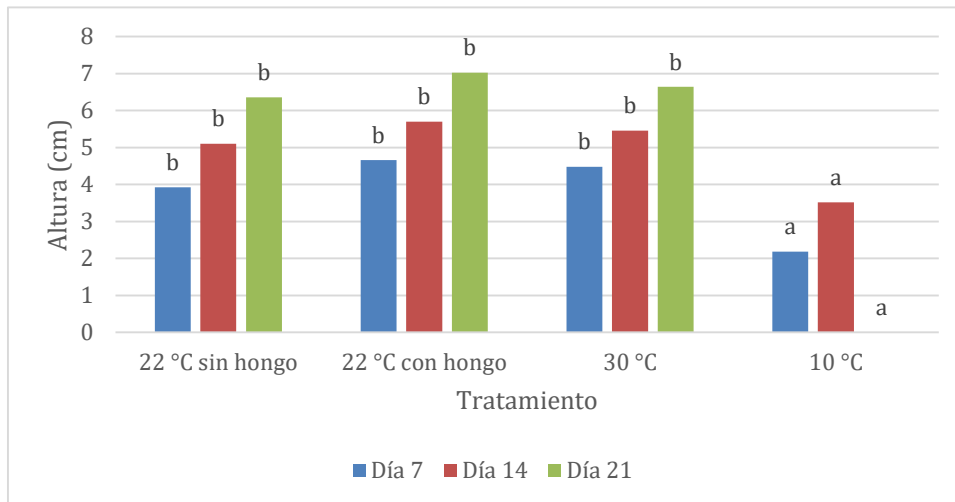
La prueba de Tukey aplicada a los 7, 14 y 21 permitió identificar consistentemente dos grupos estadísticos entre los tratamientos evaluados (Figura 29). Durante todo el período de análisis, el tratamiento a 10 °C presenta los menores valores promedios, ubicándose en el grupo “a”, sugiriendo un efecto inhibitorio en el desarrollo vegetativo producto de la baja temperatura.

En contraste, los tratamientos 22 °C sin hongo, 22 °C con hongo y 30 °C muestran valores promedios superiores, agrupándose en el grupo “b” durante los días evaluados, sin diferencias estadística entre ellos, por lo que puede decirse que la inoculación de *Metarhizium anisopliae* no tiene algún tipo de efecto sobre la altura de las plantas al ser inoculado, siendo el proceso completamente dependiente de la temperatura.

Estos resultados indican que el efecto negativo de la baja temperatura se manifiesta desde etapas tempranas del crecimiento de las plantas y se intensifica hasta llegar a una total inhibición en

el día 21. Sin embargo, temperaturas intermedias y altas, favorecieron el crecimiento de las plantas, sin diferencias significativas entre ellas.

**Figura 29.** Prueba de Tukey para la variable altura (cm) en función de la temperatura para los días 7, 14 y 21



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

Con base a los resultados obtenidos, Zhang et al. (2023) mencionan que la fisiología del tomate es altamente sensible al frío, incidiendo de forma negativa dentro del crecimiento vegetativo y producción. En este sentido, los autores mencionan que temperaturas alrededor de los 10°C afectan la actividad de las raíces, fotosíntesis, acumulación de biomasa, generando una disminución del desarrollo vegetal.

Por otro lado, Niu et al. (2022) mencionan que, aunque altas temperaturas pueden inducir respuestas fisiológicas complejas como: disminución de la eficiencia fotosintética, alteración del potencial hídrico y acumulación de metabolitos que pueden limitar el crecimiento tanto en altura y diámetro. Sin embargo, en el caso del tomate, el rango óptimo para el desarrollo general del tomate se sitúa entre 20° y 30 °C, permitiendo que el eje fisiológico de la planta funcione de manera más eficiente.

- **Número de hojas**

El número de hojas reflejó una respuesta dependiente de la temperatura a lo largo del período de análisis (Tabla 32). En este sentido, al día 7 todos los tratamientos presentaron 2 hojas en promedio, indicando un desarrollo inicial similar entre los tratamientos térmicos implementados.

Sin embargo, a partir del día 14 comenzaron a observarse diferencias, donde los tratamientos a 22 °C y 30 °C alcanzaron cuatro hojas en promedio, mientras que a 10 °C el

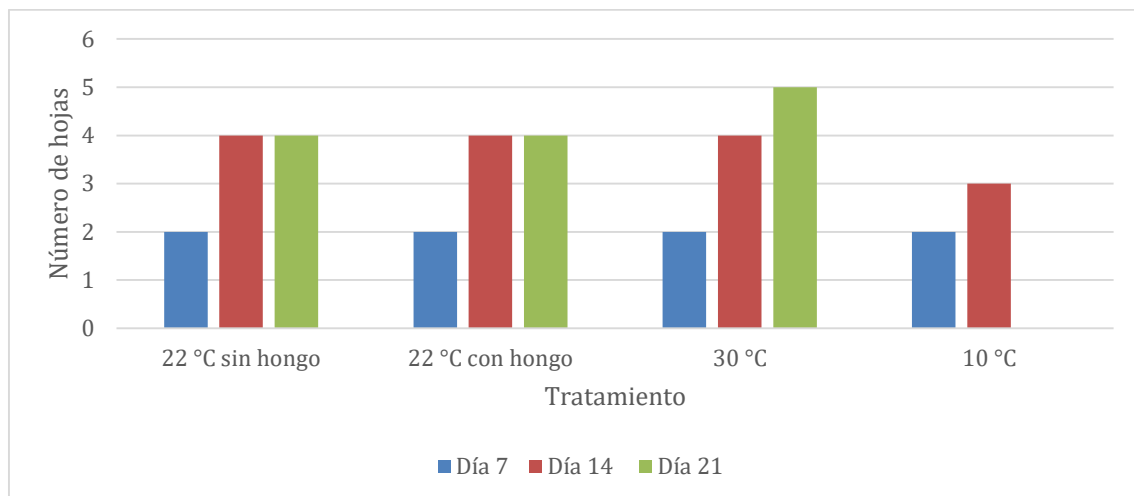
desarrollo fue menor (3 hojas). Asimismo, al día 21 aquellas a 30 °C alcanzaron a cinco hojas, evidenciando un crecimiento foliar ligeramente superior que los tratamientos a 22 °C (4 hojas). En contraste, el tratamiento a 10 °C registró ausencia de hojas, sugiriendo una inhibición completa del desarrollo foliar.

**Tabla 32.** Número de hojas promedio en función de la temperatura para los días 7, 14 y 21

Tratamiento	Día 7	Día 14	Día 21
22 °C sin hongo	2 ± 0,00	4 ± 0,00	4 ± 0,00
22 °C con hongo	2 ± 0,00	4 ± 0,00	4 ± 0,00
30 °C	2 ± 0,00	4 ± 0,00	5 ± 0,00
10 °C	2 ± 0,00	3 ± 0,00	0 ± 0,00

Por lo tanto, los resultados señalan que temperaturas moderadas y altas favorecen el desarrollo y mantenimiento de hojas verdaderas, mientras que las temperaturas bajas limitan el desarrollo foliar, llegando a suprimirlo completamente (Figura 30).

**Figura 30.** Número de hojas promedio en función de la temperatura para los días 7, 14 y 21



De esta manera, este patrón concuerda con lo reportado por Mejía-Betancourt et al. (2025), los cuales sugieren que el tomate presenta un desarrollo óptimo vegetativo dentro del rango de 20 a 30 °C, ya que los procesos fisiológicos como división celular y elongación celular ocurren de manera más eficiente. Asimismo, temperaturas mínimas, ralentizan o detienen diferentes procesos fisiológicos como la reducción del desarrollo vegetativo, donde incluso temperaturas por debajo de umbrales crítico alrededor de los 8 a 12 °C pueden detener el crecimiento por completo.

- *Área foliar (cm<sup>2</sup>)*

El ANOVA factorial (Tabla 33) señala que existe una interacción significativa entre los tratamientos y los días evaluados ( $p < 0,05$ ), indicando que los tratamientos no mantuvieron una respuesta constante a lo largo del tiempo. Por lo tanto, se realizó un análisis individual por día para identificar diferencias entre los tratamientos aplicados.

**Tabla 33.** ANOVA factorial para la variable área foliar ( $\text{cm}^2$ ) en función de la temperatura

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	15,66	11	1,42	59,47	< 0,0001
Tratamiento	10,71	3	3,57	149,09	< 0,0001
Día	1,87	2	0,93	39,02	< 0,0001
Día *	3,09	6	0,51	21,48	< 0,0001
Tratamiento					
Error	1,15	48	0,02		
Total	16,81	59			

Nota. Nivel de significancia de 0,05

En este sentido, el análisis de varianza realizado por día (Tabla 34) reflejó diferencias significativas entre los tratamientos aplicados en los días 7, 14 y 21 ( $p < 0,05$ ). Por lo tanto, se aplicó una prueba de Tukey para cada uno de los días evaluados, donde los resultados se presentan en la Figura 31.

**Tabla 34.** Análisis de varianza para la variable área foliar ( $\text{cm}^2$ ) en función de la temperatura para los días 7, 14 y 21

Día	gl (trat)	gl (error)	F	p-valor	CM error
7	3	16	55,69	< 0,0001	0,56
14	3	16	27,39	< 0,0001	0,27
21	3	16	79,97	< 0,0001	0,71

Nota. gl (trat): grados de libertad – tratamiento; gl (error): grados de libertad – error; CM error: cuadrado medio del error

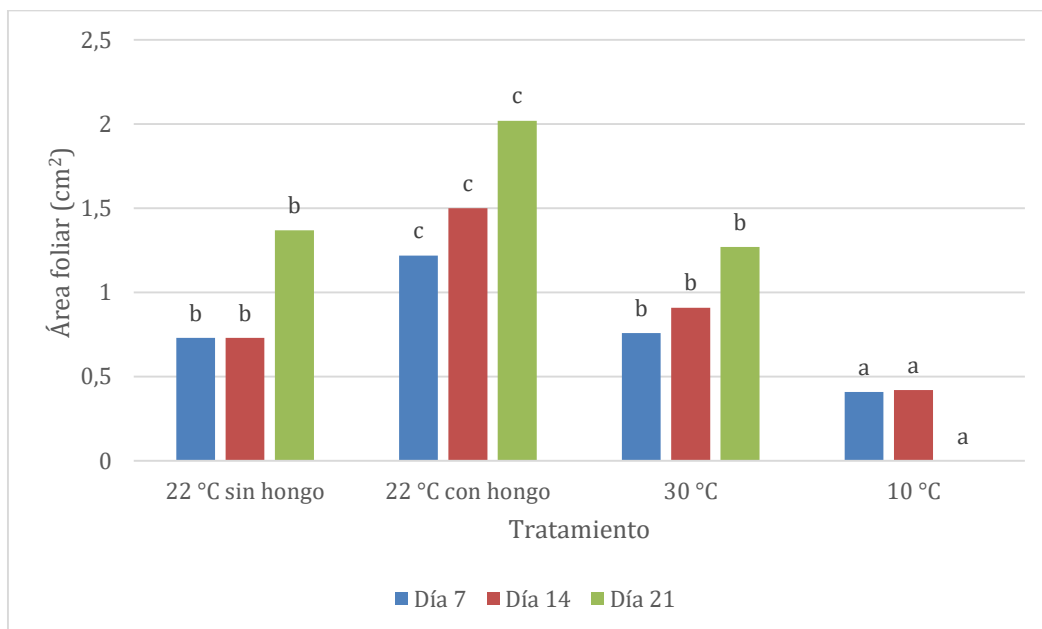
El análisis por medio de la prueba de Tukey evidenció diferencias significativas entre los tratamientos dentro del período evaluado (Figura 31). En ese sentido, desde el día 7, las plántulas con inoculación del hongo y mantenidas a 22 °C presentaron el mayor desarrollo del área foliar, diferenciándose estadísticamente del resto de tratamientos, alcanzando un valor promedio de 2,02  $\text{cm}^2$  al día 21.

Por otra parte, los tratamientos a 22 °C sin inoculación y 30 °C conformaron un grupo estadístico intermedio en los tres momentos de evaluación sin diferencias estadísticas entre sí. Al comparar estos resultados con los obtenidos por el tratamiento de 22 °C con inoculación,

puede decirse que la presencia del hongo puede impactar de manera positiva sobre el área foliar, ya que la ausencia de este generó valores inferiores de área foliar. Asimismo, la temperatura de 30 °C puede haber causado alguna inhibición dentro de la acción del hongo, resultando al igual que en el caso anterior, valores inferiores de área foliar.

En contraste, el tratamiento a 10 °C presentó el menor desarrollo foliar desde el inicio del ensayo, con ausencia total de área foliar para el día 21, siendo estadísticamente inferior al resto de tratamientos.

**Figura 31.** Prueba de Tukey para la variable área foliar (cm<sup>2</sup>) en función de la temperatura para los días 7, 14 y 21



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

Este patrón de respuesta se alinea con lo reportado por Mejía-Betancourt et al. (2025), quienes han destacado el impacto de la temperatura como uno de los principales factores que determinan el desarrollo de estructuras vegetativas, como el caso de las hojas. En este sentido, temperaturas extremas de frío y/o calor, reducen la tasa de crecimiento y la expansión celular, disminuyendo la superficie foliar total, ya que se ve comprometida la actividad enzimática y la síntesis de hormonas de crecimiento, limitando la expansión del tejido foliar.

Asimismo, Miao et al. (2023) indican que bajo condiciones adecuadas el establecimiento de interacciones entre plantas y algunas cepas de hongo, permiten modular la respuesta fisiológica y favorecer la acumulación de biomasa aérea y al mismo tiempo, la superficie foliar total.

### 10.3.3.2. Post-helada

- **Altura (cm)**

El ANOVA factorial (Tabla 35) refleja que la interacción tratamiento x día no fue significativa ( $p > 0,05$ ), indicando que las diferencias entre tratamientos se mantuvieron constantes a lo largo del tiempo. Por lo tanto, se realizó un análisis únicamente para el último día de evaluación para identificar diferencias entre los tratamientos aplicados.

**Tabla 35.** ANOVA factorial para la variable altura (cm) en función de la temperatura

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	41,89	8	5,24	25,81	< 0,0001
Tratamiento	1,98	2	0,99	4,88	0,1133
Día	38,75	2	19,38	95,50	0,1100
Día *	1,15	4	0,29	1,42	0,2469
Tratamiento					
Error	7,30	36	0,20		
Total	49,19	44			

Nota. Nivel de significancia de 0,05

El análisis de varianza realizado para el día 30 (Tabla 36) señala que no existen diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre los tratamientos aplicados sobre la variable altura. En ese sentido, la Figura 32 muestra el comportamiento de las variables en función de los tratamientos aplicados de manera gráfica.

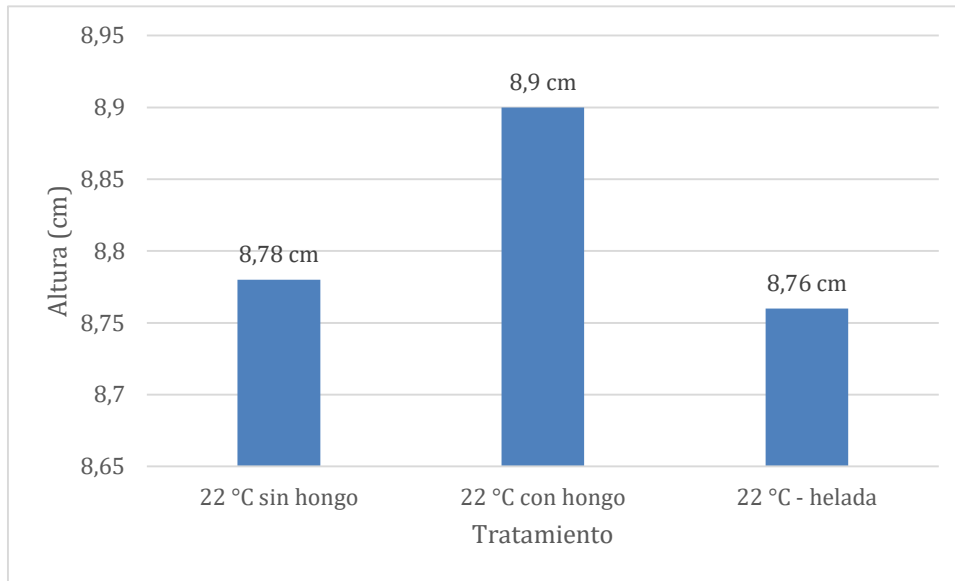
**Tabla 36.** Análisis de varianza para la variable altura (cm) para el día 30

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,06	2	0,03	0,16	0,8533
Tratamiento	0,06	2	0,03	0,16	0,8533
Error	2,14	12	0,18		
Total	2,20	14			

Nota. Nivel de significancia de 0,05

Los resultados obtenidos reflejan que, bajo las condiciones del experimento, ni la inoculación con *Metarhizium anisopliae* ni el episodio de helada aplicado, generaron efectos permanentes sobre el crecimiento final de las plántulas de tomate, ya que se alcanzaron alturas similares al final del período experimental dentro de todos los tratamientos.

Este comportamiento deja en evidencia la alta plasticidad fisiológica del tomate desde etapas tempranas, permitiendo la recuperación del crecimiento una vez reestablecidas condiciones favorables de desarrollo. Esto, tomando en cuenta que uno de los tratamientos consistía en la colocación de la plántula a 22 °C después de un episodio de helada.

**Figura 32.** Medias para la variable altura (cm) en función de la temperatura para el día 30

Con base a estos resultados, Zhang et al. (2023) mencionan que temperaturas entre los 20 y 25 °C favorecen la elongación y desarrollo vegetativo básico en las plantas de tomate. Asimismo, temperaturas inferiores a 10 °C ralentizan el crecimiento, pero la plasticidad de adaptativa de la especie, le permite reestablecer la tasa de crecimiento en temperaturas dentro del rango óptimo.

- **Número de hojas**

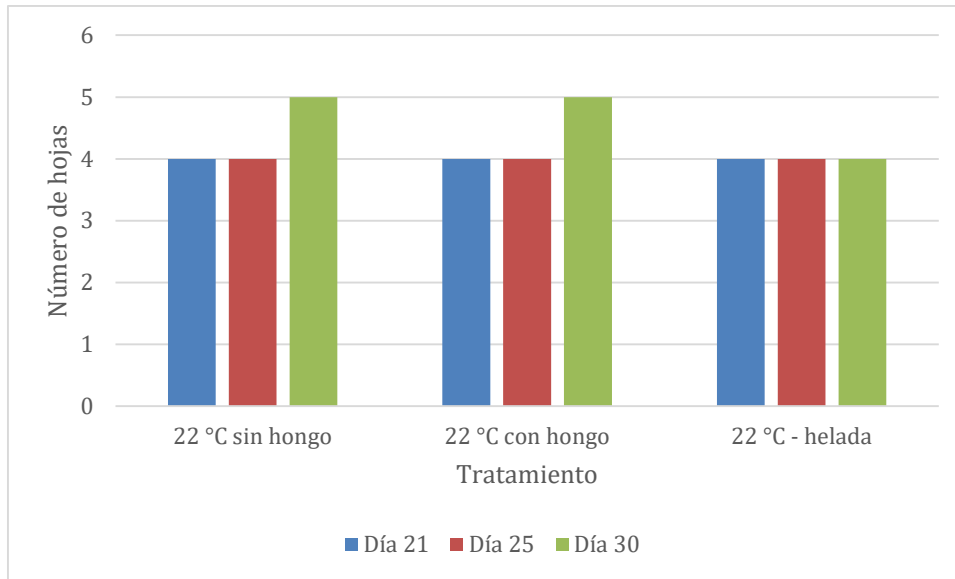
Acercas del número de hojas, en los días 7 y 14 los tratamientos no mostraron variabilidad. Sin embargo, en el día 21 los tratamientos a 22 °C con y sin inoculación reflejaron 5 hojas, mientras que el tratamiento sometido a un episodio de helada mantuvo 4 hojas (Tabla 37).

**Tabla 37.** Número de hojas promedio en función de la temperatura

Tratamiento	Día 21	Día 25	Día 30
<b>22 °C sin hongo</b>	4 ± 0,00	4 ± 0,00	5 ± 0,00
<b>22 °C con hongo</b>	4 ± 0,00	4 ± 0,00	5 ± 0,00
<b>22 °C - helada</b>	4 ± 0,00	4 ± 0,00	4 ± 0,00

Por lo tanto, el desarrollo foliar se mantuvo estable bajo 22 °C, mostrando una ligera limitación después de un episodio de helada (Figura 33).

**Figura 33.** Número de hojas promedio en función de la temperatura



Zhang et al. (2023) mencionan que, el mantenimiento de las plántulas en temperaturas dentro de los rangos favorables, reflejan incrementos continuos en número de hojas y otros parámetros de crecimiento. Sin embargo, eventos de estrés térmico pueden retrasar procesos de desarrollo como expansión y formación de nuevos órganos sin afectar los parámetros iniciales de crecimiento.

- **Área foliar ( $cm^2$ )**

El ANOVA factorial (Tabla 38) refleja que la interacción tratamiento x día no fue significativa ( $p > 0,05$ ), indicando que las diferencias entre tratamientos se mantuvieron constantes a lo largo del tiempo. Por lo tanto, se realizó un análisis únicamente para el último día de evaluación para identificar diferencias entre los tratamientos aplicados.

**Tabla 38.** ANOVA factorial para el área foliar en función de la temperatura

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5,73	8	0,72	21,74	< 0,0001
Tratamiento	3,62	2	1,81	54,99	0,1120
Día	1,68	2	0,84	25,53	0,2235
Día *	0,43	4	0,11	3,23	0,3654
Tratamiento					
Error	1,19	34	0,03		
Total	6,92	44			

Nota. Nivel de significancia de 0,05

El análisis de varianza realizado para el día 30 (Tabla 39) señala que no existen diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre los tratamientos aplicados sobre la variable altura. En ese sentido, la Figura 34 muestra el comportamiento de las variables en función de los tratamientos aplicados de manera gráfica.

**Tabla 39.** *Análisis de varianza para la variable área foliar para el día 30*

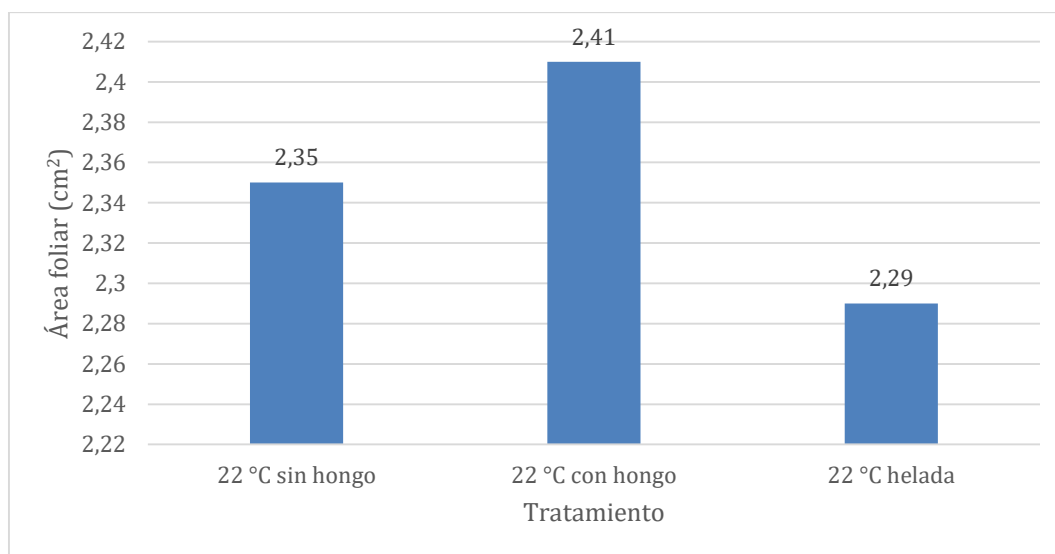
<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Modelo	0,92	2	0,46	16,15	0,7565
Tratamiento	0,92	2	0,46	16,15	0,7565
Error	0,31	11	0,03		
Total	1,23	13			

*Nota.* Nivel de significancia de 0,05

De esta manera, al no evidenciarse diferencias marcadas entre tratamientos, puede decirse que ni el efecto de la inoculación ni a la exposición de un período de helada tienen influencia sobre el área foliar, donde la temperatura de 22 °C se presenta como el factor dominante.

A su vez, tal y como se mencionó en la variable de altura, estos resultados reflejan la alta plasticidad fisiológica del tomate, ya que bajo condiciones favorables es capaz recuperar su tasa de desarrollo, incluso después de un episodio de helada como en el caso del tratamiento aplicado.

**Figura 34.** *Medias para la variable área foliar en función de la temperatura para el día 30*



En el contexto del área foliar, Zhang et al. (2023) reportan que temperaturas alrededor de los 20 a 25 °C favorecen el desarrollo foliar por el aumento de la tasa metabólica de la planta.

Asimismo, menciona que temperaturas extremas pueden ralentizar el crecimiento vegetativo de la especie, pero con la posibilidad de reestablecerla al encontrarse en condiciones óptimas.

### 10.3.3.3. Efecto de la temperatura sobre el desarrollo de radicular y de brotes en plántulas de tomate

- **Longitud de raíz (cm)**

El análisis de varianza aplicado en el día 21 para evaluar el efecto de la temperatura sobre la longitud de la raíz en plántulas de tomate, refleja diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 40). En ese sentido, se aplicó una prueba de Tukey la cual se presenta en la Figura 35.

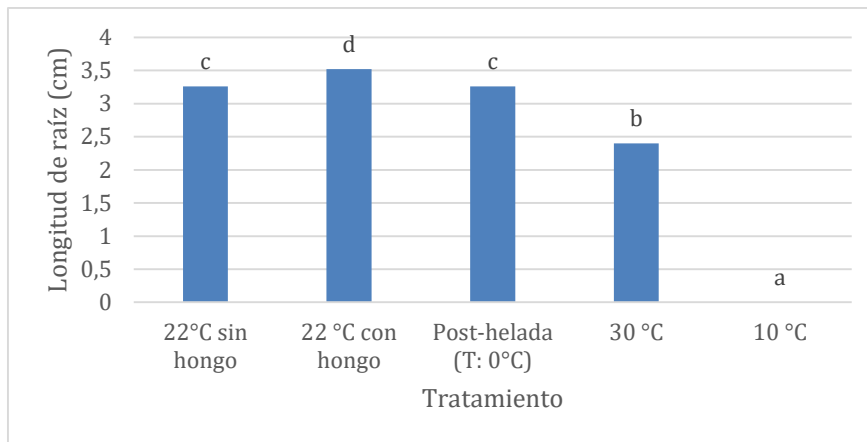
**Tabla 40.** Análisis de varianza para el efecto de la temperatura sobre la longitud de la raíz (cm) en plántulas de tomate (día 21)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	41,01	4	10,25	479,14	< 0,0001
Tratamiento	41,01	4	10,25	479,14	< 0,0001
Error	0,43	20	0,02		
Total	41,44	24			

Nota. Nivel de significancia de 0,05

Acercas de la influencia de la temperatura sobre la longitud de la raíz (Tabla 40), el tratamiento 22 °C con hongo presentó el mayor de altura con 3,52 cm, seguido por el tratamiento de 22 °C sin hongo y post-helada, ambos con los mismos resultados de altura y sin diferencias significativas entre ellos. Esto podría sugerir, que la inoculación de *Metarhizium anisopliae* junto a una temperatura adecuada para el desarrollo de la planta, favorece la longitud radicular, además de que le permite a la planta, recuperarse de un evento de helada. Por otro lado, a 10 °C no se registró crecimiento de la raíz (Figura 35).

**Figura 35.** Prueba de Tukey para el efecto de la temperatura sobre la longitud de raíz (cm) en plántulas de tomate (día 21)



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

Con base a los resultados obtenidos, Miao et al. (2023) señalan que temperaturas fuera del rango óptimo para la especie, reducen la capacidad de elongación de las raíces y de formación de nuevos tejidos radiculares, ya que afectan procesos de división celular y actividad enzimática, por lo que, para el caso del tomate, la temperatura óptima se sitúa alrededor de los 20 °C. Asimismo, los autores mencionan que el establecimiento de condiciones de temperatura óptimas, favorece la actividad de interacciones planta-microorganismo que pueden modular la actividad fisiológica de la planta orientada a la acumulación de biomasa radicular.

- **Peso húmedo de la raíz (g)**

El análisis de varianza aplicado el día 21 para evaluar el efecto de la temperatura sobre el peso húmedo de la raíz en plántulas de tomate, refleja diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 41). De esta manera, se aplicó una prueba de Tukey la cual se presenta en la Figura 36.

**Tabla 41.** Análisis de varianza para el efecto de la temperatura sobre el peso húmedo de raíz (g) en plántulas de tomate (día 21)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	$4,6 \times 10^{-03}$	4	$1,1 \times 10^{-03}$	386,56	< 0,0001
Tratamiento	$4,6 \times 10^{-03}$	4	$1,1 \times 10^{-03}$	386,56	< 0,0001
Error	$5,9 \times 10^{-05}$	20	$2,9 \times 10^{-06}$		
Total	$4,6 \times 10^{-03}$	24			

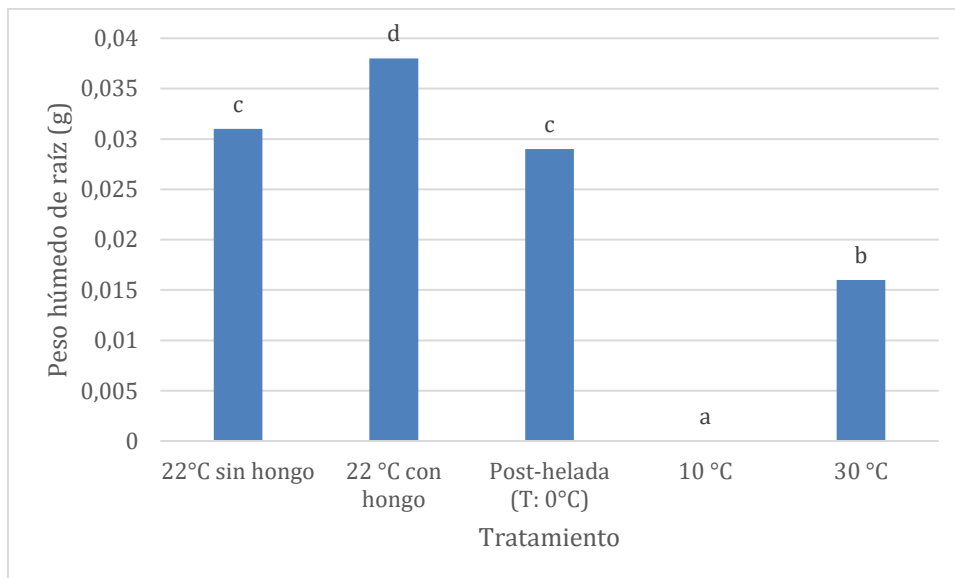
Nota. Nivel de significancia de 0,05

El tratamiento de 22 °C con hongo registró el mayor peso de raíz con un valor de 0,038 g, seguido por 22 °C sin hongo con 0,031 g, el cual presentó el mismo valor que el tratamiento

post-helada y, por lo tanto, no presentan diferencias significativas entre sí. Esto sugiere que la inoculación con el hongo tiene un efecto directo sobre la robustez del desarrollo radicular. Por su parte, aunque el tratamiento post-helada no presentó diferencias significativas con el tratamiento a 22 °C sin hongo, su menor valor sugiere que el evento de helada retardó el crecimiento radicular y por ende, la acumulación de biomasa (Figura 36).

Por otra parte, a 30 °C el peso de raíz fue inferior a los tratamientos de 22 °C, lo que indica que las temperaturas elevadas reducen la acumulación de biomasa radicular. En contraste, el tratamiento a 10 °C no registro masa radicular, evidenciándose una fuerte inhibición producto de las condiciones de frío.

**Figura 36.** Prueba de Tukey para el efecto de la temperatura sobre el peso húmedo de raíz (g) en plántulas de tomate (día 21)



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

Con base a los resultados obtenidos, Sánchez et al. (2023) mencionan que el tomate desarrolla su sistema radicular más eficiente en temperaturas moderadas. En contraste, temperaturas especialmente cercanas a 10 °C, disminuyen su actividad fisiológica, frenando procesos como la elongación y proliferación de raíces. Además, Zhang et al. (2023) menciona que condiciones de temperatura adecuadas potencia el establecimiento de consorcios microbianos que favorecen la actividad fisiológica de la planta orientada a la acumulación de biomasa radicular.

- **Peso seco de la raíz (g)**

El análisis de varianza aplicado en el día 21 para evaluar el efecto de la temperatura sobre el peso seco de la raíz en plántulas de tomate, refleja diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 42). En este sentido, se aplicó una prueba de Tukey la cual se presenta en la Figura 37.

**Tabla 42.** Análisis de varianza para el efecto de la temperatura sobre el peso seco de raíz (g) en plántulas de tomate (día 21)

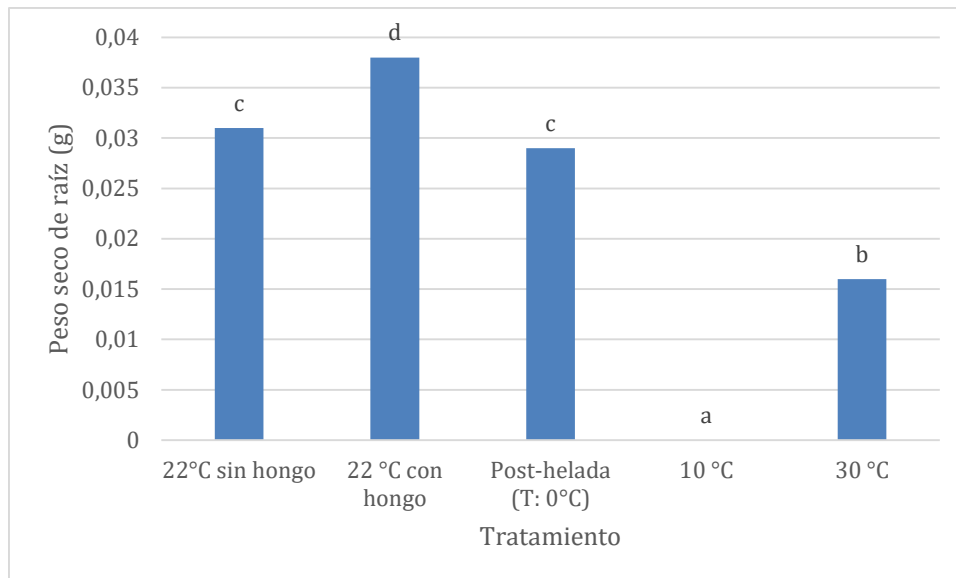
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	$1,1 \times 10^{-04}$	4	$2,7 \times 10^{-05}$	1,68	< 0,0001
Tratamiento	$1,1 \times 10^{-04}$	4	$2,7 \times 10^{-05}$	1,68	< 0,0001
Error	$3,2 \times 10^{-04}$	20	$1,6 \times 10^{-05}$		
Total	$4,3 \times 10^{-04}$	24			

Nota. Nivel de significancia de 0,05

Los resultados obtenidos reflejan que el valor más alto de peso se registró dentro del tratamiento de 22 °C con hongo (0,0032 g), seguido con 22 °C sin hongo y post-helada sin diferencias significativas entre sí. En contraste, a 10 °C no se observa acumulación de materia seca radicular.

En este contexto, bajo la temperatura de 22 °C, la inoculación del hongo produjo un ligero incremento del peso seco, respecto al tratamiento sin inoculación, pudiendo sugerir un efecto bioestimulante de *Metarhizium anisopliae*. A su vez, se observa que un episodio de helada no limita la acumulación de biomasa radicular, ya que se evidencia un comportamiento similar al compararse con los tratamientos de 22 °C sin hongo (Figura 37).

**Figura 37.** Prueba de Tukey para el efecto de la temperatura sobre el peso seco de raíz (g) en plántulas de tomate (día 21)



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

Los resultados obtenidos se alinean con los reportado por Zhang et al. (2023), quienes señalan que la temperatura incluye directamente sobre la actividad metabólica, la división celular y la síntesis de compuestos asociados con la acumulación de biomasa seca. Asimismo, los autores mencionan que temperaturas por debajo del rango óptimo, puede disminuir la actividad enzimática y síntesis y transportes de carbohidratos, reduciendo la materia seca acumulada. Además, que rangos térmicos moderados a elevados que no excedan el rango óptimo para el cultivo, pueden favorecer la producción de biomasa seca total.

Por otro lado, acerca del ligero incremento en peso seco observado en plantas inoculadas a 22 °C, Miao et al. (2023) mencionan que las interacciones planta-microorganismos pueden modular respuestas fisiológicas y favorecer la acumulación de biomasa, bajo condiciones adecuadas.

- ***Peso húmedo de los brotes (g)***

El análisis de varianza aplicado el día 21 para evaluar el efecto de la temperatura sobre el peso húmedo de brotes en plántulas de tomate, reflejó diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 43). De esta manera, se aplicó una prueba de Tukey la cual se presenta en la Figura 38.

**Tabla 43.** Análisis de varianza para el efecto de la temperatura sobre el peso húmedo de brotes (g) en plántulas de tomate (día 21)

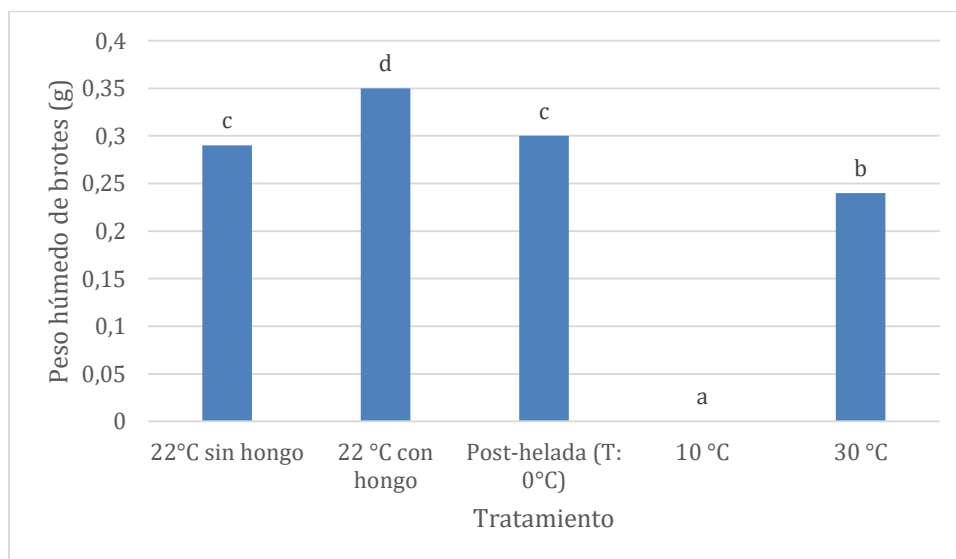
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,38	4	0,09	207,71	< 0,0001
Tratamiento	0,38	4	0,09	207,71	< 0,0001
Error	0,01	20	4,6 x10 <sup>-04</sup>		
Total	0,39	24			

Nota. Nivel de significancia de 0,05

Los resultados reflejan que las plantas inoculadas y mantenidas a 22 °C presentaron el mayor valor promedio (0,3467 g), seguidas por el tratamiento de 22 °C sin inoculación con 0,3036 g, y el tratamiento post-helada (0,2990 g), los cuales no presentan diferencias significativas entre sí. Por otra parte, a 30 °C el peso húmedo disminuyó con un valor de 0,2406 g, mientras que a 10 °C no se registraron desarrollo de brotes.

De esta manera, se sugiere que la temperatura óptima para la acumulación de biomasa aérea se sitúo alrededor de 22 °C, donde la presencia del hongo se asoció a un ligero incremento del peso húmedo, además, puede decirse que un episodio de helada no afecta de manera permanente la acumulación de biomasa en la planta, ya que el tratamiento de post-helada presenta un comportamiento similar a los de temperatura de 22 °C (Figura 38).

**Figura 38.** Prueba de Tukey para el efecto de la temperatura sobre el peso húmedo de brotes (g) en plántulas de tomate (día 21)



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

Con base a esto, Avola et al. (2020) mencionan que temperaturas bajas reducen de manera drástica la actividad enzimática, la división celular y la elongación de los tejidos, lo que limitan el crecimiento aéreo de la planta. Asimismo, temperaturas altas, incrementan la transpiración y alteran la estabilidad de las membranas, traduciéndose en una menor acumulación de biomasa fresca en los brotes.

Respecto al efecto del hongo, Liu et al. (2022) mencionan que algunos microorganismos pueden mejorar la absorción de agua y nutrientes, además de estimular la producción de fitohormonas asociadas al crecimiento, desencadenando una mayor biomasa aérea.

- **Peso seco de los brotes (g)**

El análisis de varianza aplicado el día 21 para evaluar el efecto de la temperatura sobre el peso seco de brotes en plántulas de tomate, reflejo diferencias entre tratamientos (Tabla 44). En este sentido, se aplicó una prueba de Tukey la cual se presenta en la Figura 39.

**Tabla 44.** Análisis de varianza para el efecto de la temperatura sobre el peso seco de brotes (g) en plántulas de tomate (día 21)

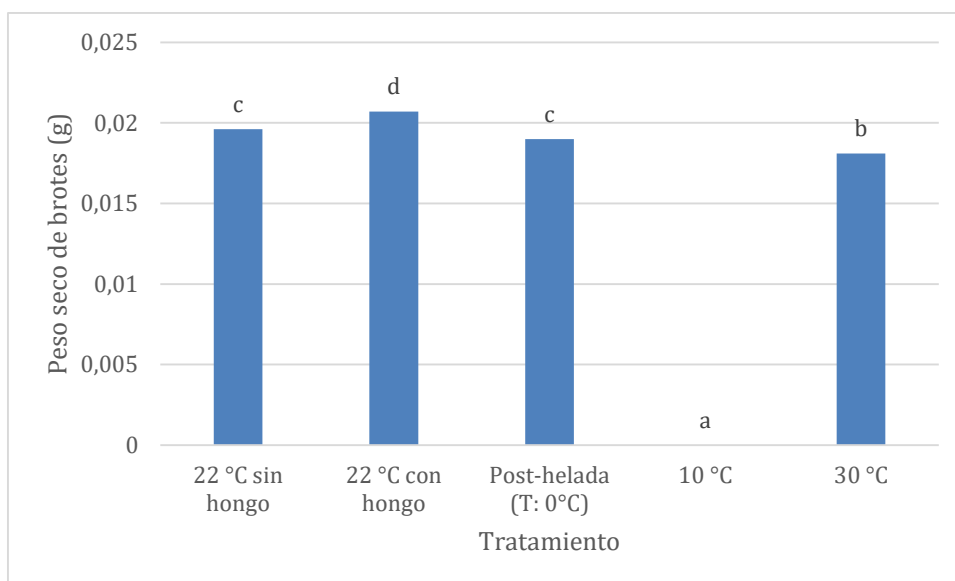
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	$1,5 \times 10^{-03}$	4	$3,8 \times 10^{-04}$	751,25	< 0,0001
Tratamiento	$1,5 \times 10^{-03}$	4	$3,8 \times 10^{-04}$	751,25	< 0,0001
Error	$1,0 \times 10^{-05}$	20	$5,1 \times 10^{-07}$		
Total	$1,5 \times 10^{-03}$	24			

Nota. Nivel de significancia de 0,05

Los resultados obtenidos reflejan que el mayor valor de peso se asocia al tratamiento de 22 °C con hongo (0,0207 g), seguidos por 22 °C sin hongo (0,0196 g) y post helada (0,0190 g) sin presentar diferencias significativas entre estos dos últimos tratamientos. Por otra parte, a 30 °C se registró un peso de 0,0181 g, mientras que en el caso del tratamiento a 10 °C no se evidenció desarrollo de brotes (Figura 39).

De esta manera, la comparación entre los tratamientos a 22 °C refleja que la temperatura junto a la inoculación de *Metarhizium anisopliae* mejora la acumulación de biomasa aérea. Asimismo, un episodio de helada no limita la acumulación de biomasa, ya que es capaz de reestablecer su tasa fisiológica al momento de encontrarse en condiciones favorables para su desarrollo.

**Figura 39.** Prueba de Tukey para el efecto de la temperatura sobre el peso seco de brotes (g) en plántulas de tomate.



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

Con base a esto, Zhang et al. (2023) mencionan que temperaturas cercanas a 20-25 °C suelen ser considerarse óptimas para la mayoría de procesos metabólicos y fisiológicos de *Solanum lycopersicum*, incluyendo crecimiento celular y translocación de fotoasimilados hacia brotes y hojas lo que se traduce en una mayor acumulación fotosintética de biomasa seca en los tejidos aéreos, mientras que esta acumulación se reduce cuando las plantas se exponen a temperaturas superiores o inferiores de los niveles óptimos, afectando de igual manera la actividad fotosintética y la síntesis de compuestos estructurales.

Asimismo, Liu et al. (2022) señalan que algunas cepas de hongos pueden desencadenar el aumento de la tasa de acumulación de biomasa aérea gracias a la estimulación de la producción fitohormonas específicas y la presencia de condiciones ambientales favorables.

#### 10.3.3.4. Cuadro resumen de las variables evaluadas dentro del objetivo específico 3

El análisis conjunto de las variables morfológicas asociadas a plántulas de tomate, evidencian que su desarrollo temprano se encuentra fuertemente influenciado por la temperatura, el pH y la salinidad, observándose patrones consistentes entre la mayoría de los parámetros evaluados (Tabla 45).

En relación a la temperatura, el tratamiento de 22 °C con hongo presenta la mejor respuesta en la mayoría de las variables, incluyendo: altura de planta, área foliar, longitud de raíz, peso húmedo de raíz y peso húmedo y seco de brotes. Este comportamiento, indica que 22

°C es una temperatura que favorece el crecimiento inicial, fomentando tanto el desarrollo aéreo como radicular, situación que puede verse potenciada por la inoculación de *Metarhizium anisopliae*, sin embargo, es necesario evaluar por un periodo más amplio para validar el efecto dominante del hongo sobre la planta, especialmente en aquellas variables asociadas con el desarrollo radicular.

Dentro del número de hojas, se observó una mejor respuesta a 30 °C y 22 °C. A su vez valores de pH entre 5 a 7 junto con salinidades de 0 mM con y sin inoculación de *Metarhizium anisopliae* en ambos casos, permitieron un desarrollo foliar similar.

En general, el pH 6 con y sin inoculación de *Metarhizium anisopliae* fue el más favorable para casi todas las variables evaluadas. Asimismo, la salinidad reflejó un efecto negativo sobre todas las variables, siendo el tratamiento de 0 mM con y sin inoculación el que presentó los mejores resultados. No obstante, aunque se observó cierto desarrollo foliar a 100 mM su rendimiento fue notablemente inferior a los controles implementados.

En síntesis, los resultados indican que el establecimiento temprano de plántulas de tomate, depende de una temperatura cercana a 22 °C, pH alrededor de 6 y por lo general ausencia de salinidad. Finalmente, la inoculación fúngica mostró efectos positivos principalmente a temperaturas óptimas, favoreciendo la acumulación de biomasa y el desarrollo de las plantas.

**Tabla 45.** Cuadro resumen de los efectos de los factores abióticos sobre plántulas con y sin inoculación de *Metarhizium anisopliae*. (ANOVA, Tukey  $\alpha = 0,05$ )

<b>Variable</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Post-helada</b>	<b>pH</b>	<b>Salinidad</b>
<b>Altura (cm)</b>	22 °C con y sin hongo y 30° C.	No hay diferencia significativa*	pH 6 con y sin hongo, 5 y 7	0 mM – con y sin hongo
<b>Número de hojas**</b>	30 °C	22 °C con y sin hongo	pH con y sin hongo, 5 y 7	0 mM con y sin hongo-100 mM
<b>Área foliar (cm<sup>2</sup>)</b>	22 °C con hongo	No hay diferencia significativa*	pH 6 sin hongo	0 mM con y sin hongo
<b>Longitud de raíz (cm)</b>	22 °C con hongo		pH 6 con hongo	0 mM con y sin hongo
<b>Peso húmedo de raíz (g)</b>	22 °C con hongo		pH 6 con hongo	0 mM con y sin hongo

<b>Peso seco de raíz (g)</b>	22 °C con hongo	pH 6 con y sin hongo	0 mM con y sin hongo
<b>Peso húmedo de brotes (g)</b>	22 °C con hongo	pH 6 con hongo	0 mM con y sin hongo
<b>Peso seco de brotes (g)</b>	22 °C con hongo	pH 6 con y sin hongo	0 mM con y sin hongo

\* No se evidenció diferencia significativa entre los niveles de tratamiento post-helada ( $p > 0,05$ )

\*\* Se reportan únicamente los tratamientos con mayor cantidad de hojas

*Nota.* Los valores indicados en la tabla representan el nivel de cada tratamiento que mostró mayor desarrollo ( $p < 0,05$ )

## 11. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES Y ECONÓMICOS)

El desarrollo del presente proyecto genera impactos relevantes en distintos ámbitos, al analizar el desempeño de cepas de *Metarhizium anisopliae* sometidas a condiciones de distintos factores abióticos, tanto en ensayos in vitro como en plántulas de tomate riñón. La información generada aporta sustento científico para su utilización como alternativa biológica dentro de sistemas de producción agrícola orientados a la sostenibilidad.

### 11.1 Impacto Social

La incorporación de hongos entomopatógenos y biocontroladores como *Metarhizium anisopliae* en los sistemas agrícolas contribuye a la disminución del uso de productos químicos sintéticos, reduciendo la exposición de productores, trabajadores del sector agrícola y consumidores a sustancias potencialmente nocivas para la salud. Este aspecto adquiere especial importancia en cultivos de manejo intensivo, como el tomate riñón, donde la aplicación frecuente de agroquímicos constituye una práctica habitual.

Asimismo, los resultados del estudio favorecen la adopción de prácticas agrícolas más seguras y responsables, fortaleciendo la conciencia social respecto a la importancia del manejo integrado de plagas y enfermedades. La difusión de este tipo de conocimiento puede incentivar a pequeños y medianos productores a implementar alternativas de control biológico, promoviendo una cultura productiva más alineada con los principios de la sostenibilidad y la agroecología.

### 11.2 Impacto Ambiental

Desde el punto de vista ambiental, la sustitución parcial o total de fungicidas y pesticidas de origen químico por biocontroladores como *Metarhizium anisopliae* contribuye de manera significativa a la reducción de la contaminación del suelo, el agua y el aire. Al tratarse de

organismos de origen natural, su aplicación minimiza los impactos negativos sobre los agroecosistemas y limita la acumulación de residuos químicos persistentes.

Adicionalmente, *Metarhizium anisopliae* presenta un elevado grado de especificidad biológica, lo que reduce su efecto sobre organismos no objetivo y favorece la conservación de la biodiversidad y el equilibrio ecológico. La evaluación de su comportamiento bajo distintos factores abióticos permite identificar cepas con mayor resistencia y capacidad de adaptación, incrementando la probabilidad de éxito en condiciones de campo y fortaleciendo estrategias de agricultura sostenible frente a escenarios climáticos variables.

### **11.3 Impacto Económico**

La utilización de biocontroladores con un desempeño adecuado puede generar beneficios económicos al disminuir los costos asociados a la adquisición y aplicación de agroquímicos convencionales, los cuales representan una proporción considerable del presupuesto de producción en el cultivo de tomate riñón. El empleo de cepas de *Metarhizium anisopliae* adaptadas a condiciones de distintos factores abióticos contribuyen a mejorar la eficiencia del control biológico y a reducir pérdidas relacionadas con la incidencia de plagas y enfermedades.

De forma complementaria, los sistemas productivos basados en prácticas sostenibles y en el uso de insumos biológicos tienden a incrementar la competitividad de los productores, dado que este tipo de producción es cada vez más valorado en mercados nacionales e internacionales que demandan certificaciones orgánicas o prácticas ambientalmente responsables. En este sentido, los resultados del proyecto aportan elementos que pueden incidir positivamente en la rentabilidad y sostenibilidad económica de los sistemas agrícolas.

## 12. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 12.1. Conclusiones

La caracterización morfológica, dada por estructuras macro y microscópicas, permitió identificar que la especie del hongo corresponde a *Metarhizium anisopliae*. A nivel molecular se identificó que el hongo pertenece al Complejo de *Metarhizium anisopliae*.

Los factores abióticos influyen en el comportamiento de *Metarhizium anisopliae* dentro de los ensayos in vitro. En este sentido, el mayor desarrollo de área micelial se registró a 28 °C, pH 5 a 6 y sin incremento de salinidad (0 mM). El incremento de salinidad limitó de manera significativa el crecimiento, sugiriendo que el hongo es altamente sensible a concentraciones elevadas de NaCl. Por lo que puede decirse que el crecimiento del hongo es altamente dependiente de las condiciones físico-químicas del medio.

En los ensayos en plántulas, se evidenció que la temperatura de 22°C, el pH 6 y condiciones sin incremento de salinidad, favorece el desarrollo de plántulas de Tomate Riñón variedad Pietro. Se observa además que, la inmersión de las semillas en la suspensión de *Metarhizium anisopliae* mejora el crecimiento vegetativo y aun más el radicular de la plántula bajo las mismas condiciones de temperatura y pH. En síntesis, los resultados confirman que los factores abióticos no solo modulan el crecimiento de *Metarhizium anisopliae* en condiciones controladas, sino que también determinan la respuesta fisiológica del tomate riñón con y sin inoculación fúngica.

## 12.2. Recomendaciones

Se sugiere complementar la caracterización morfológica y molecular mediante el empleo de marcadores genéticos adicionales, con el fin de fortalecer la identificación y diferenciación intraespecífica de especies del complejo *Metarhizium anisopliae*.

Se recomienda estudiar a mayor profundidad el uso de *Metarhizium anisopliae* como un bioestimulante bajo condiciones ambientales favorables para tomate riñón variedad Pietro, dado que se evidenció un efecto positivo en la acumulación de biomasa y desarrollo radicular en plántulas. Continuar los ensayos por un periodo más prolongado y a nivel de campo.

Se recomienda evaluar variables fisiológicas como el contenido de clorofila, el contenido de NPK y micronutrientes, enzimas antioxidantes, y genes relacionados con el estrés (HSP) para evidenciar la eficiencia de la inoculación de *Metarhizium anisopliae* sobre plántulas de tomate riñón y de esta manera se pueda comprender los mecanismos involucrados en la respuesta de las plántulas-hongo frente a diferentes tipos de factores abióticos.

### 13. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amandio, D. (2022). *Avaliação de isolados de Metarhizium spp. (Ascomycota: Hypocreales) nativos de Santa Catarina na promoção de crescimento de gramíneas (Poacea) forrageiras e antagonismo a Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae)*. [Tesis de Grado, Universidade Federal de Santa Catarina], Repositorio Insitucional ufsc. Obtenido de <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/242670>
- Aymacaña, S. (2025). *Identificación morfológica y molecular de metharizhium spp del llano largo de la parroquia del chaupi del cantón mejia*. [Tesis de Grado, Universidad Técnica de Cotopaxi], Repositorio Institucional utc. Obtenido de <https://repositorio.utc.edu.ec/items/5322747e-c3e2-46b5-a731-72b822d7c81b>
- Burgos, J. (2024). *Efectos del ácido salicílico en la tolerancia de cultivos a factores abióticos de estrés*. [Tesis de Grado, Universidad Tecnica de Babahoyo], Repositorio Insitucional utb. Obtenido de <https://dspace.utb.edu.ec/items/bb6854b7-8802-4b00-9b30-8dc96d1b0456>
- Chisaguano, J. (2024). *Evaluación del rendimiento de cuatro híbridos de tomate riñón (Solanum lycopersicum L.) de la empresa Yuksel Seeds de Turquía en el centro experimental todo agro-riobamba*. [Tesis de Grado, Universidad Superior Politécnica de Chimborazo], Repositorio Insitucional espoch. Obtenido de <https://dspace.espoch.edu.ec:8080/server/api/core/bitstreams/a1655afa-825c-4d73-8722-0508e3000552/content>
- Cruz, R., Pereyra, M., Ruiz, N., Ruiz, V., Porraz, M., & Gómez, J. (2025). Characterization of Encapsulates of Metarhizium anisopliae and its Effect on the Growth of Capsicum chinense Jacq. Plants Inoculated with Fusarium. *Revista Tierra Latinoamericana*, 43(1), 10. doi:<https://doi.org/10.28940/terralatinoamericana.v43i.2004>
- De la cruz, A. (2016). *Efectividad de aislados nativos de Beauveria y Metarhizium de arteaga, coahuila en el control del gusano telarañero Hyphantria cunea drury (lepidóptera: erebidae)*. [Tesis de Maestria, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro], Repositorio Insitucional uaaan. Obtenido de <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwid2Yrxno-SAxUQLFkFHZLeLS0QFnoECBgQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.researchgate.n>

et%2Fpublication%2F339386973\_EFECTIVIDAD\_DE\_AISLADOS\_NATIVOS\_DE  
\_Beauveria\_Y\_Metarhizium\_DE\_ARTEAGA\_COAHUILA\_

- Eder Santiago Gutiérrez JassoMaría Alejandra Osornio GonzálezMaría Fernanda Pantoja, M., Rivera, A., López, A., Gloria, A., & González, J. (2024). Efecto de la delección de potenciales factores de virulencia en el ciclo de vida de *Metarhizium*. *jóvenes en la ciencia*, 28(1), 10. doi:<https://doi.org/10.15174/jc.2024.4352>
- Espinosa, M., Mocha, B., Rosales, d., & Clavijo, K. (2025). El papel de los extractos de algas marinas como bioestimulantes para mitigar el estrés biótico y abiótico en los cultivos: The role of seaweed extracts as biostimulants to mitigate biotic and abiotic stress in crops. *Multidisciplinary Latin American Journal (MLAJ)*, 3(2), 659-673. doi:<https://doi.org/10.62131/MLAJ-V3-N2-039>
- García, F. (2022). *Síntesis y evaluación de bibliotecas de productos de interés agrícola para combatir estreses bióticos y abióticos*. [Tesis de Grado, Universidad de La Laguna], Repositorio Insitucional ull. Obtenido de <https://portalciencia.ull.es/documentos/63e8422872c595051ce0edef?lang=de>
- González-Guzmán, A., Sacristán, D., Quesada-Moraga, E., Torrent, J., Campillo, M., & Sánchez-Rodríguez, A. (2020). Effects of entomopathogenic fungi on growth and nutrition in wheat grown on two calcareous soils: Influence of the fungus application method. *Annals of Applied Biology*, 177(1), 26-40. doi:10.1111/aab.12596
- Google, E. (18 de Diciembre de 2025). *Google Earth*. Obtenido de <https://earth.google.com/web/search/UNIVERSIDAD+TECNICA+DE+COTOPAXI,+ECUADOR/@-0.9179088,-78.6329858,2787.82013882a,845.11239728d,35y,0h,0t,0r/data=CiwiJgokCTS4djKN7TRAETK4djKN7TTAGUNC3rAPakIAITTrxUTb-UnAQgIIATIpCicKJQohMXFiSm9EYzJKTnV0MTZNWHFmx1B6dWM3emt>
- Guamantaqui, E. (2024). *Identificación morfológica y molecular de la cepa nativa de (metarhizium spp) 2023-2024*. [Tesis de Grado, Universidad Técnica de Cotopaxi], Repositorio Insitucional utc. Obtenido de <https://repositorio.utc.edu.ec/items/ed94c76a-7055-420f-9af8-ce20c2578312>
- Hernández, R. (2014). *Metodología de la investigación* (Sexta ed.). México D.F: McGrawHill Education.

- Humber, R. (2005). Entomopathogenic Fungal Identification. En *Manual of Techniques in Invertebrate Pathology* (págs. 151-187). doi:DOI:10.1016/B978-0-12-386899-2.00006-3
- López, E. (2021). *Efecto del hongo entomopatogeno Metarhizium spp. en el crecimiento de plantas de maíz Zea mays L.* [Tesis de Grado, Universidad Autónoma de Nuevo León], Repositorio Institucional uanl. Obtenido de <http://eprints.uanl.mx/23159/1/1080251883.pdf>
- Manzanarez, A. (2024). Efecto bioestimulante de *Macrocyctis pyrifera* en esporas de *Metarhizium anisopliae* y su patogenicidad contra *Chloridea virescens*. *Biotechnia*, 26(1), e2321. doi:<https://doi.org/10.18633/biotechnia.v26.2321>
- Peñas de la Corte, M. (2025). *Desarrollo de nuevos bioestimulantes agrícolas, a partir de la combinación de microorganismos y extractos vegetales, contra el estrés abiótico en cultivos de cereales y leguminosas.* [Tesis de Grado, Universidad de Granada], Repositorio Institucional ugr. Obtenido de <https://digibug.ugr.es/handle/10481/104868>
- Santos da Paixão, F. (2022). *Caracterización de microesclerocios en Metarhizium spp.: genes responsables de la diferenciación celular y de la patogenicidad frente a larvas del mosquito Aedes aegypti, vector del virus del Dengue.* [Tesis de Grado, Universidad Nacional de la Plata], Repositorio Institucional unlp. Obtenido de <https://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/147354>
- Silva, A. (2024). *Análise da Interação de Metarhizium spp. com folhas e sementes de Vigna unguiculata.* [Tesis de Grado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro], Repositorio Institucional ufrrj. Obtenido de <https://rima.ufrrj.br/jspui/handle/20.500.14407/19045>
- Verdugo, S., & Alvarez, M. (2025). *Evaluación del crecimiento y desarrollo de la planta de tomate riñón Solanum lycopersicum en invernadero con la técnica de injertación, Santa Ana, Azuay, Ecuador.* [Tesis de Grado, Universidad del Azuay], Repositorio Institucional uazuay. Obtenido de <https://dspace.uazuay.edu.ec/handle/datos/15982>
- Astija. (2020). Soil pH influences the development of tomato root organ (*Solanum lycopersicum L.*). *EurAsian Journal of BioSciences*(14), 6903-6908. Obtenido de

[https://www.researchgate.net/publication/348379989\\_Soil\\_pH\\_influences\\_the\\_development\\_of\\_tomato\\_root\\_organ\\_Solanum\\_lycopersicum\\_L](https://www.researchgate.net/publication/348379989_Soil_pH_influences_the_development_of_tomato_root_organ_Solanum_lycopersicum_L)

- Avila, C., Argente-Martínez, L., Campos-Posada, R., Eichler-Löbermann, B., & Lopez, R. (2023). Efecto del estrés salino en el régimen hídrico, concentración de compuestos osmóticamente activos y pigmentos fotosintéticos en cultivares de tomate. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 49(1), 32-40. Obtenido de <https://www.redalyc.org/journal/864/86474931008/>
- Avola, G., Riggi, E., Trostle, C., Sortino, O., & Gresta, F. (2020). Deficit Irrigation on Guar Genotypes (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.): Effects on Seed Yield and Water Use Efficiency. *Agronomy*, 10(6), 789. doi:10.3390/agronomy10060789
- Barrow, N., & Hartemink, A. (2023). The effects of pH on nutrient availability depend on both soils and plants. *Plant and Soil*, 487, 21-37. doi:10.1007/s11104-023-05960-5
- Borres, E., Agao, J., & Basulgan, E. (2025). Effects of saline water irrigation on soil nutrients, growth performance, and yield of tomato (*Solanum lycopersicum*). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 24(66), 1-15. doi:10.1007/s44447-025-00052-5
- Chaudhary, P., Raghuraman, B., Patel, H., Mehta, P., Patel, N., Sonth, B., . . . Kaushik, P. (2023). Plant Growth-Promoting Potential of Entomopathogenic Fungus *Metarhizium pinghaense* AAUBC-M26 under Elevated Salt Stress in Tomato. *Agronomy*, 13(6), 1577. doi:10.3390/agronomy13061577
- Crosby, L., Cotter, S., & Varga, S. (2025). Harnessing entomopathogenic fungi: A meta-analysis on their role as plant growth promoters. *Plants People Planet*(7), 1858-1869. doi:10.1002/ppp3.70053
- Devi, M., Barnaby, J., Rohde, J., Wang, Y., Rodriguez-Bonilla, L., Zalapa, J., . . . Mupambi, G. (2025). The Impact of Elevated Soil pH Levels on Cranberry Growth, Physiology, and Metabolites. *Plants*, 14(18), 2833. doi:10.3390/plants14182833
- Gandullo, J., Ahmad, S., Darwish, E., Karlova, R., & Testerink, C. (2021). Phenotyping Tomato Root Developmental Plasticity in Response to Salinity in Soil Rhizotrons. *Plant Phenomics*, 2760532. doi:10.34133/2021/2760532
- Hassan, F. (2023). Assessing the impact of soil pH on horticultural crop yield and quality. *International Journal of Horticulture and Food Science*, 5(1), 114-116. doi:10.33545/26631067.2023.v5.i1b.204

- Jackson, K., & Meetei, T. (2020). Influence of soil pH on nutrient availability: A. *JETIR*, 5(12), 1-7. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/343555930\\_Influence\\_of\\_soil\\_pH\\_on\\_nutrient\\_availability\\_A\\_Review](https://www.researchgate.net/publication/343555930_Influence_of_soil_pH_on_nutrient_availability_A_Review)
- Kamal, M., Sarker, U., Roy, S., Alam, M., Azam, M., Miah, Y., . . . Alamri, S. (2024). Manure-biochar compost mitigates the soil salinity stress in tomato plants by modulating the osmoregulatory mechanism, photosynthetic pigments, and ionic homeostasis. *Scientific Reports*, 21929, 1-15. doi:10.1038/s41598-024-73093-5
- Kumar, M., Vanitha, K., & Sankari, A. (2025). Impact of salt stress on physiological traits in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Plant Science Today*, 12(1), 1-9. doi:10.14719/pst.4282
- Liu, C., Jiang, X., & Yuan, Z. (2024). Plant Responses and Adaptations to Salt Stress: A Review. *Horticulturae*, 10(11), 1221. doi:10.3390/horticulturae10111221
- Liu, Z., Liu, R., Tong, X., & Zou, L. (2022). New Insights into Methyl Jasmonate Regulation of Triterpenoid Biosynthesis in Medicinal Fungal Species *Sanghuangporusbaumii* (Pilát) L.W. Zhou & Y.C. Dai. *Journal of Fungi*, 8(9), 889. doi:10.3390/jof8090889
- Mejía-Betancourt, F., Sánchez-Del Castillo, F., González-Molina, L., & Moreno-Pérez, E. (2025). Luz suplementaria y temperatura nocturna modifican el crecimiento de plántulas y producción de flores y frutos de tomate. *Revista fitotecnia mexicana*, 48(2), 1-15. doi:10.35196/rfm.2025.2.173
- Miao, Y.-n., Ren, J.-l., Zhang, Y., Chen, X.-m., Qi, M.-f., Li, T.-l., . . . Liu, Y.-f. (2023). Effect of low root-zone temperature on photosynthesis, root structure and mineral element absorption of tomato seedlings. *Scientia Horticulturae*, 315(1), 111956. doi:10.1016/j.scienta.2023.111956
- Niu, C., Wang, G., Sui, J., Liu, G., Ma, F., & Bao, Z. (2022). Biostimulants alleviate temperature stress in tomato seedlings. *Scientia Horticulturae*, 293(5), 110712. doi:10.1016/j.scienta.2021.110712
- Ramatsitsi, M., Khosa, M., Mashamaite, C., & Ramachela, K. (2023). In Vitro Assessment of Eight Selected Indigenous Fungal Isolates Tolerance to Various Abiotic Stresses and their Effects on Seed Germination. *Current Microbiology*, 80(386), 1-12. doi:<https://doi.org/10.1007/s00284-023-03507-6>

- Rivera, P., Moya, C., & O'Brien, J. (2022). Low Salt Treatment Results in Plant Growth Enhancement in Tomato Seedlings. *Plants*, *11*(6), 807. doi:10.3390/plants11060807
- Roşca, M., Mihalache, G., & Stoleru, V. (2023). Tomato responses to salinity stress: From morphological traits to genetic changes. *Frontiers in plant science*(14), 1118383. doi:10.3389/fpls.2023.1118383
- Sánchez, C., Vidoz, M., & Mignolli, F. (2023). Efectos de la combinación de alta temperatura y estrés por inundación sobre parámetros fotosintéticos en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *RIUNNE*, 1-15. Obtenido de <https://repositorio.unne.edu.ar/handle/123456789/55958>
- Sultana, S., Nahar, M., Islam, R., Roy, M., Rahman, F., Azam, M., . . . Karim, R. (2025). Foliar and root applications of salicylic acid alleviate salinity stress by modulating morpho-physiological and biochemical aspects in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Discover Plants*, *2*(36), 1-15. doi:10.1007/s44372-025-00117-3
- Tran, L., An, J., Carayugan, M., Hernandez, J., Rahman, S., Youn, W., . . . Park, B. (2024). Fine-Root Distribution and Soil Physicochemical Property Variations in Four Contrasting Urban Land-Use Types in South Korea. *Plants*, *13*(2), 164. doi:10.3390/plants13020164
- White, Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). *White, T. J., T. D. BruAmplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA Genes for phylogenetics*. New York: Academic Press. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/223397588\\_White\\_T\\_J\\_T\\_D\\_Bruns\\_S\\_B\\_Lee\\_and\\_J\\_W\\_Taylor\\_Amplification\\_and\\_direct\\_sequencing\\_of\\_fungal\\_ribosomal\\_RNA\\_Genes\\_for\\_phylogenetics](https://www.researchgate.net/publication/223397588_White_T_J_T_D_Bruns_S_B_Lee_and_J_W_Taylor_Amplification_and_direct_sequencing_of_fungal_ribosomal_RNA_Genes_for_phylogenetics)
- Zhang, H., Sun, X., & Song, W. (2023). Physiological and Growth Characteristics of Tomato Seedlings in Response to Low Root-zone Temperature. *HortScience*, *58*(4), 442-448. doi:10.21273/HORTSCI16924-22
- Zhang, S. (2025). Effect of Soil pH on Tomatoes. *World Scientific Research Journal*, *11*(10), 54-64. doi:10.6911/WSRJ.202510\_11(10).0006