



**REPÚBLICA DEL ECUADOR**

**UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO**

**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
FACULTAD DE POSGRADOS**

**INFORME DE INVESTIGACIÓN  
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:**

**MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA**

**TEMA:**

**Evaluación de los efectos de la aplicación in vitro de bioestimulantes a base de *Trichoderma spp.* para potenciar la germinación y crecimiento del cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.)**

**Autor:**

**Tábata Melissa Guevara Villalta**

**Director:**

**MSc. Rafael Seleyman Lazo Sulca**

*Milagro, 2024*

## Derechos de autor

**Sr. Dr.**

**Fabricio Guevara Viejó**

Rector de la Universidad Estatal de Milagro

Presente.

Yo, Tábata Melissa Guevara Villalta en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales de este informe de investigación, mediante el presente documento, libre y voluntariamente cedo los derechos de Autor de este proyecto de desarrollo, que fue realizada como requisito previo para la obtención de mi Grado, de Magister en Biotecnología, como aporte a la Línea de Investigación: Innovación tecnológica en procesos de producción agropecuaria, de conformidad con el Art. 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, concedo a favor de la Universidad Estatal de Milagro una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos. Conservo a mi favor todos los derechos de autor sobre la obra, establecidos en la normativa citada.

Así mismo, autorizo a la Universidad Estatal de Milagro para que realice la digitalización y publicación de este Informe de Investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

El autor declara que la obra objeto de la presente autorización es original en su forma de expresión y no infringe el derecho de autor de terceros, asumiendo la responsabilidad por cualquier reclamación que pudiera presentarse por esta causa y liberando a la Universidad de toda responsabilidad.

Milagro, 14 de agosto del 2024



Firmado electrónicamente por:  
TABATA MELISSA  
GUEVARA VILLALTA

Tábata Melissa Guevara Villalta

C.I.: 0942236506

## Aprobación del director del Trabajo de Titulación

Yo, MSc. Rafael Seleyman Lazo Sulca en mi calidad de director del trabajo de titulación, elaborado por Tábata Melissa Guevara Villalta, cuyo tema es: Evaluación de los efectos de la aplicación in vitro de bioestimulantes a base de *Trichoderma spp.* para potenciar la germinación y crecimiento del cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.), que aporta a la Línea de Investigación: Innovación tecnológica en procesos de producción agropecuaria, previo a la obtención del Grado Magíster en Biotecnología, Trabajo de titulación que consiste en una propuesta innovadora que contiene, como mínimo, una investigación exploratoria y diagnóstica, base conceptual, conclusiones y fuentes de consulta, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos necesarios para ser sometido a la evaluación por parte del tribunal calificador que se designe, por lo que lo APRUEBO, a fin de que el trabajo sea habilitado para continuar con el proceso de titulación de la alternativa de Informede Investigación de la Universidad Estatal de Milagro.

Milagro, 14 de agosto del 2024



Firmado electrónicamente por:  
RAFAEL SELEYMAN  
LAZO SULCA

MSc. Rafael Seleyman Lazo Sulca

C.I.: 0918859687

**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**  
**FACULTAD DE POSGRADO**  
**CERTIFICACIÓN DE LA DEFENSA**

El TRIBUNAL CALIFICADOR previo a la obtención del título de **MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA**, presentado por **ING. GUEVARA VILLALTA TÁBATA MELISSA**, otorga al presente proyecto de investigación denominado "EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DE LA APLICACIÓN IN VITRO DE BIOESTIMULANTES A BASE DE TRICHODERMA SPP. PARA POTENCIAR LA GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO DEL CULTIVO DE ARROZ (ORYZA SATIVA L.)", las siguientes calificaciones:

TRABAJO ESCRITO	57.33
SUSTENTACIÓN	39.00
PROMEDIO	<b>96.33</b>
EQUIVALENTE	<b>Excelente</b>



Firmado digitalmente por:  
**DIEGO GEOVANNY  
BARZALLO GRANIZO**

Mgs. **BARZALLO GRANIZO DIEGO GEOVANNY**  
**PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL**



Firmado digitalmente por:  
**CESAR ANIBAL  
BARZOLA GAIBOR**

Ing. **BARZOLA GAIBOR CESAR ANIBAL**  
**VOCAL**



Firmado digitalmente por:  
**ALEX EDWIN GUILLEN  
BONILLA**

Ing. **GUILLEN BONILLA ALEX EDWIN**  
**SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL**

## **DEDICATORIA**

**A mi familia, a mis padres quienes me han apoyado en cada paso a lo largo de mi vida, a mi pareja quien con su amor incondicional me ha impulsado a crecer, ser mejor cada día y no rendirme jamás.**

## **AGRADECIMIENTOS**

**Extiendo mis más sinceros agradecimientos a mi tutor, el Máster Rafael Lazo, quien me ha permitido desarrollar mi trabajo bajo su valiosa guía y orientación en cada situación que se ha suscitado; también al Máster Óscar Chenche, quien fue un gran apoyo en el desarrollo de mi ensayo en el laboratorio.**

## Resumen

El uso de Trichoderma en la agricultura ha emergido como una opción sostenible para el manejo de cultivos. Este género de hongos proporciona beneficios significativos como agente de biocontrol y promotor del crecimiento vegetal, contribuyendo así a prácticas agrícolas más ecológicas y sostenibles. La investigación se enfocó en evaluar el efecto de distintas sustancias sobre la germinación y crecimiento de plántulas de arroz (*Oryza sativa* L.): T1 extracto comercial de Trichoderma, T2 Trichoderma nativo, T3 medio MS y T4 agua estéril como control negativo. Se aplicó un diseño experimental con 50 repeticiones por tratamiento, utilizando biorreactores esterilizados para asegurar la precisión de los resultados. Se realizaron análisis estadísticos de la aparición y dimensiones de la radícula y el cotiledón, incluyendo ANOVA y pruebas de Tukey, para determinar la significancia de los resultados, utilizando el software Infostat. Los tratamientos con Trichoderma resultaron efectivos, mostrando buenos resultados en la aparición de radícula y cotiledón, y promoviendo un crecimiento significativamente mayor tanto en la longitud de la raíz como del cotiledón. Además, se observó un notable control de patógenos en el grupo tratado con Trichoderma, lo que redujo la incidencia de enfermedades y favoreció un desarrollo más saludable de las plántulas. Los análisis ANOVA y las pruebas de Tukey confirmaron la significancia estadística de estos hallazgos. Trichoderma presenta un gran potencial para mejorar la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas, así como para el control de patógenos en cultivos de arroz. No obstante, es esencial llevar a cabo evaluaciones detalladas de su impacto ambiental.

**Palabras Clave:** Biorreactores, cotiledón, hongo, radícula, Trichoderma.

## Abstract

The use of Trichoderma in agriculture has emerged as a sustainable option for crop management. This genus of fungi provides significant benefits as a biocontrol agent and growth promoter, thus contributing to more ecological and sustainable agricultural practices. The research focused on evaluating the effect of different substances on the germination and growth of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings: T1 commercial Trichoderma extract, T2 native Trichoderma, T3 MS medium, and T4 sterile water as a negative control. An experimental design with 50 repetitions per treatment was applied, using sterilized bioreactors to ensure the precision of the results. Statistical analyses of the appearance and dimensions of the radicle and cotyledon were performed, including ANOVA and Tukey tests, to determine the significance of the results, using Infostat software. The treatments with Trichoderma proved effective, showing good results in the appearance of radicles and cotyledons, and promoting significantly greater growth in both root length and cotyledon. Additionally, notable pathogen control was observed in the group treated with Trichoderma, reducing the incidence of diseases and promoting healthier seedling development. The ANOVA analyses and Tukey tests confirmed the statistical significance of these findings. Trichoderma presents great potential for improving seed germination and seedling growth, as well as for pathogen control in rice crops. However, it is essential to conduct detailed evaluations of its environmental impact and long-term safety.

**Keywords:** Bioreactors, cotyledon, fungus, radicle, Trichoderma.



## Lista de Figuras

Figura 1. Esterilización de instrumentos de laboratorio.....	38
Figura 2. Corte de una cepa de <i>Trichoderma Harzianum</i> .....	38
Figura 3. Inoculación del medio de cultivo de papa y dextrosa.....	39
Figura 4. Preparación del medio de cultivo .....	39
Figura 5. Etiqueta de tratamiento con <i>Trichoderma Harzianum</i> .....	40
Figura 6. Preparación de tratamientos en incubadora orbital.....	40
Figura 7. Uso de incubadora orbital.....	41
Figura 8. Datos de la incubadora orbital.....	41
Figura 9. Materiales usados en estudio.....	42
Figura 10. Tratamiento con <i>Trichoderma</i> nativo .....	42
Figura 13. Tratamiento con agua estéril.....	43
Figura 14. Biorreactores con los tratamientos.....	43
Figura 15. Observación de germinado de semillas.....	44
Figura 16. Aparición de la radícula.....	44
Figura 17. Desarrollo de plántulas.....	45
Figura 18. Diferenciación según tratamientos.....	45

## Lista de Tablas

Tabla 1. Operacionalización de las variables.....	5
Tabla 2. Diseño de tratamientos.....	21
Tabla 3. Descripción de tratamientos.....	24
Tabla. 4. Días para aparición de radícula.....	25
Tabla 5. Días para aparición de cotiledón.....	26
Tabla 6. Dimensión de radícula (cm).....	26
Tabla 7. Dimensión del cotiledón (cm).....	27
Tabla 8. Comparación del efecto de Trichoderma spp. en diferentes estudios .....	27
Tabla 9. Comparación de Trichoderma spp en la germinación de diferentes cultivos	28

## Índice / Sumario

DEDICATORIA .....	iv
AGRADECIMIENTOS .....	v
Resumen .....	vi
Abstract .....	vii
Lista de Figuras .....	viii
Lista de Tablas .....	ix
Índice / Sumario .....	x
Introducción .....	1
Capítulo I: El problema de la investigación .....	2
1.1 Planteamiento del problema .....	2
1.2 Delimitación del problema .....	3
1.3 Formulación del problema .....	3
1.4 Preguntas de investigación .....	3
1.5 Determinación del tema .....	4
1.6 Objetivo general .....	4
1.7 Objetivos específicos .....	4
1.8 Hipótesis .....	4
1.9 Declaración de las variables (operacionalización) .....	4
1.9.1 Variable independiente .....	4
1.9.2 Variables dependientes .....	4
1.10 Justificación .....	6
1.11 Alcance y limitaciones .....	7
1.11.1 Alcance .....	7
1.11.2 Limitaciones .....	7
CAPÍTULO II: Marco teórico referencial .....	9
2.1 Antecedentes .....	9
2.2 Contenido teórico que fundamenta la investigación .....	11
2.2.1 Cultivo de arroz .....	11
2.2.1.1. Taxonomía .....	11
2.2.1.2. Morfología .....	11
2.2.1.3. Fases fenológicas .....	12
2.2.2 Propagación in vitro o micropropagación .....	13
2.2.3 Principios básicos de cultivo de tejidos de arroz .....	13
2.2.4 Elección del explante .....	14
2.2.5 Tipo de explantes .....	15
2.2.6 Innovación en el cultivo de arroz .....	17
2.2.7 Aparición del cotiledón y la radícula en el cultivo de arroz .....	18
2.3 Marco legal y normativo en Ecuador .....	19
CAPÍTULO III: Diseño metodológico .....	20

3.1	Tipo y diseño de investigación .....	20
3.1.1	Tipo.....	20
3.1.2	Diseño de Investigación .....	20
3.2	La población y la muestra .....	21
3.2.1	Características de la población .....	22
3.2.2	Delimitación de la población .....	22
3.2.3	Tipo de muestra .....	22
3.2.4	Tamaño de la muestra .....	22
3.2.5	Proceso de selección de la muestra .....	22
3.3	Métodos y técnicas.....	23
3.3.1	Fase de campo .....	23
3.3.2	Fase de laboratorio .....	23
CAPÍTULO IV: Análisis e interpretación de resultados.....		25
4.1	Análisis de los resultados... ..	25
4.1.1	Días para aparición de radícula... ..	25
4.1.2	Días para aparición de cotiledón .....	25
4.1.3	Dimensión de radícula (cm).....	26
4.1.4	Dimensión de cotiledón (cm) .....	27
4.2	Interpretación de los resultados .....	29
4.2.1	Aparición de la radícula y el cotiledón .....	29
4.2.2	Dimensión de la radícula y el cotiledón.....	30
CAPÍTULO V: Conclusiones y Recomendaciones .....		31
5.1	Conclusiones... ..	31
5.2	Recomendaciones .....	32
Bibliografía.....		34
Anexos .....		38

## Introducción

Una de las actividades humanas más importantes es la agricultura. Durante la mayor parte de la historia de este planeta, la humanidad ha vivido practicando la agricultura para alimentarse, vestirse y satisfacer sus necesidades básicas. No obstante, la agricultura contemporánea ha experimentado un aumento significativo en la productividad agrícola gracias al modelo de la revolución verde. Este modelo, que se basa en la tecnificación y el uso de cantidades significativas de insumos costosos como plaguicidas, fertilizantes, combustibles fósiles, maquinaria y agua para riego, está siendo cuestionado por su sustentabilidad debido a una variedad de efectos sociales, económicos y ecológicos (Companiononi, 2019).

Más de la tercera parte de la superficie de productos transitorios de Ecuador está ocupada por el cultivo de arroz. El cultivo del arroz es la producción más importante del país en términos sociales y productivos. Uno de los alimentos más cruciales para la dieta de los ecuatorianos es el arroz; en promedio, los ecuatorianos consumen entre 43 y 45 kilogramos de este cereal al año (Adama, 2016).

Los principales problemas en el cultivo de la gramínea son el manchado del grano, la "quemazón del arroz" y los granos vanos de la espiga. Los productores afirman que se reduce el rendimiento de la producción a la mitad. Las bacterias, los hongos y el abuso de agroquímicos son solo algunos de los factores que afectan simultáneamente los cultivos de arroz (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias [INIAP], 2023).

El uso de biocontroladores como *Trichodermas* se ha vuelto fundamental para la agricultura sostenible en el esfuerzo continuo por mejorar la productividad y la sostenibilidad en la agricultura, ya que es una práctica agrícola amigable con el medio ambiente que reduce el impacto ambiental que causa el uso de pesticidas sintéticos que aceleran la degradación del suelo.

La capacidad de los *Trichodermas* como controladores biológicos se debe a su capacidad reproductiva, capacidad para sobrevivir en condiciones ambientales desfavorables, fuerte agresividad contra hongos fitopatógenos y capacidad para promover el crecimiento en plantas e inducir mecanismos de defensa. El rápido crecimiento micelial y la abundante producción de esporas de las diferentes especies ayudan a la colonización de diversos sustratos y del suelo (Instituto para la Innovación Tecnológica en la Agricultura [INTAGRI], 2021).

# Capítulo I: El problema de la investigación

## 1.1 Planteamiento del problema

La biotecnología agrícola surgió como resultado de los avances tecnológicos del siglo XX. Se basa en el uso de herramientas biológicas y técnicas que utilizan organismos vivos para mejorar la agricultura y producir productos agrícolas. La biotecnología ha permitido grandes avances en la agricultura, incluida una mejor absorción de nutrientes mediante el uso de microorganismos con características que promueven el crecimiento vegetal y el control de plagas mediante el uso de fermentos y extractos de plantas y hongos (Herogra, 2022).

La germinación de *Trichoderma spp.* en cultivos de arroz in vitro parece ser un método prometedor para mejorar la salud de las plántulas y aumentar la productividad agrícola. Sin embargo, para optimizar esta práctica y maximizar el potencial de *Trichoderma spp.* en la germinación in vitro del cultivo de arroz, se deben abordar varios problemas y desafíos. También se debe avanzar hacia prácticas agrícolas más sostenibles y productivas. La resolución de estos problemas proporcionará información útil para mejorar los procedimientos de aplicación y aumentar los rendimientos agrícolas.

Los cultivos vegetales in vitro brindan a la investigación una amplia gama de herramientas y técnicas que permiten mejorar una variedad de estudios sobre temas como la agricultura, la salud, la biología y la genética, entre otros. Los cultivos vegetales proporcionan conocimiento sobre la morfología y el comportamiento bioquímico de las plantas y las posibles utilidades de estos compuestos (Alcántara, et al., 2017).

Debido a su potencial para fomentar el crecimiento de las plantas y protegerlas contra patógenos, el uso de agentes biológicos como *Trichoderma spp.* se ha incrementado en la búsqueda de prácticas agrícolas más sostenibles y efectivas. Los hongos *Trichoderma spp.* mejoran la salud del suelo y la resistencia de las plantas a enfermedades al actuar como bioestimulantes y biocontroladores. A pesar de estos beneficios, el uso de *Trichoderma spp.* debe abordarse para maximizar su eficacia y adopción en la agricultura.

## 1.2 Delimitación del problema

El presente estudio examinó cómo el hongo *Trichoderma harzianum* afecta el desarrollo in vitro de semillas de arroz (*Oryza sativa* L.). Las siguientes áreas son el marco de la investigación:

El enfoque principal fue la germinación in vitro de semillas de arroz con varios tratamientos, el cultivo de arroz es un cultivo de gran importancia mundial tanto para la alimentación como para la economía agrícola. En un ambiente controlado, se investigó cómo los *Trichodermas* afectan el vigor y los días de germinación de las plántulas.

La aparición de la radícula, aparición del cotiledón, dimensión de la radícula y el cotiledón son las principales variables a estudiar. Las respuestas de aparición y tamaño de las plántulas serán las variables dependientes, mientras que los tratamientos utilizados serán variables independientes.

Se utilizó una técnica ecológicamente sostenible. Para facilitar la observación directa de los efectos de *Trichoderma harzianum*, se realizaron evaluaciones de germinación y crecimiento in vitro. Esto permitió un control riguroso de las variables sin afectar las condiciones ambientales.

Limitaciones geográficas y temporales; El estudio se enfocó en semillas cultivadas por los productores de la zona arrocería del Guayas, aunque los resultados podrían ser relevantes para la producción de arroz a nivel mundial.

## 1.3 Formulación del problema

¿De qué manera influirá la aplicación de bioestimulantes como *Trichoderma harzianum* en el cultivo de arroz?

## 1.4 Preguntas de investigación

¿Cómo afectará la germinación del arroz con la aplicación de bioestimulantes a base de *Trichoderma harzianum*?

¿Cuál será el mejor bioestimulante para el crecimiento de los propágulos de arroz con la aplicación de *Trichoderma harzianum*?

¿Cuál será el tratamiento sobresaliente para potenciar el desarrollo del cultivo?

## 1.5 Determinación del tema

Evaluación de los efectos de la aplicación in vitro de bioestimulantes a base de *Trichoderma harzianum*. para potenciar la germinación y crecimiento del cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.)

## 1.6 Objetivo general

Evaluar el efecto de la aplicación in vitro de *Trichoderma harzianum*. sobre el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.) para estimular el desarrollo de las plantas.

## 1.7 Objetivos específicos

- Analizar el efecto de los bioestimulantes a base de *Trichoderma harzianum* en los propágulos vegetales.
- Determinar la eficiencia del *Trichoderma harzianum*. comercial y nativo en el crecimiento de los propágulos.
- Definir la eficacia de los tratamientos aplicados al cultivo de arroz.

## 1.8 Hipótesis

El uso de *Trichoderma harzianum*. permitirá mejorar las características fenotípicas del cultivo de arroz.

## 1.9 Declaración de las variables (operacionalización)

### 1.9.1 Variable independiente

Aplicación de bioestimulantes comercial y *Trichoderma harzianum* nativo.

### 1.9.2 Variables dependientes

- Días para aparición de radícula: Mide el tiempo en días que transcurre desde que las semillas se colocan en condiciones de cultivo in vitro hasta que se observa la formación de raíces.
- Días para aparición de cotiledón: Conteo del número de días que pasan desde que las semillas son sembradas en un medio de cultivo in vitro hasta que se observa el desarrollo de los cotiledones.



- Dimensión de cotiledón: Medida en centímetros de la longitud de los cotiledones de las plántulas cultivadas en condiciones in vitro.
- Dimensión de radícula: Medición de la longitud de la radícula medida en centímetros después de un período de crecimiento en condiciones de cultivo in vitro.

**Tabla 1.**  
**Operacionalización de las variables**

Variable	Tipo	Definición Conceptual	Definición Operacional	Instrumento de Medida
<b>Aplicación de <i>Trichoderma harzianum</i>.</b>	Independiente	El método específico aplicado a las semillas de arroz.	1. Selección de la cepa. 2. Recolección de esporas. 3. Método de inoculación. 4. Medio de cultivo MS.	Registro del tratamiento aplicado a cada grupo de semillas.
<b>Días para aparición de radícula</b>	Dependiente	Mide el tiempo en días que transcurre desde que las semillas se colocan en condiciones de cultivo in vitro.	La aparición de la radícula se define como el momento en que se observa por primera vez la salida de la radícula de la cubierta de la semilla.	Observación directa y conteo de salida de la radícula.
<b>Días para aparición de cotiledón</b>	Dependiente	Conteo del número de días que pasan desde que las semillas son sembradas.	Se realizan observaciones diarias a una hora constante, anotando el día exacto en que el cotiledón aparece.	Observación directa y conteo de salida de cotiledón.
<b>Dimensión de cotiledón</b>	Dependiente	Medida en centímetros de la longitud de los cotiledones de las plántulas in vitro.	La distancia medida desde la base del cotiledón hasta su extremo más distal.	Calibrador Vernier proporciona una medición más precisa.
<b>Dimensión de radícula</b>	Dependiente	Medición de la longitud de la radícula medida en centímetros después de un período de crecimiento in vitro.	La dimensión de la longitud de la radícula desde su punto de origen en la semilla hasta su extremo más distal.	Pruebas estadísticas como el ANOVA para comparar las medias de los grupos tratados.

Definición operacional de las variables  
Elaboración propia

## 1.10 Justificación

Más de la mitad de la población mundial depende del arroz (*Oryza sativa* L.), que es uno de los cultivos más importantes del mundo. Para garantizar una producción agrícola sostenible y eficiente, es fundamental mejorar la germinación y el crecimiento inicial de las plántulas de arroz. La estrategia de utilizar *Trichoderma spp.*, un género de hongos que tiene características bioestimulantes, es prometedora.

Una opción para estimular procesos fisiológicos particulares, como el crecimiento y el rendimiento de cultivos, es el uso de bioestimulantes naturales, que tienen múltiples mecanismos de acción. La tendencia actual en la agricultura es encontrar alternativas que garanticen el incremento de los rendimientos con resultados de excelente calidad del producto y la conservación de los recursos productivos, como resultado del avance de la tecnología y el estudio genético en la producción de nuevos híbridos (Sabando, *et al*, 2022).

Olmedo y Casas (2014) mencionan que *Trichoderma spp.* actúa como un bioestimulador en las plantas, induciendo respuestas de defensa contra fitopatógenos. Además, este hongo promueve el crecimiento y desarrollo de las plantas mediante la producción de moléculas que estimulan el crecimiento, activando los procesos de biocontrol.

La germinación *in vitro* de arroz con *Trichoderma spp.* se basa en sus múltiples ventajas potenciales, incluida la promoción del crecimiento vegetal y la resistencia a estreses, así como la sostenibilidad ambiental y los beneficios económicos. Este método experimental no solo impulsa el progreso científico y tecnológico, sino que también proporciona soluciones prácticas y sostenibles para mejorar la producción.

Diversas especies de este género están relacionadas con la rizósfera de las plantas o pueden relacionarse de manera endofítica, lo que puede promover el crecimiento y desarrollo de las plantas mediante la producción de auxinas y giberelinas; también pueden producir ácidos orgánicos (glucónico, fumárico y cítrico) que pueden reducir el pH del suelo y facilitar la solubilización de fosfatos, magnesio, hierro y manga (Torres, *et al*, 2015).

Las especies del género *Trichoderma* mejoran las propiedades de las plantas, como la biomasa, el rendimiento, la calidad, además del control de plagas y

enfermedades en la mayoría de los cultivos agrícolas. Dado que *Trichoderma* es un género de hongos con múltiples especies que se adaptan muy bien a diferentes ambientes ecológicos, todavía hay muchos metabolitos secundarios por descubrir en él. Esto podría resultar en el descubrimiento de compuestos nuevos y/o vías biosintéticas nuevas. Esto podría revelar aspectos nuevos e importantes para muchas aplicaciones agrobiotecnológicas (Mesa, *et al*, 2019).

## 1.11 Alcance y limitaciones

Para definir de manera precisa las metas que se pretenden alcanzar y para identificar posibles barreras o restricciones que podrían afectar los resultados de este estudio, es esencial delinear los alcances y limitaciones de este estudio. En un proyecto que utiliza bioestimulantes a base de *Trichoderma spp.* para evaluar el desarrollo in vitro de arroz (*Oryza sativa* L.), se pueden considerar los siguientes aspectos:

### 1.11.1 Alcance

- Evaluación de *Trichoderma spp.*: Se propuso un proyecto para caracterizar un bioestimulante basado en *Trichoderma spp.* y proporcionar información detallada sobre cómo afecta el desarrollo del cultivo.
- Optimización de la germinación y crecimiento del arroz: El objetivo es encontrar el bioestimulante ideal para fomentar el crecimiento saludable de las plántulas de arroz.
- Análisis de la eficacia de los tratamientos: El objetivo del estudio es evaluar la eficacia de los tratamientos que se han utilizado en el desarrollo del cultivo de arroz.
- Contribución a la agricultura sostenible: El proyecto apoya la investigación de tecnologías agrícolas que son más respetuosas con el medio ambiente y requieren menos dependencia de productos químicos sintéticos mediante el uso de *Trichodermas* en el proceso de crecimiento del arroz.

### 1.11.2 Limitaciones

- Especificidad del cultivo: Sin estudios adicionales, los hallazgos serán exclusivos de *Oryza sativa* y pueden no ser directamente relevantes para otros tipos de cultivos.

- Condiciones controladas de laboratorio: Los resultados de la germinación in vitro en condiciones controladas pueden no reflejar todas las complejidades y variabilidades de las condiciones de campo. Esto hace que sea difícil extrapolar directamente los resultados a ambientes agrícolas reales.
- Interacción compleja con el entorno: Las interacciones entre *Trichoderma harzianum* y otros microorganismos del suelo, así como factores ambientales como la temperatura y la humedad, pueden ser difíciles de replicar en un entorno in vitro, lo que limita la comprensión completa de su eficacia.
- Costo y escalabilidad: La producción de *Trichoderma harzianum* a gran escala para su uso en cultivos in vitro puede ser costosa y logísticamente difícil, lo que limita su viabilidad como una práctica agrícola común.
- Estabilidad del producto: La estabilidad a largo plazo de los productos con *Trichoderma harzianum* puede ser un desafío porque la viabilidad de estos organismos puede perderse con el tiempo, lo que reduce su eficacia en aplicaciones agrícolas.

## CAPÍTULO II: Marco teórico referencial

### 2.1 Antecedentes

El uso de tratamientos pregerminativos es crucial para mejorar las tasas de germinación de semillas de especies forestales, incluyendo la aplicación de microorganismos. Este estudio analizó el porcentaje de germinación de semillas de *Agave victoriae-reginae* tratadas con *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp. Se llevaron a cabo tres tratamientos: T1 (*Trichoderma*), T2 (*Bacillus*) y T3 (Control), con tres repeticiones de 100 semillas cada uno. Las semillas se sumergieron en una solución de  $1 \times 10^6$  UFC (para T1 y T2), y en agua corriente (para T3), luego se sembraron sobre turba de *Sphagnum* y se registró el porcentaje de germinación diariamente. La germinación comenzó a los 5 días después de la siembra, indicando ausencia de latencia. Entre el 8° y 12° día se observó un aumento rápido de la germinación en los tres tratamientos, completándose el proceso a los 26 días, con un 85% de germinación total para semillas tratadas con *Trichoderma*, 86.7% con *Bacillus* y 74% en el control. Se observó un efecto significativo de los tratamientos sobre el porcentaje de germinación, ya que ambos microorganismos aceleraron la germinación en comparación con el control. Estos resultados indican que los tratamientos pregerminativos con *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp. pueden mejorar la germinación (Castillo F. , 2022).

El cultivo de arroz limita la aplicación de agentes de biocontrol en el suelo por las condiciones de anoxia. Los hongos del género *Trichoderma* pueden controlar patógenos del suelo y promover el crecimiento en diversos cultivos. Este estudio evaluó el efecto de *T. harzianum* (TV72) y *T. asperellum* (TV190) en la germinación, desarrollo vegetativo y producción de *Oryza sativa* L. var. Cimarrón bajo diferentes alturas de lámina de agua, así como el biocontrol in vitro de *Pyricularia grisea* y la reducción de la incidencia del manchado del grano en vivero. Ambas cepas aumentaron significativamente la velocidad de germinación, longitud y masa seca radicular. Se observó un aumento en la producción de las plantas tratadas con *Trichoderma* spp. (30-60%), así como una disminución del manchado del grano (34-45%) y del crecimiento in vitro de *P. grisea* (18-52%). Estos resultados demuestran la posibilidad de utilizar *Trichoderma* spp. en las condiciones de inundación para manejar enfermedades y mejorar el desarrollo productivo del cultivo de arroz (Núñez, 2014).

Es esencial encontrar nuevos modelos que ayuden a mejorar la calidad de vida de los productores. La investigación analizó los efectos de la aplicación de *Trichoderma* spp. en el crecimiento y desarrollo de la arveja. Se aisló una cepa nativa de *Trichoderma* spp. de suelos de cultivos de arveja, y se realizaron diluciones tanto de la cepa nativa como de la comercial. Las plantas fueron inoculadas y se midieron las variables de crecimiento y desarrollo. La aplicación de *Trichoderma* spp. en el cultivo de arveja mejora significativamente su crecimiento y desarrollo, influyendo en variables fisiológicas como la germinación, el área foliar, el peso seco y fresco de la raíz, el peso seco y fresco de la parte aérea, y la longitud de la raíz (Camargo, 2014).

El estudio se centró en analizar el impacto combinado de *T. harzianum* y FitoMas en la germinación y desarrollo de plántulas de tomate. En el primer experimento, se usaron semillas de tomate tratadas con FitoMas (2,0 % v/v) y *T. harzianum* cepa A-34 a una concentración de  $1,7 \times 10^9$  UFC mL<sup>-1</sup> en medio sólido. El porcentaje de germinación se midió cada seis horas, usando 50 semillas por placa de Petri de 10 cm de diámetro, con cinco repeticiones por tratamiento. En el segundo experimento, se evaluó el efecto de la inoculación de *T. harzianum* y FitoMas en el crecimiento de plántulas en condiciones de cepellón, usando bandejas de 264 alvéolos y un sustrato de turba, suelo y cascarilla de arroz. Los resultados mostraron una mayor velocidad y porcentaje de germinación en semillas tratadas con FitoMas y *T. harzianum*. Además, su uso aumentó el diámetro del tallo y la masa total y radical de las plántulas, lo que podría facilitar el trasplante de las plantas de tomate y reducir los costos de producción (Santana, 2016)

Las plantas cultivadas tienen limitado desarrollo vegetativo y productivo porque están expuestas a deficiencias de nutrientes en suelos con baja fertilidad natural y escasa solubilidad de nutrientes, se planteó evaluar cepas de *Trichoderma* spp como bioestimulantes en el crecimiento y rendimiento del cultivo de pimiento H. Salvador, se emplearon 14 cepas de *Trichoderma* para determinar la solubilización de fosfato y efecto estimulante sobre la germinación de semillas de pimiento y longitud radicular. Las cepas promisorias fueron EM-12 y EM-134 que se identificaron como *T. longibrachium* y *Trichoderma* sp. De acuerdo a las categorías estadísticas se concluye que las cepas seleccionadas actuaron como promotoras del crecimiento vegetal (Sabando, 2022).

Trichoderma spp. utiliza diversos mecanismos para promover el crecimiento de las plantas, como la síntesis de fitohormonas, la producción de vitaminas, la solubilización de nutrientes, el aumento de la captación y translocación de nutrientes, el mayor desarrollo de las raíces y el incremento de la tasa metabólica. Se evaluó el crecimiento de plantas de tomate inoculadas con cepas nativas e importadas de Trichoderma spp. Las cepas utilizadas fueron aisladas de productos comerciales (THU-01 y THC-02) y dos cepas nativas (THM-03 y THM-04). Las plantas de tomate inoculadas con las distintas cepas de Trichoderma spp. mostraron un mayor número de hojas, mayor longitud de raíz, altura y biomasa. Existen cepas nativas de Trichoderma que pueden promover el crecimiento vegetal en las plantas de tomate, aumentando la biomasa, altura, longitud de la raíz y número de hojas (Rodríguez, 2022).

## **2.2 Contenido teórico que fundamenta la investigación**

### **2.2.1 Cultivo de arroz**

El arroz (*Oryza sativa* L.) es el cereal más común del mundo y se cultiva ampliamente en los cinco continentes, en regiones pantanosas de clima templado o cálido y húmedo. Es una planta herbácea anual de la familia de las gramíneas. Es uno de los alimentos más consumidos a nivel mundial en la actualidad y es un componente esencial de la dieta diaria de muchas personas en todo el mundo (Cortez et al., 2016).

#### **2.2.1.1. Taxonomía**

Según Acevedo et al. (2006) indica que la taxonomía del arroz es la siguiente:

Reino: Plantae  
División: Magnoliophyta  
Orden: Poales  
Familia: Poaceae  
Tribu: Oryzeae  
Género: Oryza  
Especie: Sativa

#### **2.2.1.2. Morfología**

##### **2.2.1.2.1. Raíz**

Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT, 2005) afirma que las raíces son delgadas y fibrosas. Las raíces de la planta de arroz (*Oryza sativa* L.) tienen dos tipos: las raíces seminales, que surgen de la radícula y son transitorias; las raíces adventicias secundarias, que tienen una ramificación independiente y se desarrollan

a partir de los nudos inferiores del tallo joven. Las raíces fundamentales son reemplazadas por las últimas mencionadas.

#### **2.2.1.2.2. Tallo**

El tallo es cilíndrico, recto, con modificaciones de nudos y entrenudos de diferentes longitudes. En cada nudo se inserta una vaina foliar que envuelve el entrenudo inmediato superior. En el extremo más alto de la vaina, donde se articula el limbo foliar, se pueden observar dos aurículas de hoz, vellosas, y una lígula hialina, generalmente bífida y laciniada, de 5-15 milímetros de longitud (Guzmán y Serrata, 2018).

#### **2.2.1.2.3. Hojas**

El limbo y la vaina foliar forman la hoja de arroz. Dos pequeñas formaciones se encuentran en la articulación de las hojas: las aurículas, una lanilla con pelos largos y flexibles, y la lígula, una pequeña membrana de forma variable, recta o curva (Valero, 2015).

#### **2.2.1.2.4. Flor**

La planta de arroz tiene una panícula, una inflorescencia compuesta de seis estambres y un pistilo. El pistilo consiste en el ovario, el estilo y el estigma, mientras que los estambres se componen de anteras bicelulares, nacidas sobre filamentos delgados (Crespo, 2017).

#### **2.2.1.2.5. Semilla**

Cuando se cosecha, el fruto cariopse y la cáscara forman el grano de arroz, también conocido como semilla. El arroz cáscara, que se compone del conjunto de cariopse y glumelas, normalmente se comercializa como semilla. El grano de arroz pasa por varias etapas de desarrollo, que incluyen acuoso, lechoso, pastoso y duro, y su textura cambia con la pérdida de humedad (Delgado y Zorrilla, 2017).

### **2.2.1.3. Fases fenológicas**

#### **2.2.1.3.1. Fase vegetativa**

Se caracteriza por un activo macollamiento, un gradual incremento de la altura de las plantas, y la emergencia de las hojas a intervalos regulares. Los macollos que no desarrollaron una panoja se llaman macollos infértiles. Esta etapa es la más larga



del cultivo, con una duración aproximada entre 50 a 60 días, en los que se comprende desde la germinación (emergencia del coleoptilo) que se da en los primeros 5 días, pasando por la fase de plántula que consiste en la aparición de la primera hoja, luego de ello tenemos el macollamiento (Olmos, 2006).

#### **2.2.1.3.2. Fase reproductiva**

La floración (antesis), la emergencia de la hoja bandera, el engrosamiento del tallo por el crecimiento interno de la panoja, la emergencia de la hoja bandera (ocurre unos a 20-25 días después de la diferenciación del primordio floral) y la disminución del número de macollos son sus características. En esta etapa se tardan alrededor de 35 días, en los que se desarrolla el primordio floral hasta la floración (Velázquez, 2015).

#### **2.2.1.3.3. Fase de maduración**

En la fase de maduración, hay tres etapas: El estado lechoso es la transición del estado acuoso al estado lechoso. El estado pastoso que fluctúa entre masa blanda y masa dura. La cariósida se encuentra totalmente desarrollada en tamaño, dureza y sin tonalidades durante la maduración (Paredes, 2020).

### **2.2.2 Propagación in vitro o micropropagación**

La micropropagación de plantas In Vitro es un método de propagación asexual de plantas a partir de un explante, hojas, tallos, raíces, semillas o cualquier otro órgano en un laboratorio. De esta manera se crea un ambiente artificial en el que se controla la temperatura, la humedad y los nutrientes esenciales necesarios para garantizar un crecimiento exitoso. Este procedimiento da como resultado plantas que son idénticas a la planta madre de la que se extrajo el explante. Los frutos tendrán el mismo sabor, tamaño, color, resistencia a enfermedades y características ambientales. Esta técnica se utiliza para multiplicar plantas mejoradas genéticamente, especímenes únicos con características ideales o para acelerar el mejoramiento u obtener abundante material para investigaciones (Bioplan, 2019).

### **2.2.3 Principios básicos de cultivo de tejidos de arroz**

El cultivo in vitro es un conjunto de técnicas que permiten el crecimiento y la multiplicación de células, tejidos, órganos o partes de órganos de una planta (explante) en un medio nutritivo con temperaturas e iluminación controladas en condiciones

ambientales y asépticas.

Dos conceptos fundamentales para la comprensión del cultivo de células y la regeneración de plantas son la plasticidad y la totipotencia, que sirven como base para el principio del cultivo de tejidos. La plasticidad es la capacidad de una planta para modificar su metabolismo, crecimiento y desarrollo para adaptarse y sobrevivir en diferentes ambientes. La totipotencia, por otro lado, es la capacidad de una sola célula para dividirse y producir diferentes tipos de células organizadas. Por lo tanto, en el caso de las plantas, la planta tiene la capacidad de regenerar organismos completos a partir de células únicas, igual que la planta donante. La plasticidad y la totipotencia, por lo tanto, permiten la regeneración de plantas enteras a partir de cualquier parte de la planta (Price, 2003).

#### **2.2.4 Elección del explante**

Debido a que las características de cada especie o cultivar son únicas y determinadas por factores genéticos, las necesidades para su cultivo in vitro también tienden a ser específicas. Las capacidades de regeneración y crecimiento in vitro parecen estar asociadas no solo al genotipo, sino también a la planta madre, bajo el control de diversos factores endógenos. El verdadero desafío, por lo tanto, radica en el material vegetal y en su manipulación antes de excisar el explante inicial. Esta manipulación incluye el manejo de la planta madre, las características del explante utilizado, el procedimiento de subcultivo adoptado, las condiciones ambientales y microambientales dentro del frasco de cultivo y el trasplante. Todas estas etapas están influenciadas por diversas variables imponderables, que frecuentemente restringen la repetición de los resultados, dificultando la determinación de un protocolo universal (Yeoman, 2014).

Los factores que afectan a las plantas en el campo también tienen una gran influencia en el comportamiento posterior de los explantes en cultivo in vitro, afectando la formación, desarrollo y establecimiento de estos. Entre estos factores se incluyen el estado fisiológico de la planta madre, la época del año en que se realiza la recolección y las condiciones generales de la planta o matriz donante. Las plantas sanas que crecen vigorosamente son las más adecuadas para el cultivo in vitro, especialmente si se utilizan semillas como explantes. Por otro lado, los explantes de plantas sometidas a estrés hídrico normalmente no crecen bien en cultivo in vitro. La

condición fitosanitaria de la planta madre es crucial, ya que determina la facilidad de descontaminar el explante antes del cultivo (Murashige, 2014).

## **2.2.5 Tipo de explantes**

Las plantas de arroz se han regenerado con una variedad de explantes, incluidos protoplastos, embriones maduros, semillas maduras, anteras y microsporas, raíz, limbo, ápices del tallo epicótilo y mesófilo. Para maximizar la producción de callo con alta regeneración de plántulas, es necesario identificar explantes de arroz adecuados para la producción de callos embriogénicos en condiciones de cultivo. En los estudios de cultivo in vitro del arroz, como el epicótilo, los ápices caulinares, la lámina foliar y el mesófilo, se han buscado explantes con estas características (Rey, 2010).

### **2.2.5.1. Raíz**

La raíz principal o adventicia de las plántulas de arroz cultivadas en condiciones estériles pueden producir callos embriogénicos. Al principio de los estudios de cultivo in vitro del arroz, se utilizaron ampliamente las raíces como explantes. Sin embargo, aún no se ha establecido un protocolo reproducible para usar en experimentos de transformación genética.

La formación de raíces adventicias que se diferencian después del contacto con el medio MS suplementado con auxina precede el desarrollo de callos a partir de raíces. Estos resultados también se observaron en el laboratorio, aunque se utilizó el medio basal N6. En este medio, el 77% de las raíces formaron callos, en contraste con el 40% al 60% reportado por otros autores (Rahim, 2005).

Debido a la gran variación en esta característica entre los diferentes genotipos, la diferencia en días no se refleja en el tamaño de las raíces. Después de que las raíces fueran inoculadas con auxina en el medio de cultivo, se descubrieron callos de varios tipos a lo largo de las raíces, algunos agrupados y otros aislados. Después de dos o tres subcultivos, los callos primarios se vuelven friables, la mucilaginidad se va perdiendo y el callo se vuelve más seco, los callos embriogénicos son compactos, redondos y de color crema.embriogénicos (Mandal, 2003).

La regeneración de las plántulas es posible gracias a la capacidad

embriogénica de los callos provenientes de las raíces. La transformación genética utilizó callos de raíces con una frecuencia del 37,5%. La ventaja de usar la raíz como explante es que el tiempo requerido para obtener plántulas es menor que el que se necesita para usar semillas maduras. Otra ventaja de esta reducción para el cultivo in vitro del arroz es que las raíces están disponibles durante todo el año, a diferencia de otros explantes (Bano, 2005).

#### **2.2.5.2. Antera**

La mayor dificultad de la aplicación del cultivo de anteras es la adecuación del medio de cultivo para que ocurra la división celular, el proceso de activación y desactivación de genes en el momento adecuado, con el objetivo de la diferenciación celular, por lo tanto, la obtención de una planta (Silva, 2011).

Las condiciones fisiológicas de la planta donadora, el tipo de pretratamiento aplicado a los botones florales removidos de la planta, la fase de desarrollo del polen y la presencia o ausencia de reguladores de crecimiento adicionales en el medio determinan el éxito del cultivo de anteras y la regeneración en plantas. Se pueden obtener 1-2% de plantas haploides del polen total cultivado como granos aislados o dentro de anteras siempre que se proporcionen condiciones ideales para las plantas y los explantes (Mantell, 1994).

#### **2.2.5.3. Protoplastos**

Son células vegetales sin pared celular, pero tienen todas las potencialidades de células vegetales. Debido a su facilidad de manipulación y alta eficiencia en el aislamiento, las suspensiones celulares derivadas de esos tejidos se utilizan con mayor frecuencia, a pesar de que el aislamiento de protoplastos de varios tejidos es posible. Dependiendo del medio, la frecuencia de regeneración de protoplastos de arroz aislados de suspensión de células derivadas de embriones inmaduros oscila entre el 70 y el 77% (Kaushal, 2014).

#### **2.2.5.4. Embrión inmaduro**

Los embriones inmaduros son adecuados para la inducción de callos y la regeneración de plantas debido a su excelente respuesta al cultivo in vitro. Sin embargo, la obtención de embriones con este tipo de explante es difícil. Es necesario cultivar las plantas en invernaderos para obtener el embrión inmaduro durante todo el

año. Las panículas inmaduras se extraen de las plantas a los 8 a 12 días después de la polinización, por lo que solo están disponibles durante un corto período de tiempo del ciclo de crecimiento del arroz. La preparación de una gran cantidad de panículas inmaduras también es difícil y tiene restricciones estacionales (Komari, 2008).

#### **2.2.5.5. Embrión maduro**

Debido a que siempre están disponibles en cantidad y pueden almacenarse para su uso durante todo el año, muchos autores creen que el embrión maduro es el mejor. Las embriogénesis inducidas por el cultivo de este explante se utilizan con éxito en la transformación genética (Khaleda, 2006).

#### **2.2.6 Innovación en el cultivo de arroz**

Se llevaron a cabo investigaciones pioneras sobre el cultivo de arroz in vitro a mediados de la década de 1950. Estos estudios sirvieron como base para los posteriores avances en el campo del cultivo de células y tejidos, así como para la inclusión de estas técnicas en una variedad de programas para mejorar el arroz. En la biotecnología, la genómica, que comprende técnicas de secuenciación a gran escala, genética inversa e ingeniería genética, tiene el objetivo de mejorar el fitomejoramiento, identificar genes o incorporar estos genes a través de transgénicos para el desarrollo de nuevos cultivares.

A partir de la identificación de genes en otras especies, pueden incorporarse a plantas modelo para que los efectos de su introducción o variaciones en su expresión puedan llevarse a cabo en un sistema más simple, antes de su introducción en la planta objetivo, que generalmente es una planta, que suele ser un proceso más complejo, laborioso y costoso (Koornneef, 2010).

La ingeniería genética permite la transferencia de genes aislados de cualquier organismo a otras especies mediante la transformación de células. Esto da lugar al desarrollo de una variabilidad que no se puede lograr mediante los métodos de mejora convencionales. En cada uno de sus procesos, estas tecnologías emplean métodos de cultivo in vitro. contribuyendo significativamente al desarrollo de herramientas que se pueden utilizar para estudiar la función génica y la transformación de plantas (Granados, 2012).

La ingeniería genética permite la transferencia de genes aislados de cualquier organismo a otras especies mediante la transformación de células. Esto da lugar al desarrollo de una variabilidad que no se puede lograr mediante los métodos de mejora convencionales. En cada uno de sus procesos, estas tecnologías emplean métodos de cultivo in vitro, contribuyendo significativamente al desarrollo de herramientas que se pueden utilizar para estudiar la función génica y la transformación de plantas (Nassar, 2015)

Debido a su pequeño tamaño (430 Mbp), facilidad de manipulación genética y molecular, similitud genómica con otras monocotiledóneas, amplia disponibilidad de etiquetas de secuencia expresadas, acceso a secuencias genómicas, mapas moleculares saturados, el arroz es una planta modelo para los estudios moleculares de la familia poaceae (Gale, 1998).

La creación de una línea transgénica de arroz con características agronómicas favorables es crucial para reducir el número de retrocruzamientos para transferir genes exógenos entre cultivares de arroz. Esto es crucial debido a su importancia global. Sin embargo, el desarrollo de una planta depende en gran medida del genotipo y de la disponibilidad de una técnica efectiva de regeneración y transformación de plantas. Por lo tanto, los primeros pasos para implementar la biotecnología en los programas de mejora genética son la identificación de genotipos para la formación de callos en el arroz y su posterior regeneración in vitro (Hoque, 2004).

### **2.2.7 Aparición del cotiledón y la radícula en el cultivo de arroz in Vitro**

La aparición se refiere al proceso mediante el cual algo se hace visible o manifiesto. En el contexto de la biología vegetal, y específicamente en el cultivo de arroz in vitro, la aparición del cotiledón y la radícula describe las etapas iniciales de desarrollo en las que estas estructuras emergen y se vuelven visibles durante la germinación y crecimiento de la planta (Alcantara, 2019).

**Aparición del Cotiledón:** Es el proceso en el que la hoja embrionaria emerge de la semilla durante la germinación. El cotiledón provee nutrientes al embrión en crecimiento hasta que la planta es capaz de realizar la fotosíntesis.

**Aparición de la Radícula:** Es el proceso en el que la primera raíz emerge de la

semilla. La radícula crece y se desarrolla en el medio de cultivo, formando la estructura radicular inicial que ancla la planta y comienza a absorber agua y nutrientes.

### **2.3 Marco legal y normativo en Ecuador**

La implementación y desarrollo de tecnologías basadas en cultivo in vitro para aplicaciones agrícolas en Ecuador, como en cualquier otro país, debe realizarse en concordancia con la legislación y normativas locales que rigen el uso seguro de cultivos in vitro, la protección del medio ambiente, y la seguridad alimentaria. Ecuador, como signatario de diversos acuerdos internacionales en estas áreas, tiene un marco legal que podría impactar en la investigación y aplicación de cultivos in vitro en la agricultura. Se presenta un análisis basado en el contexto normativo general y las implicaciones potenciales para este tipo de investigaciones en Ecuador.

La Constitución de la República del Ecuador (2008) establece un marco sólido para la protección del medio ambiente, el uso sostenible de los recursos, y la garantía de la seguridad alimentaria. En particular, los artículos relacionados con los derechos de la naturaleza (Art. 71-74) y el derecho a un ambiente sano (Art. 14) son relevantes, ya que cualquier aplicación de nanopartículas en la agricultura debe garantizar que no se dañe el ecosistema o la biodiversidad.

El Código Orgánico del Ambiente (2017) regula lo concerniente a la gestión ambiental y el uso sostenible de los recursos naturales en Ecuador. Este código podría aplicarse a la investigación y uso de nanopartículas en la agricultura, especialmente en lo que respecta a la prevención de la contaminación, la gestión de sustancias peligrosas, y la realización de evaluaciones de impacto ambiental para proyectos de investigación y desarrollo. (p. 32)

Ley Orgánica de Agro biodiversidad, Semillas y Fomento de la Agricultura Sustentable (2017) promueve la agro biodiversidad, el uso y conservación de semillas, y el fomento de prácticas agrícolas sustentables. La investigación en nanopartículas dirigida a mejorar la productividad agrícola o la resistencia de los cultivos debe alinearse con los principios de sustentabilidad y seguridad alimentaria que esta ley establece. (p.76)

## CAPÍTULO III: Diseño metodológico

### 3.1 Tipo y diseño de investigación

La investigación mencionada se clasifica principalmente como investigación aplicada a la biotecnología agrícola porque se centra en evaluar la germinación in vitro de *Trichoderma harzianum* en arroz (*Oryza sativa*). Este tipo de investigación busca resolver problemas específicos, como mejorar la germinación y el crecimiento inicial del arroz en condiciones controladas de manera sostenible y ecológica.

#### 3.1.1 Tipo

- Aplicada; Se enfoca en abordar problemas prácticos concretos, como mejorar la eficiencia de la germinación y el crecimiento inicial de las plantas de arroz. Esto ayuda a los objetivos de seguridad alimentaria y desarrollo agrícola.
- Experimental; Para investigar sus efectos en un entorno controlado, permite la manipulación controlada de variables, particularmente la aplicación de *Trichoderma harzianum* durante el proceso de germinación. Esto permite determinar la relación causa-efecto entre la intervención (*Trichoderma harzianum*) y los resultados observados.

#### 3.1.2 Diseño de Investigación

El diseño completamente al azar (DCA) fue apropiado para experimentos controlados en laboratorio donde se evaluó los efectos de varios tratamientos sobre una muestra. Gracias a este diseño, es posible comparar directamente los tratamientos en estudio. Se identifican variables independientes y dependientes en esta investigación sobre la germinación in vitro del arroz con varios tratamientos en biorreactores, incluido *Trichoderma harzianum*. Se proporciona un cuadro explicativo para organizar y explicar claramente los tratamientos y repeticiones mencionados en el estudio sobre la germinación in vitro del arroz. Este diagrama ayuda a visualizar la estructura del experimento que garantiza una implementación sistemática y coherente.



**Tabla 2****Diseño de tratamientos**

Tratamiento	Descripción	Objetivo	Número de semillas
<b>T1 Trichoderma comercial.</b>	Tratamiento con TRICHO - D.	Evaluar el efecto del Trichoderma comercial en comparación con el Trichoderma nativo.	50
<b>T2 Trichoderma Nativo.</b>	Tratamiento con Trichoderma nativo.	Evaluar el efecto de Trichoderma nativo, en comparación con el Trichoderma comercial.	50
<b>T3 Medio MS</b>	Medio de cultivo Murashige y Skoog, utilizado como control positivo para la germinación in vitro.	Comparar el efecto del medio MS en la germinación y desarrollo de las plántulas.	50
<b>T4 Agua Estéril</b>	Tratamiento con agua estéril como control negativo.	Tratamiento de referencia para comparar el poder germinativo y desarrollo de plántulas sin ningún aditivo.	50

Nota; Total de semillas evaluadas en el estudio: 200

Este cuadro resume los cuatro tratamientos que el estudio evaluó, cada uno con 50 semillas, totalizando 200 semillas. El uso de controles positivo (medio MS) y negativo (agua estéril) permite una evaluación más efectiva del impacto de *Trichoderma harzianum* en comparación con condiciones normales y sin tratamiento.

### 3.2 La población y la muestra

Variedad de arroz SFL-011 (*Oryza sativa*), 4 tratamientos, 50 repeticiones por tratamiento, cada tratamiento estará conformado por 50 semillas de arroz.

### 3.2.1 Características de la población

Semillas de arroz (*Oryza sativa*) de la variedad SFL-011, seleccionadas por su relevancia agronómica en Ecuador y su susceptibilidad conocida a condiciones de estrés durante la germinación.

### 3.2.2 Delimitación de la población

La población estuvo completamente compuesta por semillas de una sola variedad de arroz, asegurando la uniformidad. Para reducir la variabilidad del almacenamiento, las semillas fueron de un lote reciente.

### 3.2.3 Tipo de muestra

Aleatoria simple, para asegurar que cada unidad experimental tenga la misma probabilidad de ser seleccionada para cualquiera de los tratamientos.

### 3.2.4 Tamaño de la muestra

El estudio incluyó un total de 200 unidades de semillas con una repetición por tratamiento. Se eligió este tamaño de muestra para garantizar una potencia estadística adecuada que permita identificar diferencias significativas.

### 3.2.5 Proceso de selección de la muestra

- **Selección de Semillas:** Se llevó a cabo una selección preliminar de un lote homogéneo de semillas de arroz para eliminar las semillas dañadas o de tamaño irregular, asegurando así la uniformidad de la muestra.
- **Asignación Aleatoria:** Para garantizar una distribución justa, las semillas seleccionadas se distribuirán aleatoriamente entre los cuatro tratamientos mediante métodos de generación de números aleatorios.
- **Implementación de Tratamientos:** Los tratamientos (Trichoderma comercial, Trichoderma nativo, medio MS y agua estéril) se aplicaron en biorreactores de inmersión temporal en condiciones controladas, siguiendo protocolos estandarizados para cada uno.

Este diseño y técnica proporcionaron una base sólida para evaluar el efecto de diferentes tratamientos en el desarrollo del arroz, permitiendo comparaciones estadísticamente válidas entre los grupos. La selección y el manejo cuidadosos de las muestras garantizaron la validez de los resultados y la facilidad de interpretación de los efectos de cada tratamiento en la germinación del arroz.

### 3.3 Métodos y técnicas

#### 3.3.1 Fase de campo

La recolección y selección de semillas para su traslado al laboratorio fue el objetivo de la fase de campo.

#### 3.3.2 Fase de laboratorio

##### ➤ Preparación del extracto de Trichoderma comercial

- Para preparar los extractos de Trichoderma, se utilizó un producto comercial llamado TRICHO-D, y se administró su dosis comercial en una proporción de 5 g por cada 100 ml de DH<sub>2</sub>O.
- Después de activar el producto durante una hora, se realizó el centrifugado al vacío utilizando un matraz Kitasato, un embudo Buchner y una bomba al vacío con un papel filtro de 0.2 micrones.
- Se obtiene un extracto puro libre de sedimentos.

##### ➤ Procedimiento para la preparación del medio de cultivo

- Medir el 50% de agua destilada del volumen de medio a preparar (200 ml) en una probeta.
- Colocar el agua destilada medida en un vaso de precipitación (resistente al calor).
- Pesar en la balanza (15.6 g) de medio sólido
- Colocar el medio sólido en el vaso de precipitado que contiene el volumen medio de agua destilada.
- Solubilizar el medio (hasta observar que no existan grumos), agitando si es necesario, adicionalmente se puede calentar la solución de medio a fuego lento para lograr la solubilidad completa.
- Ajustar el pH del medio entre 6 – 7.

##### ➤ Uso de Biorreactores de Inmersión Temporal

- Preparación de Biorreactores con uso de bombas aireadoras, recipientes de vidrio, mangueras de silicón y filtros de aire.
- Se establecieron tiempos de inmersión en 2 Fases, 1ERA Fase 48 horas de inmersión continua; 2DA Fase Programación mecánica cada 10 horas con dos horas de inmersión.

### ➤ Tratamiento de Semillas y Germinación

Para garantizar la eficacia de los tratamientos planteados, las semillas previamente seleccionadas no fueron tratadas con ningún producto.

Posteriormente, las semillas fueron introducidas dentro de biorreactores que ya habían sido esterilizados, para que puedan ser enriquecidos con los tratamientos que fueron seleccionados previamente.

**Tabla 3**

#### Descripción de tratamientos

Tratamiento	Descripción	Objetivo del Tratamiento
<b>Trichoderma spp. Comercial</b>	Aplicación de Tricho-D producto comercial a base de Trichoderma.	Evaluar el efecto promotor de germinación con el producto comercial.
<b>Trichoderma spp. Nativo</b>	Uso de <i>Trichoderma harzianum</i> Nativo.	Evaluar el impacto del <i>Trichoderma harzianum</i> Nativo en la germinación y el estado de salud de las plántulas.
<b>Medio MS</b>	Utilización del medio de cultivo Murashige y Skoog para la germinación de las semillas.	Confrontar con un estándar de germinación bajo condiciones de laboratorio.
<b>Agua Estéril</b>	Semillas sumergidas en agua esterilizada, sirviendo como control negativo.	Definir una referencia de germinación sin aplicar tratamientos adicionales.

Nota; Elaboración los autores

### ➤ Evaluación del crecimiento

Para cada tratamiento, se registraron minuciosamente la germinación, el crecimiento de las raíces y la biomasa de las plántulas. Estas medidas proporcionaron información cuantitativa sobre el impacto de cada tratamiento en el crecimiento de las plántulas de arroz, desde la germinación hasta las primeras etapas de crecimiento.

Los datos recopilados se analizaron con el software estadístico Infostat y la prueba de Tukey al 5% de significancia. Con la ayuda de esta herramienta, se pudo realizar un análisis estadístico para comparar los efectos de diferentes tratamientos en las variables de interés.

## CAPÍTULO IV: Análisis e interpretación de resultados

### 4.1 Análisis de los resultados

#### 4.1.1 Días para aparición de radícula

Se observaron diferencias significativas entre los grupos tratados en la evaluación de días para aparición de radícula en biorreactores utilizando diferentes tratamientos para la germinación de semillas de arroz (*Oryza sativa*). Se analizaron 50 semillas por tratamiento.

La Tabla 4 presenta las medias obtenidas al analizar los días de aparición de la radícula. Según el análisis de varianza, con un coeficiente de variación de 19.66%, se determinó un p-valor entre tratamientos de  $<0.0001$ , lo cual es menor a 0.05. Esto permite rechazar la hipótesis nula y confirma que existe significancia estadística entre los tratamientos. Entre los resultados destacados están: T2 (Trichoderma nativo) con un valor de 3.88 días para la aparición radicular, y T3 (MS) con 4.84 días. Los tratamientos con menores promedios fueron T1 (Trichoderma comercial) con 5.86 días, y T4 (testigo absoluto) con 6.90 días a la aparición radicular.

**Tabla 4.**  
**Días para aparición de radícula**

Tratamiento	Medias	n	E.E.			
T2 Trichoderma nativo	3.88	50	0.15	A		
T3 MS	4.84	50	0.15		B	
T1 Trichoderma comercial	5.86	50	0.15			C
T4 Testigo negativo	6.90	50	0.15			D
C.V (%)	19.66					
Significancia	**					

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )*

#### 4.1.2 Días para aparición de cotiledón

La Tabla 5 presenta las medias obtenidas al analizar los días de aparición del cotiledón. Según el análisis de varianza y con un coeficiente de variación de 12.06%, se determinó un p-valor entre tratamientos de  $<0.0001$ , lo que es menor a 0.05. Esto permite rechazar la hipótesis nula y confirma que existe significancia estadística entre los tratamientos. Entre los resultados destacados están: T2 (Trichoderma nativo) con un valor de 6.82 días para la aparición del cotiledón, y T3 (MS) con 7.82 días. Los

tratamientos con menores promedios fueron T1 (Trichoderma comercial) con 8.82 días, y T4 (testigo absoluto) con 9.98 días a la aparición del cotiledón.

**Tabla 5.**  
**Días para aparición de cotiledón**

Tratamiento	Medias	n	E.E.			
T2 Trichoderma nativo	6.82	50	0.14	A		
T3 MS	7.82	50	0.14		B	
T1 Trichoderma comercial	8.82	50	0.14			C
T4 Testigo negativo	9.98	50	0.14			D
C.V (%)	12.06					
Significancia	**					

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )*

#### 4.1.3 Dimensión de radícula (cm)

La tabla 6 presenta las medias obtenidas al analizar la dimensión de la radícula en centímetros. Según el análisis de varianza, y con un coeficiente de variación de 11.19%, se determinó un p-valor entre tratamientos de  $<0.0001$ , lo que es menor a 0.05. Esto permite rechazar la hipótesis nula y confirma que existe significancia estadística entre los tratamientos. Entre los resultados destacados están: T2 (Trichoderma nativo) con un valor de 4.96 cm y T3 (MS) con 4.47 cm. Los tratamientos con menores promedios fueron T1 (Trichoderma comercial) con 4.04 cm y T4 (testigo absoluto) con 3.40 cm de longitud de la radícula.

**Tabla 6.**  
**Dimensión de radícula (cm)**

Tratamiento	Medias	n	E.E.			
T4 Testigo negativo	3.40	50	0.07	A		
T1 Trichoderma comercial	4.04	50	0.07		B	
T3 MS	4.47	50	0.07			C
T2 Trichoderma nativo	4.96	50	0.07			D
C.V (%)	11.19					
Significancia	**					

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )*

#### 4.1.4 Dimensión de cotiledón (cm)

La tabla 7 presenta las medias obtenidas al analizar la dimensión del cotiledón en centímetros. De acuerdo con el análisis de varianza y con un coeficiente de variación de 19.38%, se determinó un p-valor entre tratamientos de <0.0001, lo que es menor a 0.05. Esto permite rechazar la hipótesis nula y confirma que existe significancia estadística entre los tratamientos. Entre los resultados destacados están: T2 (Trichoderma nativo) con un valor de 3.12 cm y T3 (MS) con 2.80 cm. Los tratamientos con menores promedios fueron T1 (Trichoderma comercial) con 2.45 cm y T4 (testigo absoluto) con 1.99 cm de dimensión del cotiledón.

**Tabla 7.**  
**Dimensión del cotiledón (cm)**

Tratamiento	Medias	n	E.E.			
T4 Testigo negativo	1.99	50	0.07	A		
T1 Trichoderma comercial	2.45	50	0.07		B	
T3 MS	2.80	50	0.07			C
T2 Trichoderma nativo	3.12	50	0.07			D
C.V (%)	19.38					
Significancia	**					

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)*

**Tabla 8.**  
**Comparación del efecto de la aplicación de Trichoderma spp. en diferentes estudios**

Tipo de cultivo	Variables evaluadas	Microorganismo	Hallazgos principales mejorados	Referencia bibliográfica
Tomate (Solanum lycopersicum L.)	Longitud radicular	Trichoderma spp	Los resultados mostraron una mayor velocidad y porcentaje de germinación en semillas tratadas con Trichoderma spp.	Santana, 2016
Tomate (Solanum lycopersicum L.)	Longitud de la raíz	Trichoderma spp	Promueven el crecimiento vegetal en las plantas, aumentando la biomasa, longitud de la raíz y número de hojas.	Rodríguez, 2022
Pimiento (Capsicum annum)	Longitud radicular	Trichoderma spp	Las cepas del hongo actuaron como promotoras del crecimiento vegetal	Sabando, 2022

**Tabla 9.**

## Comparación de la germinación con la aplicación de *Trichoderma* spp. en diferentes estudios

Tipo de cultivo	VARIABLES evaluadas	Microorganismo	Hallazgos principales mejorados	Referencia bibliográfica
Oryza sativa L. var. Cimarrón	Velocidad de germinación	<i>Trichoderma</i> spp	La aplicación como bioestimulante acelera la velocidad de germinación de las semillas.	Núñez, 2014
Agave victoriae-reginae	Porcentaje de germinación	<i>Trichoderma</i> spp	Los microorganismos aceleraron la germinación en comparación con el control.	Castillo, 2022
Arveja (Pisum sativum L.)	Germinación de plantulas	<i>Trichoderma</i> spp	La aplicación de <i>Trichoderma</i> spp. en el cultivo de arveja mejora significativamente su crecimiento y desarrollo, influyendo en variables fisiológicas como la germinación.	Camargo, 2014

El tratamiento con *Trichoderma* (T2) mostró resultados favorables en cuanto a los días para la aparición radicular. Investigaciones previas han destacado la efectividad de *Trichoderma* en estimular la germinación temprana en varias especies de cultivos, lo cual se atribuye a la mejora en la biodisponibilidad de nutrientes (Morales-Mávil, J. É. y Alba-Landa, J. 2014).

En cuanto a la variable dimensión radicular, los tratamientos con *Trichoderma* y el medio MS presentaron resultados similares, mientras que el control con agua estéril mostró los resultados más bajos del estudio. Estos hallazgos coinciden con investigaciones que sugieren un efecto promotor de germinación menos pronunciado por parte de los medios de cultivo en comparación con los tratamientos que incorporan *Trichoderma* (Nascimento et al. 2022).

La aparición del cotiledón en la velocidad de germinación podría estar relacionada con la capacidad de *Trichoderma* para crear un entorno menos propenso a la contaminación microbiana y favorable para la germinación. El menor desempeño del control con agua estéril subraya la importancia de los tratamientos activos en la promoción de la germinación. Las condiciones estériles por sí solas no parecen suficientes para estimular un proceso de germinación rápido, lo cual es respaldado



por la literatura que destaca la influencia positiva de los componentes bioactivos en la aceleración de la germinación (Cano et al. 2015).

Estos hallazgos coinciden con los informes de la literatura que indican que las Trichodermas pueden tener un impacto positivo en el fomento del crecimiento de las plantas y el desarrollo de las raíces. Por ejemplo, se ha observado que las Trichodermas mejoran la absorción de nutrientes que promueven el crecimiento, lo cual está en línea con los resultados obtenidos en estudio. La actividad antimicrobiana de las Trichodermas puede mejorar el ambiente radicular, beneficiando así el crecimiento de las raíces (Carmona et al. 2018).

Es importante señalar que, aunque aún no se comprenden completamente los mecanismos exactos por los cuales las Trichodermas mejoran el crecimiento de las plántulas y la longitud de las raíces, estos resultados ofrecen evidencia sólida de su capacidad potencial como promotores del crecimiento en cultivos agrícolas. En resumen, los datos indican que el uso de Trichodermas proporciona beneficios importantes para el crecimiento inicial de las plántulas de arroz, lo cual podría resultar en mejoras significativas en el rendimiento y la salud de los cultivos en etapas posteriores de desarrollo.

## **4.2 Interpretación de los resultados**

### **4.2.1 Aparición de la radícula y el cotiledón**

El tratamiento con Trichoderma también se relacionó con un control mejorado de patógenos, como se demostró por la ausencia de microorganismos patógenos en las muestras tratadas. Esto coincide con la literatura que indican la capacidad antimicrobiana de Trichoderma, creando así un entorno más saludable para el crecimiento de las plántulas y potencialmente reduciendo la incidencia de enfermedades transmitidas por el suelo. La rápida emergencia de la radícula sugiere una mejora en la capacidad de las plantas para absorber agua y nutrientes, lo cual podría tener efectos positivos a largo plazo en la vitalidad y la productividad de las plantas.

El uso de Trichoderma durante la germinación in vitro de plántulas de arroz proporciona beneficios notables en cuanto al crecimiento y la salud de las plantas. No obstante, es necesario realizar más evaluaciones sobre la seguridad a largo plazo y

el impacto ambiental de Trichoderma para garantizar que su aplicación sea sostenible y no conlleve riesgos inadvertidos para el medio ambiente ni para la salud humana.

#### **4.2.2 Dimensión de la radícula y el cotiledón.**

Las plántulas de arroz tratadas con Trichoderma exhibieron un desarrollo notable en la longitud de las raíces y el tamaño de los cotiledones en comparación con las plántulas tratadas con agua estéril. Este aumento en el crecimiento puede atribuirse a las propiedades bioestimulantes de Trichoderma. Numerosas investigaciones se centran en explorar el potencial biológico y la formulación utilizando diferentes especies de Trichoderma, lo que contribuye a mejorar la eficacia de estas prácticas en una amplia gama de condiciones ambientales y sistemas de cultivo (Mesa et al., 2019).

Los hallazgos de este estudio indican que las Trichodermas podrían tener un papel importante en la agricultura sostenible. Su capacidad para promover el crecimiento de las plántulas y el control de patógenos, sin los efectos negativos relacionados con los pesticidas químicos tradicionales, presenta una alternativa atractiva para fortalecer la salud de las plantas y asegurar la disponibilidad de alimentos de manera segura.

## CAPÍTULO V: Conclusiones y Recomendaciones

### 5.1 Conclusiones

Esta investigación ha demostrado de manera concluyente que *Trichoderma* tiene un impacto significativo en la aparición de la radícula y el cotiledón, así como en la dimensión de la radícula y el cotiledón en plántulas de arroz. Los tratamientos con *Trichoderma* no solo aceleraron la aparición radicular, sino que también mejoraron notablemente el crecimiento radicular y de los cotiledones en comparación con los tratamientos estándar y los controles negativos.

Los análisis estadísticos confirmaron que las diferencias observadas entre los tratamientos con *Trichoderma* y los controles eran estadísticamente significativas, validando la eficacia de *Trichoderma* como promotor de crecimiento.

Además, de estimular el crecimiento, *Trichoderma* también proporcionó protección contra patógenos. Esto se evidenció por la ausencia de microorganismos patógenos en los tratamientos con *Trichoderma*, en contraste con el control negativo que mostró crecimiento microbiano, así como plántulas con signos de clorosis y crecimiento esquelético.

La metodología utilizada en este estudio, que incluyó el uso de biorreactores para la germinación y el seguimiento detallado de los parámetros de crecimiento, establece un marco para futuras investigaciones en el cultivo *in vitro* aplicado a la agricultura. Se observó que el uso de *Trichoderma* podría ser un paso hacia prácticas agrícolas más sostenibles, ofreciendo una alternativa a los agroquímicos, contribuyendo a una producción agrícola más ecológica.

Es esencial que se lleve a cabo una evaluación minuciosa de los efectos a largo plazo en los ecosistemas agrícolas y la seguridad para el consumo humano y animal. Mientras que los resultados de este estudio son prometedores, para que *Trichoderma* sea utilizado ampliamente en la agricultura, es necesario una comprensión más profunda de su dinámica en el suelo y su potencial bioacumulación en la cadena alimentaria.

## 5.2 Recomendaciones

Esta investigación destaca el valor de los hongos en la agricultura debido a los beneficios de *Trichoderma* para la aparición de la radícula y el crecimiento de las plántulas de arroz, así como su capacidad para controlar patógenos. Sin embargo, para garantizar que estas tecnologías sean efectivas y seguras a largo plazo, es necesario tomar en cuenta numerosos factores.

Promover diversas técnicas de aplicación de *Trichoderma*, como tratamientos de semillas, aplicaciones en suelo, aplicaciones foliares, adaptadas a diferentes cultivos y prácticas agrícolas. Implementar programas de capacitación para agricultores, técnicos agrícolas sobre el estudio y la aplicación de *Trichoderma* en la agricultura es una estrategia prometedora para mejorar la productividad agrícola de manera sostenible. Con investigación, capacitación, y monitoreos adecuados, el uso del hongo *Trichoderma* puede convertirse en una herramienta clave para el control biológico de plagas y la promoción del crecimiento vegetal.

Es esencial realizar una evaluación exhaustiva del impacto ambiental y ecológico. Aunque *Trichoderma* ofrece beneficios significativos en términos de promoción del crecimiento y control de patógenos en cultivos de arroz, es fundamental llevar a cabo evaluaciones detalladas de su impacto ambiental ecológico antes de su adopción a gran escala, lo que incluye:

- Estudios de Bioacumulación y Toxicidad: Es fundamental investigar cómo *Trichoderma* se acumula en varios componentes del ecosistema, tales como el suelo, las plantas y el agua. Estos estudios deben identificar cualquier posible efecto negativo en la cadena alimentaria y en la biodiversidad local. Es necesario evaluar la toxicidad de *Trichoderma* en organismos no objetivo, incluidos insectos, microorganismos beneficiosos y animales. Se requieren ensayos a largo plazo para asegurar que *Trichoderma* no cause efectos adversos en el medio ambiente ni en los organismos que dependen de estos ecosistemas.
- Monitoreo de Resistencia a *Trichoderma*: Evaluar regularmente para identificar cambios en la susceptibilidad de los patógenos hacia *Trichoderma*. Implementar diversas cepas de *Trichoderma* y complementarlas con otras

técnicas de control biológico y manejo integrado de plagas para disminuir la probabilidad de resistencia. Estudiar las posibles adaptaciones genéticas de los patógenos que podrían hacerlos resistentes a Trichoderma, con el fin de formular estrategias efectivas de mitigación.

- Evaluación de Ciclo de Vida: Realizar un estudio exhaustivo que tiene como objetivo identificar los efectos ambientales vinculados a cada fase del ciclo de vida de este hongo, abarcando desde su producción hasta su eliminación final. Trichoderma es un tipo de hongo muy utilizado en la agricultura como agente de control biológico y como promotor del crecimiento de las plantas.
- Desarrollo de Guías de Aplicación: Es fundamental para asegurar su uso efectivo en la agricultura. Estas guías deben proporcionar información detallada, práctica para agricultores, técnicos agrícolas sobre cómo aplicar este hongo para maximizar sus beneficios como agente de biocontrol y promotor del crecimiento vegetal.

## Bibliografía

- Acevedo, M., Castrillo, W., y Belmonte, U. (2006). *Origen, evolución y diversidad del cultivo de arroz*. Obtenido de [https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0002192X2006000200001#:~:text=El%20arroz%20pertenece%20a%20la,diploides%20con%20n%3D24%20cromosomas](https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002192X2006000200001#:~:text=El%20arroz%20pertenece%20a%20la,diploides%20con%20n%3D24%20cromosomas).
- Acevedo, M., Castrillo, W., & Belmonte, U. (2006). *Origen, evolución y diversidad del cultivo de arroz*. Obtenido de [https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0002-192X2006000200001#:~:text=El%20arroz%20pertenece%20a%20la,diploides%20con%20n%3D24%20cromosomas](https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2006000200001#:~:text=El%20arroz%20pertenece%20a%20la,diploides%20con%20n%3D24%20cromosomas).
- Acosta, D., & Alfonso, D. (2021). Evaluar la concentración de plomo en sedimento en el sector norte del estero salado de Guayaquil, entre enero - febrero del 2021. Guayaquil, Guayas, Ecuador: Tesis de pregrado. Universidad de Guayaquil. Recuperado el 30 de agosto de 2023, de [https://www.institutopesca.gob.ec/wp-content/uploads/2022/01/34\\_TESIS-Plomo-en-sedimento-del-Estero-Salado..pdf](https://www.institutopesca.gob.ec/wp-content/uploads/2022/01/34_TESIS-Plomo-en-sedimento-del-Estero-Salado..pdf)
- Adama. (2016). *SIC ARROZ*. Obtenido de <https://www.adama.com/ecuador/es/soluciones-integrales-por-cultivo/arroz#:~:text=importante%20del%20pa%C3%ADs,-,El%20Arroz%20en%20el%20Ecuador,importancia%20de%20cuidar%20este%20cultivo>.
- Alcántara Cortes, Castilla Pérez , & Sánchez Mora . (2017). *Importancia de los cultivos vegetales invitro para establecer bancos de*. Obtenido de <https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/Biociencias/article/download/2222/2382/6151>
- Alcantara, J. (2019). *Scielo*. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v17n32/1794-2470-nova-17-32-109.pdf>
- Bano, S. (2005). *Inducción y regeneración de callos en explantes de semilla de arroz*. Obtenido de [https://www.pakbs.org/pjbot/abstracts/37\(4\)/06.html](https://www.pakbs.org/pjbot/abstracts/37(4)/06.html)
- Bioplan. (2019). *Micropropagación De Plantas*. Obtenido de <https://www.bioplaninvitro.com/micropropagacion-de-plantas/#:~:text=La%20micropropagaci%C3%B3n%20de%20plantas%20in,para%20cultivarlo%20en%20un%20laboratorio>.
- Camargo, D. (2014). *Efectos del Trichoderma spp. sobre el crecimiento y desarrollo de arveja (Pisum sativum L.)*. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/5039253.pdf>
- Castillo, F. (2022). *Efectos del pretratamiento con Trichoderma y Bacillus en la germinación de semillas de Agave victoriae-reginae T. Moore*. Obtenido de [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-11322022000100056](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11322022000100056)
- Castillo, P., Nole, I., Calle, P., & Silva, J. (2021). Parasitoides de la cigarrita marrón *Tagosodes orizicolus* Muir, insecto plaga del cultivo de arroz. *Manglar*, 18(2), 149-155. doi:10.17268/manglar.2021.020
- Centro Internacional de Agricultura Tropical. (2005). *Morfología de la planta de arroz*. Obtenido de [https://www.doc-developpement-durable.org/file/Culture/Culture-plantes-alimentaires/FICHES\\_PLANTES/riz/Morfologia\\_planta\\_arroz.pdf](https://www.doc-developpement-durable.org/file/Culture/Culture-plantes-alimentaires/FICHES_PLANTES/riz/Morfologia_planta_arroz.pdf)
- Companioni, B. D. (2019). *Trichoderma y su potencial en el desarrollo sostenible*. Obtenido de <http://scielo.sld.cu/pdf/bvg/v19n4/2074-8647-bvg-19-04-237.pdf>
- Cordero, M. G. (2019). El comercio electrónico e-commerce, análisis actual desde la perspectiva del consumidor en la ciudad de Guayaquil, provincia del Guayas y estrategias efectivas para su desarrollo. Guayaquil, Guayas, Ecuador: Tesis de maestría. Universidad Católica de Santiago de Guayaquil. Recuperado el 29 de

- agosto de 2023, de <http://repositorio.ucsg.edu.ec/handle/3317/14064>
- Cortez, L., & León, F. (2016). *Identificación de las necesidades de los productores de arroz en la zona de Yaguachi*. Obtenido de <http://revistas.ulvr.edu.ec/index.php/yachana/article/view/176>
- Crespo, R. (2017). *Androgénesis in vitro de poblaciones segregantes F1 de arroz japonico (Oryza sativa L. ssp. japonica) para desarrollar líneas homocigóticas*. Obtenido de <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/3093>
- Delgado, D., & Zorrilla, C. (2017). *EVALUACIÓN DEL SIMBIONTE Azolla caroliniana-Anabaena*. Obtenido de <https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/534/1/TA62.pdf>
- Gale, M. (1998). *Genética comparada en las gramíneas*. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC33824/>
- Granados, C. (2012). *Métodos de transformación genética vegetal*. Obtenido de [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0123-42262012000100007](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262012000100007)
- Guzmán, M., & Serrata, J. (2018). *Evaluación de dos sistemas de producción: Sistema Intensivo del Cultivo de Arroz*. Obtenido de [http://sri.ciifad.cornell.edu/countries/DR/DR\\_Tesis\\_Guzman18.pdf](http://sri.ciifad.cornell.edu/countries/DR/DR_Tesis_Guzman18.pdf)
- Herogra. (2022). *La importancia de la biotecnología en la agricultura*. Obtenido de <https://herograespeciales.com/la-importancia-de-la-biotecnologia-en-la-agricultura/>
- Hoque, E. (2004). *Efecto del genotipo y la edad del explante sobre la inducción de callos y la posterior regeneración de plantas a partir de callos derivados de raíces de genotipos de arroz indica*. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/226678489\\_Effect\\_of\\_Genotype\\_and\\_Plant\\_Age\\_on\\_Callus\\_Induction\\_and\\_Subsequent\\_Plant\\_Regeneration\\_from\\_Root-derived\\_Callus\\_of\\_Indica\\_Rice\\_Genotypes](https://www.researchgate.net/publication/226678489_Effect_of_Genotype_and_Plant_Age_on_Callus_Induction_and_Subsequent_Plant_Regeneration_from_Root-derived_Callus_of_Indica_Rice_Genotypes)
- INIAP. (2023). *Principales problemas del cultivo de arroz*. Obtenido de <https://www.agricultura.gob.ec/iniap-realiza-recomendaciones-a-productores-arroceros/>
- INTAGRI. (2021). *Trichoderma control de hongos fitopatógenos*. Obtenido de <https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/trichoderma-control-de-hongos-fitopatogenos>
- Kaushal, L. (2014). *Efecto de los medios culturales en la mejora de la respuesta cultural de las anteras del arroz (Oryza sativa L.)*. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/265085685\\_Effect\\_of\\_culture\\_media\\_on\\_improving\\_anther\\_culture\\_response\\_of\\_rice\\_Oryza\\_sativa\\_L](https://www.researchgate.net/publication/265085685_Effect_of_culture_media_on_improving_anther_culture_response_of_rice_Oryza_sativa_L)
- Khaleda, L. (2006). *Variabilidad genotípica en la inducción de callos y regeneración de plantas mediante embriogénesis somática de cinco arrozales de aguas profundas (Oryza sativa L.)*. Obtenido de <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/43135>
- Komari, T. (2008). *Transformación eficiente de arroz (Oryza sativa L.) mediada por Agrobacterium y análisis de secuencia de los límites del ADN-T*. Obtenido de <https://europepmc.org/article/med/7920717>
- Koornneef, M. (2010). *El desarrollo de Arabidopsis como planta modelo*. Obtenido de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20409266/>
- Mandal, A. (2003). *Embriogénesis somática en callos derivados de raíces de arroz indica*. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/237565831\\_Somatic\\_embryogenesis\\_in\\_root\\_derived\\_callus\\_of\\_indica\\_rice](https://www.researchgate.net/publication/237565831_Somatic_embryogenesis_in_root_derived_callus_of_indica_rice)
- Mantell, S. (1994). *Principios de biotecnología en plantas una introducción a la ingeniería genética en plantas*. Obtenido de <https://search.worldcat.org/es/title/Principios-de-biotecnologia-em-plantas-una-introducao-a-engenharia-genetica-em-plantas/oclc/709774967>
- Mesa Vanegas, A. M., Marín, A., & Calle Osorno, J. (2019). *Metabolitos secundarios en Trichoderma spp. y sus aplicaciones biotecnológicas agrícolas*. Antioquia. Obtenido de <https://revistas.udea.edu.co/index.php/actbio/article/view/341271>

- Murashige, T. (2014). *Las técnicas de propagación in vitro para la producción de banano utilizando cultivos de puntas de brotes*. Obtenido de <https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=1181858>
- Nassar, A. (2015). *Embriogénesis somática para mejoras en la papa (Solanum tuberosum L.)*. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/277141972\\_Somatic\\_Embryogenesis\\_for\\_Potato\\_Solanum\\_tuberosum\\_L\\_Improvement](https://www.researchgate.net/publication/277141972_Somatic_Embryogenesis_for_Potato_Solanum_tuberosum_L_Improvement)
- Núñez, L. (2014). *Tratamiento biológico del cultivo de arroz en condiciones de vivero empleando el hongo trichoderma spp.* Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5504386>
- Olmedo Monfil, V., & Casas Flores, S. (2014). *Mecanismos Moleculares de Biocontrol en Trichoderma spp. y sus Aplicaciones en la Agricultura*. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/281666040\\_Molecular\\_Mechanisms\\_of\\_Biocontrol\\_in\\_Trichoderma\\_spp\\_and\\_Their\\_Applications\\_in\\_Agriculture](https://www.researchgate.net/publication/281666040_Molecular_Mechanisms_of_Biocontrol_in_Trichoderma_spp_and_Their_Applications_in_Agriculture)
- Olmos, S. (2006). *Apunte de morfología, fenología, ecofisiología, y mejoramiento genético del cultivo de arroz*. Obtenido de <https://www.acpaarrozcorrientes.org.ar/academico/Apunte-MORFOLOGIA.pdf>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2003). *Manual para la preparación y venta de frutas y hortalizas*. (Boletín de servicios agrícolas) Recuperado el 2023, de FAO: <https://www.fao.org/3/Y4893S/y4893s04.htm>
- Paredes, M. (2020). *Morfología y estados de*. Obtenido de <https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/20.500.14001/68052/Capitulo%2014.pdf?sequence=3>
- Pernía, B., Mero, M., Cornejo, X., Ramirez, N., Ramirez, L., Bravo, K., . . . Zambrano, J. (2018). Determinación de cadmio y plomo en agua, sedimento y organismos bioindicadores en el Estero Salado, Ecuador. *Enfoque UTE*, 19(2), 89-105. doi:10.29019/enfoqueute.v9n2.246
- Pino, S., Sisalema, L., & Barros, D. (2020). Los costos de la salud y la calidad del agua en el Estero Salado de la ciudad de Guayaquil - Ecuador. *Espacios*, 41(19), 154-165. Recuperado el 30 de agosto de 2023, de <http://w.revistaespacios.com/a20v41n19/a20v41n19p11.pdf>
- Price, T. (2003). *El papel de la plasticidad fenotípica en el impulso de la evolución genética*. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1691402/>
- Rahim, M. (2005). *Desarrollo de un sistema de regeneración y callogénesis altamente in vitro para algunos cultivares de arroz (Oryza sativa L.)*. Obtenido de <https://scialert.net/abstract/?doi=biotech.2005.230.234>
- Rey, D. (2010). *Organogénica directa de mesocótilos de arroz (Oryza sativa L.)*. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/3030/303026592024.pdf>
- Rodríguez, D. (2022). *Efecto de la inoculación con Trichoderma sobre el crecimiento vegetativo del tomate (Solanum lycopersicum)*. Obtenido de [https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0377-94242022000200047](https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0377-94242022000200047)
- Sabando Zambrano, G. A., & Zambrano Risco, A. A. (2022). *Evaluación de cepas de Trichoderma spp.* Calceta. Obtenido de [https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1972/1/TIC\\_A28D.pdf](https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1972/1/TIC_A28D.pdf)
- Sabando, G. (2022). *EVALUACIÓN DE CEPAS DE Trichoderma spp. COMO BIOESTIMULANTE EN EL CRECIMIENTO Y RENDIMIENTO*. Obtenido de [https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1972/1/TIC\\_A28D.pdf](https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1972/1/TIC_A28D.pdf)
- Santana, Y. (2016). *Efecto de Trichoderma harzianum Rifai y FitoMas-E® como bioestimulantes de la germinación y crecimiento de plántulas de tomate*. Obtenido de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0253-57852016000300001](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-57852016000300001)
- Sierra, L. (2015). *Integración de prácticas culturales y control biológico para el manejo*. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/rcia/v32n2/v32n2a02.pdf>
- Silva, F. (2011). *Desempeño de los genotipos de trigo bajo condiciones edafoclimáticas*. Obtenido de



- [https://www.iac.sp.gov.br/areadoinstitutoposgraduacao/repositorio/storage/teses\\_disertacoes/pb1213009.pdf](https://www.iac.sp.gov.br/areadoinstitutoposgraduacao/repositorio/storage/teses_disertacoes/pb1213009.pdf)
- Torres De la Cruz, M., Ortiz García, C., Bautista Muñoz, C., Ramírez Pool, J. A., Ávalos Contreras, N., & Cappello García, S. (2015). *Diversidad de Trichoderma en el agroecosistema*. Mexico. Obtenido de [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-34532015000400947](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-34532015000400947)
- Valero, J. (2015). *Respuesta de cultivares de arroz a la fertilización con hierro y zinc, sobre su concentración en el grano, en la Amazonia Ecuatoriana*. Obtenido de <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/640>
- Velázquez, J. (2015). *Determinación de las etapas de inicio de macollamiento, inicio de primordio, floración y madurez en la planta de arroz, con el sistema s, v y r correlacionado con la sumatoria térmica*. Obtenido de [https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0377-94242015000200121](https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0377-94242015000200121)
- Yeoman, M. (2014). *Embriogénesis somática y organogénesis para la regeneración de la planta del desierto multipropósito en peligro de extinción Leptadenia pyrotechnica Forsk.* . Obtenido de <https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=1230423>

## Anexos

### Anexo 1



Figura 1. Esterilización de instrumentos de laboratorio

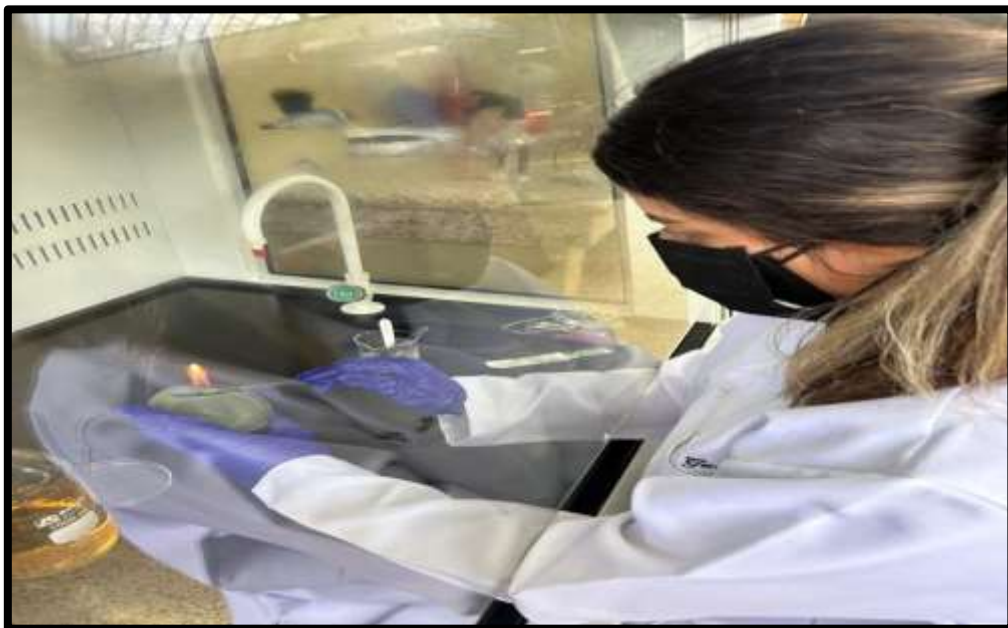
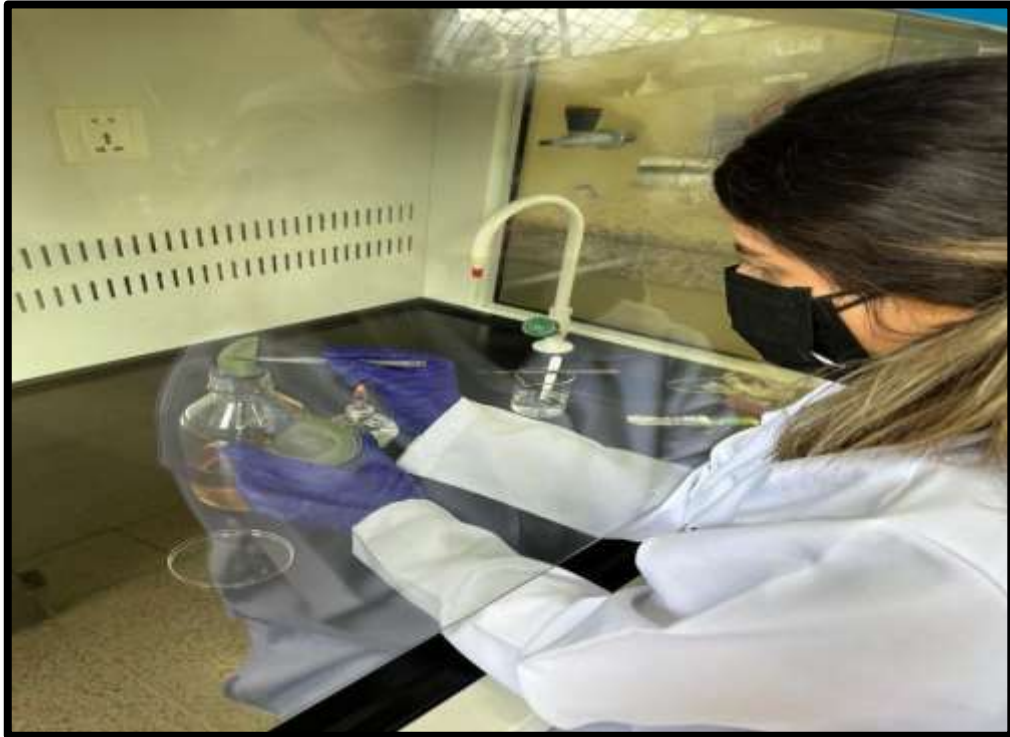
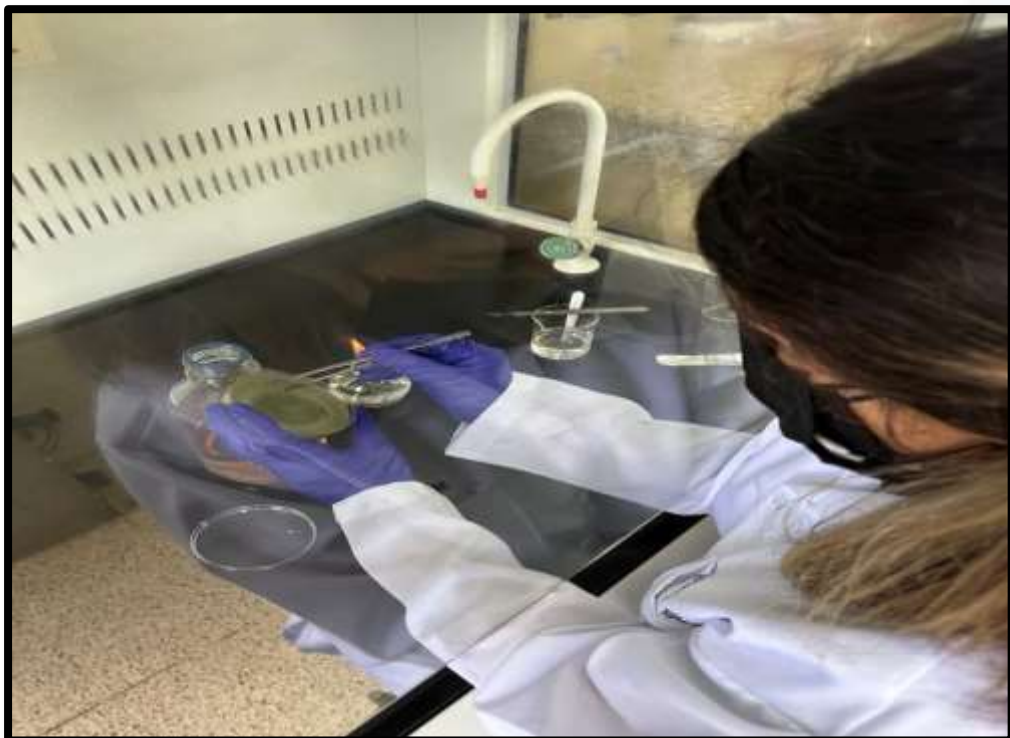


Figura 2. Corte de una cepa de *Trichoderma Harzianum*



**Figura 3. Inoculación del medio de cultivo de papa y dextrosa**



**Figura 4. Preparación del medio de cultivo**



Figura 5. Etiqueta de tratamiento con *Trichoderma Harzianum*



Figura 6. Preparación de tratamientos en incubadora orbital



Figura 7. Uso de incubadora orbital



Figura 8. Datos de la incubadora orbital



Figura 9. Materiales usados en estudio



Figura 10. Tratamiento con *Trichoderma* nativo



Figura 13. Tratamiento con agua estéril



Figura 14. Biorreactores con los tratamientos



**Figura 15. Observación de germinado de semillas**



**Figura 16. Aparición de la radícula**





**Figura 17. Desarrollo de plántulas**



**Figura 18. Diferenciación según tratamientos**

## Anexo 2

### Días para aparición de radícula

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Días para aparición de rad..	200	0.66	0.54	19.66

### Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	316.72	52	6.09	5.46	<0.0001
Repetición	62.62	49	1.28	1.15	0.2648
Tratamiento	254.10	3	84.70	75.97	<0.0001
Error	163.90	147	1.11		
Total	480.62	199			

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.54345

Error: 1.1150 gl: 147

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
Trichoderma nativo	3.88	50	0.15	A
MS	4.84	50	0.15	B
Trichoderma comercial	5.86	50	0.15	C
Testigo negativo	6.90	50	0.15	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

### Días para aparición de cotiledón

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Días para aparición de cot..	200	0.69	0.57	12.06

### Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	326.54	52	6.28	6.17	<0.0001
Repetición	51.58	49	1.05	1.03	0.4264
Tratamiento	274.96	3	91.65	90.10	<0.0001
Error	149.54	147	1.02		
Total	476.08	199			

**Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.51910***Error: 1.0173 gl: 147*

Tratamiento	Medias	n	E.E.		
Trichoderma nativo	6.82	50	0.14	A	
MS	7.82	50	0.14		B
Trichoderma comercial	8.82	50	0.14		C
Testigo negativo	9.98	50	0.14		D

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )***Dimensión de radícula**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Dimensión de radícula (cm)..	200	0.70	0.60	11.19

**Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	78.26	52	1.51	6.75	<0.0001
Repetición	12.26	49	0.25	1.12	0.2957
Tratamiento	66.00	3	22.00	98.71	<0.0001
Error	32.76	147	0.22		
Total	111.02	199			

**Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.24298***Error: 0.2229 gl: 147*

Tratamiento	Medias	n	E.E.		
Testigo negativo	3.40	50	0.07	A	
Trichoderma comercial	4.04	50	0.07		B
MS	4.47	50	0.07		C
Trichoderma nativo	4.96	50	0.07		D

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )*

### Dimensión de cotiledón

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Dimensión de cotiledón (cm..	200	0.56	0.41	19.38

### Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	48.08	52	0.92	3.67	<0.0001
Repetición	13.08	49	0.27	1.06	0.3886
Tratamiento	34.99	3	11.66	46.24	<0.0001
Error	37.08	147	0.25		
Total	85.16	199			

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.25849

Error: 0.2522 gl: 147

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
Testigo negativo	1.99	50	0.07	A
Trichoderma comercial	2.45	50	0.07	B
MS	2.80	50	0.07	C
Trichoderma nativo	3.12	50	0.07	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

# UNEMI

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

*¡Evolución académica!*

@UNEMIEcuador

