

**EFICACIA DE PROTECTANTES BIOLÓGICOS EN SEMILLAS Y PLANTAS DE
ARROZ (*Oryza sativa* L.) ESTABLECIDAS EN CONDICIONES SEMI-
CONTROLADAS EN LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL DE BIOLOGÍA DE LA
UNIVERSIDAD DEL VALLE - SEDE MELENDEZ**

MARTHA LUCIA VELASCO BELALCAZAR



**UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE CIENCIAS
PROGRAMA ACADÉMICO DE BIOLOGÍA
SANTIAGO DE CALI
2012**

**EFICACIA DE PROTECTANTES BIOLÓGICOS EN SEMILLAS Y PLANTAS DE
ARROZ (*Oryza sativa* L.) ESTABLECIDAS EN CONDICIONES SEMI-
CONTROLADAS EN LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL DE BIOLOGÍA DE LA
UNIVERSIDAD DEL VALLE - SEDE MELENDEZ**

MARTHA LUCIA VELASCO BELALCAZAR

**UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE CIENCIAS
PROGRAMA ACADÉMICO DE BIOLOGÍA
SANTIAGO DE CALI
2012**

**EFICACIA DE PROTECTANTES BIOLOGICOS EN SEMILLAS Y PLANTAS DE
ARROZ (*Oryza sativa* L.) ESTABLECIDAS EN CONDICIONES SEMI-
CONTROLADAS EN LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL DE BIOLOGIA DE LA
UNIVERSIDAD DEL VALLE - SEDE MELENDEZ**

*Trabajo de Grado
Para optar por el titulo de
Biólogo con énfasis en
Botánica*

Por:

Martha Lucia Velasco Belalcazar

Directora
Dra. Celina Torres G.
Ingeniera agrónoma, MSc.

Codirector
Dr. Enrique Peña S.

**UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTADA DE CIENCIAS
PROGRAMA ACADEMICO DE BIOLOGIA
SANTIAGO DE CALI
2012**

NOTA DE APROBACIÓN

El trabajo de grado titulado “Eficacia de protectantes biológicos en semillas y plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) establecidas en condiciones semi-controladas en la estación experimental de biología de la universidad del valle - sede Meléndez”, presentado por la estudiante MARTHA LUCIA VELASCO BELALCAZAR, para optar al título de Bióloga con mención en Botánica, fue revisado por el jurado y calificado como:

Celina Torres González
Director

Enrique Peña Salamanca
Codirector

Jurado

Dedicatoria

“Le dedico este trabajo a todos los que creyeron en mí, a toda la gente que me apoyo, a mis amigos, familiares y en especial se lo dedico a mis padres que fueron un pilar fundamental en mi formación y educación como persona. También le agradezco muchísimo a Carlos Hernández por todo su amor, ayuda, apoyo y comprensión a lo largo de este trabajo, mis agradecimientos a mis profesores que me instruyeron y me colaboraron con todo, a mis amigos que me brindaron su ayuda, su atención y su amistad, también debo agradecer a esta institución por permitir mi formación como profesional, como persona y como ciudadana”

Agradecimientos

A toda mi familia por el apoyo que me han dado a lo largo de toda mi vida, principalmente a mis padres por esas energías y fuerzas brindadas en todo momento.

A Carlos Hernández por ese apoyo incondicional en la realización de este trabajo, “gracias Carlitos porque sin ti no habría podido seguir”

A mi directora de Tesis Celina Torres, gran profesora, profesional, consejera y mujer, gracias por ese apoyo, orientación y tiempo dedicado.

A mi Co-Director Enrique Peña que igualmente me apoyo, me ayudo y me oriento en todo lo que pudo ¡gracias por esos consejos brindados!

A todas las personas que me ayudaron en la realización de este trabajo, a mi mamá y mi papá que me dieron su ayuda, a Lorena por sus explicaciones y ayudas, a Juliana y Cindy por su colaboración, a Yesenia por ayudarme a contar granitos de arroz, a Heider, Leo y don Jorge por ayudarme con el suelo, a Manuel por sus consejos y ayudas en la parte estadística, a Paola por toda su ayuda y especialmente a Carlos Hernández por que estuvo conmigo en todo el proyecto.

A la empresa “arrocera la Esmeralda” por ayudarme los materiales para llevar a cabo el proyecto, así mismo por su ayuda y orientación en la realización del mismo.

TABLA DE CONTENIDO

Página

1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCIÓN.....	2
3. MARCO TEÓRICO.....	5
3.1. Clasificación taxonómica.....	5
3.1.1. Distribución geográfica.....	5
3.2. La semilla de arroz.....	6
3.2.1. Germinación de la semilla de arroz.....	8
3.3. Órganos vegetativos.....	9
3.3.1. Raíz.....	9
3.3.2. Tallo.....	11
3.3.3. Requerimiento para el mantenimiento del arroz.....	13
3.4. Cultivo de arroz en Colombia.....	17
3.5. Aspectos Fitosanitarios.....	18
3.5.1. Agroquímicos en el arroz.....	18
3.6. Protectantes Biológicos.....	23
3.6.1. <i>Trichoderma harzianum</i>	23
3.6.2. <i>Bacillus subtilis</i>	24
3.6.3. BIOCHAR.....	25
3.7. Padecimientos y soluciones biológicas de enfermedades en el arroz.....	26
 4. OBJETIVOS.....	 31
4.1. General.....	31
4.2. Específicos.....	31
 5. HIPOTESIS Y RESULTADOS ESPERADOS.....	 32
 6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	 33
6.1. Localización del estudio.....	33
6.2. Aplicación de los tratamientos al cultivo simulado.....	33
6.3. Evaluación de la eficiencia de <i>Trichoderma harzianum</i> , <i>Bacillus subtilis</i> y Biochar (Protectantes Biológicos) en procesos de germinación de semillas de arroz.....	34

6.4. Determinación de la eficiencia de <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Trichoderma harzianum</i> y Biochar en la producción de arroz comparado con los tratamientos convencionales.....	38
6.4.1. Toma de medidas.....	38
6.5. Evaluación del número de macollas, número de macollas activas o número de espigas, número de granos x espiga, peso de 1000 semillas (índice de semillas). (% vano)	41
6.6. Diseño experimental.....	42

7. RESULTADOS.....43

7.1. Primera etapa: Germinación de las semillas.....	43
7.1.1. Semillas germinadas.....	43
7.2. Segunda etapa: Productividad y comparación de tratamientos.....	44
7.2.1. Longitud y Ancho de las hojas.....	44
7.2.2. Clorofila.....	46
7.2.3. Macollas por m ²	48
7.2.4. Porcentaje de macollas activas.....	49
7.2.5. Panículas por m ²	50
7.2.6. Largo de la panícula.....	51
7.2.7. N° de granos por panícula.....	52
7.2.8. Porcentaje de granos buenos y granos buenos totales.....	53
7.2.9. Peso grano.....	54

8. DISCUSIÓN.....55

8.1. Germinación.....	55
8.2. Segunda etapa: Productividad y comparación de tratamientos.....	57
8.2.1. Comparación de los tratamientos en la productividad.....	57
8.2.2. Longitud y Ancho.....	61
8.2.3. Clorofila.....	63
8.2.4. Número de macollas y macollas activas.....	67
8.2.5. Panículas, granos de arroz y peso de los granos de arroz.....	71

9. CONCLUSIONES.....	77
10. RECOMENDACIONES.....	78
11. LITERATURA CITADA.....	79

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1: Importancia económica y distribución geográfica.....	6
FIGURA 2: Estructuras de una semilla de arroz.....	7
FIGURA 3: Tipos de granos de arroz.....	8
FIGURA 4: Germinación de la semilla de arroz.....	9
FIGURA 5: Radícula y raíces secundarias.....	11
FIGURA 6: Entrenudo y detalle de un nudo.....	12
FIGURA 7: Modelo de macollamiento.....	13
FIGURA 8: Fases del desarrollo y épocas críticas del cultivo de arroz: vegetativa, reproductiva y de maduración.....	15
FIGURA 9: Estación experimental del Departamento de Biología.....	33
FIGURA 10: Siembra y aplicación de los tratamientos.....	35
FIGURA 11: Determinación de la viabilidad por el método del semillero.....	36
FIGURA 12: Medición de las concentraciones.....	38
FIGURA 13: Bandejas experimentales.....	38
FIGURA 14: Luxómetro.....	39
FIGURA 15: Fotómetro Li-Cor.....	39
FIGURA. 16: Clorofilometro.....	40
FIGURA 17: Conteo manual y peso de los granos de arroz en la balanza analítica.....	41
FIGURA 18: Porcentaje de Germinación.....	43
FIGURA 19: Longitud de hojas de la planta de arroz.....	44
FIGURA 20: Ancho de hojas de la planta de arroz.....	45

FIGURA 21: Absorbancia de la clorofila para los tratamientos aplicados en el estudio.....	46
FIGURA 22: Radiación solar disponible y absorbida en estratos Alto, Medio y Bajo de las plantas en en invernadero, y radiación solar del invernadero comparada con la absorbida por las plantas de arroz en los cultivares de la empresa arroz blanquita.....	47
FIGURA 23: Número de Macollas por tratamiento.....	48
FIGURA 24. Porcentaje de macollas activas.....	49
FIGURA 25: Panículas por m ²	50
FIGURA 26: Largo de la panícula.....	51
FIGURA 27: Número de granos por panícula.....	52
FIGURA 28: Porcentaje de granos buenos.....	53
FIGURA 29: Granos buenos totales.....	53
FIGURA 30: Peso de 1000 semillas de arroz.....	54
FIGURA 31: Semillas de arroz, variedad fedearroz 60.....	55
FIGURA 32: Plagas de arroz en Africa y Asia Fao (2006).....	58
FIGURA 33: Requerimiento de radiacion solar.....	66
FIGURA 34: Comparación de los protectantes biologicos con el cultivo convencional (Control).....	77

LISTA DE TABLAS

Páginas

TABLA 1: Principales enfermedades causadas por hongos en el cultivo del arroz.....	3
TABLA 2: Fenología de las Variedades F-275, F-60, F-733	72
TABLA 3: Diferencia en la eficiencia obtenida con los protectantes biológicos comparados con el tratamiento control. (%G) Porcentaje de germinación; (L) Largo; (A) Ancho; (Cl) Clorofila; (M.m ²) Macollas por m ² ; (% M.A) Porcentaje de macollas activas; (P. m ²) Panículas por m ² ; (L.P) Largo de la Panícula; (N° G. P) Número de granos por Panícula; (% G.B) Porcentaje de granos buenos; (P.G) Peso del grano. El signo menos (-) denota que el tratamiento Control sobrepasa el tratamiento biológico.....	55

1. RESUMEN

El arroz es un cereal de gran importancia económica y social en el mundo, ya que es el alimento básico de más de la mitad de la población del planeta. Las enfermedades y plagas constituyen uno de los factores primordiales en el manejo del cultivo de arroz, dado a las condiciones climáticas del trópico, es por esto, que este trabajo pretendió evaluar la eficiencia de *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* y BIOCHAR en simulaciones de cultivos de arroz como alternativa de control biológico para la sustitución de agroquímicos en campo. Para ello se realizó, en el Invernadero de la Universidad del Valle, sede Meléndez, simulaciones de cultivos de arroz en 24 bandejas de lámina galvanizada de 0.8x 0.4 m, a las cuales se le aplicaron los tratamientos: *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, BIOCHAR y productos utilizados en el manejo convencional del cultivo, DAP, KCL, sulfato de zinc, Urea, herbicidas post-emergentes (control). Una vez aplicados los protectantes biológicos se observó que el tratamiento con *Bacillus subtilis* permitió un aumento del 11% en la germinación. Por otro lado, el tratamiento con *Trichoderma harzianum*-BIOCHAR (*Th*-Bi) logró un aumento en la longitud y ancho de la hoja de 30.35cm y 0.36 cm respectivamente, del mismo modo un aumento del 38.6% en el porcentaje de macollas activas y número de granos por panícula (17.22). Finalmente, la acción de los tres protectantes biológicos condujo a un incremento de 1.58 gr en el peso de 1000 semillas de arroz. Los resultados obtenidos fueron los esperados ya que actuaron como biofertilizantes y tuvieron un triple papel como suministradores de nutrientes, fitohormonas y antagonistas de hongos fitopatógenos y así mismo encontraron resultados positivos para la producción y mantenimiento de los cultivos de arroz, puesto que también se tuvo un costo/beneficio más favorable y con mayores cuidados hacia el ecosistema, así como también más resistencia para evitar los ataques de plagas y evitar las intoxicaciones por parte de la comunidad.

2. INTRODUCCIÓN

El arroz (*Oryza sativa* L.) es un cereal de gran importancia económica y social en el mundo, ya que es el alimento básico de más de la mitad de la población del planeta. (Juliano, 1994). Actualmente un 95% del arroz del mundo se produce en los países en desarrollo y un 92% de ese porcentaje en Asia. En 1988, China era el principal productor de arroz (35%), seguida de la India (25%), Indonesia (8,5%), Bangladesh (4,7%), Tailandia (4,3%) y Viet Nam (3,4%). Entre los cereales, la producción de arroz utiliza la mayor proporción de superficie. De los 147,5 millones de hectáreas de tierras dedicadas a la producción de arroz en todo el mundo en 1989, a los países en desarrollo corresponden 141,4 millones, es decir, el 96%. Asia cuenta con el 90% de la superficie de tierras del mundo dedicadas al cultivo de arroz dedicando 132,1 millones de hectáreas a este cultivo (FAO, 1990). Durante el año 2003, según cifras de la FAO, Colombia ocupó el puesto número 22 en la producción mundial de arroz cáscara, el tercero entre los países del ALCA (Área de Libre Comercio de las Américas), después de Brasil y Estados Unidos, y el primero entre los miembros de la CAN (Comunidad Andina de Naciones) (Martínez, 2004).

Debido a su larga historia de cultivo y selección en diversos ambientes, el arroz ha adquirido toda una gama de adaptabilidad y tolerancia, cultivándose en una amplia serie de regímenes hídricos y edafológicos que van de tierras profundamente inundadas a laderas de colina áridas (Lu & Chang, 1980). Sin embargo, presenta muchas enfermedades y plagas que son consideradas una limitante en la producción de este. Se estima que un tercio de la producción agrícola global, valorado en cientos de miles de dólares, es destruido anualmente por más de 20.000 especies de plagas y patógenos en los campos y almacenes (De Haen 1993).

Las enfermedades y plagas constituyen uno de los factores primordiales en el manejo del cultivo de arroz, dado que las condiciones climáticas del Trópico, favorables a la presencia de patógenos y utilización de variedades de arroz

susceptibles, conducen a la ocurrencia de epidemias, que en algunos casos conllevan a la destrucción y pérdida total de los cultivos. Su efecto principal se refleja en bajos rendimientos y pobre calidad del grano (González 1998).

Los agentes causales de dichas enfermedades se encuentran relacionados en la tabla 1, identificándose al aire como una vía de dispersión de estos hongos, dado que el aire es el medio más común para la dispersión de esporas fúngicas y de fragmentos de hifas. (Almaguer 2008).

Tabla 1. Principales enfermedades causadas por hongos en el cultivo del arroz.

Enfermedad	Agente Causal
Piriculariosis o añublo	<i>Pyricularia grisea</i> Sacc. Estado teleomórfico <i>Magnaporthe grisea</i> (Hebert) Barr.
Mancha parda o Helminthosporiosis	<i>Cochliobolus miyabeanus</i> (Ito & Kuribayashi) Drechler ex Dastur. Según la nueva clasificación, el nombre del hongo en estado imperfecto es <i>Bipolaris oryzae</i> (Breda de Haan) Shoemaker
Escaldadura Foliar	<i>Gerlachia oryzae</i> (Hashioka & Yokogi) W. Gams estado teleomórfico <i>Metasphaeria albazzens</i> von Thuemen.
Pudrición de la vaina.	<i>Sarocladium oryzae</i> (Sawada) W. Gams & D. Hawksworth.
Pudrición del tallo	<i>Helminthosporium sigmoideum</i> Cav. El estado teleomórfico es <i>Magnaporthe salvinii</i> (Catt) Krause & Webster.
Pudrición negra de la hoja envainadora	<i>Gaeumannomyces graminis</i> (Sacc) Arx & Oliver var <i>graminis</i> .
Mancha lineal	<i>Cercospora oryzae</i> Miyake. Estado perfecto <i>Sphaerulina oryzina</i> Hara.
Manchado del grano	Esta enfermedad es el efecto de un complejo de agentes causales entre los que se encuentran los hongos: <i>B. oryzae</i> , <i>Phyllosticta</i> sp.; <i>G. oryzae</i> , <i>Alternaria padwickii</i> (Ganguly) M.B. Ellis, <i>Curvularia</i> sp.; <i>P. grisea</i> , <i>C. oryzae</i> , <i>S. oryzae</i> . Se han identificado también la participación de géneros de bacterias como <i>Pseudomonas</i> sp. y <i>Erwinia</i> sp.

Tomado de (Almaguer 2008).

Muchas de las enfermedades y plagas que atacan al arroz durante alguna etapa de su ciclo de vida generalmente son manejadas por plaguicidas y herbicidas sintéticos, usados ampliamente por su efectividad, su vida de almacenamiento relativamente alta y la facilidad con que pueden ser transportados y almacenados; sin embargo, en su mayor parte son tóxicos y se estiman en 3 millones o más casos de envenenamiento por plaguicidas y herbicidas anualmente, contaminan el agua, suelo y aire, provocan consecuencias a largo plazo aún no conocidas sobre los humanos, la vida salvaje y el medio ambiente (Izquierdo 1995).

A partir de estas consecuencias, esta investigación cuenta con los objetivos de sustituir estos agroquímicos que resultan perjudiciales para el medio ambiente, los

consumidores y la misma planta cultivada; por protectantes biológicos como el *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* y BIOCHAR, que actúan a su vez como fertilizantes y antagonistas, y en el caso del *Trichoderma harzianum* como un potente MICOPARASITO para las enfermedades que se dan en el arroz dando finalmente un mejor y más saludable aprovechamiento de esta planta como fuente alimenticia.

Así mismo se pretendió determinar, comparar y destacar la importancia de estos agentes biológicos para controlar diversos fenómenos que se presentan diariamente en la naturaleza, esperándose la obtención de buenos resultados por parte de los protectantes biológicos hacia las plantas, ayudándolas a llevar un buen desarrollo en su crecimiento, y sobre todo una buena y exitosa producción.

3. MARCO TEORICO

3.1 Clasificación taxonómica

Reino *Plantae*

Subreino *Tracheobionta*

Súper división *Spermatophyta*

División *Magnoliophyta*

Clase *Liliopsida*

Subclase *Commelinidae*

Orden *Cyperales*

Familia *Poaceae*

Genero *Oryza* L.

Especie *Oryza sativa* L.

3.1.1 Importancia económica y distribución geográfica.

El arroz es el alimento básico para más de la mitad de la población mundial, aunque es el más importante del mundo si se considera la extensión de la superficie en que se cultiva y la cantidad de gente que depende de su cosecha. A nivel mundial, el arroz ocupa el segundo lugar después del trigo si se considera la superficie cosechada, pero si se considera su importancia como cultivo alimenticio, el arroz proporciona más calorías por hectárea que cualquier otro cultivo de cereales. Además de su importancia como alimento, el arroz proporciona empleo al mayor sector de la población rural de la mayor parte de Asia, pues es el cereal típico del Asia meridional y oriental, aunque también es ampliamente cultivado en África y en América, y no sólo ampliamente sino intensivamente en algunos puntos de Europa meridional, sobre todo en las regiones mediterráneas (InfoAgro, datos no publ).

País	Producción (tm)	Rendimiento (kg/ha)
Mundo	592.873.253	3.863
China	190.389.160	6.241
India	135.000.000	3.027
Indonesia	51.000.000	4.426
Vietnam	32.000.000	4.183
Bangladesh	29.856.944	2.852
Tailandia	23.402.900	2.340
Myanmar	20.000.000	3.333
Japón	11.750.000	6.528
Brasil	10.940.500	3.010
Filipinas	12.500.000	3.205
U.S.A.	8.692.800	6.963
Rep. de Corea	7.270.500	6.880
Colombia	2.100.000	4.773
Perú	1.664.700	5.549
Venezuela	737.000	4.913

Figura 1. Importancia económica y distribución geográfica (Tomado de Infoagro).

Entre los países que producen más de un millón de toneladas al año figuran Cambodia (3.5 millones), Irán (2.6), Corea del Norte (2.1), Laos (1.6), Madagascar (2.4), Nepal (3.6), Nigeria (3.2), Pakistán (6.5) y Sri Lanka (2.7).

3.2. Semilla del arroz

La semilla de arroz es un ovario maduro, seco e indehiscente; consta de la cáscara formada por la lema y la palea con sus partes asociadas, lemas estériles, la raquilla y la arista; el embrión, situado en el lado ventral de la semilla cerca de la lema, y el endospermo, que provee alimento al embrión durante la germinación (figura 2). Debajo de la lema y la palea hay tres capas de células que constituyen el pericarpio; debajo de éstas se encuentran dos capas, el tegumento y la aleurona. (Figura 2). Cuando las espiguillas maduran, las glumas fértiles (lema y palea) presentan diferentes colores, según la variedad: color de paja, marrón amarillento, rojizo a púrpura, púrpura, o negro.

La lema y la palea, que presentan diferentes grados de pubescencia según la variedad, pueden ser: glabras, pubescentes en la quilla de la lema, pubescente en la porción más alta, de vellosidad muy corta o de vellosidad larga (figura 3). El embrión consta de la plúmula u hojas embrionarias y la radícula o raíz embrionaria primaria. La plúmula u hojas embrionarias y la radícula o raíz embrionaria primaria. La plúmula está cubierta por el coleóptilo, y la radícula está envuelta por la coleorriza. El grano de arroz descascarado es un cariósido; se conoce con el nombre de arroz integral, y aún conserva el pericarpio que puede ser de colores blanco, marrón, pálido, rojo, purpura, etc. (CIAT 1981).

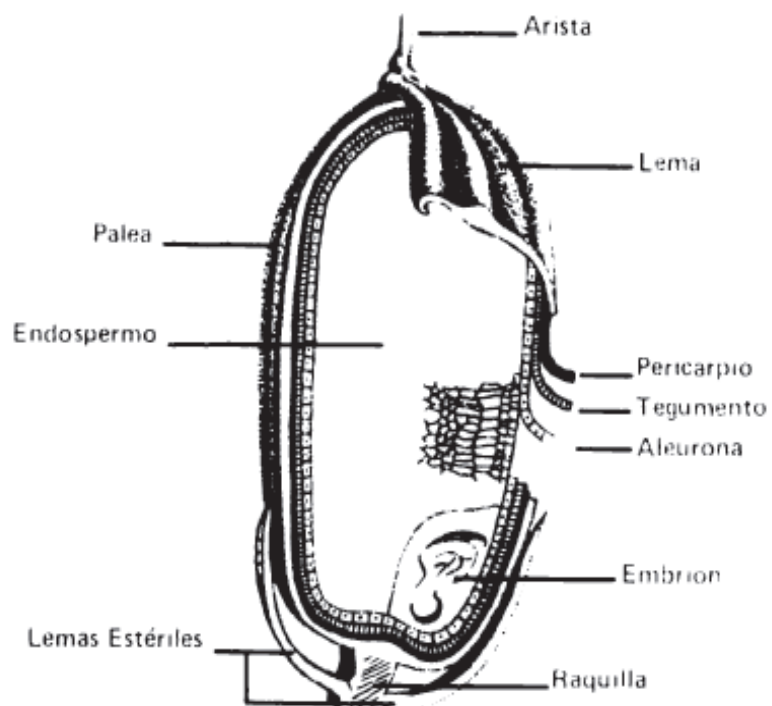


Figura 2. Estructuras de una semilla de arroz (CIAT 1981).



Figura 3. Tipos de granos de arroz (CIAT 1981).

3.2.1 Germinación de la semilla de arroz

Las semillas de arroz sin latencia pueden germinar inmediatamente después de su maduración. Las semillas con latencia están en periodo natural de reposo, que puede romperse artificialmente descascarándolas o sometiéndolas a tratamientos especiales para que puedan germinar.

Muchas de las estructuras de la semilla en germinación son temporales y sus funciones son proteger otras estructuras o establecer la plántula mientras se desarrollan estructuras permanentes.

Si las semillas germinan en agua el coleóptilo, que contiene las hojas embrionarias, emerge antes que la coleorriza. (Figura 4A). Cuando las semillas de arroz germinan en un ambiente aireado, como el de los suelos con buen drenaje, surge primero la coleorriza. (Figura 4B).

Luego la radícula rompe la coleorriza poco después de que ésta aparece; la siguen dos o más raíces seminales, las cuales desarrollan raíces laterales. Las raíces seminales posteriormente mueren y son reemplazadas por raíces adventicias. El coleóptilo emerge como una estructura cilíndrica y al romperse por el ápice sale la hoja primaria y posteriormente la secundaria. (Figura 4 D, E).

El mesocotilo (Figura 4. F) se alarga cuando las semillas germinan en el suelo sin la luz y eleva el coleóptilo sobre la superficie del suelo (CIAT 1981).

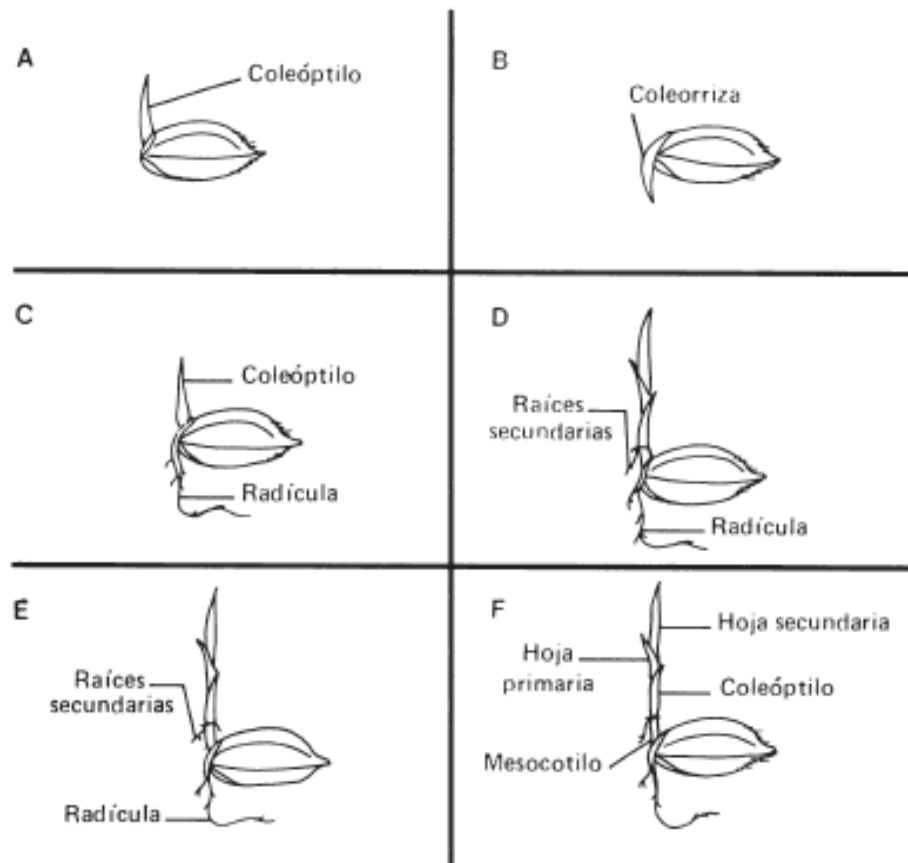


Figura 4. Germinación de la semilla de arroz (CIAT 1981).

3.3 Órganos vegetativos

3.3.1 Raíz

Durante el desarrollo la planta de arroz tiene dos clases de raíces, las seminales o temporales y las adventicias o permanentes.

Las raíces seminales, poco ramificadas, sobreviven corto tiempo después de la germinación, y son reemplazadas por las raíces adventicias que brotan de los nudos subterráneos de los tallos jóvenes. (Figura 5).

En los primeros estados de crecimiento las raíces son blancas, poco ramificadas y relativamente gruesas; a medida que la planta crece se alargan, se adelgazan y se vuelven flácidas, ramificándose abundantemente.

Las raíces adventicias maduras son fibrosas, con raíces secundarias y pelos radicales, y con frecuencia forman vertilicios a partir de los nudos que están sobre la superficie del suelo. (Figura 6A).

El crecimiento y desarrollo de la raíz son características varietales, afectadas por el medio de cultivo y los niveles de fertilización. La longitud de las raíces decrece cuando se incrementa el nivel de nitrógeno en el medio de cultivo. Las raíces de las variedades de baja respuesta al nitrógeno son más largas que las variedades con alta respuesta en condiciones de bajo nivel de nitrógeno. En variedades de arroz flotante se forman raíces adventicias en los nudos y entrenudos más altos de la parte del tallo sumergida en el agua (CIAT 1981).

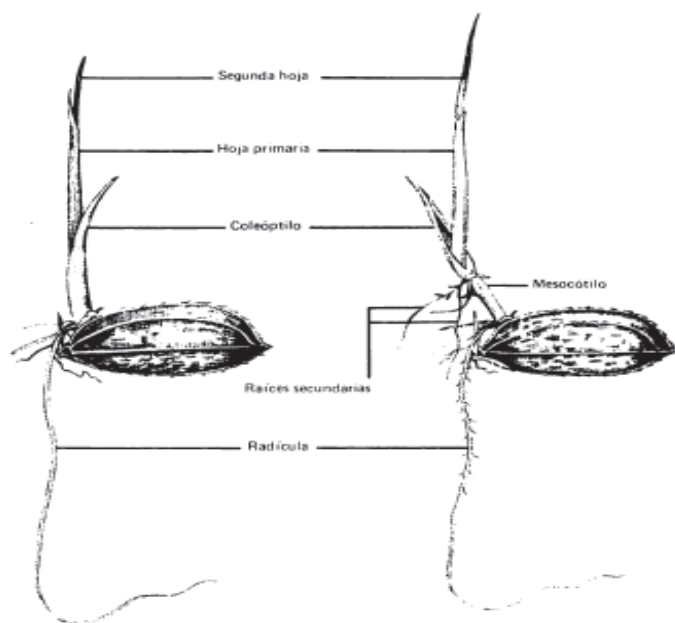


Figura 5. Radícula y raíces secundarias (CIAT 1981).

3.3.2 Tallo

El tallo está formado por la alternación de nudos y entrenudos (Figura 6A). En el nudo o región nodal se forman una hoja y una yema, esta última puede desarrollarse y formar un hijo. La yema se encuentra entre el nudo y la base de la vaina de la hoja. (Figura 6B) El septo es la parte interna del nudo que separa dos entrenudos adyacentes. El entrenudo maduro es hueco, finamente estriado, su superficie es glabra y su brillo y color depende de la variedad.

La altura de la planta de arroz es una función de la longitud, y el número de los entrenudos, los cuales son caracteres varietales definidos, pueden variar por efecto del ambiente, pero en condiciones semejantes tienen valores constantes.

La altura de la planta se mide desde el nivel del suelo hasta la base de la panícula que es el nudo ciliar.

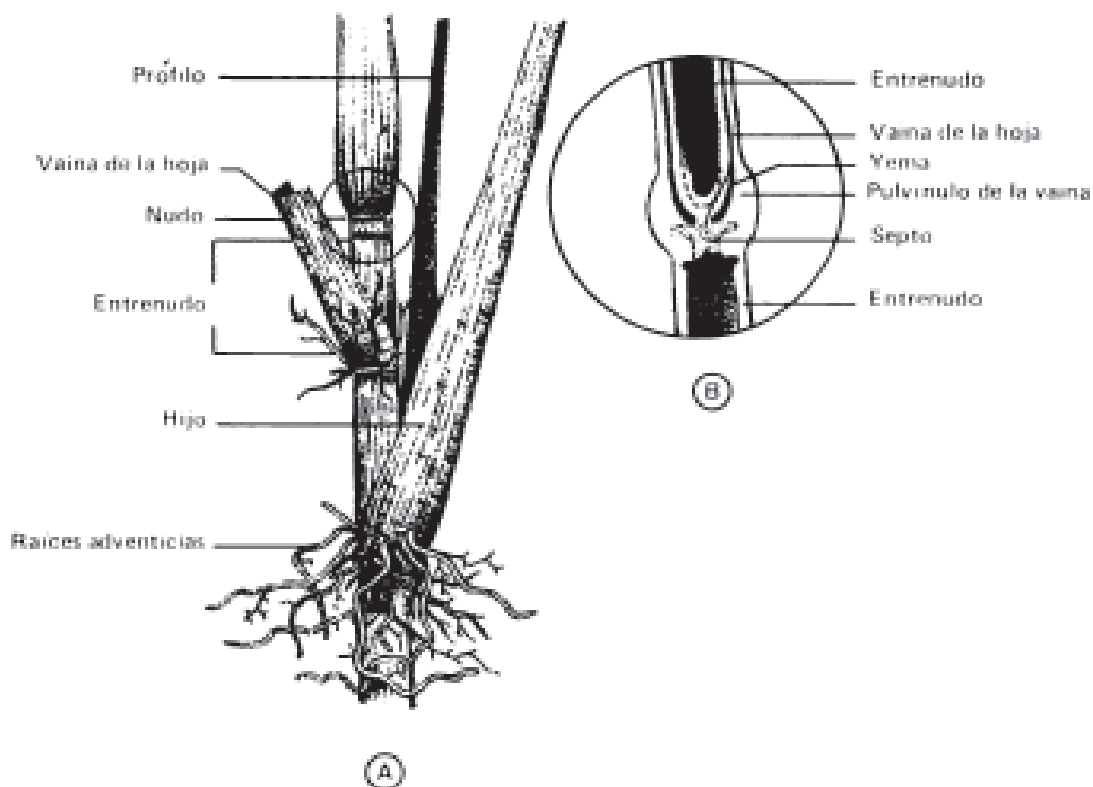


Figura 6. Entrenudo y detalle de un nudo (CIAT 1981).

El tallo con sus hojas es un hijo; estos se desarrollan en orden alterno en el tallo principal. Los hijos primarios se originan en los nudos más bajos, a su vez producen hijos secundarios y estos últimos producen hijos terciarios. El conjunto de hijos y el tallo principal forman la planta o macolla (CIAT 1981).

Los hijos primarios van emergiendo del primero, segundo y siguientes nudos del tallo principal, hasta el sexto nudo. Los hijos secundarios nacen del segundo y el tercer nudo de cada hijo primario. Por último, los hijos terciarios brotan del primer nudo de los hijos secundarios. (Figura 7) (CIAT 1981).

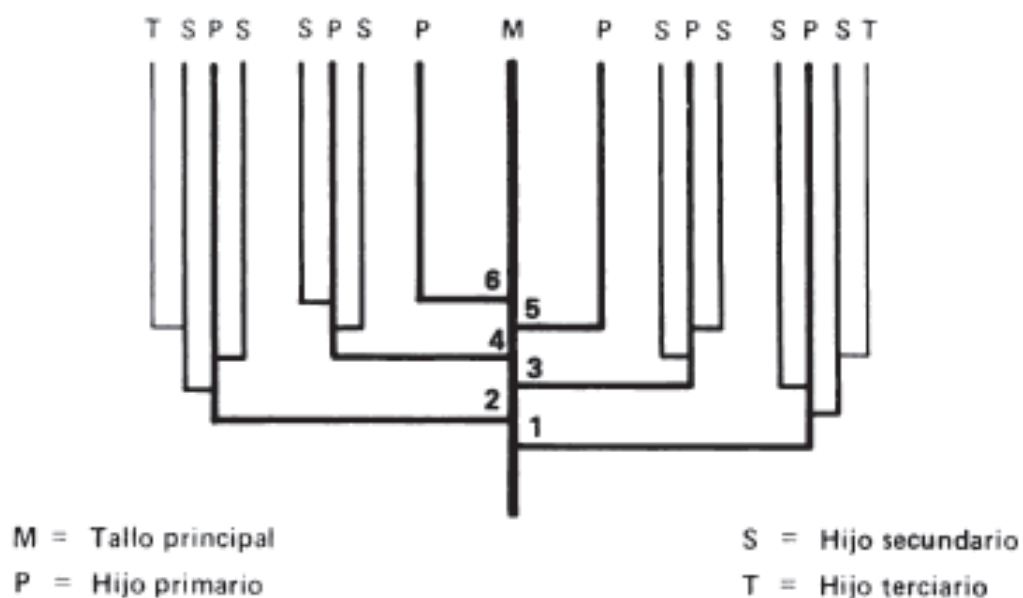


Figura 7. Modelo de macollamiento (CIAT 1981).

3.3.3. Requerimientos para el mantenimiento del arroz

El arroz es una hierba semiacuática, anual que puede cultivarse en una amplia gama de condiciones climáticas, generalmente es cultivado bajo condiciones de inundación superficial “arroz mojado”, pero también es cultivado en aguas con varios metros de profundidad. Presentando una respiración anaeróbica y un tejido denominado parénquima el cual dirige el oxígeno a las raíces.

Épocas críticas del cultivo:

El arroz pasa básicamente por tres fases principales de desarrollo:

- La fase vegetativa que comprende la germinación, el estado de plántula y el macollamiento. La plántula tiene un desarrollo muy rápido hasta el estado de 4 a 5 hojas, seguido del macollamiento caracterizado por un vigoroso crecimiento de raíces y tallos cuyo número depende principalmente de la densidad de población, la variedad y las condiciones de manejo del cultivo.
- La fase reproductiva, que se inicia con la formación del primordio de la panícula en la base del tallo seguida del embuchamiento, estado en el cual ocurre una elongación de los entrenudos de la parte superior del tallo, hasta el máximo embuchamiento en la vaina de la hoja bandera. El cultivo pasa aceleradamente a la floración con elongación rápida de los entrenudos y emergencia de la panícula en pocos días (CIAT 1989).
- Por último, la fase de maduración que se inicia con el estado lechoso hasta el llenado, pasando por el estado pastoso y endurecimiento del grano.

En general, se pueden definir dos épocas críticas del cultivo en relación con las plagas o enfermedades. (Figura 8)

En general, se pueden definir dos épocas críticas del cultivo en relación con las plagas.

1. la época de establecimiento I, que comprende desde la germinación hasta el macollamiento inicial, donde las plántulas pasan por una fase crítica de establecimiento de raíces y de fotosíntesis.

2. La época de reproducción-maduración II, que va desde la formación del primordio hasta la maduración, cuando la planta concentra cada vez más sus recursos en la formación de la panícula (CIAT 1989).

En las otras etapas tiene un alto poder de recuperación

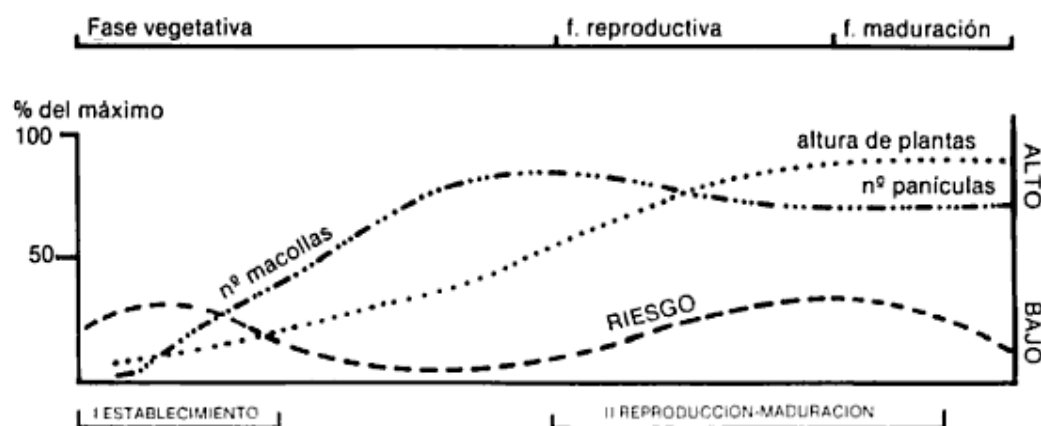


Figura 8. Fases del desarrollo y épocas críticas del cultivo de arroz: vegetativa, reproductiva y de maduración (CIAT 1989).

Este cultivo presenta una serie de exigencias para su germinación y posterior desarrollo como son:

- **Temperatura:** El arroz necesita una temperatura suave, más bien cálida, fuera de la cual es imposible cultivarlo comercialmente, es decir con rendimiento. La temperatura media apropiada para el arroz es de 19° C y la máxima es de 39 – 40 °C. pero que no se entienda con esto que las anteriores temperaturas satisfacen todas las exigencias caloríferas del arroz. Es en primer término necesario, que desde la siembra a la fructificación, la temperatura no sea menor a 12°C. Por otra parte, durante el ciclo vegetativo ha de recibir la planta, determinada suma de calor cuyos sumandos se reparten convenientemente durante los distintos períodos del desarrollo vegetal.

- **Vientos:** En toda clase de plantas los vientos producen efectos variados según sea la dirección y la velocidad, y las corrientes de aire y temperatura, y humedad que los acompaña. Generalmente los vientos suaves son ventajosos para el crecimiento de las plantas ya que estos realizan ciertas “actividades” que facilitan su nutrición y desarrollo, mientras que los vientos fuertes ocasionan lo contrario, ya sea perdidas de jugos nutritivos por causa de la evaporación excesiva, rotura de las ramas, caída de las hojas y flores, perdida del pólen y aborto germinal (Velasco, SF).

- **Terrenos:** Las tierras excesivamente compactas son poco favorables para este cultivo, por el doble defecto de ofrecer grandes dificultades para el laboreo y no permitir un desarrollo conveniente a las raíces de las plantas y los terrenos sueltos no son más favorables que los anteriores, puesto a su excesiva permeabilidad exigen cantidades muy grandes de agua. Tampoco conviene a este cultivo los excesivamente calizos, si bien pueden utilizarse con abonos abundantes.

Así pues, las tierras más convenientes para el arroz son aquellas en que los elementos mecánicos: arcilla, sílice y caliza, entran en proporciones relativamente iguales, sin embargo estas condiciones no son del todo frecuentes, pueden considerarse propias para este cultivo aquellas en que los indicados elementos en la proporción de 15 a 20% de arcilla, 50 a 60% de sílice, 10 a 14% de caliza, y 2 a 4% de materia orgánica, cuyas tierras reciben el denominado de arcillo-silíceo-calcáreas (Velasco, SF).

La siembra de arroz se puede realizar por voleo, a mano, con máquina o por avión. La siembra debe hacerse cuando el agua se encuentra clara y se hayan depositado los lodos en el fondo e inundado con unos 5 cm de altura (Luh, 2001). Desde el 2000 hasta la actualidad, se abre camino una nueva metodología conocida como sistema intensivo de cultivo del arroz (SICA), que permite el trasplante con plántulas de ocho a 12 días de edad, máximo 15 días, a muy bajas densidades y con riegos intermitentes en las fases de crecimiento y madurez, e

inundación solo en la fase reproductiva. Con el uso de este sistema se ha logrado que las producciones de 2 ha alcanzan más de 10 ha sin más fertilizantes químicos, plaguicidas ni variedades, solo rompiendo las reglas convencionales de manejo del arroz. Tradicionalmente, el arroz se trasplanta al campo entre los 42 y 56 días, cuando las plántulas están vigorosas y listas para sobrevivir, colocándose en grupos de tres o más por sitio, con la esperanza de que por lo menos una o dos lleguen a la madurez completa; sin embargo, con este innovador sistema, las plántulas son trasplantadas individualmente a los ocho días, con una disminución en los costos por concepto de semillas y agua (Martín, 2010).

3.4. Cultivo de arroz en Colombia

Según la FAO (2004) en Colombia, el arroz ocupa el primer lugar en términos de valor económico entre los cultivos de ciclo corto. Colombia es el segundo país productor de arroz de América Latina y del Caribe. Colombia es también el país anfitrión del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) y del Fondo Latinoamericano para Arroz de Riego (FLAR).

El país tiene dos sistemas de producción diferenciados: mecanizado y tradicional (o manual). El arroz mecanizado representa el 95 por ciento de la zona de los arrozales y el 98 por ciento de la producción, la mayor parte en las llanuras centrales y orientales. Las zonas de arrozales restantes, los sistemas tradicionales del arroz de monte, emplean casi el mismo número de personas que el sistema mecanizado. Las granjas de arroz mecanizadas son grandes y disponen de unas instalaciones de producción adecuadas, mientras que el arroz de monte tradicional se cultiva en combinación con otros cultivos perennes y anuales.

Las principales cosechas de arroz son de marzo-abril a julio-agosto, y la segunda cosecha abarca de agosto-octubre a enero-febrero. Se han empezado a cultivar variedades mejoradas de arroz *índica*.

El arroz es la principal fuente de calorías y proteínas para las familias de escasos ingresos; que representan aproximadamente el 20% de la población del país. La media nacional del consumo per capita en el 2000 fue de 45,3 Kg. de arroz descascarillado. Además de la producción local, Colombia tiene que importar más arroz para satisfacer su propia demanda. (FAO 2004).

3.5. Aspectos fitosanitarios

Tradicionalmente el control de los patógenos se ha realizado con aplicaciones de agroquímicos, a la semilla, follaje y al suelo, que cumplen roles de fertilizantes y proveedores de nutrientes necesarios para el crecimiento del cultivo, con resultados favorables; sin embargo, su uso trae como consecuencia efectos nocivos sobre el ambiente debido a su residualidad, lo que provoca que se acumulen en cuerpos de agua, suelo, plantas y animales; además, generan resistencia por parte de los fitopatógenos, sin olvidar el detrimento que causa en la salud humana.

3.5.1. Agroquímicos en el arroz

Uno de los agroquímicos importantes para el cultivo del arroz es la urea que tiene el papel de fertilizante químico de origen orgánico y actúa como fuente nitrogenada, ya que la planta de arroz requiere de muchas concentraciones de nitrógeno. Una vez agregada al suelo se hidroliza con rapidez por efecto de la enzima “ureasa” y por la temperatura del suelo. En suelos desnudos y con aplicaciones superficiales de Urea, algún porcentaje de Amoníaco ($\text{NH}^+ 3$) se pierde por volatilización. La Urea, al hidrolizarse produce Amonio y bicarbonato. Los iones bicarbonato reaccionan con la acidez del suelo e incrementan el pH en la zona próxima al sitio de reacción de este fertilizante. Una vez que la urea se ha convertido en Amonio ($\text{NH}^+ 4$), éste es absorbido por las arcillas y la materia orgánica del suelo y el Amonio es eventualmente nitrificado o absorbido directamente por las plantas. (Fertisquisa, datos no publ).

Otro compuesto químico es el Fosfato Diamónico (DAP) que también cumple el papel de fertilizante sólido aplicado directamente al suelo con la más alta concentración de nutrientes primarios, se considera un complejo químico por contar con 2 nutrientes en su formulación. Es una fórmula muy apreciada por los agricultores ya que tiene una relación costo-beneficio muy positiva en cuanto a aporte de nutrientes (64%) y por consiguiente por el costo de la tonelada transportada por concentración de nutrientes. El Fosfato Diamónico (DAP), se clasifica primordialmente como una fuente de Fósforo y como complemento secundario de Nitrógeno, sin embargo, la presencia del 18% de Nitrógeno en esta fórmula, influye favorablemente en la absorción y aprovechamiento del Fósforo, este efecto es debido que el Amonio (NH_4^+) influye significativamente sobre la disponibilidad y absorción del Fósforo (P_2O_5). El Amonio en altas concentraciones reduce las reacciones de fijación del Fósforo, igualmente, la absorción del Amonio ayuda a mantener condición de acidez en el contorno de la raíz, condición que mejora la absorción del Fósforo, gracias a esta sinergia del N-P, la fórmula del DAP 18-46-00 es de alta eficiencia como fertilizante (Fertisquisa, datos no publ).

Entre otros compuestos químicos agregados al cultivo se encuentra el KCL o Cloruro de Potasio que es la fuente de fertilización de Potasio (K) más usada en el mundo (Fertisquisa, datos no publ). El contenido de Potasio se expresa como equivalente de K_2O (Óxido de Potasio) o Potasa, el KCl es un fertilizante inorgánico que se obtiene de diversos minerales tales como: Silvinita que es un Mineral compuesto principalmente de Cloruro de Potasio (KCl) y Cloruro de Sodio (NaCl), con un contenido de 20% a 30% de K_2O , Silvita que es un Mineral compuesto principalmente de Cloruro de Potasio (KCl), con un contenido de 63% de K_2O , Kainita, Mineral compuesto por Cloruro de Potasio (KCl) y Sulfato de Magnesio (MgSO_4), con un contenido de 12% a 16% de K_2O y Carnalita, Mineral compuesto principalmente de Dicloruro de Magnesio (MgCl_2) y Cloruro de Potasio, con un contenido de 9% a 10% de K_2O . A pesar de que la mayoría de los suelos son ricos en Potasio (K), solo una mínima parte (2%) de éste es disponible para la

planta. En el suelo existe K no disponible el cual es fuertemente retenido por los minerales primarios del suelo (rocas). El K es liberado en la medida que los minerales se meteorizan o descomponen por acción de la temperatura y humedad. También hay K lentamente disponible el cual queda atrapado o fijado en las capas de algunos tipos de arcillas, estas capas de arcilla se contraen o expanden por efecto de la humedad, proceso que permite atrapar los iones de Potasio (K^+) haciéndolos lentamente disponibles para la planta. Existen dos formas de K disponible, una es el K en la solución del suelo (en agua del suelo) y el K intercambiabile retenido en las arcillas y la materia orgánica del suelo en forma coloidal. Los coloides del suelo tienen cargas negativas (-) que atraen los cationes como el Potasio (K^+). La Capacidad de Intercambio Catiónico del suelo es determinante para el K disponible, así mismos son retenidos en forma intercambiabile (adsorbidos), estos cationes intercambiabbles están en equilibrio con los presentes en la solución del suelo, a medida que el cultivo remueve K de la solución del suelo, el K intercambiabile se libera y repone el K de la solución del suelo. El K es reemplazado por otro catión (K^+) en el coloide del suelo con lo cual se mantiene nuevamente en equilibrio, por lo que, mediante el proceso de intercambio catiónico, el K está continuamente disponible para el crecimiento del cultivo. El Potasio es prácticamente inmóvil en el suelo, su movimiento hacia el sistema radical del cultivo es por difusión (a través de la película de agua que rodea las partículas del suelo). En suelos arenosos y orgánicos se puede lixiviar o percollar, los suelos arenosos tienen baja capacidad de retención de cationes por lo que el K intercambiabile es menor (Fertisquisa, datos no publ).

Otros compuestos agregados al cultivo son el Sulfato de Zinc y herbicidas como (Butaclor, Clomaxone y Metsulfuron) estas aplicaciones de herbicidas con diferentes composiciones químicas y formas de actuar, han demostrado su enorme capacidad para eliminar la competencia entre las malezas y las plantaciones forestales y cultivos agrícolas, por agua, nutrientes, luz y espacio, (Fischer y Binkley 2001). Esto ha permitido aumentar los rendimientos de las plantaciones y también ampliar la diversidad de productos que pueden obtenerse

de las plantaciones, al aumentar los rendimientos y la calidad de la madera. A pesar de esos logros, algunos herbicidas han sido cuestionados por razones ambientales, por contaminar el suelo o dañar la salud de los habitantes. En la actualidad, existen del orden de 100.000 formulaciones distintas con unos 1.500 principios activos diferentes, con una mezcla de nomenclatura química y comercial que complica enormemente su identificación (Orozco *et al* 2003).

La mayoría de los herbicidas son degradados en el suelo, por medio de una descomposición microbiana. Además de la degradación microbiana, la mayoría son degradados por reacciones químicas como la hidrólisis ácida. Para que sean degradadas por los microorganismos, las moléculas de los herbicidas deben estar libres, no unidos a las partículas del suelo o de la materia orgánica. La mayoría de las moléculas que los componen, son adsorbidas en forma más eficiente a las partículas de los suelos, cuando estos se encuentran con un bajo contenido de humedad. La degradación química de los herbicidas, es afectada por el pH del suelo. La hidrólisis ácida cesa cuando el pH del suelo alcanza valores sobre 6,8. (Bohn *et al* 1993).

Todo herbicida tiene selectividad relativa, es decir, es selectivo bajo ciertas condiciones y en determinadas dosis. La aplicación de una sobredosis del producto ocasionaría daño al cultivo; los síntomas de toxicidad del herbicida en el cultivo los determina el modo de actuar del producto.

Los síntomas más característicos de toxicidad causados por los herbicidas en las plantas son: clorosis, necrosis, enanismo, reducción en la población del cultivo, efectos násticos. encebollamiento, torcimiento. Es importante saber que los herbicidas causan daños a los cultivos. Las causas más comunes de fitotoxicidad de los herbicidas en los cultivos son dosis excesivas, productos aplicados a un cultivo susceptible, aplicación al cultivo en el estado de crecimiento que sea más susceptible, residuos de aplicaciones anteriores, lixiviación por exceso de lluvia o en suelos livianos, acarreo del producto por el viento, volatilización del producto, aplicación dirigida mal hecha, incompatibilidad de los agroquímicos que se

apliquen en mezcla, uso de aspersores con residuos de otro producto (CIAT 1982).

Los herbicidas han sido clasificados en seis categorías principales según el proceso fisiológico de la planta que sea afectado por ellos:

1. Herbicidas que afectan la fotosíntesis
2. Herbicidas que afectan la formación de ATP y la respiración
3. Herbicidas que afectan las membranas celulares
4. Herbicidas que afectan síntesis de los ácidos nucleicos.
5. Herbicidas que afectan la germinación, la brotación y el crecimiento de las raíces y del coleóptilo.
6. Herbicidas que afectan las proteínas.

Entre los herbicidas que afectan la fotosíntesis se encuentran las Ureas sustituidas, las cuales también son vertidas al cultivo en forma de fertilizantes, y proveedores de Nitrógeno, son aplicadas al suelo y posteriormente absorbidos por las raíces y trasladados dentro de la planta únicamente por el Xilema. En general bloquea la reacción de Hill en la fotosíntesis; las plantas afectadas por ellos presentan como síntomas típicos clorosis foliar, seguida por necrosis y muerte de la planta (CIAT 1982).

Lo anterior justifica plenamente la búsqueda de agentes de control biológico (CB) como una alternativa viable al uso indiscriminado de herbicidas en la agricultura. Existen otras alternativas de manejo de cultivos, el cual ha demostrado ser una opción efectiva, rentable y mucho más amigable con el medio ambiente, puesto que genera poco o ningún efecto nocivo contra los enemigos naturales de las plagas o patógenos de los cultivos, la resistencia de las plagas o enfermedades a este control es muy rara, tampoco presentan el riesgo de intoxicación y evita las plagas secundarias, como también una mayor relación coste/beneficio. Por esta razón el presente trabajo pretendió aplicar tratamientos tanto a la semilla como a

la planta de arroz, empleando tres protectantes biológicos compuestos por *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* y BIOCHAR (carbón vegetal) operando como fertilizantes en el cultivo de arroz supliendo todas las necesidades que requiere el cultivo convencional y controlando los diversos patógenos que se encuentran en el cultivo de arroz.

3.6. Protectantes biológicos

3.6.1. *Trichoderma harzianum*

La clasificación taxonómica actual lo ubica dentro del Reino de las plantas, División Mycota, Sub división Eumycota, Clase Ascomycetes anamorfos, Orden Moniliales, Familia Moniliaceae, Género *Trichoderma* con 27 especies conocidas como: *T. harzianum* Rifai, *T. viride* Pers., *T. polysporum* Link fr, *T. reesei* EG Simmons, *T. virens*, *T. longibrachatum* Rifai, *T. parceromosum*, *T. pseudokoningii*, *T. hamatum*, *T. lignorum* y *T. citroviride*.

Su fase perfecta (estado Teleomorfo) lo ubica en la Clase Ascomycetes, Serie Pyrenomycetes, Orden Hipocreales, Género Hypocrea. Tiene como sinónimos el género *Tolypocladium*.

Posee buenas cualidades para el control de enfermedades en plantas causadas por patógenos fúngicos del suelo, principalmente de los géneros *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium* y *Fusarium* entre otros. Las especies de *Trichoderma* actúan como hiperparásitos competitivos que producen metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas a los que se les atribuyen los cambios estructurales a nivel celular, tales como vacuolización, granulación, desintegración del citoplasma y lisis celular, encontrados en los organismos con los que interactúa (Ezziyyani et al. 2004)

Las especies del género *Trichoderma* son los antagonistas más utilizados para el control de enfermedades de plantas producidos por hongos, debido a su ubicuidad, a su facilidad para ser aisladas y cultivadas, a su crecimiento rápido en un gran número de sustratos y a que no atacan a plantas superiores (Papavizas et

al. 1982). Los mecanismos por los que las cepas del género *Trichoderma* desplazan al fitopatógeno son fundamentalmente de tres tipos. Competición directa por el espacio o por los nutrientes (Elad & Baker 1985, Elad & Chet 1987, Chet & Ibar 1994, Belanger *et al.* 1995), producción de metabolitos antibióticos, ya sean de naturaleza volátil o no volátil (Chet *et al.* 1997, Sid Ahmed *et al.* 2000, Sid Ahmed *et al.* 2003) y parasitismo directo de determinadas especies de *Trichoderma* sobre los hongos fitopatógenos (Yedidia *et al.* 1999, Ezziyyani *et al.* 2003).

3.6.2. *Bacillus subtilis*

División: Firmicutes

Familia: *Bacillaceae*

Género: *Bacillus*

Especie: *Bacillus subtilis*

Bacteria Gram positiva, Catalasa-positiva, aerobio facultativo comúnmente encontrada en el suelo. Miembro del Género *Bacillus*, *B. subtilis* tiene la habilidad para formar una resistente endospora protectora, permitiendo al organismo tolerar condiciones ambientalmente extremas.

B. subtilis no es considerado patógeno humano; sin embargo, puede contaminar los alimentos, pero raramente causa intoxicación alimenticia. Sus esporas pueden sobrevivir la calefacción extrema que a menudo es usada para cocinar el alimento, y es responsable de causar la fibrosidad en el pan estropeado.

Schaechter (2008), cita que el nombre científico *subtilis* deriva del latín “fino, delgado, delicado”. El idioma francés del siglo 14 lo reemplazó a *subtil*, significando “ingenioso, diestro”.

B. subtilis se ha mostrado muy manejable para la manipulación genética, y se ha hecho, por lo tanto, extensamente adoptado como un organismo modelo para estudios de laboratorio, sobre todo de esporulación, que es un ejemplo

simplificado de la diferenciación celular. En términos de popularidad como un organismo modelo de laboratorio *B. subtilis* a menudo es usado como el equivalente Gram positivo de *Escherichia coli*, un bacilo Gram negativo estudiado extensivamente.

Es una bacteria Gram positiva que sirve en métodos de manipulación genética en el caso de la experimentación con uracilo y con enzimas *dut* y *ump* (Madigan M. 2005).

Actualmente, se comercializan a gran escala productos a base de *B. subtilis* siendo los Estados Unidos los líderes en este campo. En 1994, estos productos se aplicaron en 2 millones de ha en ese país. En 1997 Alemania aprobó la comercialización de productos con *B. subtilis* como ingrediente activo. Se han realizado muchas investigaciones sobre el uso de los componentes activos presentes en el caldo de cultivo (Fernandez-Larrea, O. 2001).

3.6.3 BIOCHAR

El término 'BIOCHAR' fue referenciado por Peter Read en el año 2005 (uno de los defensores más conocidos de las grandes plantaciones de 'BIOCHAR') para describir el carbón vegetal usado como abono en agricultura. Algunas empresas usan la palabra 'BIOCHAR' para describir cualquier uso del carbón vegetal, incluso como combustible o para la industria, porque la palabra 'BIOCHAR' suena más 'limpia y verde' que la denominación 'carbón vegetal'.

El carbón vegetal se produce al quemar materia orgánica como madera, hierba, estiércol o residuos de la producción de azúcar de caña o palma aceitera con baja concentración de oxígeno. La combustión con poca presencia de oxígeno se conoce como **pirólisis**. Existen diferentes técnicas de pirólisis, dependiendo de la velocidad, la temperatura y la cantidad de oxígeno. Además de obtenerse carbón vegetal, esta forma de pirólisis también da como productos resultantes 'bio-aceite' y 'syngas', los cuales pueden refinarse aún más para su posterior uso para el transporte por carretera o, potencialmente, para elaborar combustibles para aviación. La pirólisis se puede usar para generar electricidad, combustible para

barcos, calderas, fundiciones de aluminio y cocinas (Ernsting A & Smolker R 2009).

3.7. Principales enfermedades y soluciones biológicas de enfermedades en el arroz

A lo largo de su ciclo de vida, puede ser atacado por una serie de patógenos como por ejemplo los pertenecientes al complejo de hongos *Helminthosporium* los cuales atacan raíz, tallo, hojas, panículas y granos del cultivo del arroz (Rodríguez et al 1988). Entre los síntomas producidos en las hojas del arroz se incluyen lesiones pequeñas, circulares y de color marrón, mientras que en las vainas las lesiones ocurren en pequeños puntos ovales acuosos de color verde oliva con un halo amarillo (Ou 1985). También Cardona *et al* (2008) trabajó y aisló hongos de este complejo *Helminthosporium* encontrando en las hojas de arroz el hongo *Bipolaris oryzae* y en las semillas los hongos *B. oryzae* y *Exserohilum rostratum* caracterizando morfológicamente y estableciendo la patogenicidad de estos aislamientos obtenidos de un cultivar de arroz proveniente de la zona productora del estado Portuguesa, Venezuela.

Todas estas enfermedades que sufren los cultivos, han causado grandes pérdidas económicas y con ellas el desempleo, hambrunas, enfermedades, etc., es por esto que la búsqueda de agentes de control biológico que puedan disminuir la carga inicial infectiva de la enfermedad o plaga constituye es un reto y una vía más para disminuir las pérdidas y la contaminación ambiental.

Dentro de las diferentes metodologías utilizadas para el control biológico se tiene la utilización de fungicidas o protectantes biológicos, los cuales actúan de una manera no específica y su uso se basa principalmente en la aplicación en formas insolubles sobre las superficies de las plantas en donde erradicaran las esporas, sin penetrar en ella, la cual está protegida contra químicos por una barrera que es la cutícula. Estos productos pueden prevenir hasta cierto grado la infección posterior sobre aquellas hojas emergidas después de la aplicación. El efecto

erradicativo reduce la tasa de desarrollo de la enfermedad. La duración del control erradicante es influenciado por varios factores, además del periodo de acción del producto sobre y dentro de los tejidos de la planta, pero se asume que es determinado principalmente por la intensidad de la reducción de la tasa de desarrollo de la enfermedad (Castaño 2002).

Algunos de los organismos fungicidas utilizado como controladores biológicos eficientes los constituyen algunos hongos como *Trichoderma harzianum* y *T. viride* y bacterias como *Bacillus subtilis* que son agentes antagonistas de control muy importantes y estudiados, debido a su ubicuidad, facilidad de aislamiento y cultivo, rápido crecimiento en muchos sustratos, control de amplio rango de patógenos, acción como microparásitos y alta competencia por alimento y espacio (Wells 1988).

Entre los estudios y análisis realizados con el hongo *Trichoderma harzianum* se encuentra el de Peña *et al* (2007) el cual realizó un estudio en el Laboratorio de Mejoramiento Genético del Centro de Bioplasmas de la Universidad de Ciego de Ávila en Cuba, con el objetivo de buscar nuevas alternativas de control biológico con especies de *Trichoderma* autóctonas de suelos de paja que presentaban una mayor competitividad y antagonismo sobre agentes causales presentes en el sistema dando como resultado una capacidad hiperparasítica de los aislamientos utilizados en el biocontrol, además de ejercer un fuerte antagonismo sobre *P. nicotianae*, *R. solani* y *F. subglutinans*.

Además de este trabajo, se encuentra el de Reyes *et al* (2008) la cual trabajó con trece aislamientos de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia* sp. causando enfermedades como el Tizón de la Vaina o Mancha Oriental la cual es considerada la segunda enfermedad de importancia en Cuba y el mundo en el cultivo del arroz, en donde los métodos utilizados para su control aún no son efectivos; en la actualidad existe una tendencia al uso del control biológico, donde se reconoce la potencialidad de *Trichoderma*, con resultados positivos como

antagonista sobre *Rhizoctonia* y otros patógenos del suelo. En su trabajo se pudo observar la competencia por el sustrato, micoparasitismo y la antibiosis por parte de este hongo, así mismo se mostraron que el 100 % de los aislados presentaron alta capacidad antagónica, con diferentes tipos de interacción hifal: lisis, vacuolización, enrollamiento y penetración.

Igualmente, Alguacil *et al* 2005. Reporta el antagonismo de hongos fitopatógenos y saprobios en suelos hortícolas. Describe 2 cepas (*Trichoderma harzianum* y *T. koningii*) con capacidad antagónica frente a fitopatógenos (*Fusarium solani*, *F. oxysporum* y *Alternaria solani*) donde las dos especies muestran un fuerte antagonismo para *Alternaria solani* y *Fusarium*.

Alexander M (1980) presentó el control biológico de patógenos en plantas de interés comercial. Seleccionó y desarrolló antagonistas de patógenos de plantas entre ellos *Trichoderma spp.*, *Bacillus subtilis* y *Gliocadium roseum*, donde se empezaron a desarrollar estos métodos en Brasil.

Barea Jm. *et al* (1995) describe el uso de agentes biológicos y de enmiendas orgánicas para el control de fitopatógenos del suelo en cultivos hortícolas. Se aislaron cepas de *Pseudomonas fluorescens* y *Trichoderma spp* de la rizósfera evaluando el antagonismo frente a tres fitopatógenos (*Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* y *Sclaeotinia sclerotium*) demostrándose que se puede producir en biomasa *Trichoderma spp* a nivel de laboratorio empezándose hacer formulaciones en almácigos.

En las últimas cinco décadas se ha introducido en la literatura el estudio del control biológico fúngico por medio de metabolitos inhibidores de hongos fitopatógenos; este mecanismo de acción, conocido como antibiosis, tiene su base en la producción metabólica de moléculas tóxicas volátiles y enzimas hidrolíticas, como son quitinasas, glucanasas, lipasas y proteasas (Baker & Griffin 1995). Un ejemplo de ello fue el estudio *in vitro* de Basurto- cadena *et al* (2010) el cual logró

demostrar que *B. subtilis* inhibe el crecimiento natural de los hongos *R. solani* y *F. verticillioides*, aislados de plantas enfermas de fresón, y a nivel de invernadero confirmando así un antagonismo; ya que, *B. subtilis* libera sustancias inhibitorias que producen modificaciones morfológicas sucesivas en las hifas de los hongos patógenos hasta el colapso total de su estructura celular.

Como se conoce, el suelo es el medio natural donde las comunidades microbianas encuentran condiciones favorables para su desarrollo y es el escenario donde se llevan a cabo complejas y diversas interacciones entre los componentes de la biota que lo habitan. Según Atlas & Bartha (1993) la interacción entre las poblaciones es una fuerza que dirige la evolución de la estructura comunitaria microbiana; la interacción entre los hongos y las bacterias es un clásico ejemplo de ello. Es de considerable interés científico conocer la influencia que pudiera ejercer la interacción del hongo *Trichoderma* en bacterias dinitrofijadoras de vida libre. También la aplicabilidad práctica de estos conocimientos puede constituir un factor en el mejoramiento agrícola y en la conservación del medio ambiente. Ghisalberti & Sivasithamparan (1991) reportan la acción antagonista de este hongo sobre bacterias Gram positivas y negativas. Hernández *et al.* (1996) detecta resultados altamente positivos en la cosecha de la variedad Red Creole (cebolla) al inocularla con *Trichoderma sp.* y *Azotobacter sp.* Bashan & Holguin (1997) y Bécquer *et al* (2000) también realizaron la interacción de *Trichoderma harzianum* con bacterias dinitrofijadoras de vida libre y demostraron que *Azospirillum brasilense* fue capaz de inhibir el crecimiento de este hongo, mientras que las demás cepas bacterianas no mostraron actividad antagónica.

Hay un gran complejo multidisciplinario que acoge con gran interés los temas de enfermedades y plagas en los cultivos, o demás temas relacionados con la agricultura, así como también en la producción, la parte económica, la ornamental, etc., es por eso que a lo largo de todos estos años se ha venido trabajando con herbicidas, fungicidas y plaguicidas químicos, y en el mejor de los casos, con controladores biológicos que ayudan a preservar mejor el entorno y alrededores, así como también ayudándose con fertilizantes para una debida complementación

a estos compuestos que ayudan a erradicar los respectivos problemas, ya sean plagas o enfermedades, y produciendo un debido enriquecimiento de suelo y favoreciendo el crecimiento vegetal (Thompson, 1988).

3.8. Clorofila y la importancia de luz en las plantas:

En una planta más del 90% de su peso seco está constituido por las diferentes sustancias y moléculas orgánicas que forman sus estructuras celulares o que regulan su metabolismo. Las cadenas carbonadas iniciales que emplean todas las células las proporciona la fotosíntesis.

La vida en la Tierra continúa dependiendo de la fotosíntesis. Los organismos fotosintéticos capturan la energía de la luz y, en una serie de reacciones muy complejas, la utilizan para fabricar los glúcidos, y liberar el oxígeno, a partir del dióxido de carbono y del agua. Los fotosintetizadores principales son las plantas y las algas microscópicas marinas. Alrededor de 100.000 millones de toneladas de carbono al año son fijadas en compuestos orgánicos por los organismos fotosintéticos. La ecuación global de la fotosíntesis puede resumirse de la siguiente manera: **Dióxidos de carbono + Agua + Energía de la luz $\longrightarrow$ Glucosa + Oxígeno.**

La fotosíntesis es en esencia un proceso de óxido – reducción, en el que el carbono del dióxido de carbono (CO_2) se reduce a carbono orgánico. Aunque en algunos microorganismo fotosintéticos el proceso es algo diferente, la fotosíntesis en las plantas consiste básicamente en la producción de una sustancia orgánica a partir de moléculas inorgánicas (el dióxido de carbono como sustrato a reducir, y el agua como dador de electrones que se oxida), mediante el aprovechamiento de la energía lumínica (que queda almacenada como energía química dentro de la molécula sintetizada) y con desprendimiento de oxígeno (García, 2006).

Si bien, la clorofila es la molécula clave de todos estos procesos, ya que se encarga de capturar la energía lumínica de las membranas tilacoideas, y absorbe

intensamente la luz violeta, azul y roja, pero refleja la verde. Puesto que a nuestros ojos llegan longitudes de ondas de color verde y casi todas las hojas se ven verdes porque son ricas en clorofila (Audesirk, 2004).

Es muy activa en los procesos de fotosíntesis, que proporciona color, con otros pigmentos (entre ellos la antofila y el caroteno) y se estima en unos 2 gramos el peso de clorofila tipo A y en 0.50 gramos el de clorofila tipo B por kilogramo de hojas secas (Fraume, 2007).

Este proceso fotoquímico produce, además, oxígeno que es liberado a la atmósfera y tiene fundamental importancia para la vida en general, ya que permite cumplir el proceso respiratorio.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Evaluación de la eficiencia de *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* y BIOCHAR en simulaciones de cultivos de arroz como alternativa de control biológico para la sustitución de agroquímicos.

4.2. Objetivos específicos

1. Evaluar la eficiencia de *Trichoderma sp.*, *Bacillus subtilis* y BIOCHAR en procesos de germinación de las semillas de arroz.
2. Evaluar el número de macollas por m², número de macollas activas, número de granos x espiga, peso de 1000 semillas (índice de semillas). (% vano), clorofila, largo de la panícula, largo y ancho de la hoja de arroz, panículas por m², porcentaje de granos buenos.

3. Determinar la eficiencia de *Trichoderma sp.*, *Bacillus subtilis* y BIOCHAR en la producción de arroz comparado con los tratamientos convencionales.

5. HIPÓTESIS Y RESULTADOS ESPERADOS

Se observaron variaciones significativas entre los tratamientos orgánicos comparados con los tratamientos convencionales de la empresa, esto será producto de la eficacia de estos, ya que actúan como biofertilizantes y tienen un triple papel como suministradores de nutrientes, fitohormonas y antagonistas de hongos fitopatógenos.

Se espera encontrar resultados positivos para la producción y mantenimiento de los cultivos de arroz, ya que también se tendrá un costo/beneficio más favorable y con mayores cuidados hacia el ecosistema, así como también más resistencia para evitar los ataques de plagas y evitar las intoxicaciones por parte de la comunidad.

6. MATERIALES Y METODOS

6.1. Localización del estudio

El presente estudio se llevó a cabo en la segunda casa de malla ubicada en el invernadero de la estación experimental del departamento de biología de la Universidad del Valle, sede Meléndez, a los 982 msnm, a una temperatura aproximadamente 27 °C, humedad relativa promedio de 73%, con 3° 22' 23.54" N y 76°31'50.97"O.



Figura 9. Estación experimental del Departamento de Biología

6.2. Aplicación de los tratamientos al cultivo simulado

Se aplicaron ocho tratamientos sobre semillas de arroz de la variedad F arroz 60, y posteriormente se dividieron en dos etapas:

Eta 1: Germinación de las semillas de arroz con 3 productos evaluados y comparados con el control convencional de la empresa:

- ❖ *Bacillus subtilis*
- ❖ *Trichoderma harzianum*
- ❖ BIOCHAR
- ❖ Control convencional de la empresa

Realizando 8 bloques de tratamientos con 3 réplicas para un total de 24 bandejas, es decir:

1. El control con sus tres repeticiones
2. El tratamiento con *Bacillus subtilis*
3. El tratamiento solo con BIOCHAR
4. El tratamiento con *B. subtilis* y BIOCHAR
5. El tratamiento con *Trichoderma harzianum*
6. El tratamiento con *B. subtilis* y *Trichoderma harzianum*

7. El tratamiento con *T. harzianum* y BIOCHAR

8. El tratamiento con *B. subtilis*, *Trichoderma harzianum* y BIOCHAR.

6.3. Evaluación de la eficiencia de *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* y BIOCHAR (Protectantes Biológicos) en procesos de germinación de semillas de arroz.



Figura 10. Siembra y aplicación de los tratamientos.

SIEMBRA DE LAS SEMILLAS Y APLICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS:

La siembra y aplicación de los tratamientos se llevó a cabo sobre tierra proveniente de los cultivos de la empresa arrocera la esmeralda o arroz blanquita, la cual fue depositada en 24 bandejas de lámina galvanizada con dimensiones de 80x40 cm de largo y ancho respectivamente y con una profundidad de 16,5 cm actuando como la unidad experimental, utilizando semillas de la variedad F arroz 60.

Para ello, se utilizó el método del semillero, el cual consistió en tomar al azar un número determinado de semillas y sembrarlas en tierra o arena depositada las bandejas (Figura 11a). Las semillas se cubrieron ligeramente con tierra o arena (Figura 11b), y se mantuvo la humedad regando diariamente. Una semana después de la siembra se contó el número de plántulas normales (Figura 11c) y se calculó el porcentaje de germinación según la siguiente fórmula:

% de germinación = $((\text{N}^{\circ} \text{ de semillas germinadas} \times 100) / \text{N}^{\circ} \text{ de semillas usadas}))$,
se observó el vigor de la planta, y se tuvo en cuenta el tiempo de desarrollo.

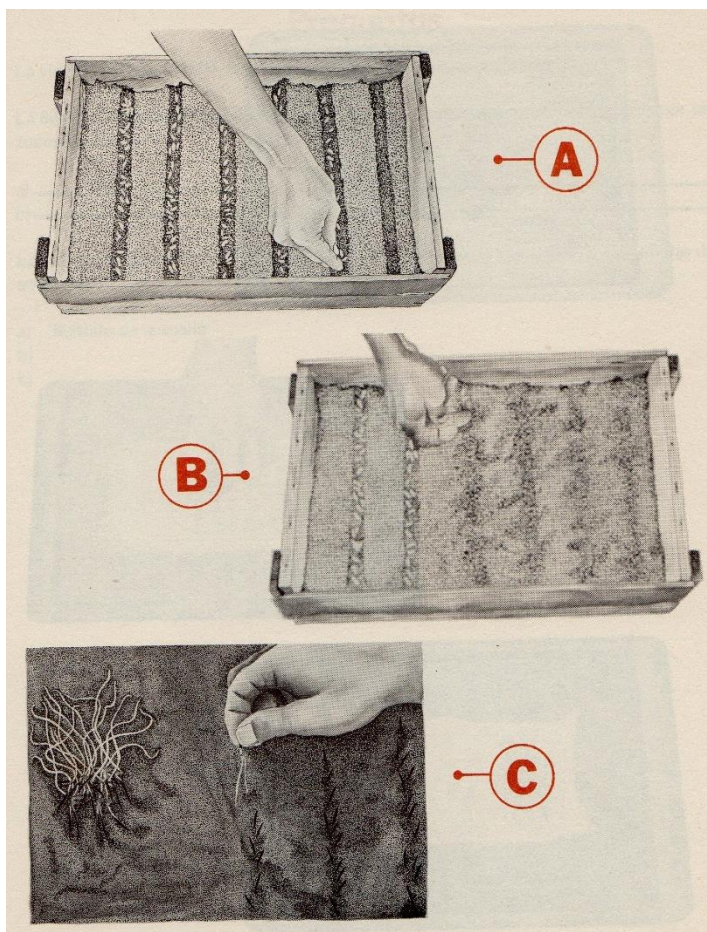


Figura 11. Determinación de la viabilidad por el método del semillero.

Al sembrar las semillas se organizaron en surcos con una distancia de aproximadamente 17 cm, y cada semilla con una distancia de 2 cm. Además, se estableció el vigor de la planta y la Floración.

Para la aplicación de los tratamientos, se realizó acorde con los del cultivo convencional, es decir; en el momento de siembra, a los 25 días después, y posteriormente a los 50 días. Las plantas evaluadas se llevaron hasta el momento de floración y cosecha y se tomaron medidas constantes para unos mejores resultados.

Para la medición de las dosis aplicadas a los tratamientos, se hizo uso de una balanza analítica (Denver Instrument Company AA - 160) evaluando la proporcionalidad de las dosis recomendadas, decir, *Trichoderma harzianum* 500 gr /ha, diluidos en 300 o 200 Litros de agua y *Bacillus subtilis* 1000 gr /ha. (Figura 12).

La dosis de ***Trichoderma harzianum*** que se aplicó por primera vez al suelo fue de 0,00016 gr por bandeja. Las siguientes aplicaciones variaban de 0,00008gr a 0,00016 gr y fueron diluidas en 250 cc de agua.

La dosis de ***Bacillus subtilis*** que se aplicó al suelo por primera vez fue de 0.32 g por bandeja. Las siguientes aplicaciones variaban entre 0.16 g y 0.32 g y fueron diluidas en 250 cc de agua.

El **BIOCHAR** se aplicó midiendo un pocillo de icopor de 10 onzas, llenándolo a ras del material.

En el control se aplicó empleando los mismos agroquímicos utilizados por la empresa, es decir: Sulfato de zinc con 0.64 gr, el DAP con 1.6 gr, el KCL con 3.2 gr, la Urea eran 9.6 gr por bandeja, el clomaxones, Metsulfuron Butaclor y Propanil

fueron vertidos por medio de un aspersor después de 15 días ya que son químicos post- emergentes.



Figura 12. Medición de las concentraciones

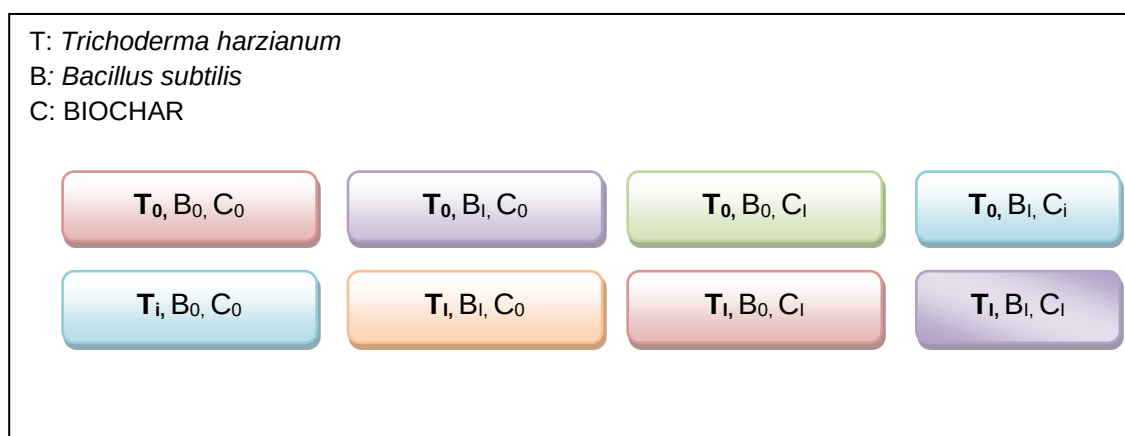


Figura 13. Bandejas experimentales

6.4. Determinación de la eficiencia de *Bacillus subtilis*, *Trichoderma harzianum* y BIOCHAR en la producción de arroz comparado con los tratamientos convencionales.

Una vez, establecidas las bandejas experimentales, se realizó un seguimiento a las plantas ya desarrolladas a lo largo del ciclo del arroz, comparando los diferentes tratamientos, evaluando la longitud y anchura de la hoja, clorofila,

describiendo el estado del grano, (manchado del grano, entorchamiento del arroz, mancha del cuello de la panícula y pudrición de la vaina). Así mismo, se evaluó la presencia o ausencia de minas o de más deformaciones en las hojas, tallos barrenados, o algún indicio de haber sido atacada por algún patógeno.

6.4.1. Toma de medidas

El crecimiento de las plantas se desarrolló bajo las condiciones del invernadero, el cual tuvo una temperatura promedio de 27 °C, con una mínima de 23 °C y máxima 32 °C, una duración del día de 12 h, humedad relativa promedio de 73% y luz promedio de 45 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. El suelo utilizado para llenar las bandejas pertenece a Santander, donde se encuentran los lotes para el cultivo de arroz.

La radiación solar del lugar establecido y la radiación que recibían las plantas de arroz fueron tomadas con un Luxómetro (Figura 13) ("LUTRON LX-102" Digital con salida analógica y bloqueo de lectura. Rangos 2.000/20.000/50.000 lux y 200/2.000/5.000 Candelas. Precisión + - 5%) el cual permite medir simple y rápidamente la iluminancia real y no subjetiva de un ambiente. La unidad de medida es lux (lx). Contiene una célula fotoeléctrica que capta la luz y la convierte en impulsos eléctricos, los cuales son interpretados y representados en un display o aguja con la correspondiente escala de luxes, así mismo se empleó un fotómetro marca LI-COR, modelo LI- 1400 (Figura 14) equipado con un sensor PAR que entrega directamente los valores de $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ el cual realiza mediciones de alta precisión con los sensores de radiación solar, también mide temperatura del aire y del suelo, humedad ambiente, precipitaciones y punto de rocío, utilizando los sensores accesorios respectivos.



Figura 14. Luxómetro.



Figura 15. Fotómetro Li-Cor

El crecimiento de las plantas, se obtuvo a partir de mediciones de longitud y ancho de la hoja de cada una de las plantas de los diferentes tratamientos. Para medir la longitud y ancho se utilizó una cinta métrica de un metro con 50 cm.

Para la toma de mediciones del crecimiento de las plantas, se escogieron aleatoriamente 7 plantas de arroz por cada bandeja y de estas, se seleccionaban 3 hojas, marcándolas cada una, para llevarles un seguimiento adecuado durante todo el proceso.

Para la toma de la clorofila, se empleó el medidor de clorofila Chlorophyll Meter Model Minolta–SPAD502 (Figura 16) que mide la concentración relativa de clorofila por espectroscopia. El resultado se expresa en unidades SPAD y se toma la parte más ancha de la hoja, sin coger la nervadura central, para que arrojara un buen resultado.



Figura. 16. Clorofilometro

Se realizaron 4 mediciones cada 15 días a partir del día 87 del cultivo de arroz hasta los días 134. Cabe señalar, que las medidas de longitud, ancho y clorofila fueron tomadas sobre los mismos individuos señalados aleatoriamente.

6.5. Evaluación del número de macollas, número de macollas activas o número de espigas, número de granos x espiga, peso de 1000 semillas (índice de semillas). (% vano)

- Para el número de macollas totales por bandeja se tomaron en cuenta cada macolla por planta germinada.
- Para las macollas activas, se observaron cuantas panículas poseían las plantas teniéndose en cuenta el número máximo de macollas producidas.

$$\% \text{ de macollas activas} = \frac{\text{Número de panículas producidas}}{\text{Número máximo de macollas producidas}} \times 100$$

- ❖ Para el número de granos por espiga se realizó un conteo manual de todos los granos producidos por la espiga, y a continuación se tomó el peso de las semillas o granos germinados en una balanza analítica.



Figura 17. Conteo manual y peso de los granos de arroz en la balanza analítica.

6.6. Diseño experimental

Para los análisis y observaciones en el invernadero se realizó un diseño completamente aleatorio, con los ocho tipos de tratamientos mencionados anteriormente, Cada tratamiento contó con tres (3) repeticiones.

Los datos obtenidos fueron analizados por medio del paquete estadístico STATISTIC versión 8.0 (Analytical Software, St. Paul, Minn) realizando una prueba de normalidad de varianza, una ANOVA y una Post ANOVA en los casos donde se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre las variables de respuestas para los diferentes tratamientos.

7. RESULTADOS

7.1. Primera etapa: Germinación de las semillas

7.1.1. Semillas germinadas

Luego de haber sembrado las 1872 semillas en las 24 bandejas correspondientes a los 8 tratamientos, se observó que el tratamiento con mayor porcentaje de germinación fue el de *Bacillus subtilis* (77%), seguido del tratamiento con *B.subtilis* y BIOCHAR (73%); BIOCHAR (72%); *T.harzianum*, *B.subtilis* y BIOCHAR (71%); *T.harzianum* y *B.subtilis* (70%); *T.harzianum* y BIOCHAR (68%); y por últimos, *T.harzianum* y el Control cada uno con un 66%, siendo estos los de menor porcentaje de germinación (figura 18). Además, se observó que estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($F_{7, 16}=1.6872$, $p=.18257$).

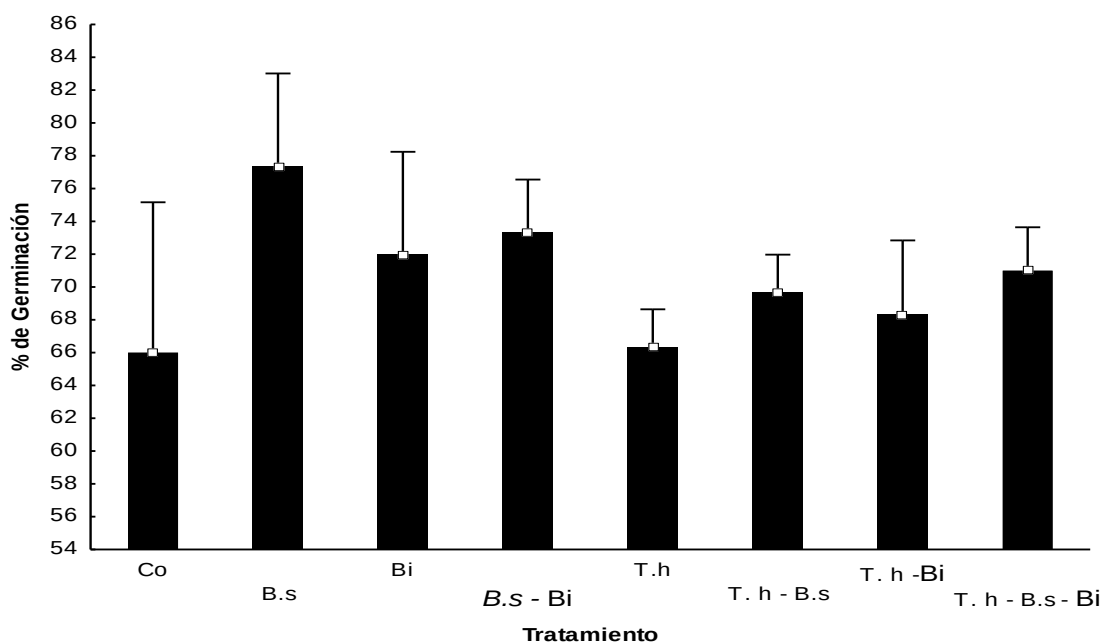


Figura 18. Porcentaje de Germinación

7.2 Segunda etapa: Productividad y comparación de tratamientos

7.2.1 Longitud y Ancho de las hojas.

A lo largo de todo el proyecto se establecieron observaciones y mediciones de la longitud y anchura de las hojas de la planta de arroz. Encontrándose diferencias estadísticamente significativas en la longitud (Wilks lambda=34725, $F_{28, 567.49}=6.9097$, $p=0.0000$), en donde las plantas de mayor tamaño se presentaron en el tratamiento con *Th*-Bi y *Th*-Bi-*Bs*, mientras que las de menor tamaño fueron las del tratamiento Co y *Th* (Figura 19).

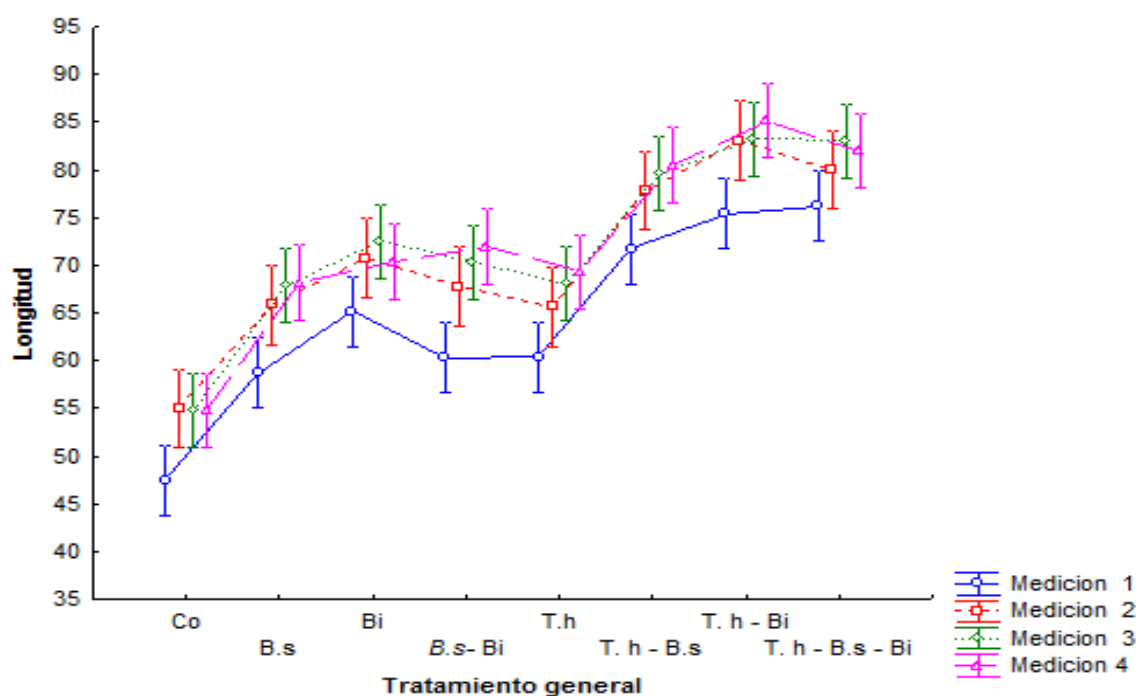


Figura 19. Longitud de hojas de la planta de arroz.

Siguiendo el mismo proceso de observación y medición de la longitud, se encontraron diferencias significativas en el ancho de la hoja de arroz para los diferentes tratamientos (Wilks lambda=.45097, $F_{28, 560.28}=4.9457$, $p=.00000$), siendo las plantas con aplicaciones de *Th-Bi* y *Th-Bs-Bi* las de hojas más anchas, mientras que las plantas con los tratamientos *Co* y *Bs* las de hojas más angosta (figura 20).

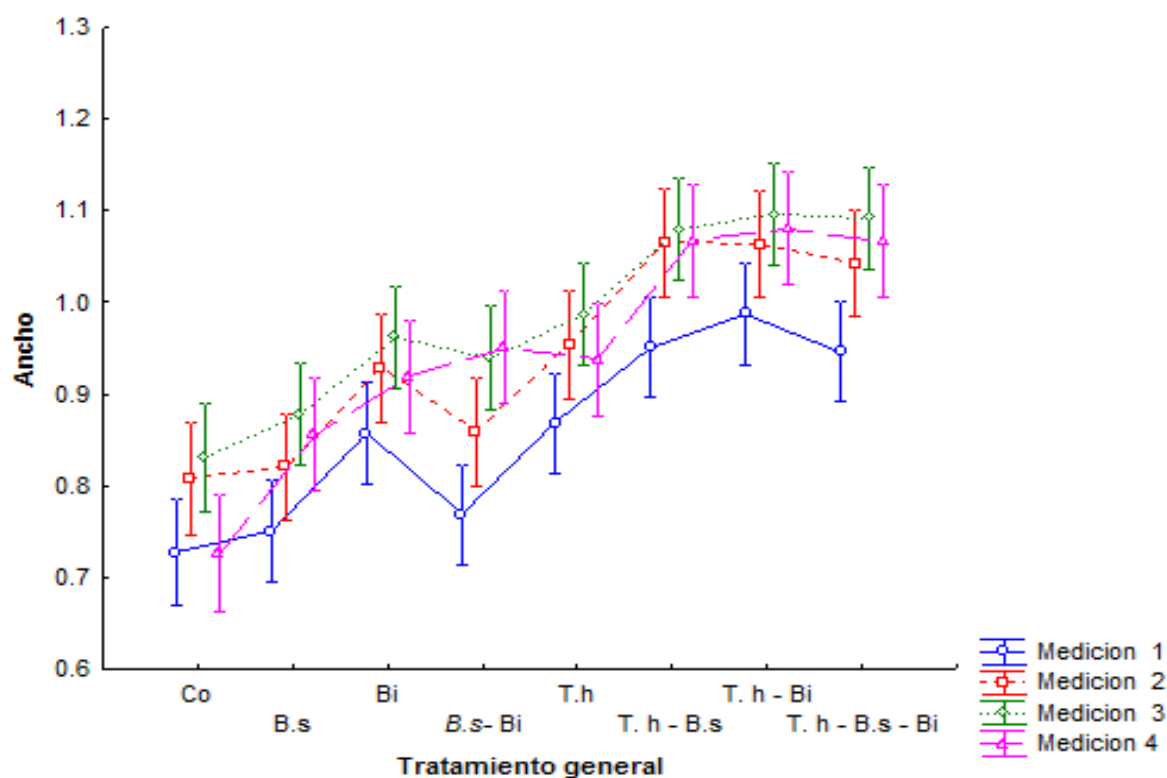


Figura 20. Ancho de hojas de la planta de arroz.

7.2.2. Clorofila

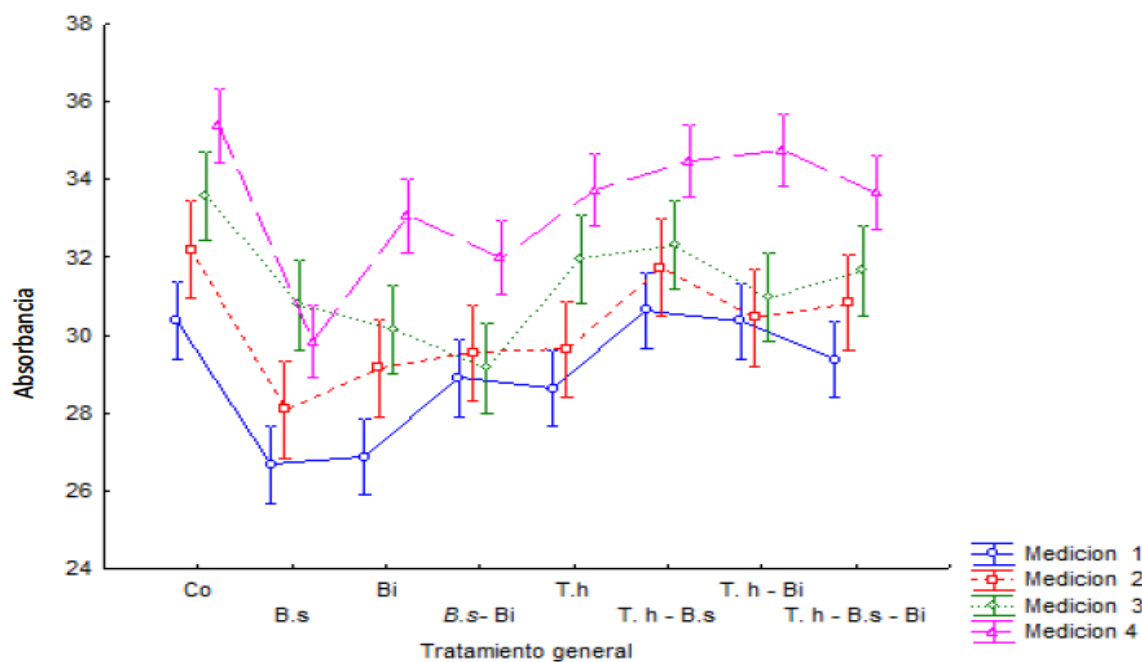


Figura 21. Absorbancia de la clorofila para los tratamientos aplicados en el estudio.

En la figura 21 se observa la marcha de la absorbancia de la clorofila para los diferentes tratamientos. La absorbancia del control fue mayor que el resto de los tratamientos aplicados durante todo el periodo de estudio y los valores si bien presentaron oscilaciones, pero estos mostraron una tendencia a mantenerse en aumento durante todo el periodo, es decir superando los otros tratamientos.

Al realizar la ANOVA para corroborar el análisis detallado de los datos se obtuvo que existen diferencias estadísticamente significativas (Wilks lambda=.38283, $F(28, 567.49)=6.1842$, $p=0.0000$) y posteriormente se llevó a cabo una Post ANOVA con el test de Fisher LSD, el cual mostró que el mayor promedio de absorbancia provenía del tratamiento con *Th- Bs* (30.65) SPAD, seguido del Tratamiento control con un promedio de absorbancia del 30.37 SPAD, y el menor promedio de absorbancia fue del tratamiento *Bs* con 26.67 SPAD de absorbancia.

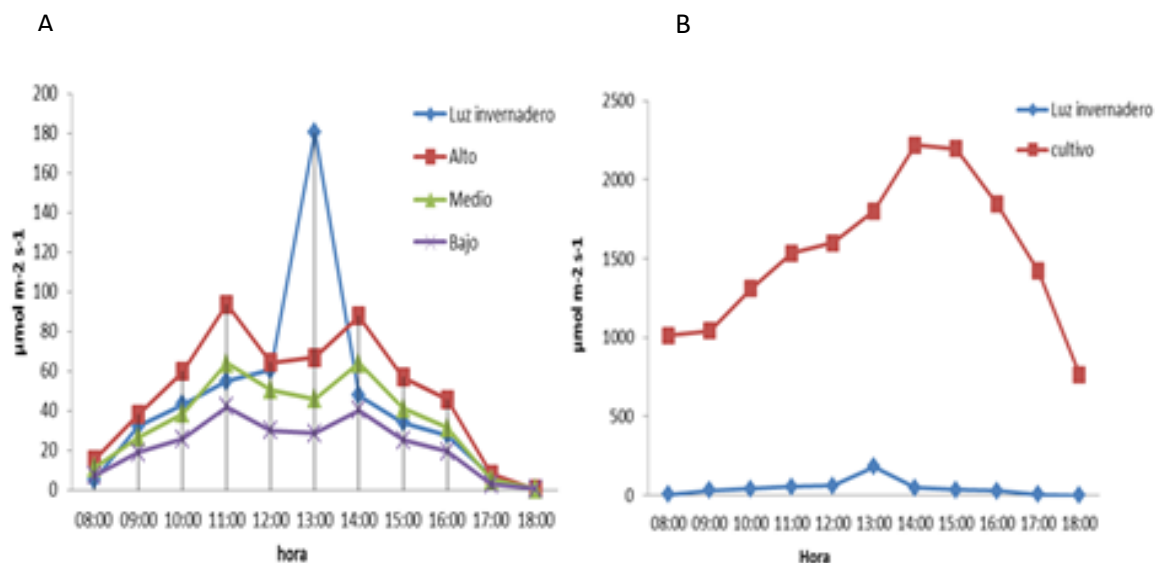


Figura 22. Radiación solar disponible y absorbida en estratos Alto, Medio y Bajo de las plantas en en invernadero, y radiación solar del invernadero comparada con la absorbida por las plantas de arroz en los cultivares de la empresa arroz blanquita.

Según la figura 22 A, las plantas de las 8:00 Am - 12:00 m y de las 14:00 - 16:00 Pm, se puede observar que tienen mayor absorvancia de luz de la que se encuentra en el invernadero, mientras que a las 13:00 horas se presenta el pico más alto de radiación solar en el invernadero sobrepasando esta capacidad de absorvancia de luz de las plantas.

Por otro lado en la figura 22 B se observa el paralelo entre la luz absorbida por las plantas en el cultivo de la empresa, la cual es mucha en comparación con la que absorben en el hinvernadero y a su vez la irradiaza de luz emitida en este.

7.2.3. Macollas por m²

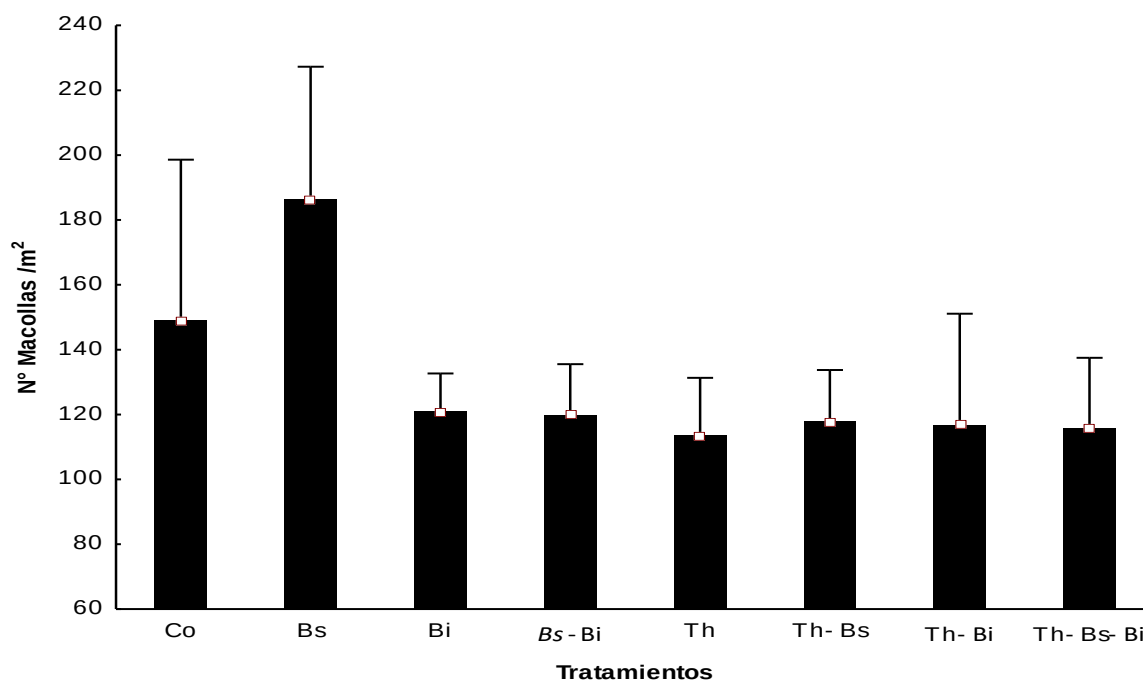


Figura 23. Número de Macollas por m² en cada tratamiento.

En cuanto al número de macollas, se observó que *Bacillus subtilis* presentó el mayor número de macollas por m² con (188) macollas, seguido del tratamiento Co (150), Bi (122), Bs- Bi y Th- Bs (119), Th – Bi y Th- Bs- Bi (116) y por último el

tratamiento con *Th* (113), con el menor número de macollas. (Figura 23), además mediante la prueba Kruskal-Wallis se obtuvo que no hay diferencias significativas entre los tratamientos ($H_{7,24} = 7.877768$ $p = 0.3435$).

7.2.4. Porcentaje de macollas activas

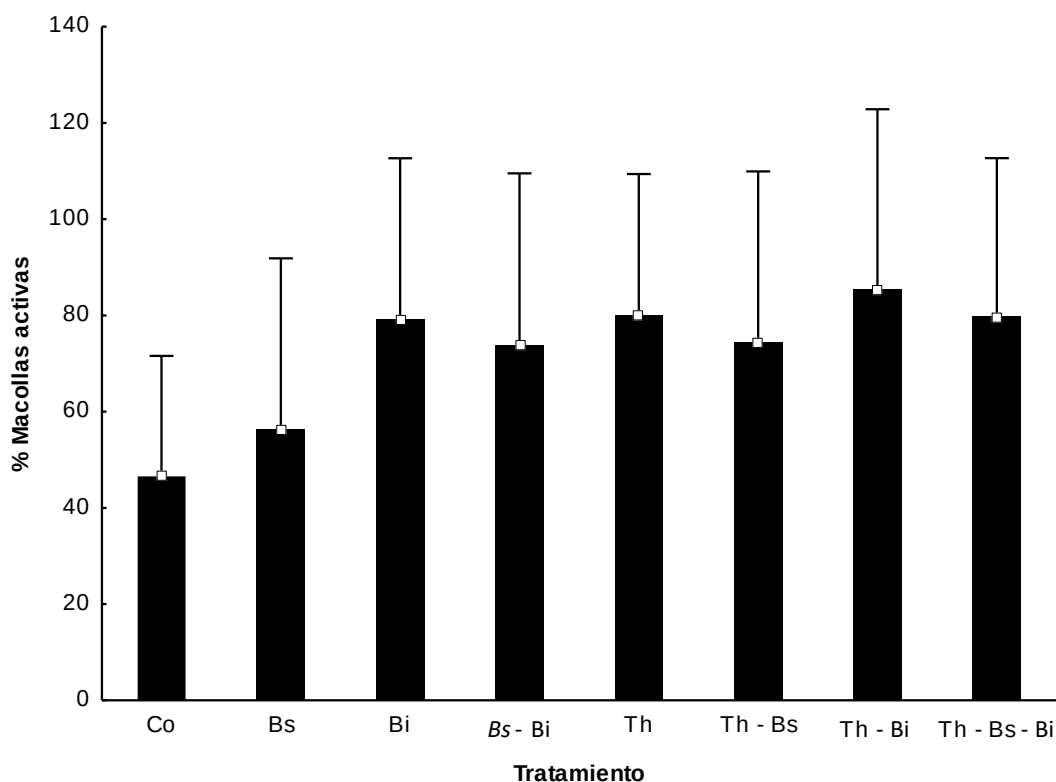


Figura 24. Porcentaje de macollas activas

En el análisis de macollas activas, se observó que los tratamientos *Co* y *Bs* presentaban diferencias significativas con el resto de los tratamientos, ($H_{7,650} = 78.84186$ $p = 0.0000$), puesto que eran las de menor cantidad de macollas activas. Opuesto a esto, se observó que el tratamiento con *Th-Bi* posee el mayor número de macollas activas, seguidas de los tratamientos con *Th* y *Bs* que poseían las mismas cantidades como se puede apreciar en la figura 24.

7.2.5. Panículas por m²

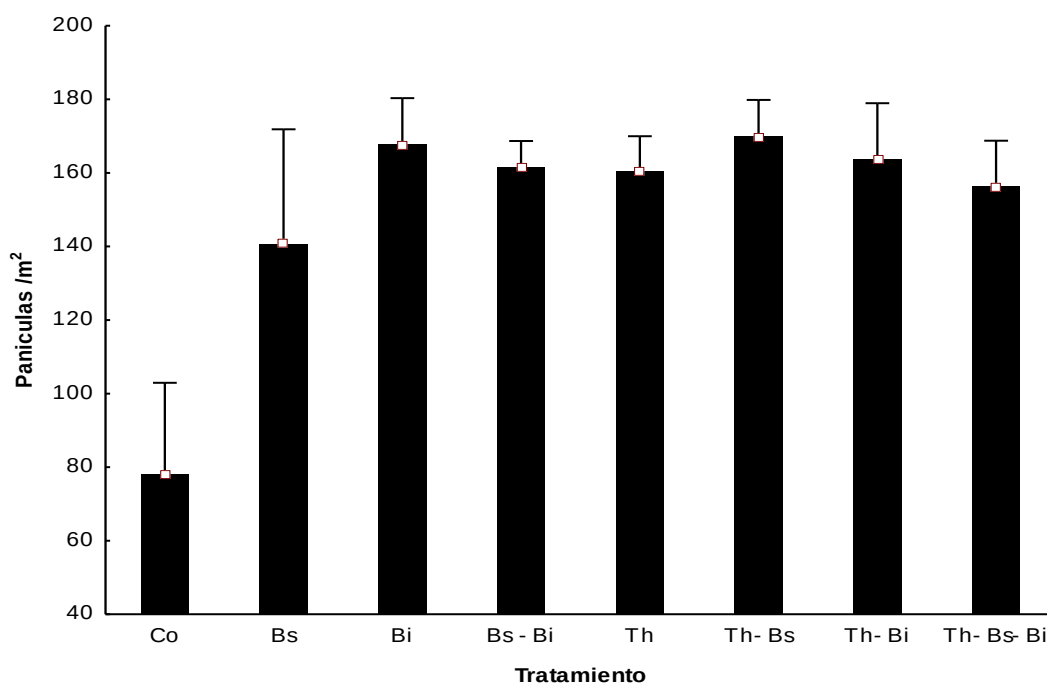


Figura 25. Panículas por m²

Al comparar el número de panículas por m² entre todos los tratamientos, se encontró que no hay diferencias significativas entre estos ($H_{7, 24} = 10.55298$ $p = 0.1593$), dado que como se observa en la figura 25, los tratamientos con protectantes biológicos presentan resultados relativamente similares, y si se comparan con el tratamiento control estas diferencias no son estadísticamente significativas, sin embargo podrían llegar a ser significativas si se realizan bajo unas condiciones más óptimas para el cultivo.

7.2.6. Largo de la panícula

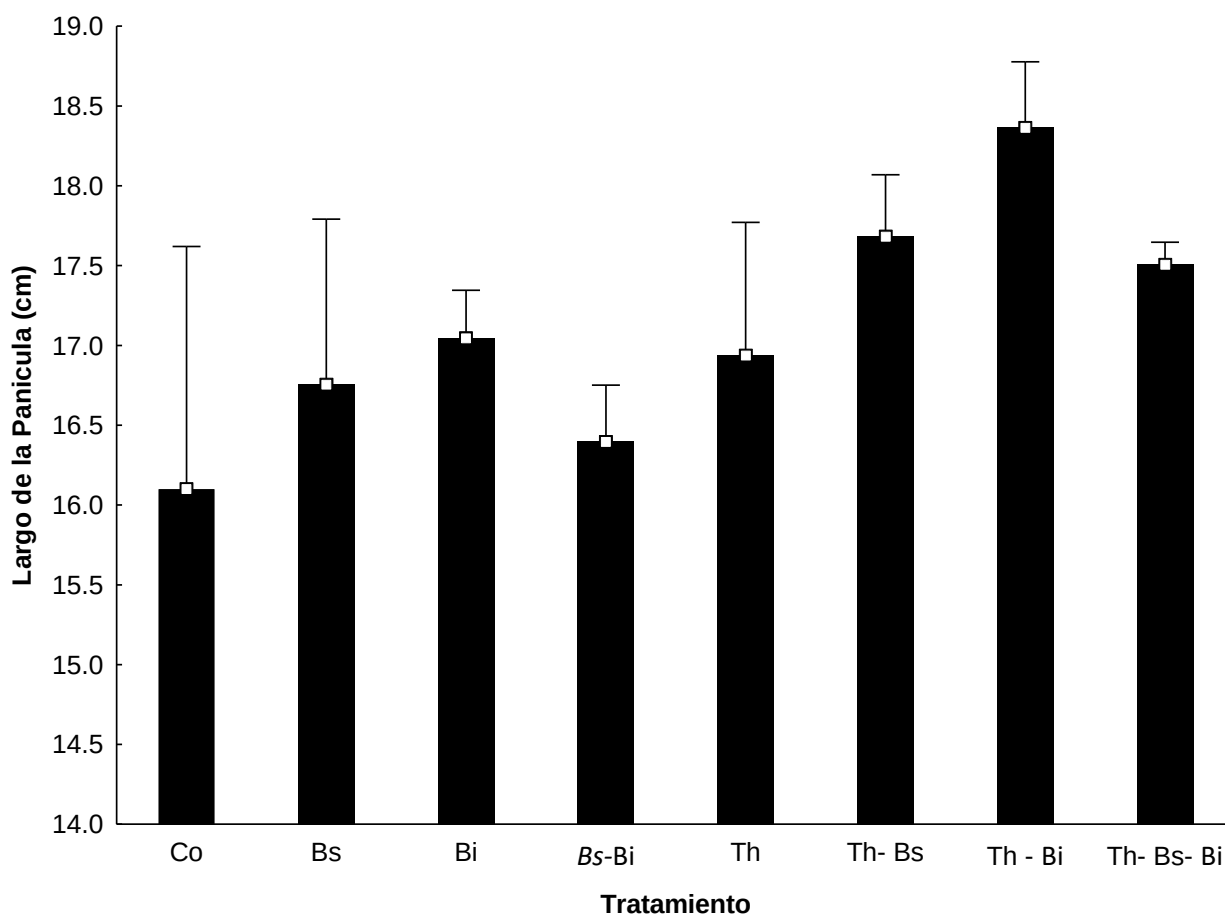


Figura 26. Largo de la panícula

Según los resultados obtenidos, se observa que si hay diferencias significativas en el largo de la panícula ($H_{7, 24} = 2.27$ $p = 0.043$) donde el tratamiento con *Th*-Bi fue el que obtuvo una mayor longitud, seguido del tratamiento con *Th*-Bs-Bi, mientras que el control fue el que menor longitud presentó en este estudio.

7.2.7. N° de granos por panícula

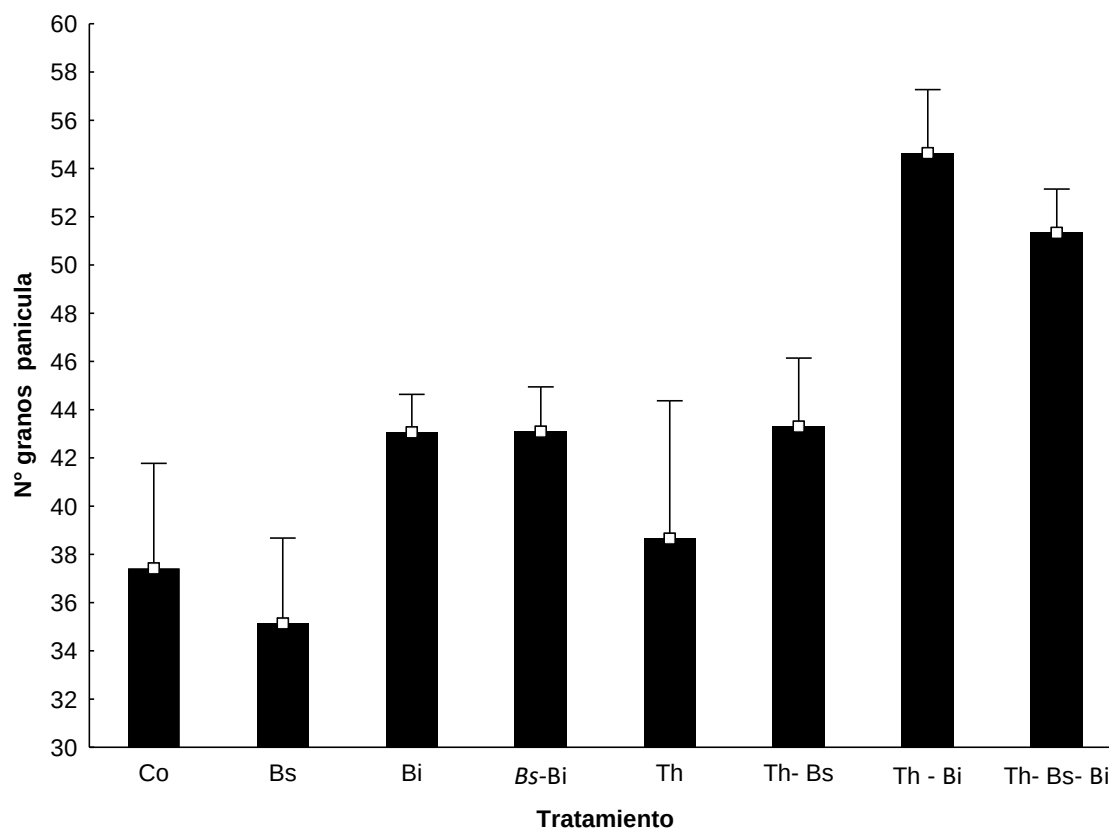


Figura 27. Número de granos por panícula

Los resultados obtenidos para el número de granos por panícula muestran que si hay diferencias significativas ($H_{7, 24} = 12.283$ $p = 0.000$), donde el tratamiento con *Th*-Bi presentó un mayor número de granos por panícula, seguido del tratamiento con *Th*-Bs-Bi, mientras que el tratamiento con Bs presenta una menor cantidad de granos por panícula, seguido del tratamiento Control (Co).

7.2.8. Porcentaje de granos buenos y granos buenos totales

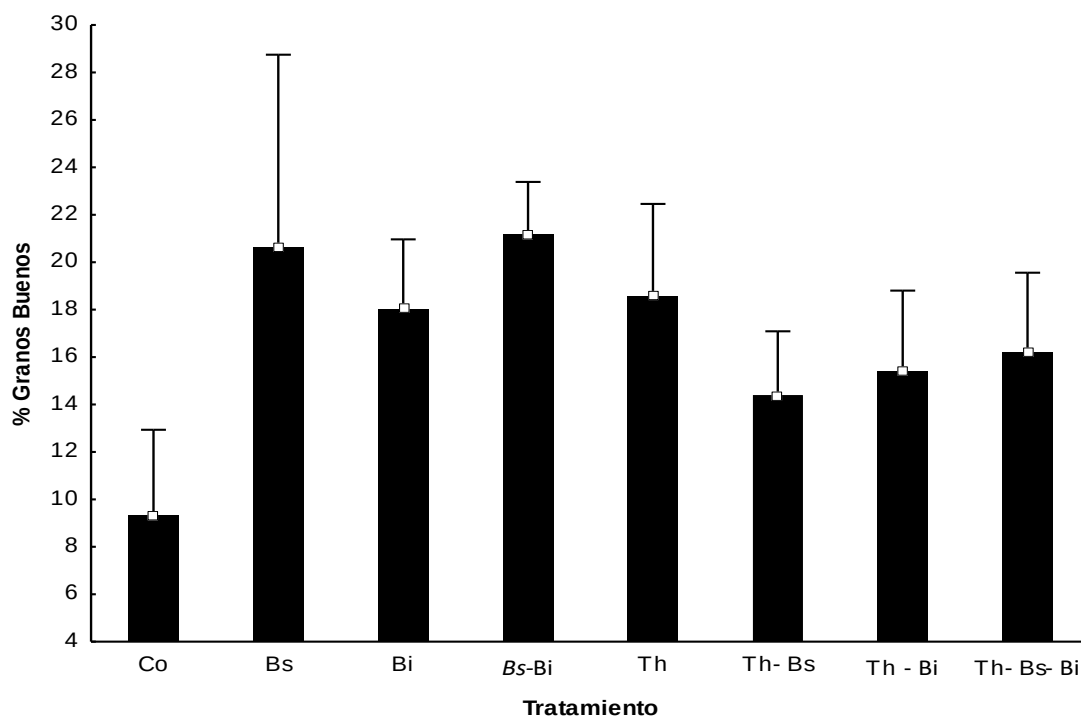


Figura 28. Porcentaje de granos buenos

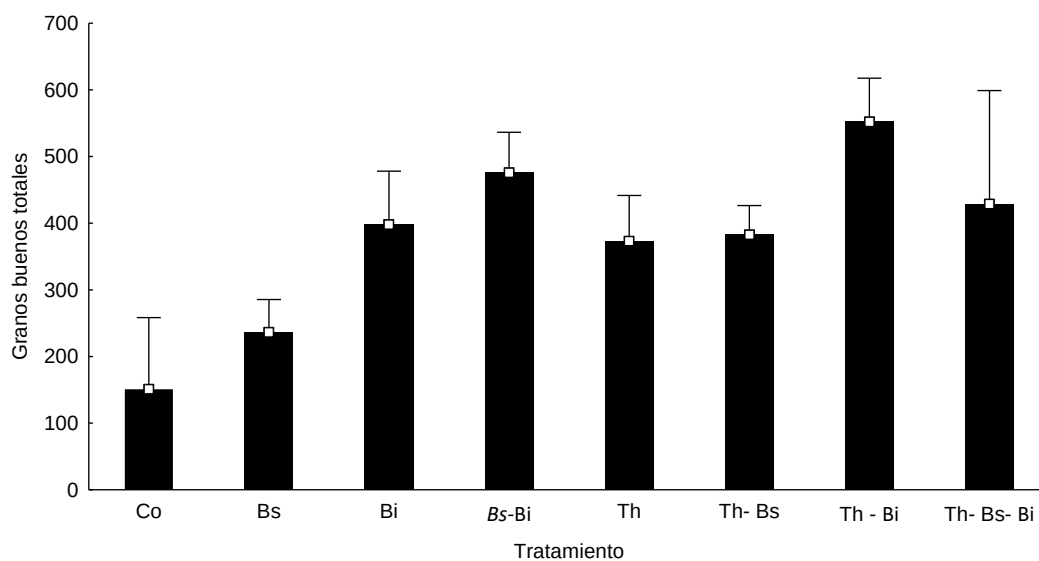


Figura 29. Granos buenos totales

Por otro lado, en el porcentaje de granos buenos no se observan diferencias significativas ($H_{7, 24} = 2.5465$ $p = 0.057618$), sin embargo, se aprecia una tendencia a obtener mejores resultados con los tratamientos biológicos, lo cual se puede corroborar con el número total de granos buenos, para la cual se encontró que los tratamientos difieren significativamente ($H_{7, 24} = 6.1205$ $p = 0.001$), siendo el tratamiento Control el de menor producción en comparación con el resto de tratamientos biológicos.

7.2.9. Peso grano

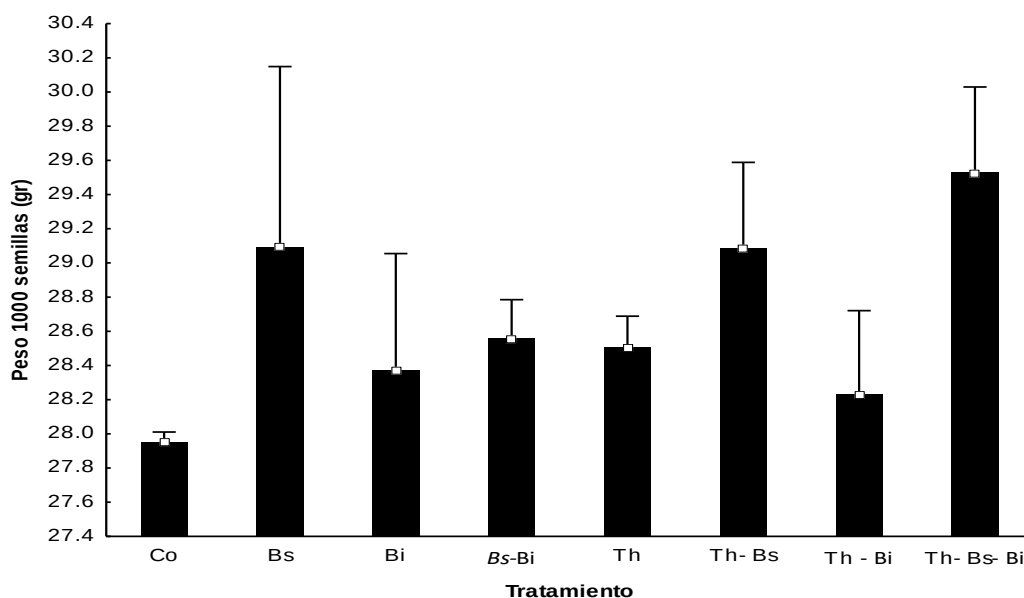


Figura 30. Peso de 1000 semillas de arroz

Como se observa en la figura 24, se encontró una diferencia entre los tratamientos para el peso de 1000 semillas de arroz ($H_{7, 24} = 2.73$ $p = 0.045$), siendo el tratamiento con Th-Bs-Bi el de mayor peso, seguido del Bs, y opuesto a esto está el tratamiento Control.

7.3 Eficiencias de los protectantes biológicos

Luego de observar el comportamiento de los protectantes biológicos en el cultivo simulado de arroz, se procedió a evaluar la eficiencia de estos, a continuación, se presenta una comparación (resta) de cada uno de los tratamientos aplicados con respecto al tratamiento Control.

Tabla 3. Diferencia en la eficiencia obtenida con los protectantes biológicos comparados con el tratamiento control. (%G) Porcentaje de germinación; (L) Largo; (A) Ancho; (Cl) Clorofila; (M.m²) Macollas por m²; (% M.A) Porcentaje de macollas activas; (P. m²) Panículas por m²; (L.P) Largo de la Panícula; (N° G. P) Número de granos por Panícula; (% G.B) Porcentaje de granos buenos; (P.G) Peso del grano. El signo menos (-) denota que el tratamiento Control sobrepasa el tratamiento biológico.

Tratamientos	%G	L	A	Cl	M. m ²	% M.A	P. m ²	L. P	N° G. P	% G. B	P.G
Co vs Bs	11 %	3,91	0,14	-5,54	38	8.7%	63	0,654	-2,29	11,30	1,14
Co vs Th	0%	5,63	0,22	-1,64	-37	33%	81	0,837	1,24	9,24	0,55
Co vs Bi	6%	10,38	0,20	-2,31	-28	32.4%	91	0,945	5,65	8,70	0,42
Co vs Bs-Bi	7%	17,17	0,23	-3,39	-31	26.7%	85	0,296	5,66	11,85	0,61
Co vs Th-Bs	4%	25,71	0,35	-0,91	-31	31.8%	91	1,581	5,88	5,07	1,13
Co vs Th-Bi	2%	30,35	0,36	-1,72	-34	38.6%	85	2,264	17,22	6,05	0,28
Co vs Th-Bs-Bi	5%	27,14	0,35	-1,72	-34	32%	78	1,407	13,91	6,88	1,58

Como se puede observar, los protectantes biológicos presentaron mejores resultados en las diferentes variables evaluadas a lo largo del proyecto a excepción de los niveles de clorofila absorbidos por las plantas de arroz, número de macollas por metro cuadrado y en el número de granos por panícula. En esta última variable, solo en un caso (*Bacillus subtilis*). En la germinación, todos los tratamientos con protectantes biológicos a excepción del *Trichoderma harzianum* presentaron valores entre el 2% y 11% más de efectividad que el Control siendo

Bacillus subtilis el más alto; en el largo y el ancho de la hoja de arroz se presentaron resultados similares, destacándose el tratamiento con *Trichoderma harzianum* – Biochar el cual mostró plantas con 30,35 cm de largo y 0,36 cm de ancho, más que las medidas de las plantas del tratamiento convencional; en el porcentaje de Macollas activas y número de granos por panícula se destacó una vez más el tratamiento con *Trichoderma harzianum* – Biochar arrojando un 38.6% de macollas activas y 17.22 granos más que el cultivo convencional. Por otro lado, en cuanto al largo y número de panículas por m², los protectantes biológicos siguen presentado valores por encima del Control, en este caso destacándose el tratamiento con Biochar el cual arrojó un mayor número de panículas y longitud de las mismas; en el porcentaje de granos buenos el tratamiento con *Bacillus subtilis* – Biochar presentó una diferencia con el tratamiento Control de un 11,85% granos buenos y por último en el peso de estos granos se destacó el tratamiento que utilizó todos los protectantes biológico. (Tabla. 3)

8. DISCUSIÓN

8.1. Germinación

La variedad del arroz tratado en el proyecto fue F arroz 60 o (fedearroz 60) la cual se caracteriza por presentar un buen potencial de rendimiento y macollamiento, una buena estabilidad a lo largo del proceso y por presentar un ciclo de vida corto con relación a otras variedades de arroz (Fedearroz, ined)



Figura 31. Semillas de arroz, variedad fedearroz 60.

Esta semilla puede variar en color, tamaño, forma y largo de la arista. Su endospermo está compuesto mayormente de almidón (80%), azúcar, proteínas y grasas, en donde se almacenan los alimentos del embrión el cual se transformará en brotes y raíces dando como origen al proceso de germinación el cual dependerá de la temperatura y disponibilidad de agua y aire. La variedad de arroz utilizada para el proyecto germinó en aproximadamente 5 días, lo cual es acorde con lo estipulado en la literatura, según Vergara (1985), las semillas de arroz comienzan su etapa de germinación a las 75 horas y la finalizan a las 125 horas (aproximadamente 5 días).

El uso de los protectantes biológicos sobre el proceso de germinación en la variedad Fedearroz 60 logró resultados de más del 50% en todos los tratamientos aplicados. Estudios recientes sobre *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* reportan a estos como estimuladores de crecimiento en los cultivos, y a la vez como antagonistas de patógenos que atacan en los procesos de germinación tal como el estudio de Mesa Reynaldo *et al* (2006) donde evalúa el Efecto de *Trichoderma* y micorrizas en la producción de posturas de *Carica papaya* L., y el estudio de Howell (2003); Harman *et al* (2004); Benítez *et al* (2004), donde dicen que las enzimas extracelulares que producen con actividad antibiótica, el micoparasitismo y por la habilidad de incrementar el desarrollo y crecimiento de las plantas, entre otros mecanismos de acción lo convierten en una buena elección para el uso y control de patógenos en los cultivos. Así mismo Basurto *et al* (2010) evalúa los cambios en la estructura celular durante la actividad antagonista de *Bacillus subtilis* contra *Rhizoctonia solani* y *Fusarium verticillioides*, esta especie bacteriana se encuentra normalmente distribuida en el suelo con una alta densidad de población que sobrevive durante largos períodos de tiempo, tolera temperaturas altas, mejor que otros organismos, y por su capacidad antagonista Tschen (1987).

Así mismo se obtuvo un mayor porcentaje de germinación en el tratamiento con *B. subtilis* probablemente porque puede presentar más resistencia en condiciones

donde no abunda mucho el oxígeno, en este caso en las bandejas de arroz con bastante humedad, contrario a esto, el hongo *T. harzianum* es estrictamente aerobio, aunque cabe resaltar, que la alta presencia de humedad y el riego mejora las condiciones de vida de muchos microorganismos entre ellos este hongo, pasando de un estado latente a uno activo y desarrollándose óptimamente hasta en un 60 % de plena capacidad del suelo de retención de humedad, sin embargo el *Trichoderma* a porcentajes mayores de saturación disminuye la colonización y sobrevivencia por la baja disponibilidad de oxígeno, como se mencionó anteriormente.

Esto no quiere decir que el *Trichoderma* no funcionó en la germinación ya que los resultados demuestran lo contrario, puede ser muy eficiente como organismo antagónico y a su vez colaborar para fijar nitrógeno y servir como fertilizante en la germinación de las plantas.

Por lo tanto, con base a estos resultados, se podría decir, que es más eficiente la bacteria *Bacillus subtilis* por todas estas cualidades presentadas anteriormente.

8.2. Segunda etapa: Productividad y comparación de tratamientos

8.2.1. Comparación de los tratamientos en la productividad

Con base en los resultados obtenidos, se podría decir que los tratamientos aplicados a las plantas de arroz fueron efectivos ya que estas pudieron desarrollarse y crecer durante todo su ciclo, incluso llegando a las etapas de floración y cosecha. A pesar de todas las adversidades los tratamientos pudieron resistir y cumplir su papel de fertilizantes y antagonistas de patógenos en comparación con las bandejas que tuvieron las aplicaciones convencionales del cultivo sumándose a estas aplicaciones los insecticidas y demás agroquímicos.

En cuanto a los insecticidas; los insectos en todos los cultivos del mundo ya sean para consumo humano, o como uso ornamental pueden ser utilizados para muchas cosas benéficas como control biológico, dispersores de semillas, descomposición de la hojarasca, etc., sin embargo, también pueden ser un problema ya que pueden ser causantes de enfermedades y lo más importante y peligroso es que puede devorar todas las plantas en el cultivo y afectar considerablemente la producción.

Según la Fao 2006. Más de 100 especies de insectos son consideradas plagas del arroz, pero solamente 20 de ellas tienen importancia económica.

	Africa	Asia
Chupadores del grano	<i>Stenocoris</i> spp. <i>Aspavia</i> spp.	<i>Leptocorisa acuta</i>
Cortadores de hojas	—	<i>Mythirma</i> spp.
Chupadores del tallo y las hojas:	<i>Nilaparvata meander</i> <i>Nephotettix</i> spp <i>Sogatodes cubanus</i> Moscas blancas Ácaros	<i>Nilaparvata lugens</i> <i>Nephotettix</i> spp. <i>Sogatella furcifera</i> <i>Brevinnia rehi</i> Trips
Masticadores de hojas:	<i>Epilachna similis</i> <i>Nymphula stagnalis</i> Hispidos <i>Hydrellia</i> sp. <i>Spodoptera</i> sp.	<i>Dicladispa armigera</i> <i>Cnaphalocrosis medinalis</i> <i>Hydrellia</i> spp. <i>Nymphula dupunctalis</i> <i>Spodoptera mauritia</i>
Masticadores internos de los tallos:	<i>Chilo</i> spp. <i>Maliarpha separatella</i> <i>Sesamia</i> spp. <i>Diopsis</i> spp. <i>Orseolia oryzivora</i>	<i>Tryporyza incertulas</i> <i>Chila</i> spp. <i>Sesamia inferens</i> <i>Orseolia oryzae</i>
Masticadores de raíces	Termitas Grillo topo Áfido de las raíces	Grillo topo Termitas

Figura. 32 Plagas de arroz en Africa y Asia Fao (2006).

Y un estado apreciable de las plantas sin los tratamientos biológicos, es decir el tratamiento control, es el abundante porcentaje de herbívora que ha sufrido durante todo el proceso, incluso dejando unas pocas plantas para la producción.

Los tratamientos con los productos biológicos en su mayoría no sufrieron de herbívora, esto se debe quizá, a que tanto el *Trichoderma* como el *Bacillus subtilis* tienen propiedades químicas capaces de repeler o evitar a estos insectos.

Claro (2006) reporta que en la actualidad se conocen más de 1500 especies de microorganismos entre hongos, bacterias y virus que son patógenos de artrópodos y controladores de otras poblaciones microbianas directamente. Sin embargo, solo unos pocos se usan rutinariamente en los programas de control de plagas. Los productos a base de hongos van tomando un lugar importante por el desarrollo de resistencia al Bt en algunos casos, lo que es consecuencia del mecanismo de acción por ingestión donde la toxina (Delta endotoxina) se activa y se unen muy específicamente a receptores en las células peritróficas del intestino medio del organismo diana. En otros casos el establecimiento de plantas transgénicas con toxinas de Bt incorporadas que se expresan en los diferentes órganos de la planta a niveles muy superiores que los que se encuentran en la naturaleza y de forma muy heterogénea, favorecen también la aparición de resistencia relativamente rápida. Además, hay nichos donde el Bt no puede actuar o no se cuenta con aislados patogénicos para determinada especie diana como es el caso de los locústidos y muchos otros ortópteros y coleópteros. Otra restricción es la imposibilidad de un control a mediano y largo plazo al no provocar epizootias donde los hongos entomopatógenos ejercen un control mucho más efectivo.

También reporta que el uso de hongos antagonistas ha revolucionado el control de enfermedades de naturaleza fúngica en plantas, y se está investigando activamente en el efecto contra otros patógenos, debido a la capacidad de estos hongos de estimular el crecimiento de las plantas y activar los mecanismos de

defensa locales y sistémicos, lo que hace posible su uso a una escala mucho más amplia. En este caso también se está investigando en el desarrollo de plantas transgénicas con la incorporación de genes de estos hongos para lograr resistencia de amplio espectro contra patógenos. Los antagonistas de naturaleza fúngica dominan alrededor del 90% del mercado para biocontrol de hongos fitopatógenos representados en gran extensión por *Trichoderma spp.*

Finalizando el proyecto (en épocas de cosecha), se observaron una serie de patógenos los cuales surgieron probablemente por las condiciones del lugar, es decir, la poca radiación del sol y la constante humedad. para ello se recomienda en primer lugar hacerlo en condiciones donde haya mucha irradianza de sol para que las plantas puedan crecer y desarrollarse mejor y a su vez los tratamientos cumplan un mejor papel y que estas diferencias que se pudieron ver a pequeña escala puedan apreciarse mejor en capo, en segundo lugar se recomienda aplicar más de seguido los tratamientos, ya que este estudio solo tuvo tres aplicaciones de estos, con el fin de agregarle cantidades similares en épocas y periodos en los que se vierten los agroquímicos en los cultivos de la empresa. Estudios similares como el de Mesa Reinaldo (2006) que utilizó *Trichoderma harzianum* y micorrizas para la producción de posturas de *Carica papaya* L. y recomienda el uso de la formulación sólida del hongo *Trichoderma harzianum* con frecuencia semanal como alternativa para alcanzar resultados favorables en la producción de posturas en sustitución de agroquímicos.

8.2.2. Longitud y Ancho

A lo largo del estudio se tuvo que las plantas con mayor longitud y Ancho fueron las de los tratamientos mezclados con Bi - *Th* y *Th*- Bs – Bi, esto probablemente se debe a que estos tres protectantes cumplieron con las expectativas de llevar a cabo un buen desarrollo y crecimiento de las plantas de arroz.

Por su parte el *Trichoderma* además del efecto biocontrolador de patógenos, se ha comprobado que la inoculación de este aporta otros beneficios a las plantas; a

través de la descomposición de materia orgánica, libera nutrientes en formas disponibles para la planta Howell (2003); Godes (2007), y presenta actividad solubilizadora de fosfatos. Valencia *et al* (2007); Valero (2007); Vera *et al* (2002), por lo cual se utiliza frecuentemente como un organismo biofertilizante en diferentes productos comerciales Moreno *et al* (2007); promueve el crecimiento y desarrollo de los cultivos produciendo metabolitos que estimulan los procesos de desarrollo vegetal Sutton & Peng (1993); tiene la capacidad de multiplicarse en el suelo y colonizar las raíces de las plantas liberando factores de crecimiento (auxinas, giberelinas y citoquininas) que estimulan la germinación y el desarrollo de las plantas Altomare *et al* (1999). Se ha reportado la producción de ácido 3-indol acético (AIA), que actúa como hormona vegetal favoreciendo el desarrollo del sistema radical, entre otros beneficios Valencia *et al* (2005); Cubillos Hinojosa *et al* (2009).

Sumado a estas cualidades se encuentra el *Bacillus subtilis*, que al igual que el *Trichoderma* posee sustancias que promueven el desarrollo de la planta y le permite superar los estadios más sensibles a las enfermedades. Dentro de estas sustancias se encuentran enzimas solubilizantes de fosfato que aumentan la disponibilidad de minerales importantes para el crecimiento vegetal, como zinc, hierro, calcio, ácido indol-3-acético, etc, (Ortuño *et al*, 2009). Osorio (2000), señala que la bacteria *Bacillus subtilis* no es potencialmente patógena, no produce endotoxinas y secreta proteínas al medio, algunas de ellas con propiedades antifúngicas, como la subtilinas y otros antibióticos de la familia iturina. La subtilina secretada por *Bacillus subtilis* actúa sobre la pared celular de los hongos. Se ha demostrado que induce resistencia sistemática natural de la planta contra el patógeno bacteriano y fungoso, propiedad llamada Resistencia Sistemática Adquirida (SAR). Se utiliza industrialmente como bioinsecticida y biofungicida y gracias a estas cualidades bioinsecticidas.

Bacillus subtilis se ha utilizado para el control biológico de *Phytophthora infestans*, *Phytophthora sojae* y *P. capsici* en suelos infestados por el patógeno en cultivos

de frijol y tomate. (Filippov 2002). Investigaciones recientes muestran que *B. subtilis*, no solamente inhibe al patógeno, sino que, además, promueve el crecimiento de la raíz y la planta, e incrementan el contenido de lípidos, triglicéridos y esterol en las hojas del tomate (Madigan *et al* 1998). Del mismo modo se ha utilizado en el tratamiento de semillas de cereales, algodón y maíz. En general *Bacillus subtilis* es utilizado como un organismo antagonista en aplicaciones agronómicas.

Por su parte, el BIOCHAR es el producto de la degradación térmica de los materiales orgánicos en ausencia de aire (pirólisis), y se distingue del carbón por su uso como enmienda del suelo (Lehmann y Joseph 2009). BIOCHAR se ha descrito como un posible medio para mejorar la fertilidad del suelo, así como otros servicios del ecosistema, además de secuestrar el carbono (C) para mitigar el cambio climático. Lehmann *et al* (2006), Lehmann, (2007); Laird (2008) ; Sohi *et al* (2010).

Los efectos observados sobre la fertilidad del suelo han sido explicados principalmente por un aumento del pH en suelos ácidos (Van Zwieten *et al* 2010a) o la retención de nutrientes a través de la mejora de cationes de adsorción (Liang *et al* 2006). Sin embargo, el BIOCHAR también se ha mostrado que puede cambiar la composición del suelo y la abundancia de la comunidad biológica (Pietikäinen *et al* (2000), Yin *et al* (2000), Kim *et al* (2007), O'Neill *et al* (2009), Liang *et al* (2010), Grossman *et al*, (2010), Jin (2010)). Estos cambios también pueden tener efectos sobre los ciclos de nutrientes (Steiner *et al* 2008b) o la estructura del suelo (Rillig & Mummey 2006) y, por tanto, indirectamente, afectar el crecimiento de las plantas (Warnock *et al*, 2007), evidenciándose en los tratamientos aplicados, los cuales demostraron ser componentes efectivos en cuanto al crecimiento vegetal. Igual que el BIOCHAR o cualquier otro fertilizante, las bacterias y hongos de la rizosfera también pueden promover el crecimiento de las plantas directamente (Schwartz *et al* 2006; Compant *et al* 2010). Las posibles conexiones entre las propiedades de BIOCHAR y la biota del suelo, y sus

implicaciones para los procesos del suelo todavía no se han descrito de forma sistemática (Lehmann *et al* 2011)

8.2.3. Clorofila

En este estudio se obtuvo una mayor absorbancia de luz en los tratamientos Co y Th- Bi, el control ocupando los mayores porcentajes en las primeras etapas del estudio y el tratamiento con Th- Bi mostró una tendencia a incrementarse, probablemente debido a que la intensidad de luz que se reflejó más en estos dos tratamientos a lo largo del proyecto.

Para comprobar esta intensidad de luz se empleó un Luxómetro (Figura 14) y un fotómetro (Figura 15) los cuales arrojaron valores relativamente altos en luz sobre las bandejas tratadas con Th-Bi. Cabe resaltar que la radiación solar no es la misma durante todo el día y que se destaca la poca iluminación del lugar con un promedio de $(45 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1})$, cuando en la literatura han reportado incluso hasta $600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, así mismo posee una alta humedad, causando que los procesos fisiológicos de las plantas se vean un poco alterados.

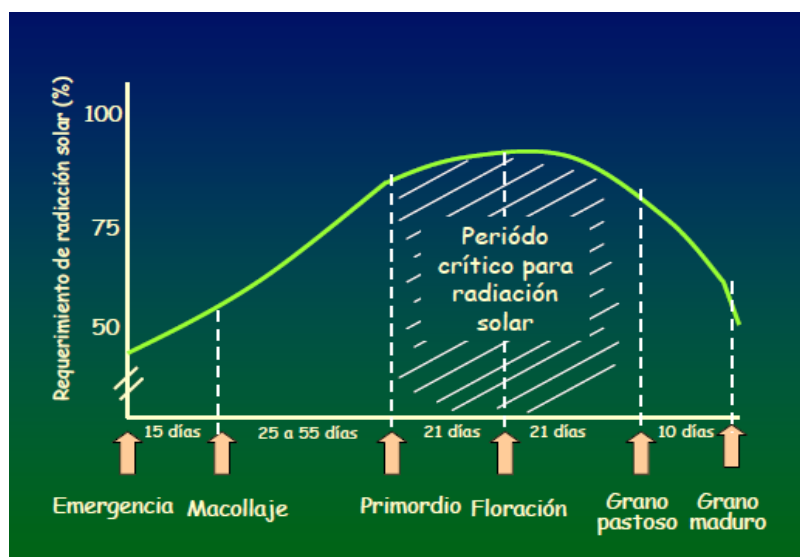


Figura 33. Requerimiento de radiación solar

En la figura 33 muestran los requerimientos de las plantas de arroz en cuanto a la luz solar, mostrando que en las primeras épocas de floración hasta los últimos días de cosecha se requiere de una alta tasa de radiación solar.

La radiación de los rayos solares es la fuente de energía que las plantas utilizan en el proceso de fotosíntesis. La radiación solar (calorías-gramo/centímetro cuadrado) es más alta mientras menos nubes o neblina existan.

En la microestación experimental donde se llevó a cabo el proyecto, la radiación solar es poca, debido a que está bajo techo y sobre todo bajo la sombra de muchos árboles, que la mantienen humedad, contando con el hecho de que durante estos meses la temporada de lluvias aumentó considerablemente y con ella la temperatura disminuyó debido al invierno.

En el arroz, mientras más altos sean los índices de radiación solar entre el “encañado” y la cosecha, más altos serán sus rendimientos.

Mientras más radiación solar exista, menos será la estatura de las plantas, ya que no tienen que crecer mucho para obtener más luz. Mientras más baja se la estatura, menos se va a tumbar la planta.

Mientras más alta sea la radiación solar, más energía tendrá la planta para asimilar el abono aplicado. La más alta repuesta al nitrógeno bajo el sol se debe principalmente a que la radiación solar es el doble que en la sombra, lo que permite a la planta absorber positivamente altas dosis de nitrógeno. En las zonas de sombra la respuesta al nitrógeno es menor y más se destaca las diferencias varietales, por este motivo las dosis de abonos son menores y se causa mayor impacto ambiental por aplicación de fertilizantes (Ministerio de Agricultura, ined).

Así mismo, con base en los resultados obtenidos en las mediciones de clorofila, se podría decir que esta luz absorbida o captada por las plantas de arroz afectó considerablemente los procesos de macollamiento, es decir, el único tratamiento

que proporcionó resultados positivos o por encima del tratamiento control fueron las bandejas que contenían *Bacillus subtilis*, logrando proporcionar una mayor cantidad de macollas por metro cuadrado. Lo anterior sugiere que los procesos de macollamiento en el arroz están relacionados con la intensidad lumínica, y la capacidad de absorción de las mismas, además de la cantidad de nutrientes disponibles que fueron aprovechados por las plantas para la producción de biomasa.

8.2.4. Número de macollas y macollas activas.

El macollamiento es la etapa más larga: para variedades tempranas (105) días y para variedades tardías (150) días, tarda de 45 a 90 días respectivamente. Los hijos primarios emergen secuencialmente del primero, segundo y siguientes nudos del tallo principal, hasta el sexto. Los hijos secundarios emergen después del desarrollo de cada hijo primario en su primero, segundo y tercer nudo. Los hijos terciarios emergen del primer nudo de los hijos secundarios.

A lo largo de la etapa del macollamiento, las raíces adventicias continúan su desarrollo a partir de los nudos inferiores de los hijos primarios, secundarios y terciarios, expandiendo considerablemente el sistema radical fibroso.

Después de conocer el proceso de macollamiento en las plantas de arroz, se tienen los procesos de las macollas activas formadas a lo largo del ciclo de la planta. Este ciclo de crecimiento es muy importante porque tiene una estrecha relación con el mejoramiento del cultivo y de las prácticas agronómicas. En variedades tan tempranas, el número máximo de hijos se alcanza casi simultáneamente con la iniciación de la panícula o ligeramente después, pero en variedades tardías puede presentarse primero la elongación del tallo y/o la iniciación de la panícula. En arroz transplantado se pueden desarrollar más de 30 macollas por planta o 750 por metro cuadrado. En siembras directas, como es el caso de este estudio, se alcanzan el número máximo de hijos a los 30 días desarrollándose solo dos o tres hijos por planta, pero hasta un máximo de aproximadamente 1000 hijo por metro cuadrado (CIAT, 1980).

En este ensayo igualmente se tuvo un resultado entre 1-3 macollas por planta, sin embargo, no se alcanzan los 1000 hijos o macollas activas por m² como lo reporta la literatura, puesto que se emplearon bandejas de 80 x 40 cm de largo y ancho respectivamente, y probablemente esto pudo haber afectado considerablemente ya que se tienen muchas diferencias entre sembrar directamente en el suelo y sembrar en un recipiente.

Sin embargo, con respecto a la eficiencia de los protectantes biológicos vs control, se observa que estos toman la delantera, sobresaliendo en el caso del macollaje los tratamientos con *Bacillus subtilis* y los tratamientos con *Trichoderma harzianum* –Biochar, en muchos casos y observando las diferentes variables evaluadas en este ensayo se observa que los agentes biológicos tienden a realizar un mejor trabajo y por ende tener un mejor efecto en los resultados y producción estando juntos.

Los resultados obtenidos permiten así pues inferir que algunos tratamientos con *Bacillus subtilis* empleados en este ensayo promueven el macollamiento de las plantas y prácticamente todos los aislados bacterianos tienen un efecto positivo al incrementar los rendimientos en el cultivo en comparación al tratamiento tradicional o Control, lo anterior pudo ser debido a que algunas bacterias del género *Bacillus* inducen diferentes mecanismos relacionados con la promoción de crecimiento en las plantas, ya sea que proporcionen directamente nutrientes, participen en la fijación de nitrógeno, fósforo y potasio, la solubilización de fosfato y otros nutrientes; o bien, que las plantas sean capaces de producir hormonas vegetales y sustancias promotoras del crecimiento como el ácido indolacético o por la producción de sideróforos o antibióticos para la supresión de la micro-flora dañina a ésta (Hallmann *et al* 1997; Kloepper *et al* 1980; Van Veen *et al* 1997). Dado lo anterior, los mecanismos por los que las bacterias del género *Bacillus* actúan son variados y no completamente conocidos, además, pueden inducir factores como la edad de la planta, tipo de suelo, humedad del suelo, temperatura, atmósfera del suelo, fertilidad, luz, efectos foliares y la actividad microbiana

(García- López & Vázquez-Sandoval 2002). Como se observó en este ensayo, con el uso de cepas de diferentes especies de *Bacillus* se pudo obtener rendimientos similares a tratamientos con fungicidas, lo que permitiría integrar el control biológico en un esquema de manejo integrado de enfermedades en el cultivo de arroz con beneficios al medio ambiente, reducir toxicidad al humano y reducir la resistencia de patógenos de suelo a los fungicidas. Además, no se observó un efecto sinergista u antagonista en el tratamiento con la mezcla de *Bacillus*; lo que podría permitir que mezclas de organismos con diferente modo de acción o una combinación de agentes de control biológico (como en este caso el *Trichoderma harzianum* y el BIOCHAR), posiblemente puedan mejorar el espectro de actividad para el control de fitopatógenos, ya que la mayoría de los agentes de control biológico se han concentrado en una sola enfermedad (Yuen *et al* 1985). En este sentido, la aplicación por separado de aislados antagónicos en producciones comerciales no sería práctico, mientras que algunas combinaciones si pueden resultar efectivas en la reducción de enfermedades o mantener niveles similares en el control, y obtener así beneficios en el rendimiento de los cultivos y la supresión de patógenos de suelo (Sneh 1984).

8.2.5. Panículas, granos de arroz y peso de los granos de arroz.

Las flores de la planta de arroz están reunidas en una inflorescencia compuesta denominada panícula. Su longitud varía mucho, según la variedad de arroz; en algunas variedades puede extenderse más allá de la hoja bandeja o quedar encerrada en la vaina de esta.

En el caso de este estudio las panículas más largas se obtuvieron en el tratamiento con *Th – Bi*, seguido de *Th- Bs* y *Th- Bs- Bi* esto se debe seguramente por la acción de los protectantes biológicos y todas sus cualidades para el crecimiento, desarrollo y buena producción. Algo apreciable durante todo el estudio fue que los protectantes biológicos tuvieron un mejor efecto cuando actuaban juntos, es decir, es probable que la existencia o aparición de uno

favorezca la resistencia del otro y quizá eso haya ayudado considerablemente su efectividad (CIAT 2010).

Según Medina (2007) esta variedad de arroz (Fedearroz60) tiene un alto potencial de rendimiento y un excelente macollamiento y floración, sin embargo, recomienda que se lleve a cabo la siembra durante el primer semestre del año, ya que en condiciones de clima desfavorable podría incrementarse su vaneamiento, lo cual fue muy pronunciado en este caso, debido a todas las causas nombradas anteriormente sumándosele la expuesta por este autor.

Así mismo Medina (2007), llevó a cabo pruebas de su ciclo vegetativo demostrando que es más corto que el de otras variedades con un ciclo de cosecha que oscila entre los 118 y 125 días, el inicio de macollamiento es entre los 12 a 15 días, el inicio de primordio de floración 45 a 50 días, el 50% de floración en el cultivo entre los 80 y 85 días, el 100% de la floración en el cultivo entre 86 y 92 días y la etapa de cosecha en los días 118 y a125 días.

También advierte que la resistencia a plagas y enfermedades debe ser revisada periódicamente ya que puede cambiar con el tiempo.

Tabla 2. Fenología de las Variedades F-275, F-60, F-733- Saldaña

VARIEDAD	ETAPA DE DESARROLLO (DDG)*				
	Inicio de macollamiento	Inicio de primordio floración	50% floración	100% floración	Cosecha
Fedearroz 275	12-15	43-46	82-84	87-90	118-122
Fedearroz 733	12-15	42-46	78-80	84-86	116-120
Fedearroz 60	12-15	45-50	80-85	86-92	118-125

*días después de la germinación

Por el contrario este estudio fue realizado en las épocas del segundo semestre del año, durante la etapa de viento e invierno más pronunciado, sin embargo la etapa de germinación e inicio de macollamiento se dieron según lo acordado por Medina, a partir de esta etapa se comenzaron a distinguir las diferencias entre el período

de floración, y cosecha, sobrepasando considerablemente los tiempos estipulados por la literatura.

Así mismo, Fageria (2007) asegura que los componentes que determinan el rendimiento son las panojas por unidad de superficie, el número de espiguillas por panoja, el porcentaje de espiguillas llenas y el peso de los granos. El principal componente que afecta el rendimiento es el número de panojas por superficie, que se establece durante el período vegetativo. En esta etapa el nitrógeno es fundamental para lograr un alto macollaje y acumulación de biomasa. El tamaño de la panoja es determinado durante el período reproductivo y el peso de los granos junto con la esterilidad es definida durante el llenado. Los estreses bióticos y abióticos en los distintos períodos reducen los rendimientos. Sin embargo, el período reproductivo es considerado el más sensible y las limitaciones en esta etapa causan los mayores perjuicios.

En cuando a los granos de arroz producidos y su peso por 1000 se encontró que en el porcentaje de granos buenos totales no se aprecia una clara diferencia estadística, sin embargo se corrobora por medio del total de granos buenos por tratamiento y se observa una vez más que los tratamientos biológicos toman la delantera con diferencias positivas contrarias a las del control, esto probablemente debido al trabajo efectuado por estos organismos, así mismo sucede con el peso de los granos de arroz, el cual vario considerablemente entre los tratamiento biológicos especialmente *Th-Bs-Bi*, *Th-Bs* y *Bs* y el control.

Según el CIAT (2010), El peso del grano de arroz varía, aproximadamente, entre 10 y 50 mg por granos. Este carácter se expresa más comúnmente como el peso de 1000 granos al 14% de humedad. El peso de la cascara del grano representa normalmente, de 20% a 21% del peso total de los granos.

Cabe resaltar que ya en la etapa final del estudio se originaron enfermedades en los todos los tratamientos, esto quizá pudo haber sido por las condiciones de humedad que favorecen a los hongos para su crecimiento, y se recomienda más

aplicaciones de estos agentes biológicos junto con mayor radiación solar para controlar mejor estos hongos patógenos.

En síntesis, los tratamientos biológicos cumplieron con las expectativas iniciales, desempeñaron un buen papel a lo largo del estudio y respondieron como lo esperábamos.

Desde los principios de la vida, las plantas han librado una batalla a muerte con sus predadores y patógenos, realizando maniobras y estrategias para su supervivencia y los insectos por su parte han ejercido fuerte presión de selección sobre sus plantas hospedadoras para producir varios tipos de defensas. Las defensas físicas de las plantas, como los tricomas y las espinas, pueden actuar como obstáculos directos, haciendo que ciertas partes de la planta queden fuera del alcance de los herbívoros. Las hojas duras son difíciles de comer y tienen un valor nutritivo menor. También secretan sustancias tóxicas o repelentes y/o forman barreras adhesivas o trampas para prevenir la alimentación de insectos. Los herbívoros crecen mejor si se alimentan de hojas con alto contenido de agua y nutrientes. Las hojas con bajo valor nutritivo podrían no ser una fuente apropiada de alimento.

Otra estrategia de las plantas para su protección es la de la expansión rápida de las hojas nuevas (jóvenes), las cuales son las más atacadas por los herbívoros. Si estas hojas se expanden rápidamente, reducen el tiempo que estarían expuestas a los herbívoros, los cuales tendrían más dificultad para encontrarlas. Otro método de defensa es el llamado “verdecer tardío” y consiste en reducir el costo metabólico de sufrir herbívora, privando a la hoja de la maquinaria fotosintética y esperando hasta que madure y alcance su tamaño final.

Las plantas poseen defensa para todo, para los ataques de insectos y enfermedades, los cuales no son recientes si no que las han acompañado durante el momento de su aparición, y son estas las que se encargan de curarse y repeler

cualquier agresión, no obstante, no lo hacen de inmediato, sino que requiere de un proceso largo de ensayo y error, el cual persiste en ellas para su supervivencia. Los insectos y patógenos como tal, también tienden a evolucionar y perfeccionar los ataques constantes de las plantas, ya que quizá este sea su único sustento de alimento y morada.

Es por eso que hacer uso de agentes biológicos, es más productivo protegiendo y ayudando a las plantas, en caso de ataques de otros patógenos y herbívoros, ya que pueden desarrollar resistencia contra estos, y a su vez evolucionar con la planta y sus requerimientos para su posterior desarrollo y producción.

Probablemente en un futuro estas enfermedades transmitidas por hongos y otros patógenos, como también insectos herbívoros que ataque y devoren las plantas, desarrollen estrategias para resistir y combatir los ataques de estos protectantes biológicos aplicados hoy en día a los cultivos que padecen estos problemas, sin embargo, es también muy probable que estos agentes biológicos controladores, del mismo modo desarrollen nuevas estrategias para combatir la resistencia. La naturaleza es sabia y justa, no se subestima ni vacila su existencia, y constantemente se encuentran en ofensiva para su supervivencia.

8.3. Eficiencias de los protectantes biológicos

De acuerdo con los resultados los protectantes biológicos presentan una mayor eficiencia comparándolos con el tratamiento convencional de la empresa, esto demuestra que son efectivos y recomendables para la aplicación en plantaciones de arroz, así mismo se observa que actúan desde las primeras etapas del desarrollo de la planta, puesto que como se muestra en la germinación, todas las plantas señalan que asimilaron correctamente la labor de estos protectantes, logrando germinar la mayoría de las semillas plantadas en un comienzo, inclusive el *Trichoderma* el cual se observó que arrojó un 0% en la diferencia, con respecto

al control, lo cual quiere decir que presentó igual porcentaje de germinación que el tratamiento convencional.

Así mismo en el desarrollo y formación de las plantas de arroz se observó que estos protectantes biológicos arrojaban efectos positivos visibles en las plantas, (figura) como en la longitud y anchura de sus hoja, así como también en el porcentaje de macollas activas encontradas en las bandejas y panículas por metro cuadrado arrojadas por las macollas, producto de la eficiencia de estos protectantes biológicos, así mismo gracias a esto se ven efectos en el largo de la panícula y por ende en la cantidad de granos que estas contenían. Del mismo modo en el peso de estos granos obtenidos con anterioridad se demuestra finalmente que tanto el *Trichoderma harzianum*, como el *Bacillus subtilis* y el Biochar cumplieron con las expectativas de llevar las plantas a un estado óptimo de desarrollo y producción, puesto que trabajando independientemente como en conjunto demostraron ser otra alternativa efectiva y saludable para llevar a cabo en los campos de arroz.

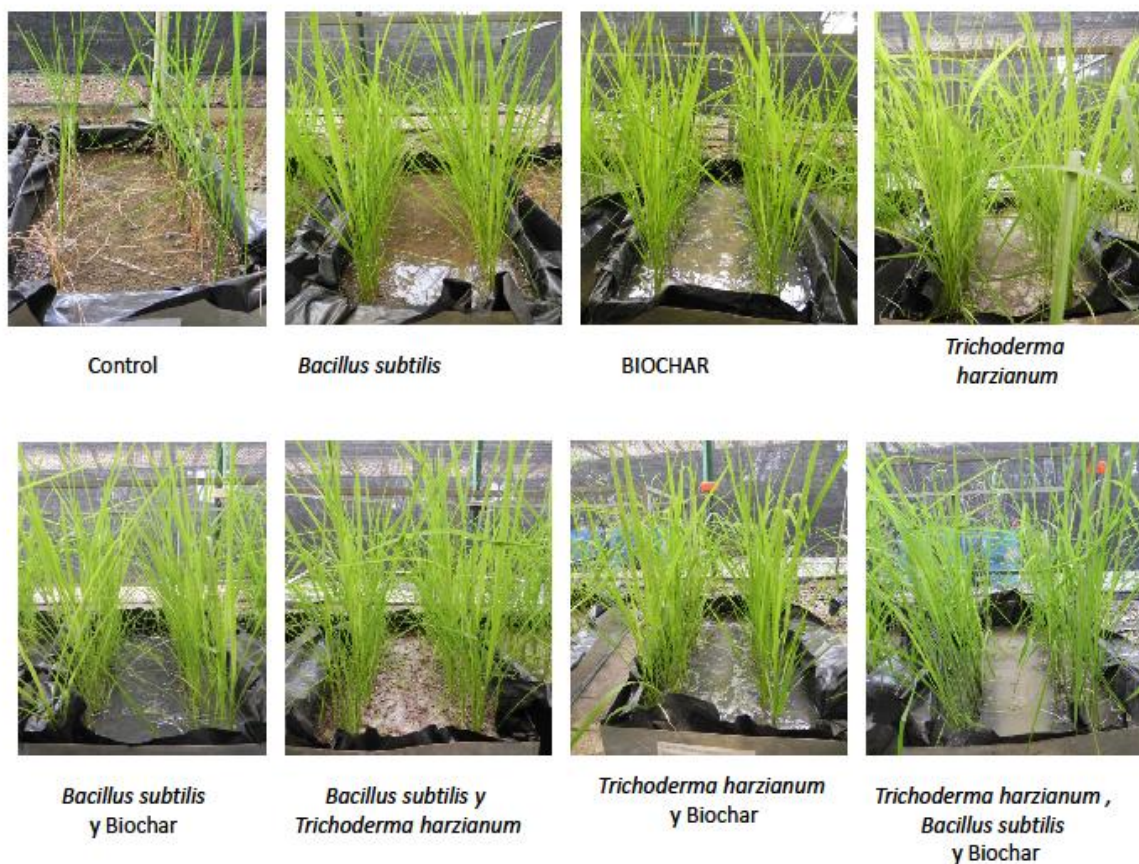


Figura 34. Comparación de los protectantes biológicos con el cultivo convencional (Control)

9. Conclusiones

- ❖ El BIOCHAR como producto biológico nuevo, derivado del carbón, tuvo óptimos resultados como fertilizante y promotor de crecimiento e igualmente se acoplo muy bien a los productos biológicos aplicados, siendo uno de los que arrojó mejores resultados en el número de panículas por metro cuadrado y la longitud de estas, con un promedio de 91 panículas y una medida de 0.95 cm por encima del tratamiento Control.
- ❖ El *Bacillus subtilis* demostró una eficiencia del 11% más que el tratamiento control, así como también fue el único de los protectantes biológicos que

arrojó resultados superiores en cuanto a las macollas por metro cuadrado superando en 38 de estas al tratamiento Control.

- ❖ El *Trichoderma harzianum* presento resultados favorables con respecto al tratamiento control, sin embargo, su mayor rendimiento se obtuvo al trabajar en conjunto con BIOCHAR en el que se obtuvieron los mayores valores en el largo, ancho, porcentaje de macollas activas y número de granos por panícula de las plantas de arroz. Del mismo modo al actuar con *Bacillus subtilis* arrojó un mayor número de panículas por metro cuadrado con 91 panículas por encima del tratamiento Convencional.
- ❖ Se demostró que los protectantes biológicos empleados en el ensayo (*Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, BIOCHAR) operan mejor en conjunto o sinergia puesto que se puede evidenciar en los buenos resultados al contrastar su actividad con los agroquímicos convencionales, cumpliendo los objetivos y expectativas esperadas al principio del proyecto, un ejemplo de esto es la diferencia significativa en el peso de los granos de arroz que presentó el tratamiento con los tres protectantes biológicos, en el que se obtuvo un peso de 1.58 gr por encima del tratamiento Control.

10. Recomendaciones

- ❖ Se recomienda realizar los ensayos con mayor nivel de iradianza ya que favorece el crecimiento de estas plantas, como también la acción de los productos aplicadas y a su vez puede llegar a evitar el crecimiento de patógenos.
- ❖ Es recomendable realizar un mayor número de aplicaciones de los protectantes empleados en el proyecto ya que pueden tener un mejor efecto, combatir y contrarrestar las enfermedades presentadas por la planta de arroz.

- ❖ Se recomienda continuar realizando las aplicaciones de los protectantes biológicos en la fase de campo para mejores resultados, aplicando los mismos procedimientos del invernadero a mayor escala en los cultivos de arroz blanquita.

11. Literatura citada

ALEXANDER M 1980. Introducción a la Microbiología del Suelo. *AGT Editores*, México pp. 234-362.

ALGUACIL M.M., CARAVACA F & ROLDÁN A. 2005. Changes in rhizosphere microbial activity mediated by native or allochthonous AM fungi in the reafforestation of a Mediterranean degraded site. *Biology and fertility of soil*, 41: 59-68

ALMAGUER .M., ROJAS. T. I., & HERNÁNDEZ. A. 2008. Perspectivas de los estudios aeromicológicos para la protección del cultivo del arroz. *Rev. Protección Veg. Vol. 23 No. 3 (2008): 137-143*

ALTOMARE C., W.A. NORVELL, T. BJÖRKMAN & G.E. HARMAN. 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. *Appl. Environ. Microb.* 65(7), 2926- 2933.

ATLAS, R.M. & BARTHA, R. 1993. Microbial Ecology. Fundamentals and applications. Benjamin/Cummings Publishing Co., Inc., USA.

BAREA J.M & OLIVARES J. 1995. Manejo de las propiedades biológicas del suelo. En: Agricultura sostenible. RM. Jimenez- Diaz, J. Lamo de Espinosa (Eds). Mundi prensa. Madrid. Pp. 173-193

BAKER, R. & GRIFFIN, G.J. (1995) "Molecular strategies for biological control of fungal plant pathogens". In: Novel Approaches to Integrated Pest Management. Ed. Lewis Pub. Inc. Chelsea, M.I. 21: 9-17.

BASHAN, Y. & HOLGUIN, G. 1997. *Azospirillum*-plants relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). Can. J. Microbiol.

BASURTO – CADENA.M.G., FONT SAN AMBROSIO. M.I., GARCIA- JIMENEZ. J & VASQUEZ- ARISTA. M. 2010. Cambios en la estructura celular durante la actividad antagonica de *Bacillus subtilis* contra *Rhizoctonia solani* y *Fusarium verticillioides*. Rev. Acta Microscopica Vol. 19, No. 2, pp. 138 - 144

BÉCQUER C.J., ANTOUN. H & PRÉVOST. D. 2000. Estudio de la interacción de *Trichoderma harzianum* con bacterias dinitro fijadoras de vida libre. Estación Experimental de Pastos y Forrajes Sancti Spiritus. Canadá

BELANGER R, DUFUOR N, CARON J & BENHAMOU N. 1995. Chronological events associated with the antagonistic properties of *Trichoderma harzianum* against *Botrytis cinerea*: Indirect evidence for sequential role of antibiotics and parasitism. Biocontrol Science Technology 5: 41-54.

BOHN H., B. M.C NEAL & G. O´CONNOR. 1993. Química del Suelo. Limusa, México

CARDONA M., REINALDO. C., & GONZÁLEZ. M.S. 2008 "Caracterización y patogenicidad de hongos del complejo *Helminthosporium* asociados al cultivo del arroz en Venezuela." *BIOAGRO* 20.2

CASTAÑO J. 2002. Principios básicos de fitoepidemiología. *Ciencias Agropecuarias* Editor Universidad de Caldas. Págs. 398.

CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL (CIAT). 2010. Producción eco-eficiente del arroz en América Latina. Contenido científico: Degiovanni B., Víctor M., Victor Degiovanni B, Cesar P. martinez R, Francisco Motta O, Martínez R., César P., Motta O., Francisco.

CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL (CIAT). 1989. Desarrollo Del Manejo Integrado de Plagas Del Cultivo de Arroz. Contenido científico: Georg Weber, Ph.D.

CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL (CIAT). 1982. Los herbicidas: modo de actuar y síntomas de toxicidad; guía de estudio para ser usada como complemento de la unidad audiotutorial sobre el mismo tema. Contenido científico: Doll, Jerry. Producción: Fuentes de piedrahitá, Cilia L. Cali, Colombia. CIAT. 35 p. (Serie 04SW- 01 - 04)

CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL (CIAT). 1981. Morfología de la Planta de Arroz; guía de estudio para ser usada como complemento de la unidad audiotutorial sobre el mismo tema. Contenido científico: Joaquín Gonzáles y Manuel Rosero. Producción: Oscar Arregocés. Cali, Colombia. CIAT. 31p (Serie 04SR-05.02).

CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL (CIAT), 1980. Crecimiento Y Etapas de Desarrollo de la Planta de Arroz. Contenido científico: Fernández F & Arregocés Oscar.

CHET I., IBAR J & HADAR I. 1997. Fungal antagonists and mycoparasites. In *The Mycota IV: Environmental and Microbial Relationships* (Wicklow DT & Soderstrom B, eds.). New York: Springer Verlag, pp. 165-192.

CHET I & IBAR J. 1994. Biological control of fungal pathogens. Applied Biochemistry & Biotechnology 48: 37- 43. Compant, S., Clément, S & Sessitsch, A., 2010. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. Soil Biology and Biochemistry 42, 669e678.

CUBILLOS-HINOJOSA J., NELSON V & MEJÍA L., 2009. *Trichoderma harzianum* como promotor del crecimiento vegetal del maracuyá (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* Degener)

CLARO O.E. 2006. Métodos artesanales de producción de bioplaguicidas a partir de hongos entomopatógenos y antagonistas Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV). Ciudad de La Habana, Cuba.

DE HAEN, H., *La biotecnología en la agricultura. La silvicultura y la pesca*, Roma, Ed. FAO, 1993.

ELAD Y & CHET I. 1987. Possible role of competition for nutrients in biocontrol of Pythium damping-off by bacteria. Phytopathology 77: 190-195.

ELAD Y & BAKER R. 1985. The role of competition for iron and carbon in suppression of chlamidospore germination of *Fusarium* spp. by *Pseudomonas* spp. Phytopathology 75: 1053.

ERNSTING A & SMOLKER R. 2009. Biochar para mitigar el Cambio Climático: ¿Realidad o ficción? <http://www.sca.com.co/Articulo/Biochar.pdf>.

EZZIYYANI M., REQUENA ME., PÉREZ SÁNCHEZ C., EGEA GILABERT C & CANDELA ME. 2003. Mecanismos de biocontrol de la «tristeza» del pimiento (*Capsicum annuum* L.) por microorganismos antagonistas. Actas de la XV Reunión de la Sociedad Española & VIII Congreso Hispano Luso de Fisiología Vegetal.

EZZIYYANI M., PÉREZ SÁNCHEZ C., SID AHMED A., REQUENA ME & CANDELA ME. 2004. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). Anales de Biología 26: 35-45

FAO. 2006. Guía para identificar las limitaciones de campo en la producción de arroz.

FAO. 2004. Año internacional del arroz.

FAO. 1990. Boletín trimestral de Estadística.

FERNANDEZ-LARREA O. 2001. Microorganismos antagonistas para el control. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal La Habana. Cuba. No. 62 p. 96 – 100

FILIPON, Z. INTERNATIONAL APPROACH TO ASSESSING SOIL QUALITY BY ECOLOGICALLY-RELATED BIOLOGICAL PARAMETERS. AGRICULTURE ECOSYSTEMS & ENVIRONMENT 2002:88 169-174

FISHER R. & D. BINKLEY. 2000. Ecology and Management of Forest Soils. Third Edition John Wiley & Sons.

GARCÍA-LÓPEZ L. & VÁZQUEZ-SANDOVAL. R.A. 2002. Caracterización Morfológica y Biocontrol de *Fusarium oxysporum* f. sp. *metonis* y *F. oxysporum* f. sp. *niveum* y Promoción del Crecimiento por Rizobaeterias en Melón y Sandía. Tesis de Licenciatura en Químico Farmaeobiólogo. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco, México. 68 p.

GHISALBERTI E.Z. & SIVASITHAMPARAN. K. 1991. Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma* spp. *Sci. Biol. Biochem*

GODES. A. 2007. Perspectivas de los inoculantes fúngicos en Argentina. pp. 11-14. En: Izaguirre-Mayoral, M.L., C. Labandera y J. Sanjuán (eds.). Biofertilizantes en Iberoamérica: una visión técnica, científica y empresarial. Imprenta Denad Internacional, Montevideo.

GONZÁLEZ J & INTER-AMERICAN INSTITUTE FOR COOPERATION ON AGRICULTURE.1998. Evaluación económico-ecológica de temas de investigación agropecuaria en los países andinos, *Volumen 5 de Serie Priorización de la investigación agropecuaria en América Latina y el Caribe*. Editor IICA. Págs. 164.

GROSSMAN. J.M., O'NEILL. B.E., TSAI. S.M., LIANG. B., NEVES. E., LEHMANN. J & THIES. J.E., 2010. Amazonian anthrosols support similar microbial communities that differ distinctly from those extant in adjacent, unmodified soils of the same mineralogy. *Microbial Ecology* 60, 192e205.

HALLMANN J., QUADT-HALLMANN. A., MAHAFTEE. W.F., & KLOEPPER. J.W. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology* 43:895-914.

HERNÁNDEZ H.N., SIRUT. E.O., NAPOLES. C.A & CONCEPCIÓN. A. 1996. Empleo de *Azotobacter chroococcum* y *Trichoderma* sp. en dos variedades de cebolla. Resúmenes IV Encuentro Científico Técnico de Bioplaguicidas. Ciudad de La Habana.

HOWELL, C.R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Dis.* 87, 4-10.

IZQUIERDO, J., CIAMPI, L & DE GARCÍA, E. 1995. *Biotecnología apropiable: Racionalidad en su desarrollo y aplicación en América Latina y el Caribe*, REDBIO,

Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe, Santiago de Chile, págs. 49-54.

JIN H., 2010. Characterization of microbial life colonizing biochar and biochar amended soils. PhD Dissertation, Cornell University, Ithaca, NY.

JULIANO B.O. 1994. El arroz en la nutrición humana *Volumen 26 de Colección FAO: Alimentación y nutrición, Volumen 26 de FAO.: Alimentación y nutrición*. Editor Food & Agriculture Org. Págs. 176

KIM J.-S., SPAROVEK. S., LONGO. R.M., DE MELO. W.J & CROWLEY. D. 2007. Bacterial diversity of terra preta and pristine forest soil from the Western Amazon. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 648e690.

KLOEPPER J.W.. SCHROTH. M.N.. & MILLER, T.D. 1980. Effects of rhizosphere colonization by plant growth promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. *Phytopathology* 70:1078-1082.

LAIRD. D.A., 2008. The charcoal vision: a win-win-win scenario for simultaneously producing bioenergy, permanently sequestering carbon, while improving soil and water quality. *Agronomy Journal* 100, 178e181.

LEHMANN J., RILLIG. M.C., THIES J, MASIELLO C.A, HOCKADAY. W.C & DAVID CROWLEY, 2011. Biochar effects on soil biota. A review. *ELSEVIER. Soil Biology & Biochemistry* 43 (2011) 1812e1836

LEHMANN J., JOSEPH. S. 2009. Biochar for environmental management: an introduction. In: Lehmann, J., Joseph, S. (Eds.), *Biochar for Environmental Management: Science and Technology*. Earthscan, London, pp. 1e12.

LEHMANN J. 2007. Bio-energy in the black. *Frontiers in Ecology and the Environment* 5, 381e387.

LEHMANN J., GAUNT. J & RONDON. M., 2006. Bio-char sequestration in terrestrial ecosystems e a review. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change* 11, 403e427.

LIANG B., LEHMANN. J., SOHI. S.P., THIES. J.E., O'NEILL. B., TRUJILLO. L., GAUNT. J., SOLOMON. D., GROSSMAN. J., NEVES. E.G & LUIZÃO. F.J. 2010. Black carbon affects the cycling of non-black carbon in soil. *Organic Geochemistry* 41, 206e213.

LU J.J & CHANG. T.T. 1980. Rice in its temporal and spatial perspective. En B.B.Luh, ed. *Rice: production and utilization*. Westport, CT, EE.UU., AVI Publishing Company. Inc., Págs. 74

LUH B.S. 2001. *Cereal processing technology*. Edit Woodhead Publishing Ltd.

MADIGAN M & MARTINKO. J. 2005. *Brock Biology of Microorganisms*, 11th ed., Prentice Hall.

MADIGAN M.T. MARTINKO. J.M.PARKER. J.1998. *Brock Biology of Micoorganims*. Pretince Hall.Iberia.Madrid.

MARTÍN. Y., SOTO. F., RODRÍGUEZ. Y.E & MOREJÓN R. 2010. El sistema intensivo de cultivo del arroz (sica) disminuye la cantidad de semillas para la siembra, aumenta los rendimientos agrícolas y ahorra el agua de riego. *Rev. Cultivos Tropicales*, vol. 31, no. 1, p. 70-73

MARCO AURELIO VILLEGAS ARENAS. 2000. *Trichoderma pers*. Características generales y su potencial biológico en la agricultura sostenible.
[Http://www.oriusbiotecnologia.com](http://www.oriusbiotecnologia.com)

MARTINEZ. H & ESPINAL. C. 2004. La Competitividad de las Cadenas Agro productivas en Colombia. Editor IICA Biblioteca Venezuela, Págs. 940.

MEDINA H. 2007. Fenología de las nuevas variedades de arroz Fedearroz 60, Fedearroz 170 y Fedearroz 733 en el Sur del Cesar. En: Compendio resultados de investigación 2006-2007. Fedearroz-Fondo Nacional del Arroz. Pág. 179-183.

MESA REYNALDO.J.R., GÓMEZ CORDERO.J.L., RODRÍGUEZ CANDEDO.O., PARETS SELVA.E & SOTO ORTIZ.R. 2006. Efecto de *Trichoderma* y micorrizas en la producción de posturas de *Carica papaya* L. Editor Centro de Estudios para la Transformación Agraria Sostenible (CETAS).

MINISTERIO DE AGRICULTURA. 2003. Estudio de la competitividad de la producción de arroz en selva”. Programa para el Desarrollo de la Amazonía PROAMAZONIA.

MORENO-SARMIENTO N., MORENO-RODRÍGUEZ L. & URIBE-VÉLEZ. D. 2007. Biofertilizantes para la agricultura en Colombia. pp. 38-45. En: Izaguirre-Mayoral, M.L., C. Labandera y J. Sanjuán (eds.). Biofertilizantes en Iberoamérica: una visión técnica, científica y empresarial. Imprenta Denad Internacional, Montevideo.

OROZCO C., PÉREZ. A., GONZÁLEZ N., RODRÍGUEZ F., & ALFAYATE. J. 2003. Contaminación Ambiental. Una visión desde la Química. Thompson Eds. España.

ORTUÑO N., NAVIA. O., ANGULO. V., BARJA. D & PLATA. G. 2009. Desarrollo de biofertilizantes en base a microorganismos nativos para una producción soberana en Bolivia. Memoria V Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. Oruro, Bolivia. p. irr.

OSORIO N.W. 2000. Aislamiento y evaluación *in vitro* de microorganismos solubilizadores de fosforo en suelos tropicales. Trabajo de Grado. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Agronomía.

OU S.H. 1985. Rice Disease. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, UK. 380 p.

PAPAVIZAS G.C., LEWIS. J.A & ABD-ELMOITY. T.H. 1982. Evaluation of new biotypes of *Trichoderma harzianum* for tolerance to Benomyl and enhanced biocontrol capabilities. *Phytopathology* 72: 126-132.

PEÑA A., HERNÁNDEZ. A.A., DÍAZ. J.A & CARR. A . 2007. Control *in vitro* con *Trichoderma* spp. de hongos fitopatógenos de vitroplantas de piña (*Ananas comosus* (L)Merr. Control *in vitro* with *Trichoderma* spp. of phytopathogenus of pineapple vitroplants (*Pineapples comosus* (L). Merr. Editorial Feijoo. *Rev Centro Agrícola*, 34(4): 19-23.

PERDOMO M.A., GONZALES. J., CADAVID DE GAL VIS. Y & GARCÍA. E. 1983. Los macronutrientes en la nutrición de la planta de arroz; guía de estudio. Productor, Arregóces, O. Cali, Colombia, CIAT. 36 p. Serie 04SR-09.06. (Para ser usada como complemento de la Unidad Audiotutorial sobre el mismo tema que consta de 75 diapositivas, cinta magnetofónica de 21' y guión de 11p.).

PIETIKÄINEN J., KIIKKILÄ. O & FRITZE, H., 2000. Charcoal as a habitat for microbes and its effects on the microbial community of the underlying humus. *Oikos* 89, 231e242.

REYES Y., MARTÍNEZ. B & INFANTE. D. 2008. Evaluación de la actividad antagónica de trece aislamientos de *Trichoderma* spp. SOBRE *Rhizoctonia* sp. *Rev. Protección Veg. Vol. 23 No. 2*

RILLIG M.C & MUMMEY. D.L. 2006. Mycorrhizas and soil structure. New Phytologist.

RODRÍGUEZ H., NASS. H & ALEMÁN. L. 1988. Incidencia y control del manchado del grano de arroz. Fitopatol. Venez. 1(1): 5-7.

SCHWARTZ M.W., HOEKSEMA. J.D., GEHRING. C.A., JOHNSON. N.C., KLIRONOMOS. J.N., ABBOTT. L.K & PRINGLE. A. 2006. The promise and the potential consequences of the global transport of mycorrhizal fungal inoculum. Ecological Letters 9, 501e515.

SID AHMED A, PÉREZ SÁNCHEZ. C & CANDELA. M.E. 2000. Evaluation of induction of systemic resistance in pepper plants (*Capsicum annuum*) to *Phytophthora capsici* using *Trichoderma harzianum* and its relation with capsidiol accumulation. European Journal of Plant Pathology 106: 817-824.

SID AHMED A., EZZIYYANI. M., PÉREZ SÁNCHEZ. C & CANDELA. M.E. 2003. Effect of chitin on biological control activity of *Bacillus* spp. and *Trichoderma harzianum* against root rot disease in pepper (*Capsicum annuum*) plants. European Journal of Plant Pathology 109: 418-426

SOHI S., KRULL. E., LOPEZ-CAPEL. E., BOL. R. 2010. A review of biochar and its use and function in soil. Advances in Agronomy 105, 47e82.

SNEH B., DUPLER. M., ELAD. Y & BAKER. R. 1984. Chlaniydospore germination of *Fusarium oxysporum* f sp. *cucumcrinum* as affected by Huorcscenl and lylic bacteria from a *Fusarium* suppressive soil. Phytopathology 74:1115-1125.

STEINER C., GLASER. B., TEIXEIRA. W.G., LEHMANN. J., BLUM. W.E.H & ZECH. W. 2008. Nitrogen retention and plant uptake on a highly weathered central

Amazonian Ferralsol amended with compost and charcoal. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 171, 893e899.

SUTTON J. & PENG. G. 1993. Biocontrol of *Botrytis cinerea* in strawberry leaves. Phytopathol. 83, 615-621.

THOMPSON L. M & TROEH F. R. 1988. Los suelos y su fertilidad. Editor Reverte, cuarta edición. Págs. 649.

TSCHEN J.S.M. 1987. Control of *Rhizoctonia solani* by *Bacillus subtilis*. Transactions of the Mycological Society of Japan 28: 483-493.

VALENCIA H., SÁNCHEZ. J., VERA. D., VALERO. N & Cepeda. M. 2007. Microorganismos solubilizadores de fosfatos y bacterias fijadoras de nitrógeno en páramos y región cálida tropical (Colombia) pp. 169-183. En: Sánchez, J. (ed.). Potencial biotecnológico de microorganismos en ecosistemas naturales y agroecosistemas. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

VALENCIA H., SÁNCHEZ. J & Valero. N. 2005. Producción de ácido indolacético por microorganismos solubilizadores de fosfato presentes en la rizósfera de *Espeletia grandiflora* y *Calamagrostis effusa* del Páramo el Granizo. pp. 177-193. En: Bonilla, M. (ed.). Estrategias adaptativas de plantas de páramo y del bosque altoandino en la cordillera oriental de Colombia. Unibiblos, Bogotá.

VALERO N. 2007. Determinación del valor fertilizante de microorganismos solubilizadores de fosfato en cultivos de arroz. pp. 169-183. En: Sánchez, J. (ed.). Potencial biotecnológico de microorganismos en ecosistemas naturales y agroecosistemas. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

VAN VEEN. J.A., OBERBEEK. L.S & ELSAS J.D. 1997. Fate and activity of microorganisms introduced into soil. Microbiology and Molecular Biology Reviews 61:121-135.

VAN ZWIETEN L., KIMBER. S., MORRIS. S., CHAN. K.Y., DOWNIE. A., RUST. J., JOSEPH. S & COWIE. A. 2010. Effects of biochar from slow pyrolysis of papermill waste on agronomic performance and soil fertility. *Plant and Soil* 327, 235e246.

VELASCO C. R. SF. El cultivo de arroz.

VERA D., PÉREZ. H & VALENCIA. H. 2002. Aislamiento de hongos solubilizadores de fosfatos de la rizosfera del arazá (*Eugenia stipitata*, Myrtaceae). *Acta Biol. Colomb.* 7, 33-40.

WARNOCK D.D., LEHMANN. J., KUYPER. T.W & RILLIG. M.C., 2007. Mycorrhizal responses to biochar in soil e concepts and mechanisms. *Plant and Soil* .

WELLS. H.D. 1988 “*Trichoderma* as abiocontrol agent”, in *Biocontrol of Plant Diseases*, Vol I. Mukerji. K.G & Garg. K.L Eds CRC: Press, Boca, Ratón, FL.

YEDIDIA I., BENHAMOU. N & CHET. I. 1999. Induction of defence responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Applied and Environmental Microbiology* 65: 1061-1070.

YIN B., CROWLEY. D., SPAROVEK. G., DE MELO. W.J & BORNEMAN. J. 2000. Bacterial functional redundancy along a soil reclamation gradient. *Applied and Environmental Microbiology* 66, 4361e4365.

YUEN GY, SCHROTH. M.N., & MCCAIN. A.H. 1985. Reduction of *FilSarium* wilt of carnation with suppressive and antagonistic bacteria. *Plant Disease* 69:1071 - 1075.