

**“IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA EN LA
FIJACIÓN DE NITRÓGENO ATMOSFÉRICO DE LA CEPA Bg1 EN
CONDICIONES DE LABORATORIO, E INVERNADERO EN EL
CULTIVO DE ROSA (*Rosa sp. var. Ravel*).”**

MARTHA CECILIA RUIZ CASA

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TÍTULO DE INGENIERA AGRÓNOMA**

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE RECURSOS NATURALES

ESCUELA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

RIOBAMBA – ECUADOR

2013

EL TRIBUNAL DE TESIS CERTIFICA, que el trabajo de investigación titulado “**IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA EN LA FIJACIÓN DE NITRÓGENO ATMOSFÉRICO DE LA CEPA Bg1 EN CONDICIONES DE LABORATORIO, E INVERNADERO EN EL CULTIVO DE ROSA (*Rosa sp. var. Ravel*)**”, de responsabilidad de la Srta. Egresada Martha Cecilia Ruiz Casa, ha sido prolijamente revisada quedando autorizada su presentación.

TRIBUNAL DE TESIS

ING. RAÚL CAMACHO
DIRECTOR

ING. VICTOR LINDAO
MIEMBRO

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
ESCUELA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA
RIOBAMBA – ECUADOR

2013

DEDICATORIA

Con toda mi gratitud y amor dedico este trabajo a mi madre Angélica Ruiz, a mis abuelitos y tíos quienes con su amor, consejos, constancia y esfuerzo, buscaron mi bienestar y contribuyeron incondicionalmente para alcanzar mis metas y objetivos.

AGRADECIMIENTO

El más sincero agradecimiento principalmente a Dios, quien me ha concedido la vida y la dicha de haber culminado uno de mis sueños.

Al Ing. Raúl Camacho L.; Director y al Ing. Víctor Lindao, miembro del tribunal de tesis, quienes me han orientado en la realización de este proyecto.

Al Dr. Carlos Rodríguez, por su guía y apoyo en la fase de Laboratorio, y sobre todo por compartir su amistad conmigo.

A la Finca Biogarden “La Pampa” por haberme facilitado sus instalaciones para realizar este trabajo, de manera especial mi gratitud al Ing. Ramiro Jaramillo Jefe de Finca, de esta empresa, por su apoyo y ayuda en el desarrollo de esta tesis.

TABLA DE CONTENIDO

	CAPÍTULO	PAG.
	LISTA DE CUADROS	i
	LISTA DE FIGURAS	vi
	LISTA DE ANEXOS	viii
I.	TÍTULO	1
II.	INTRODUCCIÓN	1
III.	REVISIÓN DE LITERATURA	3
IV.	MATERIALES Y METODOS	16
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
VI.	CONCLUSIONES	78
VII.	RECOMENDACIONES	80
VIII.	ABSTRACTO	81
IX.	SUMMARY	82
X.	BIBLIOGRAFÍA	83
XI.	ANEXOS	87

LISTA DE CUADROS

Nº	CONTENIDO	PÁGINA
1	Extracción de nutrientes del cultivo de la rosa (<i>Rosa</i> sp).	15
2	Tratamientos en estudio fase de laboratorio.	20
3	Especificaciones de los ensayos de laboratorio.	20
4	Análisis de varianza para la fase de laboratorio.	23
5	Características químicas del suelo en donde se realizó el ensayo de campo.	25
6	Especificación de la parcela experimental	26
7	Dosis de los tratamientos en estudio.	27
8	Análisis de varianza para la fase de campo.	27
9	Fertilizantes utilizados en el ensayo de campo.	31
10	Características morfológicas y fisiológicas de las cepas de Bg1, crecidas en Agar Nutritivo.	33
11	Características morfológicas y fisiológicas de las cepas de Bg1, crecidas en Agar Picovskaya.	34
12	Variación de la población bacteriana en relación al tiempo.	36
13	Viabilidad bacteriana en refrigeración	38
14	Análisis de Varianza para la altura de la parte aérea (cm) de plantas de trigo (<i>Triticum vulgare</i> L.), crecidas en povina	40
15	Análisis de Varianza para la altura de la parte aérea (cm.) de plantas de trigo (<i>Triticum vulgare</i> L.), crecidas en suelo.	40

Nº	CONTENIDO	PÁGINA
16	Análisis de Varianza para el número de hojas maduras de plantas de trigo (<i>Triticum vulgare</i> L.), crecidas en pomina.	41
17	Prueba de Tukey al 5% para el número de hojas maduras de plantas de trigo (<i>Triticum vulgare</i> L.), crecidas en pomina	41
18	Análisis de Varianza para el número de hojas maduras de plantas de trigo (<i>Triticum vulgare</i> L.), crecidas en suelo.	43
19	Análisis de Varianza para el peso seco de la parte aérea (mg.) de plantas de trigo (<i>Triticum vulgare</i> L.), crecidas en pomina.	44
20	Prueba de Tukey al 5% para el peso seco de la parte aérea de plantas de trigo (<i>Triticum vulgare</i> L.), crecidas en pomina	44
21	Análisis de Varianza para el peso seco de la parte aérea (mg.) de plantas de trigo (<i>Triticum vulgare</i> L.), crecidas en suelo.	46
22	Prueba de Tukey al 5% para el peso seco de la parte aérea de plantas de trigo (<i>Triticum vulgare</i> L.), crecidas en suelo.	46
23	Análisis de varianza para la longitud del tallo de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>) a los 30 días.	49
24	Análisis de varianza para la longitud del tallo de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>) a los 45 días.	49
25	Prueba de Tukey al 5% para la longitud del tallo de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>) a los 45 días.	50
26	Análisis de varianza para longitud del tallo de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>) a los 60 días.	51

Nº	CONTENIDO	PÁGINA
27	Prueba de Tukey al 5% para la longitud del tallo de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>) a los 60 días.	51
28	Análisis de varianza para longitud del tallo de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>) a los 90 días.	53
29	Prueba de Tukey al 5% para la longitud del tallo de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>) a los 90 días.	53
30	Análisis de varianza para el número de hojas de la planta de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>) a los 30 días.	55
31	Análisis de varianza para el número de hojas de la planta rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>) a los 45 días.	55
32	Análisis de varianza para el número de hojas de la planta de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>) a los 60 días.	56
33	Análisis de varianza para el número de hojas de la planta rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>) a los 90 días.	56
34	Prueba de Tukey al 5% para el número de hojas de la planta rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>) a los 90 días.	57
35	Análisis de varianza para el diámetro del tallo de la planta de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>) a los 30 días.	59
36	Análisis de varianza para el diámetro del tallo de la planta de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>) a los 45 días.	59
37	Análisis de varianza para el diámetro del tallo de la planta de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>) a los 60 días.	60

N°	CONTENIDO	PÁGINA
38	Análisis de varianza para el diámetro del tallo de la planta de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>) a los 90 días.	60
39	Análisis de varianza para el largo del botón de la planta de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>) a la cosecha.	61
40	Análisis de varianza para el diámetro del botón de la planta de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>) a la cosecha.	61
41	Análisis de varianza para los días a la cosecha de la planta de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>).	62
42	Análisis de varianza para los tallos de exportación cosechados de la planta de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>).	63
43	Prueba de Tukey al 5% para los tallos de exportación cosechados de la planta de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>).	63
44	Análisis de varianza para los tallos nacionales cosechados de la planta de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>).	64
45	Prueba de Tukey al 5% para los tallos nacionales cosechados de la planta de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>).	64
46	Análisis de varianza para el rendimiento por parcela neta de la planta de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>).	66
47	Prueba de Tukey al 5% para el rendimiento por parcela neta de la planta de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>).	66
48	Análisis de varianza para el rendimiento por hectárea de la planta de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>).	67

Nº	CONTENIDO	PÁGINA
49	Prueba de Tukey al 5% para el rendimiento por hectárea de la planta de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>).	67
50	Costos variables para los tallos de exportación cosechados.	70
51	Beneficio neto para los tallos de exportación cosechados.	70
52	Análisis de dominancia para los tratamientos	71
53	Análisis marginal de los tratamientos no dominados.	71
54	Costos variables para los tallos nacionales cosechados.	72
55	Análisis de dominancia para los tratamientos.	72
56	Beneficio neto para los tallos nacionales cosechados	73
57	Análisis marginal de los tratamientos no dominados.	73
58	Costos que varían para el total de tallos cosechados.	74
59	Beneficio neto para los tallos totales cosechados.	74
60	Análisis de dominancia para los tratamientos.	75
61	Análisis marginal de los tratamientos no dominados.	75
62	Interpretación de los análisis de suelo y foliar.	76

LISTA DE FIGURAS

N°	CONTENIDO	PÁGINA
1	Cepa crema en Agar Nutritivo	33
2	Cepa amarilla en Agar Nutritivo	33
3	Cepa crema en Pikovscaya	34
4	Cepa amarilla en Pikovscaya	34
5	Tinción Gram cepa crema	35
6	Tinción gran cepa amarilla	35
7	Curva de crecimiento de la cepa amarilla	37
8	Curva de crecimiento de la cepa crema	37
9	Pérdida de viabilidad de las cepas de Bg1	38
10	Número de hojas maduras de plantas de trigo (<i>Triticum vulgare</i> L.), crecidas en pomina.	42
11	Peso seco (mg.) de la parte aérea de plantas de trigo (<i>Triticum vulgare</i> L.), luego de 6 semanas de crecimiento en pomina.	45
12	Peso seco (mg.) de la parte aérea de plantas de trigo (<i>Triticum vulgare</i> L.), crecidas en suelo.	47
13	Árbol filogenético de la cepa Bg1	48
14	Longitud del tallo de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>) a los 45 días.	50
15	Longitud del tallo de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>) a los 60 días.	52
16	Longitud del tallo de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>) a los 90 días.	54
17	Número de hojas de la planta de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>) a los 90 días.	57
18	Tallos de exportación cosechados de la planta de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>).	65

Nº	CONTENIDO	PÁGINA
19	Tallos nacionales cosechados de la planta de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>).	65
20	Rendimiento por parcela neta de la planta de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>).	68
21	Rendimiento por hectárea de la planta de rosa (<i>Rosa sp. var. Ravel</i>).	69
22	Curva de beneficio neto para el total de tallos cosechados.	75

LISTA DE ANEXOS

Nº	CONTENIDO	PAGINA
1	Medios Agar Picovskaya	87
2	Medio Agar Nutritivo	87
3	Solución Jensen	88
4	Solución de Buffer.	88
5	Altura de la parte aérea de las plantas de trigo crecidas en pomina.	89
6	Altura de la parte aérea de las plantas de trigo crecidas en suelo.	89
7	Número de hojas maduras de plantas de trigo crecidas en pomina.	89
8	Número de hojas maduras de plantas de trigo crecidas en suelo.	90
9	Peso seco de la parte aérea de las plantas de trigo crecidas en pomina.	90
10	Peso seco de la parte aérea de las plantas de trigo crecidas en suelo.	90
11	Longitud del tallo a los 30 días (cm.).	91
12	Longitud del tallo a los 45 días.	91
13	Longitud del tallo a los 60 días.	92
14	Longitud del tallo a los 90 días.	92
15	Número de hojas a los 30 días	92
16	Número de hojas a los 45 días.	93
17	Número de hojas a los 60 días.	93
18	Número de hojas a los 90 días.	93
19	Diámetro del tallo a los 30 días. (cm)	94
20	Diámetro del tallo a los 45 días.	94
21	Diámetro del tallo a los a los 60 días.	94

Nº	CONTENIDO	PAGINA
22	Diámetro del tallo a los a los 90 días.	95
23	Largo del botón a la cosecha (cm.).	95
24	Diámetro del botón a la cosecha (cm.).	95
25	Días a la cosecha.	96
26	Tallos de exportación cosechados.	96
27	Tallos nacionales cosechados.	96
28	Rendimiento por parcela neta.	97
29	Rendimiento por Hectárea.	97
30	Análisis de suelo realizado antes de instalar el ensayo.	98
31	Análisis de suelo al final del ensayo, muestra 1 (M1) ensayo y Análisis de suelo al final del ensayo (M2) Control Finca.	99
32	Análisis foliar al inicio del ensayo.	100
33	Análisis foliar al final, (M2) Ensayo.	101
34	Análisis foliar al final, Control Finca (M1).	102

I. IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA EN LA FIJACIÓN DE NITRÓGENO ATMOSFÉRICO DE LA CEPA Bg1 EN CONDICIONES DE LABORATORIO, E INVERNADERO EN EL CULTIVO DE ROSA (*Rosa sp. var. Ravel*)

II. INTRODUCCIÓN.

El Ecuador, gracias a su amplia gama de microclimas, permite desarrollar una gran diversidad de especies ornamentales, garantizando así la producción de riqueza. Uno de los principales rubros que genera ingresos muy elevados es la exportación de flores, las mismas que son catalogadas entre las mejores del mundo por su calidad y belleza.

La exportación de rosas se inició a mediados de los ochenta. En 1985 representó el 0.1% de las exportaciones no tradicionales agrícolas; y en los últimos 10 años su crecimiento anual ha llegado a 19,6%, siendo el tercer producto de exportación no petrolera del país.

El cultivo de rosas tiene altos requerimientos nutricionales, por lo que el manejo de la nutrición es un aspecto crucial desde el punto de vista fisiológico y económico; siendo el nitrógeno, después del agua, el factor limitante de mayor impacto en la productividad.

El nitrógeno es un macroelemento esencial, que cumple funciones importantes en el desarrollo de la planta y es absorbido por las raíces, tanto en forma nítrica (NO_3^-) como amoniacal (NH_4^+). Consecuentemente, este elemento debe estar disponible en cantidad suficiente para asegurar una buena producción agrícola; sin embargo, el nitrógeno que proviene de los fertilizantes sufre pérdidas significativas por lixiviación (principalmente como nitrato), volatilización y desnitrificación. En consecuencia no todo el producto aplicado está disponible para la planta.

La atmósfera está constituida por aproximadamente 80% de N, sin embargo la forma molecular en la que allí se encuentra no es aprovechable por las plantas. No obstante, en la naturaleza existen microorganismos capaces de tomar el nitrógeno molecular de la atmósfera (N_2), y reducirlo a compuestos asimilables para las plantas. Este proceso se

conoce como Fijación Biológica de Nitrógeno (FBN) y puede ser llevado a cabo por microorganismos de vida libre o simbiótica, que poseen la enzima nitrogenasa, que hace posible la ruptura del triple enlace del nitrógeno molecular y la formación de amoníaco.

Entre las especies de bacterias de vida libre capaces de realizar FBN, se encuentran los géneros: *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Azospirillum*, entre otros.

Por lo antes mencionado se realizó el presente ensayo, con la finalidad de identificar y evaluar de la eficiencia en la fijación de nitrógeno atmosférico de la cepa BG1 en condiciones de laboratorio e invernadero, en el cultivo de rosa (*Rosa* sp. var. ravel), como una alternativas productiva y económica para los floricultores del sector.

Se plantearon los siguientes objetivos:

1. General

Identificar y evaluar la eficiencia en la fijación de nitrógeno atmosférico de la cepa Bg1, en condiciones de laboratorio e invernadero, en el cultivo de rosa (*Rosa* sp. var. Ravel).

2. Específicos

- a.** Identificar taxonómicamente a la cepa Bg1.
- b.** Evaluar la eficiencia de la cepa Bg1 en condiciones de laboratorio.
- c.** Evaluar la eficiencia de la cepa Bg1, en el cultivo de rosa, en condiciones de invernadero.
- d.** Realizar el análisis económico de los diferentes tratamientos.

III. REVISIÓN DE LITERATURA.

A. IMPACTO AMBIENTAL DE LA APLICACIÓN DE FERTILIZANTES NITROGENADOS.

El uso de nitrógeno sintético ha aumentado de 3.5 a 80 millones de toneladas en los últimos 40 años, tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo, incrementando los costos anuales de producción a más de USD \$ 20 billones. En este periodo, el ciclo global del N₂ se ha visto afectado por el incremento irracional de combustibles fósiles perecibles, cuyo impacto ambiental aún está por calcularse (MARTIN, F. y LOPER, J. 1999).

Alrededor del 50 % de los fertilizantes nitrogenados aplicados a los cultivos es absorbido por las plantas. Del otro 50 % una parte es almacenada en el suelo para la nutrición de los cultivos subsiguientes; y la mayor parte se pierde en forma de gas (desnitrificación), o es lixiviado, en forma de nitratos, a capas inferiores, contaminando las aguas subterráneas y el manto freático (KROTZKY y WERNER, 1985; MALLOLAS y VILA, 2002).

Por otro lado, durante la desnitrificación, bajo ciertas condiciones ambientales, se produce óxido nitroso (N₂O), que junto con el CO₂, metano (CH₄) y los clorofluorcarbonos son gases de invernadero, causantes en gran medida del calentamiento global. La energía reflectiva por mol del N₂O es alrededor de 180 veces la del CO₂ y su concentración en la atmósfera se ha incrementado significativamente como resultado sustancial de la aplicación de los fertilizantes sintéticos, en cuya producción se genera además CO₂ (KROTZKY y WERNER, 1985; MALLOLAS y VILA, 2002).

En los próximos 50 años será necesario un incremento sin precedentes en la producción agrícola, para satisfacer los niveles de insumos calóricos y proteicos de la creciente población mundial; pero también será imperativa la búsqueda de nuevos métodos de producción, agronómicamente y ecológicamente sustentables, que permitan proteger el entorno que soportará tal explosión demográfica (ESPIN, G. 1997).

B. AGRICULTURA SOSTENIBLE

El cultivo de la rosa en esencia persigue producir la mayor cantidad de tallos cosecha por unidad de área, al menor costo posible; pero se ha introducido un nuevo concepto, que es lograr los resultados antes citados causando la menor alteración posible al ambiente (SUBIROS, 1995).

Debido al sistema de monocultivo a largo plazo y el uso excesivo de la tierra, el rendimiento de la rosa ha ido declinando. La disminución está altamente relacionada con la presencia de fitopatógenos, el desequilibrio de la población microbiana autóctona, la acumulación de toxinas, sales y demás elementos que contaminan los suelos (MING-MUH y TE-SHANG, 1986).

Es por esto que la tendencia actual es buscar una producción agrícola sostenible, la cual depende mucho de la buena salud del suelo, ya que garantiza la combinación óptima de los componentes orgánicos e inorgánicos del mismo (ARAUZ, 1997).

C. BIOFERTILIZANTES

Debido a la respuesta espectacular que se obtiene en un cultivo al aplicar un fertilizante sintético altamente concentrado, la fertilización orgánica fue relegada y con ella los beneficios adicionales de la materia orgánica, como fuente de agentes antagonistas de patógenos habitantes del suelo y microorganismos benéficos; lo que condujo a un uso excesivo e irracional de productos sintéticos. Afortunadamente, la agricultura productivista ha cedido de manera paulatina a una agricultura racional y sostenible, donde se equilibra lo productivo, lo social y lo ecológico (ARAUZ, 1997).

Varios factores son responsables de esta transformación, entre lo que se puede mencionar los siguientes:

- Los efectos negativos causados por la misma agricultura productivista.

- Los altos costos de los agroquímicos.
- La mayor concientización de los agricultores y consumidores.
- La investigación científica, incluyendo el desarrollo del manejo integrado de plagas y la agro-ecología.
- La experiencia positiva de la agricultura orgánica.

Se sabe que las plantas pueden perder por las raíces hasta un 40% de fotosintatos. La composición y cantidad de exudados varía con la especie y las condiciones abióticas, pero compuestos como carbohidratos y aminoácidos pueden ser usados por los microorganismos del suelo como nutrimentos para su crecimiento (MAYZ, 2004), por lo que se estima que el número de microorganismos que se encuentran alrededor de las raíces es 10 a 100 mayor que en el resto de la masa de suelo.

Existe un grupo ampliamente estudiado de rizobacterias benéficas que promueven el desarrollo de las plantas. Este grupo incluye diferentes especies de bacterias que pertenecen a los géneros: *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Rhizobium*, entre otros (TODAR, K. 2004).

El género *Azotobacter* pertenece a la familia Azotobacteriaceae; son microorganismos aerobios, fijadores de nitrógeno, capaces de tomar el N del aire, y transformarlo a formas asimilables para las plantas (PAUSTIAN, 2006). Algunas cepas aisladas llegan a fijar entre 50 y 80 kg de N/ha al año (ROJAS, 2001), por lo que se recomienda diluir 1 lt de cultivo bacteriano, con una concentración de 100.000.000 de individuos, en 200 litros de agua y aplicar a 1 ha de terreno, lo que equivale a 300 kg de Urea (46% N) (BAUER T., 2001).

El género *Pseudomonas*, pertenece a la familia Pseudomonadaceae, que está ampliamente difundida en la naturaleza. Son microorganismos gram-negativos, aerobios, móviles y que no forman esporas. *Pseudomonas stutzeri* es una especie fijadora de nitrógeno. (KROTZKY y WERNER, 1985; MALLOLAS y VILA, 2002).

Las especies del género *Bacillus*, familia Bacillaceae, debido a la inusual resistencia de sus endosporas a agentes químicos y físicos, la producción de antibióticos y la fijación de nitrógeno, han atraído y mantenido el interés desde la época de Koch. Algunos ejemplos de especies fijadoras de nitrógeno son *B. macerans* y *B. polymyxa* (TODAR, 2006).

Azospirillum también ha sido el objeto de numerosos estudios por su capacidad de fijar nitrógeno en la rizosfera de diversos cultivos de importancia agronómica (TODAR, 2006).

PAUSTIAN, (2006) manifiesta que el conocimiento y desarrollo de estas bacterias conduce a la posibilidad de desarrollar inoculantes, que al ser incorporados al suelo incrementan la concentración de las bacterias en la rizosfera, aumentando de este modo la probabilidad de obtener un efecto benéfico sobre el cultivo. Este efecto podría manifestarse en mayores rendimientos, ya sea por promoción de crecimiento, aporte de nutrientes, o a través del biocontrol sobre patógenos que inciden negativamente en el rendimiento de los cultivos. Es posible además obtener provecho de este gran número de microorganismos útiles, mediante la selección de aquellos que se muestren eficientes, cultivándolos y agregándolos directamente al suelo o a las semillas antes de la siembra.

D. FIJACIÓN BIOLÓGICA DE NITRÓGENO (FBN)

Los microorganismos encargados de reducir el nitrógeno hasta una forma utilizable por la planta, son un ejemplo importante de microorganismos beneficiosos. La FBN no solo permite usar el N proveniente de la atmósfera, sino también revierte o reduce la degradación del suelo (ALLAN y GRAHAM, 2002; CORVERA, 2000; PARSONS, 2004).

El N, como ya se ha mencionado, es un elemento esencial para el crecimiento de todos los organismos. En la atmósfera, el N molecular (N_2) ocupa aproximadamente el 80%; sin embargo, debido al triple enlace entre los dos átomos, la molécula es casi inerte. Esto implica que el N no puede ser aprovechado por la mayoría de las formas vivientes, sino solo por un pequeño grupo de microorganismos altamente especializados.

Estos microorganismos abarcan una gama morfológica que va desde los organismos unicelulares como las bacterias, hasta multicelulares como las cianobacterias filamentosas y los actinomicetes (ALLAN y GRAHAM, 2002; PARSONS, 2004).

Se estima que la cantidad global de nitrógeno fijado biológicamente puede ser alrededor de 200 a 250 millones de toneladas de amonio al año. La dificultad de una estimación fiel deriva de la gran variedad de microorganismos fijadores y de los diferentes ecosistemas posibles (ACUNA, 2006).

Solo cuando mueren los microorganismos fijadores es que se liberan al medio los compuestos orgánicos nitrogenados, que se transforman en nitrato y amonio, que ya pueden ser asimilados por las plantas o por otros microorganismos (KASS, 1996; TEJERA et al., 2005).

1. La Nitrogenasa.

Está formada por dos proteínas, una que contiene hierro (proteína-Fe) y otra que contiene molibdeno y hierro (proteína Mo-Fe). La reducción de N_2 a NH_4^+ requiere 8 electrones, por lo tanto se necesita un mínimo de 16 ATP para reducir una molécula de N_2 atmosférico. Además, la reducción de N_2 está siempre acoplada a la reducción de H^+ a H_2 , con un mínimo de 1 mol de H_2 producido por mol de N_2 reducido (HORNICK *et al.*, 2007).

2. Relación planta – bacterias, un sistema de retroalimentación.

Las bacterias que fijan nitrógeno utilizan el carbono exudado por la planta en sus raíces como una fuente rica en energía. Estos exudados son utilizados como combustible para alimentar la reacción biológica que convierte el nitrógeno gaseoso en compuestos nitrogenados disponibles para la planta. Ya se trate de especies que habitan en el suelo o especies endofíticas, la planta controla la cantidad de energía con la cual las bacterias realizan el proceso de fijación de nitrógeno, de esta forma la cantidad de nitrógeno que se fija es controlada indirectamente por la planta (itzamna.bnct.ipn.mx).

Por ejemplo, cuando la humedad del suelo es una limitante, disminuyen las necesidades de nitrógeno requerido por la planta, la cual disminuye el suministro de carbono a la flora bacteriana de la rizosfera. Al disminuir la energía entregada, las bacterias disminuyen la fijación de nitrógeno. Cuando las condiciones del suelo son óptimas, la planta requiere satisfacer necesidades crecientes de nitrógeno para su desarrollo; por lo cual, la fijación de nitrógeno es maximizada, mediante una creciente oferta de carbono a la colonia de bacterias. Ello funciona como un sistema de retroalimentación que asegura que la planta recibirá la cantidad de nitrógeno adecuada a sus requerimientos, en base a las condiciones de crecimiento durante la temporada. (itzamna.bnct.ipn.mx)

Esto está en un marcado contraste con las aplicaciones físicas de fertilizantes nitrogenados, en las que los agricultores deben adivinar la cantidad de nitrógeno a aplicar al comienzo de la temporada. Si ha habido un error, el exceso de nitrógeno en un año seco puede reducir dramáticamente la eficiencia en el uso del agua y la sanidad vegetal, "cocinando" literalmente el cultivo. En un año de humedad adecuada, puede no ser suficiente la cantidad de nitrógeno en la aplicación, desaprovechando las buenas condiciones para el desarrollo del cultivo. La fijación de nitrógeno resuelve el problema a través de este sistema de retroalimentación natural. (itzamna.bnct.ipn.mx)

3. Factores que afectan la fijación del Nitrógeno.

Existe una serie de factores que afectan a la cantidad de nitrógeno fijado, la mayoría de los cuales afectan tanto a la fijación por microorganismos libres como en simbiosis. Estos factores son: número de microorganismos fijadores, luz, temperatura, humedad, concentración de oxígeno, compuestos asimilables de nitrógeno, otros nutrientes minerales, y reguladores de la nitrogenasa.

a. Número de microorganismos fijadores.

La relación es obvia, una mayor cantidad de microorganismos fijadores en el medio dará como resultado una mayor fijación de nitrógeno, pero la distribución de las bacterias fijadoras en los distintos hábitats es muy variable.

b. Luz.

Es un factor aplicable a microorganismos fotosintéticos fijadores de nitrógeno. La fijación requiere del poder reductor generado en la fotosíntesis, aunque la reacción de la nitrogenasa parece ser independiente de la luz. Muchas cianobacterias pueden crecer y fijar nitrógeno en completa oscuridad durante un cierto periodo de tiempo, si disponen de suficientes substratos orgánicos producidos en la fase luminosa, ATP y el poder reductor generado. Pero, como es de esperar, la actividad de la nitrogenasa se incrementa linealmente en microorganismos fotosintéticos con el incremento de la intensidad de la luz.

c. Concentración de oxígeno

Cuando aumenta la concentración de oxígeno se observa una disminución de la fijación del nitrógeno. Esto es así porque el proceso de fijación ocurre en condiciones reductoras. Ante la presencia de oxígeno se produce un gasto considerable de poder reductor para proteger a la nitrogenasa de este elemento.

Entre los mecanismos para proteger la nitrogenasa del oxígeno están la “protección respiratoria” (el microorganismo intensifica la respiración cuando hay demasiado oxígeno), que requiere un gasto grande de compuestos carbonados; la generación de ambientes anaerobios (cianobacterias); y la “protección conformacional” (paso de la forma activa de la enzima, que es sensible al oxígeno, a la forma inactiva), entonces no se fija nitrógeno.

d. Temperatura.

Los microorganismos fijadores son comunes en las zonas templadas, abundantes en los trópicos, e incluso llegan a estar presentes en ambientes extremos (polos y zonas calientes). La actividad de la nitrogenasa aumenta con la temperatura, pero al llegar a un máximo (normalmente entre 25-30° C) comienza a decrecer, excepto en los microorganismos fijadores de zonas muy cálidas.

e. Compuestos de nitrógeno.

La síntesis de la nitrogenasa es inhibida por la presencia en el medio de concentraciones de compuestos de nitrógeno como amonio o nitratos, los que, además, interfieren en la competición entre fijadores de nitrógeno y no fijadores.

f. Otros nutrientes minerales.

Se requiere molibdeno y hierro, por ser parte del componente Mo-Fe de la nitrogenasa.

g. Reguladores de la actividad de la nitrogenasa.

El ADP es un potente inhibidor de la nitrogenasa. Cuando la relación ATP/ADP es igual o inferior a 0.5 la nitrogenasa queda totalmente inhibida. Además, son inhibidores competitivos el acetileno y el CO, ya que la nitrogenasa presenta mayor afinidad por éstos que por el nitrógeno.

La actividad de la nitrogenasa se ve incrementada con:

- pH cercano a la neutralidad.
- Nivel alto de humedad y baja tensión de oxígeno.
- Abundante cantidad de compuestos carbonados y compuestos energéticos (ATP).
- Baja concentración de compuestos de nitrógeno (KASS, 1996; TEJERA et al., 2005).

E. EL CULTIVO DE ROSA

1. Generalidades

La rosa pertenece a la familia *Rosaceae*, su nombre científico es *Rosa* sp. Las primera rosas cultivadas eran de floración estival, hasta que trabajos de selección y mejoramiento realizados en oriente sobre algunas especies, fundamentalmente *Rosa gigantea* y *Rosa chinensis*, dieron como resultado la “rosa de té” de carácter refloreciente, que presenta tallos largos y atractivas flores dispuestas individualmente o con algunos capullos laterales de tamaño mediano o grande y numerosos pétalos, que forman un cono central visible (INFOAGRO 2009). Este tipo de sutiliza más para flor cortada y en menos medida el tipo floribunda.

2. Importancia económica y distribución geográfica.

Las flores más vendidas en el mundo son las rosas, seguidas por los crisantemos, los tulipanes, los claveles y los lilium. A partir de la década de los 90 su liderazgo se ha consolidado, debido principalmente a una mejora de las variedades, la ampliación de la oferta durante todo el año y a la creciente demanda. Los principales mercados son Alemania en Europa, Estados Unidos y Japón.

Es un cultivo muy especializado, ocupa 1.000 ha en Italia, 920 ha en Holanda, 540 ha en Francia, 250 en España, 220 en Israel y 200 ha en Alemania. Los países Sudamericanos han incrementado su producción en los últimos años destacando, México, Colombia (1.000 ha) y Ecuador (2.500 ha). (INFOAGRO 2009).

3. Condiciones del Cultivo

a. Suelo.

Debe estar bien drenado y aireado para evitar encharcamientos. Los suelos que no cumplan estas condiciones deben ser mejorados, pudiendo emplearse diversos materiales orgánicos.

Las rosas toleran suelos ácidos, aunque es conveniente mantener el pH en torno a 6. No toleran elevados niveles de calcio, desarrollándose rápidamente clorosis debido al exceso de este elemento. Tampoco soportan elevados niveles de sales solubles, recomendándose no superar el 0.15 % (ABCAGRO, 2009).

b. Temperatura.

Según INFOAGRO (2009), para la mayoría de los cultivares de rosa, la temperaturas óptima de crecimiento está entre de 17°C y 25°C durante la noche y una máxima de 28°C durante el día. Puede mantenerse valores ligeramente inferiores o superiores durante periodos relativamente cortos sin que se produzcan serios daños, pero una temperatura nocturna por debajo de 15°C retrasa el crecimiento de la planta, produce flores con gran número de pétalos, que son deformes si se abren.

Temperaturas excesivamente elevadas también dañan la producción, apareciendo flores más pequeñas de lo normal, con escasos pétalos y de color más pálido.

c. Iluminación.

De acuerdo a FAINSTEIN, R. (1999), el índice de crecimiento para la mayoría de cultivos de rosa sigue la curva total de luz a lo largo del año. Así, en los meses de verano, cuando prevalecen elevadas intensidades luminosas y larga duración del día, la producción de flores es mayor.

No obstante, a pesar de tratarse de una planta de día largo, es necesario el sombreo u oscurecimiento durante el verano e incluso la primavera y el otoño, dependiendo de la climatología del lugar, ya que elevadas intensidades de luminosas van acompañadas de un calor intenso.

d. Humedad Relativa

GAMBOA, L. (1989), manifiesta que la humedad relativa del aire en el invernadero tiene una influencia fundamental sobre la producción, calidad y diversas enfermedades, y se debe poner más énfasis en su control. La humedad óptima oscila entre el 60 a 80 %.

e. Ventilación y Enriquecimiento con CO₂

En muchas zonas, por las temperaturas demasiado bajas durante las primeras horas del día, no es posible ventilar y, sin embargo, los niveles de CO₂ son limitantes para el crecimiento de la planta. Bajo condiciones de invierno en climas fríos, donde la ventilación diurna no es económicamente rentable, es necesario aportar CO₂ para el crecimiento óptimo de la planta, elevando los niveles a 1.000 ppm. Asimismo, si el cierre de la ventilación se efectúa antes del atardecer, a causa del descenso de la temperatura, los niveles de dióxido de carbono siguen reduciéndose debido a la actividad fotosintética de las plantas (INFOAGRO 2009).

4. El nitrógeno en el cultivo de rosa.

Según VILLALOBOS, (2001), el N es un elemento mineral importante en el desarrollo de las plantas. Cantidades adecuadas de N le dan al cultivo la capacidad de crecer y desarrollarse adecuadamente y producir hojas abundantes de color verde oscuro, con una gran área foliar, permitiéndole realizar de mejor manera el proceso de fotosíntesis, incrementar el grosor del tallo y producir un botón floral de calidad.

Un déficit de N provoca un desplazamiento de este elemento móvil desde las hojas más viejas hacia los tejidos nuevos donde se lo requiere, presentándose una coloración verde amarillenta (clorosis) en las hojas de la sección baja de la planta, debido a la presencia de cantidades reducidas de clorofila. Se produce la caída prematura de las hojas y las planta se presentan pequeñas y de crecimiento lento. Cuando el N es insuficiente, las semillas y partes vegetativas de la planta tienen bajo contenido de proteína (VILLALOBOS, 2001).

Además, el déficit de nitrógeno, causa una mala brotación de las yemas después la siembra y una reducción en la cantidad de brotes. Bajo estas condiciones los tallos se tornan delgados, presentan hojas pequeñas y maduran prematuramente, y generalmente disminuye el crecimiento de la planta (VILLALOBOS, 2001).

En cambio, el exceso de N puede incrementar el crecimiento vegetativo, aumentar la susceptibilidad de la planta a algunas enfermedades, reducir el cuajado de fruto y afectar adversamente la calidad (POTASH, 1997).

En vista de que la mayoría de los suelos son deficientes en N, debido a que este elemento no forma parte del material parental que origina el suelo y también por la gran susceptibilidad del elemento a la volatilización y a la lixiviación, es que se vuelve crucial el manejo de la nutrición nitrogenada de las plantas (VILLALOBOS, 2001).

5. Fertirrigación

Actualmente la nutrición vegetal se realiza a través de riego, teniendo en cuenta el abonamiento de fondo aportado. Posteriormente es conveniente controlar los valores de pH y conductividad eléctrica de la solución del suelo, así como realizar análisis foliar para saber su extracción. (INFOAGRO 2009). La extracción de nutrientes del cultivo de la rosa se presenta en la Cuadro 1.

CUADRO 1. Extracción de nutrientes del cultivo de la rosa (*Rosa* sp).

Elemento	Forma Asimilable	Niveles óptimos (Kg/ha/año)
Nitrógeno	N (entre total nítrico y amoniacal)	1200
Fósforo	P ₂ O ₅	267
Potasio	K ₂ O	1215
Calcio	CaO	379
Magnesio	Mg O	120
Zinc	ZnO	3.75
Hierro	Fe	13.6
Manganeso	MnO	4.14
Boro	B	2.45

Fuente: PADILLA (1998).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS.

A. FASE DE LABORATORIO.

1. Lugar experimental

La fase de laboratorio se realizó en el Departamento de Ciencias Biológicas de la Facultad de Recursos Naturales de la ESPOCH

2. Material experimental

Dos cepas de la bacteria Bg1, de colonias color crema y color amarilla, respectivamente, pomina, suelo estéril, y semillas pre-germinadas de trigo (*Triticum vulgare* L.)

3. Metodología

a. Características morfológicas, fisiológicas y prueba de pureza

Se purificó dos cepas de la bacteria Bg1, de colonias color crema y amarillo, respectivamente, consideradas como fijadoras de nitrógeno en forma asimbiótica, las cuales fueron aisladas de una muestra de suelo recolectada en la florícola Biogarden.

b. Crecimiento en medios de cultivo

Las cepas se inocularon en Agar Picovskaya (Anexo 1) y Agar Nutritivo (Anexo 2). Cuando aparecieron colonias visibles (96 y 72 horas, respectivamente) se realizó una descripción de ellas, de acuerdo a: textura, superficie, apariencia, coloración y grado de crecimiento (ninguno, lento o rápido).

c. Tinción de Gram

Con los cultivos descritos anteriormente se procedió a la prueba de tinción Gram, que permitió, además, determinar la forma típica de las células.

d. Presencia de cápsula.

La presencia de cápsula también es propia de este tipo de microorganismos, que la producen para protegerse de la desecación.

Para el efecto se prepararon frotis, que fueron teñidos con cristal violeta por 2 minutos, luego se lavó el exceso del colorante con una solución de sulfato de cobre al 20% (w/v), y finalmente con agua destilada. Cada frotis se secó al ambiente y se observó al microscopio con el lente de inmersión.

e. Determinación de la curva de crecimiento microbiano.

Se transfirió 1 ml del cultivo original caldo a nutritivo estéril y se incubó los cultivos a 28° C.

Para determinar el número de células transferidas al caldo se añadió dos gotas del cultivo original a una cámara de Petroff-Hausser y con la ayuda del lente de mayor aumento se determinó el número de células presentes en cuatro cuadrados dispuestos en diagonal. Se obtuvo un promedio de los conteos realizados y se transformó a células/ml.

Posteriormente, cada hora se determinó el número de células/ml en el cultivo incubado, hasta que la población empezó a declinar notablemente (19 horas). Con los resultados obtenidos se construyó la curva de crecimiento microbiano, en una escala semi-logarítmica.

f. Viabilidad microbiana.

La determinación de la viabilidad microbiana se realizó con el fin de conocer el tiempo en el cual las bacterias pueden permanecer vivas, tras un periodo de almacenamiento bajo condiciones de refrigeración. Para ello, los microorganismos fueron almacenados en Caldo Nutritivo.

Se empleo el método de conteo en placa, a partir de diluciones seriadas (MORENO y ROJAS, 2008; SEELEY, 1973). Se colocó 1 ml de agua de llave estéril en una caja petri que contenía un cultivo bacteriano puro y de la suspensión resultante se tomó 750 μ l y se transfirió a 200 ml de caldo nutritivo estéril. El cultivo se incubó durante 48 horas a de 28° C, manteniéndolo en agitación constante. Luego de la incubación se colocó el cultivo en refrigeración y realizaron conteos diarios de la población viable, durante una semana, y luego tres conteos adicionales, con un intervalo de 7 días entre uno y otro. El primer conteo se realizó 48 horas después de haber colocado el cultivo en refrigeración.

Para los conteos se preparó una serie de diluciones y se inoculó 100 μ l de las diluciones 1/10⁶, 1/10⁷, 1/10⁸, 1/10⁹, por duplicado, en cajas Petri con agar nutritivo. Las cajas fueron luego colocadas en una incubadora, a 28°C por 48 horas.

Terminada la incubación, se escogió las diluciones en las que se podía distinguir claramente las colonias entre si y contar el número de ellas en las dos repeticiones. A partir de estos resultados se calculó el promedio de las dos repeticiones, y luego el número de bacterias/ml en el cultivo original, mediante la siguiente fórmula:

$$N = (n \cdot 10^x) / 0.1$$

Donde:

N = Número de bacterias/ml en el cultivo original

n = Promedio del número de colonias contadas en las dos repeticiones

10^x = Valor de la dilución (con exponente positivo), en la que se contó las colonias.

g. Autenticación y prueba de eficiencia

Una vez determinadas las características morfológicas y fisiológicas de las dos cepas, se implementó dos ensayos con diferente sustrato (pomina y suelo estéril), en los que se crecieron plantas de trigo (*Triticum vulgare L.*). Los tratamientos en estudio fueron: control, no inoculado más nitrógeno inorgánico, inoculado con la cepa Bg1 de colonias color crema, e inoculado con la cepa Bg1 de colonias color amarillo (Cuadros 2 y 3).

Para la nutrición de las plantas en los tratamientos no inoculados se utilizó la solución Jensen (VICENT, 1975) (Anexo 3). Y para los tratamientos inoculados, solución de Jensen más glucosa.

Las plantas se colocaron en un cuarto de crecimiento, con una temperatura de 28°C, en donde se les proporcionó un fotoperíodo de 12 horas diarias.

h. Instalación y manejo de los ensayos

Se utilizó frascos de vidrio de 20 cm de altura y 8 cm de diámetro, en los que se colocó pomina o suelo estériles como sustrato. Entonces se agregó la solución Jensen, hasta alcanzar una humedad equivalente a la capacidad de campo y se sembraron dos semillas pre-germinadas de trigo, que habían sido previamente esterilizadas superficialmente, pero posteriormente se eligió solo una planta para la evaluación.

Una semana después de la siembra se añadió 1ml de una suspensión del cultivo bacteriano con una concentración de 10^9 bact/ml, a las plantas en los tratamientos inoculados. En cambio, en el tratamiento no inoculado + nitrógeno se utilizó sulfato de amonio en una cantidad de 0.1 gr por 20 ml de solución Jesen.

Las plantas que crecieron en pomina fueron regadas cada 72 horas, mientras que para las plantas en suelo estéril el riego fue cada 96 horas.

CUADRO 2. Tratamientos en estudio fase de laboratorio.

Tratamiento	Descripción
T 1	Control
T 2	+N inorgánico
T 3	Bacteria de colonia crema
T4	Bacteria de colonia amarilla

Elaboración: RUIZ, M. 2012

CUADRO 3. Especificaciones de los ensayos de laboratorio.

Descripción	Unidad
Número de tratamientos	4
Número de repeticiones	3
Número de unidades experimentales	24
Pomina estéril (sustrato)	0.15 Kg
Suelo estéril (sustrato)	0.15 Kg
Número de ensayos	2
Número de tratamientos con pomina estéril	4
Número de tratamientos con suelo estéril	4
Número de semillas por recipiente	2
Número de plantas a evaluar por tratamientos	1
Número de repeticiones por tratamiento	4

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

Luego de 6 semanas de crecimiento se procedió a la evaluación de los tratamientos, en base a las siguientes características de las plantas de trigo: altura, número de hojas maduras y peso seco de la parte aérea.

i. Identificación taxonómica de la cepa Bg1.

En base a los resultados obtenidos en la fase de laboratorio, se eligió a cepa Bg1 para los ensayos de campo.

Para la identificación taxonómica el cultivo puro de la bacteria se creció en cajas tri-petri con agar nutritivo y se incubó a 26°C por 4 días, luego de lo cual se colocó 400 µl de búfer de extracción (Anexo 4) sobre el cultivo y con un dispersor de vidrio se raspó la biomasa, la cual se colocó en un tubo de centrifugación estéril de 1.5 ml. y se centrifugó a máxima velocidad (14000 rpm) por 15 minutos.

Se eliminó el sobrenadante y se colocó 400 µl de búfer de extracción y, aproximadamente, 50 µl de esferas de vidrio de 106 µm de diámetro, lavadas en ácido. Los tubos fueron homogeneizados en un vórtex a máxima velocidad, por 2-3 minutos y nuevamente centrifugados a máxima velocidad (14000 rpm) por 20 minutos.

Posteriormente, se transfirió 300 µl del sobrenadante a un nuevo tubo estéril de 1.5 ml, tratando de evitar la biomasa, y se añadió 200 µl de una solución de fenol: cloroformo: alcohol isoamílico (25:24:1;v/v). Se mezcló uniformemente, pero sin agitar de manera vigorosa para evitar la fragmentación del ADN presente en la parte acuosa de la mezcla. Se centrifugaron a máxima velocidad durante 15 minutos, y se transfirió 200 µl del sobrenadante a un nuevo tubo de centrifugación de 1.5 ml.

El ADN se precipitó añadiendo 200 µl de etanol (100% frío, v/v), formando fibras blanquecinas. Los tubos con ADN se centrifugaron a máxima velocidad por 20 minutos, y luego de este tiempo se descartó el sobrenadante teniendo cuidado de no perder el ADN precipitado en la base del tubo. Se lavó el ADN con 500 µl de etanol (70%, frío), se centrifugó a máxima velocidad por 15 minutos y se descartó el sobrenadante. Este proceso se realizó 2 veces consecutivas.

Los tubos con las muestras de ADN en su base, fueron colocados boca abajo y secados a temperatura ambiente durante 3 a 4 horas. Finalmente, el ADN fue suspendido usando 40 µl de búfer TE 1X (Anexo 4).

1) Secuenciamiento del ADNr 16S y análisis de datos.

El ADN genómico de la bacteria fue usado como templete para la amplificación por PCR y el secuenciamiento directo del gen del ADNr 16S, como lo describieron Kim *et al.* (1998). La secuencia parcial del gen del ADNr 16S obtenida fue alineada manualmente usando la opción “pairwise alignment” y la información acerca de la estructura secundaria del programa para análisis filogenéticos PHYDIT (Chun, 1995). Estas secuencias fueron comparadas con otras correspondientes a géneros relacionados identificados mediante la opción BLAST-N, disponible en la página web del National Center For Biotechnology Information (NCBI), y obtenidas de la base de datos del GenBank. Un árbol filogenético fue obtenido mediante “neighbour-joining”, y calculado mediante el algoritmo desarrollado por Jukes y Cantor (1969). La topología de los arboles filogenéticos obtenidos fue evaluada usando el análisis de “bootstrap” (Felsenstein, 1985). Los resultados fueron calculados con el algoritmo “neighbour-joining”, basado en 100 grupos de datos, usando el programa TREECON (Van Der Peer, 2001).

j. Tipo de diseño experimental

El diseño experimental que se utilizó fue Diseño Completamente al Azar (DCA), con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones.

k. Análisis Estadístico.

Se realizó un análisis de varianza (Cuadro 4) de los resultados para cada una de las características anteriormente señaladas y, cuando se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, se separaron las medias mediante la prueba de Tukey al 5% de nivel de significancia. Además, en cada caso se determinó el coeficiente de variación.

CUADRO 4. Análisis de varianza para la fase de laboratorio.

Fuente de variación	Fórmula	Grados de libertad
Bloques	$(n - 1)$	3
Tratamiento	$(a - 1)$	3
Error	$(a - 1) (n - 1)$	9
Total		15

Fuente: RUIZ, M. 2012

I. Análisis económico.

Se realizará el análisis económico según Perrin *et al.*

B. FASE DE CAMPO.

1. Localización.

La fase de campo se realizó en la florícola Biogarden “La Pampa”, ubicada en Rio Blanco, Cantón Riobamba, Provincia de Chimborazo.

2. Ubicación geográfica¹.

Latitud: 1° 36 'W
 Longitud: 78° 33' S
 Altitud: 2710 msnm

3. Condiciones climatológicas²

Temperatura media anual: 15°C
 Humedad relativa: 50 – 60 %
 Precipitación media anual: 600 mm

¹Datos proporcionados por la Estación Meteorológica, ESPOCH (2011)

²Datos proporcionados por la Estación Meteorológica, ESPOCH (2011). Se registraron los datos durante la realización del ensayo.

4. Clasificación ecológica.

Según Holdridge (1982), la zona corresponde a bosque seco, montaña baja (bs-Mb)

5. Características del suelo.

a. Físicas.

Textura	:	Franco arenoso
Estructura	:	Suelta
Pendiente	:	2 %
Drenaje	:	Bueno
Permeabilidad	:	Bueno

b. Químicas.

En el Cuadro 5 se presentan las características químicas del suelo en donde se realizó el ensayo de campo.

6. Material experimental

Cepa bacteriana Bg1 y plantación de Rosas (*Rosa sp. var. Ravel*)

7. Especificaciones del campo experimental

a. Especificación de la parcela experimental

En el Cuadro 5 se indican los detalles de las parcelas que fueron parte de esta investigación

Cuadro 5. Características químicas del suelo en donde se realizó el ensayo de campo.

Característica	Unidad de medida	Valor
pH		5.3
NH ₄	ppm	49.8
NO ₃	ppm	34.2
P	ppm	140.00
K	meq/100ml	0.89
Ca	meq/100ml	7.37
Mg	meq/100ml	1.64
B	ppm	1.17
Na	meq/100ml	0.08
Mn	ppm	18.00
Cu	ppm	8.80

Fuente: AGROBIOLAB- Grupo Clínica agrícola 2011

CUADRO 6. Especificación de la parcela experimental

Característica	Valor
Número de tratamientos	4
Número de repeticiones	3
Número de unidades experimentales	12
Forma de la parcela	Rectangular
Área total	625.50m ²
Área neta del ensayo	337.50m ²
Ancho de la cama	0.75 m
Longitud de la cama	30 m
Número de plantas por cama	300
Ancho del camino entre camas	0.60 m
Distancia entre plantas	0.10 m
Número de tratamientos	4
Número de repeticiones	3
Número total de plantas en el ensayo	3600
Número de plantas a evaluar por tratamientos	10
Número de plantas a evaluar en el ensayo	120
Número de camas	12

Fuente: RUIZ, M. 2012

b. Tratamientos en estudio

Los tratamientos estuvieron constituidos por la bacteria en estudio en diferentes dosis de aplicación, más un control experimental (Testigo-Finca) (Cuadro 7).

CUADRO 7. Dosis de los tratamientos en estudio.

Tratamiento	Descripción
T1	Bacteria Bg1 (3×10^{10} bacterias/ml)
T2	Bacteria Bg1 (3×10^9 bacterias/ml)
T3	Bacteria Bg1 (3×10^8 bacterias/ml)
T4	Sulfato de amonio (193 gr/cama) (Control Finca)

Fuente: RUIZ, M. 2012

CUADRO 8. Análisis de varianza para la fase de campo.

Fuente de variación	Fórmula	Grados de libertad
Bloques	$(n - 1)$	2
Tratamiento	$(a - 1)$	3
Error	$(a - 1)(n - 1)$	6
Total		11

Fuente: RUIZ, M. 201

8. Tipo de diseño experimental.

El diseño experimental que se utilizó fue Diseño de Bloques Completamente al Azar (BCA), con cuatro tratamientos y tres repeticiones.

9. Análisis Estadístico

En el cuadro 8 se presentan el esquema del análisis de varianza que se utilizó en el ensayo de la fase de campo.

a. Análisis funcional.

Para la separación de medias se aplicó la prueba de Tukey al 5 %. Además, se determinó el coeficiente de variación.

b. Análisis económico.

Se realizará el análisis económico según Perrin *et al.*

10. Datos a registrarse.**a. Longitud del tallo**

Se escogió al azar 10 plantas y de cada una se eligió un tallo para realizar un pinch, se medirá la altura de los 10 tallos nuevos en cada tratamiento, a los 30, 45, 60 y 90 días después del pinch. Desde la base del tallo joven hasta la base del botón floral.

b. Número de hojas

Se contó el número de hojas de los 10 tallos, independientemente si presenta o no algún tipo de anomalía morfológica o fitosanitaria, a los 30, 45, 60 y 90 días, después de haber realizado el pinch.

c. Diámetro del tallo

Con un calibre se midió el mayor diámetro que se obtenga entre la base del tallo y la base del botón floral de los 10 tallos, a los 30, 45, 60 y 90 días después del pinch.

d. Largo del botón a la cosecha.

Utilizando un flexómetro se determinó el largo de los 10 botones florales.

e. Diámetro ecuatorial del botón a la cosecha.

Utilizando un calibre se determinó el diámetro ecuatorial de 10 botones florales.

f. Días a la cosecha

Se contó el número de días transcurridos desde el pinch hasta la fecha de corte de los tallos (cosecha).

g. Rendimiento de la parcela neta y por hectárea.**1) Tallos de exportación cosechados.**

Se contabilizo el número de tallos cosechados en la parcela neta, para exportación de cada tratamiento, y se calculo el número de tallos por ha (*tallos/planta /mes /ha*).

2) Tallos nacionales cosechados.

Se contabilizo el número de tallos cosechados en la parcela neta, para flor nacional de cada tratamiento, y se calculo el número de tallos por ha (*tallos/planta /mes /ha*).

3) Total de tallos cosechados.

Se contabilizo el número total de tallos cosechados en la parcela neta y se calculo el número de tallos por ha (*tallos/planta/mes /ha*).

h. Cantidad de nitrógeno presente en el suelo y planta.

Se obtuvo una muestra de suelo y otra de la planta para y se realizó el análisis del contenido de nitrógeno antes de la inoculación de la cepa Bg1 y al final del ensayo.

Se recogió aproximadamente 10 submuestras por lote homogéneo en zigzag, al mezclar las submuestras se obtendrá un total de aproximadamente 1 kg de suelo, a una profundidad de 0 y 30 cm y de entre 30 y 60 cm profundidad, ya sea con un barreno o una pala. Luego se enviará al laboratorio para el análisis de la concentración de NH_4 y NO_3 de la muestra

de suelo, y al final del ensayo se realizará el mismo procedimiento para realizar el respectivo análisis químico y comparar los resultados.

El análisis foliar es un método complementario del análisis de suelos, y se lo realizó antes de instalar el ensayo y después.

Las muestras para el análisis serán tomadas en horas de la mañana, empleando el método del “zig zag” o “X”, en una relación de 25 hojas por cada 10 hectáreas, que correspondan a la primera con cuello visible. Una vez recolectadas las 25 hojas, se eliminó de cada una los tercios superior e inferior dejando para el envío sólo el tercio medio, aproximadamente 40 cm. Inmediatamente se eliminará la vena central.

Se conformó un paquete con las láminas foliares y se las amarró en los extremos, para enviar al laboratorio adjuntando la información requerida.

11. Manejo del ensayo

a. Labores Pre-culturales

1) Muestreo

Antes de iniciar el ensayo se obtuvo una muestra de suelo y otra de follaje y se procedió al análisis químico de las mismas.

2) Identificación de la parcela

El trazado de las parcelas se realizó de acuerdo al esquema indicado en el Cuadro 6 y se colocó en cada una de ellas un letrero de identificación del tratamiento correspondiente.

CUADRO 9. Fertilizantes utilizados en el ensayo de campo.

Fertilizante	gr/ cama
Sulfato de amonio	193.0
Sulfato de potasio	66.2
Sulfato de magnesio	14.2
Quelato de hierro	4.6
Quelato de Manganeso	2.1
Sulfato de Zinc	0.7
Borax	0.5

Fuente: Empresa Biogarden (2011).

b. Labores culturales**1) Pinch**

Se realizó el pinch a mesa en todas las plantas, cortando tallos descabezados menores al grosor de un esferográfico, enfermos o torcidos, a una altura de una tijera y media (30-32 cm) a yema buena. Posteriormente se etiquetó los tallos seleccionados al azar en 10 plantas de cada tratamiento.

2) Inoculación de las diferentes concentraciones de la cepa Bg1.

La inoculación al suelo de la cepa Bg1 se realizó en drench, de acuerdo a la dosis establecida en el Cuadro 7.

3) Ferti-irrigación

El riego y la nutrición fueron proporcionados diariamente. En el Control se lo hizo por goteo y en drench para los demás tratamientos. Cuadro 9.

4) Muestreos al final del ensayo

Al finalizar el ensayo se realizó nuevamente un muestreo de suelo y foliar únicamente de los tratamientos T1 (3×10^{10}) bact/ml; dosis alta y T4 (Testigo finca). Las muestras de suelo obtenidas fueron enviadas a un laboratorio especializado para análisis químico y las muestras foliares se enviaron para un análisis total de Nitrógeno.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

A. FASE DE LABORATORIO.

1. Caracterización morfológica, fisiológica y pruebas de pureza de la cepa Bg1.

CUADRO 10. Características morfológicas y fisiológicas de las cepas de Bg1, crecidas en Agar Nutritivo.

Características	Cepa crema	Cepa Amarilla
Textura	Cremosa	Cremosa
Apariencia	Brillante	Opaca
Forma de la colonia	Circular	Circular
Color	Crema	Amarillo
Tinción Gram	Negativa	Negativa
Presencia cápsula	Si	Si
Crecimiento	Rápido y abundante	Lento y escaso

Fuente: Datos de laboratorio, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

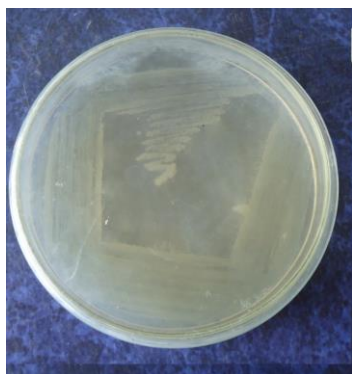


Figura 1. Cepa crema



Figura 2. Cepa amarilla

CUADRO 11. Características morfológicas y fisiológicas de las cepas de Bg1, crecidas en Agar Picovskaya.

Características	Cepa crema	Cepa Amarilla
Textura	Cremosa	Cremosa
Apariencia	Opaca	Opaca
Forma de la colonia	Circular	Circular
Color	Crema	Amarillo
Tinción Gram	Negativa	Negativa
Presencia cápsula	Si	Si
Crecimiento	Lento y abundante	Lento y escaso

Fuente: Datos de laboratorio, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

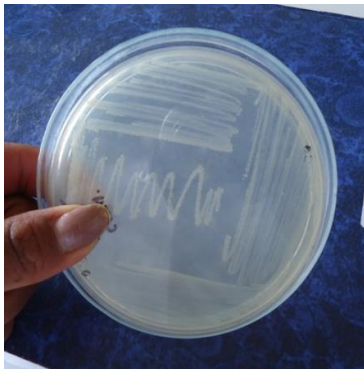


Figura 3. Cepa crema

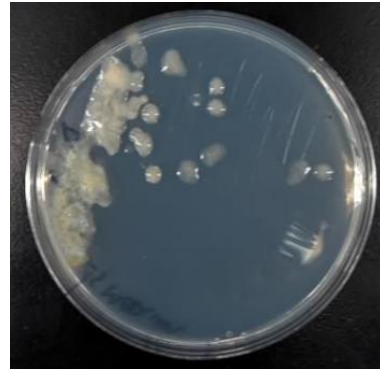


Figura 4. Cepa amarilla

En el Cuadro 10 y Figuras 1 y 2, se presenta los resultados del crecimiento de las cepas en Agar Nutritivo. Sus características fueron muy similares, excepto en el crecimiento que fue mayor para la cepa de colonias color crema. Las colonias fueron visibles a las 72 horas de inoculado el medio.

En el Cuadro 11 y Figuras 3 y 4, se presenta los resultados del crecimiento de las dos cepas en Agar Picovskaya (libre de nitrógeno). Sus características fueron muy similares, excepto en el crecimiento que fue mayor para la cepa de colonias color crema y las colonias fueron visibles a las 96 horas de inoculado el medio.

Además, en la Figuras 5 y 6 se puede observar que la morfología de las dos cepas fue cilíndrica y su reacción de Gram negativa.

La presencia de cápsula en las dos cepas fue evidente por la observación de una capa transparente rodeando a la célula bacteriana.

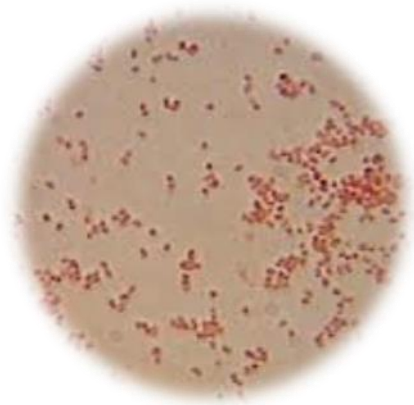


Figura 5. Cepa crema

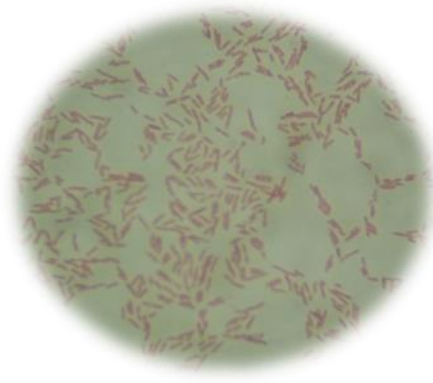


Figura 6. Cepa amarilla

2. Curva de crecimiento microbiano.

En el Cuadro 12 se puede observar la variación de la población microbiana en el transcurso del tiempo. La figuras 7 y 8 presentan las curvas de crecimiento correspondientes de las dos cepas.

Del análisis de los datos se puede deducir que la fase retardada ocurrió, aproximadamente, durante las 3 primeras horas de cultivo; la exponencial desde las 5 hasta las 8 horas; la estacionaria desde las 9 hasta las 13 horas; y la de muerte desde las 14 hasta las 19 horas, tiempos en que se hicieron conteos de la población bacteriana.

Además, a partir de los valores correspondientes a la fase exponencial, se puede establecer que el tiempo de generación de las 2 cepas fue, aproximadamente de 18 minutos.

CUADRO 12. Variación de la población bacteriana en relación al tiempo.

Tiempo (horas)	Células/mililitro	
	Cepa Amarilla	Cepa Crema
1	12760000	12680000
2	14160000	13080000
3	15320000	14080000
4	17360000	16560000
5	19560000	18280000
6	25120000	21400000
7	27760000	27760000
8	28560000	31040000
9	26520000	31040000
10	24320000	30028000
11	22920000	28840000
12	20640000	27120000
13	19080000	24200000
14	17000000	18400000
15	14680000	14920000
16	11080000	11320000
17	7200000	8640000
18	4880000	5760000
19	2800000	3680000

Fuente: Datos de laboratorio, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

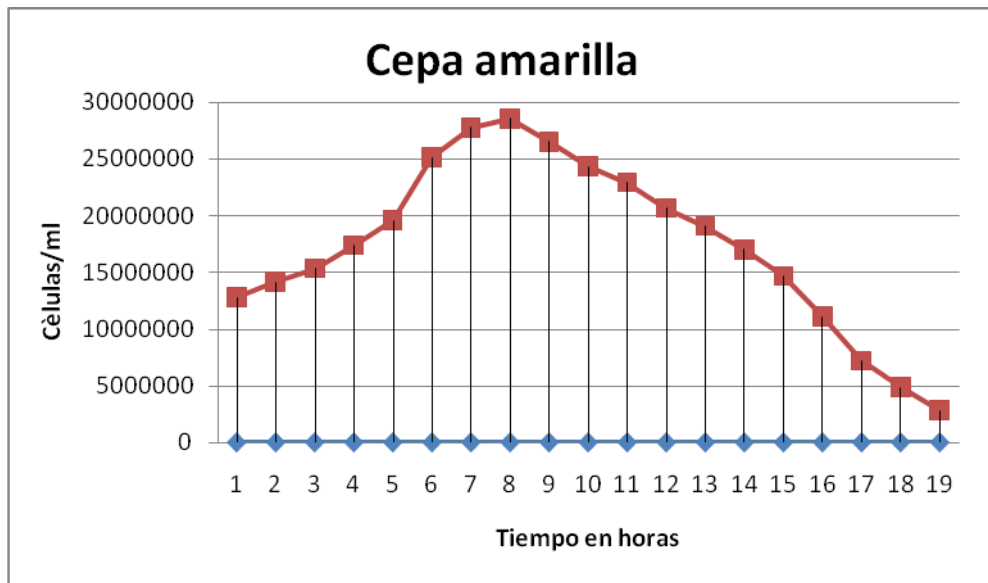


Figura 7. Curva de crecimiento de la cepa amarilla.

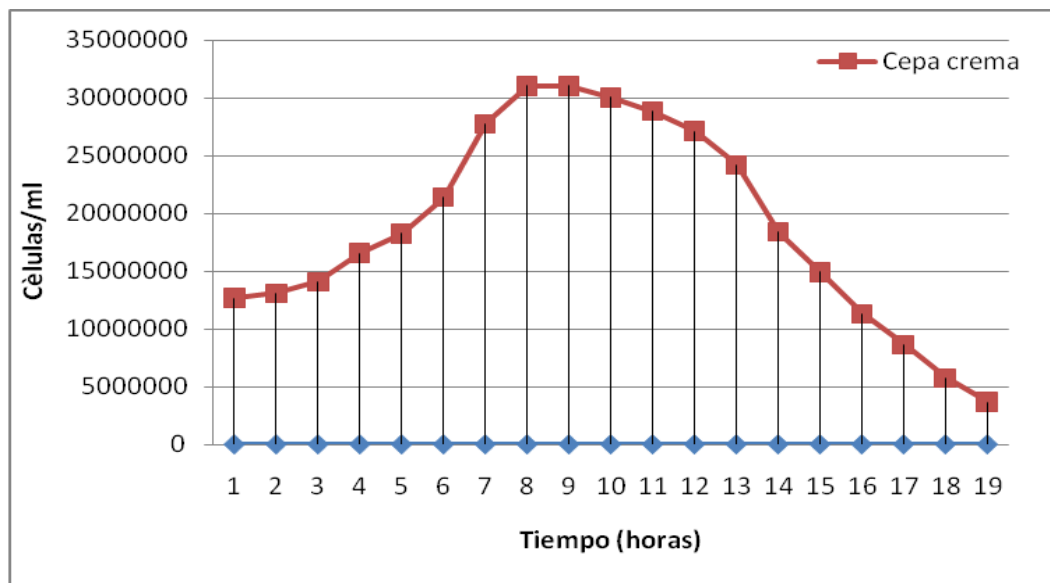


Figura 8. Curva de crecimiento de la cepa crema

3. Viabilidad microbiana

Al estudiar la viabilidad de las dos cepas (Cuadro 13, Figura 9), se pudo establecer que la bacteria crema demostró una menor pérdida de viabilidad, en el transcurso de los 21 días en que se mantuvieron las bacterias en refrigeración.

CUADRO 13. Viabilidad bacteriana en refrigeración.

Día	N° bacterias/ml		Porcentaje viabilidad	
	Cepa Amarilla	Cepa Crema	Cepa Amarilla	Cepa Crema
0	$3,09 \times 10^{11}$	3.10×10^{11}	100%	100%
1	$2,1 \times 10^{11}$	2.3×10^{11}	67%	74%
2	2.0×10^{11}	2.3×10^{11}	64%	71%
3	1.70×10^{11}	2.04×10^{11}	55%	66%
4	1.62×10^{11}	1.9×10^{11}	52%	61%
7	1.48×10^{11}	1.9×10^{11}	47%	61%
14	1.38×10^{11}	1.3×10^{11}	44%	42%
21	1.03×10^{11}	1.3×10^{11}	33%	42%

Fuente: Datos de laboratorio, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

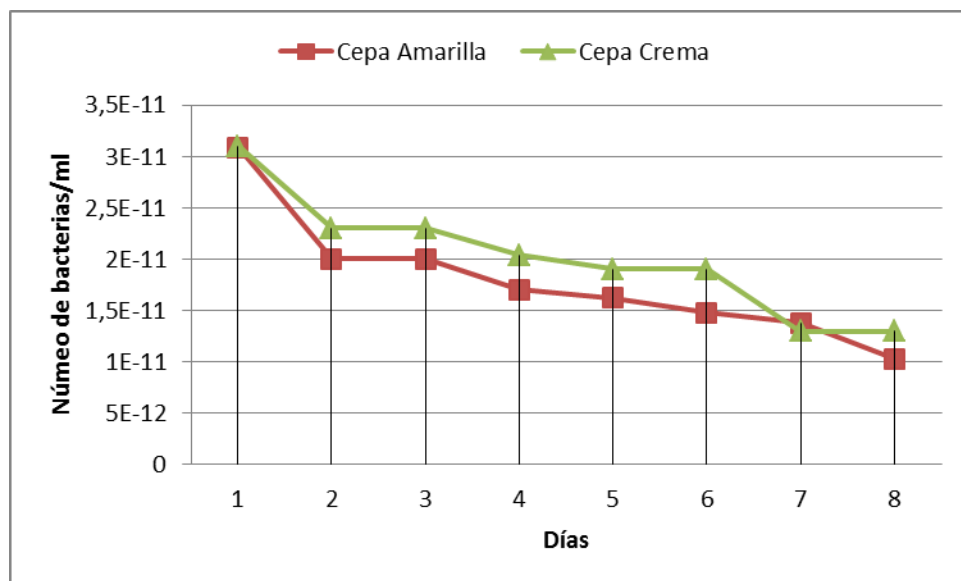


Figura 9. Pérdida de viabilidad de las cepas de Bg1

4. Autenticación y prueba de eficiencia en condiciones estériles

La autenticación y prueba de eficiencia, condiciones estériles de las cepas seleccionadas como probables fijadores de nitrógeno de vida libre, fue evaluado a las 6 semanas de crecimiento de las plantas, considerando las siguientes características

a. Altura de la parte aérea de las plantas de trigo crecidas en pomina (Anexo 5).

El análisis de varianza para la altura de la parte aérea de las plantas de trigo crecidas en pomina (Cuadro 14), no demostró diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. El promedio de la altura de la parte aérea fue 24.68 cm., con un coeficiente de variación del 12.34 %.

b. Altura de la parte aérea de las plantas de trigo crecidas en suelo (Anexo 6).

El análisis de varianza para la altura de la parte aérea de las plantas de trigo crecidas en suelo (Cuadro 15), tampoco demostró diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos. El promedio de la altura de la parte aérea fue 25.68 cm., con un coeficiente de variación del 10.12 %.

c. Número de hojas maduras de plantas de trigo crecidas en pomina (Anexo 7).

El análisis de varianza para el número de hojas maduras de las plantas crecidas en pomina (Cuadro 16), presentó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos. El promedio para el número de hojas maduras fue 2.94, con un coeficiente de variación del 14.18 %.

De acuerdo a la prueba de Tukey al 5% (Cuadro 17, Figura 10), el tratamiento T3 (Bacteria crema), produjo un número de hojas maduras estadísticamente superior y que el Control fue el tratamiento menos eficiente.

CUADRO 14. Análisis de Varianza para la altura de la parte aérea (cm) de plantas de trigo (*Triticum vulgare* L.), crecidas en pomina.

FV	GL	SC	CM	F
Total	15	248,61		
Repeticiones	3	83,22	27,74	2,99 ns
Tratamientos	3	81,90	27,30	2,94 ns
Error	9	83,49	9,28	
CV = 12,34%				

Fuente: Datos de laboratorio, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

CUADRO 15. Análisis de Varianza para la altura de la parte aérea (cm.) de plantas de trigo (*Triticum vulgare* L.), crecidas en suelo.

FV	GL	SC	CM	F
Total	15	126,71		
Repeticiones	3	24,66	8,22	1,22 ns
Tratamientos	3	41,23	13,74	2,03 ns
Error	9	60,81	6,76	
CV = 10,12%				

Fuente: Datos de laboratorio, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

CUADRO 16. Análisis de Varianza para el número de hojas maduras de plantas de trigo (*Triticum vulgare* L.), crecidas en pomina.

FV	GL	SC	CM	F
Total	15	4,94		
Repeticiones	3	0,19	0,06	0,36 ns
Tratamientos	3	3,19	1,06	6,12 *
Error	9	1,56	0,17	
CV = 14,18%				

Fuente: Datos de laboratorio, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

CUADRO 17. Prueba de Tukey al 5% para el número de hojas maduras de plantas de trigo (*Triticum vulgare* L.), crecidas en pomina.

Tratamiento	Media	Rango
T3 (Bacteria crema)	3,50	A
T2 (N. Químico)	3,00	AB
T4 (Bacteria amarilla)	3,00	AB
T1 (Control)	2,25	B

Fuente: Datos de laboratorio, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

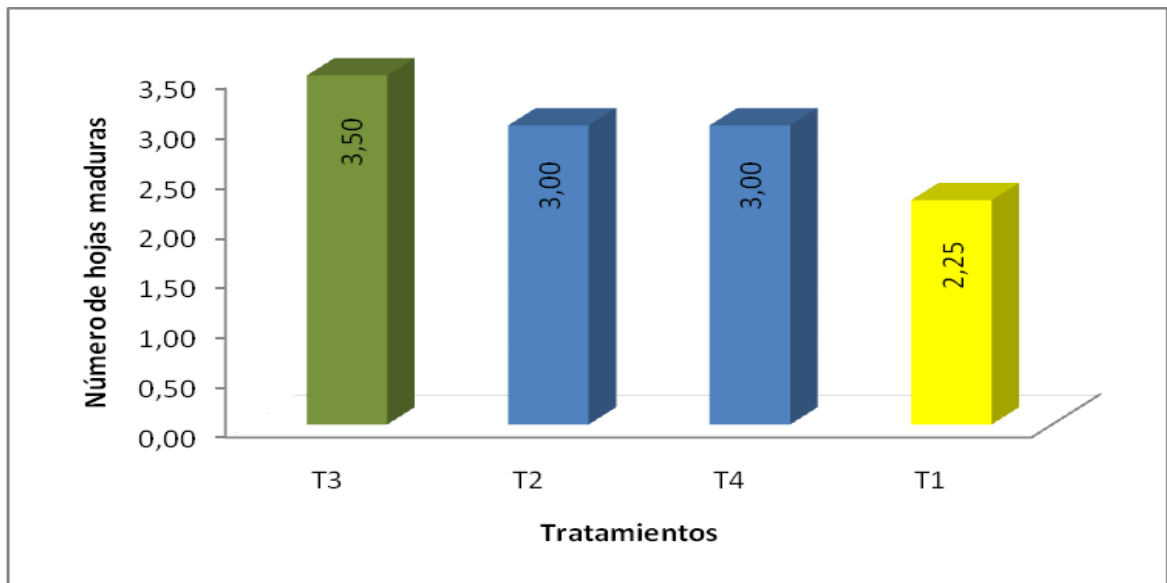


Figura 10. Número de hojas maduras de plantas de trigo (*Triticum vulgare* L.), crecidas en pomina.

d. Número de hojas maduras de plantas de trigo crecidas en suelo (Anexo 8).

El análisis de varianza para el número de hojas maduras de las plantas crecidas en pomina (Cuadro 18), no presentó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos. El promedio del número de hojas maduras fue 3.00 y el coeficiente de variación 11.11 %.

CUADRO 18. Análisis de Varianza para el número de hojas maduras de plantas de trigo (*Triticum vulgare* L.), crecidas en suelo.

FV	GL	SC	CM	F
Total	15	2,00		
Repeticiones	3	0,50	0,17	1,50 ns
Tratamientos	3	0,50	0,17	1,50 ns
Error	9	1,00	0,11	
CV = 11,11%				

Fuente: Datos de laboratorio, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

e. Peso seco de la parte aérea de las plantas de trigo crecidas en pomina (Anexo 9).

El análisis de varianza para el peso seco de la parte aérea de las plantas crecidas en pomina (Cuadro 19), presentó diferencias estadísticas significativas entre tratamientos.

El promedio para el peso seco de la parte aérea fue 444.06 mg. con un coeficiente de variación del 25.19 %.

La prueba de Tukey al 5% (Cuadro 20, Figura 11) demostró que el tratamiento químico (T2) y el tratamiento inoculado con la bacteria crema (T3) produjeron un peso seco de la parte aérea estadísticamente superior.

CUADRO 19. Análisis de Varianza para el peso seco de la parte aérea (mg.) de plantas de trigo (*Triticum vulgare* L.), crecidas en pomina.

FV	GL	SC	CM	F
Total	15	272960,94		
Repeticiones	3	12717,19	4239,06	0,34 ns
Tratamientos	3	147592,19	49197,40	3,93 *
Error	9	112651,56	12516,84	
CV = 25,19%				

Fuente: Datos de laboratorio, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

CUADRO 20. Prueba de Tukey al 5% para el peso seco de la parte aérea de plantas de trigo (*Triticum vulgare* L.), crecidas en pomina.

Tratamiento	Media (mg.)	Rango
T2 (N. Químico)	567,50	A
T3 (Bacteria crema)	507,50	AB
T1 (Control)	360,00	B
T4 (Bacteria amarilla)	341,25	C

Fuente: Datos de laboratorio, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

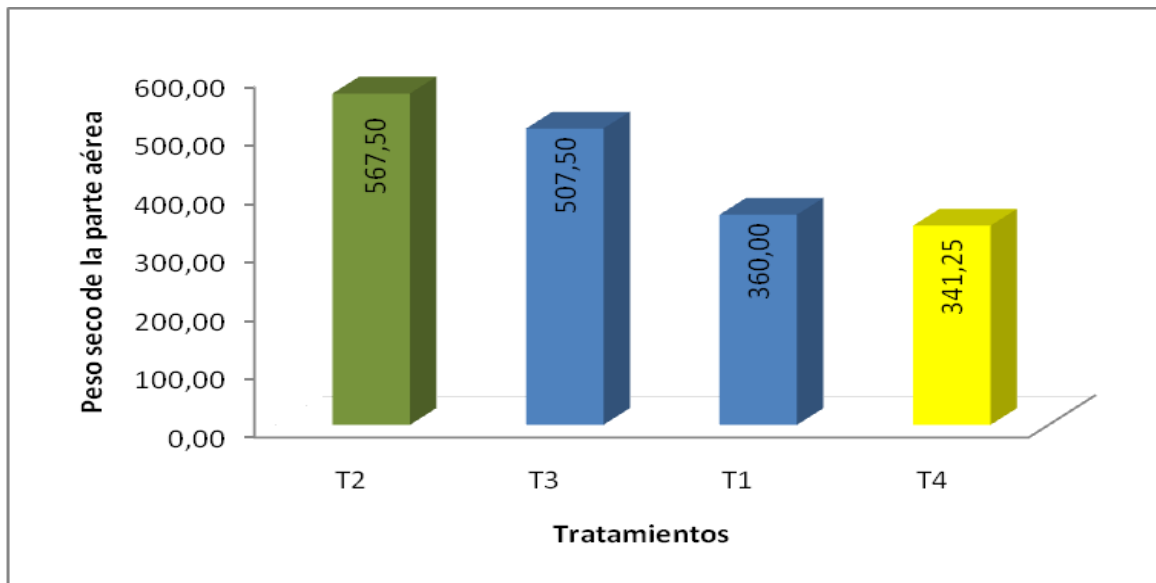


Figura 11. Peso seco (mg.) de la parte aérea de plantas de trigo (*Triticum vulgare* L.), luego de 6 semanas de crecimiento en pomina.

f. Peso seco de la parte aérea de las plantas de trigo crecidas en suelo (Anexo 10).

El análisis de varianza para el peso seco de la parte aérea de las plantas de trigo (Cuadro 21), presentó diferencias estadísticas altamente significativas entre tratamientos.

El promedio para el peso seco de la parte aérea fue 380.94 mg., con un coeficiente de variación del 25.19 %.

La prueba de Tukey al 5% (Cuadro 22, Figura 12) demostró nuevamente que el tratamiento químico (T2) y el tratamiento inoculado con la bacteria crema (T3) produjeron un peso seco de la parte aérea estadísticamente superior.

CUADRO 21. Análisis de Varianza para el peso seco de la parte aérea (mg.) de plantas de trigo (*Triticum vulgare* L.), crecidas en suelo.

FV	GL	SC	CM	F
Total	15	180110,94		
Repeticiones	3	12717,19	4239,06	0,76 ns
Tratamientos	3	120092,19	40030,73	7,52 **
Error	9	47901,56	5322,40	
CV = 19,15%				

Fuente: Datos de laboratorio, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

CUADRO 22. Prueba de Tukey al 5% para el peso seco de la parte aérea de plantas de trigo (*Triticum vulgare* L.), crecidas en suelo.

Tratamiento	Media (cm.)	Rango
T2 (N. Químico)	478,75	A
T3 (Bacteria crema)	455,00	AB
1 (Control)	305,00	B
T4 (Bacteria amarilla)	285,00	B

Fuente: Datos de laboratorio, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

5. Identificación taxonómica de la cepa Bg1.

El árbol filogenético de la cepa Bg1 se muestra en la Figura 13. Claramente se puede observar que esta bacteria, identificada como M1 en el árbol genealógico y que preliminarmente se presumió podría ser una especie de *Azotobacter*, no pertenece a este género, sino al género *Ochrobactrum*, que está más relacionado con las bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno, como las del género *Rhizobium*.

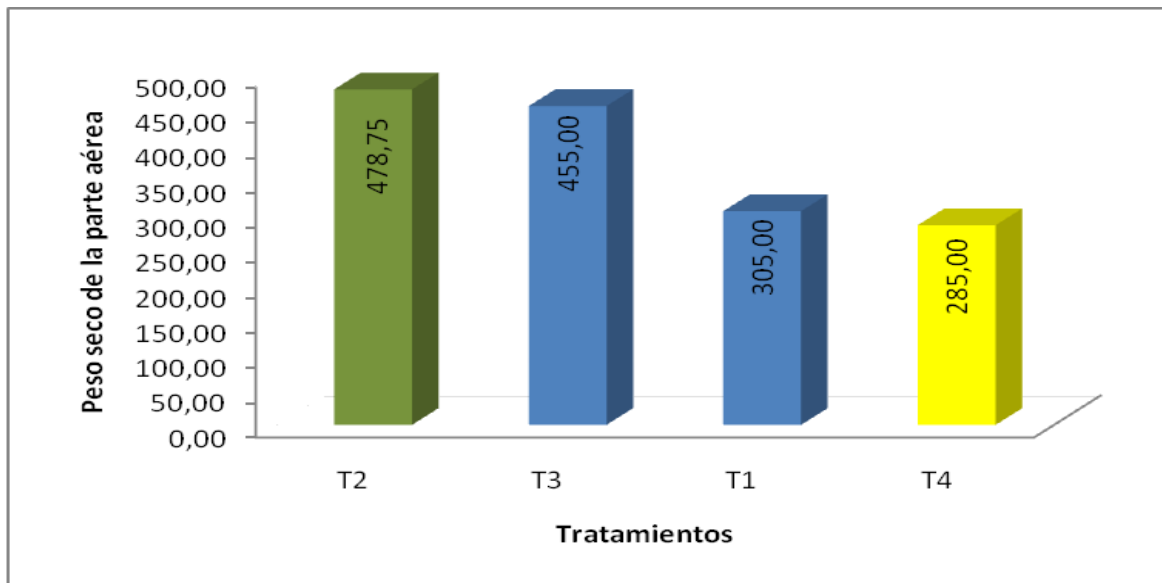


Figura 12. Peso seco (mg.) de la parte aérea de plantas de trigo (*Triticum vulgare* L.), crecidas en suelo.

Existen reportes que demuestran que existen miembros del género *Ochrobactrum* que tienen capacidad de fijar nitrógeno, aunque en simbiosis con raíces de leguminosas (Ngom *et al.* 2004). Además, *O. intermedium* es fijador de nitrógeno y es el pariente más cercano de la cepa M1, lo que indica que la bacteria motivo del presente estudio podría también ser fijadora de nitrógeno.

Se requiere estudios adicionales para establecer con claridad la posición taxonómica de ésta bacteria que, al observar el árbol genealógico, está relacionada con *O. intermedium* y *O. anthropi*. Será necesario secuenciar por completo el gen del ADNr 16S, para determinar si constituye una nueva especie dentro del género *Ochrobactrum*.

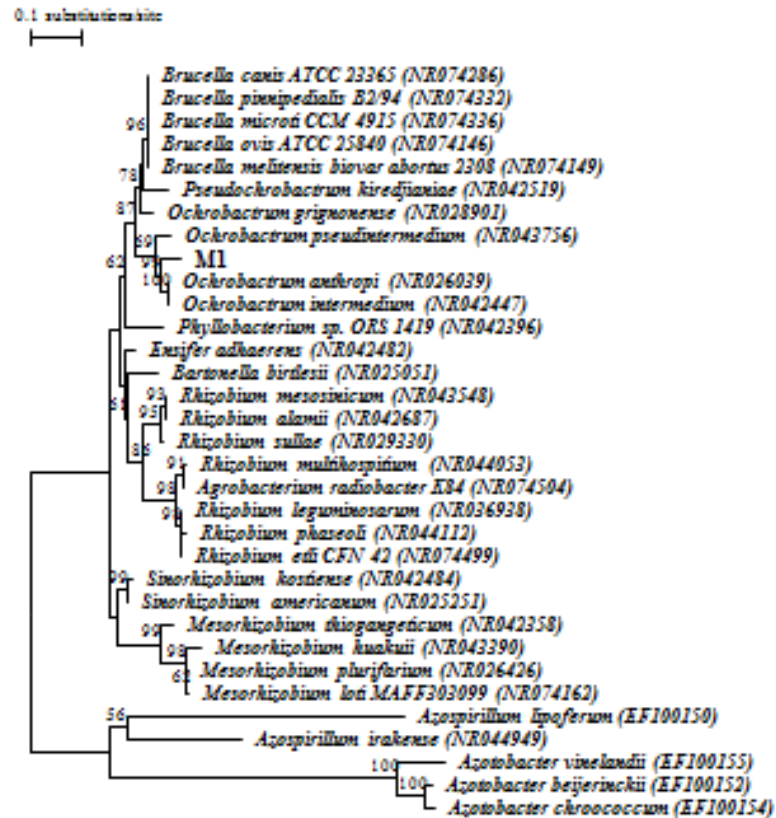


Figura 13. Árbol filogenético de la cepa Bg1

B. FASE DE CAMPO.

1. Longitud del tallo (cm.)

a. A los 30 días. (Anexo 11)

El análisis de varianza para la longitud del tallo a los 30 días (Cuadro 23), no presentó diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, con un coeficiente de variación del 8.72 %. El promedio de la longitud del tallo fue 7.05 cm.

b. A los 45 días. (Anexo 12)

El análisis de varianza para la longitud del tallo a los 45 días (Cuadro 24), presentó diferencias estadísticas altamente significativas entre tratamientos, con un coeficiente de variación del 2.00 %. El promedio de la longitud del tallo fue 34.75 cm.

CUADRO 23. Análisis de varianza para la longitud del tallo de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*) a los 30 días.

FV	GL	SC	CM	F
Total	11	7,06		
Repeticiones	2	2,01	1,00	2,76 ns
Tratamientos	3	2,79	0,93	2,46 ns
Error	6	2,26	0,38	
CV = 8,72%				

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

CUADRO 24. Análisis de varianza para la longitud del tallo de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*) a los 45 días.

FV	GL	SC	CM	F
Total	11	31,87		
Repeticiones	2	1,62	0,81	1,61 ns
Tratamientos	3	27,37	9,12	18,97 **
Error	6	2,88	0,48	
CV = 2,00%				

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

De acuerdo a la prueba de Tukey al 5% (Cuadro 25; Figura 14), los tallos en el tratamiento T1 (Bacteria Bg1, 3×10^{10}) tuvieron una longitud estadísticamente superior a las de los demás tratamientos, mientras que la menor longitud se obtuvo con el tratamiento T3 (Bacteria Bg1 3×10^8).

CUADRO 25. Prueba de Tukey al 5% para la longitud del tallo de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*) a los 45 días.

Tratamiento	Media (cm.)	Rango
T1 Bacteria BG1 (3×10^{10})	36,60	A
T4 Testigo finca	35,31	B
T2 Bacteria BG1 (3×10^9)	34,68	C
T3 Bacteria BG1 (3×10^8)	32,43	D

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

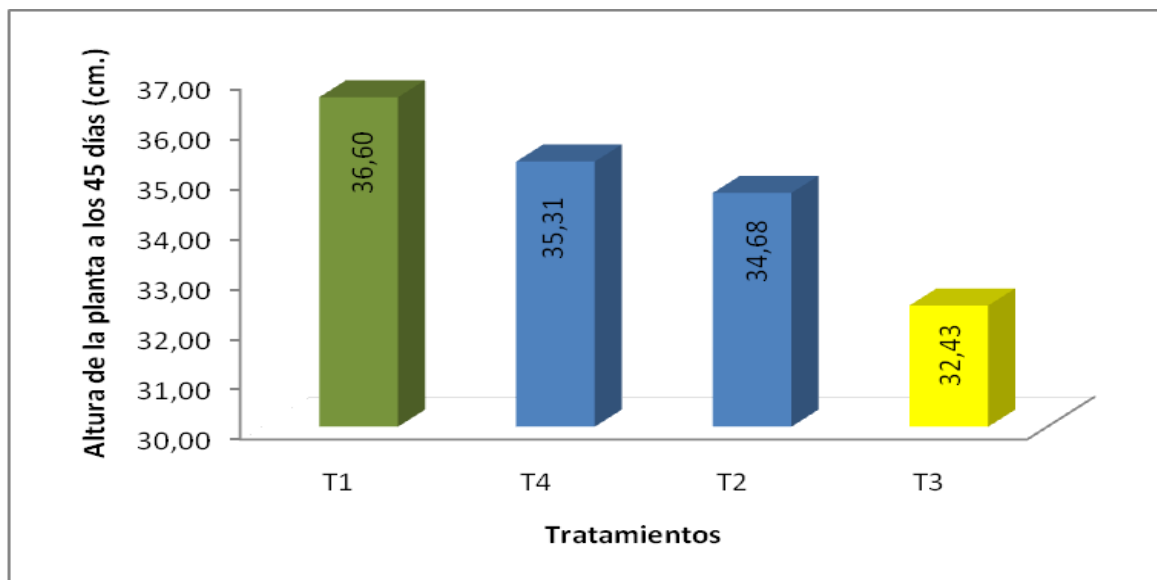


Figura 14. Longitud del tallo de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*) a los 45 días.

c. A los 60 días. (Anexo 13)

El análisis de varianza para la longitud del tallo a los 60 días (Cuadro 26), presentó diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, con un coeficiente de variación de 1.92%. El promedio de la longitud del tallo fue 53.55 cm.

CUADRO 26. Análisis de varianza para la longitud del tallo de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*) a los 60 días.

FV	GL	SC	CM	F
Total	11	25,81		
Repeticiones	2	4,30	2,15	2,04 ns
Tratamientos	3	5,17	5,06	4,79 *
Error	6	6,33	1,06	
CV = 1,92%				

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

CUADRO 27. Prueba de Tukey al 5% para la longitud del tallo de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*) a los 60 días.

Tratamiento	Media (cm.)	Rango
T1 Bacteria BG1 (3×10^{10})	54,67	A
T4 Testigo finca	53,98	B
T2 Bacteria BG1 (3×10^9)	53,88	B
T3 Bacteria BG1 (3×10^8)	51,67	C

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

De acuerdo a la prueba de Tukey al 5% (Cuadro 27; Figura 15), el tratamiento T1 (Bacteria Bg1 3×10^{10}), produjo una longitud del tallo estadísticamente superior a los demás, mientras que el T3 (Bacteria Bg1 3×10^8) fue el tratamiento cuya altura fue menor.

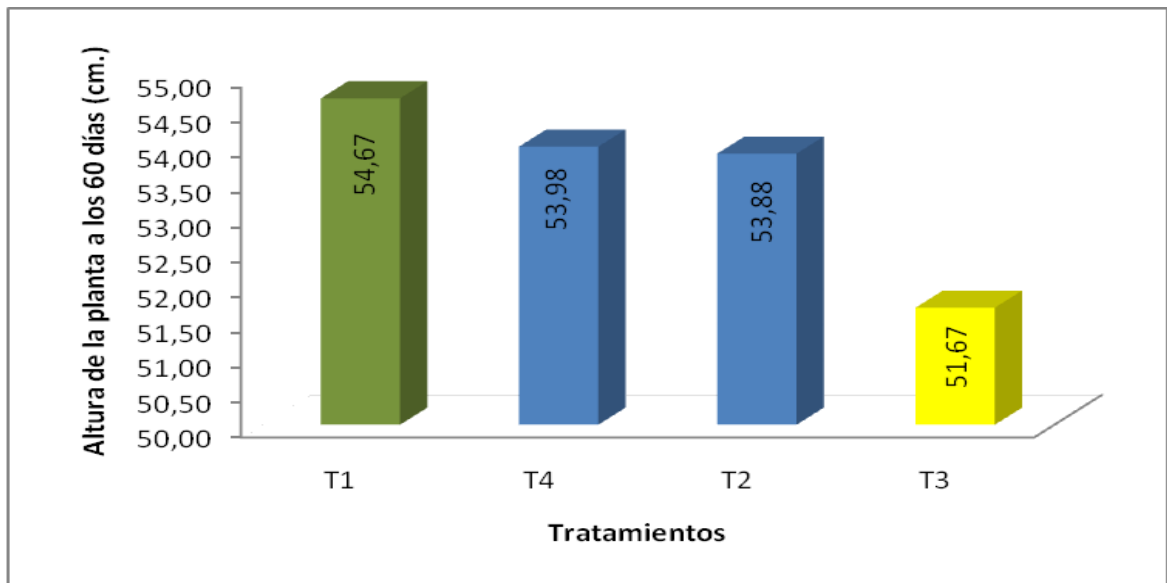


Figura 15. Longitud del tallo de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*) a los 60 días.

d. A los 90 días. (Anexo 14)

El análisis de varianza para la longitud del tallo a los 90 días (Cuadro 28), presentó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con un coeficiente de variación del 1.92 %. El promedio de la longitud del tallo fue 58.57 cm.

De acuerdo a la prueba de Tukey al 5%, (Cuadro 29; Figura 16), los tallos en el tratamiento T1 (Bacteria Bg1 3×10^{10}) tuvieron una longitud estadísticamente superior a las de los demás tratamientos; mientras que la menor altura correspondió al tratamiento T3 (Bacteria Bg1 3×10^8).

CUADRO 28. Análisis de varianza para la longitud del tallo de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*) a los 90 días.

FV	GL	SC	CM	F
Total	11	31,18		
Repeticiones	2	5,47	2,73	2,82 ns
Tratamientos	3	19,89	6,63	6,83 *
Error	6	5,82	0,97	
CV = 1,92%				

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

CUADRO 29. Prueba de Tukey al 5% para la longitud del tallo de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*) a los 90 días.

Tratamiento	Media (cm.)	Rango
T1 Bacteria BG1 (3×10^{10})	59,67	A
T4 Testigo finca	59,21	AB
T2 Bacteria BG1 (3×10^9)	59,01	AB
T3 Bacteria BG1 (3×10^8)	56,37	B

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

Los resultados obtenidos para la longitud del tallo de rosa demuestran la influencia que el nitrógeno tiene en el crecimiento de la rosa, lo que es respaldado por GAMBOA, L. (2000), quien manifiesta que el nitrógeno es el principal responsable del crecimiento y desarrollo de tallos, así como del vigor y el tamaño general de la planta.

Además, la longitud del tallo en el tratamiento T1, en el que se aplicó la bacteria motivo de este estudio a una dosis alta T1 (Bg1 3×10^{10}), hace presumir que hubo fijación biológica de nitrógeno, ya que se observó una altura del tallo superior al tratamiento T4 (Control finca).

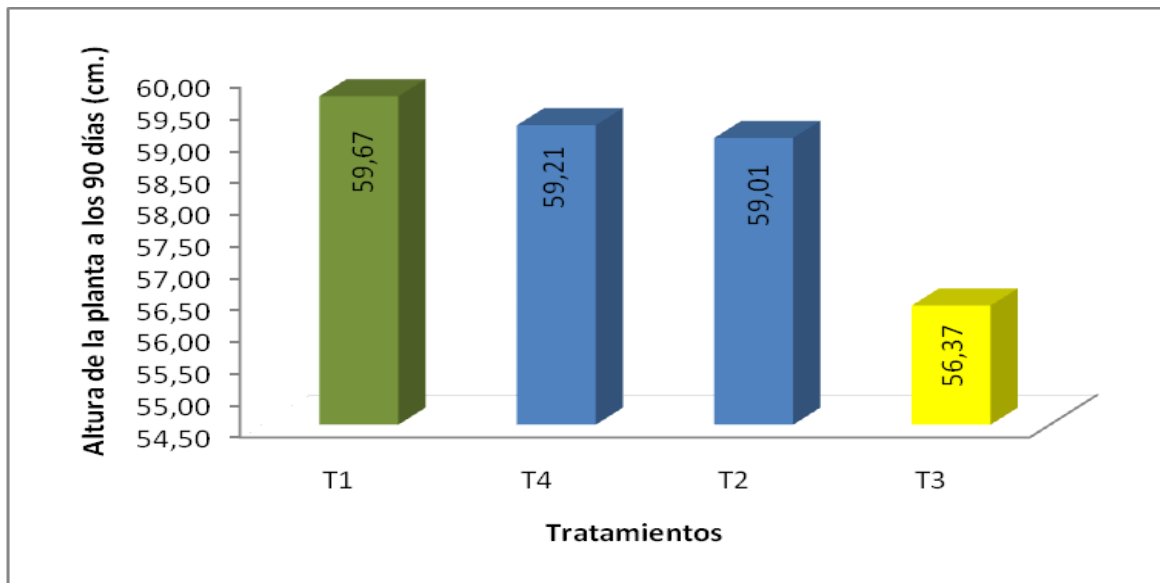


Figura 16. Longitud del tallo de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*) a los 90 días.

2. Número de hojas.

a. A los 30 días. (Anexo 15)

El análisis de varianza para el número de hojas de la planta a los 30 días (Cuadro 30), no presentó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con un coeficiente de variación del 9.06 %. El promedio del número de hojas fue 4.23

El análisis de varianza para el número de hojas de la planta a los 45 días (Cuadro 31), no presentó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con un coeficiente de variación del 3.88 %. El promedio del número de hojas fue 8.75

CUADRO 30. Análisis de varianza para el número de hojas de la planta de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*) a los 30 días.

FV	GL	SC	CM	F
Total	11	1,06		
Repeticiones	2	0,02	0,01	0,07 ns
Tratamientos	3	0,16	0,05	0,37 ns
Error	6	0,88	0,15	
CV = 9,06%				

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

CUADRO 31. Análisis de varianza para el número de hojas de la planta rosa (*Rosa sp. var. Ravel*) a los 45 días.

FV	GL	SC	CM	F
Total	11	0,95		
Repeticiones	2	0,10	0,05	0,41 ns
Tratamientos	3	0,16	0,05	0,47 ns
Error	6	0,69	0,12	
CV = 3,88%				

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

b. A los 60 días. (Anexo 17)

El análisis de varianza para el número de hojas de la planta a los 60 días (Cuadro 32), no presentó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con un coeficiente de variación del 4.55 %. El promedio del número de hojas fue 13.02.

c. A los 45 días. (Anexo 16)

CUADRO 32. Análisis de varianza para el número de hojas de la planta de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*) a los 60 días.

FV	GL	SC	CM	F
Total	11	6,34		
Repeticiones	2	0,20	0,10	0,29 ns
Tratamientos	3	4,03	1,34	3,83 ns
Error	6	2,10	0,35	
CV = 4,55%				

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

CUADRO 33. Análisis de varianza para el número de hojas de la planta rosa (*Rosa sp. var. Ravel*) a los 90 días.

FV	GL	SC	CM	F
Total	11	7,83		
Repeticiones	2	0,00	0,00	0,00 ns
Tratamientos	3	6,15	2,05	7,32 *
Error	6	1,68	0,28	
CV = 2,72%				

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

d. A los 90 días. (Anexo 18)

El análisis de varianza para el número de hojas de la planta a los 90 días (Cuadro 33), presentó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con un coeficiente de variación del 2.72 %. El promedio del número de hojas fue 19.43.

CUADRO 34. Prueba de Tukey al 5% para el número de hojas de la planta rosa (*Rosa sp. var. Ravel*) a los 90 días.

Tratamiento	Media	Rango
T1 Bacteria BG1 (3×10^{10})	20,13	A
T4 Testigo finca	20,07	A
T2 Bacteria BG1 (3×10^9)	19,13	B
T3 Bacteria BG1 (3×10^8)	18,40	C

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

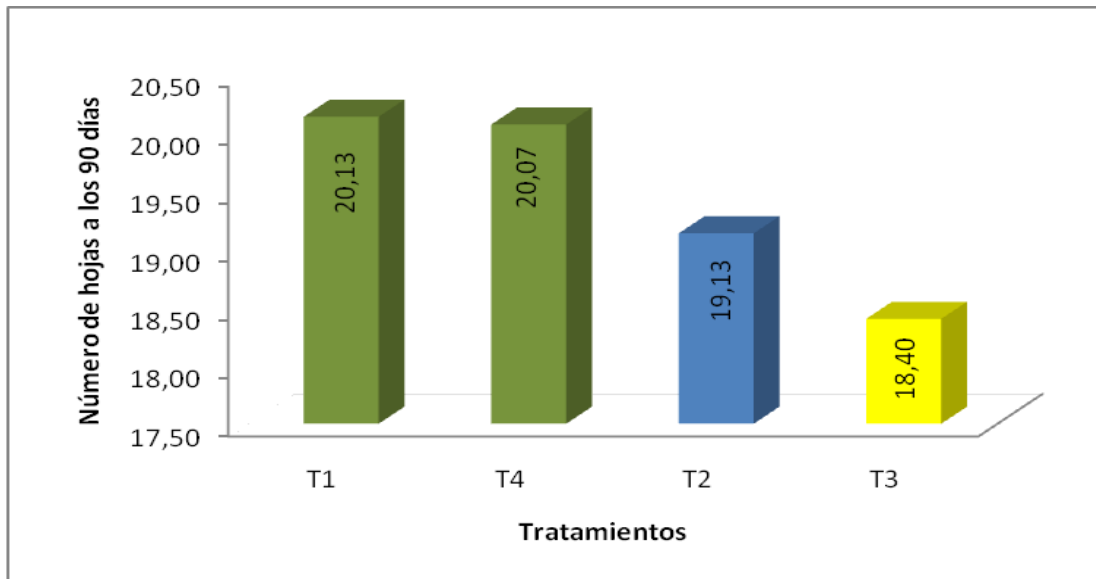


Figura 17. Número de hojas de la planta de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*) a los 90 días.

De acuerdo a prueba de Tukey al 5% (Cuadro 34; Figura 17), los tratamientos T1 (Bacteria Bg1 3×10^{10}) y T4 (control con NH_4SO_4) provocaron un número de hojas por planta estadísticamente superior a los demás, mientras que el tratamiento T3 (Bacteria Bg1 3×10^8) fue el de menor rendimiento para esta variable.

Estos resultados confirman lo mencionado por COOPER, H.D. y CLARKSON, D.T. (1995), quienes mencionan que el nitrógeno, además, regula la capacidad de las plantas para fabricar proteínas que son esenciales para el desarrollo de sus células y es el principal responsable del crecimiento y desarrollo de las hojas. Es decir que la bacteria Bg1 ($3 \times$

10¹⁰) debió fijar cantidades significativas de nitrógeno, pues el número de hojas fue estadísticamente igual al producido por el Control-finca, que recibió nitrógeno inorgánico.

3. Diámetro del tallo (mm.).

a. A los 30 días. (Anexo 19)

El análisis de varianza para el diámetro del tallo a los 30 días (Cuadro 35), no presentó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con un coeficiente de variación del 8.86 %. El promedio del diámetro del tallo fue 2.26 mm.

b. A los 45 días. (Anexo 20)

El análisis de varianza para el diámetro del tallo a los 45 días (Cuadro 36), no presentó diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, con un coeficiente de variación del 4.95 %. El promedio del diámetro del tallo fue 5.10 mm.

c. A los 60 días. (Anexo 21)

El análisis de varianza para el diámetro del tallo a los 60 días (Cuadro 37), no presentó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con un coeficiente de variación del 4.20 %. El promedio del diámetro del tallo fue 5.56 mm.

d. A los 90 días. (Anexo 22)

El análisis de varianza para el diámetro del tallo a los 90 días (Cuadro 38), no presentó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con un coeficiente de variación del 4.20 %. El promedio del diámetro del tallo fue 6.05 mm

CUADRO 35. Análisis de varianza para el diámetro del tallo de la planta de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*) a los 30 días.

FV	GL	SC	CM	F
Total	11	0,59		
Repeticiones	2	0,03	0,01	0,36 ns
Tratamientos	3	0,32	0,11	2,65 ns
Error	6	0,24	0,04	
CV = 8,86%				

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

CUADRO 36. Análisis de varianza para el diámetro del tallo de la planta de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*) a los 45 días.

FV	GL	SC	CM	F
Total	11	0,45		
Repeticiones	2	0,05	0,02	0,36 ns
Tratamientos	3	0,02	0,01	0,10 ns
Error	6	0,38	0,06	
CV = 4,95%				

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

CUADRO 37. Análisis de varianza para el diámetro del tallo de la planta de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*) a los 60 días.

FV	GL	SC	CM	F
Total	11	0,76		
Repeticiones	2	0,01	0,01	0,09 ns
Tratamientos	3	0,42	0,14	2,57 ns
Error	6	0,33	0,05	
CV = 4,20%				

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

CUADRO 38. Análisis de varianza para el diámetro del tallo de la planta de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*) a los 90 días.

FV	GL	SC	CM	F
Total	11	0,53		
Repeticiones	2	0,05	0,02	0,34 ns
Tratamientos	3	0,04	0,01	0,20 ns
Error	6	0,44	0,07	
CV = 4,20%				

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

4. Largo del botón a la cosecha (cm.). (Anexo 23)

El análisis de varianza para el largo del botón a la cosecha (Cuadro 39), no presentó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con un coeficiente de variación del 4.26 %. El promedio del largo del botón fue 4.60 cm.

CUADRO 39. Análisis de varianza para el largo del botón de la planta de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*) a la cosecha.

FV	GL	SC	CM	F
Total	11	0,34		
Repeticiones	2	0,02	0,01	0,28 ns
Tratamientos	3	0,09	0,03	0,75 ns
Error	6	0,23	0,04	
CV = 4,26%				

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

CUADRO 40. Análisis de varianza para el diámetro del botón de la planta de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*) a la cosecha.

FV	GL	SC	CM	F
Total	11	28,44		
Repeticiones	2	2,67	1,34	0,96 ns
Tratamientos	3	17,46	5,82	4,20 ns
Error	6	8,31	1,38	
CV = 3,33%				

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

5. DIÁMETRO DEL BOTÓN A LA COSECHA (cm.). (Anexo 24)

El análisis de varianza para el diámetro del botón a la cosecha (Cuadro 40), no presentó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con un coeficiente de variación del 3.33 %. El promedio del diámetro del botón fue 35.30 cm.

6. DÍAS A LA COSECHA. (Anexo 25)

CUADRO 41. Análisis de varianza para los días a la cosecha de la planta de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*).

FV	GL	SC	CM	F
Total	11	100,92		
Repeticiones	2	25,17	12,58	1,31 ns
Tratamientos	3	18,25	6,08	0,63 ns
Error	6	57,50	9,58	
CV = 3,33%				

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

El análisis de varianza para los días a la cosecha (Cuadro 41), no presentó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con un coeficiente de variación del 3.33 %. El promedio de días fue 90.08.

7. TALLOS DE EXPORTACIÓN COSECHADOS. (Anexo 26)

El análisis de varianza para los tallos de exportación cosechados (Cuadro 42), presentó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con un coeficiente de variación del 10.60%. El promedio de los tallos de exportación fue 56.00.

De acuerdo a la prueba de Tukey al 5% (Cuadro 43; Figura 18), el tratamiento T1 (Bacteria Bg1, 3×10^{10}) produjo un número de tallos exportables estadísticamente superior a los demás tratamientos, mientras que el tratamiento T3 (Bacteria Bg1 3×10^8) presentó el menor número de tallos exportables.

CUADRO 42. Análisis de varianza para los tallos de exportación cosechados de la planta de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*).

FV	GL	SC	CM	F
Total	11	1356,00		
Repeticiones	2	316,50	158,25	4,49 ns
Tratamientos	3	828,00	276,00	7,83 *
Error	6	211,50	35,25	
CV = 10,60%				

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

CUADRO 43. Prueba de Tukey al 5% para los tallos de exportación cosechados de la planta de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*).

Tratamiento	Media	Rango
T1 Bacteria BG1 (3 x 10 ¹⁰)	65,00	A
T4 Testigo finca	61,00	B
T2 Bacteria BG1 (3 x 10 ⁹)	55,00	C
T3 Bacteria BG1 (3 x 10 ⁸)	43,00	D

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

8. TALLOS NACIONALES COSECHADOS. (Anexo 27)

El análisis de varianza para los tallos nacionales cosechados (Cuadro 44), presentó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con un coeficiente de variación del 10.60 %. El promedio de los tallos nacionales fue 40.50.

De acuerdo a la prueba de Tukey al 5% (Cuadro 45; Figura 19), el tratamiento T1 (Bacteria Bg1 3 x 10¹⁰) produjo un número de tallos nacionales estadísticamente superior a los demás tratamientos, mientras que el tratamiento T3 (Bacteria Bg1 3 x 10⁸) fue el menos eficiente.

CUADRO 44. Análisis de varianza para los tallos nacionales cosechados de la planta de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*).

FV	GL	SC	CM	F
Total	11	783,00		
Repeticiones	2	72,00	36,00	2,77 ns
Tratamientos	3	633,00	211,00	16,23 **
Error	6	78,00	13,00	
CV = 10,60%				

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

CUADRO 45. Prueba de Tukey al 5% para los tallos nacionales cosechados de la planta de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*).

Tratamiento	Media	Rango
T1 Bacteria BG1 (3 x 1010)	52,00	A
T2 Bacteria BG1 (3 x 109)	40,00	C
T4 Testigo finca	38,00	B
T3 Bacteria BG1 (3 x 108)	32,00	D

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

9. RENDIMIENTO POR PARCELA NETA. (Anexo 28)

El análisis de varianza para el rendimiento por parcela neta (Cuadro 46), presentó diferencias estadísticas altamente significativas entre los tratamientos, con un coeficiente de variación del 8.56 %. El promedio del rendimiento fue 96.50 planta/mes/parcela neta.

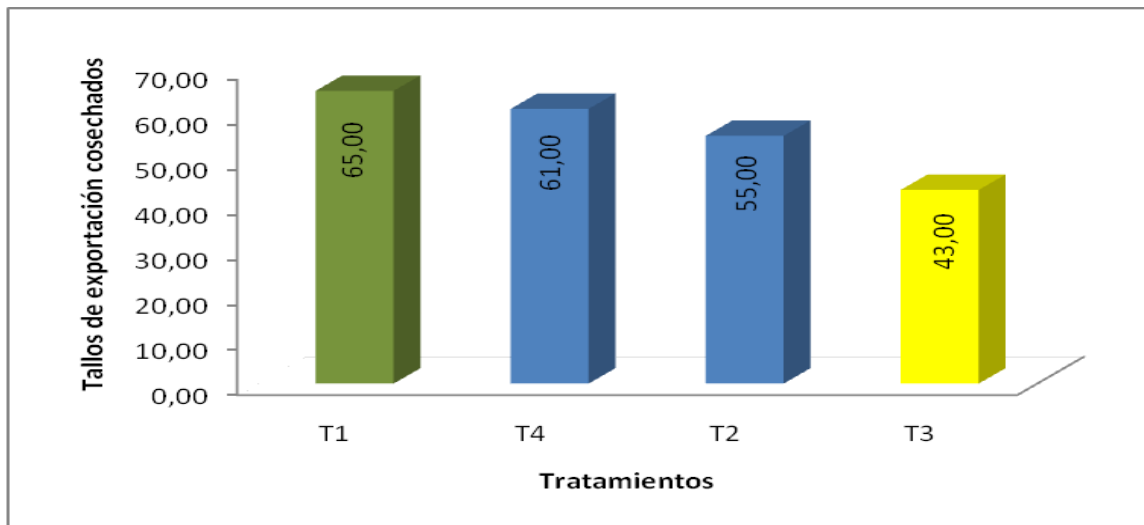


Figura 18. Tallos de exportación cosechados de la planta de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*).

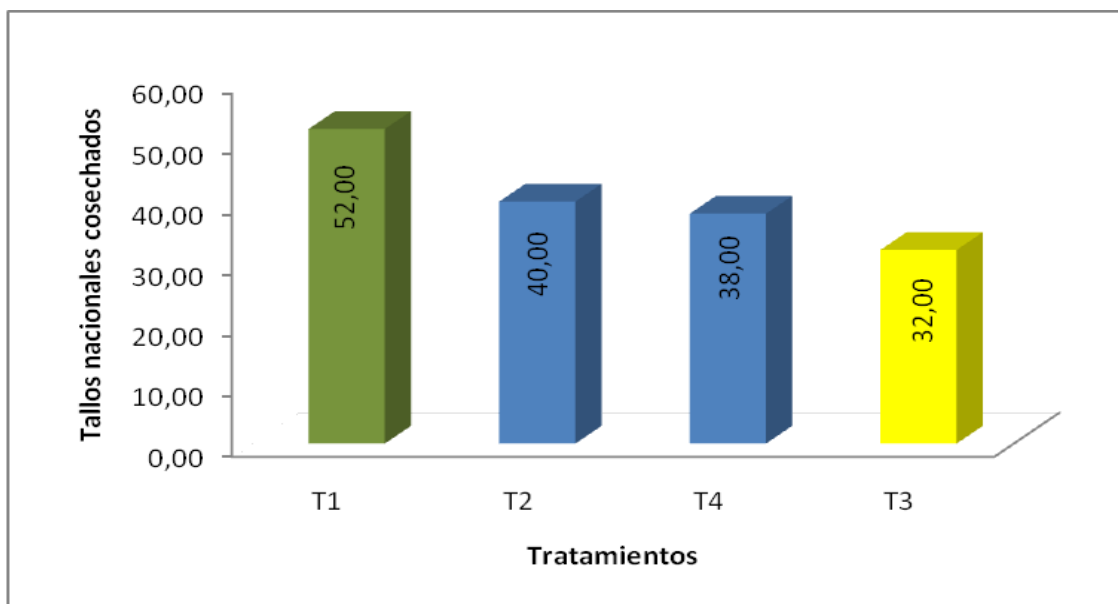


Figura 19. Tallos nacionales cosechados de la planta de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*).

CUADRO 46. Análisis de varianza para el rendimiento por parcela neta de la planta de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*).

FV	GL	SC	CM	F
Total	11	3723,00		
Repeticiones	2	640,50	320,25	4,69 ns
Tratamientos	3	2763,00	891,00	13,05 **
Error	6	409,50	68,25	
CV = 8,56%				

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

CUADRO 47. Prueba de Tukey al 5% para el rendimiento por parcela neta de la planta de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*).

Tratamiento	Media	Rango
T1 Bacteria BG1 (3 x 10 ¹⁰)	117,00	A
T4 Testigo finca	99,00	B
T2 Bacteria BG1 (3 x 10 ⁹)	95,00	BC
T3 Bacteria BG1 (3 x 10 ⁸)	75,00	C

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

De acuerdo a la prueba de Tukey al 5% (Cuadro 47; Figura 20), el rendimiento por parcela neta del tratamiento T1 (Bacteria Bg1 3 x 10¹⁰) fue estadísticamente superior a los demás tratamientos, mientras que el tratamiento T3 (Bacteria Bg1 3 x 10⁸) presentó el menor rendimiento.

CUADRO 48. Análisis de varianza para el rendimiento por hectárea de la planta de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*).

FV	GL	SC	CM	F
Total	11	735407407,41		
Repeticiones	2	126518518,52	63259259,26	4,69 ns
Tratamientos	3	528000000,00	176000000,00	13,05 **
Error	6	80888888,89	13481481,48	
CV = 8,56%				

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

CUADRO 49. Prueba de Tukey al 5% para el rendimiento por hectárea de la planta de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*).

Tratamiento	Media	Rango
T1 Bacteria BG1 (3×10^{10})	52000,00	A
T4 Testigo finca	44000,00	B
T2 Bacteria BG1 (3×10^9)	42222,22	C
T3 Bacteria BG1 (3×10^8)	33333,33	D

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

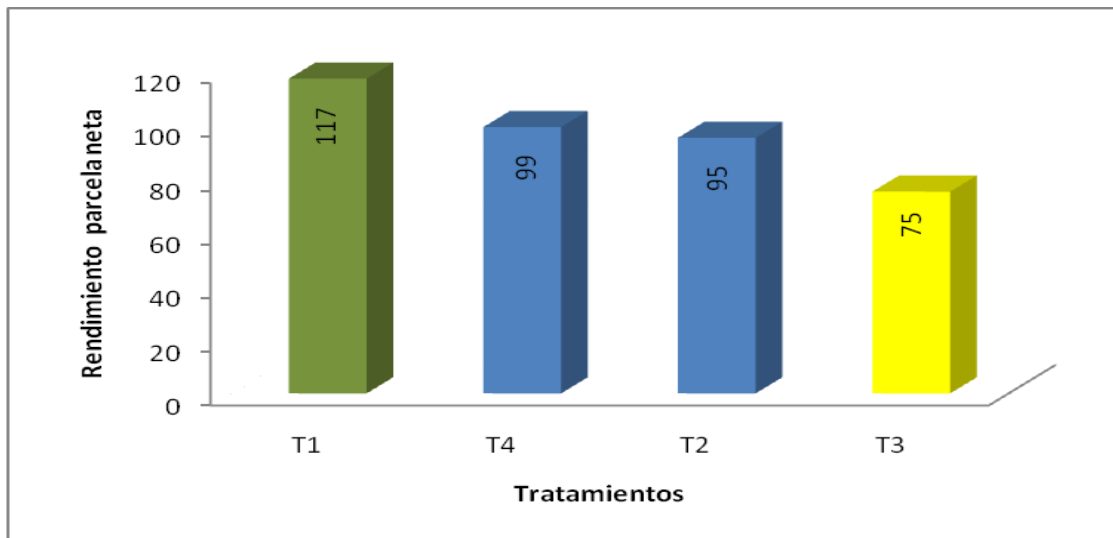


Figura 20. Rendimiento por parcela neta de la planta de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*).

10. RENDIMIENTO POR HECTÁREA. (Anexo 29)

El análisis de varianza para el rendimiento por hectárea (Cuadro 48), presentó diferencias estadísticas altamente significativas entre los tratamientos, con un coeficiente de variación del 8.56 %. El promedio del rendimiento fue 42888,89 planta/mes/ha

Según la prueba de Tukey al 5%, (Cuadro 49; Figura 21), el rendimiento de tallos por hectárea del tratamiento T1 (Bacteria Bg1 3×10^{10}) fue estadísticamente superior al de los demás tratamientos, mientras que el tratamiento T3 (Bacteria Bg1 3×10^8) presentó el menor rendimiento.

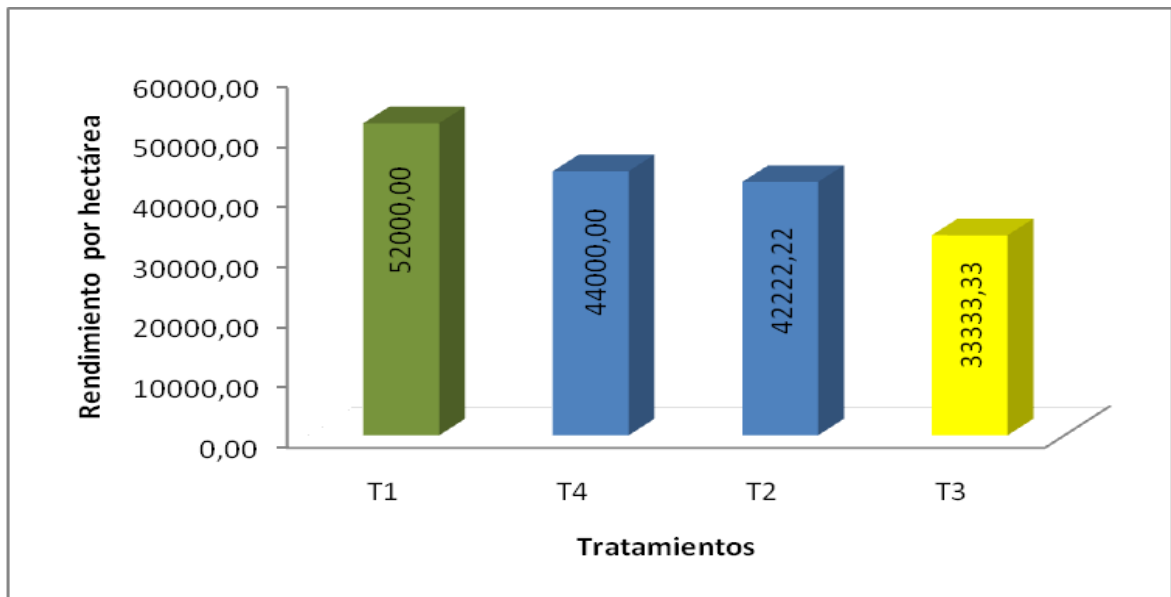


Figura 21. Rendimiento por hectárea de la planta de rosa (*Rosa sp. var. Ravel*).

11. ANÁLISIS ECONÓMICO.

Para determinar el beneficio de campo se consideró el rendimiento por hectárea, con un precio de venta para flor de exportación de \$ 0.40 y para flor nacional de \$ 0.05 por tallo y los costos variables de cada tratamiento.

a) Para los tallos de exportación cosechados.

Como se puede observar en el Cuadro 50, el mayor costo variable lo presentó el tratamiento T1 ($Bg1\ 3 \times 10^{10}$) con un valor de 505.48 USD mientras que el tratamiento con menor costo variable fue el tratamiento T4 (Testigo finca) con un valor de 133.33 USD.

Además, se determinó que el mayor beneficio neto se obtuvo con el tratamiento T1 ($Bg1\ 3 \times 10^{10}$), que fue de 16654.52 USD, mientras que el tratamiento T3 ($Bg1\ 3 \times 10^8$) presentó el menor beneficio neto, con 10947.56 USD (Cuadro 51).

Los tratamientos no dominados (Cuadro 52) fueron T1 y T4.

CUADRO 50. Costos variables para los tallos de exportación cosechados.

Tratamientos	Aplicación		Costos variables (USD)/t	Costos variables (USD)/ha
	Bacteria	Testigo Finca		
T1	17,06		17,06	<u>505,48</u>
T2	15,35		15,35	454,81
T3	13,65		13,65	404,44
T4		4,50	4,50	<u>133,33</u>

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

CUADRO 51. Beneficio neto para los tallos de exportación cosechados.

Trat.	Rendimiento %	Rendimiento ajustado al 10%	Beneficio de campo (USD)	Costos variables (USD)	Beneficio neto (USD)
T1	95333,33	85800,00	17160,00	505,48	<u>16654,52</u>
T2	80666,67	72600,00	14520,00	454,81	14065,19
T3	63066,67	56760,00	11352,00	404,44	<u>10947,56</u>
T4	89466,67	80520,00	16104,00	133,33	15970,67

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

La tasa de retorno marginal calculada (Cuadro 53), nos indicó que al cambiar del tratamiento T4 (Testigo finca), en el que se aporta nitrógeno inorgánico a las plantas, al tratamiento biológico T1 (Bg1 3×10^{10}) se obtiene un retorno de 183.76 %; es decir que por cada dólar invertido en la tecnología biológica, el floricultor puede esperar recobrar el dólar invertido más un retorno adicional de \$ 1.84.

CUADRO 52. Análisis de dominancia para los tratamientos.

Trat.	Beneficio neto (USD)	Costos variables (USD)	Dominancia
T1	16654,52	505,48	ND
T4	15970,67	133,33	ND
T2	14065,19	454,81	D
T3	10947,56	404,44	D

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

CUADRO 53. Análisis marginal de los tratamientos no dominados.

Trat.	Beneficio neto	Incremento beneficio neto marginal	Costos variables	Incremento costos variables marginales	Tasa de retorno marginal
T1	16654,52		505,48		
T4	15970,67	683,85	133,33	372,15	183,76

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

b) Para los tallos nacionales cosechados.

En el Cuadro 54 se puede observar que el mayor costo variable lo presentó el tratamiento T1 ($Bg1\ 3 \times 10^{10}$) con un valor de 505.48 USD, mientras que el tratamiento con menor costo variable fue el tratamiento T4 (Testigo finca) con un valor de 133.33 USD

Los tratamientos no dominados (Cuadro 55) fueron, como en el caso anterior, T1 y T4.

El mayor beneficio neto se obtuvo con el tratamiento T1 ($Bg1\ 3 \times 10^{10}$), con un valor de 1210.52 USD, mientras que el tratamiento T3 ($Bg1\ 3 \times 10^8$) presentó el menor beneficio neto, con 651.56 USD (Cuadro 56).

CUADRO 54. Costos variables para los tallos nacionales cosechados.

Tratamientos	Aplicación		Costos variables (USD)/t	Costos variables (USD)/ha
	Bacteria	Testigo Finca		
T1	17,06		17,06	<u>505,48</u>
T2	15,35		15,35	454,81
T3	13,65		13,65	404,44
T4		4,50	4,50	<u>133,33</u>

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

CUADRO 55. Análisis de dominancia para los tratamientos.

Trat.	Beneficio neto (USD)	Costos variables (USD)	Dominancia
T1	1210,52	505,48	ND
T4	1120,67	133,33	ND
T2	865,19	454,81	D
T3	651,56	404,44	D

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

La tasa de retorno marginal calculada (Cuadro 57) nos indicó que al cambiar del tratamiento con nitrógeno inorgánico, T4 (Testigo finca), al tratamiento biológico, T1 (Bg1 3×10^{10}), se logró un retorno de 24,14 %, lo que implica que por cada dólar invertido en la tecnología biológica, el floricultor puede esperar recobrar el dólar invertido más un retorno adicional de \$ 0.24.

CUADRO 56. Beneficio neto para los tallos nacionales cosechados.

Trat.	Rendimiento %	Rendimiento ajustado al 10%	Beneficio de campo (USD)	Costos que varían (USD)	Beneficio neto (USD)
T1	76266,67	68640,00	1716,00	505,48	<u>1210,52</u>
T2	58666,67	52800,00	1320,00	454,81	865,19
T3	46933,33	42240,00	1056,00	404,44	<u>651,56</u>
T4	55733,33	50160,00	1254,00	133,33	1120,67

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

CUADRO 57. Análisis marginal de los tratamientos no dominados.

Trat.	Beneficio neto	Incremento beneficio neto marginal	Costos variables	Incremento costos variables marginales	Tasa de retorno marginal
T1	1210,52		505,48		
T4	1120,67	89,85	133,33	372,15	24,14

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

c) Para el total de tallos.

El mayor costo variable correspondió al tratamiento T4 (Testigo finca) con un valor de 2503.70 USD, mientras que el tratamiento con menor costo variable fue el tratamiento T3 (Bg1 3x10⁸), con un valor de 1737.78 USD (Cuadro 58).

El mayor beneficio neto (Cuadro 59, Fig. 22), se obtuvo con el tratamiento T1 (Bg1 3 x 10¹⁰), con 21327.19 USD, mientras que el tratamiento T3 (Bg1 3 x 10⁸) presentó el menor beneficio neto, con 13112.22 USD.

CUADRO 58. Costos que varían para el total de tallos cosechados.

Trat.	Costos de producción		Mano de obra	Costos que varían (USD)/t	Costos que varían (USD)/ha
	Bacteria	TF			
T1	17,06		45,00	62,06	1838,81
T2	15,35		45,00	60,35	1788,15
T3	13,65		45,00	58,65	<u>1737,78</u>
T4		4,50	80,00	84,50	<u>2503,70</u>

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

CUADRO 59. Beneficio neto para los tallos totales cosechados.

Trat.	Rendimiento %	Rendimiento ajustado al 10 %	Beneficio de campo (USD)	Costos que varían (USD)	Beneficio neto (USD)
T1	171600,00	154440,00	23166,00	1838,81	<u>21327,19</u>
T2	139333,33	125400,00	18810,00	1788,15	17021,85
T3	110000,00	99000,00	14850,00	1737,78	<u>13112,22</u>
T4	145200,00	130680,00	19602,00	2503,70	17098,30

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

En el análisis de dominancia (Cuadro 60) estableció como dominados a los tratamientos T1, T2 y T3.

La tasa de retorno marginal calculada para los tallos totales cosechados (Cuadro 61), nos indicó que al cambiar del tratamiento biológico T2 ($Bg1\ 3 \times 10^9$) al tratamiento biológico T1 ($Bg1\ 3 \times 10^{10}$) se logra un retorno de 8497,37 %, es decir que por cada dólar invertido, el floricultor puede esperar recobrar el dólar invertido más un retorno adicional de \$ 84.97.

CUADRO 60. Análisis de dominancia para los tratamientos.

Trat.	Beneficio neto (USD)	Costos que varían (USD)	Dominancia
T1	21327,19	1838,81	ND
T4	17098,30	2503,70	D
T2	17021,85	1788,15	ND
T3	13112,22	1737,78	ND

Fuente: Datos de campo, 2012.

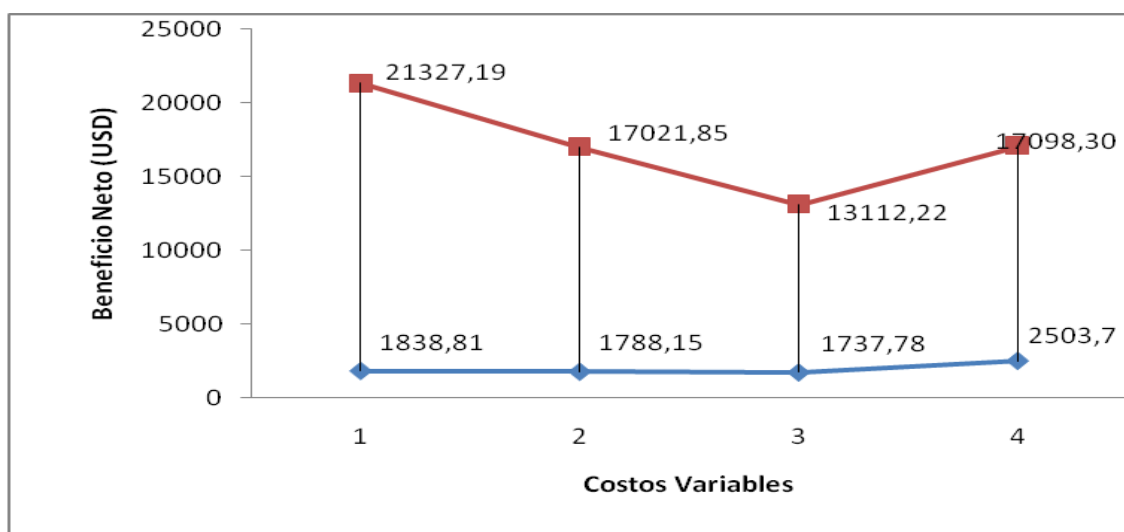
Elaboración: RUIZ, M. 2012.

CUADRO 61. Análisis marginal de los tratamientos no dominados.

Trat.	Beneficio neto	Incremento beneficio neto marginal	Costos variables	Incremento costos variables marginales	Tasa de retorno marginal
T1	21327,19		1838,81		
T2	17021,85	4305,33	1788,15	50,67	8497,37
T3	13112,22	3909,63	1737,78	50,37	7761,76

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

**Fig.22. Curva de beneficio neto para el total de tallos cosechados.**

12. ANALISIS DE SUELO Y FOLIAR.

CUADRO 62. Interpretación de los análisis de suelo y foliar.

	Datos		Inicio del ensayo		Final del ensayo			
					Tratamientos			
	Elementos	Unidad	Cantidad	Nivel	T1 (3X10 ¹⁰) bact/ml		T4 (Control finca)	
					Cantidad	Nivel	Cantidad	Nivel
Análisis de suelo	pH		5.6	Lig. Ácido	5.90	Lig. Ácido	5.80	Lig. Ácido
	NH ₄ ⁺	ppm	99.70	Exceso	80.70	Exceso	68.60	Alto
	NO ₃ ⁻	ppm	51.20	Suficiente	96.10	Suficiente	49.40	Medio
Análisis foliar	N total	%	3.21	Bajo	3.73	Medio	3.53	Medio

Fuente: AGROBIOLAB, 2012. vs. CESTA, 2012.

Elaborado: RUIZ, M. 2012.

a. Análisis de suelo

En el cuadro 63 y Anexos 30, 31 se presentan los resultados obtenidos en el análisis de suelo, antes y al final del ensayo, para los tratamientos T1 (3x10¹⁰ bact/ml), y T4 (control finca).

El pH, que es un indicativo de las condiciones generales de fertilidad del suelo, fue ligeramente ácido en las dos épocas de determinación, lo cual hace suponer que existió una asimilación adecuada de nutrientes por parte de la planta. Lo que coincide con INFOAGRO (2010), que manifiesta que un Ph de 5.5 a 5.8 es el adecuado para el cultivo de rosas.

El contenido de amonio se encontró en un nivel de exceso en el tratamiento T1, tanto al inicio como al final del ensayo, y en un nivel alto en el tratamiento T4, valores que de acuerdo a PADILLA, W. (2000) tienden a ser elevados, ya que la fertilización en el cultivo

de rosas es diaria. Esto haría suponer también que existió un aporte de este elemento por parte de las bacterias inoculadas y/o hubo un exceso de agua en el suelo que limitó la presencia de oxígeno, el cual es necesario para la actividad de las bacterias nitrificantes, que transforman el amonio en nitrato.

El amonio es la forma más estable de nitrógeno en el suelo, ya que es un catión intercambiable, que es retenido por las partículas de arcilla y materia orgánica. Además, las plantas absorben muy poco nitrógeno en forma amoniacal, ya que su acumulación es tóxica para la misma, por eso es que el amonio es incorporado a compuestos orgánicos a nivel radicular, en forma casi inmediata (GIL, 2007).

El contenido de nitratos se encontró en un nivel adecuado en el tratamiento T1, tanto al inicio como al final del ensayo, y en un nivel medio en el del tratamiento T4. Lo que, al igual que en caso anterior, podría significar que las bacterias contribuyeron a elevar el contenido de nitrato en el suelo. El nitrato es la principal forma de nitrógeno que asimilan las plantas (MARSCHNER, 2005).

b. Análisis foliar.

El Análisis Foliar es una herramienta muy valiosa para saber si la planta está asimilando en forma correcta los nutrientes que son aplicados al suelo. En los Anexos 32, 33 y 34 se presentan los resultados del análisis foliar para los tratamientos T1 (3×10^{10}) bact/ml y T4 (control finca).

El contenido de N total al inicio del ensayo se encontró en un nivel bajo en los dos tratamientos, pero al final del ensayo el contenido de nitrógeno en los dos casos alcanzó un nivel suficiente para las plantas, lo que significa que el aporte de N de forma biológica, por parte de las bacterias, fue equivalente al aporte proporcionado por los fertilizantes nitrogenados aplicados en el control finca.

VI. CONCLUSIONES

- A. El ensayo en laboratorio permitió seleccionar a la cepa la Bg1-crema, para su posterior evaluación en el campo.
- B. La identificación molecular de la bacteria Bg1 hace suponer que pertenece al género *Ochrobactrum*, que está más relacionado con las bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno, como las del género *Rhizobium*, pero son necesarios estudios adicionales para determinar la ubicación taxonómica correcta.
- C. El tratamiento que presentó mejores resultados en la fase de campo fue el tratamiento biológico (T1, Bg1 3×10^{10}), seguido por el Testigo finca (T4).
- D. La tasa de retorno marginal calculada para los tallos de exportación cosechados demostró que al cambiar de un tratamiento con fertilización nitrogenada inorgánica (Testigo finca), a un tratamiento de fijación biológica de nitrógeno (Bg1 3×10^{10}) se logra un retorno de 183,76 %, es decir que por cada dólar invertido en la nueva tecnología, el floricultor puede esperar recobrar el dólar invertido más un retorno adicional de \$ 1.84.
- E. Para el caso de los tallos nacionales cosechados, la tasa de retorno fue 24,14 %, al cambiar de un tratamiento T4 (Testigo finca) al tratamiento T1 (Bg1 3×10^{10}) implica que por cada dólar invertido en la nueva tecnología, el floricultor puede esperar recobrar el dólar invertido más un retorno adicional de \$ 0.24.
- F. El incremento en los niveles de amonio y nitratos en el suelo en el tratamiento biológico permite suponer que hubo fijación de nitrógeno molecular por parte de las bacterias inoculadas.
- G. Igualmente, los resultados del análisis foliar ratificarían la presunción de que las bacterias inoculadas aportaron nitrógeno al suelo, gracias a su capacidad fijadora.

VII. RECOMENDACIONES.

- A.** Considerar el uso bacterias fijadoras de nitrógeno en plantaciones de rosa, porque significan un ahorro considerable en la inversión y consecuentemente en la rentabilidad, y porque, además, contribuyen al cuidado del medio ambiente.

- B.** Investigar el comportamiento de estos microorganismos en otras fincas con características diferentes, con otras variedades, en diferentes dosis y frecuencias de aplicación e inclusive en otros cultivos, de modo que garanticen los resultados obtenidos en esta investigación.

VIII. RESUMEN.

El propósito de la presente investigación fue identificar y evaluar la eficiencia en la fijación de nitrógeno atmosférico de una cepa bacteriana de vida libre, en condiciones de laboratorio, e invernadero. La evaluación en el laboratorio se hizo en plantas de trigo (*Triticum vulgare*), con un Diseño Completamente al Azar (DCA); y en el invernadero en un cultivo de rosa (*Rosa* sp. var. Ravel) con un Diseño de Bloques Completos al Azar (BCA); con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones en los dos diseños. Cuando el Análisis de Varianza demostró diferencias estadísticas entre los tratamientos, se separaron sus medias mediante la prueba de Tukey al 5%. La identificación molecular de la cepa bacteriana permitió suponer que pertenece al género *Ochrobactrum*, relacionado con las bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno. En la fase invernadero, la dosis de inoculación que presentó mejores resultados, en relación al incremento de los niveles de amonio y nitrato, en el suelo y en el área foliar de las plantas, fue 3×10^{10} bacterias/ml, lo que permite suponer que hubo fijación de nitrógeno molecular por parte de las bacterias inoculadas. Además, esta dosis proporcionó el mayor beneficio neto, con 21327.19 USD. Por otro lado, el menor costo variable de producción se obtuvo con la dosis 3×10^8 bacterias/ml, con 1737,78 USD, mientras que el Testigo finca presentó al mayor costo de producción con 2503,70 USD. La tasa de retorno marginal calculada para los tallos de exportación cosechados demostró que al cambiar de un tratamiento con fertilización nitrogenada inorgánica (Testigo finca), al tratamiento biológico de dosis 3×10^{10} bacterias/ml se logró un retorno de 183,76 %; es decir, que por cada dólar invertido en la nueva tecnología el floricultor puede esperar recobrar el dólar invertido más un retorno adicional de \$ 1.84. Y en el caso de los tallos nacionales el retorno fue 24,14 %; lo que implica que por cada dólar invertido en la tecnología biológica, el floricultor puede esperar recobrar el dólar invertido más un retorno adicional de \$ 0.24

IX. SUMMARY.

The purpose of the present study was to identify and evaluate the nitrogen fixation efficiency of a free living bacterial strain, both under laboratory and greenhouse conditions. In the laboratory the evaluation was made in wheat plants (*Triticum vulgare*), using a complete randomized design (CRD); and in the green house the evaluation was in a rose plantation (*Rosa* sp. var. Ravel) using a randomized complete block design (RCB); in both cases there were four treatments and four replications. When the Analysis of Variance showed statistical differences among treatments, their means were separated with the Tuckey test at 5% level of significance. The molecular identification of the bacterial strain allowed us to believe that it belongs to the genus *Ochrobactrum*, which is related to symbiotic nitrogen fixing bacteria. In the greenhouse, the bacterial dose that provided the best results, in relation to increasing soil and leaf ammonia and nitrate levels, was 3×10^{10} bacteria/ml., which allows us to presume that the inoculated bacteria fixed molecular nitrogen. Also, this dose provided the highest net benefit, 21327.19 USD. On the other hand, the lowest variable cost of production was obtained with the dose 3×10^8 bacteria/ml, 1737,78 USD; while the farm control had the highest variable cost, 2503,70 USD. The marginal return rate for the harvested export stems proved that by changing from an inorganic fertilization (farm control) to the biological treatment, at a dose of 3×10^{10} bacteria/ml, it is possible to get a return of 183,76 %; which means that for every dollar the farmer invest in the new technology he could recover the invested dollar plus an additional \$1.84. And for the national stems the return was 24,14 %; therefore, for each invested dollar the farmer would recover it plus an additional \$0.24

X. BIBLIOGRAFÍA.

1. ABCAGRO, 2009. Manejo de cultivo de rosas para corte. Disponible en la Web: <http://www.abcagro.com/flores/flores/rosas3.asp>. Consultado:2011-03-22
2. ACUNA, O. 2006. La fijaciónbiológica de nitrógeno: El caso de la caña de azúcar.Centro de Investigaciones Agronómicas. Universidad de Costa Rica. pp 662-665.
3. ALLAN, D. y GRAHAM, P. 2002. Soil 5611: Soil Biology and Fertility: Symbiotic NitrogenFixation, other N2-fixing symbiosis. Dep. of Soil, Water, and Climate. UniversityofMinnesota.Disponible en: <http://www.soils.agri.umn.edu/academics/classes/soil3612/SymbioticNitrogenFixation/Other.htm>>. Consultado: (11/07/2011).
4. ARAUZ, F. 1997. Hacia un uso racional de los plaguicidas sinteticos: Una perspectiva Agroecológica. Agronomía Costarricense 21(1):19-23.
5. BAUER, T. 2001. Microorganismos fijadores de nitrógeno. Disponible en: <http://www.microbiologia.com/nf/suelo/rhizobium.htmL>.(2011-03-22).
6. COOPER, H.D. and CLARKSON, D.T. 1995. Cycling amino-nitrogen and other nutrients between shoots and roots in cereals. A possible mechanism integrating shoot and root in the regulation of nutrient uptake. Journal Experimental botany, (40, 753-762) pp.
7. CORVERA, A. 2000. La fijaciónbiológica de nitrógeno y su importancia. La ciencia entodas partes. Revista Red Escolar Año 2 No 6 julio-septiembre del 2000.Disponibleen: <http://redescolar.ilce.edu.mx/redescolar/Revista/06/articulos/06.html> Consultado: (13/07/2011).

8. ESPIN, G. 1997. Biología de *Azotobacter vinelandii*. Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. México. Disponible en: www.microbiologia.org.mx/microbiosenlinea/CAPITULO_09/Capitulo09.pdf Consultado (13/07/2011)
9. FAINSTEIN, R. 1999. Manual para cultivo de Rosas en Latinoamérica. Ecuador. Ecuoffset, Cia Ltda. Pág. 8, 44-63.
10. GAMBOA, L. 1989. El cultivo de rosa de corte. Universidad de Costa Rica. Escuela de Fitotecnia. Pág. 10-30.
11. GIL, M. F., 2007. Elementos de Fisiología Vegetal. Ed. Mundiprensa. Barcelona . España. 202 – 273 pp.
12. HORNICK, L.; PETERS, L y HUGENHOLTZ, P. 2007. *Azotobacter vinelandii*. Tree ofLife. Bacteria. Proteobacteri. University of California. http://genome.jgipsf.org/draft_microbes/azovi/azovi.home.html (12/07/2011).
13. INFOAGRO, 2010. Manejo de rosas. Disponible en: www.infoagro.com/floricultura.htm. Consultado: 2011-03-18
14. KASS, D. 1996. Fertilidad de Suelos. Primera Edición. Editorial UNED. 233p. San José, Costa Rica. Consultado: 2011-03-18
15. KROTZKY A. y WERNER. D. 1987. Nitrogen fixation in *Pseudomonas stutzeri*. *Archives of Microbiology* 147:1 pp: 48-57. DOI 10.1007/BF00492904.
16. MAYEA, S.; CARONE, MARGARITA; NOVO, R.; BOADO, ISABEL; SILVEIRA, E.; SORIA, MIGUELINA; MORALES, y OLANDA Y VALIÑO, A. 1998. Microbiología Agropecuaria. Tomo II. Ed. Félix Varela. La Habana. pp 156-178.

17. MARTIN, F. y LOPER, J. 1999. Soilborne Plant Disease Caused by *Phytophthora* spp.: Ecology, Epidemiology, and Prospects for Biological Control. *Critical Reviews in Plant Science* 18(2): 111-181.
18. MAYZ-FIGUEROA J. 2004. Biological Nitrogen Fixation. *Revista Científica UDO Agrícola*. 4(1):1-20. Universidad de Oriente Press. ISSN: 1317-9152.
19. MARSCHNER, H. 2005. *Mineral Nutrition of Higher Plants*, Academic Press. . Harcourt Brace & Company, Publishers, 2° ed. San Diego, U.S.A. 6-78 pp.
20. MING-MUH KAO y TE-SHANG HSIEH. 1986. Studies of the Relationship between Rhizosphere Fungi and the Growth of Sugarcane. Inhibition of Sugarcane Growth by Fungal Metabolites. *Taiwan Sugar* 33:8-14.
21. PAUSTIAN, T. 2006. 11-4 Nitrogen fixing bacteria. *Microbiology and Bacteriology*. <http://www.bact.wisc.edu/Microtextbook/index.php?module=Book&func=displayarticle&art_id=274> (13/07/2011)
22. POTASH PHOSPHATE INSTITUTE. 1997. *Manual Internacional de Fertilidad de los suelos*. Editorial Inpofos. Quito-Ecuador. Pág. 483
23. ROBSON, R. L. y POSTGATE, J. R. 1980. Oxygen and hydrogen in biological nitrogen fixation. *Annu. Rev. Microbiol.* 34:183-207.
24. ROJAS M.C. 2001. Bioabono de dulce encanto. U.N. Periódico. Bogotá, Colombia. http://www.biodiversityreporting.org/index.php?pageId=sub&c=Colombia&cRef=Colombia&docId=471&year=2002&lang=en_us¤tItem=article (12/ 07/ 2011).
25. SEGURA, D. y ESPIN, G. 1998. Mutational Inactivation of a Gene Homologous to *Escherichia coli* ptsP Affects Poly- β -Hydroxybutyrate Accumulation Nitrogen Fixation in *Azotobacter vinelandii*. *J. Bacteriol.* 180(18):4790-4798.

26. SUBIROS F. 1995. El cultivo de la Cana de Azucar. Editorial Universidad Estatal a Distancia. 1º Edición. 448 p. San José, Costa Rica.
27. TODAR, K. 2004. Important Groups of Prokaryotes. Todar's Online Textbook of Bacteriology. <<http://www.textbookofbacteriology.net>> (10/07/2011).
28. VILLALOBOS, E. 2001. Fisiología de la producción de los cultivos tropicales. Procesos fisiológicos básicos. Fascículo I. Primera Edición. Editorial de la Universidad de Costa Rica Costa Rica. Disponible en: http://www.biodiversityreporting.org/index.php?pageId=sub&c=Colombia&cRef=Colombia&docId=471&year=2002&lang=en_us¤tItem=article>(12/07/2011).
29. <http://es.answers.yahoo.com/question/index?qid=20100420034653AAVb5B1>
30. itzamna.bnct.ipn.mx:8080/dspace/bitstream/123456789/.../1/33.pdf
31. <http://www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/Cap6/>
32. <http://www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/Cap10/>
33. www.umoar.edu.sv/biblio/.../fijador%20de%20nitrogeno.pdf

XI. ANEXOS.

A. Fase de Laboratorio

ANEXO 1. Medios Agar Picovskaya

Reactivo	Cantidad
Glucosa	10 gr / L
Fosfato tricálcico	5 gr / L
Cloruro de potasio	0.2 gr / L
Sulfato de amonio	0.5 gr / L
Sulfato de magnesio	0.1 gr / L
Sulfato de manganeso trazas	0.1 gr / L
Agar	15 gr / L
pH	7.0

Fuente: <http://www.textbookofbacteriology.net>

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

ANEXO 2. Medio Agar Nutritivo

Reactivos	Unidad	Cantidad
Peptona	gr	5
Extracto de carne	gr	3
Agar	gr	15
Agua destilada	ml	1000
Ph		6.8- 7.2

Fuente: <http://www.textbookofbacteriology.net>

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

ANEXO 3. Solución Jensen

Reactivo	Cantidad
Fosfato de calcio	1 g
Fosfato de potasio	0.2
Sulfato de magnesio	0.2
Cloruro de sodio	0.2
Cloruro de hierro	0.1
Sol minerales	1 ml
Agua destilada	1000 ml
Agar	18 g

Fuente: <http://www.textbookofbacteriology.net>

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

ANEXO 4. Solución de Buffer.**Búfer de extracción de ADN**

Glucosa	50 mM
Tris HCl pH 8	25 mM
EDTA pH8	10 mM

Búfer TE 1X

Tris - HCl pH 8	10 mM
EDTA pH8	1 mM

Búfer TBE 10X

Tris HCl pH 8	108 gr
Ácido bórico	55 gr
EDTA pH8	7,4 gr
Agua destilada	1000ml

ANEXO 5. Altura de la parte aérea de las plantas de trigo crecidas en pomina.

Tratamientos	Repeticiones				Media	Desvest
	I	II	III	IV		
T1	27,30	23,50	21,00	15,50	23,93	3,17
T2	25,50	21,50	22,00	24,10	23,00	2,18
T3	31,50	23,50	26,00	29,50	27,00	4,09
T4	29,50	23,60	29,00	21,80	27,37	3,27

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

ANEXO 6. Altura de la parte aérea de las plantas de trigo crecidas en suelo.

ANEXO Tratamientos	Repeticiones				Media	Desvest
	I	II	III	IV		
T1	22,50	25,80	22,50	23,60	23,60	1,91
T2	26,60	23,80	19,90	28,60	23,43	3,37
T3	30,50	27,50	25,80	27,00	27,93	2,38
T4	25,50	23,50	27,70	30,00	25,57	2,10

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

ANEXO 7. Número de hojas maduras de plantas de trigo crecidas en pomina.

Tratamientos	Repeticiones				Media	Desvest
	I	II	III	IV		
T1	2,00	3,00	2,00	2,00	2,33	0,58
T2	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	0,00
T3	4,00	3,00	4,00	3,00	3,67	0,58
T4	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	0,00

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

ANEXO 8. Número de hojas maduras de plantas de trigo crecidas en suelo.

Tratamientos	Repeticiones				Media	Desvest
	I	II	III	IV		
T1	3,00	3,00	2,00	3,00	2,67	0,58
T2	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	0,00
T3	3,00	3,00	3,00	4,00	3,00	0,00
T4	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	0,00

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

ANEXO 9. Peso seco de la parte aérea de las plantas de trigo crecidas en pomina.

Tratamientos	Repeticiones				Media	Desvest
	I	II	III	IV		
T1	370,00	460,00	290,00	320,00	373,33	85,05
T2	640,00	730,00	390,00	510,00	586,67	176,16
T3	420,00	550,00	590,00	470,00	520,00	88,88
T4	330,00	220,00	385,00	430,00	311,67	84,01

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

ANEXO 10. Peso seco de la parte aérea de las plantas de trigo crecidas en suelo.

Tratamientos	Repeticiones				Media	Desvest
	I	II	III	IV		
T1	390,00	290,00	190,00	350,00	290,00	100,00
T2	440,00	365,00	490,00	620,00	431,67	62,92
T3	450,00	490,00	450,00	430,00	463,33	23,09
T4	310,00	280,00	280,00	270,00	290,00	17,32

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

B. Fase de campo

ANEXO 11. Longitud del tallo de rosa a los 30 días (cm.).

Tratamientos	Repeticiones			Media	Desvest
	I	II	III		
T1	6,40	8,74	7,53	7,56	1,17
T2	7,14	7,21	6,02	6,79	0,67
T3	5,81	6,83	6,51	6,38	0,52
T4	7,40	7,69	7,26	7,45	0,22

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

ANEXO 12. Longitud del tallo de rosa a los 45 días.

Tratamientos	Repeticiones			Media	Desvest
	I	II	III		
T1	36,47	36,21	37,11	36,60	0,46
T2	35,06	35,27	33,71	34,68	0,85
T3	31,86	33,53	31,89	32,43	0,96
T4	35,37	35,91	34,64	35,31	0,64

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

ANEXO 13. Longitud del tallo de rosa a los 60 días.

Tratamientos	Repeticiones			Media	Desvest
	I	II	III		
T1	53,44	54,27	56,29	54,67	1,47
T2	52,91	53,69	55,03	53,88	1,07
T3	50,80	52,09	52,13	51,67	0,76
T4	53,71	55,29	52,93	53,98	1,20

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

ANEXO 14. Longitud del tallo de rosa a los 90 días.

Tratamientos	Repeticiones			Media	Desvest
	I	II	III		
T1	58,34	59,67	60,99	59,67	1,33
T2	58,41	59,19	59,43	59,01	0,53
T3	54,30	57,29	57,53	56,37	1,80
T4	59,41	59,69	58,53	59,21	0,61

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

ANEXO 15. Número de hojas a los 30 días

Tratamientos	Repeticiones			Media	Desvest
	I	II	III		
T1	4,50	4,30	4,20	4,33	0,15
T2	4,00	4,30	4,40	4,23	0,21
T3	4,50	4,10	3,50	4,03	0,50
T4	3,90	4,40	4,60	4,30	0,36

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

ANEXO 16. Número de hojas a los 45 días.

Tratamientos	Repeticiones			Media	Desvest
	I	II	III		
T1	9,30	8,60	8,90	8,93	0,35
T2	8,50	9,20	8,60	8,77	0,38
T3	8,70	8,70	8,60	8,67	0,06
T4	8,30	9,00	8,60	8,63	0,35

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

ANEXO 17. Número de hojas a los 60 días.

Tratamientos	Repeticiones			Media	Desvest
	I	II	III		
T1	14,10	13,20	13,70	13,67	0,45
T2	12,30	13,10	13,60	13,00	0,66
T3	11,60	12,00	12,70	12,10	0,56
T4	13,70	13,40	12,80	13,30	0,46

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

ANEXO 18. Número de hojas a los 90 días.

Tratamientos	Repeticiones			Media	Desvest
	I	II	III		
T1	20,70	19,90	19,80	20,13	0,49
T2	18,90	19,20	19,30	19,13	0,21
T3	17,70	18,60	18,90	18,40	0,62
T4	20,50	20,00	19,70	20,07	0,40

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

ANEXO 19. Diámetro del tallo a los 30 días. (cm)

Tratamientos	Repeticiones			Media	Desvest
	I	II	III		
T1	2,50	2,26	2,55	2,44	0,16
T2	2,28	2,11	2,14	2,18	0,09
T3	2,14	1,77	2,19	2,03	0,23
T4	2,19	2,63	2,35	2,39	0,22

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

ANEXO 20. Diámetro del tallo a los 45 días.

Tratamientos	Repeticiones			Media	Desvest
	I	II	III		
T1	5,18	4,90	5,40	5,16	0,25
T2	5,02	5,19	5,10	5,10	0,09
T3	5,23	4,91	5,00	5,05	0,17
T4	4,70	5,34	5,23	5,09	0,34

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

ANEXO 21. Diámetro del tallo a los a los 60 días.

Tratamientos	Repeticiones			Media	Desvest
	I	II	III		
T1	5,44	5,14	5,15	5,24	0,17
T2	5,56	5,81	5,72	5,70	0,13
T3	5,79	5,45	5,63	5,62	0,17
T4	5,34	5,83	5,91	5,69	0,31

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

ANEXO 22. Diámetro del tallo a los 90 días.

Tratamientos	Repeticiones			Media	Desvest
	I	II	III		
T1	6,31	5,54	6,08	5,98	0,40
T2	5,90	6,19	6,04	6,04	0,15
T3	6,09	5,95	6,03	6,02	0,07
T4	5,87	6,20	6,36	6,14	0,25

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

ANEXO 23. Largo del botón a la cosecha (cm.).

Tratamientos	Repeticiones			Media	Desvest
	I	II	III		
T1	4,49	4,95	4,64	4,69	0,23
T2	4,62	4,46	4,72	4,60	0,13
T3	4,39	4,45	4,55	4,46	0,08
T4	4,80	4,39	4,72	4,64	0,22

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

ANEXO 24. Diámetro del botón a la cosecha (cm.).

Tratamientos	Repeticiones			Media	Desvest
	I	II	III		
T1	37,11	35,08	35,40	35,86	1,09
T2	37,48	34,07	35,49	35,68	1,71
T3	32,41	33,61	33,78	33,27	0,75
T4	36,88	36,97	35,37	36,41	0,90

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

ANEXO 25. Días a la cosecha.

Tratamientos	Repeticiones			Media	Desvest
	I	II	III		
T1	90,00	95,00	86,00	90,33	4,51
T2	92,00	90,00	94,00	92,00	2,00
T3	87,00	91,00	89,00	89,00	2,00
T4	85,00	92,00	90,00	89,00	3,61

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

ANEXO 26. Tallos de exportación cosechados.

Tratamientos	Repeticiones			Media	Desvest
	I	II	III		
T1	69,00	54,00	72,00	65,00	9,64
T2	63,00	45,00	57,00	55,00	9,17
T3	42,00	45,00	42,00	43,00	1,73
T4	63,00	51,00	69,00	61,00	9,17

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

ANEXO 27. Tallos nacionales cosechados.

Tratamientos	Repeticiones			Media	Desvest
	I	II	III		
T1	54,00	51,00	51,00	52,00	1,73
T2	48,00	36,00	36,00	40,00	6,93
T3	33,00	30,00	33,00	32,00	1,73
T4	39,00	33,00	42,00	38,00	4,58

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

ANEXO 28. Rendimiento por parcela neta.

Tratamientos	Repeticiones			Media	Desvest
	I	II	III		
T1	123,00	105,00	123,00	117,00	10,39
T2	111,00	81,00	93,00	95,00	15,10
T3	75,00	75,00	75,00	75,00	0,00
T4	102,00	84,00	111,00	99,00	13,75

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

ANEXO 29. Rendimiento por Hectárea.

Tratamientos	Repeticiones			Media	Desvest
	I	II	III		
T1	54666,67	46666,67	54666,67	52000,00	4618,80
T2	49333,33	36000,00	41333,33	42222,22	6710,96
T3	33333,33	33333,33	33333,33	33333,33	0,00
T4	45333,33	37333,33	49333,33	44000,00	6110,10

Fuente: Datos de campo, 2012.

Elaboración: RUIZ, M. 2012.

ANEXO 30. Análisis de suelo realizado antes de instalar el ensayo.

AGROBIOLAB															
Informe de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y E.C.P.															
LABORATORIO DE ENSAYO, BAJO LA NORMA INTERNACIONAL ISO 17025															
Calle Zaldumbide N49-204 y Luis Calisto Urb. Dammer 2 (El Inca) Telfs: (593-2) 241-2383 241-2385 Fax: (593-2) 241-3312 Quito - Ecuador															
Página Web: www.clinica-agricola.com E-mail: agrobiolab@clinica-agricola.com															
SUELOS															
Datos del Cliente				Referencia				Interpretación							
Cliente : BIOGARDEN LA PAMPA Prop / Dir : BIOGARDEN LA PAMPA Cultivo : ROSA PRODUCCION Ingreso : 16/03/12 No. Lab. : Desde :136811				No. Doc.: 44900 Emisión: 23/03/12 Impreso: 23/03/12 Página: 1 de 2				Textura Boul, S.W. 1973 Fco = Franco Arc = Arcilloso As = Arenoso Li = Limoso Are = Arena Fca = Franca				Elementos INIAP, Inf.Téc.1975 B = Bajo M = Medio S = Suficiente A = Alto E = Exceso		pH Knott, J.E. 1962 Ac = Acido LAc= Lig. Acido Pn = Prac. Neutro LAI = Lig. Alcalino AI = Alcalino	
Nombre : MUESTRA 1															
No. Lab. : 136811 Profund (cm): 0-20															
*pH	*C. E. mmhos/cm	*M. O. %	*NH4 ppm	*NO3 ppm	P ppm	K meq/100ml	Ca meq/100ml	Mg meq/100ml	*Na meq/100ml	*AL+H meq/100ml	CICE meq/100ml				
5.10Ac	1.11M	1.89B	83.40E	36.50M	154.50E ± 24.72	0.95S ± 0.17	6.08M ± 1.09	1.29M ± 0.21	0.06B	0.60M	8.98B				
Cu ppm	Fe ppm	Mn ppm	Zn ppm	*B ppm	*SO4 ppm	Fe/Mn R1	Ca/Mg R2	Mg/K R3	Ca+Mg/K R4						
9.60E ± 1.92	433.50E ± 142.71	73.00E ± 19.71	39.00E ± 14.82	0.52B	56.00S	5.93E	4.71A	1.35B	7.75S						
Nombre : MUESTRA 2															
No. Lab. : 136812 Profund (cm): 0-20															
*pH	*C. E. mmhos/cm	*M. O. %	*NH4 ppm	*NO3 ppm	P ppm	K meq/100ml	Ca meq/100ml	Mg meq/100ml	*Na meq/100ml	*AL+H meq/100ml	CICE meq/100ml				
5.50Ac	1.41M	2.57M	94.80E	38.70M	86.50S ± 13.84	1.28S ± 0.23	10.74A ± 1.93	2.32S ± 0.39	0.09M	0.40M	14.83M				
Cu ppm	Fe ppm	Mn ppm	Zn ppm	*B ppm	*SO4 ppm	Fe/Mn R1	Ca/Mg R2	Mg/K R3	Ca+Mg/K R4						
10.40E ± 2.08	228.30E ± 59.25	79.00E ± 21.33	39.50E ± 15.01	0.57B	76.40A	2.89B	4.62A	1.81B	10.20S						
Nombre : MUESTRA 3															
No. Lab. : 136813 Profund (cm): 0-20															
*pH	*C. E. mmhos/cm	*M. O. %	*NH4 ppm	*NO3 ppm	P ppm	K meq/100ml	Ca meq/100ml	Mg meq/100ml	*Na meq/100ml	*AL+H meq/100ml	CICE meq/100ml				
5.60LAc	1.37M	2.03M	99.70E	51.20S	89.50S ± 14.32	1.13S ± 0.20	8.27M ± 1.48	2.30S ± 0.39	0.12M	0.54M	12.36M				
Cu ppm	Fe ppm	Mn ppm	Zn ppm	*B ppm	*SO4 ppm	Fe/Mn R1	Ca/Mg R2	Mg/K R3	Ca+Mg/K R4						
9.50E ± 1.90	327.90E ± 85.25	99.00E ± 26.73	34.50E ± 13.11	0.54B	71.50A	3.31S	3.59S	2.03S	9.35S						
Nombre : MUESTRA 4															
No. Lab. : 136814 Profund (cm): 0-20															
*pH	*C. E. mmhos/cm	*M. O. %	*NH4 ppm	*NO3 ppm	P ppm	K meq/100ml	Ca meq/100ml	Mg meq/100ml	*Na meq/100ml	*AL+H meq/100ml	CICE meq/100ml				
5.80LAc	14.75E	2.30M	46.10M	1023.30E	174.50E ± 27.92	4.20E ± 0.75	14.89A ± 2.68	4.94E ± 0.83	1.65E	0.52M	26.20S				
Cu ppm	Fe ppm	Mn ppm	Zn ppm	*B ppm	*SO4 ppm	Fe/Mn R1	Ca/Mg R2	Mg/K R3	Ca+Mg/K R4						
6.20E ± 1.24	102.40A ± 26.62	9.90M ± 2.67	40.50E ± 15.39	6.14E	238.00E	10.34E	3.01S	1.17B	4.72B						

Símbolo decimal = (.)
 Los valores con incertidumbre (+-) están calculados con un nivel de confianza del 95% (k=2)
 <L.C. = Valor menor al Límite de Cuantificación
 Métodos: pH 1:2,5 H2O; C.E., Na: Pasta saturada; M.O.: Walkley and Black; AL+H: Olsen Modificado B; Fosfato Monocálcico; NH4,NO3, SO4:Colorimetr
 Métodos Valorados: Ca: PEE/ABL/01; Mg: PEE/ABL/02; P: PEE/ABL/03, K: PEE/ABL/04; Zn, Cu, Fe, Mn: PEE/ABL/05
 Nota: Los ensayos marcados con (*) no tienen aun valores de incertidumbre.
 **Fecha Inicial de Ensayo; La Fecha Final de Ensayo es cuatro días laborables a partir de la Fecha Inicial de Ensayo.
 Resultados corresponden a muestras analizadas, si se va a fotocopiar hacer del documento total.

Dr. Washington A. Padilla G. Ph.D
 Director del Laboratorio

¡SU EXITO ES NUESTRO!

ANEXO 31. Análisis de suelo al final del ensayo, muestra 1 (M1) ensayo y Análisis de suelo al final del ensayo (M2) Control Finca.

AGROBIOLAB													
Informe de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y E.C.P.													
LABORATORIO DE ENSAYO, BAJO LA NORMA INTERNACIONAL ISO 17025													
Gonzalo Zaldumbide N49-204 y Luis Calisto Urb. Dammer 2 (El Inca) Telfs: (593-2) 241-2383 241-2385 Fax: (593-2) 241-3312 Quito - Ecuador													
Página Web: www.clinica-agricola.com E-mail: agrobiolab@clinica-agricola.com													
SUELOS													
Datos del Cliente						Referencia		Interpretación					
Cliente : BIOGARDEN LA PAMPA Prop / Dir : BIOGARDEN LA PAMPA Cultivo : ROSAS Ingreso : 16/06/2012 No. Lab. : Desde :137500						No. Doc.: 45229 Emisión: 22/06/2012 Impreso: 22/06/2012 Página: 1 de 2		Textura Boul. S.W. 1973 Fco = Franco Arc = Arcilloso As = Arenoso Li = Limoso Are = Arena Fca = Franca		Elementos INIAP, Inf.Téc.1978 B = Bajo M = Medio S = Suficiente A = Alto E = Exceso		pH Knott, J.E. 1962 Ac = Acido LAc= Lig. Acido Pn = Prac. Neutro LAI = Lig. Alcalino AI = Alcalino	
**Ensayo : 18/06/2012 Hasta : 137501													
Nombre : M1 ENSAYO													
No. Lab. : 137500 Profund (cm): 0-20													
*pH	*C.E. mmhos/cm	*M.O. %	*NH4 ppm	*NO3 ppm	P ppm	K meq/100ml	Ca meq/100ml	Mg meq/100ml	*Na meq/100ml		CICE meq/100ml		
5.90LA _c	1.74S	1.97B	80.70E	96.10S	± 15.68	± 0.24	7.93M	1.78B	0.12M		11.21M		
Cu ppm	Fe ppm	Mn ppm	Zn ppm	*B ppm	*SO ₄ ppm	Fe/Mn R1	Ca/Mg R2	Mg/K R3	Ca+Mg/K R4				
8.80E ± 1.76	168.90A ± 43.91	9.20M ± 2.48	33.60E ± 12.76	0.96B	63.20S	18.35E	4.45A	1.29B	7.03S				
Nombre : M2 CONTROL													
No. Lab. : 137501 Profund (cm): 0-20													
*pH	*C.E. mmhos/cm	*M.O. %	*NH4 ppm	*NO3 ppm	P ppm	K meq/100ml	Ca meq/100ml	Mg meq/100ml	*Na meq/100ml		CICE meq/100ml		
5.80LA _c	1.02M	2.14M	68.80A	49.40M	± 17.28	± 0.19	5.74M	1.34B	0.08B		8.23E		
Cu ppm	Fe ppm	Mn ppm	Zn ppm	*B ppm	*SO ₄ ppm	Fe/Mn R1	Ca/Mg R2	Mg/K R3	Ca+Mg/K R4				
8.20E ± 1.84	280.40B ± 72.80	16.60S ± 4.48	22.40E ± 8.51	0.50B	39.20M	16.89E	4.28A	1.26B	6.61S				

Simbolo decimal = (.)
 Los valores con incertidumbre (+-) están calculados con un nivel de confianza del 95% (k=2)
 <L.C. = Valor menor al Límite de Cuantificación
 Métodos: pH 1:2.5 H₂O; C.E.: Na: Pasta saturada; M.O.: Walkley and Black; Al-H: Olsen Modificado B: Fosfato Monocalcico; NH₄,NO₃, SO₄:Colorimet
 Métodos Valorados: Ca: PEE/ABL/01; Mg: PEE/ABL/02;P: PEE/ABL/03, K: PEE/ABL/04; Zn, Cu, Fe, Mn: PEE/ABL/05
 Nota: Los ensayos marcados con (*), no tienen aun valores de incertidumbre.
 **Fecha Inicial de Ensayo; La Fecha Final de Ensayo es cuatro días laborables a partir de la Fecha Inicial de Ensayo.
 Resultados corresponden a muestras analizadas. si se va a fotocopiar hacer del documento total.

Dr. Washington A. Padilla G. Ph.D
 Director del Laboratorio
¡SU EXITO ES NUESTRO!

ANEXO 32. Análisis foliar al inicio del ensayo.

	AGROBIOLAB Informe de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y E.C.P. LABORATORIO DE ENSAYO, BAJO LA NORMA INTERNACIONAL ISO 17025 Gonzalo Aldumbide N49-204 y Luis Calisto Urb. Dammer 2 (El Inca) Telfs: (593-2) 241-2383 / 241-2385 Fax: (593-2) 241-3312 Quito - Ecuador Página Web: www.clinica-agricola.com E-mail: agrobiolab@clinica-agricola.com	FOLIAR

Datos del Cliente	Referencia	Interpretación
Cliente : BIOGARDEN LA PAMPA Prop / Dir : BIOGARDEN LA PAMPA Cultivo : ROSA PRODUCCION Ingreso : 16/03/12 **Ensayo : 19/03/12 No. Lab. : Desde : 75160 Hasta : 75160	No. Documento: 44917 Emisión: 23/03/12 Impresión: 23/03/12 Página: 1 de 2	IFA World Fertilizer Use Manual D = Deficiente B = Bajo M = Medio S = Suficiente A = Alto E = Exceso

Nombre: MUESTRA 1

No. Lab.: 75,160

*N %	P %	K %	Ca %	Mg %	Zn ppm	Cu ppm	Fe ppm	Mn ppm	*B ppm	N/P	Fe/Mn
3.21 B	0.21 S ± 0.02	1.54 D ± 0.27	1.74 A ± 0.33	0.31 S ± 0.07	29.30 S ± 3.51	5.40 B ± 0.75	156.70 S ± 21.93	95.90 S ± 14.38	131.71 A	15.28 S	1.63 E
Ca/Mg	Mg/K	N/K+Ca+Mg	*SO ₄ %								
5.61 E	0.20 A	0.89 B	0.26 S								

Símbolo decimal = (.)

Los valores con incertidumbre (+) están calculados con un nivel de confianza del 95% (k=2)

<L.C. = Valor menor al Límite de Cuantificación

Métodos: N: Kjeldahl; B: Colorimétrico.

Métodos Valorados: Mg: PEE/ABL/19; P: PEE/ABL/20; K: PEE/ABL/21 Zn, Cu, Fe, Mn: PEE/ABL/17; Ca: PEE/ABL/18

Nota: Los ensayos marcados con (*), no tienen aun valores de incertidumbre.


**Fecha Inicial de Ensayo; la Fecha Final de termino de los ensayos es cuatro dias laborables a partir de la fecha inicial de ensayo.

Resultados corresponden a muestras analizadas, si se va a fotocopiar hacer del documento total.


 Dr. Washington A. Padilla G. Ph.
 Director del Laboratorio

¡SU ÉXITO ES NUESTRO

ANEXO 33. Análisis foliar al final, (M2) Ensayo.

 LABCESTTA Tecnología & Soluciones SGC	LABORATORIO DE ANÁLISIS AMBIENTAL E INSPECCIÓN Panamericana Sur Km. 1 ½ Telef.: (03)2998232 ESPOCH FACULTAD DE CIENCIAS RIOBAMBA - ECUADOR
---	--

INFORME DE ENSAYO No: 0913
ST: 12 - 0006 ANÁLISIS DE FERTILIZANTES

Nombre Peticionario: N.A
Atn. Srta. Martha Ruiz
Dirección: Ciudadela Las Acacias

FECHA: 11 de Agosto del 2012
NUMERO DE MUESTRAS: 1
FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN EN LAB: 2012 / 08 / 03 - 12:30
FECHA DE MUESTREO: 2012 / 07 / 31 - 10:15
FECHA DE ANÁLISIS: 2012 / 08 / 05 - 2012 / 08 / 11
TIPO DE MUESTRA: Rosas Foliar
CÓDIGO LAB-CESTTA: LAB-F 007-12
CÓDIGO DE LA EMPRESA: M2
PUNTO DE MUESTREO: Rio Blanco
ANÁLISIS SOLICITADO: Nitrógeno total, Potasio (asimilable), Fósforo (asimilable)
PERSONA QUE TOMA LA MUESTRA: Sra. Martha Ruiz
CONDICIONES AMBIENTALES: T máx. 25.0 °C. T mín.: 15.0 °C


RESULTADOS ANALÍTICOS:

PARÁMETROS	MÉTODO /NORMA	UNIDAD	RESULTADO	VALOR LÍMITE PERMISIBLE	INCERTIDUMBRE (k=2)
Nitrógeno total	PEE/LABCESTTA/88 Kjeldhal	%	3.73	-	-
Potasio <small>Asimilable</small>	PEE/LABCESTTA/87 Absorción atómica	%	1.18	-	-
Fósforo <small>Asimilable</small>	PEE/LABCESTTA/86 Espectrofotométrico	mg/Kg	1031.01	-	-


OBSERVACIONES:

- Muestra receptada en laboratorio


RESPONSABLES DEL INFORME:


 Dr. Mauricio Alvarez
 RESPONSABLE TÉCNICO

LABORATORIO DE ANÁLISIS AMBIENTAL
 E INSPECCIÓN
 LAB - CESTTA
 ESPOCH


 Dra. Nancy Veloz M.
 JEFE DE LABORATORIO

ANEXO 34. Análisis foliar al final, Control Finca (M1).

 LABCESTTA Tecnología & Soluciones SGC	LABORATORIO DE ANÁLISIS AMBIENTAL E INSPECCIÓN Panamericana Sur Km. 1 ½ Teléf.: (03)2998232 ESPOCH FACULTAD DE CIENCIAS RIOBAMBA - ECUADOR
---	--

INFORME DE ENSAYO No: 0913
ST: 12 - 0006 ANÁLISIS DE FERTILIZANTES

Nombre Peticionario: N.A
Atn. Srta. Martha Ruiz
Dirección: Ciudadela Las Acacias

FECHA: 11 de Agosto del 2012
NUMERO DE MUESTRAS: 1
FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN EN LAB: 2012 / 08 / 03 - 12:30
FECHA DE MUESTREO: 2012 / 07 / 31 - 10:00
FECHA DE ANÁLISIS: 2012 / 08 / 05 - 2012 / 08 / 11
TIPO DE MUESTRA: Rosas Foliar
CÓDIGO LAB-CESTTA: LAB-F 006-12
CÓDIGO DE LA EMPRESA: M1
PUNTO DE MUESTREO: Rio Blanco
ANÁLISIS SOLICITADO: Nitrógeno total, Potasio (asimilable), Fósforo (asimilable)
PERSONA QUE TOMA LA MUESTRA: Sra. Martha Ruiz
CONDICIONES AMBIENTALES: T máx.: 25.0 °C. T mín.: 15.0 °C

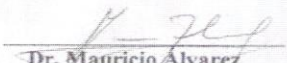
RESULTADOS ANALÍTICOS:

PARÁMETROS	MÉTODO /NORMA	UNIDAD	RESULTADO	VALOR LÍMITE PERMISIBLE	INCERTIDUMBRE (k=2)
*Nitrógeno total	PEE/LABCESTTA/88 Kjeldhal	%	3.53	-	-
*Potasio Asimilable	PEE/LABCESTTA/87 Absorción atómica	%	1.20	-	-
*Fósforo Asimilable	PEE/LABCESTTA/86 Espectrofotométrico	mg/Kg	1103.12	-	-

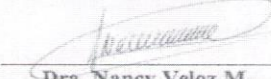
OBSERVACIONES:

- Muestra receptada en laboratorio

RESPONSABLES DEL INFORME:


Dr. Mauricio Alvarez
RESPONSABLE TÉCNICO

LABORATORIO DE ANÁLISIS AMBIENTAL
 E INSPECCIÓN
 LAB - CESTTA
 ESPOCH


Dra. Nancy Veloz M.
JEFE DE LABORATORIO