

USO DE BACTERIAS FIJADORAS DE NITRÓGENO PROVENIENTES DE SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS EN SUELOS SALINOS DEL VALLE DEL CAUCA







USO DE BACTERIAS FIJADORAS DE NITRÓGENO PROVENIENTES DE SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS EN SUELOS SALINOS DEL VALLE DEL CAUCA

DIANA XIMENA MARTÍNEZ RODRÍGUEZ

UNIVERSIDAD DEL VALLE FACULTAD DE INGENIERÍA ESCUELA DE RECURSOS NATURALES Y DEL AMBIENTE PROGRAMA DE INGENIERÍA AGRÍCOLA SANTIAGO DE CALI 2015



USO DE BACTERIAS FIJADORAS DE NITRÓGENO PROVENIENTES DE SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS EN SUELOS SALINOS DEL VALLE DEL CAUCA

DIANA XIMENA MARTÍNEZ RODRÍGUEZ

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERA AGRÍCOLA

DIRECTORA
ING. MARTHA CONSTANZA DAZA TORRES M Sc

UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE RECURSOS NATURALES Y DEL AMBIENTE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGRÍCOLA
SANTIAGO DE CALI
2015



NOTA DE APROBACIÓN

| |
|--------------------|
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| FIRMA DIRECTOR |
| TIKWIN DIKEOTOK |
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| FIRMA JURADO 1 |
| T IIXIMA JURADO T |
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| FIRMA JURADO 2 |



DEDICATORIA

A Dios porque siempre ha acompañado y guiado cada una de las etapas de mi vida.

Especialmente dedicado a mis padres por su compromiso incondicional con mi formación tanto personal como profesional.

A mis hermanos, amigos y compañeros que de alguna u otra manera han estado presentes en el desarrollo de este proceso.

A mi compañero de vida por su apoyo incondicional, ánimo y cariño.

A todas las personas que me brindan siempre su amistad y aquellos que me animaron a iniciar este camino.

Sentidamente dedicado a mis familiares, que desde los cielos me acompañan en el cumplimiento de esta meta.

Sé feliz y hazlo todo con amor!!



AGRADECIMIENTOS

A mi directora de tesis, por su confianza, paciencia, ayuda y colaboración.

A cada uno de los profesores y profesionales que han aportado a mi vida diferentes enseñanzas.

A la Universidad del Valle y sus colaboradores, quienes fueron de gran ayuda para cumplir esta meta.

A mis amigos y compañeros que con su ayuda contribuyeron en el desarrollo del proyecto.



TABLA DE CONTENIDO

| 1 | ١N | NTRC | DDUCCION | 13 |
|--------|--------------------|---------------|--|----|
| 2 | JI | USTI | FICACIÓN | 15 |
| 3 | 0 | BJE | TIVOS | 17 |
| | 3.1 | OB | JETIVO GENERAL | 17 |
| | 3.2 | OB | JETIVOS ESPECÍFICOS | 17 |
| 4 | R | EVIS | SIÓN DE LITERATURA | 18 |
| | 4.1 | GE | NERALIDADES DEL NITRÓGENO | 18 |
| | 4.2 | EL | CICLO DEL NITRÓGENO | 18 |
| | 4.3 | FU | NCIÓN DEL NITRÓGENO EN LAS PLANTAS | 23 |
| | 4.4 | OR | GANISMOS FIJADORES DE NITRÓGENO | 25 |
| | 4 | .4.1 | Organismos asimbióticos fijadores de nitrógeno | 26 |
| | 4.5 TR <i>A</i> | | CTERIAS NITRIFICANTES PROVENIENTES DE SISTEMAS DE IIENTO DE AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS | |
| | 4.6 | SU | ELOS SALINOS | 29 |
| | 4.7 | EL | CILANTRO | 30 |
| 5 A | EXP SIME | ERIE BIÓTI | NCIAS RELACIONADAS CON EL EMPLEO DE BACTERIAS CAS FIJADORAS DE N | 32 |
| 6 | M | IATE | RIALES Y MÉTODOS | 35 |
| | 6.1 | LO | CALIZACIÓN DEL ENSAYO EXPERIMENTAL | 35 |
| | 6.2 | DIS | SEÑO EXPERIMENTAL | 35 |
| | 6.3 | CA | RACTERÍSTICAS DE LOS SUELOS | 36 |
| | 6 | .3.1 | Preparación de suelos | 37 |
| | 6 | .3.2 | Análisis de suelos | 38 |
| | 6.4 | DE | SCRIPCIÓN DEL INÓCULO COMERCIAL | 39 |
| | 6.5 | DE | SCRIPCIÓN DE LAS BACTERIAS | 39 |
| | 6.6 | VA | RIABLES DE RESPUESTA | 40 |



| | 6.7 | DEMANDA HÍDRICA DEL CULTIVO 4 | 11 |
|---|-------------|--|----|
| | 6.8 | MANEJO AGRONÓMICO DEL ENSAYO EXPERIMENTAL | 14 |
| | 6.9 | ANÁLISIS ESTADÍSTICO | 15 |
| 7 | RE | SULTADOS Y DISCUSIÓN4 | 16 |
| | | EFECTO DE LA APLICACIÓN DE BACTERIAS DIAZÓTROFAS ÆNIENTES DE STARD EN GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE CILANTRO 46 | ١ |
| | 7.1 | .1 Porcentaje de germinación a los 8 dds | 16 |
| | 7.1 | .2 Porcentaje de germinación a los 15 dds | 17 |
| | 7.1 | .3 Número de plantas obtenidas al final de la cosecha | 19 |
| | | EFECTO DE LA APLICACIÓN DE BACTERIAS DIAZÓTROFAS 'ENIENTES DE STARD EN VARIABLES AGRONÓMICAS DE CILANTRO 5 | 50 |
| | 7.2 | .1 Longitud del Tallo 5 | 50 |
| | 7.2 | 2 Diámetro de Tallo 5 | 52 |
| | 7.2 | .3 Número de Hojas5 | 53 |
| | 7.2 | .4 Número de Flores5 | 55 |
| | 7.2 | .5 Masa Fresca y Masa Seca5 | 56 |
| | 7.2 | 6 Rendimiento5 | 59 |
| | 7.2 | .7 Nitrógeno Foliar6 | 30 |
| | | EFECTO DE LA APLICACIÓN DE BACTERIAS DIAZÓTROFAS 'ENIENTES DE STARD SOBRE LAS VARIABLES DEL SUELO | 32 |
| | 7.3 | .1 Conductividad Eléctrica6 | 33 |
| | 7.3 | .2 pH6 | 35 |
| | 7.3 | .3 Materia Orgánica 6 | 36 |
| | 7.3 | .4 Nitrógeno Total | 37 |
| | 7.3 | 5 Nitrógeno Amoniacal6 | 39 |
| | 7.4 | BALANCE DE NITRÓGENO7 | 70 |
| | 7.5 SUFI | RELACIÓN ENTRE VARIABLES AGRONÓMICAS Y VARIABLES DEL | 71 |



| | 7.6 | RELACIÓN ENTRE DOSIS DE INÓCULO Y VARIABLES | 72 |
|----|-----|---|----|
| 8 | C | ONCLUSIONES | 74 |
| 9 | RI | ECOMENDACIONES | 75 |
| 10 | ВІ | IBLIOGRAFÍA | 76 |
| 11 | 1A | NEXOS | 85 |



ÍNDICE DE TABLAS

| Tabla 1. Grupos representativos de organismos fijadores de N ₂ y algunas de sus | |
|--|--------------|
| características | |
| Tabla 2. Interpretación de conductividad eléctrica | |
| Tabla 3. Descripción de los tratamientos utilizados en el experimento | . 35 |
| Tabla 4. Tratamientos del diseño experimental | . 36 |
| Tabla 5. Caracterización de los suelos en estudio | . 38 |
| Tabla 6. Variables de respuesta medidas | . 40 |
| Tabla 7. Características del cultivo | . 43 |
| Tabla 8. Resultados de las variables de respuesta en las condiciones iniciales y | |
| finales del experimento | . 63 |
| Tabla 9. Cuantificación de la fijación de nitrógeno realizada por bacterias diazótrofa | as |
| | . 71 |
| Tabla 10. Coeficiente de determinación entre variables agronómicas y variables de | اڊ |
| suelo. (Significancia 0,05%) | |
| Tabla 11. Coeficiente de déterminación entre variables y dosis de inóculo | |
| (Significancia 0,05%) SBAR1: 0,083 ml, SBAR2: 0,092 ml, SBAR3:0,101 ml | . 73 |
| Tabla 12. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para porcentaje de | |
| germinación 8dds | . 86 |
| Tabla 13. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para porcentaje de | . 00 |
| germinación 8dds | 86 |
| Tabla 14. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para porcentaje de | . 00 |
| germinación 15dds | 96 |
| Tabla 15. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para porcentaje de | . 00 |
| | 07 |
| germinación 15dds | . 0 <i>1</i> |
| Tabla 16. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para número de plant | เส5 07 |
| | _ |
| Tabla 17. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para número de plantas | |
| Tabla 18. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para longitud de tallo | |
| Tabla 19. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para longitud de tallo | |
| Tabla 20. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para diámetro de tallo | |
| Tabla 21. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para diámetro de tallo | |
| Tabla 22. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para número de hojas | |
| Tabla 23. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para número de hojas | |
| Tabla 24. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para número de flores | S |
| | . 89 |
| Tabla 25. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para número de flores | . 89 |
| Tabla 26. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para masa fresca | . 89 |
| Tabla 27. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para masa fresca | . 90 |
| Tabla 28. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para masa seca | |
| Tabla 29. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para masa seca | |
| Tabla 30. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para rendimiento | |
| Tabla 31. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para rendimiento | |
| Tabla 32. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para nitrógeno foliar . | |
| Tabla 33. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para nitrógeno foliar | |
| Tabla 34. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para conductividad | |
| Tabia 57. i Tueba de Holliogeneidad de valianzas de Levelle para colludolividad | . ฮเ |



| Tabla 35. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para conductividad | |
|--|---------|
| eléctrica | 92 |
| Tabla 36. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para pH | 92 |
| Tabla 37. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para pH | |
| Tabla 38. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para materia orgá | nica92 |
| Tabla 39. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para materia orgánic | a 93 |
| Tabla 40. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para nitrógeno tot | |
| Tabla 41. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para nitrógeno total. | |
| Tabla 42. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para nitrógeno | |
| amoniacal | 93 |
| Tabla 43. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para nitrógeno amor | niacal |
| | |
| Tabla 44. Análisis de comparación de medianas para porcentaje de germinació | n |
| 8dds | 94 |
| Tabla 45. Análisis de distribución de grupos para porcentaje de germinación 8d | ds . 94 |
| Tabla 46. Análisis de comparación de medianas para masa seca | 94 |
| Tabla 47. Análisis de distribución de grupos para masa seca | 94 |
| Tabla 48. Resumen de resultados estadística descriptiva para longitud de tallo | |
| Tabla 49. Resumen de resultados estadística descriptiva para número de flores | |
| Tabla 50. Resumen de resultados estadística descriptiva para masa fresca | 95 |
| Tabla 51. Resumen de resultados estadística descriptiva para rendimiento | |
| Tabla 52. Resumen de resultados estadística descriptiva para nitrógeno foliar | |
| Tabla 53. Resumen de resultados estadística descriptiva para conductividad ele | |
| | |
| Tabla 54. Resumen de resultados estadística descriptiva para pH | 97 |
| Tabla 55. Resumen de resultados estadística descriptiva para materia orgánica | |
| Tabla 56. Resumen de resultados estadística descriptiva para nitrógeno total | |
| Tabla 57. Resumen de resultados estadística descriptiva para nitrógeno amonia | |
| Tabla 58. ANOVA de un factor para germinación 8dds | |
| Tabla 59. ANOVA de un factor para longitud de tallo | 98 |
| Tabla 60. ANOVA de un factor para número de flores | |
| Tabla 61. ANOVA de un factor para masa fresca | |
| Tabla 62. ANOVA de un factor para masa seca | 00 |
| Tabla 63. ANOVA de un factor para rendimiento | 99 |
| Tabla 64. ANOVA de un factor para nitrógeno foliar | |
| Tabla 65. ANOVA de un factor para Conductividad eléctrica | 100 |
| Tabla 66. ANOVA de un factor para pH | |
| Tabla 67. ANOVA de un factor para materia orgánica | |
| Tabla 68. ANOVA de un factor para nitrógeno total | |
| Tabla 69. ANOVA de un factor para nitrógeno amoniacal | |
| · · · · · · · · · · · · · · · · · · · | |



ÍNDICE DE FIGURAS

| Figura 1. Ciclo del Nitrógeno. Fuente: Universidad de Sevilla. (s.f) | 19 |
|---|----|
| Figura 2. Movimiento del nitrógeno en las plantas | 22 |
| Figura 3. Ubicación espacial de los tratamientos y sus repeticiones en el invernade | |
| Figura 4. Localización suelo testigo no salino en estudio | |
| | |
| Figura 6. Modición de variables de respuesta | |
| Figura 6. Medición de variables de respuesta | |
| Figura 8. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD e | |
| germinación de semillas de cilantro 8 días después de la siembra | |
| Figura 9. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD e | |
| germinación de semillas de cilantro 15 días después de la siembra | |
| Figura 10. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD | |
| en el número de plantas de cilantro | |
| Figura 11. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD | |
| en la longitud de tallo de plantas de cilantro | |
| Figura 12. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD | |
| en el diámetro de tallo de plantas de cilantro. | |
| Figura 13. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD | |
| en el número de hojas de plantas de cilantro | |
| Figura 14. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD | |
| en el número de flores de plantas de cilantro | |
| Figura 15. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD | |
| en la masa fresca de las plantas de cilantro | |
| Figura 16. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD | |
| en la masa seca de las plantas de cilantro | 58 |
| Figura 17. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD | |
| en el rendimiento de plantas de cilantro. | |
| Figura 18. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD | |
| en el porcentaje de nitrógeno foliar en plantas de cilantro | |
| Figura 19. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD | |
| en la conductividad eléctrica del suelo con plantas de cilantro | |
| Figura 20. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD | |
| en el pH del suelo con plantas de cilantro. | |
| Figura 21. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD | |
| en la materia orgánica del suelo con plantas de cilantro. | |
| Figura 22. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD | |
| en el nitrógeno total del suelo con plantas de cilantro | |
| Figura 23. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD en el nitrógeno amoniacal del suelo con plantas de cilantro | |
| en el mirodeno amoniacal del Suelo CON Diantas de Cliantro | 70 |



1 INTRODUCCIÓN

El nitrógeno es esencial para todos los seres vivos (Kingston et al., 2000), no es fácilmente disponible para los vegetales por lo cual la fertilización nitrogenada se ha convertido en una de las principales actividades agrícolas para obtener niveles de producción más altos y rentables; sin embargo, la contaminación difusa con N derivada de la actividad agrícola es hoy día, uno de los mayores problemas ambientales de contaminación de recursos como el suelo, el agua y el aire ocasionando acidificación de suelos, eutroficación, destrucción de la capa de ozono y lluvia ácida entre otros (Aparicio et al.,2008).

La fuente principal de nitrógeno en el suelo es la materia orgánica (M.O) nitrogenada como proteínas y aminoácidos, pero en los suelos salinos los bajos contenidos de M.O sumados a la baja disponibilidad de agua disminuyen la mineralización y por lo tanto se minimiza la disponibilidad del nitrógeno asimilable. Esta característica salina de los suelos se ve agravada por el exceso de fertilización principalmente nitrogenada y el uso de agua de mala calidad proveniente de aguas superficiales y subterráneas contaminadas con nitratos. Estos problemas ambientales y sanitarios, originados por el aporte excesivo de fertilizantes nitrogenados en los cultivos, junto al incremento del costo energético de la síntesis de fertilizantes, hacen que la fijación biológica de N sea una alternativa económica y ecológicamente limpia frente a la fijación química (Aparicio et al., 2008).

La actividad y eficiencia de los microorganismos de vida libre del suelo con capacidad de fijar nitrógeno han demostrado un extraordinario potencial para la explotación agrícola (Lara et al.,2007), constituyéndose en una de las alternativas de suministro de N en sistemas productivos; sin embargo, la mayoría de estos organismos en el suelo fijan aproximadamente 25 kg/ha/año de nitrógeno, lo realizan en condiciones de escasez del elemento (Sicardi, 2010), al utilizarlos como única fuente de N₂, no logra satisfacer las demandas de nitrógeno de cultivos comerciales, que varían entre 40-140 kg/ha/año (Quintero,1997). Sólo poder realizar la fijación a bajas concentraciones de N en el suelo, hace que sea difícil su combinación con fertilizantes inorgánicos.

Por otro lado, el grupo GAOX de la Universidad del Valle viene estudiando poblaciones de bacterias fijadoras de nitrógeno provenientes de la planta de tratamiento de aguas residuales domésticas de Ginebra-Valle las cuales al encontrarse en medios con contenidos medios a altos de amonio son capaces de fijar nitrógeno, lo que podría resultar en una alternativa interesante para complementar la fertilización nitrogenada en suelos, especialmente aquellos que contienen bajos niveles de M.O y que presentan restricción en el uso de fertilizantes, como los salinos.

El enfoque de la presente investigación, se enmarca en esfuerzos para la reducción de la cantidad de fertilización química nitrogenada aplicada a sistemas agrícolas mediante el uso de estrategias que sean sostenibles y amigables con el medio ambiente y que permitan un manejo adecuado de los suelos y cuerpos de aguas involucrados en el sistema productivo.



A pesar de que la fertilización nitrogenada es una labor importante para el crecimiento y desarrollo de los cultivos se ha convertido en una problemática ambiental, por lo tanto, existe gran interés académico por establecer alternativas de manejo que permita disminuir la fertilización nitrogenada y reducir la contaminación.

La realización del presente trabajo contribuyó a suministrar resultados e información sobre el comportamiento y adaptación de bacterias provenientes de sistemas de tratamiento de aguas residuales domésticas en suelos salinos, con el objetivo de proponer su uso para mejorar la fijación de nitrógeno, optimizar la fertilización nitrogenada y disminuir la contaminación generada por esta actividad, determinando la cantidad adecuada de inóculo para su adaptación en suelos.

En el capítulo 1 se encuentran los objetivos del presente trabajo de grado, la justificación indicando la importancia del estudio y la revisión literaria que incluye de manera clara conceptos fundamentales relacionados con la evaluación de la fijación asimbiótica de nitrógeno de bacterias provenientes de STARD. El capítulo 2 contiene los materiales y métodos usados en el estudio, indicando el diseño experimental y su localización, las variables de respuesta establecidas y los análisis estadísticos correspondientes. En el capítulo 3 se presenta el análisis y los resultados de los datos obtenidos. Finalmente en el capítulo 4 se muestran las conclusiones obtenidas de acuerdo a los objetivos propuestos, las recomendaciones, la bibliografía consultada y los anexos.



2 JUSTIFICACIÓN

Como todo organismo vivo, las plantas requieren una oportuna y balanceada nutrición para su adecuado crecimiento y desarrollo; en este proceso se distinguen como los elementos mayores el potasio que tiene un papel importante en la síntesis de proteínas y ayuda a la planta a usar el agua de una manera más eficiente, el fósforo, importante en el almacenamiento y transferencia de energía y el nitrógeno que estimula el crecimiento (INPOFOS, 1997).

El nitrógeno es considerado entonces como un nutriente esencial para que una planta complete su ciclo total de vida, este elemento se encuentra fuertemente relacionado con el proceso de la fotosíntesis siendo necesario para la síntesis de clorofila que tiene por función la absorción de nutrientes e influir en la coloración y desarrollo del follaje; es además un componente de las vitaminas, los sistemas de energía y de los aminoácidos (INPOFOS,1997); el nitrógeno es absorbido por las raíces de las plantas o a través de las hojas en las formas de nitrato (NO₃-) y amonio (NH₄+) principalmente, por lo tanto el N una vez reducido e integrado al proceso metabólico es directamente responsable del incremento del contenido de proteínas y carbohidratos en las plantas (Quintero, 1997).

Teniendo en cuenta que el nitrógeno incrementa el rendimiento y mejora la producción de los cultivos, más del 60% de los fertilizantes utilizados cada año en el mundo corresponden a fertilizantes nitrogenados (Red Agrícola, 2012); la demanda mundial de fertilizantes nitrogenados aumentó de 108.2 millones de toneladas en 2011 a 109.9 millones de toneladas en 2012, a una tasa de crecimiento del 1.6 por ciento. Se espera que en 2016 sea alrededor de 116.0 millones de toneladas, con un crecimiento anual del 1.3 por ciento. En América, se espera que la mayor parte del aumento sea de América Latina (14 por ciento), principalmente de Brasil, Argentina, Colombia y México (Félix, 2013).

La producción y utilización de fertilizantes nitrogenados además de generar rendimientos contribuyen también a la contaminación; entre los principales efectos medioambientales originados por el uso de N como fertilizante se distinguen la alta demanda de energía de origen fósil, los altos costos de energía para la producción de abonos inorgánicos, la volatilización del amoniaco hacia la atmósfera lo que provoca lluvia ácida, la desnitrificación donde los óxidos nitrosos poseen un alto efecto invernadero (Iñareta et al., 2010); la principal preocupación del nitrógeno en el ambiente se relaciona con el potencial movimiento del nitrato no usado o en exceso a través del perfil del suelo hacia el manto freático (INPOFOS, 1997) este fenómeno conocido como lixiviación o lavado de nitrato origina la contaminación de las aguas subterráneas por nitratos (Iñareta et al., 2010).

De acuerdo con esta problemática se han establecido estrategias sostenibles en el manejo de la fertilización nitrogenada, una de ellas es el uso de bacterias fijadoras de nitrógeno. Estos microorganismos son bacterias y cianobacterias de vida libre en el suelo, eventualmente asociados a una planta o viviendo en simbiosis con una leguminosa; la energía requerida para la transformación de dinitrógeno a amoniaco proviene del sol, a través de los carbohidratos del suelo cuando los microorganismos



son de vida libre, de los exudados radiculares para aquellos asociados en la rizósfera de una planta y directamente de los productos de la fotosíntesis de la planta huésped cuando existe una simbiosis (FAO, 1995); entre las bacterias de vida libre de interés se encuentran organismos aerobios como *Azotobacter sp* las cuales fijan al menos 10 mg de N² por gramo de carbohidrato (glucosa) consumido. Requieren molibdeno para la fijación que puede ser parcialmente reemplazado por vanadio. Utilizan nitrato y sales de amonio y ciertos aminoácidos como fuentes de nitrógeno (Espín, 2010); también están las cianobacterias, cuya fijación se estima entre 10 y 80 kg/ha-año, dependiendo de la disponibilidad de luz y N (Juárez et al., 2006).

Sin embargo, el uso de estos microorganismos se ha limitado a suelos con bajos contenidos de N_2 , dado que se ha visto que en suelos con altos contenidos del elemento, en especial formas asimilables, no son tan eficientes en la fijación, limitando su uso en combinación con fertilizantes nitrogenados en sistemas agrícolas de alto rendimiento.

Teniendo en cuenta que la fijación de nitrógeno es catalizada por la enzima nitrogenasa (Rascio y La Rocca, 2013), se presenta otra de las limitaciones en este proceso, puesto que la efectividad de esta enzima puede perderse por presencia de oxígeno molecular (O2) en exceso al momento de la reacción; debido a esto muchos diazótrofos fijan nitrógeno anaeróbicamente o microaeróbicamente (Bitton, 2002). Estudios recientes desarrollados en la Universidad del Valle por el grupo de investigación GAOX han determinado la presencia de inóculos diazotróficos provenientes de plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas en altas concentraciones de amonio (Pérez , 2011), presumiendo así que son capaces de fijar nitrógeno en los reactores, por lo tanto se proyecta un potencial de uso para condiciones ambientales extremas como los suelos salinos en donde la aplicación de sales como los fertilizantes puede ser contraproducente. Es así que en el Valle del Cauca aproximadamente 20.000 ha se encuentran cultivadas con caña de azúcar en suelos salinos, que por su manejo, estos presentan una alta conductividad eléctrica y bajos niveles de materia orgánica limitando la disponibilidad de nitrógeno asimilable para las plantas.

Por tal razón este trabajo evalúo el uso de la fijación asimbiótica de nitrógeno por parte de bacterias provenientes de sistemas de tratamiento de aguas residuales domésticas en suelos salinos del Valle del Cauca, como estrategia sostenible en el suministro de nitrógeno a plantas y una alternativa para el manejo complementario de la fertilización nitrogenada, especialmente en suelos con alta concentración de sales o en condiciones donde es necesaria la combinación con fertilizantes inorgánicos.



3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

 Evaluar el uso de bacterias de fijación asimbiótica de nitrógeno provenientes de sistemas de tratamiento de aguas residuales domésticas, en suelos salinos del Valle del Cauca.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar seguimiento a variables agronómicas de la planta indicadora cultivada en suelo salino inoculado con bacterias diazotróficas provenientes de sistemas de tratamiento de aguas residuales domésticas, relacionadas con el suministro de nitrógeno.
- Cuantificar la fijación de nitrógeno realizada por bacterias diazótrofas provenientes de sistemas de tratamiento de aguas residuales domésticas mediante balance de entradas y salidas de N, usando cilantro como planta indicadora.
- Determinar la cantidad de inóculo de bacterias diazótrofas más recomendable para la adaptación en suelos de condiciones salinas.



4 REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 GENERALIDADES DEL NITRÓGENO

El nitrógeno es un elemento gaseoso, incoloro, inoloro e insípido, fundamental en la composición del aire atmosférico y que se encuentra formando parte de muchos compuestos orgánicos. Este es un elemento de importancia crítica para todas las formas de vida (Glynn y Gary, 1999).

Para comprender más a fondo la importancia de este elemento en la vida es muy relevante conocer el ciclo el nitrógeno, que al igual que los demás ciclos biogeoquímicos, tiene una trayectoria definida, pero quizá aún más complicada que los demás, dado que tiene que seguir una serie de procesos físicos, químicos y biológicos. Así, el nitrógeno está considerado como el elemento más abundante en la atmósfera. Sin embargo, dada su estabilidad, es muy difícil que reaccione con otros elementos y, por tanto, se tiene un bajo aprovechamiento, razón por la cual, su abundancia pasa a segundo término.

A pesar de esto, gracias al proceso biológico de algunas bacterias y cianobacterias, el nitrógeno que se encuentra en la atmósfera puede ser asimilable, al "romper" la unión de sus enlaces por medios enzimáticos y así poder producir compuestos nitrogenados, que pueden ser aprovechados por la mayoría de los seres vivos, en especial las plantas, que forman relaciones simbióticas con este tipo de bacterias (Ciceana, s.f.). Ese nitrógeno fijado se transforma en aminoácidos y proteínas vegetales, que son aprovechadas a su vez por los herbívoros, quienes los van almacenando para finalmente pasarlos al último eslabón de la cadena alimenticia, es decir a los carnívoros. Cabe mencionar, que el nitrógeno regresa de nuevo al ciclo por medio de los desechos (tanto restos orgánicos, como productos finales del metabolismo), ya que gracias a que las bacterias fijadoras los transforman de N_2 a NH_4 pueden finalmente ser asimilados por las plantas, situación que de otra manera sería imposible. Sin embargo, hay pérdidas de nitrógeno por medio de otras bacterias que lo liberan a la atmósfera.

4.2 EL CICLO DEL NITRÓGENO

El ciclo biogeoquímico del nitrógeno (N) (Figura 1) comprende sus diferentes transformaciones que pemiten la circulación del N atmosférico a través de los ambientes terrestres y acuáticos e incluye los procesos de fijación de N₂, nitrificación, desnitrificación, asimilación y amonificación. Este movimiento del nitrógeno a través de la biosfera determina en gran medida la productividad ecológica de los ambientes terrestres.





Figura 1. Ciclo del Nitrógeno. Fuente: Universidad de Sevilla. (s.f)

Fijación: La fijación biológica del nitrógeno consiste en la incorporación del nitrógeno atmosférico a las plantas, gracias a algunos microorganismos, principalmente bacterias y cianobacterias que se encuentran presentes en el suelo y en ambientes acuáticos. Esta fijación se da por medio de la conversión de nitrógeno gaseoso (N₂) en amoniaco (NH₃). Estos organismos usan la enzima nitrogenasa para su descomposición y los genes que determinan la fijación de nitrógeno, son los genes nif que codifican la nitrogenasa y están sometidos a una rigurosa regulación génica. Sin embargo, la nitrogenasa es muy sensible al oxígeno y sólo funciona en ausencia de esta molécula, puesto que necesita una presión parcial muy baja de este elemento para poder desarrollar su actividad, por lo tanto las bacterias deben de alguna forma aislar la enzima de su contacto. La fijación del nitrógeno necesita, además de la nitrogenasa, ATP, una ferrodoxina reducida y quizás otros citocromos o coenzima (Ciceana, s.f.; Atlas y Bartha, 2002). La fijación biológica del nitrógeno molecular la llevan a cabo diversos géneros de bacterias de vida libre, algunas de las cuales están asociadas a la rizósfera, y géneros de bacterias que forman asociaciones mutualistas con plantas.

En los hábitats terrestres, la fijación simbiótica de N que lleva a cabo el *Rhizobium* representa la mayor contribución de nitrógeno combinado. La tasa de fijación de N de los rizobios simbióticos suele ser 2 o 3 órdenes de magnitud superior a la tasa de fijación de las bacterias fijadoras de N de vida libre en el suelo. A pesar de que la tasa de fijación de N de las bacterias libres del suelo es relativamente baja, estas bacterias son muy abundantes. Gracias a la disponibilidad de compuestos orgánicos procedentes de los exudados de



las raíces, la tasa de fijación de nitrógeno de bacterias como *Azotobacter sp* y *Azospirillum* es mayor en la rizósfera que en suelo libre de raíces. Ello permite aumentar la eficacia de la transferencia de nitrógeno hacia los organismos fotosintéticos (Atlas y Bartha, 2002).

Sin embargo, la cantidad de nitrógeno disponible por esta vía resulta insuficiente para mantener la vida vegetal, ya que se calcula que no se incorpora más de un 10-20% de la cantidad fijada de forma biológica (Castillo, 2005).

Nitrificación y mineralización: El nitrato es la forma principal del nitrógeno que usan las plantas. Pero no puede mantenerse en el suelo porque es muy soluble y es poco adsorbido por los coloides del suelo como ocurre con el amoniaco (Nieto, 1998). Solamente existen dos formas químicas de nitrógeno que son altamente asimilables por las plantas, el nitrato (NO₃) y el amonio (NH₄⁺). Las raíces pueden absorber ambas formas, aunque pocas especies prefieren absorber nitratos que amoniaco. El amonio es convertido a nitrato gracias a los microorganismos por medio de la nitrificación. La modificación de NH₄⁺ a NO₃ depende de la temperatura del suelo. La transformación, es decir, la conversión se da más rápida cuando la temperatura está arriba de los 10°C y el pH está entre los 5.5-6.5; así mismo, este proceso se ve completado entre dos a cuatro semanas. A menudo se supone que la mayor parte de N orgánico se mineraliza a NH₄⁺ antes de la absorción en el suelo (Ciceana, s.f.; Geisseler et al., 2010).

Esta fase es realizada en dos pasos por diferentes bacterias: primero, las bacterias del suelo principalmente del género Nitrosomonas y Nitrococcus convierten el amonio en nitrito (NO₂), luego otras bacterias del suelo, como Nitrobacter, oxida el nitrito en nitrato. Aunque los dos pasos de la nitrificación sean realizados por poblaciones de bacterias distintas, los dos procesos están muy relacionados y no se produce una acumulación de nitrito. La oxidación del amoniaco a nitrito y la oxidación de este a nitrato son procesos exotérmicos. El proceso de la nitrificación es especialmente importante en el suelo, ya que la transformación de iones de amonio a nitrito y nitrato provoca un cambio en la carga de la molécula, que de positiva pasa a ser negativa. Los iones cargados positivamente suelen unirse con partículas de arcilla del suelo, cargadas negativamente, pero los iones cargados negativamente se difunden en el agua del suelo. El proceso de nitrificación, por tanto debe verse como un proceso de movilización del nitrógeno entre diferentes hábitat del suelo (Ciceana, s.f.; Atlas y Bartha, 2002). Debido a que normalmente los suelos presentan condiciones favorables para la nitrificación, la mayoría del NH₄⁺ producido en el suelo pasa a NO₃ (Perdomo y Barbazán, s.f.).

Inmovilización: Algunos hongos y bacterias compiten con la planta por nutrientes, produciendo la inmovilización temporal de éstos (Jaramillo, 2002). La inmovilización es el proceso contrario a la mineralización, por medio del cual las formas inorgánicas (NH₄⁺ y NO₃⁻) son convertidas a nitrógeno orgánico y, por tanto, no asimilables, este proceso se produce



predominantemente a través del *pool* amoniacal (Paz, 2006). Estudios recientes han demostrado que la captación directa de las moléculas orgánicas puede contribuir significativamente a la nutrición de nitrógeno de los microorganismos del suelo cuando absorben N mineral y lo transforman en el N constituyente de sus células y tejidos. El sistema de regulación de los microorganismos del suelo controla el ciclo de nitrógeno en el suelo y es fundamental para la determinación del resultado de la competencia por nitrógeno entre los microorganismos y las plantas del suelo (Ciceana, s.f.; Geisseler et al., 2000).

Asimilación: Es la incorporación de compuestos nitrogenados inorgánicos en moléculas orgánicas. En las plantas la asimilación ocurre con la transferencia de amonio (NH_4^+) desde bacterias simbióticas presentes en los nódulos radiculares de las leguminosas o con la absorción de (NH_4^+) o de nitrato (NO_3^-) desde el suelo, es decir los elementos formados por la fijación de nitrógeno o por la nitrificación. Luego, estas moléculas son incorporadas tanto a las proteínas, como a los ácidos nucleicos de las plantas, en las especies vegetales la asimilación de nitrógeno inorgánico en biomoléculas ocurre mediante la incorporación de amonio en aminoácidos. La sintetasa de glutamina, la enzima más importante en la asimilación de nitrógeno, cataliza la reacción dependiente de ATP del glutamato con el ion NH_4^+ para formar glutamina (McKee y McKee, 2009). El amoniaco formado es incorporado a los aminoácidos por las plantas, lo que les permite fabricar proteínas y los demás compuestos nitrogenados (Castillo, 2005).

En los organismos vegetales el nitrógeno es necesario para la síntesis de la clorofila y por lo tanto está involucrado en el proceso de la fotosíntesis. La carencia de N y en consecuencia la falta de clorofila no permite que la planta utilice la luz solar como fuente de energía en el proceso de la fotosíntesis y la planta pierde la habilidad de ejecutar funciones esenciales como la absorción de nutrientes (INPOFOS, 1997). Las moléculas de N, propias de los organismos vivos, son las responsables de la conservación de la información genética, de su transmisión en hojas, tallos, raíces y en otros órganos (Abela, 2009).

En la agricultura, el nitrógeno es el principal nutriente para el crecimiento de las plantas. Cuando la planta tiene suficiente N, sus hojas y tallos crecen rápidamente, en cambio la deficiencia del mismo origina la clorosis en las hojas (amarillamiento) a partir de la base, y la falta de desarrollo y debilidad de todas las partes de la planta. En los suelos pobres o carentes de nitrógeno los rendimientos de los cultivos son bajos (Abela, 2009).

El nitrógeno molecular (N_2) constituye el 80 % de la atmósfera y es, junto con el agua, uno de los principales factores que limitan el crecimiento de las plantas (González, 2003).

Las fuentes de nitrógeno utilizadas por las plantas son formas de nitrógeno combinado (NO_3 y NH_4^+) presentes en cantidades variables en el suelo. Las raíces de las plantas absorben NO_3 y NH_4^+ . El NH_4^+ asimilado en la raíz es traslocado a diferentes órganos de la planta por el floema. El NO_3 puede ser



reducido en la raíz o transportado a la hoja por el xilema para ser asimilado. Los aminoácidos producidos en la hoja pueden ir por el floema al tallo, a la semilla o a la raíz (Figura 2).

NH. PROTEINAS HOJA NO₂ SEMILLA NO₃ PROTEINAS TALLO XILEMA FLOEMA **PROTEINAS** GS/GOGAT N2 RAIZ bacteroide. nódulo NO3 NH4+

Figura 2. Movimiento del nitrógeno en las plantas. Fuente: Díaz et al., 2012

Amonificación: Los compuestos proteicos y otros similares, que son los constitutivos en mayor medida de la materia nitrogenada aportada al suelo, son de poco valor para las plantas cuando se añaden de manera directa. Así, cuando los organismos producen desechos que contienen nitrógeno como la orina (urea), los desechos de las aves (ácido úrico), así como de los organismos muertos, éstos son descompuestos por bacterias presentes en el suelo y en el agua, liberando el nitrógeno al medio, bajo la forma de amonio (NH₄⁺), en donde las bacterias nitrificantes lo convierten de nuevo en nitrito y nitrato (Castillo, 2005). En este nuevo proceso de integración de nitrógeno al ciclo, las bacterias fijadoras llevan a cabo la digestión enzimática, por lo que el amonio se degrada a compuestos aminados, como proteosas, peptonas y al final, aminoácidos. Es por tal razón que el proceso de N orgánico a NH₄⁺ involucra dos reacciones, aminización y amonificación, llevadas a cabo por una gran variedad de microorganismos no especializados, incluyendo bacterias aeróbicas y anaeróbicas, hongos y actinomicetes. Es, además un proceso lento comparado con el resto de las transformaciones que sufre el N hasta llegar a NO₃, la etapa de aminización, la cual comprende la ruptura de las proteínas realizada por bacterias y hongos heterótrofos. Las bacterias predominan en condiciones de pH neutro o alcalino, mientras que en



condiciones de pH ácidos los primeros en atacar las proteínas son los hongos. En este proceso las proteínas son transformadas en aminas, aminoácidos, y urea (Ciceana, s.f.; Perdomo y Barbazán, s.f.).

Desnitrificación: La reducción de los nitratos (NO₃⁻) a nitrógeno gaseoso (N₂), y amonio (NH₄⁺) a amoniaco (NH₃), se llama desnitrificación, y es llevado a cabo por las bacterias desnitrificadoras que revierten la acción de las fijadoras de nitrógeno, regresando el nitrógeno a la atmósfera en forma gaseosa completando el ciclo (Monge, 2002). Este proceso se debe, a que en condiciones de mucha humedad en el suelo, la falta de oxígeno obliga a ciertos microorganismos a emplear el oxígeno contenido en los nitratos en lugar del oxígeno molecular en su respiración. El fenómeno de la desnitrificación ocasiona una pérdida de nitrógeno para el ecosistema; ocurre donde existe un exceso de materia orgánica y las condiciones son anaerobias. Los factores que afectan la pérdida por desnitrificación son la energía invertida en la descomposición de la materia orgánica, la temperatura que aumenta a medida que se va llevando a cabo el proceso, la anaerobiosis producida normalmente como consecuencia de anegamiento de los suelos, y por último la reacción del suelo (Ciceana, s.f.; Perdomo y Barbazán, s.f.).

4.3 FUNCIÓN DEL NITRÓGENO EN LAS PLANTAS

Entendiendo que la fertilidad del suelo es la capacidad para mantener el crecimiento de los cultivos vegetales condicionado por diversos factores físicos, químicos y biológicos, se puede afirmar que el N es uno de los macronutrientes indispensables para el desarrollo y crecimiento de las plantas. Este elemento es muy abundante en el suelo y depende del contenido de materia orgánica. Existe entre 0.02 - 0.4 % de N en suelo del cual el 98% está en forma orgánica y asociado a los minerales de arcilla (Domínguez, 1997). La materia orgánica es el alimento necesario para los organismos del suelo, mejora la estructura, reduce la erosión del mismo y le permite almacenar más humedad por su efecto regulador en la temperatura que logra mejorar significativamente la fertilidad dado que la combinación de abono orgánico / materia orgánica y fertilizantes minerales (Sistema Integrado de Nutrición de las Plantas, conocida como SINP) ofrece las condiciones ambientales ideales para el cultivo, en esta relación la materia orgánica mejora las propiedades del suelo creando la base para el uso exitoso de los fertilizantes minerales y el suministro de los fertilizantes minerales provee los nutrientes que las plantas necesitan (FAO, 2002).

No obstante, los abonos orgánicos por sí solos no son suficientes para suministrar los requerimientos de N que necesitan los cultivos y no logran el nivel de producción que el agricultor desea, entonces los fertilizantes minerales tienen que ser aplicados adicionalmente. Aún en países en los cuales una alta proporción de desperdicios orgánicos se utiliza como abono y suministro de material orgánico, el consumo de fertilizantes minerales se ha elevado constantemente (FAO, 2002), lo que ha llevado



a elevar los costos de producción poniendo en peligro la seguridad alimentaria y empobreciendo a cientos de productores campesinos.

La fijación de nitrógeno industrial es la base para la producción de grandes cantidades y variedades de fertilizantes nitrogenados simples y complejos como nitratos y fosfatos entre otros; teniendo en cuenta que más del 60% de los fertilizantes utilizados cada año en el mundo corresponden a productos de nitrógeno, se hace más factible la acidificación del suelo y la contaminación del agua por causa del lavado de nitratos (Juárez et al., 2006).

Por otra parte la aplicación excesiva de fertilizantes acompañada de una baja disponibilidad de agua y/o inadecuado manejo de ella en el riego generan problemas de salinidad de los suelos. Sin embargo, varios estudios señalan que incrementos en la tasa de aplicación de N mejoran el funcionamiento de plantas estresadas por sales (Villa et al., 2006).

Dado este marco, es necesario desarrollar estrategias amigables con el ambiente, como el uso de la fijación biológica de Nitrógeno (FBN). Aunque empíricamente ya era aprovechada por los romanos cuando observaron el efecto beneficioso de rotar cereales con leguminosas, por lo que representa en cuanto al aporte de nitrógeno a las plantas, la FBN ha sido objeto de intensa investigación desde que fue descubierta en 1888. La fijación biológica aporta globalmente la mitad del nitrógeno utilizado por los cultivos. La otra mitad procede casi en su totalidad del amonio sintetizado vía Haber Bosch, con un gasto energético que requiere del 1% de la energía consumida a nivel mundial (Salvagiotti, s.f).

La fijación biológica de nitrógeno es un proceso metabólico exclusivo de algunos microorganismos que produce amonio (NH_3) a partir de gas nitrogenado (N_2) presente en el aire. Los microorganismos capaces de fijar nitrógeno están equipados con un complejo enzimático llamado nitrogenasa, formado por la Fe-proteína y la Fe-Mo-proteína. Este complejo procesa el nitrógeno gaseoso en sucesivos ciclos que lo reducen hasta amoniaco. La nitrogenasa de todos los organismos fijadores aparentemente es la misma, o muy similar ya que se ha logrado la fijación en sistemas de células libres (en laboratorio) donde la Fe-proteína y la Fe-Mo-proteína provienen de bacterias diferentes (Salvagiotti, s.f).

La fijación biológica es altamente demandante de energía. En los sistemas de fijación simbiótica, como los de *Rhizobium* - leguminosa esta energía proviene del sol, vía fotosíntesis realizada por la planta; mientras que los fijadores de vida libre como *Azospirillum, Azotobacter* y otros deben extraer la energía de la materia orgánica del medio, la cual en algunos ecosistemas es baja, lo que determina la gran diferencia en la fijación comparada con la de los simbiontes. Se estima que los sistemas simbióticos fijan entre 75 y 300 kg de N/ha/año, mientras que los no simbióticos no superan los 15 kg de N/ha/año. A pesar de estas diferencias, la fijación libre sola, representa a nivel global algo menos de la mitad de los 200-250 millones de toneladas de N₂ fijado por año, ya que la simbiótica (aunque sea más eficiente) está limitada a unas pocas especies vegetales, entre ellas las leguminosas (Abela, 2009).



Para la posible asociación de bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre junto al uso de fertilizantes nitrogenados en el mismo ciclo de un sistema productivo, es importante tener en cuenta que las altas cantidades de nitrógeno mineral en los suelos son limitantes para el desarrollo de las bacterias, en la formación de nódulos e inhiben el funcionamiento de la nitrogenasa (Jaramillo, 2002).

Esta condición podría darse porque los organismos con el tiempo evolutivo se pudieron haber adaptado a ser muy eficientes en crecimiento con bajos niveles de nutrientes en el suelo. El logro de un alto rendimiento en condiciones bajas de sustrato, ha podido inhibir las funciones de las células de los organismos para no ser eficaces cuando existen concentraciones altas de nitrógeno en el suelo (Geisseler et al., 2010).

Se postula entonces la importancia relativa de las vías de absorción del nitrógeno por parte de los microorganismos del suelo y se estipula que la descomposición de los residuos es determinada por tres factores: la forma de N disponible, la fuente de C, y la disponibilidad de N con respecto a C. En el suelo, donde N y C son a menudo de baja disponibilidad, es crucial para los organismos, regular fuertemente la síntesis y la actividad de los diferentes sistemas de enzimas. Los microorganismos del suelo, que regulan la producción de enzimas en función de sus necesidades y la disponibilidad de sustratos, tendrán una ventaja competitiva (Geisseler et al., 2010).

Las dos vías de absorción establecidas son: la ruta directa y la ruta mineralizacióninmovilización (RMI), donde la cantidad relativa de N adquirida es dinámica, cambia con el tiempo en respuesta a los cambios en la disponibilidad de las diferentes fuentes de C y N afectadas por factores del medio ambiente como la temperatura y la humedad.

La RMI se presenta cuando el NH₄⁺ está disponible a altas concentraciones y la utilización alternativa de fuentes de nitrógeno, tales como el nitrato (NO₃⁻) y moléculas orgánicas, generalmente se reprime; en esta vía la absorción de nitrógeno por parte de los microorganismos del suelo mediante hidrólisis intracelular es más alta. En contraste, la ruta directa se da cuando los microorganismos del suelo absorben compuestos orgánicos de bajo peso molecular; es decir cuando la disponibilidad de NH₄⁺ es bajo, los sistemas de enzimas para la adquisición de fuentes alternativas de N son apropiados y la presencia de un sustrato puede inducir su síntesis (Nannipieri, 2009; Geisseler et al., 2010).

4.4 ORGANISMOS FIJADORES DE NITRÓGENO

Diversas circunstancias restringen la cantidad de nitrógeno utilizable del que se puede disponer en la biosfera. Las más notables son el número limitado de especies que pueden convertir N₂ en NH₃, una molécula con mayor reactividad química, y los elevados requerimientos de energía en el proceso de fijación de nitrógeno; entre las especies más destacadas que fijan nitrógeno se encuentran ciertas bacterias de vida libre (p. ej., Azotobacter vinelandii y Clostridium pasteurianum), las cianobacterias (p. ej., Nostoc muscorum y Anabaena azollae) y bacterias simbióticas (p. ej., cuantiosas



especies de *Rhizobium*). Los organismos simbióticos forman relaciones mutualistas, es decir, relaciones benéficas reciprocas con animales y plantas hospedadoras.

La fijación de nitrógeno requiere un gran aporte de energía, porque la reducción de N_2 para formar NH_3 implica la rotura del triple enlace no polar del gas dinitrógeno atmosférico. En la fijación comercial de nitrógeno, el NH_3 es el producto de la reacción de Haber-Bosch, en la cual se calientan H_2 y N_2 a una temperatura de 400 a 650°C bajo una presión de 200 a 400 atmosferas en presencia de hierro como catalizador. A diferencia de lo que ocurre en este proceso, las especies fijadoras de nitrógeno convierten N_2 en NH_3 a la temperatura y a la presión atmosférica del ambiente; sin embargo los requerimientos de energía para el proceso biológico son elevados: se necesita un mínimo de 16 ATP para reducir un N_2 y formar dos moléculas de amoniaco (McKee y McKee, 2009).

4.4.1 Organismos asimbióticos fijadores de nitrógeno

Las bacterias libres fijadoras de nitrógeno se encuentran en altas concentraciones en la rizósfera, una región ubicada hasta dos milímetros de distancia de la raíz y representa un oasis nutricional en el suelo.

Entre las bacterias libres que pueden fijar nitrógeno figuran especies aerobias como *Azotobacter sp.* Estos organismos aerobios utilizan gran cantidad de oxígeno, lo que disminuye su difusión hacia el interior de la célula. De este modo evitan que la enzima anaerobia nitrogenasa, ubicada en el interior de la célula, entre en contacto con el oxígeno (Tortora et al., 2007).

Existen muchas especies de cianobacterias aerobias fotosintéticas fijadoras de nitrógeno (Tabla 1). Estos microorganismos constituyen una fuente importante de nitrógeno para el ambiente porque no obtienen energía a partir de carbohidratos del suelo o del agua. Las cianobacterias poseen estructuras especializadas llamadas heteroquistes que proporcionan condiciones anaerobias adecuadas para la fijación y en cuyo interior se encuentran las enzimas nitrogenasas. La mayoría de las bacterias libres fijadoras de nitrógeno son capaces de fijar gran cantidad de nitrógeno en condiciones de laboratorio. En el suelo hay escasez de carbohidratos utilizables como fuente de energía para reducir el nitrógeno a amoniaco, que luego se incorpora a las proteínas. Sin embargo, las bacterias fijadoras de nitrógeno hacen una importante contribución a la economía del nitrógeno en áreas como los campos de pastoreo, los bosques y la tundra del ártico (Tortora et al., 2007).



Tabla 1. Grupos representativos de organismos fijadores de N_2 y algunas de sus características

| | Fijadores de vida libre | | | | | |
|------------------|--------------------------------|---|--|--|--|--|
| | - | Constituyen un reino diferenciado de | | | | |
| _ | Methanosarcina | las eubacterias | | | | |
| Arqueobacterias | | Presentan algunas características | | | | |
| | Methanococcus | peculiares, | | | | |
| | | como poseer intrones | | | | |
| Anaerobios | Clostridium | Suelos, aguas dulces y marinas, sedimentos, tracto intestinal | | | | |
| Anaerobios | Olostilalarii | Scamentos, tracto intestinai | | | | |
| facultativos | Klebsiella | Flora intestinal, suelos, aguas | | | | |
| | | Suelos, generalmente asociado a | | | | |
| Microaerobios | Azospirillum raíces de plantas | | | | | |
| | Azotobacter | _ Suelos, aguas y superficies vegetale | | | | |
| Aerobios | | Generalmente más | | | | |
| 7.0100103 | | eficaces a bajas concentraciones de | | | | |
| | Beijirinckia | O2 | | | | |
| Bacterias | Rhodospirillum | Acuáticas. Fijan N2 en anaerobiosis | | | | |
| fotosintéticas | | utilizando | | | | |
| Totoomitotioao | Chromatium | la energía de la fotosíntesis | | | | |
| <u>.</u> | Oscillatoria | Fijan N2 en microaerobiosis o en | | | | |
| Cianobacterias | | aerobiosis con | | | | |
| sin heterocistos | | separación temporal de la fijación y de | | | | |
| | Gloeothece | la fotosíntesis | | | | |
| Cianobacterias | Nostoc | Capaces de fijar N2, en condiciones | | | | |
| con heterocistos | Anabaena | aeróbicas y anaeróbicas | | | | |

Fuente: Aparicio et al., (2008).

Una de las bacterias asimbióticas más comúnmente encontradas en los suelos es la bacteria *Azotobacter Chroococcum*, se caracteriza por ser una bacteria Gram negativa con una pared celular compleja que consiste de una membrana externa y una capa interna de peptidoglicano que contiene ácido murámico y mureína. Se reproduce por fusión binaria, vive en suelos y en aguas frescas, es una célula ovoide y grande de 1.5 a 2.0 µm de diámetro. Se mueve por flagelos perítricos, es aerobia, pero puede crecer en concentraciones de oxígeno bajas. Es quimioorganotrófica, utiliza azúcares, alcoholes y sales inorgánicas para crecer. Es fijadora de nitrógeno; en vida libre fijan al menos 10 mg de N₂ por gramo de carbohidrato (glucosa) consumido. Requiere molibdeno para fijar nitrógeno que puede ser parcialmente reemplazado por vanadio. Utiliza nitrato y sales de amonio y ciertos aminoácidos como fuentes de nitrógeno. Es catalasa positivo, el rango de pH en el que crece en presencia de nitrógeno combinado es 4.8-8.5, el pH óptimo para crecer cuando fija nitrógeno es 7.0-7.5 a una temperatura de 30 °C.

Por ser un microorganismo también sintetiza sustancias estimuladoras del crecimiento vegetal, tales como, vitaminas y hormonas vegetales que intervienen directamente con el desarrollo de la planta. Sintetiza tiamina de 50-100 mg/g de



sustancia celular seca; ácido nicotínico de 200-600 mg/g de sustancia celular seca y ácido pantoténico y botina; ácido indolacético; ácido giberélico y citoquinas.

Los factores que influyen en el crecimiento de Azotobacter son:

Temperatura: Las Azotobacter pueden soportar temperaturas entre 25 y 30 °C.

Humedad: Las células de Azotobacter requieren mucha humedad y son muy exigentes al respecto. Tienen una presión osmótica intracelular más baja que los hongos y actinomicetos y por lo tanto, sus requerimientos de humedad se asemejan a los de las plantas superiores.

Aireación: Al ser aeróbica, Azotobacter necesita un suministro continuo de oxígeno, pero es único en sus necesidades. Al mismo tiempo, también puede multiplicarse en condiciones micro-aeróbicas.

pH: Con su fuerte influencia en la actividad metabólica, el pH del medio tiene un efecto muy exigente en Azotobacter. El pH óptimo para su crecimiento está cerca o ligeramente por encima de la neutralidad.

Sales: El principal factor ecológico que afecta la viabilidad o metabolismo de los microorganismos en los suelos salinos son las altas concentraciones de sal.

La eficiencia de la fijación de nitrógeno por *Azotobacter sp* se ve afectada drásticamente por la presencia de nitrógeno combinado (Tilak y Dey, 2010).

4.5 BACTERIAS NITRIFICANTES PROVENIENTES DE SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS

Los humedales construidos permiten utilizar el agua de una manera más eficiente, como sistemas de fitodepuración de aguas residuales. El sistema consiste en el desarrollo de un cultivo de macrófitas enraizadas sobre un lecho de grava impermeabilizado, que hacen posible una serie de complejas interacciones físicas, químicas y biológicas a través de las cuales el agua residual afluente es depurada progresiva y lentamente mediante la actividad bioquímica de microorganismos, el aporte de oxígeno a través de los vegetales durante el día y el apoyo físico de un lecho inerte que sirve como soporte para el enraizamiento de los vegetales, además de servir como material filtrante. Estos sistemas purifican el agua mediante remoción del material orgánico (DBO), oxidando el amonio, reduciendo los nitratos y removiendo fósforo, elementos esenciales para el crecimiento de plantas y microorganismos; además son de bajo costo y sostenibles para la comunidad beneficiaria (Delgadillo et al., 2010, Pérez et al., 2011).

Las investigaciones existentes en la región describen los mecanismos de tratamientos de aguas residuales en función de porcentajes de eliminación. Existen varios mecanismos posibles para la eliminación de nitrógeno en los humedales construidos: la asimilación por parte de las plantas, la nitrificación y desnitrificación microbiana, la absorción en el sustrato y la volatilización. Se ha estimado que sólo el 10% de la carga aplicada de nitrógeno es asimilada por las plantas. Por lo tanto, en los procesos de transformación del nitrógeno están involucrados principalmente los



microorganismos, con procesos metabólicos como la nitrificación y la desnitrificación (Pérez et al., 2011), la eliminación de nitrógeno de las aguas residuales es necesaria con el fin de reducir la eutroficación de las aguas receptoras por medio de procesos biológicos que en su mayoría incluyen nitrificación aeróbica por bacterias oxidantes (Almstrand et al., 2011.)

La gran diversidad de bacterias nitrificantes presentes en las plantas de tratamiento de aguas residuales han demostrado tener una nitrificación estable y similar a pesar de la diferencias significativas en la temperatura del agua, en el tiempo de retención de sólidos y en el tipo de efluente; también han evidenciado que son capaces de coexistir en el mismo sistema aunque tengan crecimiento y caracteres diferentes de supervivencia; lo que puede ser una valiosa alternativa para el mantenimiento de la estabilidad y rendimiento de los biorreactores nitrificantes (Siripong y Rittmann, 2007). Sin embargo se debe tener control sobre las condiciones ambientales que determinan la dinámica de las comunidades de bacterias nitrificantes, ya que su función es fundamental para lograr con éxito la fijación biológica de nitrógeno en las plantas de tratamiento de aguas residuales (Kim et al., 2013). Las fijadoras de nitrógeno son habitantes comunes en los STARD (Sistema de Tratamiento de Aguas Residuales) principalmente encontradas en sistemas de tratamiento para papel caracterizados por tener bajas concentraciones de nitrógeno disponible; por lo tanto la identificación de altas poblaciones de bacterias fijadoras de nitrógeno en los humedales constituye un ejemplo de una actividad metabólica que no había sido considerada en estos sistemas de tratamiento. Además conforma una fuente de exploración para aplicación en otras áreas de investigación, como por ejemplo la agricultura (Pérez et al., 2011) donde una potencial fuente de inóculos fijadores pueden contribuir en la recuperación de suelos u otros usos. Este hallazgo es de gran importancia a la hora de plantear el balance de nitrógeno en estos sistemas, en los cuales normalmente no se considera la fijación de nitrógeno. Existen diferentes estrategias ecológicas que permiten a estos microorganismos mantenerse activos en las condiciones fisicoquímicas de las aguas residuales, especialmente la concentración de amonio que oscila entre 28 y 44 mg.L⁻¹, una de ellas es la coexistencia en gránulos, películas, clúster u otras asociaciones con otros grupos tróficos, como por ejemplo los anammox, quienes son capaces de asimilar el amonio y el nitrito y transformarlo a nitrógeno molecular y nitrato, esto supondría una fuente de nitrógeno molecular in situ para las fijadoras. Otra posibilidad metabólica es la mixotrofía, es decir el consumo del amonio cuando este se encuentra abundante y fijarlo cuando escaseé, este metabolismo combinado ha sido identificado para bacterias del género Clostridium, quienes son encontradas frecuentemente en las fases anaerobias de los sistemas de tratamiento de aguas residuales (Rodríguez, 2014).

4.6 SUELOS SALINOS

Son suelos que presentan una conductividad eléctrica en el extracto de saturación de 4 dsm⁻¹ o más (Tabla 2); PSI < 15% y generalmente su pH es menor a 8.5. Con frecuencia estos suelos presentan costras salinas blancas en la superficie por lo que son llamados álcali blanco. Las propiedades de estos suelos dependen de su



contenido de sales el cual controla el potencial osmótico de la solución del suelo y, por lo tanto, buena parte de la disponibilidad de agua para las plantas; además, este contenido también controla la posibilidad de que se presente toxicidad en ellas; los contenidos de bases son relativamente altos pero su balance es muy variable; los aniones más comunes, en estos suelos, son los cloruros y los sulfatos, aunque, a veces, es importante el contenido de nitratos (Jaramillo, 2002).

Como estos suelos generalmente se desarrollan en condiciones de climas secos donde la evapotranspiración excede la precipitación, su contenido de materia orgánica es bajo y, por tanto, hay deficiencia de nitrógeno. Cuando las sales solubles se concentran en el perfil del suelo, y exceden ciertos límites, se producen condiciones que afectan el crecimiento normal de las plantas; sus efectos son diversos y la intensidad de ellos depende de la cantidad y tipo de sales predominantes, de factores del suelo, del clima, del régimen de lavado y del drenaje, de esta forma, el efecto invernadero está contribuyendo a acelerar los procesos de alcalinización/salinización (Jaramillo 2002 y García 2013).

Las sales pueden provenir de procesos de meteorización *in situ* o de zonas lejanas arrastradas por inundaciones o también se pueden acumular en el suelo a causa de las actividades humanas, alterando las condiciones naturales, por el uso de fertilizantes que son sales, esto vuelve muy necesario considerar el uso de prácticas económicas que hagan posible un manejo sostenible; para ello es necesario tener en cuenta aspectos tales como la respuesta o la capacidad de adaptación de los cultivos a la salinidad y el uso de enmiendas de bajo costo y fácil consecución tales como residuos o subproductos industriales o agrarios (García, 2013).

Tabla 2. Interpretación de conductividad eléctrica

| C.E ds m ⁻¹ a 25°C | Efectos |
|-------------------------------|---------------------------------------|
| < 1.0 | Efectos despreciables de la salinidad |
| 1.1 – 2.0 | Muy ligeramente salino |
| 2.1 – 4.0 | Moderadamente salino |
| 4.1 – 8.0 | Suelo salino |
| 8.1 – 16.0 | Fuertemente salino |
| > 16.0 | Muy fuertemente salino |

Fuente: SEMARNAT, 2002.

4.7 EL CILANTRO

El cilantro (*Coriandrum Sativum*) de la familia Apiaceae, es un cultivo herbáceo, que tiene una amplia adaptación en climas cálidos, frescos y fríos moderados, con altitudes que varían en la zona tropical desde los 600 a 2.500 msnm y temperatura promedio desde los 27°C hasta los 19°C. Las regiones de climas cálidos y frescos (1000-1700 msnm) y temperaturas de (20-26°C), favorecen un mejor desarrollo de follaje con incrementos en la producción de materia fresca y materia seca especialmente a nivel de las hojas basales y tallos florales. Es un cultivo susceptible a plagas como *Lyriomiza*, *Babosa y Caracoles*, y enfermedades como *Alternaria dauci, Pichia onychis y Fusarium sp.* La planta consigue un óptimo desarrollo de raíces en suelos de textura liviana o francos con abundante contenido de materia



orgánica. El crecimiento de raíces es superficial entre 10-15 cm, por ello no requiere suelos profundos; sin embargo, este horizonte debe poseer características físicas de textura y estructura que favorezcan la aireación, retención de humedad y drenaje apropiado para evitar los excesos de humedad.

Se desarrolla bien en suelos sueltos, neutros o ligeramente ácidos (pH 6-7). Presenta excelente desarrollo en sustratos orgánicos compostados y en materiales orgánicos puros o mezclados. La producción de follaje fresco se consigue en un ciclo productivo muy corto que no va más de 60 días en climas cálidos o frescos con variedades tardías, o 30 a 35 días con cultivares de alta precocidad. Para su fertilización es importante suministrar altas cantidades de potasio y fósforo, se recomienda aplicar 65 kg/ha de fosfato diamónico (DAP), 100 kg/ha de cloruro de potasio y 217 kg/ha de urea (Vallejo y Estrada, 2004).

El cilantro es un cultivo que requiere alta humedad inicial durante los primeros cinco o seis días hasta la germinación y emergencia de plántulas. Se recomienda en este período hacer riegos cortos pero repetidos (2-3 veces al día). Una vez ocurrida la emergencia de la plántulas, se debe regar dos veces por día hasta los 25 días y posteriormente un riego diario si no se presentan lluvias, es importante disminuir la intensidad de los riegos en la semana programada para la cosecha, actividad que debido al rápido crecimiento del cilantro se puede realizar cuando ha terminado la formación de las hojas basales y se inicia el crecimiento reproductivo, aproximadamente de 40-60 días después de la emergencia en climas cálidos y 4 meses para la producción de semilla madura (Vallejo y Estrada, 2004; Plan Hortícola Nacional, 2007).



5 EXPERIENCIAS RELACIONADAS CON EL EMPLEO DE BACTERIAS ASIMBIÓTICAS FIJADORAS DE N

Se han realizado diferentes investigaciones que permiten conocer el potencial de los microorganismos de fijación asimbiótica de nitrógeno en la capacidad de suministrar nitrógeno al suelo y las plantas.

Se estima que la fijación biológica asimbiótica de N aporta menos de 15 kg/N/año (Paul 2007, Peoples et al., 2002) en otros estudios entre el 3-10% de la fijación total de N en un cultivo podría atribuirse a la fijación de vida libre (Roper et al., 1995) lo que ha significado su baja importancia agronómica (Unkovich y Baldock, 2008).

Se ha encontrado que para altas concentraciones de amonio, la población de fijación de nitrógeno se inhibe y pierde su ventaja competitiva (Kavadia et al., 2007), presentándose reducciones de fijación de nitrógeno con aplicaciones altas de fertilizante (Coelho et al., 2009), llegando a la conclusión que la cantidad de fertilizante y la variedad del cultivo son factores importantes que influyen en la estructura y cantidad de bacterias diazotróficas; en estas condiciones sólo las poblaciones fijadoras de nitrógeno que son capaces de establecer interacciones pueden sobrevivir en el sistema.

Cuando la fuente de carbono se encuentra en abundancia, la competencia por este nutriente es bajo y las tasas de fijación de N_2 son más pronunciadas cuando existe mayor relación C/N (Leppanen et al., 2013). Entonces las cantidades de nitrógeno se asimilan para las necesidades de crecimiento de las poblaciones de bacterias fijadoras de nitrógeno tanto simbióticas como asimbióticas en una amplia gama de parámetros y condiciones de funcionamiento donde en algunos casos tiene lugar la síntesis de la nitrogenasa (Kavadia et al., 2007).

La actividad de la nitrogenasa se da por la relación entre reducción de la tasa de nitrificación por acetileno y la tasa de fijación de N, (Bellenger et al 2014) utilizaron dos especies de bacterias asimbióticas fijadoras de nitrógeno (Azotobacter vinelandii y Rhodopseudomonas palustris) experimentando en suelos templados encontraron un aumento en las tasas de fijación en respuesta a las modificaciones de vanadio, indicando la actividad V-nitrogenasa; llegando a la conclusión de que esta nueva alternativa de estudio de la contribución de nitrogenasa en la fijación asimbiótica de nitrógeno en los suelos puede ser más frecuente de lo que previamente se conoce.

Otras investigaciones indican que el contenido de humedad de residuos orgánicos es un factor que puede determinar la eficacia de la fijación de nitrógeno cuando la temperatura es adecuada para la actividad en el área de estudio de bacterias de vida libre (Weia y Kimmins, 1998) y la variación del pH en la composición de la actividad microbiana aumenta las tasas de fijación asimbiótica en los suelos que contienen estos microorganismos (Knelman et al., 2012); se sugiere entonces que las interacciones microbio/suelo de plantas, en sí mismas, pueden promover cambios fundamentales en los procesos biogeoquímicos, tales como las tasas de fijación de N asimbiótica.



De acuerdo con esto (Ruppel y Merbach, 1995) en un estudio con cepas de bacterias asociativas, indican que al inhibir completamente la actividad de la nitrogenasa con acetileno, la nutrición de amonio da como resultado las más altas tasas de crecimiento, estos resultados demuestran la posibilidad de seleccionar cepas diazotróficas capaces de fijar nitrógeno atmosférico en presencia de fuentes de nitrógeno adicionales. Aunque en general la simbiosis de rizobios con leguminosas son las más importantes en la agricultura, las cianobacterias y las bacterias heterótrofos fijadoras de vida libre pueden fijar cantidades significativas de nitrógeno bajo condiciones específicas, donde algunos de los factores que determinan el tamaño de sus poblaciones son la acidez, salinidad y contaminación por metales pesados del suelo y procesos asociados con la intensificación de la agricultura (Kahindi et al., 1997).

Con respecto a la salinidad teniendo en cuenta que en varias investigaciones la inoculación con diazotróficas como *Azotobacter y Azospirillum* han mejorado considerablemente el rendimiento de algunos cultivos, se caracterizó la producción de una población de cultivo de bacterias diazotróficas en suelos salinos evaluando su comportamiento y aporte con respecto al crecimiento vegetal y la reducción de la fertilización química, afirmando finalmente que este tipo de mejoras con inoculantes microbianos elaborados de estas cepas bacterianas pueden ser utilizadas provechosamente para la agricultura en suelos salinos con beneficios en costos, sostenibilidad y manejo de la agricultura ecológica (Barua et al., 2012).

Las investigaciones establecidas en diferentes cultivos han arrojado resultados interesantes con respecto a la fijación asimbiótica de nitrógeno como tecnología de biofertilizantes; (Shivay et al., 2013) evaluó el desarrollo de cianobacterias como *Azotobacter, Mesorhizobium, Serratia y Pseudomonas*, generando una matriz agrícola útil en el cultivo del trigo, la investigación mostró que la biofertilización con cianobacterias en combinación con la reducción de la dosis de fertilizante químico es superior a la inoculación individual de una cepa en la cosecha de trigo, permitiendo el incremento de nutrientes en suelos y plantas y un entorno adecuado para el crecimiento y supervivencia de bacterias útiles desde el punto de vista agrícola. Para obtener estimaciones más confiables en cuanto a algunos cultivos como pastos de clima cálido afectado por prácticas de manejo (Keuter et al., 2014) recomienda llevar a cabo los ensayos de reducción de acetileno *in situ* donde el ensayo de reducción de acetileno debe ser calibrado con el ensayo de fijación de N₂.

Para cultivos de arroz en condiciones de invernadero las poblaciones de *Azotobacter* y *Azospirillum* aumentaron progresivamente su población después de repetidas aplicaciones, mejorando significativamente la actividad de la nitrogenasa durante todo el periodo de crecimiento del cultivo de arroz; las aplicaciones repetidas estimularon la nitrogenasa de ciertos grupos de bacterias fijadoras de nitrógeno y de forma favorable estimularon la rizósfera del arroz (Patnaik et al., 1996).

En Colombia se han llevado a cabo ciertas investigaciones encaminadas a la producción de fertilizantes biológicos; Garrido (2007) en su trabajo de investigación basado en bacterias fijadoras de nitrógeno asimbióticas y simbióticas, reporto 12 aislamientos obtenidos de siete diferentes medios libres de nitrógeno escogidos por



su capacidad para fijar nitrógeno *in vitro;* otros aislamientos fueron probados en pasto guinea (*Panicum maximun*) a nivel de invernadero y resultaron en un aumento del 20% en proteína cruda y 45% en materia seca (Cárdenas, 2007). En el departamento de Córdoba se ha investigado sobre el aprovechamiento de un recurso propio (biofertilizante) para mejorar la productividad agrícola en el Valle del Sinú, teniendo en cuenta las altas tasas de fertilización nitrogenada (a base de urea) utilizadas en los cultivos propios de la región como maíz, sorgo, algodón, plátano, pastos y arroz, se determinó entonces la producción del ion amonio a partir de los géneros bacterianos aislados de *Azotobacter* y *Azospirillum* donde las evaluaciones sobre su capacidad como fijadoras de nitrógeno resultaron ser los más eficientes (Lara et al., 2007).



6 MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 LOCALIZACIÓN DEL ENSAYO EXPERIMENTAL

El desarrollo de la investigación se llevó a cabo en las instalaciones de la Universidad del Valle sede Meléndez, en los invernaderos del Laboratorio de Aguas y Suelos Agrícolas (LASA), perteneciente a la Escuela de Ingeniería de Recursos Naturales y del Medio Ambiente (EIDENAR), ubicado a una altura de 979 m.s.n.m y georreferenciado con coordenadas 3° 22´ 22.29´´ N y 76° 31´ 49.22´´ W, temperatura promedio de 24°C, humedad relativa de 73% y régimen de lluvias bimodal (IDEAM, 2004).

6.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se realizó un diseño experimental completamente al azar que consistió en 7 tratamientos con 5 repeticiones cada uno, para un total de 35 unidades experimentales identificadas por un respectivo color y nomenclatura (Tabla 3).

Tabla 3. Descripción de los tratamientos utilizados en el experimento

| Tratamiento | Descripción | Dosis | |
|---|---|--|--|
| T0 (SN) | Testigo absoluto | - | |
| T1 (SS) | Testigo suelo salino | - | |
| T2 (SA) | Tratamiento con inóculo comercial | 0,092 ml | |
| T3 (SFQ) | Fertilización convencional suelo salino | 1,34 g urea, 1ml DAP*, 0,635 g KCl** | |
| T4 (SBAR 1) Tratamiento Bacterias-Biofertilizante | | 0,083 ml | |
| To (SBAR 2) Tratamiento Bacterias-Biofertilizante To (SBAR 3) Tratamiento Bacterias-Biofertilizante | | 0,092 ml | |
| | | 0,101 ml | |

^{*}Fosfato de amonio ** Cloruro de potasio

Se contó con dos testigos de control de comparación, un suelo no salino (SN) y un suelo salino (SS); como controles de desempeño del inóculo se utilizó un biofertilizante (Inóculo comercial) a base de *Azotobacter Chrococcum* (SA) y un tratamiento de fertilización convencional en suelos salinos (SFQ).

Se evaluaron en suelos salinos tres concentraciones del inóculo bacteriano denominado *biofertilizante* proveniente de una laguna facultativa de un STARD (Sistema de Tratamiento de Aguas Residuales Domésticas), dichas concentraciones consistieron en una dosis inicial de inóculo igual a la dosis para *Azotobacter Chrococcum* (SBAR 2), y dos dosis a un 10% más (SBAR 3) y un 10% menos (SBAR 1) de inóculo con respecto a la dosis recomendada.

Cada unidad experimental estuvo constituida por plántulas de cilantro sembradas en suelo tamizado por 2 mm y en bolsas de polietileno negras de 2 kilogramos de capacidad, en condiciones controladas con arreglo espacial de 0,25 cm * 0,10 cm entre surcos y plantas respectivamente (Figura 3), en un diseño completamente al azar (Tabla 4).





Figura 3. Ubicación espacial de los tratamientos y sus repeticiones en el invernadero

Tabla 4. Tratamientos del diseño experimental

| SFQ3 | SBAR3-2 | SFQ5 | SN4 | SBAR1-3 | SBAR1-2 | SBAR1-1 |
|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| SS5 | SBAR2-1 | SS1 | SS2 | SA2 | SN1 | SFQ3 |
| SBAR2-5 | SN2 | SA1 | SN5 | SS4 | SBAR3-5 | SBAR1-5 |
| SN3 | SA5 | SBAR3-4 | SBAR2-2 | SA3 | SS3 | SBAR1-4 |
| SFQ2 | SA4 | SBAR3-3 | SBAR3-1 | SBAR2-3 | SBAR2-4 | SFQ1 |

6.3 CARACTERÍSTICAS DE LOS SUELOS

Para el desarrollo del estudio se usaron dos tipos de suelos: suelo no salino y suelo clasificado como salino

Suelo no salino.

Para el desarrollo del ensayo experimental se usó como testigo absoluto un suelo no salino, tomado dentro de la Universidad del Valle, con ubicación geográfica determinada por las coordenadas 3° 22′ 42′′ N y 76° 31′ 53′′ W (Figura 4).



Figura 4. Localización suelo testigo no salino en estudio



El suelo en estudio se clasificó como:

Fluvaquentic Haplustolls, francosa gruesa, isohipertérmica.

Estos suelos se han desarrollado en depósitos superficiales clásticos de aluviones finos; son moderadamente drenados, moderadamente profundos limitados por el nivel freático y de fertilidad alta. La vegetación natural ha sido destruida. La descripción de su perfil se encuentra en el anexo 1.

Suelo salino

Este suelo provino de la finca "La Tertulia" ubicada en la zona de Palma Seca en el Departamento del Valle del Cauca entre los municipios de Rozo y Palmira, su ubicación geográfica se determina por las coordenadas 3° 31′ 15,8′′ N y 76° 26′ 27,3′′ W (Figura 5).







Figura 5. Localización suelo testigo salino en estudio

El predio se encuentra adscrito al ingenio Providencia; debido a las condiciones salinas del suelo, se empezó hace poco a sembrar una variedad de caña de azúcar identificada como Venezuela 7475, que logra soportar estas características adversas.

El suelo en estudio se clasificó como: <u>Fluvaquentic Haplustolls, francosa gruesa,</u> isohipertérmica.

Los suelos se han desarrollado en aluviones gruesos; son moderadamente drenados, moderadamente profundos limitados por el nivel freático, neutros y de fertilidad alta. La descripción de su perfil se encuentra en el anexo 1.

6.3.1 Preparación de suelos

Para el montaje de las unidades experimentales los suelos fueron limpiados de forma manual para extraer elementos como desechos vegetales y basuras, luego se molieron para disminuir el tamaño de los agregados y por último fueron tamizados a 2 mm para garantizar un mejor contacto y desarrollo de la semilla y tratamientos aplicados en el suelo.



6.3.2 Análisis de suelos

Se realizaron análisis de sus propiedades químicas, físicas y biológicas siguiendo metodologías del IGAC (2006) (Tabla 5).

Tabla 5. Caracterización de los suelos en estudio

| Propiedad | Unidad | Suelo Salino | Suelo Testigo | |
|--|------------------|-----------------|---------------|--|
| | | Franco | Arenoso | |
| Textura | | Arenoso | Franco | |
| - Arena | % | 58,16 | 72,96 | |
| - Arcilla | % | 11,44 | 11,64 | |
| - Limos | % | 30,4 | 15,4 | |
| Dr | gr/cm³ | 2,36 | 2,27 | |
| Da | gr/cm³ | 1,17 | 1,27 | |
| C.O | % | 1,81 | 2,51 | |
| M.O | % | 3,12 | 4,34 | |
| рН | Ácido – Alcalino | 8,3 | 5,8 | |
| C.E | dS/m | 0,854* - 4,91** | 0,0705 | |
| Amonio (NH ₄ ⁺) | mg.Kg⁻¹ | 37,53 | 28,60 | |
| Nitrógeno total | % | 0,28 | 0,65 | |

^{*}Realizado en extracto de saturación **Realizado en pasta de saturación

Suelo salino: El suelo presentó textura franco arenosa de acuerdo a los porcentajes de sus partículas minerales indica que se trata de un suelo de textura gruesa; posee un valor de densidad real apropiado para suelos minerales y tiene una densidad aparente de 1,17 g/cm³ que indica que no posee problemas de compactación (Jaramillo, 2002).

Los niveles de M.O teniendo en cuenta las condiciones climáticas de la zona en este suelo fueron medios y se puede clasificar como moderadamente alcalino de acuerdo con el valor de pH obtenido. La conductividad eléctrica realizada en pasta de saturación fue de 4,91 ds/m, indicando que se trata de un suelo salino (SEMARNAT, 2002).

Los valores iniciales de amonio y nitrógeno total fueron 37,53mg.Kg⁻¹ y 0,28% respectivamente.

Suelo no salino: El suelo presenta textura arenosa franca y de acuerdo a los porcentajes de sus partículas minerales se trata de un suelo de textura gruesa (Jaramillo, 2002); con respecto a los valores de sus densidades real y aparente este suelo presenta buenas condiciones para su manejo, tiene un alto contenido de materia orgánica y se puede clasificar como un suelo moderadamente ácido (pH= 5.8) y sin problemas de salinidad de acuerdo con la conductividad eléctrica medida. Los valores iniciales de amonio y nitrógeno total son 28,60mg.Kg⁻¹ y 0,65% respectivamente.



6.4 DESCRIPCIÓN DEL INÓCULO COMERCIAL

Para la inoculación biológica comercial del suelo en estudio se utilizó la cepa Gram-negativa de la especie *Azotobacter Chroococcum*, conocido como *Azobac*, biofertilizante comercial para la fijación de nitrógeno de FUNDASES (Fundación de Asesorías para el Sector Rural)

Los inoculantes comerciales a base de esta bacteria se presenta en formulación líquida conteniendo un mínimo de 1 x 10⁸ UFC.mL⁻¹ (unidades formadoras de colonias por mililitro de producto) (Biocultivos, 2009).

Su aplicación se realizó en la dosis determinada de 0,0922 ml para dicho tratamiento, disuelta en la lámina de riego establecida para el cultivo y aplicada directamente en el suelo. De acuerdo a los proveedores del biofertilizante comercial, la dosis óptima de biofertilizante es de 15 lt.Ha⁻¹ (1.5 x 10⁻⁴ ml/cm²) para un cultivo de cilantro común.

6.5 DESCRIPCIÓN DE LAS BACTERIAS

Para la inoculación con las bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre provenientes de STARD, se partió de estudios preliminares realizados por Rodríguez (2014), los cuales consistieron en la realización de un cultivo a escala de laboratorio en reactores en Batch y mezcla completa en las instalaciones del laboratorio de microbiología y biotecnología ambiental de la Universidad del Valle. Se utilizaron cuatro inóculos extraídos de sistemas de tratamiento de aguas residuales domésticas. Tres de las muestras (Humedal, Lagunas y Biodiscos), fueron tomadas en sistemas de tratamiento de aguas residuales de la estación de Investigación y Transferencia de tecnología en Aguas Residuales y Reúso de Ginebra — Valle del Cauca. La cuarta muestra (Lodos Activados), se tomó de la planta de tratamiento del Caney propiedad de la constructora Meléndez, ubicada en el sur de la ciudad de Cali. Una vez obtenidos los cultivos, los medios se completaron con extractos de suelo, paulatinamente se realizó un aumento en la cantidad de sales y amonio, con el fin de aclimatar a los organismos a las condiciones de un suelo degradado por salinidad.

De los inóculos enriquecidos en Batch a escala de laboratorio, se seleccionó el de mayor crecimiento de biomasa para ser empleado como inóculo para el suelo y aplicado mediante la lámina de riego establecida. El inóculo seleccionado para la fertilización del suelo fue el inóculo LF (Laguna Facultativa).

El inóculo seleccionado LF obtuvo un enriquecimiento del 96%, con una concentración de diazótrofas de 1.15 x 10⁸ UFC.mL⁻¹.

Teniendo en cuenta que las concentraciones de diazótrofas tanto para el biofertilizante SBAR como para el biofertilizante comercial son distintas, se realizó el ajuste de dosis para obtener la misma concentración de los dos biofertilizantes en el experimento.

Conociendo el área de las materas se obtuvo el volumen de biofertilizante para cada una de ellas.



Volumen por matera = $1.5 \times 10^{-4} \text{ ml/cm}^2 \times 706 \text{ cm}^2 = 0,11 \text{ ml}$

Con la dosis de biofertilizante y el volumen a aplicar se tiene el volumen de biofertilizante para el inóculo SBAR, de la siguiente manera:

Volumen por matera * Concentración Biofertilizante = X * Concentración Inóculo LF

$$X = 0.0922 \text{ ml}$$

Concentración inóculo LF = $1,15 \times 10^8 \text{ UFC.ml}^{-1}$ Concentración de Biofertilizante = $1 \times 10^8 \text{ UFC.ml}^{-1}$

6.6 VARIABLES DE RESPUESTA

Las variables de respuesta se evaluaron para cada una de las unidades experimentales de cada tratamiento (Tabla 6).

Después de realizar las mediciones respectivas con el material fresco de las plántulas de cilantro, las muestras de cada repetición dispuestas en bolsas de papel fueron sometidas a secado en estufa a 50°C durante 48 horas, pasado este tiempo se pesaron de nuevo las muestras secas y se procedió a disminuir el tamaño de las muestras mediante herramientas que permitieran destruir el material para poder realizar las pruebas de nitrógeno foliar en laboratorio (Figura 6).

Tabla 6. Variables de respuesta medidas

| Plantas | Método | Suelos | Método |
|-------------------------|--|-----------------------------------|---|
| Porcentaje de | Número de semillas germinadas | Conductividad | Conductímetro en una relación |
| germinación (%) | en cada unidad experimental | eléctrica (ds/m) | 1:2.5. |
| Número de | Conteo de las plantas | | |
| plantas (#) | establecidas en cada unidad | | |
| Longitud de tallo | Medición desde la superficie del | pH (Und) | Potenciométrico en una relación |
| (cm) | suelo hasta el primer nudo | pri (Ond) | 1:1, equipo de marca Sartorius |
| Diámetro de tallo | Medición de cada uno de los tallos | | |
| (mm) | aproximadamente a 10 cm del | | |
| Número de hojas (#) | Conteo de las hojas de cada uno de los tallos | Materia orgánica (%) | Titulación de Walkley y Black para determinar el porcentaje de carbono orgánico |
| Número de flores (#) | Conteo de flores para cada unidad experimental | | |
| Masa fresca (g) | Peso por repetición del total de las hojas y tallos de las plantas de cilantro. | Nitrógeno total (%) | Kjeldahl modificado de acuerdo con el procedimiento de los métodos analíticos del laboratorio de suelos del IGAC (2006) |
| Masa seca (g) | Peso de muestra seca en horno a 50 °C por 48 horas | | |
| Rendimiento (Ton/ha) | Peso de la materia fresca estableciendo la relación por hectárea para cada tratamiento | Nitrógeno amoniacal (mg/kg) | Kjeldahl modificado de acuerdo con el procedimiento de los métodos analíticos del laboratorio de suelos del IGAC (2006) |
| Nitrógeno foliar (%) | Materia seca en procedimiento de análisis del laboratorio de suelos del IGAC 2006 | | |





Figura 6. Medición de variables de respuesta

6.7 DEMANDA HÍDRICA DEL CULTIVO

La demanda hídrica del cultivo de cilantro se hizo a partir del cálculo de la evapotranspiración potencial (ETo), con los datos climatológicos de un tanque evaporímetro clase A instalado en el invernadero del Laboratorio de Aguas y Suelos Agrícolas (LASA); donde el valor del coeficiente del tanque evaporímetro K_p es de 0.55 y el valor promedio de la Evaporación del tanque evaporímetro es de 3.02 mm/día (Jurado y Torres, 2012).

Además para el cálculo de la demanda hídrica del cultivo se utilizaron los siguientes datos:

Cultivo: Cilantro

Distancia entre surcos: 0.25 m Distancia entre plantas: 0.10 m Diámetro de sombra: 0.20 m

La lámina de riego requerida por el cultivo de cilantro se determinó para dos tipos de suelos:

- Condiciones estándar: Tratamiento suelo no salinos
- Condiciones no estándar: Tratamiento suelos salinos (FAO, 2006)

Para la primera condición, la evapotranspiración del cultivo se halló mediante la ecuación 1, a partir de la evapotranspiración de referencia y el coeficiente del cultivo para cada etapa fenológica.

ETc = Kc * ETo (1)



Dónde:

ETc = Evapotranspiración del cultivo (mm/día)

Kc = Coeficiente del cultivo (adimensional).

ETo = Evapotranspiración del cultivo de referencia (mm/día).

Para la segunda condición, correspondiente a un cultivo sometido a estrés hídrico, la evapotranspiración del cultivo se determinó mediante la ecuación 2.

$$ETc = (K_s * k_c) * ETo$$
 (2)

Dónde:

ETc = Evapotranspiración del cultivo (mm/día)

Ks = Coeficiente del efecto del estrés hídrico (adimensional).

Kc = Coeficiente del cultivo (adimensional).

ETo = Evapotranspiración del cultivo de referencia (mm/día)

La evapotranspiración del cultivo de referencia (ETo) se estimó de la evaporación del tanque evaporímetro Clase A, por medio de la ecuación 3.

ETo =
$$K_p$$
 * Epan (3)

Dónde:

ETo = Evapotranspiración de referencia (mm/día)

 K_p = Coeficiente del tanque evaporímetro.

Epan= Evaporación del tanque evaporímetro (mm/día)

Necesidades netas de sistema:

Usando la ecuación 4 se realizó el cálculo de las necesidades netas del sistema.

$$Nn = (ETo*Kc)*KI$$
 (4)

Dónde:

Nn = Necesidades netas del cultivo (mm/día)

ETo = Evapotranspiración potencial (mm/día)

Kc = Coeficiente del cultivo (adimensional).

KI = Coeficiente de localización promedio.

Para conocer el valor del coeficiente de localización promedio, se determinó el porcentaje de área sombreada y las respectivas expresiones del coeficiente de localización (Tabla 7), por medio de las ecuaciones 5 y 6 respectivamente.

$$A = ((PI*D^2/4)/DES*DEP)$$
 (5)



Dónde:

A: Porcentaje de área sombreada (%)

D: Diámetro de sombra (m)

DES: Distancia entre surcos (m) DEP: Distancia entre plantas (m)

Coeficiente de localización

Tabla 7. Características del cultivo

| Etapa | Germinación | Crecimiento | Cosecha |
|-------|-------------|-------------|---------|
| Kc* | 0.77 | 1.24 | 1.43 |
| Ks** | 0,85 | 0,85 | 0,85 |

^{*} Coeficiente del cultivo (Marín, 2010).

Necesidades totales:

Finalmente mediante la ecuación 7, se determinaron las necesidades totales.

$$Nt = Nn / (Ea*CU)$$
 (7)

Dónde:

Nt = Necesidades totales de riego (mm/día)

Nn = Necesidades netas del cultivo (mm/día)

CU = Coeficiente de uniformidad

Ea = Eficiencia de aplicación

Coeficiente de uniformidad: Se fijó un coeficiente de uniformidad CU de 0.90, apropiado para el sistema de riego utilizado de aplicación manual (Pizarro, 1996).

Eficiencia de aplicación: Depende de la textura del suelo y la profundidad de raíces. Se estableció un valor de 0,95, para una textura media y una profundidad de raíces menor a 0,75 m (Pizarro, 1996).

Necesidades diarias: Las necesidades diarias del cultivo se expresaron en litros-planta/día; usando la ecuación 8.

^{**}Coeficiente del efecto del estrés hídrico (FAO, 1994)



Nd = (Nt*DES*DEP) (8)

Las láminas determinadas fueron:

- Condiciones estándar: Tratamiento suelo no salinos: 91 ml/planta-día
- Condiciones no estándar: Tratamiento suelos salinos: 80 ml/planta-día

Se estableció un promedio de lámina de riego para todos los tratamientos de 90 mm/planta-día.

Para llevar a cabo esta actividad se utilizó un balde y una probeta de 100 ml para suministrar la lámina de riego determinada a cada unidad experimental.

El balde se usó para contener el agua reposada al aire libre durante aproximadamente 24 horas antes de la aplicación como medida de cuidado con los microorganismos inoculados y con el suelo, puesto que el cloro contenido en el agua potable aumentaba las cantidades de sales en el suelo; por lo tanto al mantener el agua recogida de un día para otro este elemento se podía evaporar.

La aplicación de la lámina de agua se realizó durante los 90 días de duración del experimento teniendo en cuenta el ciclo vegetativo del cilantro.

Un día antes de la cosecha de suspendió el riego con el objetivo de realizar las actividades con buenas condiciones de humedad que permitieran el adecuado manejo y manipulación del suelo y la planta.

6.8 MANEJO AGRONÓMICO DEL ENSAYO EXPERIMENTAL

Para el establecimiento y permanencia del cultivo experimental se realizaron diferentes prácticas agronómicas que permitieran el adecuado desarrollo del mismo.

Siembra e Inoculación: Se usaron semillas de cilantro sin ningún tratamiento previo seleccionadas por sanidad y tamaño, de la variedad Cilantro nacional patimorado de semillas Arroyave. El método de siembra fue manual y consistió en colocar 5 semillas a una profundidad de dos centímetros en cada unidad experimental para luego ser cubiertas con suelo hasta la superficie. Este mismo día se realizó la inoculación de los suelos con las dosis establecidas para los tratamientos con biofertilizantes.

Fertilización: La fertilización química se llevó a cabo una semana antes de la siembra, se adicionaron para el tratamiento de fertilización química: 1.34 g de urea, 1 ml de fosfato de amonio y 0,635 g de cloruro de potasio; estas dosis se aplicaron teniendo en cuenta las recomendaciones de fertilización dadas para suplir las necesidades del cultivo de cilantro y calculadas de acuerdo al área ocupada por el suelo en las materas respectivas (Vallejo y Estrada, 2004). Dichas dosis de fertilizante fueron disueltas en la lámina de riego determinada de acuerdo a la demanda hídrica del cultivo; por lo tanto así se inició el riego también con el objetivo de proteger la semilla y garantizar el suministro de los elementos nutritivos al suelo.



Control de malezas: El manejo de arvenses se realizó de manera manual, en primera instancia desde los días 8 – 12 después de la siembra y luego se realizó periódicamente el control hasta la culminación del ciclo vegetativo.

Control de plagas: Para contrarrestar los efectos adversos por la presencia de insectos en el cultivo de cilantro, se aplicó después de 50 días de la siembra un insecticida foliar químico que permitió combatir la plaga de *Macrosiphum* o también conocido como "Piojo". Sin embargo cabe aclarar que antes de realizar la aplicación del insecticida dos plántulas (SSr4 y SAr2) se vieron afectadas y no lograron resistir los efectos de esta plaga. Periódicamente se continuó con la revisión y limpieza de todas las plántulas.

Cosecha: Cuando el cultivo alcanzó su madurez fisiológica a los 90 días después de la siembra, se cosechó de forma manual separando por medio de un corte, el tallo de la raíz, se estimó la masa fresca y seca de la parte aérea de la planta. Todas las variables de respuesta de las plantas correspondieron a pruebas destructivas de las mismas. Después de la cosecha cada uno de los suelos de cada tratamiento fue dispuesto sobre papel periódico dentro del invernadero de tal forma que pudiera ser secado al aire para luego realizar las respectivas pruebas.



Figura 7. Cilantro Cosechado

6.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico del modelo experimental, se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 20.0; en primera instancia se realizaron pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk y pruebas de homogeneidad de varianzas por medio de la prueba de Levene (Anexo 2), seguidamente se realizó un análisis descriptivo y posteriormente se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) de clasificación simple, para identificar si existían diferencias significativas en las variables de respuesta entre los tratamientos, por último donde se encontraron significancias relevantes se realizó una prueba de comparación de medias mediante el test de Tukey al 5 %, análisis de correlación y regresión lineal.

En el análisis estadístico algunas de las variables no cumplieron con los supuestos de normalidad y homogeneidad, por lo tanto se realizó el análisis de pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis para la comparación de medias acompañado del test de Dunnett (Anexo 3); en otros casos donde no se cumplieron las pruebas paramétricas y no paramétricas se utilizó como herramienta de análisis los promedios de los valores de las respectivas variables.

Resultados de estadística descriptiva (Anexos 4 y 5).



7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 EFECTO DE LA APLICACIÓN DE BACTERIAS DIAZÓTROFAS PROVENIENTES DE STARD EN GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE CILANTRO

En cada una de las unidades experimentales se observó el estado de germinación de las cinco semillas sembradas calculando respectivamente su porcentaje a los ocho (8) y quince (15) días después de la siembra (dds).

7.1.1 Porcentaje de germinación a los 8 dds

Los porcentajes de germinación de semillas en los diferentes tratamientos estuvieron entre 8% y 88% a los 8 días después de la siembra (Figura 8). Se encontraron diferencias significativas entre el tratamiento suelo no salino y los dos tratamientos SBAR2 y SBAR1 correspondientes a la inoculación del suelo salino con bacterias provenientes de STARD.

Las dosis de inóculo utilizadas se diferenciaron puesto que a mayor dosis de inóculo utilizado de STARD, la germinación de semillas fue mayor tanto que para este tiempo de germinación en el tratamiento SBAR3 ya había germinado el 48% de las semillas superando en el doble de porcentaje al tratamiento SBAR2 y en un 40% al tratamiento con menor dosis.

Se observó que de igual forma el tratamiento con mayor dosis de bacterias provenientes de STARD superó en un 4% a los porcentajes iguales de germinación presentados por los tratamientos con dosis de inóculo comercial *Azotobacter sp* y tratamiento con fertilización química; y también estuvo 8% por encima del porcentaje de germinación presentado por el tratamiento testigo de suelo salino; indicando así la adaptabilidad de estas bacterias a los suelos salinos y su contribución en el desarrollo de la semilla. Sin embargo es importante notar que en los tratamientos SBAR1 y SBAR2 con menores dosis de inóculo el porcentaje de germinación fue incluso más bajo que en el suelo salino sin ninguna aplicación.

Todos los tratamientos mostraron porcentajes de germinación por debajo de los hallados en el suelo no salino indicando que la presencia de sales inhibe la germinación de semillas al disminuir la disponibilidad de agua para las plantas.



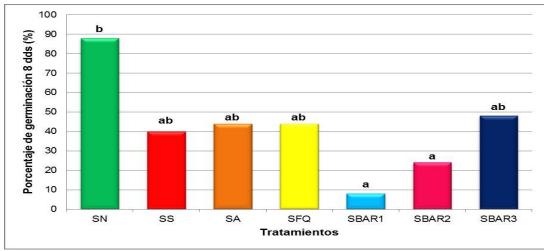


Figura 8. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD en germinación de semillas de cilantro 8 días después de la siembra. Letras diferentes indican que los tratamientos presentan diferencias significativas (p<0,05).

En la germinación y posterior crecimiento de las plantas fue determinante la influencia de las características salinas del suelo, puesto que los mejores porcentajes de germinación los presentó el suelo no salino aproximadamente con un 50% por encima en comparación con el suelo salino.

En suelos con problemas por exceso de sales es frecuente que haya una mala nascencia. Los efectos dependerán de la planta y del nivel y tipo de salinidad del suelo (PortaCasanellas et al., 2003).

El cilantro como planta aromática perteneciente a la familia de las Apiaceae es un cultivo que presenta sensibilidad a altas concentraciones de salinidad (Shannon y Grieve, 1998), concentraciones por encima de 1 dS.m⁻¹ inhiben la germinación de cultivos como el de la zanahoria, el cilantro, el hinojo o el apio. Niveles de 10 dS.m⁻¹ limitan la germinación a no más del 50%.

7.1.2 Porcentaje de germinación a los 15 dds

Los promedios del porcentaje de germinación de semillas a los 15 días después de la siembra en los diferentes tratamientos estuvieron entre 68% y 96%. Para esta etapa de germinación no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos (Figura 9).

Las dosis de inóculo de STARD utilizado en la germinación de las semillas presentaron un aumento con respecto a la germinación 8dds, entre ellas se destacan los tratamientos con dosis igual y mayor al inóculo comercial (SBAR2 y SBAR3) que alcanzaron respectivamente un valor de 68% y 76%, por encima del tratamiento SBAR1 con dosis menor al inóculo comercial; dicho tratamiento presentó dificultades en la etapa de germinación necesitando resiembras para lograr mantener el número de plantas; a pesar de esto el porcentaje de germinación alcanzado a los 15 dds fue de 56%, resultado un poco bajo en comparación con los demás tratamientos pero mucho mejor comparado con el obtenido en la germinación a los 8 dds.



Al comparar estos resultados de las tres dosis aplicadas, con el inóculo de *Azotobacter sp* (SA) y el tratamiento con fertilización química (SFQ) se encontró una igualdad entre estos dos últimos y el porcentaje de germinación final mostrado por el inóculo con mayor dosis de STARD; también se halló que esta semejanza de porcentajes estuvo solo 4% por debajo de la germinación final del tratamiento testigo con suelo salino (SS), reafirmando la capacidad de adaptabilidad del inóculo a los suelos salinos y la contribución de las bacterias en el desarrollo del cultivo.

Finalmente como en la primera observación de germinación todos los tratamientos mostraron porcentajes de germinación por debajo de los hallados en el suelo no salino confirmando que las características salinas del suelo inhiben la nascencia y disminuyen la germinación de semillas. Sin embargo en esta etapa de germinación los resultados fueron mayores comparados con la germinación 8dds, manifestando que en el suelo salino el intervalo de tiempo para la germinación de semillas fue un poco mayor al establecido para un suelo en condiciones normales.

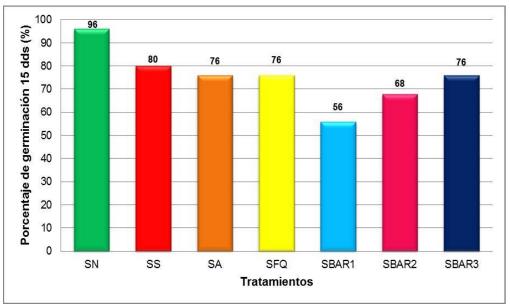


Figura 9. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD en germinación de semillas de cilantro 15 días después de la siembra.

En ambos intervalos de tiempo para la germinación de las semillas se pudo notar que las unidades experimentales con aplicación de las dos menores dosis de inóculo (SBAR1 y SBAR2) fueron las que obtuvieron los porcentajes más bajos de germinación, lo que podría indicar que las bacterias actuaron en el suelo de acuerdo a la cantidad de dosis aplicada y en un lapso de tiempo determinado.



7.1.3 Número de plantas obtenidas al final de la cosecha

No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, la realización de resiembras hicieron que estas semillas germinaran después de los 15 días de la evaluación final de nascencia y dieron como resultado un mayor número de plantas a los 90 dds, esta condición puede ayudar a confirmar el hecho de que las bacterias actuaron en el tiempo de acuerdo a la cantidad en que fueron aplicadas.

Teniendo en cuenta que la lámina de riego aplicada fue la misma para cada una de las unidades experimentales, la diferencia entre el número de plantas se puede atribuir a las condiciones y dosis de cada uno de los tratamientos establecidos (Figura 10), a mayor dosis de inóculo mayor es el número de plantas al final, también es importante observar que la aplicación de la mayor dosis de biofertilizante proveniente de STARD estuvo por encima de la dosis aplicada de biofertilizante comercial *Azotobacter sp* tratamiento que presentó igualdad de número de plantas con el tratamiento SBAR2, evidenciando la adaptabilidad del inóculo al suelo salino que en mayor dosis permite una buena germinación y un buen desarrollo de las plantas; también es importante observar la igualdad en el número de plantas finales del tratamiento SBAR3 con el tratamiento de fertilización inorgánica, indicando la influencia de la fertilización química en el suelo salino y el aporte de nitrógeno a la planta por parte de las bacterias.

Al realizar la comparación entre el tratamiento testigo SS y el tratamiento con mayor dosis de inóculo se evidenció que este último presentó un mayor número de plantas al final de la cosecha, indicando la importancia de la adición de los microorganismos biológicos fijadores de nitrógeno a los suelos. Los biofertilizantes son capaces de ejercer alguna acción estimulante sobre el crecimiento, nutrición y desarrollo vegetal; estas actividades son diversas: fijación de nitrógeno, solubilización de fósforo, producción de fitohormonas, alivio de la tensión ambiental y mejoramiento de otras interacciones (Bonilla, 2008).

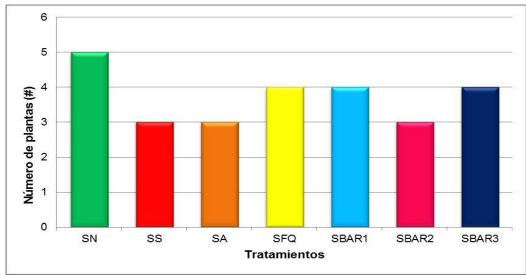


Figura 10. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD en el número de plantas de cilantro.



Son importantes los buenos resultados mostrados por el tratamiento con aplicación de bacterias provenientes de aguas residuales domésticas en su mayor dosis, sin embargo se debe resaltar la influencia del suelo testigo sin problemas de salinidad en la germinación y desarrollo de las plantas.

7.2 EFECTO DE LA APLICACIÓN DE BACTERIAS DIAZÓTROFAS PROVENIENTES DE STARD EN VARIABLES AGRONÓMICAS DE CILANTRO

7.2.1 Longitud del Tallo

Los valores de las medias de la longitud de tallo de cada uno de los tratamientos establecidos variaron entre 29,18 cm y 17,58 cm para los tratamientos SN y SA respectivamente, con un coeficiente de variación (CV) de 32,08%, indicando la heterogeneidad de los datos, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos.

A pesar de no encontrar diferencias significativas los resultados de longitud de tallo presentados por los tres tratamientos con aplicación de biofertilizante SBAR fueron muy similares entre ellos donde sobresale el tratamiento SBAR3 con mayor dosis de inóculo, dichos tratamientos además estuvieron aproximadamente 6 cm por encima del valor presentado por el tratamiento con aplicación de Azotobacter sp que presentó la menor longitud de tallo, indicando la mejor adaptabilidad de las bacterias provenientes de STARD al suelo salino y su aporte en el desarrollo del cultivo. En cuanto a los tratamientos con aplicación de inóculos provenientes de STARD, estos presentaron semejanzas con el tratamiento de fertilización química, donde el tratamiento con la mayor dosis de inóculo estuvo 1,2 cm por debajo de la longitud de tallo para SFQ; confirmando que así como la adición de nutrientes inorgánicos al suelo ayudan a mejorar las condiciones morfológicas de las plantas también lo pueden hacer los microorganismos de biofertilizantes SBAR; según Vessey (2003) los microorganismos aplicados a semillas, superficies de plantas o suelo colonizan la rizósfera o el interior de la planta y promueven el crecimiento por el incremento en la disponibilidad de nutrientes primarios a la planta hospedera.



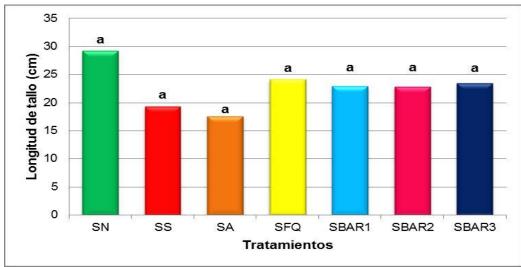


Figura 11. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD en la longitud de tallo de plantas de cilantro. Letras diferentes indican que los tratamientos presentan diferencias significativas (p<0,05).

En la figura 11 también es importante apreciar que los tratamientos con dosis de inóculo estuvieron aproximadamente 4 cm por encima del suelo testigo salino indicando que el cilantro una vez germinado se adaptó a las condiciones de salinidad del suelo, condición que pudo haberse dado por el adecuado suministro de la lámina de riego permitiendo tomar a la planta el agua necesaria para su crecimiento; de acuerdo con Ortega y Morales (1997) la falta o exceso de agua afectan de manera drástica y decidida el desarrollo y crecimiento de las plantas; el suministro de N también pudo haber tenido efecto; para Lamsfus et al.,(2003), el N es un elemento esencial para las plantas, por ello se considera que después de la deficiencia del agua es el principal factor que controla el crecimiento de la planta, siendo un elemento esencial en la productividad de los cultivos.

Por lo tanto teniendo en cuenta que la lámina de riego aplicada fue la misma para todos los tratamientos con suelo salino y que los tratamientos con bacterias provenientes de STARD arrojaron una media de longitud de tallo muy cercana a la presentada por el tratamiento con fertilización química, es posible afirmar que el nitrógeno fijado por las bacterias diazótrofas pudo influir en el crecimiento de la planta.

Finalmente el tratamiento testigo con suelo no salino presentó la mejor media de longitud de tallo con 29,18 cm para las plantas de cilantro, sin embargo cabe resaltar que el tratamiento SBAR3 estuvo 6 cm por debajo de este valor y que junto con el tratamiento de fertilizacion química fueron los que mas se acercaron a la media del testigo absoluto.



7.2.2 Diámetro de Tallo

Para el análisis de diámetro de tallo no se encontraron diferencias significativas. A los 90 dds los valores de diámetro de tallo entre los tratamientos con suelo salino inoculado con bacterias provenientes de STARD presentaron homogeneidad entre ellos, la pequeña diferencia se evidenció en el mayor promedio presentado por el tratamiento SBAR1 el cual representa la menor dosis de aplicación posiblemente debido a las resiembras que se realizaron en una de sus repeticiones que produjeron un número de plantas mayor a cinco y una dispersión en los datos.

Todas las dosis de inóculo aplicado de SBAR en suelos salinos presentaron un mayor promedio de diámetro de tallo con respecto al tratamiento con inóculo comercial *Azotobacter sp;* es importante anotar también que el promedio de diámetro de tallo de los tratamientos con aplicación de inóculo SBAR fue mayor comparado con el promedio del suelo testigo salino, indicando que la adición de biofertilizantes provenientes de STARD, contribuyó a mejorar esta característica de las plantas de cilantro (Figura 12). Estas condiciones similares a las presentadas por la longitud de tallo son dadas porque el nitrógeno fijado por las bacterias diazotróficas acelera el crecimiento y las plantas que reciben este elemento de manera adecuada tienen un crecimiento vigoroso, unas hojas grandes y largos entrenudos de tallo (Plaster, 2000).

Sin embargo los valores promedio de diámetro de tallo de los tratamientos con inóculo proveniente de STARD estuvieron por debajo del tratamiento con fertilización química el cual presentó una gran similitud con el tratamiento testigo de suelo no salino, nuevamente fue importante la influencia de los fertilizantes químicos en el aporte de nutrientes al suelo que le permitieron a la planta mejorar sus características morfológicas, para Plaster (2000) los nutrientes de la planta son elementos esenciales para el crecimiento de la misma, así mismo la cantidad de agua suministrada al cultivo influye en el desarrollo del mismo, Marín (2010) encontró una tendencia creciente en el diámetro de los tallos a medida que se aumentaban las láminas de riego aplicadas para el cultivo del cilantro, sin embargo la abundancia de agua en el suelo puede afectar la toma de N por parte de las plantas, para Cruz (2010) la forma predominante del nitrógeno depende principalmente del contenido de humedad del suelo y para su absorción en forma de nitrato en suelos con exceso de humedad se restringe la nitrificación.



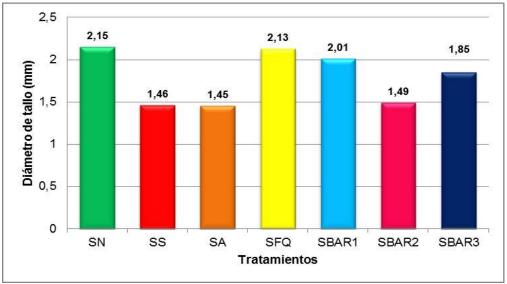


Figura 12. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD en el diámetro de tallo de plantas de cilantro.

Con respecto al suelo testigo sin problemas de salinidad, los tratamientos inoculados con bacterias provenientes de STARD presentaron valores promedio de diámetro de tallo por debajo, con una diferencia máxima de 0,7 mm entre estos tratamientos.

Los resultados obtenidos para longitud y diametro de tallo confirman que el cilantro desarrolló un crecimiento tanto primario como secundario de su tallo, característica propia de las plantas angiospermas-dicotiledóneas, donde de acuerdo a la morfología de su tallo, el cilantro se clasifica dentro de las plantas herbáceas caracterizadas por poseer tallos blandos, suaves, flexibles y generalmente de color verde (Soto, 2013).

7.2.3 Número de Hojas

En el análisis del número de hojas no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, igualmente (Hoyos et al., 2009) en un cultivo de espinaca encontraron que la variable "número de hojas" no presentaba diferencias significativas durante el periodo de evaluación al manejar diferentes dosis de N.

Como se puede apreciar en la figura 13, entre los tratamientos inoculados con bacterias provenientes de STARD sobresale el tratamiento SBAR1 con 34,6 Y 63,2 hojas por encima de los tratamientos SBAR3 y SBAR2 respectivamente. El mayor número de hojas presentado en el tratamiento con menor dosis de aplicación se dio posiblemente por las resiembras realizadas que produjeron un mayor número de plantas al final del experimento.

Entre los tratamientos SBAR3 y SBAR2 se presentó una diferencia de 28,6 hojas mostrando los mejores resultados de la adición de una mayor dosis de bacterias provenientes de STARD en suelo salino, de igual forma este tratamiento estuvo 15,4 hojas por encima del tratamiento SA indicando la mejor adaptabilidad de las



bacterias al suelo salino que *Azotobacter sp* y su contribución en el desarrollo de las características agronómicas del cilantro, puesto que en general el nitrógeno suscita el crecimiento vegetativo de tallos y hojas (Plaster, 2000).

El tratamiento con aplicación de fertilizantes químicos presentó un valor promedio de 47,8 hojas por encima del tratamiento SBAR3 confirmando la eficiencia de los nutrientes en el desarrollo de las características morfológicas de las plantas, el suministro de fertilizantes permite incrementar la producción vegetal, en este caso el nitrógeno favorece el aumento del área foliar y con el aumento de la tasa fotosintética de la planta mantiene el crecimiento vegetativo de los tejidos (González et al., 2003).

El valor promedio encontrado para el número de hojas del tratamiento testigo con suelo salino estuvo 14,8 por debajo del tratamiento SBAR3 confirmando el buen comportamiento de las bacterias inoculadas en suelo salino sobre las características de las plantas de cilantro. Muchos tipos de bacterias son beneficiosas para las plantas desempeñando un papel esencial en la circulación de nutrientes para mantener la fertilidad de los suelos, la salubridad de las plantas y la sustentabilidad productiva (Kennedy et al., 2004). Por otro lado se destaca el valor promedio del tratamiento SN que estuvo por encima de los tratamientos con inóculos de bacterias, con 49,4 hojas más que el tratamiento SBAR3 evidenciando la importancia de la salud del suelo en el buen desarrollo de las plantas, ya que la síntesis de aminoácidos se realiza en raíces, hojas, semillas o frutos, dependiendo del lugar de reducción del nitrato y de la removilización del N (Lamsfus et al., 2003).

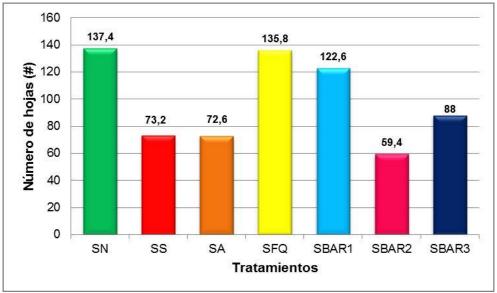


Figura 13. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD en el número de hojas de plantas de cilantro.

La tasa de crecimiento de las hojas depende de la continua e irreversible expansión de células jóvenes, las cuales son producidas por la división celular en los tejidos meristemáticos (Hoyos et al., 2009), de este modo es muy importante que la planta cuente con el adecuado suministro de nutrientes, en especial el N, que le permita a las hojas desarrollar su crecimiento y posterior producción.



7.2.4 Número de Flores

Los valores de la media para el número de flores estuvieron entre 126,80 para SN y 27,00 para SA, con un coeficiente de variación de 79,07% indicando alta dispersión de los datos y elevada variabilidad de esta propiedad en las plantas; encontrándose diferencias significativas entre el tratamiento SN y los demás tratamientos propuestos (Figura 14).

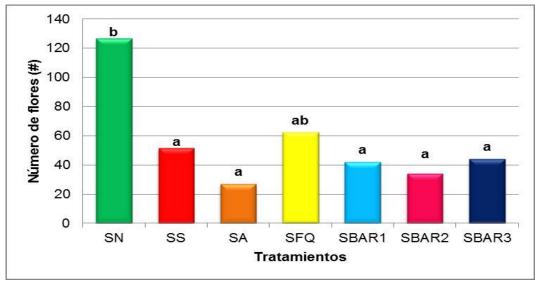


Figura 14. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD en el número de flores de plantas de cilantro. Letras diferentes indican que los tratamientos presentan diferencias significativas (p<0,05).

Los tres tratamientos con suelo salino inoculado con bacterias provenientes de STARD presentaron valores muy similares de número de flores sobresaliendo el tratamiento SBAR3 con la mayor dosis de aplicación de bacterias con 7,9% de flores por encima del tratamiento SBAR2.

Observando los resultados del tratamiento con inóculo comercial *Azotobacter sp* se nota una disminución de 13,4% de flores con respecto al tratamiento SBAR3, indicando mejores características de floración en las plantas de cilantro por parte de los biofertilizantes SBAR.

En cuanto al tratamiento con fertilización inorgánica sobre suelo salino se presentó un valor de 14,3% de flores por encima del tratamiento SBAR3 demostrando la incidencia de los fertilizantes en la producción de flores, en este caso la aplicación de biofertilizantes no contribuyó en gran medida sobre la salinidad del suelo y la fertilización química con elementos como K contribuyó en mayor medida sobre el suelo para que la planta lograra producir flores. Con respecto al tratamiento testigo con suelo salino sin ninguna aplicación se presentó un valor de 6% de flores por encima del tratamiento SBAR3, indicando que aunque los biofertilizantes SBAR presentaron mejores características que el inóculo comercial en la producción de flores, las dosis aplicadas pudieron ser bajas y no alcanzaron a dar mejores resultados que el testigo salino.



Para el número de flores del testigo absoluto, el tratamiento SBAR3 estuvo 65,3% de flores por debajo, dando a inferir que el cultivo tuvo un buen desarrollo en el suelo testigo presentando las mejores condiciones vegetativas del mismo estimando que las condiciones del suelo pueden determinar el buen desarrollo de las características agronómicas de las plantas hasta su floración, teniendo en cuenta que normalmente la cosecha de cilantro se realiza dos meses después de la siembra antes de que la planta florezca (Morales, 1995)

Se evidenció que los tratamientos con biofertilizantes presentaron las menores medias de número de flores, condición que pudo haberse dado por las características salinas del suelo comportándose como un limitante en la producción de semilla de cilantro, por otro lado se puede mencionar que no todos los efectos que producen los microorganismos del suelo son benéficos puesto que algunos hongos y bacterias compiten con la planta por nutrientes, produciendo la inmovilización temporal de éstos, como en el caso de PO-34, NH3 o NO-3 (Jaramillo, 2002), reduciendo el aporte de nutrientes (Cadavid, 2011), esto ocurre cuando los microorganismos no obtienen el suficiente N para su crecimiento a partir del proceso de degradación de la materia orgánica y toman el N inorgánico del suelo (González et al., 2008), sin embargo de acuerdo con Pérez (2011) las bacterias provenientes de STARD e inoculadas en el suelo salino tienen la capacidad de fijar nitrógeno en medios con contenidos medios a altos de amonio lo que podría resultar en una alternativa interesante para complementar la fertilización nitrogenada en suelos salinos que presentan restricción en el uso de fertilizantes.

7.2.5 Masa Fresca y Masa Seca

Al realizar el análisis estadístico descriptivo de la masa fresca de las plantas de cilantro, se encontró que la media varió entre 4,66% para SBAR2 y 13,02% para SFQ con un coeficiente de variación de 57,94%, encontrándose diferencias significativas entre los tratamientos SFQ y SBAR2 respectivamente.

De acuerdo a los tratamientos con suelo salino inoculado con bacterias provenientes de STARD, el tratamiento SBAR3 presentó un aumento de 3,96% con respecto al tratamiento SBAR2 y 1,34% por encima del tratamiento SBAR1. El tratamiento SBAR3 también estuvo 2,78% por encima del tratamiento con inóculo comercial *Azotobacter sp* indicando que a mayor dosis de inóculo se presentaron mayores porcentajes de materia fresca. Aunque el tratamiento SBAR3 con la mayor dosis de aplicación de biofertilizante presentó el mejor resultado de materia fresca entre los tratamientos inoculados, estuvo 4,4% por debajo del tratamiento con fertilización inorgánica SFQ que obtuvo la media más alta de materia fresca entre todos los tratamientos debido a los nutrientes aportados, de acuerdo con (Uhart y Andrade,1995) adecuados contenidos de N incrementan las tasas de división y diferenciación celular y la actividad fotosintética, esto se traduce en mayor biomasa vegetativa o reproductiva en los cultivos por una alta eficiencia en la intercepción y conversión de la radiación.



Con respecto al tratamiento testigo con suelo salino se presentó una disminución de 2,44% con relación al tratamiento SBAR3 donde este último sin presentar diferencias significativas con el tratamiento testigo con suelo no salino estuvo 0,56% por encima de su media y confirmó la eficiencia de la mayor dosis de inóculo de biofertilizante en suelo salino (Figura 15).

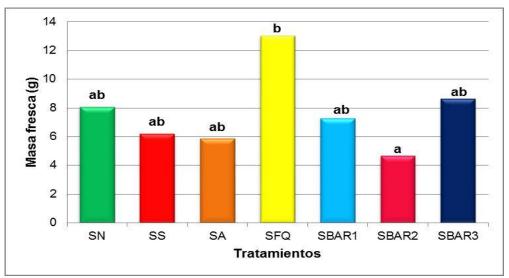


Figura 15. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD en la masa fresca de las plantas de cilantro. Letras diferentes indican que los tratamientos presentan diferencias significativas (p<0,05).

El análisis de la materia seca arrojó valores de la media entre 0,74% para SBAR2 y 2,76% para SN presentando diferencias significativas entre el tratamiento SBAR2 con los tratamientos SBAR1, SFQ y SN.

Entre los tratamientos con biofertilizante el tratamiento SBAR1 presentó mejores resultados con 0,82% por encima de SBAR2 y 0,34% por encima de SBAR3 respectivamente. Aunque el tratamiento SBAR1 contenía la menor dosis de inóculo de bacterias provenientes de STARD presentó los mejores resultados en el número de hojas por lo cual se justifica el mayor valor de la media de masa seca para ese tratamiento estando también por encima 0,44% del tratamiento con inóculo comercial y solo 0,4% por debajo del tratamiento con fertilización química; así mismo, presentó mayor media de masa seca con un porcentaje de 0,52% por encima del tratamiento testigo con suelo salino y 1,2% por debajo con respecto al suelo testigo absoluto (Figura 16).



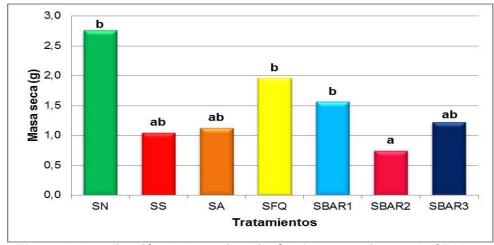


Figura 16. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD en la masa seca de las plantas de cilantro. Letras diferentes indican que los tratamientos presentan diferencias significativas (p<0,05).

Goudriaan y Van Laar (1995) definen que en un primer nivel de estudio, el crecimiento de las plantas, se centra en el aumento de materia seca en el tiempo, para Barrera et al (2010) las medidas directas que se tienen en cuenta para el análisis de crecimiento de las plantas son la masa seca y el área foliar.

El crecimiento de los diferentes órganos de las plantas, es un proceso fisiológico complejo, que depende directamente de la fotosíntesis, la respiración, la división celular, la elongación, entre otros, y que además está influenciada por factores como temperatura, intensidad de luz, densidad de población, calidad de la semilla, disponibilidad de agua y de nutrientes (Mohr, 1995); en cuanto a los nutrientes Mejía de Tafur et al., (2008) encontraron en un ensayo de cilantro una mayor acumulación de biomasa y menor pérdida de agua en poscosecha con una concentración alta de K, confirmando que la adecuada concentración de K ayudó a la absorción y metabolismo del N contribuyendo con el crecimiento de las plantas y su acumulación de materia seca.

La masa seca presentada por los diferentes tratamientos es un buen indicador del comportamiento adecuado de la planta y de su contenido vegetal, ya que el contenido de agua en las hojas puede proporcionar otro tipo de datos principalmente relacionados con el crecimiento de las plantas. Jurado y Torres (2013) afirman que generalmente excesos de agua no perjudiciales incrementan la actividad de raíces y por tanto la eficiencia en el proceso de transporte de nutrientes a través del xilema y floema, aumentando su crecimiento.

De tal forma los datos presentados de masa seca, confirman que entre los tratamientos con aplicación de biofertilizante se destaca el tratamiento SBAR1 con mayor número de hojas y mejor contenido de masa seca; para los tratamientos con aporte de nitrógeno los datos presentados confirman que el tratamiento SFQ se destaca con mayor número de hojas y mejor valor de masa fresca, Grazia et al.,(2001) reportan que plantas de lechuga presentaron menores valores de



masa fresca y seca total cuando no hay aplicación de nitrógeno respecto a aquellas plantas que recibieron suministro de este elemento.

Por otra parte aunque los datos de masa seca permiten conocer el total del contenido vegetal en nutrientes de las plantas es importante tener en cuenta que en el caso particular del cilantro la comercialización se realiza es estado fresco.

7.2.6 Rendimiento

Los valores de rendimiento del cultivo de cilantro por tratamiento variaron entre 3,7 Ton/ha para SBAR2 y 10,2 Ton/ha para SFQ, presentándose diferencias significativas entre estos dos tratamientos con un coeficiente de variación de 57.95 %.

Entre los tratamientos inoculados con bacterias provenientes de STARD aunque no se presentaron diferencias significativas el tratamiento SBAR3 presentó mejores resultados con respecto a los otros dos tratamientos con 1,1Ton/ha por encima de SBAR1 y 3,1 Ton/ha por encima de SBAR2, respectivamente.

El tratamiento SA con inóculo comercial estuvo 2,2 Ton/ha por debajo del tratamiento SBAR3 y 0,9 Ton/ha por encima del tratamiento SBAR2 con la misma dosis de inóculo, sin embargo el tratamiento SFQ mostró los mejores resultados con respecto al rendimiento de cilantro con 3,4Ton/ha por encima del tratamiento SBAR3 teniendo en cuenta que el tratamiento SFQ se refiere a la aplicación de la fertilización química recomendada para el cilantro. Estos resultados evidencian la importancia de la adición de nutrientes como fósforo y potasio, que según Strock (2008) son esenciales para los procesos fotosintéticos y de crecimiento de las plantas.

Con respecto al testigo con suelo salino, el rendimiento fue menor con 1,9Ton/ha por debajo en relación con el tratamiento SBAR3 y 0,3Ton/ha por encima de SA, así mismo el tratamiento con suelo no salino estuvo por debajo del tratamiento SBAR3 con 0,5Ton/ha de diferencia.

El rendimiento nacional de cilantro se mide por su peso fresco en gramos (Estrada y Puga, 2008). Los rendimientos nacionales de cilantro son de 8Ton/ha (SMA, s.f), el tratamiento que se diferenció de los demás, alcanzó y superó esta cifra fue SFQ presentando un mayor tonelaje por hectárea con respecto a la producción nacional evidenciando la importancia de los fertilizantes en el desarrollo del cultivo de cilantro (Figura 17); sin embargo, cabe destacar que el segundo mejor rendimiento en comparación con los demás lo presentó el tratamiento SBAR3 con la mayor dosis de aplicación en suelo salino de bacterias provenientes de STARD y aunque no contenía la adición de estos nutrientes químicos pudo contribuir en la producción de cilantro. Por otra parte se puede apreciar que el suelo testigo absoluto SN obtuvo un valor de 1,7 Ton/ha por debajo del rendimiento nacional confirmando que la adición de nutrientes al suelo es importante para mantener el balance de elementos esenciales en el suelo. Castro y Gómez (2013) afirman que la fertilización está relacionada con el conjunto de actividades y condiciones que conllevan a asegurar a la planta las cantidades adecuadas de elementos esenciales para su nutrición con el



proceso fisiológico de alimentación de la misma. En este sentido y teniendo en cuenta que el tratamiento SBAR3 con la mayor dosis de inóculo de bacterias diazótrofas alcanzó un rendimiento de 0,5 Ton/ha mayor al tratamiento SN, se puede convertir en una alternativa interesante de aplicar para disminuir la fertilización nitrogenada que influye en una mayor contaminación de los suelos.

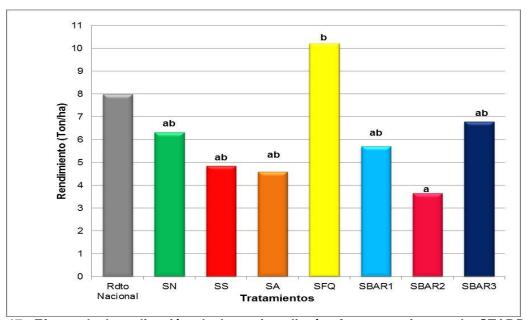


Figura 17. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD en el rendimiento de plantas de cilantro. Letras diferentes indican que los tratamientos presentan diferencias significativas (p<0,05).

En un estudio sobre el rendimiento del grano de arroz, Arévalo (2009) demostró en un ensayo que para todas las variedades estudiadas (cinco en total) cuando se aplicaron los biofertilizantes, los rendimientos fueron iguales estadísticamente al testigo (100% abonada química), demostrando que el uso de microorganismos mejora la disponibilidad de los nutrientes.

7.2.7 Nitrógeno Foliar

Los valores de la media encontrados para nitrógeno foliar variaron entre 2,08% para SBAR3 y 0,83% para SS, con un coeficiente de variación de 44,06% indicando la alta dispersión de los datos y la variabilidad de esta propiedad en las plantas. Se encontraron diferencias significativas entre el tratamiento testigo con suelo salino SS y los tratamientos SFQ y SBAR3 respectivamente (Figura 18).



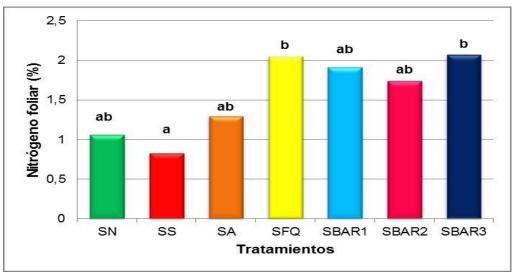


Figura 18. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD en el porcentaje de nitrógeno foliar en plantas de cilantro. Letras diferentes indican que los tratamientos presentan diferencias significativas (p<0,05).

Los tratamientos con aplicación de biofertilizantes LF se diferenciaron un poco de acuerdo a la cantidad de dosis aplicada y a las condiciones de germinación, el tratamiento SBAR2 con la dosis media de inoculación estuvo 0,2% y 0,4% por debajo de los tratamientos SBAR1 y SBAR3 respectivamente, aunque no se encontraron diferencias significativas entre los inóculos biofertilzantes SBAR y el inóculo comercial estos tratamientos con bacterias provenientes de STARD presentaron valores de nitrógeno foliar más altos comparados con el tratamiento de adición de *Azotobacter sp;* de igual forma se pudo apreciar que la mayor dosis de inóculo proveniente de STARD permitió obtener altas concentraciones de N muy similares a las encontradas con la fertilización química convencional indicando que el N fijado contribuyó a la nutrición de la planta. El tratamiento SBAR3 presentó un valor de 1,3% por encima del tratamiento testigo con suelo salino mostrando la adaptabilidad de las bacterias a este tipo de suelo y su aporte en la fijación de nitrógeno.

De Felipe Antón (2004) afirma que aunque la interacción de estos microorganismos con las plantas ha sido convenientemente estudiada, aún se está lejos de entender las complejas interrelaciones metabólicas y ecológicas que resultan en efectos beneficiosos o perjudiciales para los cultivos, y uno de los mayores retos es conseguir una descripción precisa y completa de estos complejos sistemas.

Por otra parte Pinilla y Sarmiento (2010) dicen que muchos de estos microorganismos establecen relaciones no patogénicas con las plantas, e incluso pueden favorecer su crecimiento y resistencia a limitaciones bióticas (frente a patógenos) y abióticas (sequía, salinidad, etc.). Se trata de microorganismos del suelo, hongos y bacterias, que se asocian a las raíces de las plantas (rizósfera) de manera natural y estrecha.



El valor de nitrógeno foliar para el tratamiento testigo absoluto con suelo no salino estuvo 1,0% por debajo del tratamiento con la mayor dosis de aplicación de biofertilizante SBAR revelando la importancia de la adición de microorganismos y/o nutrientes al suelo en el aporte de nitrógeno a las plantas. Usman et al., (2003), indican que en los tejidos foliares del cilantro se presentan concentraciones de 2.87 de N.

Se evidenció entonces que los tratamientos con inóculos diazotróficos provenientes de STARD obtuvieron los valores más altos de N foliar, similares a los hallados con la fertilización convencional. A pesar que no se encontraron diferencias significativas con el inóculo comercial, los inóculos provenientes de STARD obtuvieron valores más altos, para Pinilla y Sarmiento (2010) la biofertilización se aplica prácticamente a cualquier especie de interés agronómico (cereales, leguminosas, hortícolas, forestales, silvopastoriles) y proporciona ventajas con respecto a la aplicación de fertilizantes químicos, como son menores costos de producción que conllevan una mayor productividad; menor dependencia por fertilizantes químicos, y menor impacto ambiental que logra mayor sostenibilidad de los sistemas agrícolas a nivel local y global. Además, la biofertilización es imprescindible en la agricultura orgánica, con el consiguiente valor agregado de las producciones en los mercados ecológicos

En general los tratamientos que presentaron mejor comportamiento de las características morfológicas y agronómicas del cultivo de cilantro fueron el tratamiento con suelo testigo normal SN, tratamiento con fertilización química convencional SFQ y el tratamiento SBAR3 con la mayor dosis de inoculación, notándose la influencia de la fijación asimbiótica de nitrógeno realizada por los microorganismos provenientes de STARD adicionados al suelo con condiciones salinas. Jiménez (2013) evaluó el efecto de la inoculación de pastos con bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre en zonas áridas encontrando un efecto de asociación donde las dosis de inóculo promovieron el crecimiento vegetal de los genotipos evaluados.

7.3 EFECTO DE LA APLICACIÓN DE BACTERIAS DIAZÓTROFAS PROVENIENTES DE STARD SOBRE LAS VARIABLES DEL SUELO

Para el análisis del efecto de la inoculación con biofertilizante SBAR sobre las variables del suelo, se presentan en la tabla 8 los datos correspondientes a las condiciones iniciales y finales en cada uno de los tratamientos.



Tabla 8. Resultados de las variables de respuesta en las condiciones iniciales y finales del experimento

| | | CONDICIONES INICIALES | | | | CONDICIONES FINALES | | | | | |
|-------------------------------|-------|-----------------------|-----|---------|--------|---------------------|---------------|-----|---------|--------|----------------|
| TRATAMIENTOS | | C.E (ds/m) | рН | M.O (%) | NT (%) | NH3 (mg/kg) | C.E (ds/m) | рН | M.O (%) | NT (%) | NH3 (mg/kg) |
| SUELO TESTIGO NO SALINO | SN | 0,0705 | 5,8 | 4,34 | 0,65 | 28,6 | 0,097 | 5,3 | 4,88 | 0,59 | 26,6 |
| | SS | | | 3,12 | 0,28 | 37,5 | 0,446 | 7,9 | 4,03 | 0,31 | 35 |
| | SA | | | | | | 0,435 | 8,0 | 4,41 | 0,38 | 35,9 |
| SUELO | SFQ | 0,854 | 8,3 | | | | 0,401 | 7,8 | 4,32 | 0,34 | 35,9 |
| TESTIGO SALINO | SBAR1 | | | | | | 0,435 | 7,8 | 4,7 | 0,35 | 39,7 |
| | SBAR2 | | | | | | 0,402 | 7,8 | 4,65 | 0,42 | 76,1 |
| | SBAR3 | | | | | | 0,392 | 7,9 | 4,41 | 0,45 | 52,7 |

7.3.1 Conductividad Eléctrica

Para este análisis aunque estadísticamente se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos SN y SS, es importante afirmar que sus valores no son comparables debido a la diferencia en el contenido de sales entre estos dos tipos de suelos utilizados en el experimento. El análisis se realizó con los valores de conductividad eléctrica medidos en extracto de saturación.

La diferencia entre las condiciones iniciales y finales para el tratamiento SN fue de 0,02ds/m, presentándose un leve aumento de la conductividad eléctrica al final del experimento. Realizando la comparación entre las condiciones iniciales y finales de los tratamientos con suelo salino, en la conductividad eléctrica se presentó una diferencia de aproximadamente 50% de disminución en el contenido de sales al final del experimento, posiblemente debido al manejo de la lámina de riego que estuvo compuesta por la cantidad de agua necesaria para suplir la planta y realizar el lavado de sales en el suelo garantizando la inoculación de las bacterias y la germinación de las plantas.

Al final del experimento la media de conductividad eléctrica para los tratamientos con suelo salino varió entre 0,45dS/m para SS y 0,39ds/m para SBAR3, no se encontraron diferencias significativas entre estos tratamientos. Las diferentes dosis de biofertilizantes SBAR aplicadas al suelo salino presentaron los menores valores de C.E destacándose con la menor media el tratamiento SBAR3 mostrando una tendencia que menores niveles de sales en el suelo permiten generar mejores condiciones de desarrollo y crecimiento para el cultivo de cilantro, teniendo en cuenta que estos tratamientos comparados con los demás presentaron buenos comportamientos en las características morfológicas y agronómicas de la planta (Figura 19).

El tratamiento con biofertilizante comercial *Azotobacter sp* estuvo por encima del tratamiento SBAR3 con 0,043ds/m mostrando que a mayor dosis de inóculo de microorganismos se puede contribuir a mejorar la fijación de nitrógeno y disminuir la cantidad de sales en el suelo. El tratamiento SFQ presentó un mayor valor de C.E



con 0,009ds/m por encima de la media del tratamiento inoculado con la mayor dosis de biofertilizante proveniente de STARD. De igual forma el tratamiento testigo con suelo salino aunque mostró una disminución en el valor de C.E al final del experimento, estuvo 0,054ds/m por encima del tratamiento SBAR3; de acuerdo con (Villa et al., 2006), incrementos en la tasa de aplicación de N mejoran el funcionamiento de plantas estresadas por sales. En la mayoría de los casos los microorganismos que se encuentran presentes en los inoculantes pueden mejorar las propiedades degradadas de un suelo salino, principalmente haciendo un balance adecuado de los elementos que se encuentran en el suelo como calcio, magnesio y sodio, creando un ambiente favorable entre suelo-microorganismos-planta (Méndez, 2012).

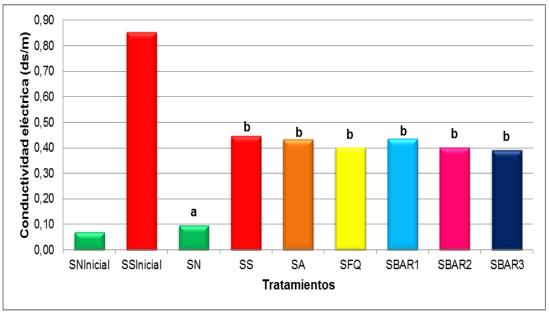


Figura 19. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD en la conductividad eléctrica del suelo con plantas de cilantro. Letras diferentes indican que los tratamientos presentan diferencias significativas (p<0,05).

De acuerdo con los datos de correlación entre las variables evaluadas de plantas y suelos (Anexo 6) existe una fuerte relación entre la conductividad eléctrica del suelo con la longitud de tallo y la materia orgánica presentando coeficientes de Pearson negativos que indican la proporcionalidad inversa de estas variables, las cuales generan un coeficiente de determinación de 69,77% y 42,19% respectivamente; es decir que a mayor C.E en el suelo la elongación o crecimiento de las plantas se puede ver afectado por el contenido de sales presentes, de igual manera si la materia orgánica aumenta en este caso gracias a la acción de agentes biofertilizantes como bacterias diazótrofas que pueden fijar nitrógeno de la atmósfera e incluso hacer un balance adecuado de elementos del suelo, muy posiblemente la conductividad eléctrica puede disminuir parcialmente. De esta forma Barua (2012) encontró que al realizar mejoras de suelos salinos con bacterias diazotrofas puede ser conveniente para la agricultura con beneficios en costos, sostenibilidad y manejo de la agricultura ecológica.



7.3.2 pH

En esta variable también se debe tener en cuenta la diferencia entre los dos tipos de suelo utilizados en el experimento haciendo que no sean comparables aunque el análisis estadístico muestre diferencias significativas entre los tratamientos SN y SS.

En el suelo testigo sin problemas de salinidad al final del experimento se presentó una disminución de 0,5 unidades de pH con respecto a las condiciones iniciales; en el suelo salino no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos aplicados sin embargo al final del ensayo experimental el valor de pH para todos los tratamientos con condiciones salinas disminuyó entre 0,3 y 0,5 unidades con respecto a las condiciones iniciales (Figura 20); teniendo en cuenta que el pH y la conductividad eléctrica son dos propiedades directamente proporcionales la disminución del pH se puede atribuir a la reducción de las sales presentes en el suelo como resultado de la lámina de riego aplicada donde se contempló el Kc para condiciones salinas realizándose el lavado del suelo, también por acción de las bacterias diazótrofas que pudieron haber intervenido en los procesos de asimilación de nutrientes del suelo generando un balance de elementos y por consiguiente una disminución en los niveles de conductividad eléctrica, Knelman et al., (2012) sugiere que la variación del pH en la composición de la actividad microbiana aumenta las tasas de fijación asimbiótica en los suelos que contienen estos microorganismos y que las interacciones microbio/suelo de plantas, en sí mismas, pueden promover cambios fundamentales en los procesos biogeoquímicos, tales como las tasas de fijación de N asimbiótica; es muy posible también que estas diferencias entre las condiciones iniciales y finales se hayan presentado por el proceso de absorción de sales realizada por la planta cuando las raíces captan los nutrientes de catión (Plaster, 2000).

Entre los tratamientos con suelo salino se destaca el tratamiento con la mayor dosis de aplicación de bacterias provenientes de STARD puesto que presentó una mayor reducción de C.E y de pH lo que podría ser una buena hipótesis para estudios posteriores. Los tratamientos SBAR3 y SA que compartían la misma dosis de inóculo, presentaron al final del experimento valores iguales de pH, el tratamiento SFQ presentó una diferencia mínima con respecto al tratamiento SBAR3, de igual forma el tratamiento testigo con suelo salino SS mostró igualdad de valor de pH con el tratamiento SBAR3. En conclusión los valores finales de pH en el ensayo experimental fueron muy análogos, debido a que el pH del suelo resulta de la interacción de los minerales del mismo y el intercambio de catión (Plaster, 2000) y al tratarse del mismo suelo en todos los tratamientos los cambios fueron muy similares.



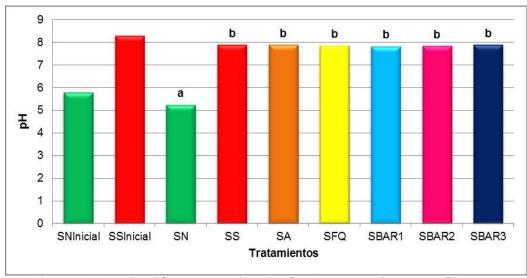


Figura 20. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD en el pH del suelo con plantas de cilantro. Letras diferentes indican que los tratamientos presentan diferencias significativas (p<0,05).

De acuerdo con las correlaciones de Pearson entre las variables de las plantas y el suelo de todos los tratamientos propuestos (Anexo 6), el pH muestra muy pocas correlaciones positivas significativas mayores a 0,6; de igual forma se presentan bajas correlaciones significativas positivas entre el pH y las dosis de las bacterias aplicadas al suelo (Anexo 7), estas relaciones permiten inferir que el pH del suelo es una propiedad muy influyente en el desarrollo de las plantas del cultivo de cilantro y es un factor limitante para la producción agrícola rentable y sostenida (Lora, 2013), adicionalmente García (2013) afirma que muchos estudios demuestran que a medida que los valores de pH incrementan, la relación C/N decrece, puesto que los procesos de mineralización son favorecidos por el pH.

7.3.3 Materia Orgánica

Los valores de la media para M.O del suelo variaron entre 4,88% para SN y 4,03% para SS, con un coeficiente de variación de 8,77% indicando la homogeneidad en los valores de la variable y la poca dispersión entre ellos. Sin embargo, teniendo en cuenta las diferencias entre los dos tipos de suelo usados en el ensayo experimental los tratamientos SN y SS no son comparables; en cuanto a los tratamientos con suelo salino se encontraron diferencias significativas entre SS y SBAR1 (Figura 21).

En todos los tratamientos los niveles de materia orgánica del suelo aumentaron con respecto a su valor inicial; en el suelo testigo sin problemas de salinidad hubo un incremento de 0,54%, mientras que en los tratamientos con suelo salino se presentaron aumentos entre 0,91% y 1,58% de acuerdo a los tratamientos aplicados. Teniendo en cuenta que la materia orgánica actúa como una reserva principal de nutrientes del suelo (Plaster, 2000) una de las razones de su aumento en los suelos de estudio se puede atribuir a los residuos de la cosecha principalmente de raíces, también a la adición de inóculos de bacterias diazótrofas debido a que los valores de



los tratamientos con biofertilizantes fueron los más altos. Según Sadeghian (2003) los niveles de materia orgánica han demostrado ser un buen indicador de la disponibilidad de nitrógeno.

Entre los tratamientos con aplicación de biofertilzantes SBAR se destaca el tratamiento SBAR1 que presentó un valor de M.O superior en 0,29% al tratamiento SBAR3 y en 0,05% por encima del tratamiento SBAR2. El tratamiento SBAR3 al final del experimento presentó el mismo porcentaje de materia orgánica con el tratamiento SA con el cual compartió la misma dosis de inoculante. Con respecto a los tratamientos SFQ y SS el tratamiento SBAR1 estuvo por encima 0,38% y 0,67, respectivamente.

La prevalencia del tratamiento SBAR1 en el resultado final de M.O se puede traducir en que este tratamiento con la menor dosis de aplicación de bacterias diazótrofas obtuvo los mejores valores de número de plantas, número de hojas y masa seca, contribuyendo en la cosecha con un mayor número de residuos vegetales. Sin embargo es importante resaltar el comportamiento positivo de las bacterias diazótrofas aplicadas al suelo salino en cuanto al aporte de nitrógeno.

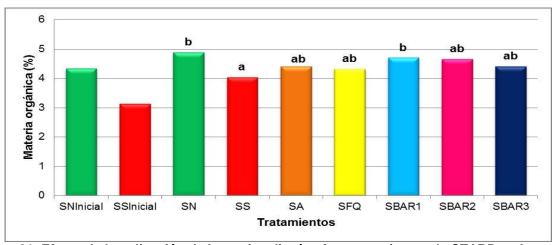


Figura 21. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD en la materia orgánica del suelo con plantas de cilantro. Letras diferentes indican que los tratamientos presentan diferencias significativas (p<0,05).

7.3.4 Nitrógeno Total

En el análisis estadístico los valores de la media para nitrógeno total al final del experimento oscilaron entre 0,31% para SS y 0,58% para SN con un coeficiente de variación de 24,28%, teniendo en cuenta las diferencias entre los dos tipos de suelo usados en el ensayo experimental los tratamientos SN y SS no son comparables; en cuanto a los tratamientos con suelo salino se encontraron diferencias significativas entre el tratamiento SS con SBAR2 y el tratamiento SBAR3 con los tratamientos SS y SFQ respectivamente(Figura 22).

Los tratamientos con aplicación de inóculo de bacterias provenientes de STARD presentaron valores muy similares de nitrógeno total y directamente proporcionales a



la cantidad de dosis, es decir a mayor dosis de aplicación de inóculo mayor media de nitrógeno total en el suelo salino, por lo tanto el tratamiento SBAR3 aunque no presentó diferencias significativas con los otros tratamientos mostró un mayor valor de nitrógeno total entre los tratamientos con biofertilizante. Mejía de Tafur (1995) en su ensayo con cilantro no encontraron respuestas significativas entre los niveles de N debido posiblemente a que la adecuada concentración de K en la solución nutritiva ayudó a la absorción y metabolismo del N.

La media de nitrógeno total obtenida por el tratamiento SA estuvo entre las medias de los tratamientos SBAR1 y SBAR2 e incluso 0,07% por debajo del tratamiento con biofertilizante SBAR3 con el cual compartía igual cantidad de dosis; este comportamiento pudo haberse dado porque el uso de *Azotobacter sp* se ha limitado a suelos con bajos contenidos de N, por el contario las bacterias provenientes de STARD presentan buena adaptabilidad en medios con contenidos altos de amonio (Pérez, 2011) permitiendo establecer una alternativa interesante para complementar la fertilización nitrogenada en suelos salinos que presentan restricción en el uso de fertilizantes.

De manera muy similar el tratamiento con mayor dosis de biofertilizante SBAR se diferenció estadísticamente y estuvo 0,11% por encima de la media del tratamiento con fertilización química SFQ ratificando la importancia de la adición de bacterias fijadoras al suelo en el aporte de nitrógeno y en la disminución de la fertilización nitrogenada, la suposición se confirma al comparar la media del suelo salino que se distinguió estadísticamente de los tratamientos con inoculación de bacterias SBAR2 y SBAR3 estando por debajo de sus medias con 0,11% y 0,14% respectivamente. Sin embargo la mayor media de los tratamientos con microorganismos SBAR3 presentó un valor menor al del tratamiento testigo absoluto con 0,13% por debajo.

Con respecto al valor inicial de nitrógeno total todos los tratamientos con suelo salino presentaron un aumento al final del experimento, donde predominaron los tratamientos con aplicación de biofertilizantes SBAR indicando la influencia de estos microorganismos en el aporte de nitrógeno al suelo y por lo tanto a la planta, en cuanto al tratamiento testigo absoluto con suelo no salino el valor final de nitrógeno total disminuyo 0,07% con respecto a su valor inicial.

En un estudio realizado por Embrapa Agrobiología se encontró que el efecto de la inoculación con bacterias diazotróficas en el rendimiento de la caña de azúcar fue similar a la aplicación de 120kg Nha⁻¹año⁻¹ y el rendimiento aumento en más del 25%, este tipo de estudios ofrecen grandes perspectivas para una mejor comprensión del proceso de FBN en beneficio de la economía de N-fertilizante (Urquiaga, 2010).



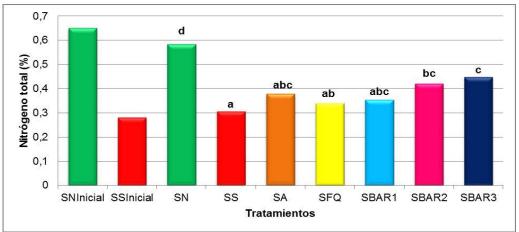


Figura 22. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD en el nitrógeno total del suelo con plantas de cilantro. Letras diferentes indican que los tratamientos presentan diferencias significativas (p<0,05).

7.3.5 Nitrógeno Amoniacal

Los valores de la media para nitrógeno amoniacal al final del experimento oscilaron entre 35mg/kg para SS y 76.1mg/kg para SBAR2 con un coeficiente de variación de 49,92%,teniendo en cuenta que estadísticamente los tratamientos SN y SS no son comparables, se encontraron diferencias significativas entre todos los tratamientos con suelo salino y el tratamiento SBAR2 (Figura 23).

Aunque los tratamientos con aplicación de bacterias diazotróficas presentaron los valores más altos de nitrógeno amoniacal se dieron diferencias significativas entre los tratamientos SBAR1 y SBAR2 donde el tratamiento con la dosis media de biofertilizante presentó un valor de 36.4mg/kg por encima.

Con respecto al tratamiento con *Azotobacter sp*, se encontró una diferencia por debajo de 40,2mg/kg frente al tratamiento SBAR2, de igual forma el tratamiento SFQ presentó la misma diferencia con el biofertilizante SBAR, indicando la influencia de los microorganismos provenientes de STARD en la fijación biológica de nitrógeno como una buena alternativa de uso para disminuir la fertilización química nitrogenada.

Con respecto al suelo salino, el tratamiento testigo SS presentó una disminución en el valor de nitrógeno amoniacal frente a los otros tratamientos con 41,07mg/kg por debaio del tratamiento SABR2.

De acuerdo con los valores iniciales de nitrógeno amoniacal, al final del experimento los valores de la media de los tratamientos presentaron una disminución, a excepción de los tres tratamientos inoculados con bacterias provenientes de STARD, indicando que estos microorganismos tienen la capacidad de fijar aún en presencia de nitrógeno en el suelo.





Figura 23. Efecto de la aplicación de bacterias diazótrofas provenientes de STARD en el nitrógeno amoniacal del suelo con plantas de cilantro. Letras diferentes indican que los tratamientos presentan diferencias significativas (p<0,05).

En el ciclo del nitrógeno los procesos de nitrificación y denitrificación liberan óxido nitroso a la atmósfera como gas de efecto invernadero, problema creciente con el uso de fertilizantes nitrogenados. En relación con la fijación biológica de nitrógeno Brasil fue el pionero y hoy la más promisioria asociación es la que ocurre con la bacteria *Acetobacter diazotrophicus* y la caña de azucar (Asakawa, 2010).

De igual forma los procesos de biofertilización además de generar un aporte de nutrientes de manera sostenible a las plantas aportaron una enmienda orgánica al suelo y una recuperación de los procesos naturales endémicos del mismo, condiciones que se vieron evidenciadas con el aumento del porcentaje de materia orgánica, de nitrógeno total y de nitrógeno amoniacal en los tratamientos inoculados, resultados asociados al crecimiento de biomasa por procesos simbióticos en la rizósfera y residuos de elementos biológicos al momento de realizar la cosecha.

7.4 BALANCE DE NITRÓGENO

Como una aproximación inicial sobre la dinámica del nitrógeno en el suelo, se realizó un balance de entradas y salidas de N para cuantificar la fijación realizada por bacterias diazótrofas provenientes de STARD con la finalidad de evidenciar la importancia y la naturaleza de las pérdidas en el sistema suelo-planta usando Cilantro como planta indicadora.

El nitrógeno puede perderse por lixiviación, erosión y escorrentía o por emisiones gaseosas. La relativa importancia de estos procesos puede variar ampliamente, dependiendo del sistema agrícola y del medio ambiente (Jiménez, 2008).

En este caso particular las pérdidas por lixiviación se despreciaron al asumir valores muy bajos para esta condición, teniendo en cuenta que el suministro de las láminas de riego fue el adecuado para evitar el exceso de agua en las materas y por ende la



extracción de nutrientes. Para las pérdidas por volatilización se asumió el 30% del nitrógeno total inicial (Voss et al., 2013). .

$$FBN : Nsi + Nfb = Nf + Nsf + Nvolt$$

$$FBN : Nsi + Nfb = Nf + Nsf + 0.3*(Nsi + Nfb)$$

Dónde:

FBN: Fijación Biológica de Nitrógeno

Nsi: Nitrógeno suelo inicial

Nfb: Nitrógeno fijación biológica

Nf: Nitrógeno foliar

Nsf: Nitrógeno suelo final

Nvolt: Nitrógeno volatilizado

Tabla 9. Cuantificación de la fijación de nitrógeno realizada por bacterias diazótrofas

| TRATAMIENTOS | | TÉRMINOS | | | FBN | |
|--------------|---------|------------------------|------|---------|-----------|-------------|
| TRATAMIENTOS | Nsi (%) | Nsi (%) Nf (%) Nsf (%) | | Nfb (%) | Nfb (ppm) | Nfb (Kg/ha) |
| SBAR1 | 0,28 | 1,9 | 0,35 | 2,96 | 29600 | 0,110 |
| SBAR2 | 0,28 | 1,7 | 0,42 | 2,75 | 27500 | 0,102 |
| SBAR3 | 0,28 | 2,1 | 0,45 | 3,36 | 33600 | 0,125 |
| SA | 0,28 | 1,6 | 0,38 | 2,55 | 25500 | 0,095 |

De acuerdo con los datos de la tabla 9, el tratamiento inoculado con bacterias diazótrofas provenientes de STARD que presentó un mayor valor de fijación biológica de nitrógeno FBN fue el tratamiento SBAR3 con una dosis de 0,101ml de inóculo.

Sin embargo las tasas de fijación son bajas comparadas con la estimación de la fijación biológica asimbiótica de N que aporta menos de 15 kg/N/año (Paul, 2007).

7.5 RELACIÓN ENTRE VARIABLES AGRONÓMICAS Y VARIABLES DEL SUELO

Se realizó el análisis de correlación directa con el coeficiente de Pearson entre cada una de las variables de respuesta con una significancia de 0,05% (Anexo 6) y regresión lineal dependiendo del grado de relación entre ellas; en la tabla 10 se presentan las relaciones más significativas. No se encontraron diferencias significativas mayores a 0,6.



Tabla 10. Coeficiente de determinación entre variables agronómicas y variables del suelo. (Significancia 0.05%).

| RELACIÓN DE VARIABLES | COEFICIENTE DE PEARSON | COEFICIENTE DE REGRESIÓN |
|--------------------------------------|------------------------|--------------------------|
| Número de flores_Nitrógeno Total | 0,41 | 0,51 |
| Nitrógeno Amoniacal_Nitrógeno Foliar | 0,37 | 0,20 |
| Nitrógeno Foliar_Rendimiento | 0,43 | 0,22 |
| Masa Fresca_ Nitrógeno Foliar | 0,43 | 0,22 |
| pH_Número de plantas a la cosecha | -0,35 | 0,57 |
| C.E_Longitud de tallo | -0,40 | 0,70 |
| C.E_Materia Orgánica | -0,40 | 0,42 |

La variable nitrógeno foliar en relación con sus variables correlacionadas presentó relaciones positivas con bajos coeficientes de determinación en comparación con las otras relaciones de variables, sin embargo mostró una comportamiento lineal.

De igual forma se obtuvo un positivo coeficiente de correlación entre el número de flores y el nitrógeno total presentando un comportamiento lineal.

A relacionar el pH con el número de plantas a la cosecha se presentó una relación negativa y un coeficiente de correlación medio, mostrando una tendencia lineal.

La conductividad eléctrica relacionada con la longitud de tallo y la materia orgánica mostró relaciones negativas con una tendencia lineal, presentando un mayor coeficiente de determinación con la longitud de tallo.

De la matriz de correlación de Pearson (Anexo 6), se puede decir; a excepción del pH, nitrógeno amoniacal y nitrógeno foliar; que la mayoría de las variables agronómicas y del suelo presentan un coeficiente de correlación negativo con la conductividad eléctrica.

7.6 RELACIÓN ENTRE DOSIS DE INÓCULO Y VARIABLES

Para determinar la cantidad de inóculo de bacterias diazótrofas más recomendable para la adaptación en suelos de condiciones salinas, se realizó el análisis de correlación directa con el coeficiente de Pearson entre cada una de las variables y las dosis de inóculo (Anexo 7), seguidamente dependiendo del grado de relación entre ellas a una significancia de 0,05% se formularon regresiones lineales para conocer el coeficiente de determinación (Tabla 11).



Tabla 11. Coeficiente de determinación entre variables y dosis de inóculo (Significancia 0,05%) SBAR1: 0,083 ml, SBAR2: 0,092 ml, SBAR3:0,101 ml

| | TRATAMIENTOS CON INÓCULO | | |
|---|--------------------------|-------|-------|
| RELACIÓN DE VARIABLES | SBAR1 | SBAR2 | SBAR3 |
| Nitrógeno foliar_Porcentaje de germinación 8dds | 0,509 | 0,561 | 0,317 |
| Nitrógeno foliar_Rendimiento | 0,043 | 0,689 | 0,292 |
| Nitrógeno foliar_Masa fresca | 0,045 | 0,691 | 0,293 |
| Masa seca_Diámetro de tallo | 0,129 | 0,699 | 0,819 |
| Número de flores_Diámetro de tallo | 0,469 | 0,056 | 0,457 |
| Número de flores_Rendimiento | 0,001 | 0,693 | 0,815 |
| Número de flores_Masa fresca | 0,000 | 0,705 | 0,811 |
| Número de flores_Masa seca | 0,001 | 0,514 | 0,799 |
| Numero de hojas_pH | 0,292 | 0,133 | 0,79 |

La dosis de inóculo de bacterias diazotróficas proveniente de STARD para el tratamiento SBAR1 con 0,083 ml presentó bajos coeficientes de determinación en comparación con los otros tratamientos, solo se distinguió la relación entre número de flores-diámetro de tallo. En el tratamiento SBAR2 con una dosis de 0,092 ml se diferenciaron con mejor coeficiente de determinación las relaciones de variables entre nitrógeno foliar con porcentaje de germinación 8dds, rendimiento y masa fresca. El tratamiento SBAR3 con 0,101 ml de dosis de inóculo presentó altos coeficientes de determinación para la relación de variables entre masa seca-diámetro de tallo, número de flores-rendimiento, número de flores-masa fresca, número de flores-masa seca y número de hojas-pH.

De las tres dosis de inóculo de biofertilizante aplicado al suelo salino se distinguieron los tratamientos SBAR2 y SBAR3 con dosis de inóculo de 0,092 ml y 0,101 ml respectivamente, de acuerdo con el análisis obtenido de cada una de las variables analizadas y con las correlaciones presentadas se puede decir que ambas dosis presentaron adaptabilidad al suelo salino y contribuyeron con el aporte de nitrógeno en el desarrollo de la planta de cilantro, sin embargo es importante diferenciar que el tratamiento SBAR3 mostró entre otros, mejores resultados de masa fresca, rendimiento y fijación biológica de nitrógeno

Considerando entonces que la comercialización y el rendimiento del cultivo de cilantro se miden por su masa fresca y que el aporte de nitrógeno puede contribuir a disminuir la fertilización nitrogenada en suelos salinos, se estimó la dosis de 0,101 ml como la cantidad de inóculo de bacterias diazótrofas más recomendable para la adaptación en suelos de condiciones salinas.



8 CONCLUSIONES

Las bacterias diazótrofas provenientes de lagunas facultativas de un sistema de tratamiento de aguas residuales domésticas, lograron adaptarse a las condiciones de suelos salinos del Valle del Cauca, de acuerdo con las características presentadas en el análisis de las diferentes variables donde se encontraron pocas diferencias significativas con el suelo no salino, contribuyendo además con la fijación asimbiótica de nitrógeno.

En cuanto a la fijación de nitrógeno, el consorcio microbiano de laguna facultativa utilizado como biofertilizante obtuvo mejor resultado comparado con un biofertilizante a base de *Azotobacter Chroococcum*, al presentar mayores valores de nitrógeno foliar, total, y amoniacal y en variables agronómicas como número de plantas, número de hojas y diámetro de tallo; igualmente con los porcentajes de nitrógeno fijado de acuerdo al balance se hallaron mejores valores de fijación por parte de las bacterias provenientes de STARD.

El uso de bacterias diazótrofas en suelos salinos como medio para la fijación asimbiótica de nitrógeno presentó resultados similares y competitivos a los obtenidos con la fertilización química convencional en variables foliares y edáficas; como semejantes se encontró que a nivel de la planta se elevaron las concentraciones de nitrógeno foliar contribuyendo a la nutrición de la misma; en cuanto a las características de número de plantas, hojas, flores, longitud de tallo, diámetro de tallo y rendimiento los resultados evidenciaron una influencia positiva en cuanto a la producción de cilantro y con referencia a los resultados competitivos el biofertilizante SBAR obtuvo mejores valores para nitrógeno total y amoniacal.

La capacidad de fijación de nitrógeno del biofertilizante SBAR contribuyó a suplir la demanda de nitrógeno por parte de la planta de cilantro en cuanto a su requerimiento de concentración en los tejidos foliares, de igual forma favoreció el aumento del porcentaje de materia orgánica, de nitrógeno total y de nitrógeno amoniacal, permitiendo también el depósito de contenido residual en el suelo para un uso posterior de otras siembras.

De acuerdo con los resultados obtenidos mediante la aplicación de diferentes dosis de biofertilizante SBAR en el suelo salino, es posible que las dosis utilizadas hayan resultado ser bajas para lograr cambios significativos con respecto al suelo testigo, teniendo en cuenta que las condiciones del suelo salino pudieron ser determinantes para afectar negativamente el crecimiento y desarrollo de las bacterias; sin embargo la adaptación y sobrevivencia de estos microorganismos en ambientes extremos las hace constituirse en un recurso biotecnológico estratégico para el manejo de la fertilización nitrogenada de sistemas productivos.

Se recomienda como la dosis de inóculo de bacterias más adecuada para su adaptación en suelos salinos la correspondiente al tratamiento SBAR3 con un volumen de 0,101 ml de inóculo determinada como el 10% más de la dosis recomendada para el inóculo comercial *Azotobacter sp.*



9 RECOMENDACIONES

En estudios futuros, para una determinación más detallada de la salinidad del suelo además de ser definida por el pH y la conductividad eléctrica (C.E) en pasta de saturación, se debe establecer el PSI (Porcentaje de Sodio Intercambiable) para su completo análisis; siendo importante también al final del experimento determinar la C.E mediante la pasta de saturación en todos los tratamientos.

Teniendo en cuenta que el uso de bacterias diazótrofas provenientes de STARD puede ser una alternativa biotecnológica posible para el manejo complementario de la fertilización nitrogenada, se deben realizar investigaciones que continúen estudiando el potencial uso de estos consorcios microbianos en diferentes sistemas productivos, para identificar posibles cambios más significativos en las características agronómicas del cultivo y las propiedades del suelo.

Es importante continuar con la evaluación de las bacterias diazotróficas provenientes de STARD tanto en suelos salinos como en otros tipos de suelos, utilizando diferentes dosis de biofertilizante, que permitan realizar una comparación más completa con los fertilizantes químicos.

Para un estudio más a fondo se puede evaluar el efecto de la combinación de fertilizantes fosfatados y potásicos con los consorcios microbianos establecidos, además compararlos con la mezcla convencional de fertilizantes químicos (fósforo, potasio y nitrógeno) como una alternativa de disminución en el gasto energético y en la contaminación generada por la fertilización nitrogenada.

En investigaciones futuras se puede realizar la evaluación por un periodo más largo de tiempo que incluya varias cosechas del cultivo establecido, para determinar los cambios generados en el tiempo; haciendo seguimientos con pruebas moleculares y genéticas que permitan evaluar la ecología edáfica una vez introducidos los consorcios bacterianos.



10 BIBLIOGRAFÍA

- Abela, J. (2009). Importancia y fuunción de la fijación biólogica de Nitrógeno en el cultivo de la soya. *Fundacruz*, 127 134.
- Almstrand, R., Lydmark, P., Sorensson, F., & Hermansson, M. (2011). Nitrification potential and population dynamics of nitrifying bacterial biofilms in response to controlled shifts of ammonium concentrations in wastewater trickling filters. *Bioresource Technology*, 102, 7685 7691.
- Aparicio, M., Arrese, C., & Becana, P. (2008). Fijación biológica de nitrógeno. En J. Azcón, & M. Talón, *Fundamentos de Fisiología Vegetal* (págs. 305 307). Madrid: McGrawHill.
- Arévalo, E. (2009). Conozca los efectos de la biofertilización en cuatro variedades de arroz. En J. Pinilla, & N. Sarmiento, *Aplicación de insumos biológicos: Una opotunidad para la agricultura sostenible y amigable con el medio ambiente* (págs. 8 12). Bogotá: Revista Colombiana de Biotecnología.
- Asakawa, N. (2010). Los microorganismos y las biointeracciones en el suelo. En A. C. Azúcar, *Memorias de nutrición y fertilización de la caña de azucar* (pág. 179). Cali: Tecnicaña.
- Atlas, R., & Bartha, R. (2010). *Ecología Microbiana y Microbiología Ambiental*. Madrid: Pearson educación.
- Barrera, J., Suaréz, D., & Melgarejo, L. (2010). *Análisis de crecimiento en plantas. Experimentos en fisiología vegetal*. Laboratorio de fisiología y bioquímica vegetal. Universidad Nacional de Colombia.
- Barua, S., Tripathi, S., Chakraborty, A., Ghosh, S., & Chakrabarti, K. (2012). Characterization and crop production efficiency of diazotrophic bacterial isolates from coastal saline soils. *Microbiological Research*, *167*, 95 102.
- Bellenger, J., Xu, J., Zhang, X., Morel, F., Kraepiel, A., Maikipaa, R., y otros. (2013). Possible contribution of alternative nitrogenases to nitrogen fixation by asymbiotic N2-fixing bacteria in soils. *Soil Biology y Biochemistry*, 413 420.
- Biocultivos. (2009). Ficha Tecnica Azotobacter Chroococcum. Recuperado el Abril de 2013, de www.biocultivos.com.co/dctos/Ficha+Tecnica+Azotobacter+Chroococcum.pdf
- Bitton, G. (2002). *Encyclopedia of environmental microbiology.* USA: John Wiley y Sons, Inc.
- Bonilla, R. (2008). La fertilización biológica como complemento a la fertilización química. En S. C. SCCS, *Actualización en fertilización de cultivos y uso de fertilizantes* (págs. 211 215). Bógota: SCCS.



- Cadavid, L. (2011). Manual de nutrición vegetal. Una visión de los aspectos nutricionales del cultivo de la yuca. Cali: CARAMBA Desing.
- Cárdenas, D. (2007). Aislamiento y caracterización de cepas de Azospirillum sp. con potencial biofertilizante en pasto guinea (Panicum maximun) del Valle del Cesar. Tesis de maestría. Universidad Militar Nueva Granada, Tesis de maestría en Biología aplicada. Bogotá: Universidad Militar Nueva Granada.
- Castillo, F. (2005). Biotecnología ambiental. Madrid: Tebar.
- Castro, G., & Gómez, M. (2013). Fertilidad de suelos y fertilizantes. En H. Burbano, & F. Silva, *Ciencia del Suelo. Principios básicos* (págs. 217 218). Bogotá: Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo. SCCS.
- Ciceana. (s.f). Centro de Información y Comunicación Ambiental de Norte América.

 Recuperado el Marzo de 2013, de www.ciceana.org.mx/recursos/ciclo%20del%20nitrogeno.pdf
- Coelho, M., Mariel, I., Jenkins, S., Lanyon, C., Seldin, L., & O"Donnel, A. (2009). Molecular detection and quantification of nifH gene sequences in the rhizosphere of sorghum (Sorghum bicolor) sown with two levels of nitrogen fertilizer. *Applied Soil Ecology*, 42, 48-53.
- Cruz, J. (2010). Sistema Planta-agua y su relación con la fertilización. En A. C. Azúcar, *Memorias de nutrición y fertilización de la caña de azúcar* (pág. 27). Tecnicaña.
- De Felipe Antón, R. (2004). Interacciones microorganismos-suelo-planta en la preservación del medio ambiente y la salud. *Real Academia Nacional de Farmacia*, 743 776.
- Delgadillo, O., Camacho, A., Pérez, L., & Andrade, M. (2010). *Depuración de aguas residuales por medio de humedales artificiales*. Universidad Mayor de San Simón, Centro Andino para la Gestión y Uso del Agua (Centro Agua). Bolivia: Centro Andino para la Gestión y Uso del Agua (Centro AGUA).
- Díaz, P., Gonnet, S., Irisarri, P., Milnitsky, F., & Monza, J. (2012). *Consideraciones sobre metabolismo de nitrógeno en plantas.* Montevideo: Universidad de la República de Uruguay.
- Domínguez, A. (1997). Tratado de Fertilización. Madrid: Mundi Prensa.
- Espín, G. (2010). *Biología de Azotobacter vinelandii*. Recuperado el Marzo de 2013, de www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/Cap6
- Estrada, S. E. I., & Puga, S. B. E. (2008). Producción y beneficio de semilla de cilantro. *Acta Agronómica*, 187-193.
- FAO. (1994). La calidad del agua para la agricultura. Problemas de salinidad. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.



- FAO. (1995). *Manual Técnico de la fijación simbiótica de Nitrógeno.* Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
- FAO. (2002). Los fertilizantes y su uso. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
- FAO. (2006). Evapotranspiración del cultivo. Guías para la determinación de los requerimientos de agua de los cultivos . Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación .
- Félix , E. (2013). *Tendencias actuales de los fertilizantes y perspectivas para 2016.* México: Agencia de Servicios a la Comercialización y Desarrollo de Mercados Agroecuarios. ASERCA.
- García, A. (2013). Manejo de la degradación del suelo. En SCCS, Ciencia del suelo:Peincipios básicos (págs. 342 347). Bogotá: Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo. SCCS.
- García, J. (2013). *Manejo eficiente de nutrientes en el cultivo del maíz en Colombia.*Bogotá: Federación Nacioanal de Cultivadores de Cereales y de Leguminosas de Grano. FENALCE.
- Garrido, M. (2007). Aislamiento e identificación de bacterias diaotróficas rizosféricas y endófitas asociadas a suelos y pastos del Valle y sabana del Cesar en dos épocas climáticas. Tesis de maestría. Bogotá: Universidad Militar Nueva Granada.
- Geisseler, D., Horwath, W., Joergensen, R., & Ludwig, B. (2010). Pathways of nitrogen utilization by soil microorganisms. *Soil Biology y Biochemistry*, 2058 2067.
- Glynn, J., & Gary, W. (1999). *Ingeniería Ambiental. Microbiológia y Epidemiológia.* México: Pearson Educación.
- González, C., Estavillo, J., González, B., & González, A. (2008). Fertilización nitrogenada y sostenibilidad:Contaminación ambiental frente a producción y calidad. España: Álava:Universidad del País Vasco.
- González, C., González, M., & Estavillo, J. (2003). Nitrógeno, Agricultura y Medio Ambiente. En M. Reigosa, N. Pedrol, & A. Sánchez, *La Ecofisiologia Vegetal: Una ciencia de síntesis* (pág. 387). España: Paraninfo.
- Goudriaan, J., & Van Laar, H. (1995). Modelling potential growth processes. En J. Barrera, D. Suárez, & L. Melgarejo, *Análisis de crecimiento en plantas* (págs. 25 30). Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
- Grazia, J., Tittonell, P., & Chiesa, A. (2001). Efecto de la época de siembra, radiación y nutrición nitrogenada sobre el patrón de crecimiento y el rendimiento del cultivo de lechuga (Lactuca sativa L). En V. Hoyos, M. Rodríguez, J. Cárdenas, & H. Balaguera, *Análisis de crecimiento de espinaca (Spinaca*



- oleracea L) bajo el efecto de diferentes fuentes y dosis de nitrógeno (págs. 175-187). Bogotá: Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas.
- Hoyos, V., Rodríguez, M., Cárdenas, J., & Balaguera, H. (2009). Análisis del crecimiento de espinaca (Spinaca oleracea L) bajo el efecto de diferentes fuentes y dosis de nitrógeno. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 175 187.
- IDEAM. (2004). Base de datos de la estación hidroclimatologica principal de la Universidad del Valle, Serie 1979 2004. Bogotá: Instituto de hidrología, Meteorología y Medio Ambiente.
- IGAC. (2006). *Métodos analiticos del labotarorio de suelos.* Cali: Instuto Geografico Agustin Codazzi.
- IGAC, CVC. (2004). Levantamiento de suelos y zonificación de tierras del departamento del Valle del Cauca. Tomo 2. Bogotá: Subd. Agrol.
- INPOFOS. (1997). *Manual internacional de fertilidad de suelos: El nitrógeno.* Ecuador: Instituto del Potasio y el Fósforo.
- Iñareta, J., Sánchez, L., & Malumbres, A. (2010). Importancia agronomica y medioambiental de la fertilización. *Navarra Agraria*, 9 14.
- Jaramillo, D. (2002). *Introducción a la Ciencia del Suelo.* Medellín: Universidad Nacional de Colombia.
- Jiménez, F. (2008). Actualización en fertilización de cultivos y uso de fertilizantes. Bogotá: Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo. SCCS.
- Jiménez, R. (2013). *Inoculación de pastos con bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre en zonas áridas de México. Tesis.* Montecillo, México: Institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas.
- Juárez, M., Sánchez, A., & Sánchez Sánchez, A. (2006). *Química del suelo y medio ambiente*. España: Universidad de Alicante.
- Jurado, J., & Torres, V. (2012). Estimación del coeficiente multiplicador (C) de la evapotranspiración para un cultivo de Estevia (STEVIA REBAUDIANA BERTONI). Tesis. Cali: Universidad del Valle.
- Kahindi, J., Woomer, P., George, T., Moreira, F., & Karanja, N. (1997). Agricultural intensification, soil biodiversity and ecosystem function in the tropics: the role of nitrogen-fixing bacteria. *Applied Soil Ecology*, 55 76.
- Kavadia, A., Vayenas, D., Pavlou, S., & Aggelis, G. (2007). Dynamics of free-living nitrogen-fixing bacterial populations in antagonistic conditions. *Ecological modelling*, 243 257.



- Kennedy, A., Stubbs, T., & Schillinger, W. (2006). Soil and crop management effects on soil microbiology. En D. Vera, *Impactos y perspectivas de investigación con microorganismos del suelo en la sostenibilidad de los agroecosistemas* (pág. 67). Bogotá: Instituto Geografico Agustin Codazzi.
- keuter, A., Veldkamp, E., & D-corre, M. (2014). Asymbiotic biological nitrogen fixation in a temperate grassland as affected by management practices. *Soil Biology y Biochemistry*, 38 46.
- Kim, Y., Park, H., Cho, K., & Park, J. (2013). Long term assessment of factors affecting nitrifying bacteria communities and N-removal in a full-scale biological process treating high strength hazardous wastewater. *Bioresource Technology*, 180 189.
- Kingston, E., Bowersox, V., Claybrooke, R., & Zorilla, G. (2000). *National Nitrogen in Rain*. USA: National Atmospheric Deposition Program. NADP.
- Knelman, J., Legg, T., O"neill, S., Washenberger, E., González, A., Cleveland, C., y otros. (2012). Bacterial community structure and function change in association with colonizer plants during early primary succession in a glacier forefield. *Soil Biology y Biochemistry*, 172 180.
- Lamsfus, C., Lasa, B., Apaicio, P., & Irigoyen, I. (2003). Implicaciones ecofisiológicas y agronómicas de la nutrción nitrogenada. En M. Reigosa, N. Pedrol, & A. Sánchez, *La ecofisiología vegetal: Una ciencia de síntesis* (pág. 363). España: Paraninfo.
- Lara, C., Villalba, M., & Oviedo, L. (2007). Bacterias fijadoras asimbióticas de nitrógeno de la zona agrícola de San Carlos. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 6 14.
- Leppanen, S., Salemma, M., Smolander, A., Maikipaa, R., & Tiirola, M. (2013). Nitrogen fixation and methanotrophy in forest mosses along a N deposition gradient. *Environmental and Experimental Botany*, 62 69.
- Lora, R. (2013). Propiedades químicas del suelo. En H. Burbano, & F. Silva, *Ciencia del suelo. Principios básicos* (pág. 117). Bogotá: Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo. SCCS.
- Marín, G. (2010). Determinación de los requerimientos hídricos del cilantro (Coriandrum Sativum), variedad Unapal precoso y su relación con el desarrollo del cultivo, la produción y la calidad, comparando un periodo seco y húmedo de siembra del cultivo en el año. Tesis. Palmira: Universidad Nacional de Colombia.
- McKee, T., & McKee, J. (2009). *Bioquímica: Las bases moleculares de la vida. Metabolismo del Nitrógeno.* México: McGraww-Hill Interamericana.



- Mejía de Tafur, M., Estrada, E., & Figueroa, O. (2008). Respuesta fisiológica del cilantro a diferentes niveles de potasio y nitrógeno. Palmira: Universidad Nacional de Colombia.
- Méndez, C. (2012). Evaluación de las propiedades fisicoquímicas de un suelo sódico con inoculante biológico. Tesis. Cali: Universidad del Valle.
- Mohr, S. (1995). Plant physiology. En J. Barrera, D. Suárez, & L. Melgarejo, *Análisis de crecimiento en plantas* (págs. 25 30). Palmira: Universidad Nacional de Colombia.
- Monge, J., Goméz, P., & Rivas, M. (2002). *Biología General.* Costa Rica: Universidad Estatal a Distancia.
- Morales , P. (1995). Fundación de desarrollo agropecuario. Cultivo de Cilantro, Cilantro ancho y Perejil. Boletín técnico # 25. Recuperado el Mayo de 2014, de www.rediaf.net.do/publicaciones/guías/download/cilantro.pdf
- Nannipieri, P., & Eldor, P. (2009). The chemical and functional characterization of soil N and its biotic components. *Soil Biology y Biochemistry*, 2357 2067.
- Nieto, J., Quesada, E., & Ventosa, A. (1998). *Introducción a la microbiologia*. Barcelona: Reverté.
- Ortega, D., & Morales, J. (1997). Uso racional del agua. En M. Pizano, *Floricultura y Medio Ambiente: La experiencia colombiana.* Bogotá: HortiTecnia.
- Patnaik, G. K., Kanungo, P. K., Adhya, T. K., & Rajaramamohan, R. V. (1996). Effect of repeated applications of gamma-hexachlorocyclohexane (γ-HCH) on nitrogenase activity and nitrogen-fixing bacteria associated with rhizosphere of tropical rice. *Microbiological Research*, 375-378.
- Paul, E. A., & Paul, E. A. (2007). *Soil microbiology, ecology, and biochemistry*. Amsterdam: Academic Press.
- Paz, F. J. (2007). *Propiedades bioquímicas de suelos de prado en Galicia*. Santiago de Compostela: Universidad de Santiago de Compostela, Servizo de Publicacións e Intercambio Científico.
- Peoples, M., Giller, D., Herridge, D., & Vessey, K. (2002). The limitations of biological nitrogen fixation as a renewable source for agriculture. En T. Finan, M. O'Brian, D. Layzell, K. Vessey, & W. Newton, *Nitrogen Fixation* (págs. 356 360). Wallingford:Global Perspectives.
- Perdomo, C., & Barbazán, M. (2002). Acumulación de materia seca y nitrógenoen gramíneas. *Agrociencia*, 10 19.
- Pérez, P. N. R., Peña, V. M. R., & Sanabria, J. (2011). Comunidades bacterianas involucradas en el ciclo del nitrógeno en humedales construidos. *Ingeniería Y*



- Competitividad: Revista De Divulgación Del Desarrollo Científico Y Tecnológico (cali), 83-92.
- PHN. Plan Hortícola Nacional. (2007). *El Cilantro*. Bogotá: Corporación Colombia Internacional.
- Pinilla, J., & Sarmiento, N. (2010). Aplicación de insumos biológicos: Una oportunidad para la agricultura sostenible y amigable con el medio ambiente. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 4 7.
- Pizarro, C. F. (1996). Riegos localizados de alta frecuencia (RLAF): Goteo, microaspersión, exudación. Madrid: Mundi-Prensa.
- Plaster, E. J., & Scott, P. (2000). La ciencia del suelo y su manejo. Madrid: Paraninfo.
- Porta, C. J., López-Acevedo, R. M., & Roquero, L. C. (2003). *Edafología: Para la agricultura y el medio ambiente*. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa.
- Quintero, D. R. (1997). Fertilización nitrogenada en caña de azúcar. Cali: CENICANA.
- Rascio, N., & La Rocca, N. (2013). Reference module in earth systems and environmental sciences. Amsterdam [u.a.: Elsevier.
- Red Agrícola. (2012). Novedades en fertilizantes nitrogenados. Recuperado el Marzo de 2013, de www.redagricola.com/reportajes/nutricion/novedades-enfertilizantes
- Rodríguez, M. (2014). Biofertilización de nitrógeno en suelos salinos a partir de consorcios microbianos obtenidos de sitemas de tratamiento de aguas residuales domésticas. Tesis de maestría. Cali: Universidad del Valle.
- Roper, M., Gault, R., & Smith, N. (1995). Contribution to the N status of soil by freeliving N2-fixing bacteria in a lucerne stand, Soil Biology y Biochemistry 467 -471.
- Ruppel, S., & Merbach, W. (1995). Effects of different nitrogen sources on nitrogen fixation and bacterial growth of Pantoea agglomerans and Azospirillum sp. in bacterial pure culture: An investigation using 15N 2 incorporation and acetylene reduction measures. *Microbiological Research*, 409-418.
- Sadeghian, S. (2003). Actualidad y tendencia en la fertilizacion de café. En F. Jiménez, *Actualización en fertilización de cultivos y uso de fertilizantes* (pág. 159). Bogotá: Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo. SCCS.
- Salvagiotti, F. (s.f). Guía de conocimiento cultivo de soja. Importancia y función de la fertilización biológica en soja. Recuperado el Marzo de 2014, de www.th-ar.com/pdf/Manual%20sojaFinal.pdf



- SERMANAT. (2000). *Norma oficial mexicana NOM-021-Recnat.* México: Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- Shannon, M. (1998). Tolerance of vegetable crops to salinity. *Scientia Horticulturae*, 5-38.
- Shivay, Y. S., Singh, R., Swarnalakshmi, K., Prasanna, R., Kumar, A., Pattnaik, S., Chakravarty, K., Saxena, A. K. (2013). Evaluating the influence of novel cyanobacteria biofilmed biofertilizers on soil fertility and plant nutrition in wheat. *European Journal of Soil Biology*, 107-116.
- Sicardi, M. (2010). *Fijación Biológica de Nitrógeno.* Uruguay: Universidad de la República de Uruguay.
- Siripong, S., & Rittman, B. (2007). Diversity study of nitrifying bacteria in full-scale municipal wastewater treatment plants. *Water Research*, 1110 1120.
- SMA. (s.f). Guía agronómica de los cultivos representativos del departamnento para la realización de las estimaciones agrícolas por métodos indirectos.

 Recuperado el Marzo de 2015, de www.valledelcauca.gov.co/agricultura/descargar.php?id=967
- Soto, M. (2013). *Monocotiledóneas y Dicotiledóneas*. Recuperado el Octubre de 2014, de http://www.authorstream.com/Presentation/marilusoto-1468089-monocotiled-neas- dicotiled-por-maril-roxana-soto-squez.
- Strock, J. (2008). Enciclopedy of Ecology. Elseiver.
- Tilak, K. V. B. R., Pal, K. K., & Dey, R. (2010). *Microbes in sustainable agriculture*. New Delhi: I.K. International Publishing House.
- Tortora, G., Funke, B. R., & Case, C. L. (2007). *Introducción a la microbiología*. Buenos Aires: Médica Panamericana.
- Uhart, S., & Andrade, H. (1995). Nitrogen deficiency and maize: Effects on crop growth, development, dry partitioning and kernel set. *Crop sci*, 1376 1383.
- Universidad de Sevilla. (s.f). *Ciclo del nitrógeno*. Obtenido de www.bonatura.com/2.01.18.36_1r.html.
- Unkovich, M., & Baldock, J. (2008). Measurement of asymbiotic N2 fixation in Australian agriculture. *Soil Biology & Biochemistry*, 2915-2921.
- Urquiaga, S. (2010). Fijación biológica de nitógeno para la economía de fertilizante nitrogenado en caña de azúcar. conferencia. Cali: Tecnicaña.
- Usman, D., Usman, R., Bonilla, C., & Sánchez, M. (2003). efecto de la fertilización orgánica sobre la producción de follaje y rendimiento de semillas de cilantro Coriandrum sativum. Variedad Unapal-Precoso. *Acta Agronómica*, 59 63.



- Vallejo, F. (2004). *Producción de hortalizas de clima cálido.* Palmira: Universidad Nacional de Colombia.
- Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil: an International Journal on Plant-Soil Relationships*, 571-586.
- Villa, M., Catalán, M., & Sánchez, I. (2006). La fertilización y la salinidad del suelo afectan la transpiración y absorción de nutrimentos en las plantas de Chile. *Redalyc*, 391 399.
- Voss, M., Bange, H., Dippner, J., Middelburg, j., Montoya, J., & Ward, B. (2013). The marine nitrogen cycle: recent discoveries, uncertinities and the potential relevance of climte change. En D. Flower, *The global nitrogen cycle in the twentyfirst century* (pág. 8). Philosophical transactions of the Royal Society.
- Weia, X., & Kimmins, P. (1998). Asymbiotic nitrogen fixation in harvested and wildfire-killed lodgepole pine forests in the central interior of British Columbia. *Forest Ecology and Management*, 343 353.



11 ANEXOS

ANEXO 1. DESCRIPCIÓN DE LOS PERFILES DEL SUELOS EN ESTUDIO

Suelo no salino: Presenta perfiles (Ap, ABss, Bwc, Cg). El horizonte A tiene 25 cm de espesor; color húmedo pardo grisáceo muy oscuro, clase textural arcillosa, sin estructura; consistencia en húmedo firme, en mojado pegajosa y plástica; pocos poros finos; mucha actividad de macroorganismos; muchas raíces; pH ligeramente acido (6,2); Epipedón ócrico. El horizonte AB tiene 32 cm de espesor; color húmedo pardo grisáceo muy oscuro y pardo amarillento oscuro con muchos moteados grandes, claros, de color gris oscuro; clase textural arcillosa, estructura en bloques subangulares, medios, moderados; consistencia en húmedo firme, en mojado pegajosa y plástica; regular cantidad de poros finos, muchas concreciones pequeñas y duras de hierro y manganeso; poca actividad de macroorganismos; pocas raíces, pH ligeramente acido (6,4). El horizonte B tiene 23 cm de espesor; color húmedo pardo amarillento con muchos moteados, grandes, claros, de color pardo grisáceo; clase textural arcillosa; estructura en bloques subangulares, medios, moderados; consistencia en húmedo firme, en mojado pegajosa y plástica; pocos poros finos; muchas concreciones de hierro y manganeso; no hay actividad de macroorganismos; no hay raíces; pH neutro (6,8). Endopedón cámbico. El horizonte C tiene 70 cm de espesor; color en húmedo gris verdoso y pardo amarillento; clase textural arcillosa; sin estructura; consistencia en húmedo firme, en mojado pegajosa y plástica; no hay poros; no hay actividad de macroorganismos; no hay raíces; pH neutro (6,8). (IGAC-CVC, 2004).

Suelo salino: Presentan perfiles (Ap-C1-C2-C3-Ab-Cb). El horizonte A tiene 30 cm de espesor, color pardo grisáceo muy oscuro con moteados de color gris oliva, clase textural franco arcillosa, estructura en bloques subangulares fuertemente desarrollados en reacción neutra. El horizonte C1 tiene 42 cm de espesor, color pardo oscuro y gris oliva, clase textural franco arenosa, estructura en láminas y reacción ligeramente alcalina. El horizonte C2 tiene 18 cm de espesor, color pardo amarillento oscuro con moteado de color pardo grisáceo oscuro, clase textural franco arenosa, sin estructura de suelo y reacción ligeramente alcalina. El horizonte C3 tiene 22 cm de espesor, color pardo oscuro y oliva, clase textural franco limosa, sin estructura de suelo y reacción ligeramente alcalina. El horizonte A tiene 23 cm de espesor, color gris oscuro con moteado de color pardo rojizo oscuro, clase textural franco arcillosa, sin estructura de suelo y reacción ligeramente alcalina. El horizonte enterrado C tiene 25 cm de espesor, color pardo amarillento oscuro mezclado con gris oliva y pardo rojizo oscuro, clase textural franca, sin estructura de suelo y reacción moderadamente alcalina.

Químicamente son suelos de alta capacidad catiónica de cambio, altos en bases totales, bajos en carbono orgánico, medianos en fósforo disponible, relación calcio: magnesio normal y reacción neutra a moderadamente alcalina (pH 7.3 a 7.9).

La clasificación taxonómica se basa en la presencia del epipedón *mólico*, la saturación de bases mayor o igual a 50%, las condiciones ácuicas dentro de los 100 cm, el decrecimiento irregular en el contenido de carbono orgánico y el régimen de humedad ústico (IGAC-CVC, 2004).



ANEXO 2. PRUEBAS DE HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS Y CUMPLIMIENTO DE SUPUESTOS DE NORMALIDAD.

Tabla 12. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para porcentaje de germinación 8dds

| Contraste o | le Levene so las varianza | | ldad de |
|-------------------------------|---|-------------|----------|
| Variable de Porcentaje_ | pendiente: _germinació | n_8dds | |
| F | gl1 | gl2 | Sig. |
| ,593 | 6 | 28 | ,733 |
| varianza err igual a lo la | a hipótesis n or de la varia rgo de todos | able depend | iente es |

Tabla 13. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para porcentaje de germinación 8dds

Pruebas de normalidad

| | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|-------------------------|-------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Tratamiento | Estadístico | gl | Sig. | Estadístico | gl | Sig. |
| Porcentaje_germinación_ | SA | ,330 | 5 | ,079 | ,735 | 5 | ,021 |
| 8dds | SBAR1 | ,473 | 5 | ,001 | ,552 | 5 | ,000 |
| | SBAR2 | ,367 | 5 | ,026 | ,684 | 5 | ,006 |
| | SBAR3 | ,254 | 5 | ,200* | ,914 | 5 | ,492 |
| | SFQ | ,330 | 5 | ,079 | ,735 | 5 | ,021 |
| | SN | ,367 | 5 | ,026 | ,684 | 5 | ,006 |
| | SS | ,300 | 5 | ,161 | ,833 | 5 | ,146 |

^{*.} Este es un límite inferior de la significación verdadera.

Tabla 14. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para porcentaje de germinación 15dds

| Contraste | de Levene : las varian: | sobre la igua zas error ^a | ldad de |
|-------------------------------|-----------------------------|---|----------|
| Variable de Porcentaje | | ón_15dds | |
| F | gl1 | gl2 | Sig. |
| 3,062 | 6 | 28 | ,020 |
| varianza eri igual a lo la | or de la var rgo de todo | nula de que l iable depend os los grupos :ión + Tratam | iente es |

a. Corrección de la significación de Lilliefors



Tabla 15. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para porcentaje de germinación 15dds

| | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|-------------------------|-------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Tratamiento | Estadístico | gl | Sig. | Estadístico | gl | Sig. |
| Porcentaje_germinación_ | SA | ,221 | 5 | ,200 | ,902 | 5 | ,421 |
| 15dds | SBAR1 | ,349 | 5 | ,046 | ,771 | 5 | ,046 |
| | SBAR2 | ,254 | 5 | ,200* | ,803 | 5 | ,086 |
| | SBAR3 | ,231 | 5 | ,200* | ,881 | 5 | ,314 |
| | SFQ | ,473 | 5 | ,001 | ,552 | 5 | ,000 |
| | SN | ,473 | 5 | ,001 | ,552 | 5 | ,000 |
| | SS | ,300 | 5 | ,161 | ,833 | 5 | ,146 |

^{*.} Este es un límite inferior de la significación verdadera.

Tabla 16. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para número de plantas

| Contraste o | le Levene so las varianza | obre la igua as error ^a | ldad de |
|--|--------------------------------|---------------------------------------|----------|
| Variable de | oendiente: N | lúmero_de_ | plantas |
| F | gl1 | gl2 | Sig. |
| 5,277 | 6 | 28 | ,001 |
| Contrasta la varianza err igual a lo la a. Diseño | or de la varia rgo de todos | able depend | iente es |

Tabla 17. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para número de plantas

Pruebas de normalidad^o

| | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|-------------------|-------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Tratamiento | Estadístico | gl | Sig. | Estadístico | gl | Sig. |
| Número_de_plantas | SA | ,244 | 5 | ,200 | ,871 | 5 | ,272 |
| S | SBAR1 | ,372 | 5 | ,022 | ,828 | 5 | ,135 |
| | SBAR2 | ,254 | 5 | ,200* | ,803 | 5 | ,086 |
| | SBAR3 | ,231 | 5 | ,200* | ,881 | 5 | ,314 |
| | SFQ | ,231 | 5 | ,200* | ,881 | 5 | ,314 |
| | ss | ,244 | 5 | ,200* | ,871 | 5 | ,272 |

^{*.} Este es un límite inferior de la significación verdadera.

Tabla 18. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para longitud de tallo

| | le Levene s las varianz | obre la igual as error ^a | ldad de |
|--------------------------------|-------------------------------|--|----------|
| Variable de | endiente: L | _ongitud_de_ | _tallo |
| F | gl1 | gl2 | Sig. |
| 1,646 | 6 | 28 | ,172 |
| varianza erri igual a lo la | or de la vari rgo de todo: | nula de que l able depend s los grupos ión + Tratam | iente es |

a. Corrección de la significación de Lilliefors

a. Corrección de la significación de Lilliefors

c. Número_de_plantas es una constante cuando Tratamiento = SN y se ha desestimado.



Tabla 19. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para longitud de tallo

Pruebas de normalidad^e

| | | Kolmog | gorov-Smirn | ov ^a | Sh | apiro-Wilk | |
|-------------------|-------------|-------------|-------------|-----------------|-------------|------------|------|
| | Tratamiento | Estadístico | gl | Sig. | Estadístico | gl | Sig. |
| Número_de_plantas | SA | ,244 | 5 | ,200 | ,871 | 5 | ,272 |
| | SBAR1 | ,372 | 5 | ,022 | ,828 | 5 | ,135 |
| | SBAR2 | ,254 | 5 | ,200* | ,803 | 5 | ,086 |
| | SBAR3 | ,231 | 5 | ,200* | ,881 | 5 | ,314 |
| | SFQ | ,231 | 5 | ,200* | ,881 | 5 | ,314 |
| | SS | ,244 | 5 | ,200* | ,871 | 5 | ,272 |

^{*.} Este es un límite inferior de la significación verdadera.

Tabla 20. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para diámetro de tallo

| | le Levene s las varianz | obre la igual as error ^a | dad de |
|--------------------------------|-------------------------------|---|----------|
| Variable de | pendiente: [| Diámetro_de | _tallo |
| F | gl1 | gl2 | Sig. |
| 3,957 | 6 | 28 | ,005 |
| varianza erri igual a lo la | or de la vari rgo de todo: | nula de que l able depend s los grupos ión + Tratami | iente es |

Tabla 21. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para diámetro de tallo

| Pruehas | de | normalidad |
|---------|----|------------|
| | | |

| | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|--------------------------------------|-------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Tratamiento | Estadístico | gl | Sig. | Estadístico | gl | Sig. |
| Diámetro_de_tallo | SA | ,302 | 5 | ,155 | ,789 | 5 | ,066 |
| SBAR1 SBAR2 SBAR3 SFQ SN | SBAR1 | ,300 | 5 | ,161 | ,813 | 5 | ,103 |
| | SBAR2 | ,221 | 5 | ,200 | ,902 | 5 | ,421 |
| | SBAR3 | ,201 | 5 | ,200* | ,881 | 5 | ,314 |
| | SFQ | ,367 | 5 | ,026 | ,684 | 5 | ,006 |
| | SN | ,367 | 5 | ,026 | ,684 | 5 | ,006 |
| | SS | ,377 | 5 | ,019 | ,724 | 5 | ,017 |

^{*.} Este es un límite inferior de la significación verdadera.

Tabla 22. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para número de hojas

| | le Levene s las varianz | obre la igual as error ^a | idad de |
|--------------------------------|--------------------------------|---|----------|
| Variable de | pendiente: N | Vúmero_de_ | hojas |
| F | gl1 | gl2 | Sig. |
| 2,711 | 6 | 28 | ,033 |
| varianza erri igual a lo la | or de la vari: rgo de todos | nula de que l able depend s los grupos ón + Tratam | iente es |

a. Corrección de la significación de Lilliefors

c. Número_de_plantas es una constante cuando Tratamiento = SN y se ha desestimado.

a. Corrección de la significación de Lilliefors



Tabla 23. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para número de hojas

| | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|-----------------|-------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Tratamiento | Estadístico | gl | Sig. | Estadístico | gl | Sig. |
| Número_de_hojas | SA | ,195 | 5 | ,200 | ,918 | 5 | ,515 |
| | SBAR1 | ,187 | 5 | ,200* | ,919 | 5 | ,523 |
| | SBAR2 | ,208 | 5 | ,200 | ,901 | 5 | ,418 |
| | SBAR3 | ,197 | 5 | ,200* | ,956 | 5 | ,777 |
| | SFQ | ,263 | 5 | ,200 | ,847 | 5 | ,186 |
| | SN | ,167 | 5 | ,200 | ,978 | 5 | ,922 |
| | SS | ,150 | 5 | ,200 | ,994 | 5 | ,992 |

^{*.} Este es un límite inferior de la significación verdadera.

Tabla 24. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para número de flores

| Contraste o | le Levene s las varianz | obre la igua as error ^a | ldad de |
|-------------------------------|-------------------------------|---|----------|
| Variable de | oendiente: N | Número_de_ | flores |
| F | gl1 | gl2 | Sig. |
| ,630 | 6 | 28 | ,705 |
| varianza err igual a lo la | or de la vari rgo de todo: | nula de que l able depend s los grupos ón + Tratam | iente es |

Tabla 25. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para número de flores

| | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | ov ^a | Shapiro-Wilk | | |
|------------------|-------------|---------------------------------|----|-----------------|--------------|----|------|
| | Tratamiento | Estadístico | gl | Sig. | Estadístico | gl | Sig. |
| Número_de_flores | SA | ,322 | 5 | ,100 | ,791 | 5 | ,068 |
| | SBAR1 | ,184 | 5 | ,200* | ,978 | 5 | ,925 |
| | SBAR2 | ,289 | 5 | ,200* | ,786 | 5 | ,062 |
| | SBAR3 | ,214 | 5 | ,200 | ,930 | 5 | ,596 |
| | SFQ | ,180 | 5 | ,200 | ,936 | 5 | ,635 |
| | SN | ,242 | 5 | ,200* | ,943 | 5 | ,688 |
| | SS | ,233 | 5 | ,200* | ,921 | 5 | ,534 |

^{*.} Este es un límite inferior de la significación verdadera.

Tabla 26. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para masa fresca

| Contraste d | e Levene se las varianza | | ldad de |
|--|-------------------------------|-------------|----------|
| Variable dep | endiente: N | lasa_fresca | |
| F | gl1 | gl2 | Sig. |
| 2,413 | 6 | 28 | ,053 |
| Contrasta la varianza erro igual a lo lar a. Diseño | or de la varia go de todos | able depend | iente es |

a. Corrección de la significación de Lilliefors

a. Corrección de la significación de Lilliefors



Tabla 27. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para masa fresca
Pruebas de normalidad

| | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|-------------|-------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Tratamiento | Estadístico | gl | Sig. | Estadístico | gl | Sig. |
| Masa_fresca | SA | ,224 | 5 | ,200* | ,888 | 5 | ,348 |
| | SBAR1 | ,277 | 5 | ,200* | ,812 | 5 | ,102 |
| | SBAR2 | ,230 | 5 | ,200* | ,913 | 5 | ,486 |
| | SBAR3 | ,231 | 5 | ,200* | ,857 | 5 | ,217 |
| | SFQ | ,179 | 5 | ,200* | ,979 | 5 | ,931 |
| | SN | ,307 | 5 | ,140 | ,830 | 5 | ,139 |
| | SS | ,225 | 5 | ,200* | ,881 | 5 | ,313 |

^{*.} Este es un límite inferior de la significación verdadera.

Tabla 28. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para masa seca

| Contraste d | le Levene s las varianz | sobre la igual zas error ^a | ldad de |
|-------------------------------|-----------------------------|--|----------|
| Variable de | pendiente: | Masa_seca | |
| F | gl1 | gl2 | Sig. |
| 3,841 | 6 | 28 | ,006 |
| varianza err igual a lo la | or de la var rgo de todo | nula de que l riable depend os los grupos ción + Tratam | iente es |

Tabla 29. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para masa seca

| | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|-----------|-------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Tratamiento | Estadístico | gl | Sig. | Estadístico | gl | Sig. |
| Masa_seca | SA | ,196 | 5 | ,200 | ,933 | 5 | ,620 |
| | SBAR1 | ,246 | 5 | ,200* | ,956 | 5 | ,777 |
| s | SBAR2 | ,236 | 5 | ,200* | ,946 | 5 | ,708 |
| | SBAR3 | ,255 | 5 | ,200* | ,822 | 5 | ,121 |
| | SFQ | ,270 | 5 | ,200 | ,860 | 5 | ,229 |
| | SN | ,241 | 5 | ,200* | ,903 | 5 | ,427 |
| | SS | ,320 | 5 | ,104 | ,858 | 5 | ,220 |

^{*.} Este es un límite inferior de la significación verdadera.

Tabla 30. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para rendimiento

a. Corrección de la significación de Lilliefors

a. Corrección de la significación de Lilliefors



Tabla 31. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para rendimiento

| | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|-------------|-------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Tratamiento | Estadístico | gl | Sig. | Estadístico | gl | Sig. |
| Rendimiento | SA | ,224 | 5 | ,200* | ,888, | 5 | ,348 |
| | SBAR1 | ,277 | 5 | ,200* | ,812 | 5 | ,102 |
| | SBAR2 | ,230 | 5 | ,200* | ,913 | 5 | ,486 |
| | SBAR3 | ,231 | 5 | ,200* | ,857 | 5 | ,217 |
| | SFQ | ,179 | 5 | ,200* | ,979 | 5 | ,931 |
| | SN | ,307 | 5 | ,140 | ,830 | 5 | ,139 |
| | SS | ,225 | 5 | ,200* | ,881 | 5 | ,313 |

^{*.} Este es un límite inferior de la significación verdadera.

Tabla 32. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para nitrógeno foliar

| Contraste | le Levene : las varian: | sobre la igua zas error ^a | ldad de |
|-------------------------------|-----------------------------|---|----------|
| Variable de | pendiente: | Nitrógeno_fo | liar |
| F | gl1 | gl2 | Sig. |
| ,699 | 6 | 28 | ,652 |
| varianza err igual a lo la | or de la var rgo de todo | nula de que l iable depend os los grupos ción + Tratam | iente es |

Tabla 33. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para nitrógeno foliar

| | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|------------------|-------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Tratamiento | Estadístico | gl | Sig. | Estadístico | gl | Sig. |
| Nitrógeno_foliar | SA | ,374 | 5 | ,021 | ,763 | 5 | ,039 |
| | SBAR1 | ,144 | 5 | ,200 | ,993 | 5 | ,990 |
| | SBAR2 | ,294 | 5 | ,182 | ,840 | 5 | ,166 |
| | SBAR3 | ,237 | 5 | ,200 | ,929 | 5 | ,588 |
| | SFQ | ,313 | 5 | ,123 | ,892 | 5 | ,368 |
| | SN | ,183 | 5 | ,200* | ,973 | 5 | ,892 |
| | SS | ,389 | 5 | ,013 | ,674 | 5 | ,005 |

^{*.} Este es un límite inferior de la significación verdadera.

Tabla 34. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para conductividad eléctrica

| Contraste | las varianza | obre la igual as error ^a | iuau ue |
|-------------------------------|--------------------------------|---|----------|
| Variable de Conductivid | pendiente: ad_eléctrica | ĺ | |
| F | gl1 | gl2 | Sig. |
| 2,251 | 6 | 28 | ,067 |
| varianza err igual a lo la | or de la varia rgo de todos | iula de que l able depend s los grupos ón + Tratam | iente es |

a. Corrección de la significación de Lilliefors

a. Corrección de la significación de Lilliefors



Tabla 35. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para conductividad eléctrica

| | | Kolmog | gorov-Smirn | ov ^a | Sh | apiro-Wilk | |
|-------------------------|-------------|-------------|-------------|-----------------|-------------|------------|------|
| | Tratamiento | Estadístico | gl | Sig. | Estadístico | gl | Sig. |
| Conductividad_eléctrica | SA | ,203 | 5 | ,200 | ,953 | 5 | ,757 |
| | SBAR1 | ,316 | 5 | ,115 | ,806 | 5 | ,091 |
| | SBAR2 | ,199 | 5 | ,200* | ,914 | 5 | ,495 |
| | SBAR3 | ,143 | 5 | ,200* | ,987 | 5 | ,968 |
| | SFQ | ,206 | 5 | ,200* | ,965 | 5 | ,840 |
| | SN | ,279 | 5 | ,200* | ,885 | 5 | ,335 |
| | SS | ,166 | 5 | ,200* | ,985 | 5 | ,960 |

^{*.} Este es un límite inferior de la significación verdadera.

Tabla 36. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para pH

| | le Levene s Ias varianz | sobre la igual as error ^a | idad de | | | | |
|---|----------------------------|---|---------|--|--|--|--|
| Variable de | pendiente: p | эН | | | | | |
| F | gl1 | gl2 | Sig. | | | | |
| ,442 | 6 | 28 | ,844 | | | | |
| Contrasta la hipótesis nula de que la varianza error de la variable dependiente es igual a lo largo de todos los grupos. a. Diseño: Intersección + Tratamiento | | | | | | | |

Tabla 37. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para pH

| | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | | |
|----|-------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|--|
| | Tratamiento | Estadístico | gl | Sig. | Estadístico | gl | Sig. | |
| рН | SA | ,313 | 5 | ,122 | ,789 | 5 | ,066 | |
| | SBAR1 | ,179 | 5 | ,200* | ,951 | 5 | ,744 | |
| | SBAR2 | ,346 | 5 | ,050 | ,797 | 5 | ,077 | |
| | SBAR3 | ,297 | 5 | ,171 | ,901 | 5 | ,414 | |
| | SFQ | ,201 | 5 | ,200* | ,925 | 5 | ,565 | |
| | SN | ,202 | 5 | ,200* | ,951 | 5 | ,741 | |
| | SS | ,194 | 5 | ,200* | ,950 | 5 | ,737 | |

^{*.} Este es un límite inferior de la significación verdadera.

Tabla 38. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para materia orgánica

| Contraste | ie Levene s las varianz | obre la igua as error ^a | idad de | | | |
|-------------------------------|--|---------------------------------------|---------|--|--|--|
| Variable de | pendiente: f | Materia_orgá | nica | | | |
| F | gl1 | gl2 | Sig. | | | |
| ,412 | 6 | 28 | ,865 | | | |
| varianza err igual a lo la | ,412 6 28 Contrasta la hipótesis nula de que la varianza error de la variable dependie igual a lo largo de todos los grupos. a. Diseño: Intersección + Tratamie | | | | | |

a. Corrección de la significación de Lilliefors

a. Corrección de la significación de Lilliefors



Tabla 39. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para materia orgánica

| | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|------------------|-------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Tratamiento | Estadístico | gl | Sig. | Estadístico | gl | Sig. |
| Materia_orgánica | SA | ,273 | 5 | ,200 | ,798 | 5 | ,078 |
| | SBAR1 | ,231 | 5 | ,200 | ,964 | 5 | ,833 |
| | SBAR2 | ,174 | 5 | ,200* | ,935 | 5 | ,634 |
| | SBAR3 | ,180 | 5 | ,200* | ,967 | 5 | ,853 |
| | SFQ | ,255 | 5 | ,200* | ,815 | 5 | ,107 |
| | SN | ,298 | 5 | ,168 | ,899 | 5 | ,403 |
| | SS | ,174 | 5 | ,200* | ,974 | 5 | ,902 |

Este es un límite inferior de la significación verdadera.

Tabla 40. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para nitrógeno total

| Contraste | le Levene : las varian: | sobre la igua zas error ^a | ldad de |
|-------------------------------|-----------------------------|--|----------|
| Variable de | pendiente: | Nitrógeno_to | tal |
| F | gl1 | gl2 | Sig. |
| 1,772 | 6 | 28 | ,141 |
| varianza err igual a lo la | or de la var rgo de todo | nula de que l iable depend is los grupos ión + Tratam | iente es |

Tabla 41. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para nitrógeno total

| Pruebas de normalidad | | | | | | | | |
|-----------------------|-------------|-------------|-------------|-----------------|-------------|------------|------|--|
| | | Kolmog | gorov-Smirn | ov ^a | Sha | apiro-Wilk | | |
| | Tratamiento | Estadístico | gl | Sig. | Estadístico | gl | Sig. | |
| Nitrógeno_total | SA | ,160 | 5 | ,200 | ,982 | 5 | ,945 | |
| | SBAR1 | ,359 | 5 | ,034 | ,820 | 5 | ,117 | |
| | SBAR2 | ,396 | 5 | ,010 | ,786 | 5 | ,062 | |
| | SBAR3 | ,414 | 5 | ,005 | ,612 | 5 | ,001 | |
| | SFQ | ,181 | 5 | ,200 | ,923 | 5 | ,547 | |
| | SN | ,376 | 5 | ,020 | ,739 | 5 | ,023 | |
| | SS | ,357 | 5 | ,037 | ,714 | 5 | ,013 | |

^{*.} Este es un límite inferior de la significación verdadera.

Tabla 42. Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para nitrógeno amoniacal

| Contraste | le Levene se las varianza | | ldad de |
|-------------------------------|--|-----------------------------|----------|
| Variable de | pendiente: N | litrógeno_ar | moniacal |
| F | gl1 | gl2 | Sig. |
| 2,261 | 6 | 28 | ,066 |
| varianza err igual a lo la | a hipótesis n or de la varia rgo de todos o: Intersecci | able depend s los grupos | iente es |

Tabla 43. Prueba de normalidad de datos de Shapiro Wilk para nitrógeno amoniacal

| | | Kolmog | gorov-Smirn | ov ^a | Sha | apiro-Wilk | |
|---------------------|-------------|-------------|-------------|-----------------|-------------|------------|------|
| | Tratamiento | Estadístico | gl | Sig. | Estadístico | gl | Sig. |
| Nitrógeno_amoniacal | SA | ,261 | 5 | ,200 | ,862 | 5 | ,236 |
| | SBAR1 | ,251 | 5 | ,200* | ,868 | 5 | ,257 |
| | SBAR2 | ,383 | 5 | ,016 | ,752 | 5 | ,031 |
| | SBAR3 | ,180 | 5 | ,200 | ,942 | 5 | ,677 |
| | SFQ | ,310 | 5 | ,131 | ,871 | 5 | ,272 |
| | SN | ,473 | 5 | ,001 | ,552 | 5 | ,000 |
| | SS | .450 | 5 | .001 | .638 | 5 | ,002 |

^{*.} Este es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de la significación de Lilliefors

a. Corrección de la significación de Lilliefors

a. Corrección de la significación de Lilliefors



ANEXO 3. RESULTADOS PRUEBAS NO PARAMETRICAS PARA LAS VARIABLES DE RESPUESTA

Tabla 44. Análisis de comparación de medianas para porcentaje de germinación 8dds

Resumen de prueba de hipótesis

| | Hipótesis nula | Test | Sig. | Decisión |
|---|--|--|------|-----------------------------------|
| 1 | Las medianas de Porcentaje_germinación_8dds son las mismas entre las categorías de Tratamiento. | Prueba de medianas de muestras independientes | ,009 | Rechazar la hipótesis nula. |

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.

Tabla 45. Análisis de distribución de grupos para porcentaje de germinación 8dds

Resumen de prueba de hipótesis

| | Hipótesis nula | Test | Sig. | Decisión |
|---|--|--|------|-----------------------------------|
| 1 | La distribución de Porcentaje_germinación_8dds es la misma entre las categorías de Tratamiento. | Prueba Kruskal- Wallis de muestras independientes | ,005 | Rechazar la hipótesis nula. |

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.

Tabla 46. Análisis de comparación de medianas para masa seca

Resumen de prueba de hipótesis

| | Hipótesis nula | Test | Sig. | Decisión |
|---|---|--|------|----------------------------------|
| 1 | Las medianas de Masa_seca son las mismas entre las categorías de Tratamiento. | Prueba de medianas de muestras independientes | ,008 | Rechazar la hipótesis nula |

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.

Tabla 47. Análisis de distribución de grupos para masa seca

Resumen de prueba de hipótesis

| | Hipótesis nula | Test | Sig. | Decisión |
|---|---|--|------|-----------------------------------|
| 1 | La distribución de Masa_seca es la misma entre las categorías de Tratamiento. | Prueba Kruskal- Wallis de muestras independientes | ,004 | Rechazar la hipótesis nula. |

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.



ANEXO 4. RESULTADOS ESTADISTICA DESCRIPTICA PARA LAS VARIABLES DE RESPUESTA

Tabla 48. Resumen de resultados estadística descriptiva para longitud de tallo

| Tratamiento | Media | Mediana | Desviación | Varianza |
|-------------|-------|---------|------------|----------|
| SA | 17,58 | 20,4 | 10,18 | 103,53 |
| SBAR1 | 22,88 | 25,4 | 6,48 | 41,98 |
| SBAR2 | 22,84 | 19 | 6,52 | 42,54 |
| SBAR3 | 23,4 | 22,1 | 2,67 | 7,10 |
| SFQ | 24,1 | 22,9 | 3,70 | 13,71 |
| SN | 29,18 | 29,4 | 4,23 | 17,93 |
| SS | 19,34 | 23,2 | 11,13 | 123,90 |
| Total | 22,76 | 23,2 | 7,30 | 53,31 |
| C.V (%) | 32,08 | | | |

Tabla 49. Resumen de resultados estadística descriptiva para número de flores

| Tratamiento | Media | Mediana | Desviación | Varianza |
|-------------|-------|---------|------------|----------|
| SA | 27 | 19 | 36,89 | 1360,503 |
| SBAR1 | 42 | 35 | 32,83 | 1078,006 |
| SBAR2 | 34 | 17 | 35,58 | 1266,008 |
| SBAR3 | 44 | 51 | 32,48 | 1055,015 |
| SFQ | 62,2 | 69 | 36,79 | 1353,210 |
| SN | 126,8 | 132 | 14,31 | 204,690 |
| SS | 51,6 | 65 | 39,51 | 1560,803 |
| Total | 55,37 | 55,43 | 43,78 | 1916,951 |
| C.V (%) | 79,07 | | | |

Tabla 50. Resumen de resultados estadística descriptiva para masa fresca

| Tratamiento | Media | Mediana | Desviación | Varianza |
|-------------|--------|---------|------------|----------|
| SA | 5,84 | 4,4 | 5,55 | 30,843 |
| SBAR1 | 7,28 | 6,1 | 3,85 | 14,857 |
| SBAR2 | 4,66 | 3,7 | 2,90 | 8,403 |
| SBAR3 | 8,62 | 8 | 5,00 | 24,952 |
| SFQ | 13,02 | 12,6 | 2,12 | 4,487 |
| SN | 8,06 | 8,9 | 2,44 | 5,973 |
| SS | 6,18 | 7,7 | 4,76 | 22,622 |
| Total | 7,6657 | 7,34 | 4,44 | 19,731 |
| C.V (%) | 57,95 | | | |



Tabla 51. Resumen de resultados estadística descriptiva para rendimiento

| Tratamiento | Media | Mediana | Desviación típica | Varianza |
|-------------|-------|---------|-------------------|----------|
| SA | 5,84 | 7,01 | 5,55 | 30,843 |
| SBAR1 | 7,28 | 6,06 | 3,85 | 14,857 |
| SBAR2 | 4,66 | 3,46 | 2,90 | 8,403 |
| SBAR3 | 8,62 | 9,92 | 5,00 | 24,952 |
| SFQ | 13,02 | 4,80 | 2,12 | 4,487 |
| SN | 8,06 | 2,91 | 2,44 | 5,973 |
| SS | 6,18 | 6,30 | 4,76 | 22,622 |
| Total | 7,67 | 5,78 | 4,44 | 19,731 |
| C.V (%) | 57,95 | | | |

Tabla 52. Resumen de resultados estadística descriptiva para nitrógeno foliar

| Tratamiento | Media | Mediana | Desviación típica | Varianza |
|-------------|--------|---------|-------------------|----------|
| SA | 1,298 | 1,554 | 0,75 | 0,566 |
| SBAR1 | 1,916 | 1,974 | 0,50 | 0,255 |
| SBAR2 | 1,74 | 1,736 | 0,76 | 0,580 |
| SBAR3 | 2,078 | 2,198 | 0,34 | 0,118 |
| SFQ | 2,05 | 2,142 | 0,61 | 0,366 |
| SN | 1,062 | 1,106 | 0,21 | 0,045 |
| SS | 0,826 | 1,036 | 0,47 | 0,219 |
| Total | 1,5671 | 1,678 | 0,69 | 0,477 |
| C.V (%) | 44,06 | | | |

Tabla 53. Resumen de resultados estadística descriptiva para conductividad eléctrica

| Tratamiento | Media | Mediana | Desviación típica | Varianza |
|-------------|-------|---------|-------------------|----------|
| SA | 0,435 | 0,429 | 0,08 | 0,007 |
| SBAR1 | 0,435 | 0,398 | 0,10 | 0,011 |
| SBAR2 | 0,402 | 0,417 | 0,06 | 0,004 |
| SBAR3 | 0,392 | 0,386 | 0,06 | 0,003 |
| SFQ | 0,401 | 0,394 | 0,02 | 0,001 |
| SN | 0,097 | 0,095 | 0,00 | 0,000 |
| SS | 0,446 | 0,450 | 0,04 | 0,001 |
| Total | 0,372 | 0,367 | 0,13 | 0,017 |
| C.V (%) | 34,60 | | | |



Tabla 54. Resumen de resultados estadística descriptiva para pH

| Tratamiento | Media | Mediana | Desviación típica | Varianza |
|-------------|-------|---------|-------------------|----------|
| SA | 7,892 | 7,96 | 0,12 | 0,015 |
| SBAR1 | 7,832 | 7,83 | 0,11 | 0,011 |
| SBAR2 | 7,838 | 7,86 | 0,10 | 0,011 |
| SBAR3 | 7,888 | 7,83 | 0,11 | 0,013 |
| SFQ | 7,87 | 7,83 | 0,16 | 0,024 |
| SN | 5,238 | 5,25 | 0,10 | 0,011 |
| SS | 7,888 | 7,87 | 0,10 | 0,010 |
| Total | 7,492 | 7,49 | 0,94 | 0,884 |
| C.V (%) | 12,55 | | | |

Tabla 55. Resumen de resultados estadística descriptiva para materia orgánica

| Tratamiento | Media | Mediana | Desviación típica | Varianza |
|-------------|-------|---------|-------------------|----------|
| SA | 4,408 | 4,27 | 0,31 | 0,095 |
| SBAR1 | 4,7 | 4,64 | 0,40 | 0,164 |
| SBAR2 | 4,652 | 4,61 | 0,30 | 0,093 |
| SBAR3 | 4,41 | 4,38 | 0,21 | 0,043 |
| SFQ | 4,32 | 4,4 | 0,20 | 0,040 |
| SN | 4,882 | 4,92 | 0,38 | 0,145 |
| SS | 4,03 | 4,01 | 0,37 | 0,139 |
| Total | 4,486 | 4,461 | 0,39 | 0,155 |
| C.V (%) | 8,77 | | | |

Tabla 56. Resumen de resultados estadística descriptiva para nitrógeno total

| Tratamiento | Media | Mediana | Desviación típica | Varianza |
|-------------|-------|---------|-------------------|----------|
| SA | 0,378 | 0,378 | 0,04 | 0,002 |
| SBAR1 | 0,354 | 0,350 | 0,03 | 0,001 |
| SBAR2 | 0,42 | 0,406 | 0,04 | 0,002 |
| SBAR3 | 0,448 | 0,401 | 0,10 | 0,009 |
| SFQ | 0,338 | 0,331 | 0,04 | 0,002 |
| SN | 0,584 | 0,580 | 0,02 | 0,000 |
| SS | 0,306 | 0,294 | 0,04 | 0,002 |
| Total | 0,404 | 0,392 | 0,10 | 0,010 |
| C.V (%) | 24,28 | | | |

Tabla 57. Resumen de resultados estadística descriptiva para nitrógeno amoniacal

| Tratamiento | Media | Mediana | Desviación típica | Varianza |
|-------------|-------|---------|-------------------|----------|
| SA | 35,93 | 36,87 | 9,57 | 91,52 |
| SBAR1 | 39,67 | 36,87 | 10,75 | 115,48 |
| SBAR2 | 76,07 | 64,87 | 31,06 | 964,69 |
| SBAR3 | 52,73 | 55,53 | 15,69 | 246,10 |
| SFQ | 35,93 | 41,53 | 10,12 | 102,33 |
| SN | 26,60 | 27,53 | 2,08 | 4,34 |
| SS | 35,00 | 27,53 | 19,41 | 376,72 |
| Total | 43,13 | 41,53 | 21,53 | 463,69 |
| C.V (%) | 49,92 | | | |



ANEXO 5. RESULTADOS DEL METODO ESTADISTICO UTILIZADO (ANOVAS)

Tabla 58. ANOVA de un factor para germinación 8dds Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Porcentaje_germinación_8dds

| Origen | Suma de cuadrados tipo III | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|------------------|----------------------------------|----|---------------------|---------|------|
| Modelo corregido | 1,822ª | 6 | ,304 | 5,593 | ,001 |
| Intersección | 6,258 | 1 | 6,258 | 115,284 | ,000 |
| Tratamiento | 1,822 | 6 | ,304 | 5,593 | ,001 |
| Error | 1,520 | 28 | ,054 | 320 | |
| Total | 9,600 | 35 | | | |
| Total corregida | 3,342 | 34 | | | |

a. R cuadrado = ,545 (R cuadrado corregida = ,448)

Tabla 59. ANOVA de un factor para longitud de tallo Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Longitud_de_tallo

| Origen | Suma de cuadrados tipo III | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|------------------|----------------------------------|----|---------------------|---------|------|
| Modelo corregido | 409,856ª | 6 | 68,309 | 1,364 | ,263 |
| Intersección | 18130,616 | 1 | 18130,616 | 361,902 | ,000 |
| Tratamiento | 409,856 | 6 | 68,309 | 1,364 | ,263 |
| Error | 1402,748 | 28 | 50,098 | | |
| Total | 19943,220 | 35 | | | |
| Total corregida | 1812,604 | 34 | | | |

a. R cuadrado = ,226 (R cuadrado corregida = ,060)

Tabla 60. ANOVA de un factor para número de flores Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Número_de_flores

| Origen | Suma de cuadrados tipo III | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|------------------|----------------------------------|----|---------------------|--------|------|
| Modelo corregido | 33663,371ª | 6 | 5610,562 | 4,985 | ,001 |
| Intersección | 107309,829 | 1 | 107309,829 | 95,348 | ,000 |
| Tratamiento | 33663,371 | 6 | 5610,562 | 4,985 | ,001 |
| Error | 31512,800 | 28 | 1125,457 | 200 | |
| Total | 172486,000 | 35 | | | |
| Total corregida | 65176,171 | 34 | | | |

a. R cuadrado = ,516 (R cuadrado corregida = ,413)



Tabla 61. ANOVA de un factor para masa fresca Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Masa_fresca

| Origen | Suma de cuadrados tipo III | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|------------------|----------------------------------|----|---------------------|---------|------|
| Modelo corregido | 222,291 a | 6 | 37,048 | 2,313 | ,061 |
| Intersección | 2056,711 | 1 | 2056,711 | 128,387 | ,000 |
| Tratamiento | 222,291 | 6 | 37,048 | 2,313 | ,061 |
| Error | 448,548 | 28 | 16,020 | 322 | |
| Total | 2727,550 | 35 | | | |
| Total corregida | 670,839 | 34 | | | |

a. R cuadrado = ,331 (R cuadrado corregida = ,188)

Tabla 62. ANOVA de un factor para masa seca Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Masa_seca

| Origen | Suma de cuadrados tipo III | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|------------------|----------------------------------|----|---------------------|---------|------|
| Modelo corregido | 14,067ª | 6 | 2,344 | 6,047 | ,000 |
| Intersección | 77,257 | 1 | 77,257 | 199,263 | ,000 |
| Tratamiento | 14,067 | 6 | 2,344 | 6,047 | ,000 |
| Error | 10,856 | 28 | ,388 | | |
| Total | 102,180 | 35 | | | |
| Total corregida | 24,923 | 34 | | | |

a. R cuadrado = ,564 (R cuadrado corregida = ,471)

Tabla 63. ANOVA de un factor para rendimiento Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Rendimiento

| Origen | Suma de cuadrados tipo III | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|------------------|----------------------------------|----|---------------------|---------|------|
| Modelo corregido | 222,291 a | 6 | 37,048 | 2,313 | ,061 |
| Intersección | 2056,711 | 1 | 2056,711 | 128,387 | ,000 |
| Tratamiento | 222,291 | 6 | 37,048 | 2,313 | ,061 |
| Error | 448,548 | 28 | 16,020 | 332 | |
| Total | 2727,550 | 35 | | | |
| Total corregida | 670,839 | 34 | | | |

a. R cuadrado = ,331 (R cuadrado corregida = ,188)



Tabla 64. ANOVA de un factor para nitrógeno foliar Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Nitrógeno_foliar

| Origen | Suma de cuadrados tipo III | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|------------------|----------------------------------|----|---------------------|---------|------|
| Modelo corregido | 7,613 ^a | 6 | 1,269 | 4,133 | ,004 |
| Intersección | 85,958 | 1 | 85,958 | 279,971 | ,000 |
| Tratamiento | 7,613 | 6 | 1,269 | 4,133 | ,004 |
| Error | 8,597 | 28 | ,307 | 332 | |
| Total | 102,168 | 35 | | | |
| Total corregida | 16,210 | 34 | | | |

a. R cuadrado = ,470 (R cuadrado corregida = ,356)

Tabla 65. ANOVA de un factor para Conductividad eléctrica Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Conductividad_eléctrica

| Origen | Suma de cuadrados tipo III | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|------------------|----------------------------------|----|---------------------|----------|------|
| Modelo corregido | ,456ª | 6 | ,076 | 19,539 | ,000 |
| Intersección | 4,855 | 1 | 4,855 | 1248,869 | ,000 |
| Tratamiento | ,456 | 6 | ,076 | 19,539 | ,000 |
| Error | ,109 | 28 | ,004 | 1700 | |
| Total | 5,420 | 35 | | | |
| Total corregida | ,565 | 34 | | | |

a. R cuadrado = ,807 (R cuadrado corregida = ,766)

Tabla 66. ANOVA de un factor para pH Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: pH

| Origen | Suma de cuadrados tipo III | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|------------------|----------------------------------|----|---------------------|------------|------|
| Modelo corregido | 29,662ª | 6 | 4,944 | 365,923 | ,000 |
| Intersección | 1964,702 | 1 | 1964,702 | 145425,765 | ,000 |
| Tratamiento | 29,662 | 6 | 4,944 | 365,923 | ,000 |
| Error | ,378 | 28 | ,014 | | |
| Total | 1994,742 | 35 | | | |
| Total corregida | 30,040 | 34 | | | |

a. R cuadrado = ,987 (R cuadrado corregida = ,985)



Tabla 67. ANOVA de un factor para materia orgánica Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Materia_orgánica

| Origen | Suma de cuadrados tipo III | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|------------------|----------------------------------|----|---------------------|----------|------|
| Modelo corregido | 2,388ª | 6 | ,398 | 3,881 | ,006 |
| Intersección | 704,347 | 1 | 704,347 | 6869,666 | ,000 |
| Tratamiento | 2,388 | 6 | ,398 | 3,881 | ,006 |
| Error | 2,871 | 28 | ,103 | 1721 | |
| Total | 709,605 | 35 | | | |
| Total corregida | 5,258 | 34 | | | |

a. R cuadrado = ,454 (R cuadrado corregida = ,337)

Tabla 68. ANOVA de un factor para nitrógeno total Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Nitrógeno_total

| Origen | Suma de cuadrados tipo III | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|------------------|----------------------------------|----|---------------------|----------|------|
| Modelo corregido | ,259ª | 6 | ,043 | 17,646 | ,000 |
| Intersección | 5,713 | 1 | 5,713 | 2338,475 | ,000 |
| Tratamiento | ,259 | 6 | ,043 | 17,646 | ,000 |
| Error | ,068 | 28 | ,002 | 100 | |
| Total | 6,040 | 35 | | | |
| Total corregida | ,327 | 34 | | | |

a. R cuadrado = ,791 (R cuadrado corregida = ,746)

Tabla 69. ANOVA de un factor para nitrógeno amoniacal Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Nitrógeno_amoniacal

| Origen | Suma de cuadrados tipo III | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|------------------|----------------------------------|----|---------------------|---------|------|
| Modelo corregido | 8160,629ª | 6 | 1360,105 | 5,008 | ,001 |
| Intersección | 65115,518 | 1 | 65115,518 | 239,752 | ,000 |
| Tratamiento | 8160,629 | 6 | 1360,105 | 5,008 | ,001 |
| Error | 7604,670 | 28 | 271,595 | 322 | |
| Total | 80880,816 | 35 | | | |
| Total corregida | 15765,298 | 34 | | | |

a. R cuadrado = ,518 (R cuadrado corregida = ,414)





ANEXO 6. COEFICIENTE DE CORRELACIÓN DE PEARSON PARA LAS VARIABLES DE RESPUESTA EVALUADAS EN LAS PLANTAS Y EN LOS SUELOS

| | Nitrógeno | Nitrógeno | Nitrógeno | Porcentaje | Porcentaje | Número | Longitud | Diámetro | Número | Número | | Conductividad | | Materia | Masa | Masa |
|------------------------------|-------------------|-----------|-----------|-------------|--------------------|--------------------|--------------------|----------|----------|-------------------|-------------------|---------------------|---------------------|--------------------|-------------------|----------|
| VARIABLES | total | amoniacal | foliar | germinación | germinación | de plantas | de tallo | de tallo | de hojas | de flores | Rendimiento | eléctrica | рН | orgánica | fresca | seca |
| | | | | 8dds | 15dds | | | | | | | | | | | <u> </u> |
| Nitrógeno total | 1 | -,040 | -,125 | ,483** | ,158 | ,241 | ,190 | ,104 | ,113 | ,405 [*] | -,094 | -,734** | -,772** | ,533** | -,092 | ,304 |
| Nitrógeno amoniacal | -,040 | 1 | ,374* | -,160 | ,083 | ,015 | ,161 | ,076 | -,060 | -,068 | ,083 | ,248 | ,305 | ,140 | ,085 | -,190 |
| Nitrógeno foliar | -,125 | ,374* | 1 | -,199 | -,137 | ,266 | ,364* | ,546** | ,251 | ,061 | ,425 [*] | ,139 | ,296 | ,073 | ,425 [*] | ,137 |
| Porcentaje germinación 8dds | ,483** | -,160 | -,199 | 1 | ,369* | -,055 | ,104 | ,029 | -,019 | ,440** | ,070 | -,506** | -,594** | ,001 | ,071 | ,374* |
| Porcentaje germinación 15dds | ,158 | ,083 | -,137 | ,369* | 1 | ,498** | ,356* | ,187 | ,133 | ,537** | ,270 | -,269 | -,342 [*] | -,280 | ,271 | ,376* |
| Número de plantas | ,241 | ,015 | ,266 | -,055 | ,498** | 1 | ,611** | ,661** | ,617** | ,608** | ,566** | -,334 [*] | -,354 [*] | ,075 | ,567** | ,679** |
| Longitud de tallo | ,190 | ,161 | ,364* | ,104 | ,356* | ,611 ^{**} | 1 | ,770** | ,530** | ,512** | ,498** | -,404 [*] | -,346 [*] | ,127 | ,498** | ,623** |
| Diámetro de tallo | ,104 | ,076 | ,546** | ,029 | ,187 | ,661** | ,770** | 1 | ,534** | ,507** | ,580** | -,292 | -,199 | -,014 | ,580** | ,647** |
| Número de hojas | ,113 | -,060 | ,251 | -,019 | ,133 | ,617** | ,530** | ,534** | 1 | ,476** | ,813** | -,319 | -,304 | ,116 | ,813** | ,804** |
| Número de flores | ,405 [*] | -,068 | ,061 | ,440** | ,537** | ,608** | ,512 ^{**} | ,507** | ,476** | 1 | ,458** | -,586** | -,666** | ,035 | ,458** | ,794** |
| Rendimiento | -,094 | ,083 | ,425* | ,070 | ,270 | ,566** | ,498** | ,580** | ,813** | ,458** | 1 | -,083 | -,050 | -,128 | 1,000** | ,738** |
| Conductividad eléctrica | -,734** | ,248 | ,139 | -,506** | -,269 | -,334 [*] | -,404 [*] | -,292 | -,319 | -,586** | -,083 | 1 | ,901** | -,398 [*] | -,084 | -,550** |
| рН | -,772** | ,305 | ,296 | -,594** | -,342 [*] | -,354 [*] | -,346 [*] | -,199 | -,304 | -,666** | -,050 | ,901** | 1 | -,440** | -,051 | -,619** |
| Materia orgánica | ,533** | ,140 | ,073 | ,001 | -,280 | ,075 | ,127 | -,014 | ,116 | ,035 | -,128 | -,398 [*] | -,440** | 1 | -,127 | ,096 |
| Masa fresca | -,092 | ,085 | ,425* | ,071 | ,271 | ,567** | ,498** | ,580** | ,813** | ,458** | 1,000** | -,084 | -,051 | -,127 | 1 | ,738** |
| Masa seca | ,304 | -,190 | ,137 | ,374* | ,376* | ,679** | ,623** | ,647** | ,804** | ,794** | ,738** | -,550 ^{**} | -,619 ^{**} | ,096 | ,738** | 1 |

^{**.} La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

^{*.} La correlación es significante al nivel 0,05 (bilateral).

c. N por lista = 35





ANEXO 7. COEFICIENTE DE PEARSON ENTRE CADA UNA DE LAS VARIABLES Y LAS DOSIS DE INÓCULO

| VARIABLES | Nitrógeno total | Nitrógeno amoniacal | Nitrógeno foliar | Porcentaje germinación | Porcentaje germinación | Número de plantas | Longitud de tallo | Diámetro de tallo | Número de hojas | Número de flores | Rendimiento | Conductivida d eléctrica | рН | Materia orgánica | Masa fresca | Masa seca |
|------------------------------|--------------------|------------------------|---------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|--------------------|---------------------|--------------------|-----------------------------|--------------------|---------------------|-------------------|-------------------|
| Nitrógeno total | 1 | ,129 | -,145 | 8dds ,457 | 15dds ,089 | ,079 | -,278 | -,229 | -,256 | -,102 | -,083 | -,166 | -,211 | -,176 | -,081 | -,326 |
| Nitrógeno amoniacal | ,129 | 1 | ,305 | ,185 | ,395 | ,128 | ,444 | -,161 | -,069 | ,354 | ,130 | ,074 | ,047 | ,184 | ,133 | -,097 |
| Nitrógeno foliar | -,145 | ,305 | 1 | ,562 [*] | -,040 | -,016 | ,259 | ,498 | ,221 | ,665** | ,518 [*] | -,043 | ,006 | -,155 | ,519 [*] | ,483 |
| Porcentaje germinación 8dds | ,457 | ,185 | ,562 [*] | 1 | -,024 | -,337 | ,065 | ,330 | -,207 | ,373 | ,213 | ,013 | ,217 | -,346 | ,213 | ,019 |
| Porcentaje germinación 15dds | ,089 | ,395 | -,040 | -,024 | 1 | ,490 | ,457 | -,220 | ,002 | ,479 | ,241 | ,183 | ,167 | -,422 | ,242 | -,030 |
| Número de plantas | ,079 | ,128 | -,016 | -,337 | ,490 | 1 | ,093 | -,311 | ,344 | ,194 | ,353 | ,323 | -,204 | ,083 | ,355 | ,288 |
| Longitud de tallo | -,278 | ,444 | ,259 | ,065 | ,457 | ,093 | 1 | ,099 | ,194 | ,264 | ,428 | ,222 | ,171 | ,041 | ,426 | ,248 |
| Diámetro de tallo | -,229 | -,161 | ,498 | ,330 | -,220 | -,311 | ,099 | 1 | ,123 | ,542 [*] | ,312 | ,094 | -,096 | -,366 | ,311 | ,529 [*] |
| Número de hojas | -,256 | -,069 | ,221 | -,207 | ,002 | ,344 | ,194 | ,123 | 1 | ,246 | ,811 ^{**} | ,035 | -,533 [*] | ,159 | ,811** | ,831** |
| Número de flores | -,102 | ,354 | ,665** | ,373 | ,479 | ,194 | ,264 | ,542 [*] | ,246 | 1 | ,569 [*] | ,241 | -,076 | -,465 | ,570 [*] | ,539 [*] |
| Rendimiento | -,083 | ,130 | ,518 [*] | ,213 | ,241 | ,353 | ,428 | ,312 | ,811** | ,569 [*] | 1 | ,134 | -,403 | -,110 | 1,000** | ,878** |
| Conductividad eléctrica | -,166 | ,074 | -,043 | ,013 | ,183 | ,323 | ,222 | ,094 | ,035 | ,241 | ,134 | 1 | ,318 | ,168 | ,132 | ,297 |
| рН | -,211 | ,047 | ,006 | ,217 | ,167 | -,204 | ,171 | -,096 | -,533 [*] | -,076 | -,403 | ,318 | 1 | -,056 | -,402 | -,390 |
| Materia orgánica | -,176 | ,184 | -,155 | -,346 | -,422 | ,083 | ,041 | -,366 | ,159 | -,465 | -,110 | ,168 | -,056 | 1 | -,110 | -,007 |
| Masa fresca | -,081 | ,133 | ,519 [*] | ,213 | ,242 | ,355 | ,426 | ,311 | ,811** | ,570 [*] | 1,000** | ,132 | -,402 | -,110 | 1 | ,877** |
| Masa seca | -,326 | -,097 | ,483 | ,019 | -,030 | ,288 | ,248 | ,529 [*] | ,831** | ,539 [*] | ,878** | ,297 | -,390 | -,007 | ,877** | 1 |

^{*.} La correlación es significante al nivel 0,05 (bilateral).

^{**.} La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

c. N por lista = 15