

Universidad de Costa Rica

Facultad de Ciencias Agroalimentarias

Escuela de Agronomía

Para optar al grado de: Licenciado en Agronomía

Bach. Alejandro Gómez Madriz

EVALUACIÓN DEL EFECTO FERTILIZANTE DE LA CIANOBACTERIA *Nostoc commune*. EN EL DESARROLLO VEGETATIVO DE LA LECHUGA (*Lactuca sativa*) VAR. AMERICANA, EN EL CANTÓN DE TURRIALBA.

Sede del Atlántico, Recinto Turrialba

2021



Acta de presentación de Requisito Final de Graduación

Sesión del Tribunal Examinador celebrada el día **viernes 13 de agosto de 2021**, con el objeto de recibir el informe virtual del estudiante **ALEJANDRO JOSÉ GÓMEZ MADRIZ, CARNÉ B22826**, quien se acoge al Reglamento de Trabajos Finales de Graduación bajo la modalidad de **Investigación Dirigida** para optar **al Título de Licenciatura en Agronomía**.

Dra. Rosibel Orozco Vargas	Presidenta del Tribunal
PhD. Ana Margarita Silva Benavides	Directora del Trabajo Final de Graduación
PhD. Wemer Rodríguez Montero	Miembro del Tribunal
M. Sc. Helga Thiele Mora	Miembro del Tribunal
Lic. Kenneth Largaespada Zelaya	Representante de la Carrera de Agronomía

ARTÍCULO 1

La presidenta informa que el expediente del estudiante **ALEJANDRO JOSÉ GÓMEZ MADRIZ, CARNÉ B22826**, contiene todos los documentos de rigor. Declara que el postulante cumplió con todos los demás requisitos del plan de estudios correspondiente y, por lo tanto, se solicita que proceda a hacer la exposición.

ARTÍCULO 2

El postulante **ALEJANDRO JOSÉ GÓMEZ MADRIZ, CARNÉ B22826**, hace la exposición virtual de su trabajo final de graduación titulado: "Evaluación del efecto fertilizante de la cianobacteria *Nostoc commune* en el desarrollo vegetativo de la lechuga (*Lactuca sativa*) var. Americana, en el Cantón de Turrialba".

ARTÍCULO 3

Terminada la disertación, los miembros del Tribunal Examinador interrogan al postulante durante el tiempo reglamentario y, una vez concluido el interrogatorio, el Tribunal se retira a deliberar.

ARTÍCULO 4

El Tribunal considera el trabajo final de graduación satisfactorio y le confiere la calificación de
..... Aprobado



ARTÍCULO 5

La Presidenta del Tribunal comunica al postulante el resultado de la deliberación y lo declara acreedor al **Título Profesional de Licenciatura en Agronomía**.

Se le indica la obligación de presentarse al acto público de juramentación, al que será oportunamente convocada. Se da lectura al acta que firman los Miembros del Tribunal Examinador y el postulante, a las 15:43 horas.

Dra. Rosibel Orozco Vargas

Presidenta

PhD. Ana Margarita Silva Benavides

Directora Trabajo Final de Graduación

PhD. Wemer Rodríguez Montero

Miembro del Tribunal

M. Sc. Helga Thiele Mora

Miembro del Tribunal

Lic. Kenneth Largaespada Zelaya

Representante de la Carrera de
Agronomía

Alejandro José Gómez Madriz

Postulante

C: Decano
Oficina de Registro
Postulante



COMITÉ ASESOR DE TESIS

Directora

PhD. Ana Margarita Silva Benavidez

Lectores

PhD. Werner Rodríguez Montero

M. Sc. Helga Thiele Mora

Agradecimientos

Primero a Dios, que permite todo lo ocurrido.

A mi madre y a mi padre por su amor y apoyo incondicional.

A mis abuelos, por su amor y cariño, en especial a mi abuelo Oscar Madriz con quién encontré la cepa de cianobacterias utilizada para este trabajo.

A mi novia Alessandra, por su amor, apoyo y compañía.

A mi comité asesor, Margarita Silva, por darme la oportunidad de trabajar en conjunto siendo mi profesora y consejera; Werner Rodríguez y Helga Thiele, por su acompañamiento durante el desarrollo de este trabajo.

A profesionales externos que me brindaron su apoyo, Giuseppe Torzillo, Álvaro Ureña y Eduardo Corrales, quienes cumplieron un papel de apoyo a pesar de no formar parte de mi comité asesor.

Al personal de laboratorio del Recinto de Turrialba, Ana Tapia, Juan Pereira y Jorge Álvarez por su ayuda y asistencia en el proceso de ensayo de campo.

A mis compañeros de generación, que me animaron y colaboraron en todo el proceso de desarrollo de este trabajo.

A la Universidad de Costa Rica por permitirme formarme como profesional.

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO.....	1
Introducción.....	1
1.1 Justificación.....	1
1.2 Objetivos.....	2
1.2.1 Objetivo general.....	2
1.2.2 Objetivos específicos.....	2
CAPÍTULO 2.....	4
Marco teórico.....	4
2.1 Origen y domesticación de la lechuga.....	4
2.2 Requerimientos nutricionales.....	5
2.3 Taxonomía de la lechuga.....	5
2.4 Principales plagas, enfermedades y fisiopatías de la lechuga.....	6
2.5 Importancia de los fertilizantes nitrogenados.....	6
2.5.1 Fertilizante nitrogenado Urea.....	7
2.6 Impacto ambiental de los fertilizantes nitrogenados.....	8
2.7 Los biofertilizantes.....	9
2.8 Uso de cianobacterias como biofertilizantes.....	9
2.8.1 <i>Nostoc commune</i> como biofertilizante.....	10
2.8.2 Liofilización de biomasa.....	12
CAPÍTULO 3.....	13
Materiales y métodos.....	13
3.1. Ubicación del estudio.....	13
3.2. Generalidades del experimento.....	13
3.2.1 Materiales utilizados.....	13
3.2.1.1 Lechuga.....	13
3.2.1.2 Suelo.....	13
3.2.1.3 Cianobacteria.....	13
3.2.1.4 Liofilización.....	14
3.3 Diseño experimental.....	14
3.3.1 Estructura de unidades experimentales.....	14

3.3.2 Estructura de tratamientos.....	14
3.3.3 Variables de interés.....	15
3.4 Análisis de datos.....	17
CAPÍTULO 4.....	20
Resultados.....	20
4.1 Descripción general.....	20
4.2 Variables radicales y peso seco.....	20
4.2.1 Peso seco.....	20
4.2.2 WinRhizo.....	21
4.2.3 Raíz pivotante.....	21
4.3 Análisis químico de suelo y foliar.....	22
4.3.1 Análisis de suelo.....	22
4.3.2 Análisis de tejidos.....	23
4.4 Variables foliares y temperatura.....	24
4.4.1 Índice de área foliar.....	27
4.4.2 Ancho de hoja.....	29
4.4.3 Longitud de hoja.....	31
4.4.4 Altura de planta.....	33
4.4.5 Número de hojas.....	35
4.4.6 Índice relativo de clorofila.....	37
4.4.7 Temperatura del dosel de la planta.....	39
CAPÍTULO 5.....	43
5.1 Discusión.....	43
5.2 Conclusiones.....	49
5.3 Recomendaciones.....	50
Referencias bibliográficas.....	51

Índice de Cuadros

Cuadro 1. Resultado de análisis químico en el suelo utilizado.....	13
Cuadro 2. Resultado de análisis de tejidos en la cepa de Nostoc commune utilizada.....	14
Cuadro 3. Descripción de los tratamientos utilizados. Fuente de nitrógeno y dosis.....	15
Cuadro 4. Variables de respuesta, unidades de medición y equipo utilizado.....	17
Cuadro 5. Peso seco de las hojas y la raíz por tratamiento.....	20
Cuadro 6. Variables radiculares WinRhizo por tratamiento.....	21
Cuadro 7. Comparación de medias (LSD Fisher) del longitud de la raíz pivotante por tratamiento.....	22
Cuadro 8. Análisis químico de suelo por tratamiento al finalizar el ensayo.....	22
Cuadro 9. Análisis químico de suelo, porcentaje de Carbono, Nitrógeno y su relación por tratamiento.....	23
Cuadro 10. Análisis de tejidos, porcentaje de Nitrógeno y Carbono.....	23
Cuadro 11. Medidas resumen de variables foliares evaluadas a lo largo de 5 semanas de trabajo.....	25
Cuadro 12. Valores F y p de las variables foliares.....	26
Cuadro 13. Comparación de contrastes para la variable Área Foliar, a lo largo de 5 semanas de trabajo.....	27
Cuadro 14. Comparación de contrastes para la variable Ancho de hoja, a lo largo de 5 semanas de trabajo.....	29
Cuadro 15. Comparación de contrastes para la variable Longitud de hoja, a lo largo de 5 semanas de trabajo.....	31
Cuadro 16. Comparación de contrastes para la variable Altura de planta, a lo largo de 5 semanas de trabajo.....	34
Cuadro 17. Comparación de contrastes para la variable Número de hojas, a lo largo de 5 semanas de trabajo.....	36
Cuadro 18. Comparación de contrastes para la variable Índice relativo de clorofila, a lo largo de 5 semanas de trabajo.....	38
Cuadro 19. Comparación de contrastes para la variable Temperatura del dosel de la planta, a lo largo de 5 semanas de trabajo.....	40

Índice de figuras

Figura 1. Curva de absorción de nutriente para lechuga americana.....	5
Figura 2. Comparación de solubilidad de distintos fertilizantes sólidos.....	7
Figura 3. Exopolisacáridos presentes como envoltura celular en <i>Nostoc</i> sp, tinción negativa (tinta china).....	11
Figura 4. Liofilizador Labconco (a) y muestra de <i>Nostoc commune</i> liofilizada (b).....	14
Figura 5. Resultado de la relación Carbono/Nitrógeno en los tejidos foliares por tratamiento.....	24
Figura 6. Biplot multivariado de los componentes principales de las variables foliares con respecto a dos componentes principales que más explican la variación observada.....	26
Figura 7. Efecto de los grupos de tratamientos sobre el Índice de área foliar en el periodo de evaluación.....	28
Figura 8. Efecto de la dosis sobre el Índice de área foliar por tratamiento en el grupo <i>Nostoc</i> durante periodo de evaluación.....	29
Figura 9. Efecto de los grupos de tratamientos sobre el Ancho de hoja en el periodo de evaluación.....	30
Figura 10. Efecto de la dosis sobre el Ancho de hoja por tratamiento en el grupo <i>Nostoc</i> durante periodo de evaluación.....	31
Figura 11. Efecto de los grupos de tratamientos sobre la Longitud de hoja en el periodo de evaluación.....	32
Figura 12. Efecto de la dosis sobre la Longitud de la hoja por tratamiento en el grupo <i>Nostoc</i> durante periodo de evaluación.....	33
Figura 13. Efecto de los grupos de tratamientos sobre la Altura de planta en el periodo de evaluación.....	34
Figura 14. Efecto de la dosis sobre la Altura de planta por tratamiento en el grupo <i>Nostoc</i> durante periodo de evaluación.....	35
Figura 15. Efecto de los grupos de tratamientos sobre el índice de Número de hojas en el periodo de evaluación.....	36
Figura 16. Efecto de la dosis sobre el Número de hojas por tratamiento en el grupo <i>Nostoc</i> durante periodo de evaluación.....	37
Figura 17. Efecto de los grupos de tratamientos sobre el índice de Índice relativo de clorofila en el periodo de evaluación.....	38

Figura 18. Efecto de la dosis sobre el Índice relativo de clorofila por tratamiento en el grupo Nostoc durante periodo de evaluación.....	39
Figura 19. Efecto de los grupos de tratamientos sobre Temperatura del dosel de la planta en el periodo de evaluación.....	40
Figura 20. Efecto de la dosis sobre la Temperatura del dosel de la planta por tratamiento en el grupo Nostoc durante periodo de evaluación.....	41
Figura 21. Resumen de fotos clasificado por dosis y fuente de nitrógeno en su última semana de evaluación.....	42

Resumen

Palabras clave: Cianobacteria, *Nostoc commune*, biofertilizante, fijación de nitrógeno, *Lactuca sativa*.

Dado que el uso excesivo de fertilizantes nitrogenados en la agricultura constituye un grave problema de contaminación ambiental y afecta a la población en general, en la presente tesis se evaluó el efecto de la biomasa liofilizada de la cianobacteria *Nostoc commune* sobre el desarrollo vegetal de plantas de lechuga (*Lactuca sativa*). La investigación se realizó en un ambiente protegido en las instalaciones de la Universidad de Costa Rica, Sede del Atlántico, Recinto de Turrialba, y se utilizó una cepa de cianobacteria endémica del Cantón. Se compararon tres fuentes de nitrógeno aplicadas al momento de siembra: Orgánica (*Nostoc commune*), Mineral (Urea) y Combinación (*Nostoc commune* + Urea) bajo tres niveles de dosificación (75 Kg ha^{-1} , 150 Kg ha^{-1} y 225 Kg ha^{-1}) más un testigo absoluto, evaluado mediante un arreglo de tratamientos completamente al azar con medidas repetidas en el tiempo. El grupo Nostoc (N225, N150 y N75), presentó los mejores resultados en las variables de crecimiento radicular, foliar y la mejor relación Carbono/Nitrógeno, mostrando diferencias significativas comparado al resto de los grupos y el testigo. El tratamiento dentro del grupo Nostoc que mostró los mejores resultados alcanzando diferencias significativas con respecto a los demás tratamientos del grupo, fue el Nostoc 225 Kg ha^{-1} . Estos resultados indican que la cianobacteria *Nostoc commune*, endémica de Turrialba, tiene valor como biofertilizante nitrogenado, lo que invita a extrapolar este tipo de ensayos a niveles de campo abierto y utilizando otra clase de cultivos.

Summary

Keywords: Cyanobacteria, *Nostoc commune*, biofertilizer, nitrogen fixation, *Lactuca sativa*.

Given that the excessive use of nitrogen fertilizers in agriculture constitutes a serious problem of environmental pollution and affects the population in general, in this thesis, the effect of the lyophilized biomass of the cyanobacterium *Nostoc commune* on the vegetative development of plants of lettuce (*Lactuca sativa*) was evaluated. The research was made in a protected environment at the facilities of the Universidad de Costa Rica, Sede del Atlántico, Recinto de Turrialba, and a cyanobacterial strain endemic to the Canton was used. Three nitrogen sources applied at sowing time were compared: Organic (*Nostoc commune*), Mineral (Urea) and Combination (*Nostoc commune* + Urea) under three dosage levels (75 Kg ha⁻¹, 150 Kg ha⁻¹ and 225 Kg ha⁻¹) plus an absolute control treatment, evaluated through an arrangement of completely randomized treatments with repeated measures over time. The *Nostoc* group (N225, N150 and N75), presented the best results in the variables of root and foliar growth and the best Carbon/Nitrogen ratio, showing significant differences compared to the rest of the groups and the control, and the treatment within the *Nostoc* group which showed better results reaching significant differences with respect to the other treatments was *Nostoc* 225 Kg ha⁻¹. These results indicate that the cyanobacterium *Nostoc commune*, endemic to Turrialba, has value as a nitrogen biofertilizer, which invites us to extrapolate this type of test to open field levels and using another class of crops.

CAPÍTULO 1

Introducción

1.1 Justificación

Las estadísticas de la FAO indican que, en el mundo, el área plantada de lechugas asciende a 1,16 millones de hectáreas y 14 % pertenece a la lechuga sembrada en el continente americano. En América Central, las áreas de siembra de lechuga alcanzan 2400 hectáreas y los principales países productores son Guatemala, Costa Rica y Panamá (Saborío 2017).

En Costa Rica, las cifras de área sembrada de lechuga (*Lactuca sativa*) no son consistentes en el tiempo ya que se emplea el control sanitario de rotación de cultivos. La importancia a nivel del mercado nacional recae en la preferencia entre las hortalizas más consumidas por los costarricenses (4,8 Kg consumo per cápita anual). Debido a una oferta de producto fresco en los centros de consumo, derivado de una oferta superior gracias a variedades con mayor rango de adaptación al trópico y a un aumento de las unidades de producción hidropónicas. A esto debe sumarse la oferta de lechugas (en diversas mezclas), a modo de ensaladas preparadas (precortadas y empacadas), que se le ofrecen, en supermercados, al consumidor detallista y, en empaques mayores y a las cadenas de restaurantes (Saborío 2017).

El abuso de fertilizantes en la agricultura, específicamente en cultivos hortícolas como es el caso de la lechuga (*Lactuca sativa*), constituye un grave problema de contaminación ambiental y que afecta la salud de la población expuesta a este tipo de componentes químicos. Muchos productores, con el objetivo de mejorar la producción y rendimiento, emplean fertilizantes químicos en cantidades superiores a las recomendadas, causando contaminaciones en mantos acuíferos y produciendo problemas en la salud de los agricultores y población aledaña al sembradío (FAO 2002). A pesar de que los fertilizantes químicos proveen un efecto rápido sobre la planta; con facilidad también se pierden en el campo, debido al lavado por lixiviación, dirigiéndose hacia los mantos acuíferos vitales para la cotidianidad y por desnitrificación se volatilizan contaminando nuestra atmósfera (Elizondo 2006).

La importancia de la producción de lechuga en el país y la necesidad de los productores en mejorar su rentabilidad no justifica el daño ambiental que puede producir el

exceso de los productos químicos, por lo cual, es necesario buscar un reemplazo de los fertilizantes nitrogenados de fuente mineral, promoviendo el uso de biofertilizantes (Silva et al. 2014). La utilización de biofertilizantes basados en cianobacterias es una práctica en desarrollo en Costa Rica, pero con una proyección grande debido a sus bastos beneficios de simbiosis con las plantas y en suelo agrícola (Sahu et al. 2012).

Las cianobacterias, cianofíceas o algas verde-azules, son un grupo de microorganismos procariotas capaces de realizar fotosíntesis oxigénica mediante un mecanismo muy similar al usado por plantas superiores (Whitton y Potts 2012). Cianobacterias del género *Nostoc* sp, se encuentran de manera natural en la rizosfera en muchos de los suelos del país utilizados para la agricultura, estas tienen la capacidad de fijar nitrógeno del ambiente y almacenarlo en su organismo. Su tamaño microscópico, su fácil reproducción y su constante movilización, son características que le otorgan un gran potencial como biofertilizante (Mayz 2004).

Fomentar el uso de cianobacterias endémicas de la región (Turrialba), como fuente de fertilizante nitrogenado, apoya una alternativa orgánica accesible para los productores y con posibles proyecciones positivas a nivel país (Costa Rica).

Este trabajo busca demostrar que la biomasa liofilizada de la cianobacteria *Nostoc commune* endémica de Turrialba es una alternativa natural para la fertilización nitrogenada convencional.

1.2 Objetivos

1.2.1 General:

Evaluar el efecto de la biomasa liofilizada de la cianobacteria *Nostoc commune*, sobre el desarrollo vegetal de lechuga (*Lactuca sativa*), como alternativa biológica de fertilización nitrogenada.

1.2.2 Específicos:

- Evaluar la capacidad fertilizante de la biomasa liofilizada de la cianobacteria *Nostoc commune* en las plantas de lechuga (*Lactuca sativa*) en términos de crecimiento del sistema aéreo y sistema radicular.

- Comparar dos fuentes de nitrógeno suministrado (*Nostoc commune* y Mineral), aplicadas en proporciones de 1:0, 1:1 y 0:1, en términos de crecimiento del sistema aéreo y sistema radicular de la planta de lechuga (*Lactuca sativa*).
- Comparar las fuentes de nitrógeno suministrados en los tratamientos, bajo tres dosis (75,150 y 225 Kg ha⁻¹), en términos de crecimiento del sistema aéreo y sistema radicular de la planta de lechuga (*Lactuca sativa*).

CAPÍTULO 2

Marco teórico

2.1 Origen y domesticación de la lechuga

Antes de la domesticación por los humanos, la lechuga crecía de manera silvestre; aún no está claro cuáles especies participaron en la evolución que condujo a la lechuga moderna, pero hay certera evidencia de que *Lactuca serriola* es uno de los ancestros directos, dado que los cromosomas entre *L. sativa* y *L. serriola* son muy similares morfológicamente y no tienen problemas en cruzarse libremente. El centro de origen de la lechuga probablemente se encuentra entre Asia Menor y la cuenca del Mediterráneo, pero la transición a su forma comestible, probablemente tuvo lugar en el área del Mediterráneo oriental. La primera indicación de su cultivo en Europa Occidental fue encontrada en el herbario de Schöffer, en 1485, quien describió cuatro tipos de lechuga. Fue traída al Nuevo Mundo por Cristóbal Colón en su segundo viaje. En los siguientes 400 años de su introducción a América, una gran variedad de tipos y formas de lechuga han sido desarrollados y actualmente cultivados en prácticamente todo el mundo (INIA 2017).

En el mundo, la lechuga es una de las hortalizas que más cultivada y es producida principalmente en países de cuatro estaciones. En nuestro país, esta hortaliza se cultiva principalmente en altitudes importantes donde los climas son frescos, siendo Cartago y el cantón de Zarceró, las principales zonas productoras de lechuga, en las cuales se produce principalmente la lechuga tipo “americana”. Según los registros de oferta en nuestro país, la mayor oferta se da en los meses de julio y noviembre, y su precio alcanza su máximo valor en el mes de diciembre, ya que es el mes de mayor demanda (Vásquez 2015).

2.2 Requerimientos nutricionales

El cultivo de lechuga incrementa su tasa de crecimiento en la fase de formación de cabeza (crecimiento vegetativo), por lo que la fertilización también debe incrementarse en este periodo. El adecuado equilibrio de la nutrición nitrogenada es esencial para obtener lechugas de buena calidad, y el exceso de nitrógeno afecta la compactación de la cabeza, alarga el ciclo vegetativo y predispone a la planta al ataque de enfermedades. Bertsch (2009), investiga sobre la curva de absorción de la lechuga y Saborío (2017) realiza una sinopsis de su trabajo, indicando los niveles de absorción de nutrientes por tonelada de producción de lechuga americana (Figura 1).

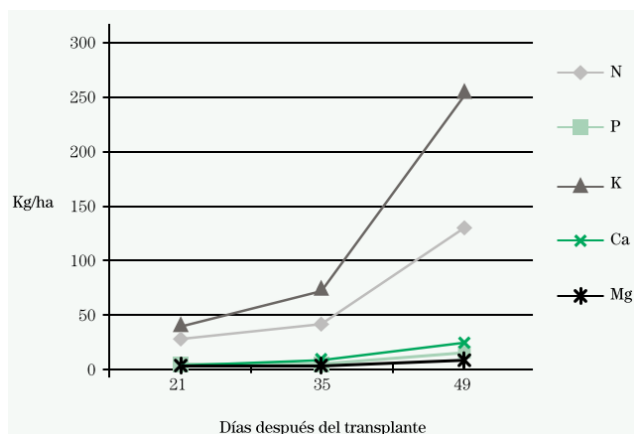


Figura 1. Curva de absorción de nutriente para lechuga americana.

Fuente: Saborio, 2017.

2.3 Taxonomía de la lechuga

La lechuga es clasificada taxonómicamente, según Jaramillo (2016), de la siguiente manera:

Reino: Plantae

División: Espermatofita

Clase: Angiosperma

Subclase: Dicotiledónea

Orden: Asterales

Familia: Compositae (Asteracea)

Tribu: Cichorieae

Género: *Lactuca*

Especie: *sativa*

2.4. Principales plagas, enfermedades y fisiopatías de la lechuga

Según Saborío (2017), las principales enfermedades, plagas y fisiopatías que afectan a la lechuga en Costa Rica son:

- Enfermedades: Mal del talluelo y pudrición basal (*Rhizoctonia solani*), Marchitez (*Fusarium oxysporum f. sp. lactucae*), Moho blanco (*Sclerotinia minor*, *S. sclerotiorum*),

Mildiu veloso (*Bremia lactucae*), Antracnosis (*Microdochium panattonianum*), Mancha bacteriana de la hoja (*Xanthomonas campestris pv. vitians*) y Mancha de barniz (*Pseudomonas cichorii*).

- Plagas: Áfidos (*Myzus spp.* y *Aphis spp.*), Trips (*Frankliniella sp.* y *Trips tabaci*), Mosca blanca (*Bemisia spp.*) y Moluscos (*Diplosolenodes occidentalis*).
- Fisiopatías: Quema de los bordes (*tipburn*), toxicidad por amonio y floración precoz.

2.5 Importancia de los fertilizantes nitrogenados

Los fertilizantes nitrogenados son sustancias nutritivas que en su composición química tienen nitrógeno en forma asimilable para la planta, cuando se le quiere proveer a un cultivo dicho elemento, son aplicados al suelo o a las hojas, ya que el nitrógeno puede ser absorbido por diferentes órganos. Para lograr un buen rendimiento en cuestión de producción, la nutrición del cultivo tiene que ser balanceada (Bertsch y Hernández 2003).

Otro beneficio de los fertilizantes nitrogenados es que son fácilmente disueltos en agua, como expone Molina (2015), al realizar una comparación fertilizantes del mercado nacional (Costa Rica), observado en la Figura 2.

Fertilizante	Temperatura °C			
	0	20	40	100
	g/l			
Urea	670	1080	1670	2510
Nitrato de amonio	1185	1877	2830	
Sulfato de amonio	704	754	812	1020
Urea fosfatada		960		
Fosfato de diamónico (DAP)	575	686	818	
Fosfato Monoamónico (MAP)	227	368	567	1740
Fosfato Monopotásico	143	227	339	
Nitrato de potasio	133	316	639	2542
Cloruro de potasio	282	342	403	562
Sulfato de potasio	75	111	148	241
Nitrato de calcio	1010	1294	1960	
Cloruro de calcio	603	745		
Sulfato de magnesio		356	454	
Nitrato de magnesio	639	701	818	
Acido bórico	270	500	870	

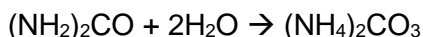
Figura 2. Comparación de solubilidad de distintos fertilizantes sólidos.

Fuente: Molina, 2015.

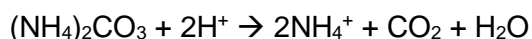
2.5.1 Fertilizante nitrogenado Urea

La urea es la principal fuente de fertilización nitrogenada en el mundo, especialmente en países en desarrollo por su bajo costo. Las ventajas de este fertilizante con relación a otros recae en el alto contenido de nitrógeno (46 %) que se puede incorporar al suelo o al follaje y su reacción ácida que le permite utilizarse en suelos neutros o ligeramente alcalinos. Para producirla, se hacen reaccionar amoníaco y dióxido de carbono en presencia de un catalizador, utilizando un recipiente especial, trabajando a temperaturas entre 170-210 °C y presiones que oscilan entre 170-400 atmósferas (Morales et al. 2019).

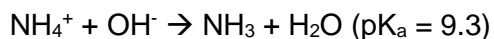
Una vez que la urea entra en contacto con el suelo o las plantas, la ureasa la convierte rápidamente en NH_3 (Amoníaco) presentando las siguientes reacciones en el suelo: (Mikkelsen 2010).



Urea \rightarrow Carbonato de amonio



(Reacción de consume acidez y eleva el pH)



La conversión de NH_4^+ (Amonio) a NH_3 está gobernada por el pH del suelo y varias reacciones ocurren después de la fertilización con urea que pueden afectar el pH del micrositio. La principal reacción es la hidrólisis, que cambia el pH alrededor del gránulo de (pH>8) a medida que se forma el carbonato de amonio. Durante la época de temperaturas altas es común que la hidrólisis de la urea se complete en una semana. Generalmente, los suelos con mayor CIC (Capacidad de Intercambio Catiónico) tienen la habilidad de retener más NH_4^+ y reducir las pérdidas por volatilización (Mikkelsen 2010).

2.6 Impacto ambiental de los fertilizantes nitrogenados

La polución por nitrógeno reactivo (amoníaco, nitratos y óxido nitroso) producto del proceso Haber-Bosch, es la base de la química del nitrógeno y se convierte en un auténtico problema de salud pública. En el año 2010, fue publicado el primer informe europeo sobre el nitrógeno: *The European Nitrogen Assessment* (ENA), y la comunidad científica se refirió por primera vez a la síntesis Haber-Bosch como una amenaza para la humanidad. El

informe señala cinco amenazas sociales causadas por el exceso de nitrógeno reactivo centradas en la calidad del agua, la calidad del aire, la calidad de los suelos, la calidad de los ecosistemas, y el cambio climático. Existen estudios que tienden a mostrar que hay una prevalencia de cánceres (del tracto digestivo, del colon y del recto), producto de la contaminación por nitratos en el agua potable, a partir de una dosis superior a 25 mg/L (Quesada y Estupuñan 2019).

La nitrificación de los fertilizantes nitrogenados que contienen amonio (NH_4^+) puede generar acidez en el suelo debido a la liberación de iones de hidrógeno (H^+). Chien et al. (2009), ejemplifica fertilizantes comerciales utilizados en la cotidianidad de la agricultura con la cantidad de iones hidronio que liberan. Cada mol de nitrógeno proveniente del sulfato de amonio que produce cuatro moles de H^+ , mientras que cada mol de nitrógeno proveniente de la Urea o del Nitrato de amonio, produce solamente dos moles de H^+ . La expulsión de iones hidronio explica cómo la acidez es generada en suelos que han recibido grandes aplicaciones de estos fertilizantes nitrogenados de fuente mineral.

La desnitrificación es un factor de importancia en las pérdidas de nitrógeno enfocado en el impacto ambiental. Las concentraciones de óxido nitroso en el ambiente se han incrementado desde la época pre-industrial hasta la actualidad, pasando de 270 a 315 partes por billón en el 2007. Una molécula de este gas tiene un potencial de calentamiento global de 298 veces más que una de dióxido de carbono en un periodo de 100 años. Se ha estimado que alrededor de 1,5 teragramos de nitrógeno son inyectados directamente a la atmósfera cada año bajo la forma de óxido nitroso, en donde las aplicaciones de fertilizantes en campos agrícolas (sin tener en cuenta abonos animales ni la fijación biológica de nitrógeno) representan un 15,8 % de dichas emisiones (Garzón y Cárdenas 2013).

2.7 Los biofertilizantes

Un biofertilizante, es un fertilizante orgánico que ayuda a proporcionar a las plantas los nutrientes necesarios para su desarrollo, y a mejorar la calidad del suelo, creando un entorno microbiológico natural. Los biofertilizantes y bioestimuladores representan un componente vital de los sistemas agrícolas sustentables, constituyen un medio económicamente atractivo y ecológicamente aceptable, que permite reducir el uso de los insumos externos (Zermeño et al. 2015).

Los biofertilizantes son considerados una alternativa amigable, rentable y sostenible a los fertilizantes sintéticos, porque no solo mejoran la producción agrícola sino también disminuye la contaminación e impacto ambiental. Son productos que contienen microorganismos vivos o compuestos naturales derivados de organismos tales como bacterias, hongos, microalgas, macroalgas y cianobacterias que mejoran los suelos (Silva et al. 2014)

Los biofertilizantes tienen la capacidad de aportar sustancias con propiedades que estimulan el crecimiento de las plantas y restauran la fertilidad del suelo. Debido a que las cianobacterias o su biomasa seca, brindan la posibilidad de beneficiar a los cultivos por aporte de nutrientes elementales y exudados, entran dentro de la categoría de biofertilizante (García y Sommerfeld 2016).

2.8 Uso de cianobacterias como biofertilizantes

Las cianobacterias comprenden un gran grupo morfológicamente heterogéneo de bacterias fototrópicas. Concretamente, las cianobacterias son organismos fotosintéticos oxigénicos. Son fijadoras de CO₂ en el ciclo de Calvin. Se consideran una unión entre procariontes y eucariontes fotosintéticos con capacidad de sintetizar clorofila que luego se desarrolla a lo largo del tiempo en células especializadas denominadas heterocistos (Flores et al. 2014). Se encuentran casi en cualquier hábitat donde el agua y la luz solar coinciden, incluyendo suelos, hielo, lagos, ríos, aguas termales y el océano. Representan alrededor de 1-2 % de la biomasa de carbono en el mundo, pero se estima que fijan entre 30-50 × 10¹⁵ gramos del carbón anualmente, que es cerca de 40 % de la fijación mundial de carbono y forman una parte esencial en el primer eslabón de la cadena trófica de organismos (Maila 2018).

La biofertilización es una propuesta alternativa para reemplazar los fertilizantes nitrogenados químicos. Las cianobacterias fijadoras de N₂ constituyen una de las alternativas utilizadas en la biofertilización. Varios géneros de cianobacterias tienen capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico en su organismo y luego devolverlo de manera que la planta lo pueda utilizar como nutrimento. *Nostoc commune*, con su morfología filamentosa y con presencia de heterocistos (células especializadas en captura y almacenamiento de nitrógeno) tiene la capacidad de almacenar el forma de amoniaco, ion amonio (presentación disponible para las plantas) y ácido glutámico (Chittapun et al. 2018).

Fernández-Pascual et al. (2002), describieron su fijación a través de la siguiente reacción en la cual interviene la enzima nitrogenasa:



La reducción de N_2 un proceso endergónico, requiere un mínimo de energía de 960 kJ por mol de nitrógeno, además de ATP de manera eficiente, el cual se produce mediante la fosforilación oxidativa acoplada a la cadena transportadora de electrones que utiliza el O_2 como aceptor final. Si el ácido glutámico se convierte en glutamina vía GS/GOGAT se gasta 1 ATP por glutamato formado, produciéndose una rápida asimilación del ion amonio para que en altas concentraciones no inhiba la nitrogenasa.

2.8.1 *Nostoc commune* como biofertilizante

La cianobacteria *Nostoc commune* se clasifica taxonómicamente, según Flores et al. (2014) como:

División: Cyanobacteria

Clase: Cyanophyceae

Orden: Nostocales

Familia: Nostocaceae

Género: *Nostoc*

Especie: *commune*

Nostoc commune, morfológicamente presentan células redondas, aglomeradas en filamentos uniseriados; dichas células se dividen en: vegetativas, acinetos, hormogonios y heterocistos. Dentro de las características morfológicas, presenta una capa de polisacárido uniforme y continua que corresponde a varias veces el grosor del filamento, motivo por el cual adquiere su forma y textura de mucílago (Herrera 2012). La Figura 3 muestra la cianobacteria *Nostoc commune* vista al microscopio.

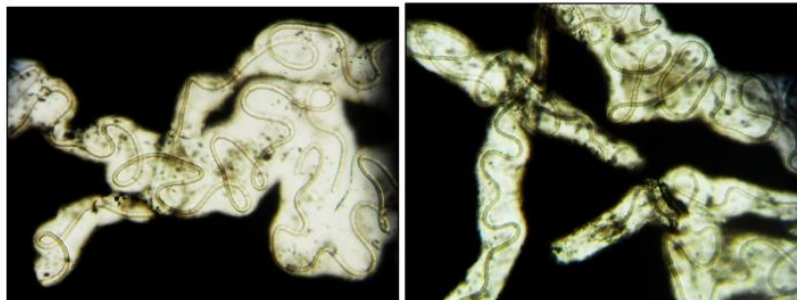


Figura 3. Exopolisacáridos presentes como envoltura celular en Nostoc sp., tinción negativa (tinta china).

Fuente: Herrera, 2012.

En Costa Rica se han encontrado cepas con las siguientes características morfológicas y dimensiones: presenta heterocistos principalmente terminales, algunos intercalares, los terminales se acortan levemente hacia los extremos, su reproducción implica la formación de hormogonios de morfología muy diferente, constreñidos en las paredes y muy móviles. Las dimensiones observadas son de acinetos $6,6\mu \times 4,7\mu$, heterocistos $4,2\mu \times 3,7\mu$ y células vegetativas $2,7\mu \times 3,2\mu$ (Corrales et al. 2017). Según Moncayo (2017), la *Nostoc sp.*, diferencia sus células en las siguientes categorías funcionales:

Células vegetativas: Son células que pueden realizar la fotosíntesis ya que contienen tilacoides de membrana y clorofila como pigmento principal, además de otros pigmentos como la ficocianina que proporciona el color azul y la ficoeritrina que pueden dar el color rojo o pardo a las células.

Acinetos: Son células especializadas a partir de las células vegetativas, a manera de esporas inmóviles presentes únicamente en cianobacterias capaces de producir heterocistes. Aparecen con frecuencia al lado de los heterocistes, bloqueando el paso de compuestos de nitrógeno, desde estos a otras células vegetativas, presentan una pequeña cantidad de discos tilacoides, a diferencia de las células vegetativas. Los acinetos maduros son comúnmente mucho más largos y de pared celular muy gruesa que las otras células vegetativas dentro del tricoma, contienen un protoplasma lleno de reservas alimenticias, y tienen una pared celular normal rodeada por tres capas.

Hormogonios: Son estructuras con células dispuestas a modo de filamento en su interior, aunque también las hay unicelulares, se diferencian de los tricomas, porque son secciones de estos que se separan del filamento original por fragmentación o por formación de necridios. Además, estas estructuras se encargan de la reproducción asexual, semejante a las especies heterocísticas en donde es muy común encontrar mucilagos que rodean los hormogonios en forma de colonias con una vaina de protección.

Heterocistos: Son células especializadas, distribuidas a lo largo o al final del filamento de las células de las cianobacterias, los cuales tienen conexiones intercelulares

con las células vegetativas contiguas, de tal manera que existe un continuo movimiento desde los heterocistos hacia las células vegetativas y de los productos fotosintéticos desde las células vegetativas hacia los heterocistos. El género *Nostoc*, posee el complejo catalítico llamado nitrogenasa, confinado en los heterocistos los cuales carecen del fotosistema II (liberador de oxígeno). Además, se encuentran rodeados por una pared glicolípídica gruesa que reduce la difusión de la nitrogenasa hacia las células; cualquier oxígeno que difunde hacia los heterocistos es rápidamente reducido por hidrógeno; así, la fijación de nitrógeno está espacialmente y metabólicamente separada del proceso fotosintético. Este proceso sólo ocurre en el período de oscuridad, sin embargo, algunas cianobacterias mantienen la fijación de nitrógeno durante el período de luz, a expensas de una elevada tasa respiratoria, mecanismo similar al presentado por las bacterias aeróbicas.

El valor de las cianobacterias del género *Nostoc sp.* en la agricultura es variado. En general, el uso de cianobacterias genera varios beneficios para la planta entre los que están un mayor contenido en clorofila y capacidad fotosintética, mayor absorción de nutrientes, retraso de la senescencia de las hojas, mayor resistencia a la sequía, a la salinidad y al estrés. Entre los beneficios para el suelo, está corregir carencias minerales, estabilizar estructura, y activar la microfauna y microorganismos del suelo (Belén 2015).

2.8.2 Liofilización de biomasa

La liofilización es un proceso de secado mediante sublimación, que se ha desarrollado con el fin de reducir las pérdidas de los compuestos que se suelen perder durante los procesos convencionales de secado (por altas temperaturas). El proceso de liofilización consta principalmente de dos pasos; el primero consiste en congelar el producto y en el segundo paso el producto es secado por sublimación directa del hielo bajo presión reducida, elevando la temperatura de manera progresiva. La biomasa liofilizada conserva las características organolépticas y nutritivas reduciendo las pérdidas de sus propiedades naturales (Yugra 2015).

CAPÍTULO 3

Materiales y métodos

3.1 Ubicación del estudio

El experimento se ubicó en el invernadero de la Universidad de Costa Rica (UCR), Sede del Atlántico, Recinto de Turrialba; localizado en las coordenadas 9°54'08.4"N 83°40'14.8"O, Cantón de Turrialba, Provincia de Cartago, Costa Rica. Clasificación físico-geográfica como Región Atlántica, subregión RA2 lluvioso (Johnny y Roberto 2020)

3.2 Generalidades del experimento

3.2.1 Materiales utilizados

3.2.1.1 Lechuga: Se utilizó el cultivo (*Lactuca sativa*) variedad Americana. El cultivo fue comprado en un establecimiento agrícola en el cantón de Turrialba, en presentación de almácigo (plántulas de 5-7 semanas de vida). Se trasplantó el almácigo el día 4 de noviembre de 2019 y se cosecharon las plantas el 9 de diciembre de 2019.

3.2.1.2 Suelo: Se utilizó un Inceptisol (SuelosCR, 2021) del Distrito de La Suiza, Turrialba, en las coordenadas 9°52'04.29"N, 83°35'14.92"O; que previo al levantamiento del ensayo fue autoclavado a una temperatura de 121°C y una presión de 16 libras durante 60 minutos, para eliminar fitopatógenos de suelo. El suelo presentó las características químicas mostradas en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Resultado de análisis químico en el suelo utilizado.

pH	cmol(+)/L					%	mg/L					%		
	H ₂ O	ACIDEZ	Ca	Mg	K		CICE	SA	P	Zn	Cu	Fe	Mn	C
5,2	0,92	7,82	2,31	0,13	11,18	8	27	7,4	19	183	62	2,61	0,23	11,3

3.2.1.3 Cianobacteria: Se utilizó la cianobacteria *Nostoc commune*, identificada molecularmente en el Laboratorio de Microalgas del CIMAR (Centro de Investigación en Ciencias del Mar y Limnología) de la Universidad de Costa Rica, obtenida de la Finca La Ilusión, ubicada en San Antonio de Santa Cruz, Turrialba, Cartago (Latitud: 9°57'40"N, Longitud: 83°42'11"O). Los resultados del análisis de tejidos en la cepa utilizada se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Resultado de análisis de tejidos en la cepa de *Nostoc commune* utilizada.

% masa							mg/kg				
N*	P*	Ca*	Mg*	K*	S*	C**	Fe*	Cu*	Zn*	Mn*	B*
3,71	0,20	1,77	0,30	0,21	0,17	31,17	21280	57	61	488	49

3.2.1.4 Liofilización: La biomasa de la cianobacteria, una vez colectada y lavada con agua potable para eliminar restos de suelo, se congeló a una temperatura de -35°C durante 12 horas, consecuentemente se colocó en los recipientes de vidrio del liofilizador Labconco para dar inicio a la sublimación, proceso que duró 50 horas a una presión de 0,01mbar. El proceso de liofilización se realizó en el laboratorio de suelos de la Universidad de Costa Rica, Sede del Atlántico. En la Figura 4 se muestra el liofilizador utilizado (a) y la biomasa liofilizada (b).



Figura 4. Liofilizador Labconco (a) y muestra de *Nostoc commune* liofilizada (b).

3.3 Diseño experimental

3.3.1 Estructura de unidades experimentales

La unidad experimental es una planta de lechuga sembrada en un pote de plástico. Se utilizaron potes de plástico de tres litros de volumen, todos rellenos con la misma cantidad de suelo, donde se trasplantaron las plántulas de lechuga.

Seguidamente, el conjunto de unidades experimentales se dispuso en el invernadero (mismas condiciones ambientales: temperatura, humedad), para finalmente asignar de forma al azar (Diseño Irrestringido al Azar) cada uno de los diez tratamientos a cada unidad experimental. Cada tratamiento se repitió cinco veces.

3.3.2 Estructura de tratamientos

Los tratamientos (Cuadro 3) se planearon en la cantidad de nitrógeno requerido por el cultivo según Saborío (2017), partiendo de 150 Kg ha⁻¹ como la dosis recomendada para fertilizantes minerales, el cual a su vez se basó en la curva de absorción de nutrientes propuesta por Bertsch (2009). Se dosificó y se aplicó solamente el elemento nitrógeno, y de esta manera no se influenciaron las variables evaluadas en los tratamientos por otro elemento; la metodología fue influenciada por la práctica de laboratorio “Elemento faltante o aditivo” descrita por Henríquez et al. (1995).

Los tratamientos se dividieron en la aplicación de nitrógeno de dos fuentes diferentes: Cianobacteria (*Nostoc commune*), Mineral (Urea) y la combinación de las dos fuentes de nitrógeno (Mineral y Cianobacteria) a tres niveles de dosificación (75, 150 y 250 Kg ha⁻¹), además se evaluó un testigo absoluto sin fertilización alguna. Los tratamientos en los que se evaluó la combinación de fuentes de nitrógeno se dosificaron en una relación 1:1.

Cuadro 3. Descripción de los tratamientos utilizados. Fuente de nitrógeno y dosis.

Tratamientos	Nitrógeno <i>Nostoc commune</i> Kg ha ⁻¹ (Dosis por pote g)	Nitrógeno mineral Urea Kg ha ⁻¹ (Dosis por pote g)	Código del tratamiento
1	75 (4,5)	0	N75
2	150 (9)	0	N150
3	225 (13,5)	0	N225
4	0	75 (0,36)	M75
5	0	150 (0,73)	M150
6	0	225 (1,09)	M225
7	37,5 (2,25)	37,5 (0,18)	C75
8	75 (4,5)	75 (0,36)	C150
9	112,5 (6,75)	112,5 (0,54)	C225
10	0	0	T

3.3.3 Variables de interés

Se realizaron mediciones destructivas y no destructivas. Las variables con muestreo no destructivo fueron las siguientes:

- Índice relativo de clorofila: Se utilizó el instrumento SPAD 502 para tomar un promedio de cinco hojas del estrato medio del dosel.
- Altura de la planta: Se tomó la medida desde la base del tallo de manera manual con ayuda de una regla graduada.
- Fotografía RGB y Fotografía infrarroja: Se utilizó la cámara RGB (Leica summilux-H1:1.6/27asph) y la cámara infrarroja Flir (térmica), se colocaron a una altura de 35cm de altura sobre el suelo de cada pote para capturar su imagen durante las semanas de trabajo (la cámara Flir se utilizó hasta la semana 4).
- Índice de área foliar: Se utilizaron las fotografías RGB, adaptando un objeto de longitud conocida (regla graduada) para referenciar la longitud de los píxeles; en cada medición se cuantificó la cantidad de píxeles por planta comparándose con la cantidad de píxeles del área superior del pote.
- Ancho de hoja y Longitud de hoja: Se tomaron medidas de manera manual con ayuda de una regla graduada.

Las mediciones destructivas se realizaron en la semana 5 después de la siembra, las variables evaluadas fueron:

- Volumen de raíces y centímetros lineales de raíz con el software WinRhizo: Se tomaron las raíces y se lavaron con agua potable para eliminar los restos de suelo. Posteriormente, las raíces se colocaron en un recipiente con agua del escáner EPSON XL 1000, el cual generó una imagen y que por medio del programa WinRhizo Basic 2012 se cuantificaron las variables.
- Longitud de raíz pivotante: Se realizaron medidas manuales con ayuda de una regla graduada.
- Peso seco: Se secaron los tejidos vegetales de las plantas por tratamiento en estufa Thermo Scientific, posteriormente se cuantificaron los pesos en la balanza Ocony/ADAM.

- Análisis de suelo: Se tomaron muestras por tratamiento y se enviaron al Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica. En el análisis de suelo inicial se procedió a tomar la muestra antes del trasplante y de los tratamientos en la última semana de evaluación.
- Análisis de tejidos: Se tomaron muestras de las hojas por tratamiento, en la última semana de evaluación y se enviaron al Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica.

En el Cuadro 4, se observa la síntesis de las variables respuesta, equipo utilizado para su medición y unidades utilizadas por variable.

Cuadro 4. Variables de respuesta, unidades de medición y equipo utilizado.

Variable de respuesta	Unidades	Equipo utilizado
Índice de área foliar	m ² cultivo/m ² terreno	Cámara RGB
Ancho de la hoja	cm	Regla graduada
Longitud de la hoja	cm	Regla graduada
Altura de la planta	cm	Regla graduada
Número de hojas	#	Conteo manual
Índice relativo de clorofila	Valor SPAD	SPAD 502
Fotografía infrarroja/temperatura	Píxeles	Cámara Flir
Peso seco	g	Balanza
Fotografía RGB	Píxeles	Cámara RGB
Volumen de raíces	cm ³	WinRhizo
Metros lineales de raíz	m	WinRhizo
Longitud de raíz pivotante	cm	Regla graduada
Análisis químico de suelo	Cantidad de nutriente	N/A*
Análisis de tejidos	Cantidad de nutriente	N/A*

*N/A: No Aplica; las muestras se mandaron al laboratorio de suelo Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica.

3.4 Análisis de datos

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) univariado para cada una de las variables de interés mediante el *software InfoStat*. Para las variables en las que se evaluó la misma unidad experimental con el paso del tiempo, se ajustó un modelo que toma en cuenta la correlación existente entre las evaluaciones temporales.

El experimento se desarrolló en un invernadero donde el arreglo de los tratamientos corresponde a un diseño completamente al azar, que consiste en la asignación de los tratamientos en forma aleatoria a las unidades experimentales. Además, se realizaron evaluaciones repetidas en el tiempo. Se plantó un diseño experimental con el siguiente modelo matemático:

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + PP_{ij} + \beta_k + \delta_{ik} + e_{ijk}$$

Y_{ijk} = Observación de la aplicación del i -ésimo tratamiento, en la j -ésima repetición y en el k -ésimo tiempo

μ = Media general

τ_i = Efecto del i -ésimo tratamiento

PP_{ij} = Efecto aleatorio de la parcela principal $\sim N_i(0, \sigma^2_{pp})$.

β_k = Efecto del j -ésimo tiempo

$\tau_i * \beta_k$ = Efecto de la interacción del i -ésimo tratamiento y el j -ésimo tiempo

e_{ijk} = Error aleatorio asociado al i -ésimo tratamiento, en la j -ésima repetición y en el k -ésimo tiempo. Además, se supone que e_{ijk} esta normalmente distribuido con media cero y varianza σ^2 , con $cov(e_{ijk}, e_{i'j'k'}) = 0 \forall ijk \neq i'j'k'$.

Luego, para las variables evaluadas únicamente al final del experimento (variables radicales, peso seco y análisis químico de suelo y foliar), solamente a la variable, Longitud de raíz, se ajustó el siguiente modelo:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + e_{ij}$$

μ = Media general

τ_i = Efecto del i -ésimo tratamiento

e_{ij} = Error aleatorio asociado al i -ésimo tratamiento, en la j -ésima repetición. Además, se supone que e_{ij} esta normalmente distribuido con media cero y varianza σ^2 , con $cov(e_{ij}, e_{i'j'}) = 0 \forall ij \neq i'j'$.

Para el resto de variables evaluadas únicamente al final del experimento, no se realizaron evaluaciones en el tiempo y la metodología de medición implicó hacer una mezcla compuesta de todas las repeticiones para tener un único valor, presentándose sus resultados de manera descriptiva y no comparativa.

Finalmente, en aquellas variables que mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$), se comparó la estructura de los tratamientos (tipo de fertilización y dosis) mediante contrastes. Cuando la variable analizada se evaluó en el transcurso del tiempo, la estrategia de contrastes fue repetida en cada uno de los tiempos.

En el primer contraste evalúa si hubo efecto de utilizar alguna fertilización nitrogenada al comparar el tratamiento testigo versus los demás tratamientos. Luego se plantearon tres contrastes que en conjunto evalúan el efecto del tipo de fertilización nitrogenada, comparando los tres niveles de esta: Cianobacterias (*Nostoc commune*) (N), Mineral (Urea) (M) y la Combinación de Nostoc-Mineral (C).

CAPÍTULO 4

Resultados

4.1 Descripción general

Inicialmente se ejecutó un control de calidad de los datos y se identificó que, durante el periodo de trabajo, en el transcurso de la semana dos a la semana tres, el material vegetal (las lechugas) al que se aplicó el tratamiento M225 presentó una mortalidad de 100 % debido a fitotoxicidad, este desbalance de los tratamientos en los tiempos de evaluación generó que como estrategia de modelación se utilizara como efecto fijo la combinación entre los tratamientos y la semana (Cuadro 11). Además, este tratamiento fue excluido del análisis, excepto para la variable temperatura del dosel de la lechuga.

4.2 Variables radicales y peso seco

4.2.1 Peso seco

El Cuadro 5, muestra el peso seco segmentado en parte foliar y parte radicular al cabo de la última la semana de evaluación (semana 5). El tratamiento N225 logró el mayor peso (foliar y radicular) al terminar el periodo de trabajo, el tratamiento N150 se encuentra por debajo de N225 en gramos de peso seco en ambos segmentos, seguido de N75 en tercer lugar igual en ambos segmentos; el tratamiento con menor peso foliar y radicular fue el M75.

Cuadro 5. Peso seco de las hojas y la raíz por tratamiento.

Tratamiento	Peso seco (g)	
	Foliar	Raíz
N225	16,46	8,13
N150	8,57	5,43
N75	5,69	4,76
C225	1,69	2,65
C150	2,31	2,23
C75	1,83	1,88
M150	2,06	1,99
M75	1,63	1,98
T	1,66	2,88

N= Nostoc, C= Combinación, M= Mineral y T = Testigo

4.2.2 WinRhizo

Las variables radiculares determinadas por el *software WinRhizo* se muestran en el Cuadro 6, se observa cómo el tratamiento con N225 obtuvo los valores mayores para las variables (centímetros lineales de raíz y volumen de raíz), luego se encuentra el tratamiento N150, seguido del tratamiento N75, el tratamiento que obtuvo los valores más bajos fue M150.

Cuadro 6. Variables radiculares determinadas con ayuda del WinRhizo por tratamiento.

Tratamiento	Centímetros lineales de raíz	Volumen de raíz (m ³)
N225	19,85	9,01
N150	19,65	7,43
N75	16,64	6,40
C225	10,42	3,82
C150	14,13	5,94
C75	7,19	4,01
M150	5,18	1,86
M75	11,01	6,35
T	14,39	5,96

N= Nostoc, C= Combinación, M= Mineral y T = Testigo

4.2.3 Raíz Pivotante

Respecto a la variable Longitud de raíz pivotante, el resultado del análisis de varianza (Cuadro 7) demuestra que sí existe diferencia estadística debido a que, en relación con las medias, los tratamientos son diferentes ($p < 0,05$). El valor F es 3,10 y el valor $p < 0,0104$. Las medias de los tratamientos con una letra común no son significativamente diferentes; el tratamiento con mayor medida de longitud de raíz fue el N150, teniendo diferencias significativas con el resto de los tratamientos. Los tratamientos C150, C75, M150, M75 y T no mostraron diferencias significativas.

Cuadro 7. Comparación de medias (LSD Fisher) del longitud de la raíz pivotante por tratamiento.

Tratamiento	Media	Error Estándar (\pm)
N150	27,62 A	2,94
N75	25,90 AB	2,94
N225	21,88 BC	2,94
C225	20,80 BC	3,80
C150	18,16 C	2,94
T	16,60 C	2,94
C75	14,12 C	2,94
M75	13,76 C	2,94
M150	12,47 C	3,80

*Las medias de los tratamientos con una letra común no son significativamente diferentes

N= Nostoc, C= Combinación, M= Mineral y T = Testigo

4.3 Análisis químico de suelo y foliar

4.3.1 Análisis de suelo

El análisis químico de los elementos presentes en el suelo, se muestra en el Cuadro 8; los valores no se ven influidos por el tratamiento, por lo cual no se denota un patrón de cambio de valores propinado ni por la fuente de nitrógeno utilizada ni por la dosis empleada.

Cuadro 8. Análisis químico de suelo por tratamiento al finalizar el ensayo.

Tratamiento	pH	cmol(+)/L					%					
	H ₂ O	ACIDEZ	Ca	Mg	K	CICE*	SA*	P	Zn	Cu	Fe	Mn
N225	5,3	0,16	5,97	2,61	1,25	9,99	2	6	5,0	22	115	225
N150	5,3	0,16	5,72	2,48	1,37	9,73	2	6	4,7	22	111	214
N100	5,4	0,18	5,82	2,54	1,26	9,80	2	5	4,4	18	119	222
C225	5,5	0,18	5,57	2,45	1,39	9,59	2	7	4,6	18	100	189
C150	5,1	0,18	5,62	2,55	1,40	9,75	2	6	4,7	19	111	219
C100	5,2	0,23	5,33	2,40	1,54	9,50	2	5	4,6	20	112	196
M150	5,3	0,26	6,01	2,84	1,30	10,41	3	5	5,2	18	92	190
M75	5,4	0,22	5,79	2,61	1,55	10,17	2	6	5,2	20	108	226
T	5,1	0,20	5,10	2,36	1,36	9,02	2	5	4,4	19	118	220

*SA = Saturación de Acidez, CICE = Capacidad de Intercambio Catiónico Efectiva

N= Nostoc, C= Combinación, M= Mineral y T = Testigo

Respecto a la relación Carbono/Nitrógeno en el sistema suelo (Cuadro 9), se muestra cómo los resultados no se ven influidos por el tratamiento al igual que en la Cuadro 8 antes mencionado.

Cuadro 9. Análisis químico de suelo, porcentaje de Carbono, Nitrógeno y su relación por tratamiento.

Tratamiento	%		Relación
	C	N	C/N
N225	1,86	0,20	9,3
N150	1,98	0,21	9,4
N75	1,90	0,19	10,0
C225	1,83	0,23	8,0
C150	1,74	0,20	8,7
C75	1,81	0,19	9,5
M150	1,70	0,20	8,5
M75	1,71	0,21	8,1
T	1,81	0,19	9,5

N= Nostoc, C= Combinación, M= Mineral y T = Testigo

4.3.2 Análisis de tejidos

Los resultados del porcentaje de Carbono y Nitrógeno de tejidos, se muestran en el Cuadro 10, el valor más alto de Carbono lo presenta el tratamiento N225 y el más bajo M150; el valor más alto de Nitrógeno lo presenta el tratamiento C225 y el más bajo el tratamiento N75.

Cuadro 10. Análisis de tejidos, porcentaje de Nitrógeno y Carbono.

Tratamiento	%	
	N	C
N225	3,49	36,73
N150	3,20	32,15
N75	2,93	26,50
C225	4,83	28,80
C150	3,78	31,25
C75	3,69	25,94
M150	3,69	24,20
M75	4,63	29,56
T	4,26	34,23

N= Nostoc, C= Combinación, M= Mineral y T = Testigo

El resultado de la relación Carbono/Nitrógeno (Figura 5) en tejidos muestra como los tratamientos con mayor porcentaje fueron los de grupo Nostoc, en sus respectivas dosis de, N225 con 10,52 %, N150 con 10,05 % y N75 con 9,04 %. El valor más bajo lo presentó el tratamiento C225 con 5,96% a pesar de ser el más alto en el valor de porcentaje de Nitrógeno (Cuadro 10).

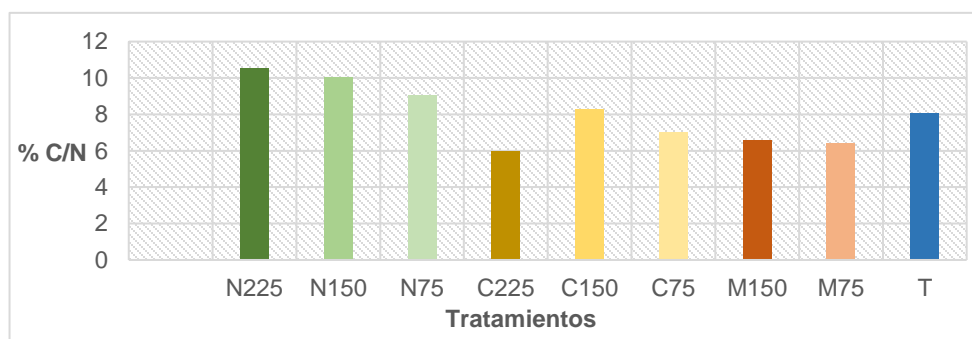


Figura 5. Resultado de la relación Carbono/Nitrógeno en los tejidos foliares por tratamiento.

N= Nostoc, C= Combinación, M= Mineral y T = Testigo

4.4 Variables foliares y temperatura del dosel

En general los resultados se segmentaron para analizar a cada una de las variables foliares y de temperatura del dosel de la planta, el efecto de la fuente de nitrógeno y luego dentro de las variables se identificó y seleccionó la mejor fuente de nitrógeno, para posteriormente mostrar los resultados de las comparaciones de las dosis dentro de esta. A continuación, se sintetiza el comportamiento de las variables foliares a los largo de 5 semanas de trabajo (Cuadro 11).

En el Cuadro 11 se puede rescatar el valor del coeficiente de variación respecto a la variable Índice de área foliar, explicado por la diferencia de mínimo y máximo de las medias aritméticas por tratamiento. Los valores por fuente se profundizan más en la Figura 7.

Cuadro 11. Medidas resumen de variables foliares evaluadas durante las 5 semanas de trabajo.

Variable	n	Media	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo	Mediana
Número de hojas	232	4,43	1,34	30,25	2,00	9,00	4,00
Índice relativo de clorofila	232	26,93	5,62	20,88	11,50	48,90	27,00
Índice de área foliar (cm ²)	232	39,55	39,82	100,69	4,31	263,85	24,73
Ancho de la hoja (cm)	232	4,31	1,50	34,89	1,70	10,30	4,00
Longitud de la hoja (cm)	232	5,75	1,65	28,65	2,10	12,10	5,60
Altura de la planta (cm)	232	6,57	1,65	25,18	2,90	12,40	6,25

Las diferentes variables evaluadas, están correlacionadas por los tratamientos del grupo Nostoc (75,150 y 225), como se muestra en la Figura 6. Los componentes de la figura muestran cómo el resultado de las variables de interés es mayormente caracterizado por el grupo Nostoc. De igual manera, el tratamiento que más influyó en todas las variables evaluadas fue el N225.

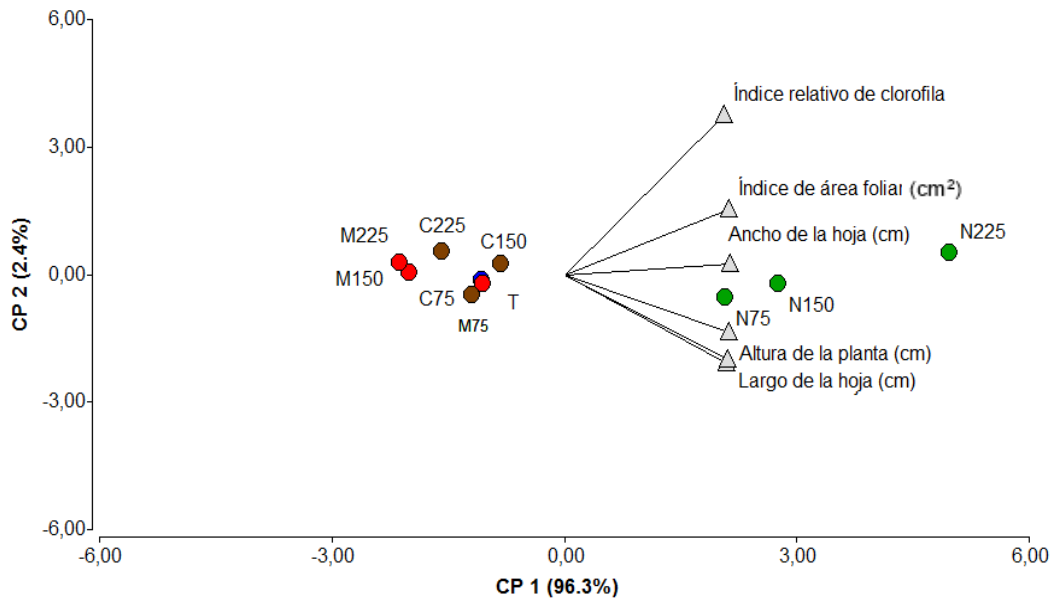


Figura 6. Biplot multivariado de los componentes principales de las variables foliares con respecto a dos componentes principales que más explican la variación observada.

Los resultados obtenidos a partir del análisis de varianza mostraron diferencias significativas ($p < 0.0001$) entre las medias de cada una de las variables foliares con respecto a la interacción de los tratamientos por la semana. Puesto que las plantas de lechuga aumentan su biomasa diariamente como consecuencia de la fotosíntesis, es de esperar que los valores de las variables de respuesta varíen en función del tiempo (Cuadro 12).

Cuadro 12. Valores *F* y *P* de las variables foliares.

c	Tratamiento x Semana	
	F-valor	p-valor
Índice de área foliar	14,01	<0,0001
Ancho de hoja	14,92	<0,0001
Número de hojas	8,26	<0,0001
Longitud de hoja	11,08	<0,0001
Altura de planta	9,12	<0,0001
Índice relativo de clorofila	7,14	<0,0001
Fotografía infrarrojo	36,85	<0,0001

4.4.1 Índice de área Foliar

Para comparar el efecto de las fuentes de fertilización nitrogenada se plantearon cuatro contrastes para cada una de las variables foliares. En el Cuadro 13 se muestra el resultado para la variable Índice de área foliar. A partir de la semana 1 de evaluación, el grupo Nostoc se diferencia significativamente del grupo Mineral y al igual que la comparación con el grupo Combinación, el grupo Nostoc muestra diferencias significativas a partir de la misma semana. El contraste del grupo Testigo versus los otros grupos muestra diferencias significativas desde la semana 3.

Cuadro 13. Comparación de tratamientos a partir de contrastes para la variable Índice área Foliar, a lo largo de cinco semanas de trabajo. Los valores en negrita muestran diferencia significancia.

Comparación	Semana									
	1		2		3		4		5	
Valor	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p
T vs otros	0,82	0,3658	0,05	0,8252	10,58	0,0014	17,48	0,0001	20,64	<0,0001
M vs C	1,22	0,2717	12,24	0,0006	4,48	0,0361	8,59	0,0040	2,81	0,0959
M vs N	10,18	0,0018	22,73	<0,0001	76,39	<0,0001	80,00	<0,0001	92,92	<0,0001
C vs N	4,36	0,0387	9,13	0,0030	55,92	<0,0001	53,88	<0,0001	72,85	<0,0001

M = Mineral, C = Combinación, N = Nostoc y T = Testigo

Luego, en la Figura 7, se observan las diferencias entre las diferentes fuentes de nitrógeno para cada una de las semanas, respecto a la variable Índice de área foliar. Los tratamientos con mayor porcentaje fueron los del grupo Nostoc; el resto de tratamientos no mostraron diferencias significativas, llegando a la semana cinco, con los valores más bajos. Cabe destacar que desde la semana dos, los tratamientos del grupo Nostoc se diferencian del resto de tratamientos y se mantienen con el mayor crecimiento en cada una de las evaluaciones.

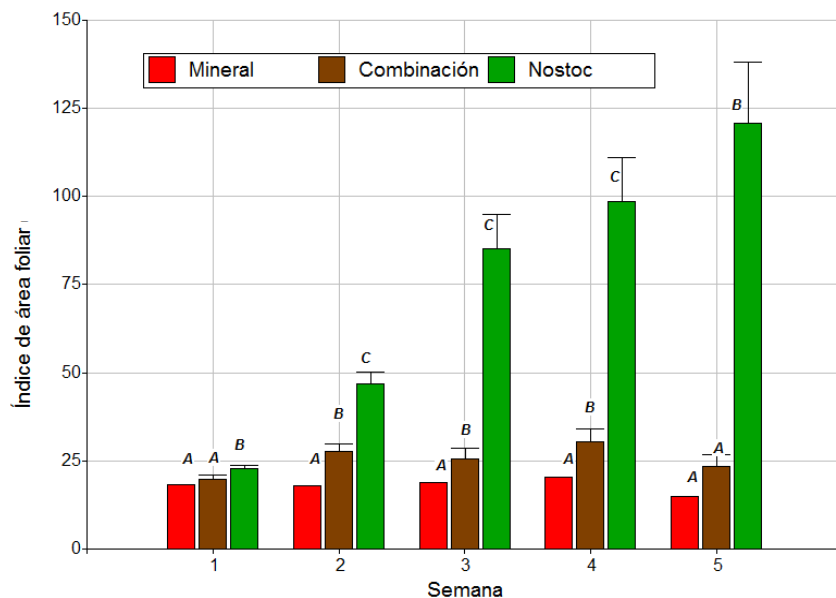


Figura 7. Efecto de los grupos de tratamientos sobre el índice de área foliar en el periodo de evaluación. Las medias de los tratamientos en cada semana con una letra común, no son significativamente diferentes.

Con el objetivo de visualizar el comportamiento de los tratamientos con el transcurrir del tiempo, se seleccionó al mejor grupo en cuestión de Índice de área foliar y se realizó el gráfico de puntos observado en La Figura 8. Se muestra cómo el tratamiento N225 logra diferenciarse del resto de tratamientos a partir de la semana tercera de evaluación y mantiene dicha diferencia hasta la última semana. Al llegar la semana quinta de evaluación el segundo mejor tratamiento fue el N150, dejando en último al N75.

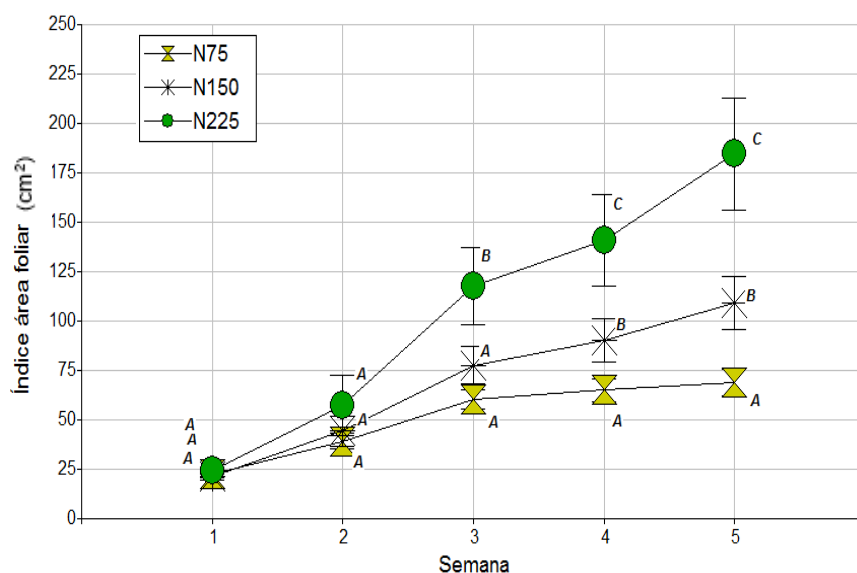


Figura 8. Efecto de la dosis sobre el Índice de área foliar por tratamiento en el grupo Nostoc durante periodo de evaluación. Las medias de los tratamientos en cada semana con una letra común, no son significativamente diferentes.

4.4.2 Ancho de hoja

En el Cuadro 14, se compara el efecto de las fuentes de fertilización nitrogenada mediante contrastes para la variable Ancho de hoja. La comparación del grupo Nostoc comienza a tener diferencias significativas, tanto con el grupo Mineral como con el grupo Combinación desde la segunda semana de evaluación. El tratamiento Testigo versus los demás tratamientos muestran diferencias significativas en la cuarta semana y la quinta semana.

Cuadro 14. Comparación de tratamientos a partir de contrastes para la variable Ancho de hoja, a lo largo de cinco semanas de trabajo. Los valores en negrita muestran diferencia significancia.

Comparación	Semana									
	1		2		3		4		5	
Valor	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p
T vs otros	6,9	0,979	0,01	0,9214	1,77	0,1851	14,0	0,0003	17	0,0001
M vs C	0,05	0,818	9,53	0,0024	1,05	0,3079	1,1	0,2917	0,6	0,4115
M vs N	0,89	0,346	78,3	<0,0001	81,0	<0,0001	142	<0,0001	148	<0,0001
C vs N	1,38	0,242	33,2	<0,0001	75,2	<0,0001	140	<0,0001	152	<0,0001

M = Mineral, C = Combinación, N = Nostoc y T = Testigo

En la Figura 9, se denota el crecimiento de los grupos a lo largo del periodo de trabajo; el grupo con mayor crecimiento fue el Nostoc, mostrando diferencias significativas con los demás grupos. Desde la segunda semana de evaluación se marca la separación de los tratamientos del grupo Nostoc, la cual se mantiene hasta el final de las evaluaciones.

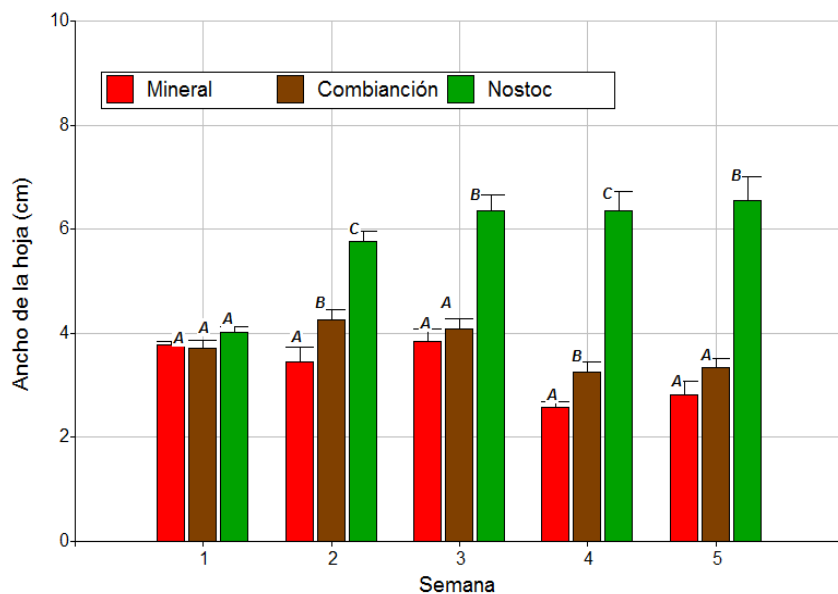


Figura 9. Efecto de los grupos de tratamientos sobre el Ancho de hoja en el periodo de evaluación. Las medias de los tratamientos en cada semana con una letra común, no son significativamente diferentes.

Respecto al ancho de hoja (Figura 10), el tratamiento con mayor crecimiento fue N225 mostrando diferencias significativas con los demás tratamientos, los tratamientos N150 y N75, llegaron a la quinta semana, sin diferencias significativas. La tercera semana marca la separación del tratamiento N225, repercutiendo en el valor total como grupo Nostoc en la comparación por contrastes.

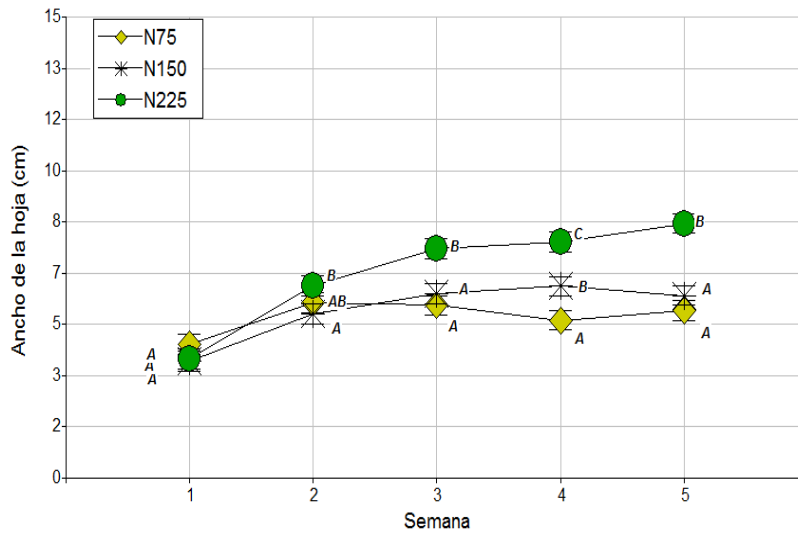


Figura 10. Efecto de la dosis sobre el Ancho de hoja por tratamiento en el grupo Nostoc durante periodo de evaluación. Las medias de los tratamientos en cada semana con una letra común, no son significativamente diferentes.

4.4.3 Longitud de hoja

En el Cuadro 15, se compara el efecto de las fuentes de fertilización nitrogenada mediante contrastes para la variable Longitud de hoja. Al igual en el Cuadro 14, se muestra una diferencia estadística a partir de la segunda semana, respecto a las comparaciones Mineral versus Nostoc y Combinación versus Nostoc. A partir de la quinta semana, la comparación Testigo versus el resto de tratamientos muestra diferencias significativas.

Cuadro 15. Comparación de tratamientos a partir de contrastes para la variable Longitud de hoja, a lo largo de cinco semanas de trabajo. Los valores en negrita muestran diferencia significancia.

Comparación	Semana									
	1		2		3		4		5	
Valor	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p
T vs otros	0,21	0,6442	0,09	0,7698	0,03	0,8671	1,76	0,1866	8,25	0,0047
M vs C	2,00	0,1596	0,11	0,7354	1,56	0,2142	0,94	0,3351	0,05	0,8286
M vs N	2,17	0,1428	25,40	<0,0001	15,27	0,0001	52,76	<0,0001	159,19	<0,0001
C vs N	8,34	0,0045	22,10	<0,0001	31,11	<0,0001	79,28	<0,0001	192,77	<0,0001

M = Mineral, C = Combinación, N = Nostoc y T = Testigo

La Figura 11, muestra el comportamiento de la longitud de las hojas en los grupos de tratamientos; en este caso, el grupo de tratamientos con las hojas más largas fue Nostoc. El grupo Nostoc comienza a diferenciarse en el largo de sus hojas desde la segunda semana de trabajo, llegando a la semana quinta con más del triple de longitud en comparación a los demás grupos.

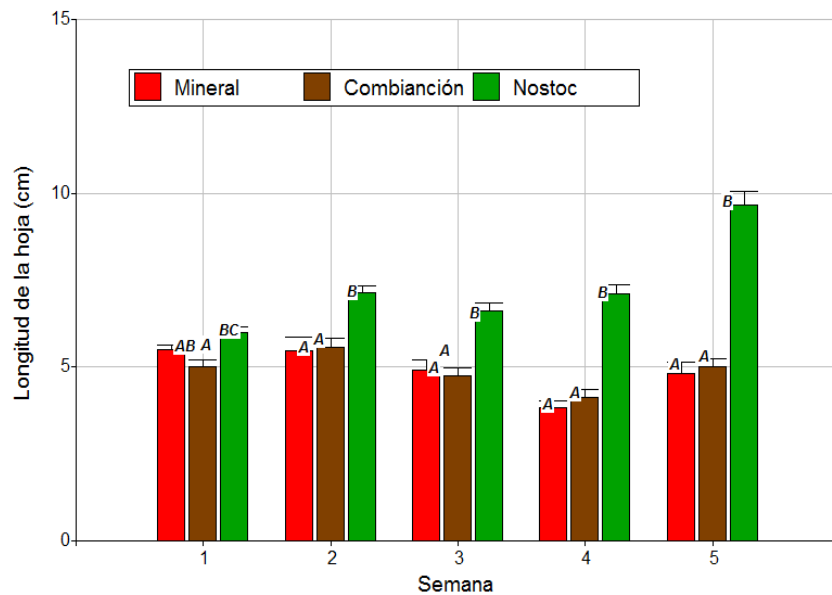


Figura 11. Efecto de los grupos de tratamientos sobre la Longitud de hoja en el periodo de evaluación. Las medias de los tratamientos en cada semana con una letra común, no son significativamente diferentes.

En la Figura 12 se observa el comportamiento de los tratamientos del grupo Nostoc respecto a la variable Longitud de hojas. Al llegar la última semana de evaluación los tratamientos con valores más altos fueron N225 y N150, llegando a la quinta semana, sin ninguna diferencia significativa entre ellos. A pesar de que en la cuarta semana el tratamiento N225 mostraba diferencias significativas con el resto, en el transcurso de cuarta semana a la quinta semana, el tratamiento N150 tiene un crecimiento exponencial, llevándolo a igualar estadísticamente al N225.

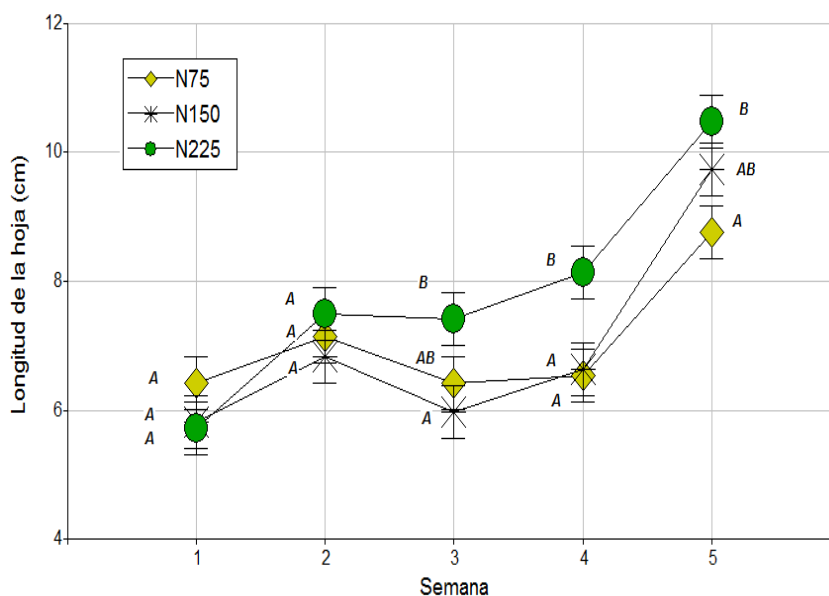


Figura 12. Efecto de la dosis sobre la Longitud de la hoja por tratamiento en el grupo Nostoc durante periodo de evaluación. Las medias de los tratamientos en cada semana con una letra común, no son significativamente diferentes.

4.4.4 Altura de planta

En el Cuadro 16, se compara el efecto de las fuentes de fertilización nitrogenada mediante contrastes para la variable Altura de planta. La comparación del grupo Nostoc versus el Mineral, comienza a tener diferencias significativas desde la segunda semana y se mantiene hasta la quinta semana 5 de trabajo. La comparación del grupo Nostoc versus el grupo Combinación, comienza a mostrar diferencias significativas desde la primera semana hasta la quinta semana. El grupo Testigo versus el resto de tratamientos obtuvo diferencias significativas al llegar la quinta semana.

Cuadro 16. Comparación de tratamientos a partir de contrastes para la variable Altura de planta, a lo largo de cinco semanas de trabajo. Los valores en negrita muestran diferencia significancia.

Comparación	Semana									
	1		2		3		4		5	
Valor	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p
T vs otros	0,57	0,4530	0,02	0,8814	0,80	0,3723	2,61	0,1086	6,10	0,0148
M vs C	0,94	0,3330	1,34	0,2488	0,03	0,8542	0,20	0,6574	0,12	0,7296
M vs N	2,18	0,1423	22,70	<0,0001	24,23	<0,0001	45,05	<0,0001	150,26	<0,0001
C vs N	5,99	0,0157	13,00	0,0004	31,20	<0,0001	61,28	<0,0001	190,09	<0,0001

M = Mineral, C = Combinación, N = Nostoc y T = Testigo

Continuando con altura de la planta (Figura 13), el grupo de tratamientos con mayor altura de planta fue Nostoc, mostrando diferencias significativas con respecto al resto de grupos de tratamientos. Los grupos Mineral y Combinación concluyeron el periodo de trabajo sin diferencias significativas. Desde la tercera semana de trabajo, el grupo Nostoc superó por más del doble de altura de los demás grupos evaluados, llevándolo a la quinta semana, con diferencias significativas.

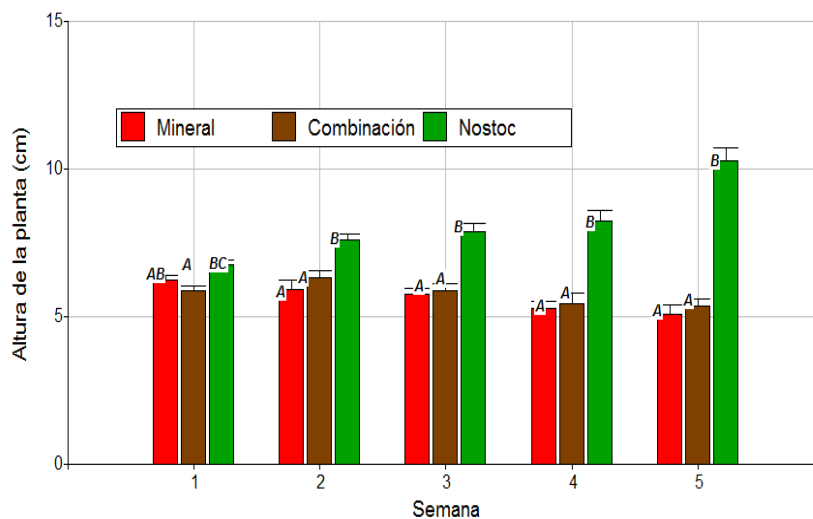


Figura 13. Efecto de los grupos de tratamientos sobre la Altura de planta en el periodo de evaluación. Las medias de los tratamientos en cada semana con una letra común, no son significativamente diferentes.

En la Figura 14, nuevamente el tratamiento con los valores más altos fue N225, mostrando diferencias significativas con el resto de tratamientos. En la semana cuarta, la diferencia que tuvo el tratamiento N225 fue significativa, la cual lo lleva a terminar la última evaluación con la mayor altura de planta.

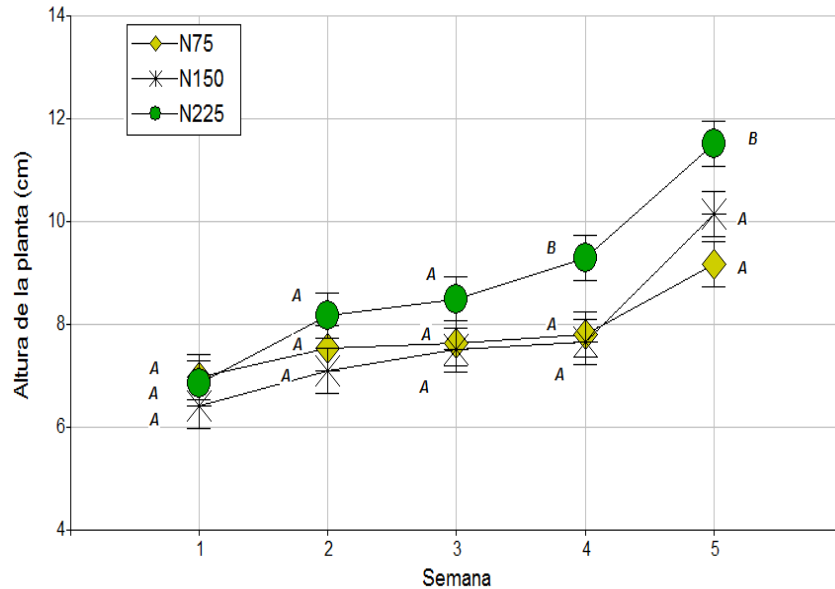


Figura 14. Efecto de la dosis sobre la Altura de planta por tratamiento en el grupo Nostoc durante periodo de evaluación. Las medias de los tratamientos en cada semana con una letra común, no son significativamente diferentes.

4.4.5 Número de hojas

En el Cuadro 17, se compara el efecto de las fuentes de fertilización nitrogenada mediante contrastes para la variable Número de hojas. El grupo Nostoc comienza diferenciarse significativamente de los grupos Mineral y Combinación, desde la segunda semana de trabajo, manteniéndose hasta la semana quinta. El grupo Testigo no obtuvo diferencias significativas versus los otros grupos, debido a que el promedio realizado por todos los grupos se ve influenciado por los bajos valores de los grupos Mineral y Combinación.

Cuadro 17. Comparación de tratamientos a partir de contrastes para la variable Número de hojas, a lo largo de cinco semanas de trabajo. Los valores en negrita muestran diferencia significancia.

Comparación	Semana									
	1		2		3		4		5	
Valor	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p
T vs otros	1,10	0,2966	0,12	0,7275	10,37	0,0016	2,50	0,1158	0,12	0,7264
M vs C	0,00	>0,9999	5,08	0,0258	0,27	0,6027	0,62	0,4322	5,44	0,0212
M vs N	0,46	0,5000	42,74	<0,0001	60,23	<0,0001	54,58	<0,0001	95,71	<0,0001
C vs N	0,46	0,5000	18,34	<0,0001	58,74	<0,0001	48,83	<0,0001	62,25	<0,0001

M = Mineral, C = Combinación, N = Nostoc y T = Testigo

Respecto a la variable Número de hojas, en la Figura 15 se muestra que el grupo Nostoc fue el que más cantidad obtuvo al llegar la semana quinta, difiriendo significativamente del resto de grupos. El grupo Mineral llega a la semana quinta, con la menor cantidad de hojas, diferenciándose del grupo Combinación.

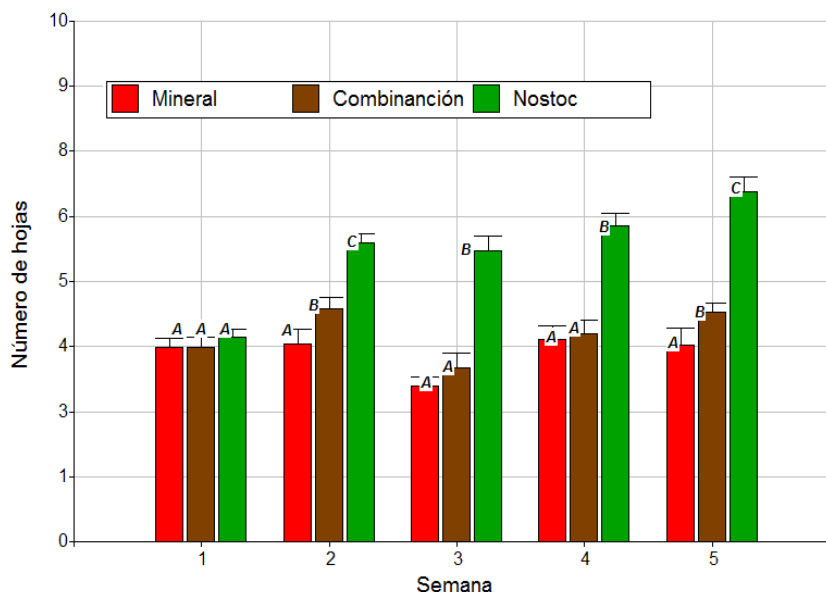


Figura 15. Efecto de los grupos de tratamientos sobre el índice de Número de hojas en el periodo de evaluación. Las medias de los tratamientos en cada semana con una letra común, no son significativamente diferentes.

La Figura 16, muestra el comportamiento del número de hojas por tratamiento en el grupo Nostoc, en este caso los tratamientos con las hojas más largas fueron N225 y N150 sin tener diferencias significativas entre ellos al finalizar el periodo de evaluación. El tratamiento N150 logra aumentar significativamente su longitud de hojas de la semana cuarta a la semana quinta, logrando alcanzar inclusive al tratamiento N225; el tratamiento N75 a pesar de tener la misma tendencia de crecimiento de N150 de la semana cuarta a la semana quinta, no logra obtener la misma longitud de hojas que N225.

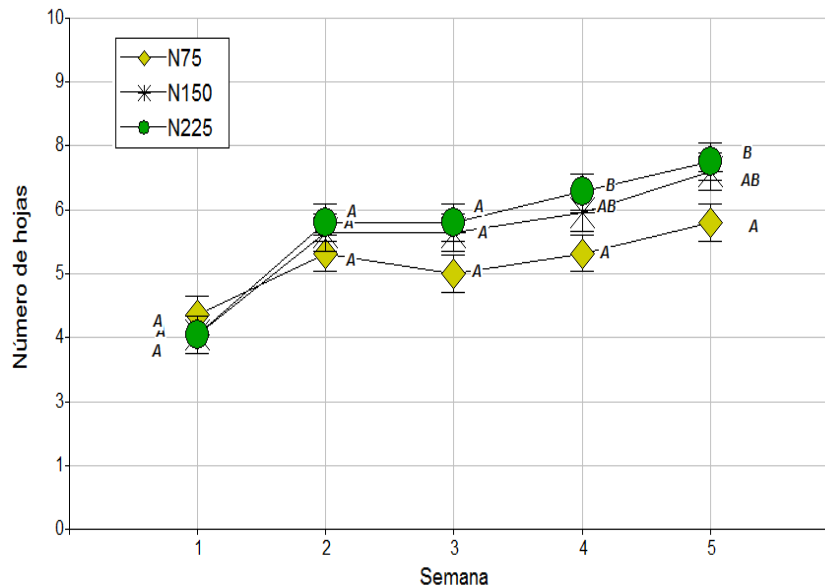


Figura 16. Efecto de la dosis sobre el Número de hojas por tratamiento en el grupo Nostoc durante periodo de evaluación. Las medias de los tratamientos en cada semana con una letra común, no son significativamente diferentes.

4.4.6 Índice relativo de clorofila

En el Cuadro 18, se compara el efecto de las fuentes de fertilización nitrogenada mediante contrastes para la variable Índice relativo de clorofila. La comparación tanto del grupo Nostoc contra el grupo Mineral como del grupo Nostoc contra Combinación, muestra diferencias significativas a partir de la primera semana de trabajo. La comparación del grupo Testigo versus los demás tratamientos muestra diferencias significativas en las semanas cuarta y quinta. El grupo Testigo versus los otros grupos comienza a mostrar diferencias significativas a partir de la semana cuarta y las mantiene hasta la semana quinta.

Cuadro 18. Comparación de tratamientos a partir de contrastes para la variable Índice relativo de clorofila, a lo largo de cinco semanas de trabajo. Los valores en negrita muestran diferencia significancia.

Comparación	Semana									
	1		2		3		4		5	
Valor	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p
T vs otros	0,58	0,2109	1,89	0,1717	2,84	0,0945	13,89	0,0003	7,53	0,0069
M vs C	2,4	0,9876	6,89	0,0096	0,72	0,3972	0,12	0,7251	0,39	0,5318
M vs N	5,71	0,0182	39,24	<0,0001	1,11	0,2930	21,81	<0,0001	22,67	<0,0001
C vs N	6,84	0,0099	13,18	0,0002	4,42	0,0374	30,85	<0,0001	31,51	<0,0001

M = Mineral, C = Combinación, N = Nostoc y T = Testigo

El resultado del Índice relativo de clorofila (Figura 17) muestra que el grupo con mayor valor SPAD al concluir las evaluaciones fue el grupo de tratamientos Nostoc, desde la segunda semana el grupo se separó del resto de grupos y mantuvo el mismo comportamiento hasta finalizar las evaluaciones.

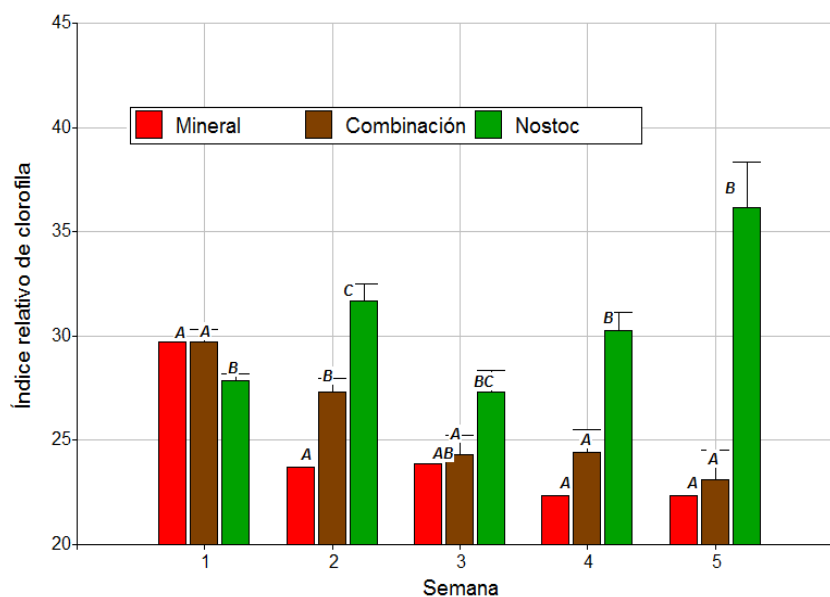


Figura 17. Efecto de los grupos de tratamientos sobre el índice de Índice relativo de clorofila en el periodo de evaluación. Las medias de los tratamientos en cada semana con una letra común, no son significativamente diferentes.

Respecto al comportamiento de los tratamientos del grupo Nostoc en la variable Índice relativo de clorofila (Figura 18) muestra que el tratamiento N225 obtiene el mayor

valor SPAD al llegar la semana quinta, obteniendo diferencias significativas con el resto de tratamientos. Desde la semana segunda, el tratamiento N225 se mantuvo con los valores más altos, pero no fue sino hasta la última medición que logró separarse significativamente del resto de tratamientos, llegando a la última semana de evaluación con los valores más altos.

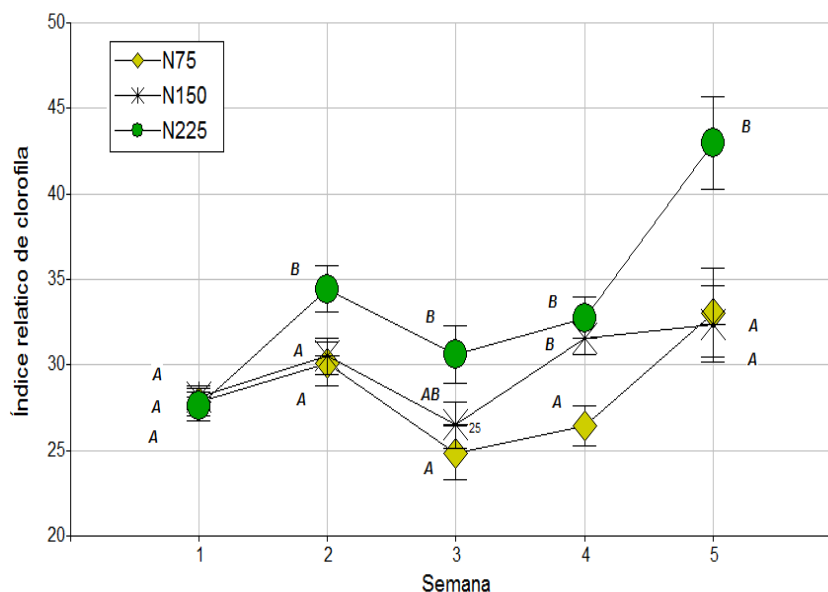


Figura 18. Efecto de la dosis sobre el Índice relativo de clorofila por tratamiento en el grupo *Nostoc* durante periodo de evaluación. Las medias de los tratamientos en cada semana con una letra común, no son significativamente diferentes.

4.4.7 Temperatura del dosel de la planta

En el Cuadro 19, se compara el efecto de las fuentes de fertilización nitrogenada mediante contrastes para la variable Temperatura del dosel de la planta. En comparativa, todos los grupos en las cuatro evaluaciones fueron estadísticamente diferentes, variando entre los valores máximos y mínimos como lo muestra la Figura 19.

Cuadro 19. Comparación de tratamientos a partir de contrastes para la variable Temperatura del dosel de la planta, a lo largo de cinco semanas de trabajo. Los valores en **negrita** muestran diferencia significancia.

Comparación	Semana							
	1		2		3		4	
Valor	F	p	F	p	F	p	F	p
T vs otros	16825,5	<0,0001	33249,1	<0,0001	31594,1	<0,0001	31043,6	<0,0001
M vs C	3,25	0,0744	9,15	0,0031	13,91	0,0003	32,15	<0,0001
M vs N	579,69	<0,0001	1152,48	<0,0001	653,03	<0,0001	997,03	<0,0001
C vs N	923,93	<0,0001	802,46	<0,0001	827,15	<0,0001	491,69	<0,0001

M = Mineral, C = Combinación, N = Nostoc y T = Testigo

Según lo antes mencionado, en la Figura 19, se muestra el comportamiento de la temperatura tomada por la cámara FLIR, en general se observa el comportamiento de los grupos sin algún patrón para los valores más altos, en la segunda semana se logran los valores más altos de temperatura, el grupo Mineral muestra en esta semana el mayor grado de temperatura, diferenciándose estadísticamente del resto de tratamientos. Para los valores más bajos, la tendencia a lo largo de las evaluaciones coloca a los tratamientos del grupo Nostoc con los valores más bajos por ende los mejores.

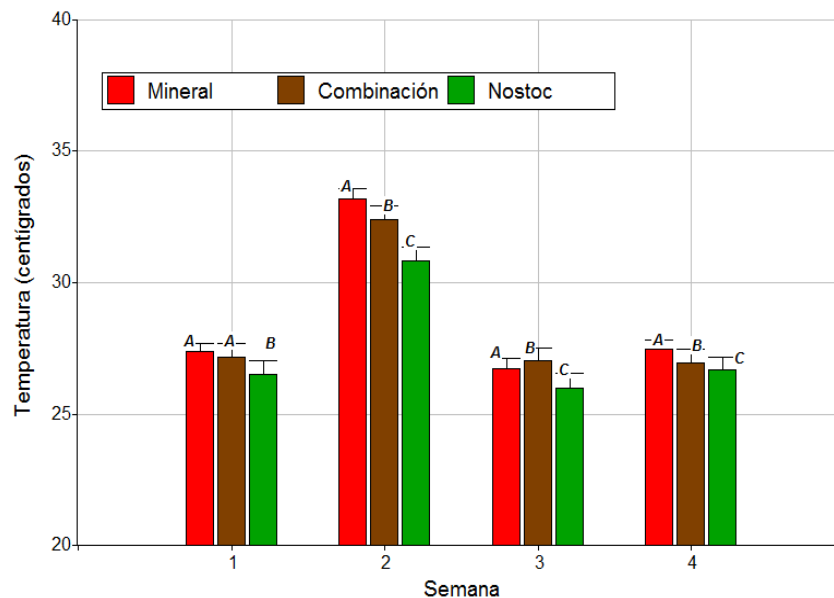


Figura 19. Efecto de los grupos de tratamientos sobre Temperatura del dosel de la planta en el periodo de evaluación. Las medias de los tratamientos en cada semana con una letra común, no son significativamente diferentes.

En la Figura 20, se muestra el comportamiento de la Temperatura del dosel de la planta, todos los tratamientos presentan el mismo patrón de temperatura, pero al llegar la última semana de evaluación, el tratamiento N225 alcanza los valores más altos, obteniendo diferencias significativas con el resto.

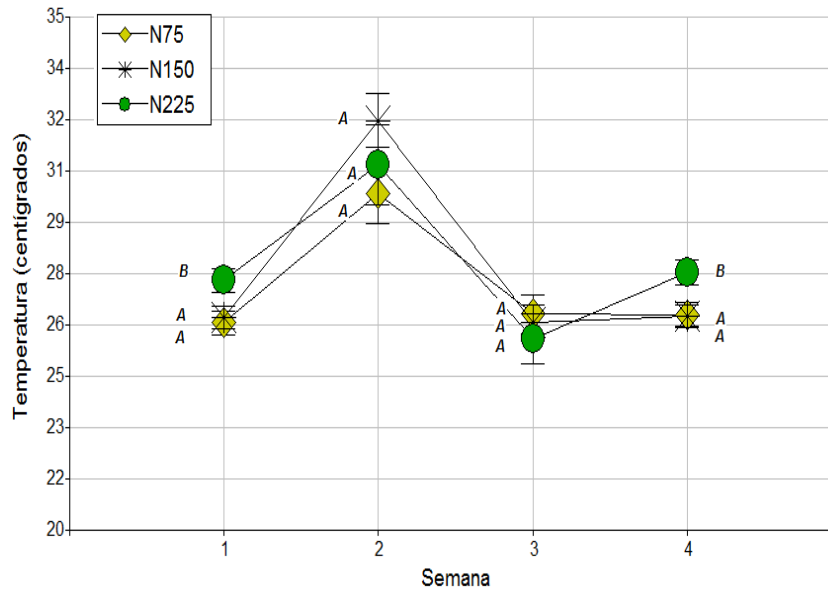


Figura 20. Efecto de la dosis sobre la Temperatura del pote por tratamiento en el grupo Nostoc durante periodo de evaluación. Las medias de los tratamientos en cada semana con una letra común, no son significativamente diferentes.

En síntesis y luego de evaluar cada una de las variables de interés de forma independiente, el comportamiento de los grupos de tratamientos se puede visualizar en el estado al que llegó la planta luego de las cinco semanas de evaluaciones, se puede observar en los tratamientos del grupo Nostoc (N225, N150 y N75) con mejor estado visual (Fotografías RGB) al final de las evaluaciones, en especial N225 como se observa en la Figura 21. En la misma figura, se muestra cómo, en el tratamiento M225 al llega a la tercera semana de evaluación con una mortalidad de 100 %.









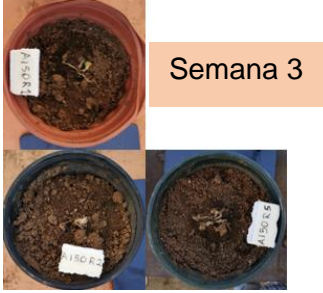

Fuente de nitrógeno	Dosis		
	75 Kg ha ⁻¹	150 Kg ha ⁻¹	225 Kg ha ⁻¹
Orgánica (<i>Nostoc commune</i>)			
Combinación (Orgánica+mineral)			
Mineral (Urea)			
Testigo			

Figura 21. Resumen de fotos clasificado por dosis y fuente de nitrógeno en su última semana de evaluación.

CAPÍTULO 5

5.1 Discusión

Las plantas tienen la capacidad de transportar nutrientes de la fuente al sumidero, al suministrarle un fertilizante nitrogenado la planta es capaz de aumentar su tasa fotosintética e incrementar el crecimiento vegetativo (Mayz 2004). Los resultados de la investigación indican que el grupo de tratamientos suplidos por la fuente de nitrógeno de cianobacteria *Nostoc commune*, han logrado un mejor desarrollo vegetativo del cultivo de lechuga, en comparación con los tratamientos de nitrógeno de fuente Mineral, Combinación y Testigo (sin nitrógeno).

La dosis que presentó los mejores resultados dentro del grupo de tratamientos aplicados con *Nostoc commune*, fue el tratamiento N225 (225 Kg ha⁻¹). Esto es debido a que la dosis fue suministrada con mayor contenido de nitrógeno de fuente orgánica, logrando sustentar las demandas nutricionales para el crecimiento de la planta, sin provocar intoxicaciones (Quille 2015).

No obstante, los tratamientos N150 y N75, ambos con contenido de nitrógeno originario de la cianobacteria *Nostoc commune*, presentaron los mejores resultados en cuestión de crecimiento vegetal, comparados contra el resto de grupos de tratamientos, diferenciándose significativamente. López et al. (2008), respaldan lo antes comentado, puesto que al utilizar biofertilizantes con base en cianobacterias fijadoras de nitrógeno (similitud con *Nostoc commune*) como fuente nitrogenada en su ensayo, también obtuvieron respuestas positivas de crecimiento foliar. Lo anterior, a pesar de usar dosis menores a la reportada en la literatura como es el caso del tratamiento N75 de la presente investigación.

Las cianobacterias del género *Nostoc*, en virtud de su capacidad de fijar nitrógeno, pueden utilizarse con fines de nutrición vegetal, aplicándose al suelo, simulando un fertilizante edáfico Mayz (2004). *Nostoc commune* se compone de filamentos estructurados por células vegetales, el efecto del gen HetR proporciona los impulsos necesarios para que dichas células se diferencien y se conviertan en una nueva célula llamada heterociste, capaz de almacenar nitrógeno. Lograda la diferenciación celular, comienza la fijación de nitrógeno del ambiente que se encuentra en forma de gas (N₂), y consecuentemente su almacenamiento en los heterocistes. El primer producto del proceso de fijación de nitrógeno es el amoníaco (NH₃), el segundo es el ion amonio (NH₄⁺) el cual puede convertirse en glutamato o glutamina y el tercero es el ácido glutámico (Fernández-Pascual et al. 2002).

El glutamato, es un aminoácido utilizado como neurotransmisor, a su vez se ha encontrado evidencia al cual se le atribuye el valor de generar fluidez de los iones calcio dentro del flujo de la célula vegetal, ayudándole a las plantas a contrarrestar el estrés debido a factores tanto bióticos como abióticos presentes en el ambiente en el que se desarrollen (Toyota et al. 2018). En el Cuadro 19 se contempla dicha característica, la cual le atribuyó la menor temperatura del dosel a los tratamientos del grupo Nostoc a lo largo del periodo de evaluación.

El glutamato también tiene la particularidad de ser precursor de síntesis de clorofila, proporcionándole en conjunto al elemento nitrógeno, un mayor verdor a las plantas tratadas, cuantificado en su índice relativo de clorofila. En la Figura 19, los tratamientos del grupo Nostoc presentaron los valores más altos respecto al índice relativo de clorofila, el tratamiento N225 mostró el mayor valor a lo largo de las cinco semanas de evaluación, presentándose una relación directa entre el verdor de la planta y la cantidad de *Nostoc commune* utilizada (Castillo y Ligarreto 2010).

Se entiende que el nitrógeno es fuente de estructura para el crecimiento vegetal de las plantas, por lo tanto, la forma en la que se encuentre en el suelo es de suma importancia. Lo normal de la solución del suelo es el NO_3^- (nitrato) y el NH_4^+ (ion amonio), este último es producto de la *Nostoc commune*, puede quedar atrapado por la carga negativa de las arcillas del suelo (Mayz 2004). El orden del movimiento del NH_4^+ es primordialmente absorbido por las plantas, seguidamente en el sistema suelo pasa a nitrito (NO_2^-), luego de nitrito a nitrato (proceso de nitrificación) y por último es inmovilizado por la materia orgánica (Ferrera y Alarcón 2001).

Tanto el nitrito resultante de la acción del nitrosoma, o el nitrato resultante de la acción del nitrobacter, ambos pueden ser tomado por las raíces de las plantas o pasar a una zona reducida del suelo y perderse como gas (N_2), que consecuentemente se puede volver a fijar por una cianobacteria (Jarpa 2017). La literatura antes mencionada, responde al patrón de crecimiento de los tratamientos del grupo Nostoc, ya que el nitrógeno almacenado en su heterociste, una vez integrado al suelo, puede ser absorbido por las plantas en tres presentaciones (NH_4^+ , NO_2^- y NO_3^-) en todo el ciclo de nitrificación, minimizando las pérdidas en la aplicación de fertilizantes nitrogenados, volviéndola más efectiva que un fertilizante Mineral.

Las presentaciones del nitrógeno asimilable por la planta, suministradas por la cianobacteria *Nostoc commune*, se convierten en un actor de importancia en esta investigación. Sinha y Häder (1996), relatan cómo las plantas logran asimilar amonio y polipéptidos de nitrógeno durante el crecimiento activo. Los polipéptidos de nitrógeno asimilables para la planta, no se contemplaron al calcular las dosis por tratamiento, puesto que el cálculo se realizó solamente con base en la dosis literaria de Nitrógeno de una fuente mineral.

De la misma manera, Paungfoo-Lonhienne et al. (2008), relata cómo plantas de *Hakea actittes* y *Arabidopsis thaliana*, logran obtener proteínas del suelo sin ayuda de otros organismos, vía mecanismos de exudados que digieren las proteínas de la superficie de la raíz, posiblemente en el apoplasto del córtex de la raíz y vía endocitosis. Según lo antes mencionado, es posible que las proteínas presentes en el mucílago de los tratamientos aplicados con *Nostoc commune*, fuesen tomados por las plantas de lechuga, beneficiando su crecimiento radicular y foliar.

Debido a que los tratamientos del grupo Nostoc, provocan una microbiota más rica en el micrositio de aplicación del biofertilizante, sus plantas lograron un crecimiento más abundante en las variables radiculares observadas en el Cuadro 6 y Cuadro 7, logrando una simbiosis con el medio que le permitió llegar a extremos del pote de trabajo en busca de nutrientes y agua (Zayadan et al. 2014).

Acurio et al. (2020), también demostraron que al inocular con cianobacterias sus plantas de lechuga, sus valores de crecimiento vegetal se expandieron hasta un 26,7 % más que el tratamiento testigo sin inocular, este crecimiento se debe no sólo a la producción de nitrógeno disponible para la planta sino también a sustancias promotoras del crecimiento radicular.

Tomando en cuenta la literatura antes citada; los resultados positivos en los tratamientos del grupo *Nostoc commune*, en las variables de crecimiento radicular (Cuadro 5 y 6), y peso seco de raíz (Cuadro 5) es notable el efecto de las sustancias promotoras de crecimiento radicular y el posible aporte de aminoácidos presentes en el mucílago de la cianobacteria, por lo cual podrían ser dos posibles temas de investigaciones futuras, debido a que en este experimento se ha probado que la cianobacteria *Nostoc commune*, tiene un efecto biofertilizante nitrogenado y no como promotor de crecimiento radicular y/o de fitohormonas.

En el caso de Rives et al. (2007), también llegó a las mismas conclusiones en su estudio, puesto que al inocular con bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) plantas de lechuga, observaron un aumento en el número de raíces laterales y pelos radicales, lo cual aumentó la superficie de intercambio de la raíz con el suelo circundante; probando el efecto promotor del crecimiento vegetal, no reside solamente a la fijación de N_2 atmosférico, sino en los cambios morfológicos y fisiológicos provocados en las raíces inoculadas, aumentan la capacidad de obtención de agua y minerales.

Acurio et al. (2020), Rives et al. (2007), evaluaron consorcios de cepas bacterianas en plantas de lechuga, donde el tratamiento a base de consorcios obtuvo un 102 % más de materia seca en comparación con el tratamiento mineral. Ambas conclusiones se correlacionan a los resultados obtenidos en la presente investigación, dejando en claro que a aparte de ser un biofertilizante nitrogenado, las aplicaciones de *Nostoc commune*, tiende a beneficiar la microbiota del suelo (micrositio de aplicación del fertilizante) por ende mayor obtención de nutrientes y en el caso de obtención de nitrógeno suministrado en altas dosis, mayor cantidad de esqueletos de carbono reflejados en un aumento de biomasa (Cuadro 10) y de relación C/N (Figura 5).

Los resultados han mostrado que los tratamientos del grupo Mineral presentaron el menor desempeño sobre el crecimiento vegetal de las plantas de lechuga; debido a que se aplicaron todos los tratamientos de la investigación al momento de siembra de las plántulas, las sobredosificaciones del nitrógeno de los tratamientos con fuente mineral provocaron fitotoxicidad (Ciampitti et al. 2006).

Al utilizar Urea como fuente de nitrógeno mineral y siendo este un fertilizante amoniacal, su liberación de amoníaco (NH_3) llegó a niveles tóxico en los tratamientos sobredosificados. Los niveles altos de amonio disipan los gradientes de protones en las membranas celulares, alterando el metabolismo general de la planta, causando senescencia en etapas juveniles como se observa en el tratamiento N225 que al llegar la semana 3 de evaluación todas sus plantas habían muerto, o a un desarrollo diezmado (tratamiento N150) debido a que en sus etapas iniciales sus raíces se vieron inhibidas en el crecimiento al tener contacto con el sitio aplicado (con residuos de Urea) (Mikkelsen 2010).

De igual forma los tratamientos del grupo Combinación se vieron afectados en su crecimiento, puesto que a pesar de tener presencia de la fuente *Nostoc commune*,

probablemente se presentó una intoxicación por parte del nitrógeno suministrado por la fuente Mineral (Garzón y Cárdenas 2013).

Otro factor en el mal desarrollo de las plantas de los tratamientos del grupo Mineral fueron las pérdidas del fertilizante debido a las altas temperaturas; donde el cambio de temperaturas ocurrido en el transcurso de la semana 1 a la semana 2 (Figura 19), posiblemente influyó en las pérdidas de nitrógeno de los tratamientos. El riesgo de pérdidas por volatilización se reduce a medida que el NH_4^+ se oxida a NO_3^- . Sin embargo, una vez formado NO_3^- es probable que otros procesos como la desnitrificación y la lixiviación promuevan la pérdida de N. Partiendo de que el suelo de trabajo presentó un pH inicial de 5,2 (Cuadro 1) al momento de aplicar los tratamientos y sembrar las lechugas, respalda el fenómeno de fitotoxicidad presentado en el tratamiento M225 y M150 (Morales et al. 2019).

De igual manera los tratamientos con subdosificación de Urea (M75), en términos generales se comportaron sin diferencias significativas al tratamiento testigo, esto debido a las altas probabilidades de pérdidas del nitrógeno por volatilización y lixiviación (Mikkelsen 2010).

A pesar de las características antes mencionadas sobre el comportamiento tan diferente de los grupos Mineral, Nostoc y Combinación, ninguna fuente de nitrógeno mostró diferencia en los resultados de los análisis químicos en cuestión de movimiento de nutrientes, pH, acidez o CICE. Lo antes mencionado responde a que se utilizó un cultivo de ciclo corto que absorbe el nitrógeno necesario para su desarrollo y el restante no absorbido tiene altas probabilidades de perderse lixiviado, desnitrificado o fijado por las arcillas (Food and Agriculture Organization 2002).

Cristóbal et al. (2011), basados en la experiencia de su propio ensayo en el cual evaluaron la incidencia de los fertilizantes nitrogenados de fuente química versus fuente orgánica en el cultivo de maíz por un periodo de 8 años, proponen que para demostrar el cambio del nitrógeno en el suelo, es necesario realizar un estudio durante no menos de 3 años consecutivos sobre el mismo suelo. La literatura antes mencionada responde a la similitud de resultados obtenidos en la variable Análisis químico de suelos (Cuadro 8) y su relación Carbono/Nitrógeno (Cuadro 9).

En síntesis, la cianobacteria *Nostoc commune*, durante el proyecto ha logrado responder positivamente como un biofertilizante nitrogenado convirtiéndose en una

alternativa al nitrógeno amoniacal de origen mineral, aún más logró anteponerse a las condiciones desfavorables de un suelo con un pH ácido, logrando un desarrollo idóneo de la planta de lechuga y supliendo todas las necesidades del elemento a lo largo de su ciclo de vida con una única aplicación al momento de siembra.

5.2 Conclusiones

El grupo de tratamientos aplicados con la fuente de nitrógeno de la cianobacteria *Nostoc commune*, presentaron los mejores resultados en las variables evaluadas respecto a desarrollo vegetal de la planta de lechuga y la mejor dosis del grupo de tratamientos *Nostoc* fue 225 Kg ha⁻¹ (tratamiento N225), diferenciándose significativamente de las dosis 150 Kg ha⁻¹ y 75Kg ha⁻¹.

Al utilizar *Nostoc commune* como fuente de fertilizante nitrogenado, no sólo se está aplicando nitrógeno, sino también fitohormonas y aminoácidos que provocan una microbiota más rica en el sitio aplicado, otorgando un valor agregado como promotor de crecimiento.

Las aplicaciones de Urea en el momento de siembra, no son beneficiosas para la planta. En altas cantidades de fertilizante puede provocar intoxicaciones, llevando a la planta a la muerte, y en bajas cantidades, puede perderse fácilmente debido a la temperatura del ambiente y/o a la irrigación.

La combinación de fuentes de nitrógeno (Urea + *Nostoc commune*) no logró superar a los tratamientos aplicados con *Nostoc commune* solamente, puesto que la presencia de la fuente mineral provocó intoxicaciones irreparables en el transcurso de las evaluaciones.

Depender de maquinaria industrial para la creación de la Urea (proceso Haber-Bosh) en conjunto con la necesidad que tienen los agricultores de utilizar fertilizantes nitrogenados, provoca el impacto ambiental que le da pie a nuevas tecnologías verdes como la de la presente investigación; puesto que no todos los agricultores tiene la posibilidad de crear Urea en su terreno, pero la mayoría sí puede cosechar *Nostoc commune* es de suma importancia seguir investigando al respecto para perfeccionar metodologías de trabajo.

5.3 Recomendaciones

Finalmente, debido a los resultados positivos obtenidos en la investigación, considero importante realizar una replicación del ensayo a campo abierto. Si se utilizan cultivos de ciclo corto, una única aplicación puede sustentar las necesidades nutricionales, pero en el caso de cultivos anuales o perennes, es recomendable fraccionar las dosis de aplicación de los tratamientos con base en *Nostoc commune*, en etapas de siembra o trasplante y luego a la mitad de su ciclo de producción, antes de la etapa de fructificación.

Es necesario tomar en cuenta el efecto de las sustancias promotoras de crecimiento radicular, junto con una identificación y cuantificación de aminoácidos presentes en la cepa por utilizarse para lograr un conocimiento más detallado del potencial agrícola de la *Nostoc commune* y consecuentemente, un mejor manejo de la dosis por cultivo.

También es de suma importancia comparar métodos de cultivo y cosecha de la *Nostoc commune*, para no padecer de falta de insumos a la hora de realizar el plan de fertilización en un área comercial, y paralelamente evaluar los costos de producción de la cianobacteria para compararlos con los precios del mercado nacional en la categoría de biofertilizantes nitrogenados. De esta manera se considera el biofertilizante con base en *Nostoc commune* como una alternativa económicamente viable para los agricultores.

Referencias bibliográficas

- Acurio, RD; Mamarandi, JE; Ojeda, AG; Tenorio, EM; Chiluisa, VP; Vaca, ID los Á. 2020. Evaluación de *Bacillus* spp. como rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) en brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) y lechuga (*Lactuca sativa*). *Ciencia & Tecnología Agropecuaria* 21(3):1-16. DOI: https://doi.org/10.21930/rcta.vol21_num3_art:1465.
- Belén, A. 2015. Biodiversidad, materia orgánica y estructura del suelo: ciencia, técnica e ingeniería. s.l., Universidad de Burgos. 575 p.
- Bertsch, F. 2009. Absorción de nutrientes por los cultivos. s.l., s.e. 308 p.
- Bertsch, F; Hernández, J. 2003. Curvas de absorción de nutrimentos en dos variedades, Bribri y Sacapobres, de Frijol Común de Grano Rojo (en línea). *Agronomía Costarricense* 27(2):75-81. Disponible en <http://www.redalyc.org/pdf/436/43627207.pdf>.
- Castillo, ÁR; Ligarreto, GA. 2010. Relación entre nitrógeno foliar y el contenido de clorofila, en maíz asociado con pastos en el Piedemonte Llanero colombiano. *Ciencia & Tecnología Agropecuaria* 11(2):122-128. DOI: https://doi.org/10.21930/rcta.vol11_num2_art:202.
- Chien, SH; Gearhart, M; Collamer, D. 2009. Acidez generada por los fertilizantes nitrogenados: Nueva evaluación de los requerimientos de cal. *Informaciones Agronómicas* 41:16-17.
- Chittapun, S; Limbipichai, S; Amnuaysin, N; Boonkerd, R; Charoensook, M. 2018. Effects of using cyanobacteria and fertilizer on growth and yield of rice, Pathum Thani I: a pot experiment. *Journal of Applied Phycology* 30(1):79-85. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1138-y>.
- Ciampitti, IA; Micucci, FG; Fontanetto, H; Garcia, FO. 2006. Manejo y ubicación del fertilizante junto a la semilla: Efectos Fitotóxicos (en línea). *Informaciones Agronomicas* 10(Cic):1-8. Disponible en [http://www.ppi-ppic.org/ppiweb/ltams.nsf/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/0f49dbd2c6bc86ba032571f60051b03f/\\$FILE/I.Ciampitti-Fitotoxicidad.pdf](http://www.ppi-ppic.org/ppiweb/ltams.nsf/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/0f49dbd2c6bc86ba032571f60051b03f/$FILE/I.Ciampitti-Fitotoxicidad.pdf).

- Corrales, M; Villalobos, K; Rodríguez, A; Muñoz, N; Umaña, R. 2017. Identificación y caracterización molecular de cianobacterias tropicales de los géneros Nostoc, Calothrix, Tolypothrix y Scytonema (Nostocales: Nostocaceae), con posible potencial biotecnológico. UNED Research Journal 9(2):280-288. DOI: <https://doi.org/10.22458/urj.v9i2.1710>.
- Cristóbal, D; Álvarez, M; Hernández, E; Améndola, R. 2011. Concentración De Nitrógeno En Suelo Por Efecto De Manejo Orgánico Y Convencional. Terra Latinoamericana 29(3):325-332.
- Elizondo, ZJ. 2006. Redalyc.El nitrógeno en los sistemas ganaderos de leche. Agronomía Mesoamericana. 17(1021-7444):69-77.
- FAO (Food and Agriculture Organization). (2002). Los fertilizantes y su uso. s.l., s.e.
- Fernández-Pascual, M; Nuria, M; María Rosario, F. 2002. Fijación biológica del nitrógeno: factores limitantes. Ciencia y Medio Ambiente - Segundas jornadas científicas sobre medio ambiente del CCMA-CSIC :195-202.
- Ferrera, R; Alarcón, A. 2001. La microbiología del suelo en la agricultura sostenible. Ciencia Ergo Sum 8:175-183. DOI: <https://doi.org/ISSN 1405-0269>.
- Flores, ACG; González, V; Aguiñar, CN; Rodríguez, RH. 2014. Biofertilizantes microbianos (en línea). N°1. Coahuila, México , s.e. 434 p. Disponible en <https://ebookcentral-proquest-com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/lib/sibdilibrosp/reader.action?docID=4722104>.
- García, JG; Sommerfeld, M. 2016. Biofertilizer and biostimulant properties of the microalga *Acutodesmus dimorphus*. Journal of Applied Phycology 28(2):1051-1061. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0625-2>.
- Garzón, JE; Cárdenas, EA. 2013. Emisiones antropogénicas de amoníaco, nitratos y óxido nítrico: Compuestos nitrogenados que afectan el medio ambiente en el sector agropecuario colombiano. 60(li):121-138.
- Henríquez, C; Bertsch, F; Salas, R. 1995. Fertilidad de suelos -Manual de laboratorio-. ACCS (Asoc. San José, Costa Rica, s.e. 64 p.
- Herrera, RM. 2012. Evaluación de los exopolisacáridos producidos por una cepa nativa de cianobacteria *Nostoc* sp. como sustrato en la producción de bioetanol. s.l.,

- Universidad Nacional de Colombia. 105 p.
- INIA (Instituto de Investigaciones Agropecuarias). 2017. Manual de producción de lechuga. Instituto de Desarrollo Agropecuario - Instituto de Investigaciones Agropecuarias N°9:137.
- Jaramillo, JN. 2016. Modelo ecnológico para Lechuga el Cultivo de Bajo Oriente Antioqueño Agrícolas Buenas Prácticas en el Oriente Antioqueño. Medellín, Colombia, s.e. 147 p.
- Jarpa, MA. 2017. Enriquecimiento de actividad nitrificante en sedimentos marinos mediante sistemas discontinuos (en línea). s.l., Universidad de Concepción. 1-50 p. Disponible en <http://www.eula.cl/giba/wp-content/uploads/2017/09/tesis-mayra-jarpa-2016.pdf>.
- Johnny, S; Roberto, V. 2020. Regiones y subregiones climáticas de Costa Rica. Población y Salud en Mesoamérica (mapa 1):1-32. DOI: <https://doi.org/10.15517/psm.v18i2.45179>.
- López, M; Martínez, R; Brossard, M; Bolívar, N; Alba, A; Pereira, H. 2008. Efecto de biofertilizantes bacterianos sobre el crecimiento de un cultivar de maíz en dos suelos contrastantes venezolanos. *Agronomía Trop* 58 (4):391-401.
- Maila, BMM. 2018. EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA DEL FRÉJOL (*Phaseolus vulgaris* L .) A LA APLICACIÓN FOLIAR DE UN FERTILIZANTE Y UN BIOFERTILIZANTE CON BASE EN ALGAS. s.l., Universidad Central Del Ecuador. 108 p.
- Mayz, JF. 2004. Fijación biológica de nitrógeno. *Científica UDO Agrícola* 4(1):1-20.
- Mikkelsen, R. 2010. Emisiones de amoniaco de operaciones agrícolas. *Informaciones agronomicas* 79(1):24-27.
- Molina, E. 2015. Preparación de soluciones nutritivas para fertirriego. (en línea, sitio web). Disponible en http://www.cia.ucr.ac.cr/pdf/Memorias/PREPARACION_FERTILIZANTES_PARA_FERTIRRIEGO_2018.pdf.
- Moncayo, A. 2017. Caracterización Morfológica, Análisis Proximal y Análisis Microbiológico de una muestra de la Cianobacteria *Nostoc* sp., recolectada en el páramo de Papallacta. s.l., Universidad Central del Ecuador. 150 p.

- Morales, E; Rubí, M; López, J; Martínez, Á; Morales, J. 2019. Urea (NBPT) una alternativa en la fertilización nitrogenada de cultivos anuales. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 10(8):1875-1886. DOI: <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i8.1732>.
- Paungfoo-Lonhienne, C; Lonhienne, TGA; Rentsch, D; Robinson, N; Christie, M; Webb, RI; Gamage, HK; Carroll, BJ; Schenk, PM; Schmidt, S. 2008. Plants can use protein as a nitrogen source without assistance from other organisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105(11):4524-4529. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0712078105>.
- Quesada, B; Estupuñan, R. 2019. Las cláusulas pétreas de la protección internacional del El proceso Haber-Bosch humano: El acceso directo en la ser sociedad agroindustrial: de los individuos a la justicia peligros y alternativas a E nivel S internacional, y la intangibilidad de la ju. *Consejo Latinoamericano de Ciencias Sociales (CLACSO)*. . s.l., s.e.
- Quille, J. 2015. "Efecto de la inoculación de *Azotobacter chroococcum* Y niveles de fertilización nitrogenada en el rendimiento de la variedad de cebolla roja ilabaya (*Allium cepa* L.)". s.l., Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann-Tacna. 109 p.
- Rives, N; Acebo, Y; Hernández, A. 2007. Bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). perspectivas de su uso en Cuba. *Cultivos Tropicales* 28(2):29-38.
- Saborío, MM. 2017. Olericultura. Primera ed. Rocío Zúñiga Guzmán (ed.). San José, Costa Rica, EUNED. 429 p.
- Sahu, D; Priyadarshani, I; Rath, B. 2012. Cyanobacteria -As Potential Biofertilizer. *CIBTech Journal of Microbiology* Jul.-Sept. & Oct.-Dec 1(3):2319-386720.
- Silva, L; Bermúdez, A; Castiblanco, D; Almario, F; Mojica, P; Cuéllar, S; Media, C; Tamayo, A. 2014. Tecnologías relacionadas con biofertilizantes (en línea). s.l., s.e.:1-132. Disponible en http://www.sic.gov.co/drupal/recursos_user/biofertilizantes.pdf.
- Sinha, RP; Häder, DP. 1996. Photobiology and ecophysiology of rice field cyanobacteria. *Photochemistry and Photobiology* 64(6):887-896. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1996.tb01852.x>.

- Toyota, M; Spencer, D; Sawai-toyota, S; Jiaqi, W; Zhang, T. 2018. Glutamate triggers long-distance, calcium-based plant defense signaling. *Science* 6(September):1112-1115.
- Universidad de Costa Rica. (2021). SuelosCR [Aplicación Móvil]. Google play. https://play.google.com/store/apps/details?id=com.techbitecr.sueloscr&hl=es_CR&gl=US
- Vásquez, JGC. 2015. evaluación agronomica de cinco variedades de lechuga (*Lactuca sativa* L.) en tres ciclos de siembra consecutivos, en San Miguel de la Tigra, San Carlos, Alajuela, C.R. s.l., Instituto tecnológico de Costa Rica. 78 p. DOI: <https://doi.org/10.1145/3132847.3132886>.
- Whitton, BA; Potts, M. 2012. Ecology of Cyanobacteria II (en línea). :1-13. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-94-007-3855-3>.
- Yugra, M. 2015. Efecto de la presión y tiempo sobre la obtencion de biomasa seca de *Chlorella vulgaris*. s.l., Universidad Nacional de Moquegua. 97 p.
- Zayadan, BK; Matorin, DN; Baimakhanova, GB; Bolathan, K; Oraz, GD; Sadanov, AK. 2014. Promising microbial consortia for producing biofertilizers for rice fields. *Microbiology* 83(4):391-397. DOI: <https://doi.org/10.1134/s0026261714040171>.
- Zermeño, A; Mendez, G; Rodríguez, R; Cadena, M; Cárdenas, JO; Catalán, EA. 2015. Biofertilización de vid en relación con fotosíntesis, rendimiento y calidad de frutos. *Agrociencia* 49(8):875-887.