

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE QUITO**

**CARRERA: INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS
NATURALES**

Tesis previa a la obtención del título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

TEMA:

**ELABORACIÓN DE UN ABONO ORGÁNICO A PARTIR DE *Azolla
filiculoides* CON HIPERACUMULACIÓN DE HIERRO**

AUTOR:

JORGE LUIS RUIZ ALENCASTRO

TUTOR:

CHRISTIAN FABRICIO LARENAS ÚRIA

Quito, abril del 2015

**DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD Y AUTORIZACIÓN DE USO
DEL TRABAJO DE GRADO**

Yo, autorizo a la Universidad Politécnica Salesiana la publicación total o parcial de este trabajo de grado y su reproducción sin fines de lucro.

Además declaro que los conceptos, análisis desarrollados y las conclusiones del presente trabajo son de exclusiva responsabilidad del autor.

Quito, abril del 2015

Jorge Luis Ruiz Alencastro

CC: 1713112819

DEDICATORIA

A Dios, por darme la vida y poner en mí la fuerza para superar los obstáculos en este largo camino y culminar una etapa más en mi vida.

A todos y cada uno de los miembros de mi familia que me han apoyado y motivado a realizar el presente estudio.

A Martin, por ser la luz que guía mi camino y darme la fuerza para superar los obstáculos.

Jorge Luis Ruiz Alencastro.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Politécnica Salesiana por contribuir en mi formación humana y profesional.

A mi Director de Tesis el Quím. Christian Fabricio Larenas Uría, por darme las directrices necesarias para poder culminar este trabajo de investigación.

A mis profesores que me forjaron valores y me brindaron sus conocimientos para ser un gran profesional.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO 1	
ANTECEDENTES.....	3
1.1. Justificación.....	3
1.2. Objetivos.....	4
1.2.1. General.....	4
1.2.2. Específicos.....	4
1.3. Hipótesis.....	5
1.3.1. Hipótesis alternativa.....	5
1.3.2. Hipótesis nula.....	5
1.4. Variables e indicadores.....	5
CAPÍTULO 2	
MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. <i>Azolla sp</i>	6
2.1.1. Generalidades de <i>Azolla</i>	6
2.1.2. Ontogenia de las especies de <i>Azolla</i>	6
2.1.3. Taxonomía de <i>Azolla</i>	7
2.1.4. Condiciones medioambientales.....	8
2.1.5. Reproducción.....	8
2.1.6. Composición química de <i>Azolla</i>	9
2.1.7. Problemas relacionados con deficiencia de minerales.....	9
2.1.8. Producción y ventajas.....	10
2.1.9. Uso.....	10
2.1.10. Plagas y enfermedades.....	10
2.1.11. Respuestas biológicas y mecanismos bioquímicos.....	11
2.1.11.1. <i>Exclusión</i>	12
2.1.11.2. <i>Inclusión y acumulación</i>	12
2.1.12. Importancia del pH.....	13
2.1.13. Importancia de electroconductividad.....	14
2.1.14. Importancia del oxígeno.....	16
2.2. Lechuga.....	16
2.2.1. Introducción.....	16
2.2.2. Origen.....	17

2.2.3. Taxonomía.....	17
2.2.4. Morfología.....	18
2.2.5. Tipos de variedades botánicas de <i>Lactuca sativa</i>	18
2.2.6. Condiciones agroecológicas del cultivo.....	19
2.2.6.1. <i>Suelos y Altitud</i>	19
2.2.6.2. <i>Temperatura</i>	19
2.2.6.3. <i>Humedad relativa</i>	20
2.2.7. Requerimientos nutricionales.....	20
2.2.8. Tecnología del cultivo.....	21
2.2.9. Plagas y enfermedades de la lechuga.....	22
2.2.10. Contenido nutricional de la lechuga.....	23
2.3. Nutrición vegetal.....	24
2.3.1. El hierro en las plantas.....	24
2.3.1.1. <i>El manejo de la deficiencia de hierro</i>	25
2.3.1.2. <i>La absorción del hierro por las plantas</i>	25
2.3.1.3. <i>Los fertilizantes como fuentes de hierro</i>	26
2.3.1.4. <i>La clorosis férrica</i>	28
2.3.1.4.1. <i>Causas de la clorosis férrica</i>	28
2.4. Técnicas metodológicas.....	28
2.4.1. Espectrofotometría de absorción atómica.....	28
2.4.1.1. <i>Fundamento</i>	29
2.4.2. Espectrofotometría de absorción ultravioleta visible.....	29
2.4.3. Análisis de suelos y su interpretación.....	30
2.4.3.1. <i>Muestreo</i>	30
2.4.3.2. <i>Interpretación</i>	31
CAPÍTULO 3	
MATERIALES, MÉTODOS Y EQUIPOS.....	32
3.1. Delimitación de lugares de estudio.....	32
3.2. Recolección e identificación botánica de <i>Azolla filiculoides</i>	32
3.3. Acondicionamiento del medio de cultivo para <i>Azolla filiculoides</i>	33
3.3.1. Diseño experimental.....	33
3.3.2. Medio de cultivo.....	34
3.3.2.1. <i>Solución nutritiva</i>	34
3.3.2.2. <i>Fuentes de hierro a probar</i>	34
3.3.2.2.1. <i>Sulfato ferroso (FeSO₄·7H₂O)</i>	34

3.3.2.2.2. <i>Quelato de hierro (E.D.T.A-Hierro)</i>	34
3.4. Monitoreo del cultivo de <i>Azolla filiculoides</i>	35
3.5. Cuantificación de hierro en las muestras de <i>Azolla filiculoides</i>	36
3.5.1. Tratamiento preliminar del material vegetal.....	36
3.5.2. Digestión ácida de biomasa.....	36
3.5.3. Método espectrofotométrico en muestras de <i>Azolla filiculoides</i>	37
3.6. Cultivo de <i>Azolla filiculoides</i> con hiperacumulación de hierro.....	37
3.7. Elaboración del abono orgánico sólido.....	38
3.8. Cultivo de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> var. <i>Inybasea</i>).....	38
3.8.1. Establecimiento del sitio y sustrato de siembra.....	38
3.8.2. Diseño experimental.....	39
3.8.3. Semilleros y trasplante.....	39
3.8.4. Fertilización.....	40
3.8.5. Evaluación de los parámetros de crecimiento en lechuga.....	40
3.8.5.1. <i>Porcentaje de prendimiento y sobrevivencia</i>	41
3.8.5.2. <i>Número de hojas</i>	41
3.8.5.3. <i>Altura de la planta</i>	41
3.8.5.4. <i>Ancho y largo de la cuarta hoja</i>	41
3.8.5.5. <i>Longitud de raíces</i>	41
3.8.5.6. <i>Perímetro de tallo</i>	41
3.8.5.7. <i>Rendimiento</i>	42
3.8.5.8. <i>Peso fresco de la raíz y del follaje</i>	42
3.8.5.9. <i>Cuantificación foliar de hierro en hojas exteriores de lechuga</i>	42
3.8.5.10. <i>Cuantificación foliar de clorofila</i>	43
3.8.6. Análisis estadístico de los parámetros de crecimiento en lechuga.....	44
CAPÍTULO 4	
RESULTADOS.....	45
4.1. <i>Azolla</i>	45
4.1.2. Acondicionamiento del medio de cultivo para <i>Azolla filiculoides</i> Lam... 45	45
4.1.3. Monitoreo del cultivo de <i>Azolla filiculoides</i>	46
4.1.3.1. <i>Caracterización de biomasa de Azolla filiculoides</i> Lam.....	47
4.1.4. Cuantificación de la concentración de hierro hiperacumulado por <i>Azolla filiculoides</i> Lam.....	48
4.1.4.1. <i>Digestión ácida de biomasa</i>	48
4.1.4.2. <i>Concentración de hierro en muestra seca de Azolla filiculoides</i>	49

4.2. Cultivo de lechuga.....	51
4.2.1. Sustrato.....	51
4.2.2. Porcentaje de germinación.....	51
4.2.3. Evaluación de los parámetros de crecimiento en lechuga.....	52
4.2.3.1. <i>Prendimiento y sobrevivencia del cultivo</i>	53
4.2.3.2. <i>Número de hojas</i>	53
4.2.3.3. <i>Altura de la planta</i>	55
4.2.3.4. <i>Ancho de la cuarta hoja</i>	59
4.2.3.5. <i>Largo de la cuarta hoja</i>	61
4.2.3.6. <i>Longitud de la raíz</i>	63
4.2.3.7. <i>Perímetro de tallo</i>	64
4.2.3.8. <i>Rendimiento de la planta</i>	65
4.2.3.9. <i>Peso de la raíz</i>	66
4.2.3.10. <i>Peso del follaje</i>	68
4.2.3.11. <i>Concentración foliar de hierro</i>	69
4.2.3.12. <i>Concentración foliar de clorofila</i>	71
4.2.4. Variación del rendimiento en función de la concentración de hierro presente en lechuga.....	73
CONCLUSIONES.....	75
RECOMENDACIONES.....	77
LISTA DE REFERENCIAS.....	78
ANEXOS.....	83

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Variables independientes y dependientes.....	5
Tabla 2. Taxonomía de <i>Azolla filiculoides</i>	7
Tabla 3. Composición química de <i>Azolla</i>	9
Tabla 4. Escala de salinidad.....	15
Tabla 5. Clasificación taxonómica de lechuga (<i>Lactuca sativa L.</i>).....	18
Tabla 6. Valores nutricionales requeridos para lechuga.....	20
Tabla 7. Plagas y enfermedades en lechuga.....	23
Tabla 8. Composición de la lechuga por cada 100g de parte comestible cruda.....	23
Tabla 9. Evaluación del cultivo de <i>Azolla filiculoides</i>	33
Tabla 10. Composición química del nutriente mayor hidropónico Nutripón.....	34
Tabla 11. Límites de pH, conductividad y oxígeno disuelto en los diferentes tratamientos.....	35
Tabla 12. Método BERGHOF modificado de digestión ácida para plantas secas.....	37
Tabla 13. Evaluación del abono en un cultivo de <i>Lactuca sativa var. Inybacea</i>	39
Tabla 14. Método BERGHOF modificado de digestión ácida para plantas secas.....	43
Tabla 15. Peso de la biomasa, nutriente y metales pesados introducidos.....	45
Tabla 16. Promedio de pH, conductividad y oxígeno durante 15 días de contacto de <i>Azolla filiculoides</i> con el medio de cultivo.....	46
Tabla 17. Aspecto de la biomasa después de 15 días de contacto con el medio.....	47
Tabla 18. Fotos de referencia del aspecto de la biomasa antes y después de 15 días de contacto.....	47
Tabla 19. Concentración de hierro en ppm en muestra seca de <i>Azolla filiculoides</i>	49
Tabla 20. Valores de p reportados para test de Levene, Anova y Kuskal Wallis.....	52
Tabla 21. Prueba de Tukey al 5% para número de hojas a los 45 días.....	54
Tabla 22. Prueba de Tukey al 5% para altura de la planta a los 15 días.....	56
Tabla 23. Prueba de Tukey al 5% para altura de la planta a los 45 días.....	57
Tabla 24. Prueba de Tukey al 5% para altura de la planta obtenida durante los últimos 30 días cultivo.....	58
Tabla 25. Prueba de Tukey al 5% ancho de la cuarta hoja obtenida a los 45 días de cultivo.....	60

Tabla 26. Prueba de Tukey al 5% para el largo de la cuarta hoja obtenida durante los últimos 30 días de cultivo.....	62
Tabla 27. Prueba de Tukey al 5% longitud de la raíz obtenida a los 45 días de cultivo.	63
Tabla 28. Prueba de Tukey al 5% longitud de la raíz obtenida a los 45 días de cultivo.	65
Tabla 29. Prueba de Tukey al 5% peso de la raíz obtenida a los 45 días de cultivo... ..	67
Tabla 30. Prueba de Tukey al 5% peso del follaje obtenido a los 45 días de cultivo.	69
Tabla 31. Prueba de Tukey al 5% de la concentración de hierro obtenido a los 45 días de cultivo.....	70
Tabla 32. Prueba de Tukey al 5% de la concentración foliar de clorofila obtenido a los 45 días de cultivo.....	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Azolla filiculoides</i>	
Figura 2. Niveles de asimilación de elementos esenciales según la escala de pH.....	
Figura 3. Antagonismo y sinergismo de ciertos elementos.....	
Figura 4. <i>Lactuca sativa</i> var. <i>Inybacea</i>	
Figura 5. Porcentaje de hierro quelatado según el pH.....	
Figura 6. Digestión ácida de biomasa utilizando un método modificado de BERGHOF.....	
Figura 7. Concentración de hierro en ppm en muestra seca de <i>Azolla filiculoides</i>	
Figura 8. Número de hojas de lechuga a los 15, 45 y últimos 30 días de cultivo.....	53
Figura 9. Altura de la planta de lechuga a los 15, 45 y últimos 30 días de cultivo.....	
Figura 10. Ancho de la cuarta hoja de lechuga a los 15, 45 y últimos 30 días de cultivo.....	
Figura 11. Largo de la cuarta hoja de lechuga a los 15, 45 y últimos 30 días de cultivo.....	
Figura 12. Longitud de la raíz a los 45 días de cultivo.....	
Figura 13. Perímetro del tallo a los 45 días de cultivo.....	
Figura 14. Rendimiento de la planta a los 45 días de cultivo.....	
Figura 15. Peso de la raíz a los 45 días de cultivo.....	
Figura 16. Peso del follaje a los 45 días de cultivo.....	
Figura 17. Concentración foliar de hierro a los 45 de cultivo.....	
Figura 18. Concentración foliar de clorofila a los 45 de cultivo.....	
Figura 19. Rendimiento en función de hierro absorbido por lechuga.....	

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Criterios para la toma correcta de muestras de suelo.....	83
Anexo 2. Medición del pH, conductividad y oxígeno disuelto en los diferentes tratamientos cada 5 días por tres veces.....	84
Anexo 3. Guía para diferenciar daños en las frondas de <i>Azolla filiculoides</i> expuesta a metales pesados.....	86
Anexo 4. Método Berghof de digestión para plantas seca.....	87
Anexo 5. Metodología de análisis de hierro en espectrofotometría de absorción atómica.....	88
Anexo 6. Estación Experimental Salache de la Universidad Técnica de Cotopaxi en Latacunga.....	89
Anexo 7. Descripción de Fe-EDDHA Libfer SP de la marca Basf.....	90
Anexo 8. Certificado de identificación botánica de <i>Azolla filiculoides</i> Lam.....	91
Anexo 9. Concentración de hierro medido en <i>Azolla filiculoides</i> medido por EAA con 6 réplicas por muestra.....	92
Anexo 10 . Concentración promedio de hierro por tratamiento con intervalos de confianza derivados de la distribución t de Student al 95% medido en <i>Azolla filiculoides</i>	94
Anexo 11. Reporte del análisis de suelo realizado por la Estación Experimental Santa Catalina INIAP.....	95
Anexo 12. Evaluación de los parámetros de crecimiento en lechuga en cada repetición.....	96
Anexo 13. Promedio de los tratamientos de la evaluación de los parámetros de crecimiento en lechuga.....	99
Anexo 14. Porcentaje de prendimiento y sobrevivencia de lechuga medidos hasta el décimo día.....	100
Anexo 15. Análisis de varianza para número de hojas a los 15 días después del trasplante en lechuga.....	100
Anexo 16. Análisis de varianza para número de hojas a los 45 días después del trasplante en lechuga.....	101
Anexo 17. Análisis de varianza para número de hojas en los últimos 30 días después del trasplante en lechuga.....	101

Anexo 18. Análisis de varianza de altura a los 15 días después del trasplante en lechuga.....	102
Anexo 19. Análisis de varianza de altura a los 45 días después del trasplante en lechuga.....	102
Anexo 20. Análisis de varianza de altura durante los últimos 30 días después del trasplante en lechuga.....	103
Anexo 21. Análisis de varianza de ancho de la cuarta hoja a los 15 días después del trasplante en lechuga.....	103
Anexo 22. Análisis de varianza de ancho de la cuarta hoja a los 45 días después del trasplante en lechuga.....	104
Anexo 23. Análisis de varianza de ancho de la cuarta hoja durante los últimos 30 días después del trasplante en lechuga.....	104
Anexo 24. Análisis de varianza del largo de la cuarta hoja a los 15 días después del trasplante en lechuga.....	105
Anexo 25. Análisis de varianza del largo de la cuarta hoja a los 45 días después del trasplante en lechuga.....	105
Anexo 26. Análisis de varianza del largo de la cuarta hoja durante los últimos 30 días después del trasplante en lechuga.....	106
Anexo 27. Análisis de varianza de longitud de la raíz a los 45 días después del trasplante en lechuga.....	106
Anexo 28. Análisis de varianza de diámetro del tallo a los 45 días después del trasplante en lechuga.....	107
Anexo 29. Análisis de varianza de rendimiento a los 45 días después del trasplante en lechuga.....	107
Anexo 30. Análisis de varianza del peso de la raíz a los 45 días después del trasplante en lechuga.....	108
Anexo 31. Análisis de varianza del peso del follaje a los 45 días después del trasplante en lechuga.....	108
Anexo 32. Análisis de varianza de la concentración foliar de hierro a los 45 días después del trasplante en lechuga.....	109
Anexo 33. Análisis de varianza de la concentración foliar de clorofila a los 45 días después del trasplante en lechuga.....	109
Anexo 34. Fotografías tomadas durante la investigación.....	110

RESUMEN

La presente investigación busca evaluar un abono orgánico sólido obtenido a partir de *Azolla filiculoides*, hiperacumulada con hierro que favorezca el crecimiento y desarrollo de lechuga en condiciones de invernadero.

Con el objetivo de determinar las mejores condiciones de bioacumulación de hierro en *Azolla filiculoides* se evaluó su crecimiento en un medio de cultivo controlado, manteniendo constante la concentración de macronutrientes, pH, temperatura y variando la concentración del micronutriente hierro, a través de soluciones de 0,35; 0,55; 0,75 ppm de sulfato ferroso y 1,3; 2,6; 5,2; 7,8; 10,4 ppm de EDTA-Hierro. El medio se cambió cada 5 días por 3 veces. La cuantificación del hierro absorbido en el tejido de *Azolla filiculoides* realizó mediante espectrofotometría de absorción atómica con llama de aire-acetileno y a una longitud de onda de 248,3nm. La mejor respuesta se obtuvo con la solución de E.D.T.A-Hierro de 10,4 ppm; se replicó el tratamiento en cantidad suficiente para el cultivo.

La evaluación del cultivo de *Lactuca sativa* var. *Inybacea* se realizó durante 45 días después del trasplante para lo cual se obtuvo el sustrato en la Estación Experimental Salache ubicada en Latacunga con un nivel bajo de hierro; el cultivo fue bajo invernadero en fundas de 2,5kg con tres dosis diferentes de *Azolla* y de Fe-EDDHA, al cabo de 45 días se realizó la evaluación de las características agronómicas. Se puede establecer que la concentración que dio mejores respuestas al cultivo fue el tratamiento con *Azolla filiculoides* de 2g/planta y en general tiene mejores características que el quelato de hierro sintético.

Palabras claves: *Azolla*, lechuga, hiperacumulación, hierro, abono.

ABSTRACT

The present investigation evaluates a solid organic fertilizer obtained from *Azolla filiculoides*, which hyper accumulated of iron, promotes growth and development of lettuce in greenhouse conditions.

In order to determine the best conditions for bioaccumulation of iron in *filiculoides* *Azolla* growth was evaluated in a controlled cultivation medium, keeping constant the concentration of macronutrients, pH, temperature and varying the concentration of iron micronutrient, through ferrous sulfate solutions from 0, 35; 0.55; 0.75 ppm, and 1,3; 2,6; 5,2; 7,8; 10,4 ppm of EDTA-iron. The medium was changed every 5 days for 3 times. The quantification of iron absorbed into the tissue of *Azolla filiculoides* was performed using atomic absorption spectrophotometry with air-acetylene flame and a wavelength of 248,3nm. The best response was obtained with the EDTA-iron of 10.4 ppm; treatment was replicated in sufficient quantity for cultivation.

The inspection of the *Lactuca sativa* var *Inybasea* was held for 45 days after the transplant for which the substrate was obtained at Salache Experimental Station located in Latacunga with a low iron; greenhouse cultivation was 2.5k in cases with three different doses of *Azolla* and Fe-EDDHA, the appraisal was performed of the agronomic characteristics after 45 days. You can set the concentration gave better responses to treatment cultivation was *Azolla filiculoides* 2g / plant and generally has better characteristics than synthetic iron chelate.

Keywords: *Azolla*, lettuce, hyperaccumulation, iron, fertilizer.

INTRODUCCIÓN

El deterioro del ambiente es uno de los problemas más evidentes que se enfrenta en la actualidad. Una de sus formas constituye el desgaste de los suelos por el uso excesivo e incorrecto de agroquímicos que se emplean con el fin de aumentar la productividad, lo cual ha originado efectos como la reducción significativa de la fertilidad físico-química y variación de la diversidad biológica del suelo. Otros aspectos son la contaminación de alimentos debido a los residuos químicos que perduran en el suelo y la presencia de agua contaminada que por infiltración va hacia capas más profundas [CITATION Cha13 \l 12298].

La deficiencia de hierro en los cultivos obliga a los agricultores hacer fuertes inversiones en agroquímicos, que solucionen los problemas originados por esta alteración nutricional en la planta. En las últimas décadas se han desarrollado numerosos productos con el fin de incrementar la producción en cultivos con suelos deficientes en hierro. Un buen ejemplo son los quelatos sintéticos de hierro que han demostrado en investigaciones ser un método eficaz para conseguir que la planta recupere su estado nutricional normal. En la actualidad, la formulación de Fe EDDHA es considerada la de mayor eficacia tomando como parámetro el rango de pH más amplio posible [CITATION Sán02 \l 12298].

El hierro es un metal que cataliza la formación de clorofila y actúa como transportador de oxígeno, los requerimientos nutricionales de este metal motiva a realizar este trabajo, ya que los altos costos que implican la utilización quelato de hierro hace necesario que se busque alternativas más baratas para su uso en agricultura. El sulfato ferroso es un compuesto barato al cual se busca adicionar un agente que ayude su absorción en la solución nutritiva [CITATION Riv09 \l 12298].

Hoy en día las investigaciones están centradas en desarrollar nuevas alternativas biológicas, que representen opciones más viables a la agricultura orgánica que en general se la conoce por el uso de técnicas apropiadas, que en principio evitan el uso de fertilizantes y plaguicidas sintéticos, su propósito es llegar a una producción agropecuaria limpia y sostenida [CITATION Alt00 \l 12298].

Actualmente existe poca información relacionada, ya que es un tema nuevo y no existen investigaciones previas, por esto la presente investigación está enfocada en la elaboración de un abono orgánico a partir del helecho acuático *Azolla filiculoides* hiperacumulado con hierro, aprovechando las características conocidas de hiperacumulación metálica a través de la formación de fitoquelatinas que se constituyen en quelatos de hierro asimilables por las plantas.

CAPÍTULO 1

ANTECEDENTES

1.1. Justificación

En la actualidad los problemas ambientales son provocados por el uso indiscriminado de fertilizantes químicos, los cuales han ocasionado tierras improductivas con altos niveles de contaminación y reducción de su potencial agrícola [CITATION Pac11 \l 12298].

Los abonos sintéticos se caracterizan por poseer un bajo índice de aprovechamiento que tiene la planta de ellos. Se estima que en una aplicación al suelo sólo es aprovechado por la planta entre 30 y 40% del producto, mientras que el resto se desperdicia y se filtra contaminando así los mantos freáticos, los ríos y cuerpos de agua o se pierden como gases tóxicos a la atmósfera, aportando a la destrucción de la capa de ozono, al calentamiento de la tierra y afecciones en la salud [CITATION Fre12 \l 12298].

Entre otros daños provocados por el empleo desmesurado de fertilizantes está el desbalance natural que se genera en el ecosistema producto del desequilibrio entre la estructura físico química y orgánica del suelo, la diversidad microbiana se reduce y los nutrientes naturales propios de los suelos escasean [CITATION Bla05 \l 12298].

Estos impactos han obligado a producir nuevas tecnologías, la que tienen como fundamento principal el desarrollo integral de los ecosistemas en la producción de una agricultura sustentable y orgánica [CITATION Gon05 \l 12298].

El uso de procesos biológicos en la agricultura actual presenta algunas ventajas respecto al uso de abonos químicos, es menos contaminante y agresivo con el suelo, presenta mayor eficacia incrementando la producción y calidad de los cultivos [CITATION Fla98 \l 12298].

La deficiencia del hierro es un factor limitante en el desarrollo de las plantas. Las plantas pueden absorber el hierro en sus estados de oxidación Fe^{2+} (hierro ferroso) y Fe^{3+} (hierro férrico), aunque la mayoría del hierro en la corteza terrestre está en forma férrica, que es poco asimilable. Estos inconvenientes han llevado al uso excesivo de abonos químicos para tratar de cubrir la ausencia de hierro que se encuentra en el suelo de cultivos ecuatorianos. El hierro puede ser aplicado como sulfato ferroso (FeSO_4) que contiene aproximadamente un 20% de hierro. La aplicación al suelo, a menudo no es efectiva, especialmente en un pH encima de 7.0, ya que el mismo se transformará rápidamente a Fe^{3+} [CITATION Sma12 \l 12298].

En nuestro país el abono orgánico puede ser una opción viable al brindar las herramientas al agricultor para el desarrollo de una técnica alternativa y eficaz en la agricultura orgánica, para el beneficio y la garantía del consumidor de ingerir alimentos libres de contaminantes químicos que puedan ser perjudiciales para su salud.

1.2. Objetivos

1.2.1. General

Evaluar la capacidad *Azolla filiculoides* con hiperacumulación de hierro como abono orgánico sólido.

1.2.2. Específicos

Determinar las condiciones óptimas de pH, temperatura y concentración para la hiperacumulación de hierro en un cultivo de *Azolla filiculoides*.

Cuantificar espectrofotométricamente la cantidad de hierro hiperacumulado en *Azolla filiculoides*.

Elaborar un abono orgánico sólido a partir de *Azolla filiculoides* con hiperacumulación de hierro.

Evaluar el desempeño del abono orgánico sólido comparado con un quelato de hierro artificial en un cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* var. *Inybasea*) mediante análisis de características físicas y respuestas agronómicas.

1.3. Hipótesis

1.3.1. Hipótesis alternativa

Al menos uno de los tratamientos con *Azolla filiculoides* hiperacumulada de hierro funciona como abono orgánico sólido en el crecimiento y desarrollo de la lechuga (*Lactuca sativa* var. *Inybacea*).

1.3.2. Hipótesis nula

Ninguno de los tratamientos con *Azolla filiculoides* hiperacumulada de hierro funciona como abono orgánico sólido en el crecimiento y desarrollo de la lechuga (*Lactuca sativa* var. *Inybacea*).

1.4. Variables e indicadores

Tabla 1. Variables independientes y dependientes.

VARIABLES INDEPENDIENTES	VARIABLES DEPENDIENTES
• Concentración de hierro en la solución nutritiva para crecimiento de <i>Azolla filiculoides</i> .	• Hiperacumulación de hierro en abono de <i>Azolla filiculoides</i> .
• Concentración de hierro hiperacumulado en abono quelatado presente en los tratamientos.	• Parámetros de crecimiento de <i>Lactuca sativa</i> var. <i>Inybacea</i> con abono orgánico de <i>Azolla filiculoides</i> .
	• Parámetros de crecimiento de <i>Lactuca sativa</i> var. <i>Inybacea</i> con fertilizante comercial.

Elaborado por: Jorge Ruiz

CAPÍTULO 2

MARCO TEÓRICO

2.1. *Azolla* sp.

2.1.1. Generalidades de *Azolla*

En Vietnam se utiliza *Azolla* desde el siglo XI y en China hace más de 400 años, sin embargo, hace solo 100 años se emplea para mejorar los arrozales. Estos dos países son los de más larga tradición en este cultivo. La práctica del cultivo de *Azolla* comenzó después de observar que el crecimiento espontáneo de *Azolla* tuvo un efecto beneficioso sobre el cultivo del arroz. En Vietnam en 1958 se estableció un centro de investigación de *Azolla*, pero hasta principios de los 60 no hubo un auge en la investigación de este cultivo o helecho en este país y China [CITATION Mon05 \l 12298].

2.1.2. Ontogenia de las especies de *Azolla*

Originaria de América del Norte y Centroamérica, se puede encontrar en zonas tropicales, además está presente en Europa, Asia y África [CITATION Las11 \l 12298].

Azolla filiculoides



Figura 1.

Fuente: Montaña, 2010

El diámetro de las especies de *Azolla* varía de 1 a 2,5cm. Las hojas son de forma triangular o poligonal, compuesto por multitud de hojas pequeñas (frondes), flotan horizontalmente en la superficie del agua, su color oscila entre rojo y púrpura a exposición del sol y de verde pálido a verde azulado en las zonas de sombra (Las Eras, 2011, pág. 33).

Tiene tallos profusamente ramificados que se encuentran recubiertos de hojas bilobuladas alternas, cada una tiene un lóbulo ventral aclorofílico sumergido y otro lóbulo dorsal clorofílico que contiene cavidades con el alga *Anabaena*. Presencia de raíces auténticas que surgen de forma endógena con pelos radicales. Esporocarpos que se forman en grupos de dos o cuatro en la axila del lóbulo dorsal de la hoja basal de cada rama [CITATION Rod84 \l 12298].

2.1.3. Taxonomía de *Azolla*

El género *Azolla* se clasificó dentro de las *Azollaceae* una familia que se caracteriza por ser de helechos criptógamos flotantes. Este género se divide en seis secciones y especies vivientes descritas en base a los órganos reproductores (sacos flotantes de megaesporas y gloquideos de la másulas) [CITATION Mon10 \l 12298].

Tabla 2. Taxonomía de *Azolla filiculoides*

Helecho:	<i>Azolla</i>
División:	PteridopHyta
Clase:	Filicopsida
Orden:	Salviniales
Familia:	<i>Azollaceae</i>
Género:	<i>Azolla</i>
Especie:	<i>Filiculoides.</i>

Fuente: Montaña, 2010

2.1.4. Condiciones medioambientales

Para el desarrollo y mantenimiento del sistema simbiótico en buenas condiciones es necesario que se cumplan los siguientes factores:

- Temperatura: El cultivo soporta un rango bastante amplio de temperatura. En la sierra, existen especies adaptadas a temperaturas entre 7°C y 23°C[CITATION Las11 \l 12298].
- pH: El pH entre 6 y 7 es el adecuado[CITATION Las11 \l 12298].
- Agua: Es un factor relevante ya que el helecho es sensible al desecamiento, se recomienda mantener una profundidad de 10cm de agua y hasta 25mg de fósforo aproximadamente (superfosfato triple) por kg de agua [CITATION Mon10 \l 12298].
- Viento: Fuertes vientos puede provocar daños irreparables a el cultivo de *Azolla*, en la provincia de Pichincha se registró una velocidad de viento entre 5 km/h y 40 km/h[CITATION Wun11 \l 12298].
- Iluminación: No es un factor que presente problemas al desarrollo de *Azolla*, adaptándose fácilmente a condiciones de estanque a pleno sol; o bien en la sombra. En condiciones bajo sombra *Azolla* conserva su color verde natural, mientras que a exposición de luz directa del sol llega a tornar sus hojas de color rojizo [CITATION Las11 \l 12298].

2.1.5. Reproducción

Su reproducción puede ser asexual, por gajos. Cada rama rota formará una nueva planta. También puede reproducirse sexualmente; como todos los helechos, tiene esporas en unos cuerpos conocidos como esporangios, los cuales son poco visibles y están entre las hojas [CITATION Suá05 \l 12298].

Scagel (1966) afirman que la *Azolla* a diferencia del resto de helechos tiene dos tipos de esporas. Durante los meses secos, numerosas estructuras esféricas llamadas esporocarpos se forman en el envés de las ramas. Tienen 2mm de diámetro, y dentro hay numerosos esporangios macho. Las esporas macho (microesporas) son muy diminutas y se producen al interior de cada microesporangio. Los esporocarpos femeninos son muy pequeños, y sólo contienen un esporangio y una espora funcional llamada megaespora. La *Azolla* tiene microscópicos gametocitos machos y hembras que se desarrollan al interior de los esporos macho y hembra.

El gametocito femenino procede del megasporo, sostiene de uno a varios arquegonios, cada arquegonio contiene un solo huevo. El microesporo forma un gametofito masculino que tiene un solo anteridio que producirá ocho espermios nadantes. El gloquidio barbado en los clusters de esporos masculinos presumiblemente les causa que se fijen a las megasporas femeninas, facilitando así la fertilización [CITATION Sca96 \l 12298].

2.1.6. Composición química de *Azolla*

El análisis químico realizado a la muestra vegetal (en relación a peso seco) presenta los siguientes resultados [CITATION Mon10 \l 12298]:

Tabla 3. Composición química de *Azolla*

Nitrógeno 4-5%	Humedad: 97,34%
Fósforo 0,5%	Cenizas: 8,10%
Potasio 1-2%	E.E.: 2,50%
Calcio 0,5%	Proteína: 3,42%
Magnesio 0,5%	Fibra: 24,95%
Hierro 0,1%	E.L.N.: 61,04%

Fuente: Montaña, 2010

2.1.7. Problemas relacionados con deficiencia de minerales

Para el cultivo de *Azolla* se debe proporcionar los mencionados elementos en cantidades suficientes, en caso de presentarse deficiencia de alguno de ellos se producirá alteraciones como las siguientes [CITATION Mon10 \l 12298]:

- Falta de fósforo: La coloración cambia a color café-rojizo, las raíces se tornan frágiles y se alargan.
- Falta de calcio: Se vuelven rojizos sus lóbulos dorsales.
- Falta de potasio: La coloración se torna amarillenta y después de color pardo.
- Falta de hierro: Disminuye la cantidad de clorofila hasta que su coloración se tornarse amarillenta.

2.1.8. Producción y ventajas

Para la propagación se utiliza 10g de *Azolla* sembrados en una piscina con un nivel de 10cm de profundidad, donde el cultivo se multiplica durante 12 días. Esta cantidad alcanza un rendimiento promedio de 0,14 t/día/ha. Adicionalmente se conoce que este helecho duplica su peso cada 17 días en promedio y durante 3 meses que es su ciclo de vida siempre que las condiciones del medio ambiente se presenten favorables (Cabezas R., 2011, pág. 55).

2.1.9. Uso

El simbiote principalmente es considerado como (UNAD, 2010):

- Bio-abono en cultivos donde genera simbiosis como en el cultivo de arroz.
- Es utilizado como alternativa de alimentación en forma de forraje verde para alimentación de pequeñas especies como cuyes, conejos y gallinas; ya que contiene valores significativos de proteína, entre otros nutrientes.
- Contribuye a la disminución del calentamiento global, capta pequeñas cantidades de CO₂ desde el medioambiente.
- En reservorios de agua ayuda en el control de plagas acuáticas puesto que puede llegar a revestir toda la superficie con un espesor de 5cm impidiendo el paso de luz y con ello el desarrollo de otros cultivos acuáticos.

2.1.10. Plagas y enfermedades

Azolla es susceptible al ataque de plagas y enfermedades. Algunos pueden llegar a infestar las raíces y se pegan a las hojas, incluyendo los siguientes [CITATION Mon10 \l 12298]:

- Hongos: La rymnacea produce manchas grises en la superficie de las hojas.
- Insectos: Los lepidópteros como el barrenador (*Elasmopalpus angustellus*), barrenillo pardo (*Anthores leuconotus*), barrenillo gris (*Anthonomus eugenii Cano*), gusano hilandero (*Lobesia botrana*) y ácaros (*Arachnida*), estos se alimentan de las hojas de las plantas.

- Moluscos: Los caracoles de tierra (*Helix aspersa*) y de agua (*Pomacea Bridgesii*), cangrejos (*Ucides occidentalis*) y pulgas de agua (*Daphnia*) que se comen las raíces y las hojas de las planta.

2.1.11. Respuestas biológicas y mecanismos bioquímicos

Las respuestas biológicas y los mecanismos de tolerancia que poseen algunas plantas a la exposición de metales pesados sin generación alteraciones fisiológicas se puede utilizar para crear sistemas estratégicos de depuración de suelos contaminados mediante la utilización y manejo de sus componentes botánicos en la obtención de mejores rendimientos en cuanto a la absorción de metales pesados y hacer de ésta una tecnología que sea factible y ventajosa de aplicar [CITATION Asc00 \l 12298].

La contaminación generada en los suelos con metales pesados o micronutrientes en concentraciones fitotóxicas produce efectos adversos, no solo a las plantas que allí habitan sino a toda la ecología del lugar, además pueden llegar a generar riesgos de salud en los humanos. Algunas poblaciones vegetales son capaces de asentarse en ambientes con niveles altos en contenido de metales pesados y acumularlos en sus tejidos considerablemente. La hiperacumulación de metales pesados es una adaptación ecofisiológica de plantas que han evolucionado en suelos metaliníferos [CITATION Sha00 \l 12298].

Las estrategias presentes en las plantas superiores para tolerar exposición a elevadas concentraciones de metales pesados se agrupan en dos categorías:

2.1.11.1. Exclusión

Producción de complejos bioquímicos en el medio externo o en las paredes y membranas celulares externas de la planta. Mediante la secreción de mucílagos influye la precipitación del metal en el exterior. Alteración de los sistemas membranosos de transporte para reducir la entrada del metal. Incremento en la actividad de ciertas bombas de iones[CITATION Fer98 \l 12298].

2.1.11.2. Inclusión y acumulación

Secuestro en el interior en lugares como en la vacuola y paredes celulares donde no haya efecto tóxico. Destoxificación interna del metal por incorporación de proteínas y péptidos ricos en grupos tiólicos (—SH). Reacciones de óxido-reducción que altera el estado reactivo del metal a formas menos tóxicas (Fernández et al. 1998).

Los mecanismos de tolerancia a la acumulación de metales pesados en eucariontes son pobremente entendidos. Estos involucran el secuestro extracelular e intracelular de los metales por agentes bioquímicos, su precipitación, compartimentalización y translocación al sistema [CITATION Asc00 \l 12298].

La célula tiene estrategias específicas para reducir los efectos tóxicos que se puedan generar, dentro de estos mecanismos se puede contar la liberación de mezclas complejas de compuestos orgánicos por parte de células de la raíz, que modifican el estado químico del metal, por ejemplo el ion hierro de la forma férrica a ion ferroso. Los exudados de la raíz tienen un rol importante en los fenómenos radiculares relacionados con la nutrición mineral y en la defensa contra microorganismos patógenos (Fernández et al. 1998).

Los exudados que se enlazan a metales se llaman en conjunto fitometalóforos, siendo los sideróforos que se enlazan con el hierro, los más ampliamente conocidos. Sin embargo, su probable papel en la toma de otros metales pesados no es ampliamente conocido. Es posible que los fitometalóforos alteren las condiciones de biodisponibilidad del metal por parte de la planta haciendo más o menos soluble las membranas radiculares [CITATION Asc00 \l 12298].

Las metalotioneínas, metaloenzimas y fitoquelatinas son proteínas capaces de enlazarse con los metales y formar complejos bioquímicos, que intervienen en las respuestas fisiológicas de las plantas a la exposición a metales pesados [CITATION Cun97 \l 12298].

2.1.12. Importancia del pH

El pH se refiere a la concentración de iones de hidrogeno (H+) los cuales determinan el grado de acidez y basicidad de una solución [CITATION RCa10 \l 12298].

La función del pH en cultivo hidropónico está relacionada con la solución nutritiva, es decir tener disponibles los elementos facilitando su absorción para evitar el estrés o desgaste al cultivo, las plantas se alimentan a través de la raíz en donde toma los elementos necesarios y/o disponibles para llevarlos hasta las hojas en donde son digeridos y asimilados por la planta, este proceso se afecta cuando, el pH no es el adecuado con esto nos referimos si es alto (básico) o bajo (acido) lo que resulta en un desgaste para la planta tratando de tomar los nutrientes bajando su calidad y rendimiento [CITATION Hyd14 \l 12298].

Niveles de asimilación de elementos esenciales según la escala de pH

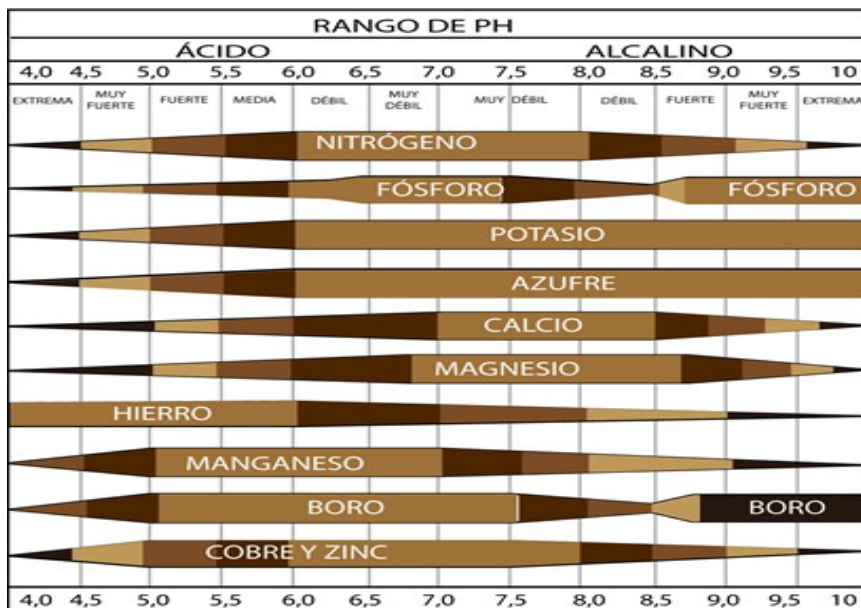


Figura 2.

Fuente: Hydroenv, 2014

En la figura 2 se muestra a que niveles se encuentran disponibles los elementos esenciales para la planta en su desarrollo, entre más gruesa la barra mayor asimilación y caso contrario cuando es angosta.

Un pH adecuado determina si una planta o cultivo es de buena o mala calidad, esto se debe al medio que se forma dentro solución el que puede ser ácido o básico, esto ocurre por la falta o exceso de algún elemento, también se conoce que tanto pH altos como bajos pasa un efecto antagónico, con esto se hace referencia que los elementos entran en competencia uno con otro evitando su absorción por las raíces produciendo un estrés que inhabilita el desarrollo de la planta por lo cual se recomienda trabajar en pH de 5.5-6.5 ya que en este rango la planta asimila fácilmente y los elementos se encuentran solubles [CITATION FAO02 \l 12298].

2.1.13. Importancia de electroconductividad

La conductividad eléctrica (CE) es un estimador de la concentración de sales disueltas en el agua, con lo cual se calcula la capacidad del agua para conducir la corriente eléctrica. Se conoce que las raíces utilizan estas cargas para tomar los elementos, cuyo valor se expresa en mS/cm (milisiemens sobre centímetro) conociendo de forma aproximada la cantidad de sales disueltas en g/l (gramo por litro) (fundamentalmente cloruro, nitrato, sulfato, fosfato, sodio, magnesio y calcio elementos esenciales en solución nutritiva) lo cual es importante en la hidroponía para el diseño de la solución nutritiva que sea soluble para facilitar la asimilación de los fertilizantes. Tener altas lecturas produce un efecto fitotóxico (que presenta toxicidad la planta), pero en el caso de ser bajos se tiene deficiencia de nutrientes, la electroconductividad tiene su importancia en la asimilación de los nutrientes para plantas, así que para mantener la disponibilidad de nutrientes se recomienda los rangos de entre 1.5 a 3 mS/cm o 750 a 1500 ppm [CITATION Guz04 \l 12298].

La conductividad eléctrica tiene una escala de salinidad que se detalla en la tabla 4 con sus respectivos efectos.

Tabla 4. Escala de salinidad

CE en dS/m a 25 °C	Efectos
0–2 No salino	Despreciable en su mayoría

2–4 Ligeramente salino	Se restringen los rendimientos de cultivos muy sensibles
4–8 Moderadamente salinos	Disminuyen los rendimientos de la mayoría de los cultivos. Entre los que toleran están: alfalfa, remolacha, cereales y los sorgos para grano.
8–16 Fuertemente salinos	Sólo dan rendimientos satisfactorios los cultivos tolerantes.
>16 Muy fuertemente salinos	Sólo dan rendimientos satisfactorios algunos cultivos muy tolerantes.

Fuente: Hydroenv, 2014

Antes de la aplicación formulación nutritiva se debe tomar la CE del agua de riego, ya que a partir de este se modifica la solución, aprovechando los nutrientes que posee el agua determinando a su vez la concentración de los elementos que se requiere, puesto que generar niveles altos son fitotóxico y los bajos producen deficiencias nutrimentales.

Antagonismo y sinergismo de ciertos elementos

ANTAGONISMO		SINERGISMO	
Potasio →	Boro	Nitrógeno →	Manganeso
Magnesio →	Potasio	Magnesio →	Fósforo
Molibdeno →	Cobre	Molibdeno →	Nitrógeno
Cobre →	Manganeso Hierro	Potasio →	Manganeso Hierro
Fósforo →	Zinc, Potasio Cobre, Calcio Hierro	Azufre →	Nitrógeno Manganeso Magnesio
Zinc →	Hierro		
Boro →	Potasio		
Hierro →	Fósforo		
Azufre →	Potasio Cobre y Boro		
Calcio →	Potasio Magnesio Amonio		
Calcio →	Manganeso Zinc Boro		

Figura 3.

Fuente: Hydroenv, 2014

El agua de riego es de buena calidad cuando su valor de CE (electroconductividad) es 0,75 a 2 mS/cm o 375 a 1000 ppm. Los iones disueltos de una solución están conformados por: aniones que son iones de carga negativa y los cationes que son de carga positiva. La figura 3 muestra como ciertos elementos son

eficientes (sinergismo) o ineficientes (antagonismo) cuando la concentración de esto sube o baja a partir de la electroconductividad [CITATION Hyd14 \l 12298].

2.1.14. Importancia del oxígeno

La falta o insuficiencia de oxígeno en la zona radicular de la planta se manifiesta de muchas formas, dependiendo de la especie. Por lo general, debajo de los 3-4 mg / l, de oxígeno disuelto en la solución, provoca una disminución en el crecimiento radical, manifestando un color pardo, tal vez sea el síntoma más precoz y fácilmente detectable de las primeras dificultades al respecto. Otro de los síntomas más frecuentes de una mala oxigenación es el marchitamiento de la planta al mediodía, cuando los niveles de temperatura y luminosidad son los más elevados [CITATION Fer13 \l 12298].

2.2. Lechuga

2.2.1. Introducción

El cultivo de la lechuga (*Lactuca sativa* L.), es considerado uno de los más importantes del grupo de las hortalizas de hoja; se consume por la gran mayoría de ecuatorianos, principalmente como ensalada, es ampliamente conocida y se cultiva en la gran parte de países del mundo. La lechuga tiene gran diversidad de variedades, debido principalmente a los diferentes tipos de hojas y hábitos de crecimiento de las plantas [CITATION Gal05 \l 12298].

En el Ecuador, la producción de hortalizas orgánicas está proyectándose con éxito tanto a los mercados locales como a gran parte de mercados extranjeros, debido a su conocida calidad, lo que está motivando que, cada vez más agricultores incursionen en este importante sector productivo. Entre las hortalizas con mayor demanda en los últimos tiempos, aparece la lechuga de hoja, que tiene una gran acogida entre los consumidores locales. La provincia de Tungurahua tiene la mayor producción, con 3.256tm de lechugas cultivadas en un área de 640 hectáreas, seguida de Chimborazo con 2.560tm en una extensión de 366 hectáreas [CITATION Sig05 \l 12298].

Lactuca sativa var. *Inybacea*.



Figura 4.

Fuente: Sigragro, 2005

2.2.2. Origen

El origen de la lechuga no está muy claro, aunque unos autores afirman que procede de la India, actualmente los botánicos no se ponen de acuerdo, por existir un seguro antecesor de la lechuga, *Lactuca scariola* L., que se encuentra en estado silvestre en la mayor parte de las zonas templadas, las variedades cultivadas actualmente son una hibridación entre especies distintas. El cultivo de la lechuga se remonta a una antigüedad de 2.500 años, siendo conocida por griegos y romanos. La lechuga de hoja suelta es de las primeras que se tiene referencia, no obstante las acogolladas eran conocidas en Europa en el siglo XVI [CITATION Int11 \l 12298].

2.2.3. Taxonomía

La lechuga es una planta anual y autógama, su clasificación se detalla a continuación:

Tabla 5. Clasificación taxonómica de Lechuga (*Lactuca sativa* L.)

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Asterales

Familia:	Asteraceae
Subfamilia:	Cichorioideae
Tribu:	Lactuceae
Género:	<i>Lactuca</i>
Especie:	<i>L. sativa</i>
Nombre científico:	<i>Lactuca sativa</i> L.

Fuente: Valdez, 1994

2.2.4. Morfología

Presenta la siguiente información morfológica:

- Raíz: Tiene una raíz pivotante, pequeña, con ramificaciones y no llega a sobrepasar los 25cm de profundidad [CITATION Bar00 \l 12298].
- Hojas: Las hojas están dispuestas en roseta, desplegadas al principio; en unos casos continua durante todo su desarrollo (*Lactuca sativa* L. var. *longifolia*), y en otros se acogollan posteriormente. El borde de los limbos puede ser liso, ondulado o aserrado[CITATION Int11 \l 12298].
- Tallo: Cilíndrico y ramificado[CITATION Tis98 \l 12298].
- Inflorescencia: Tiene capítulos florales de color amarillo dispuestos en racimos o corimbos[CITATION Bar00 \l 12298].
- Semillas: Las semillas tienen un vilano plumoso[CITATION Int11 \l 12298].

2.2.5. Tipos de variedades botánicas de *Lactuca sativa*

Existen dentro de la especie cuatro variedades botánicas [CITATION Mar10 \l 12298]:

- *Lactuca sativa* var. *Longifolia* Lam., que engloba cultivares que por sus hojas no forman un verdadero cogollo (lechugas romanas), siendo sus hojas de forma generalmente aovada u oblonga.
- *Lactuca sativa* var. *Capitata* L., incluye los cultivares que forman un verdadero cogollo apretado de hojas. La forma de sus hojas es ancha, orbicular, etc. (lechugas acogolladas).
- *Lactuca sativa* var. *Inybacea* Hort., conocida como lechuga de hojas sueltas, poseen las hojas sueltas y dispersas.

- *Lactuca sativa* var. *Augustana* Irish., estas lechugas son consumidas por sus tallos (lechuga espárrago), sus hojas son puntiagudas y lanceoladas. Su cultivo es frecuente en China.

2.2.6. Condiciones Agroecológicas del Cultivo

Las condiciones recomendables para el cultivo de lechuga son:

2.2.6.1. Suelos y Altitud

Esta variedad se cultiva entre 1800 a 2800 msnm. Los suelos ricos en materia orgánica retienen el agua favoreciendo al sistema radicular reducido de la lechuga y suple la demanda de agua por parte del cultivo. Los suelos de textura franco arenosos y francos arcillosos son los ideales, el pH adecuado para que se desarrolle este tipo de cultivo está entre 5.2 y 5.8 en suelos orgánicos[CITATION Per94 \l 12298].

2.2.6.2. Temperatura

La temperatura adecuada de germinación oscila entre 18-20°C. En la fase de crecimiento del cultivo se requieren temperaturas entre 14-18°C en el día y 5-8°C por la noche, pues la lechuga requiere diferencia de temperaturas entre el día y la noche. Durante el acogollado prefiere temperaturas en torno a los 12°C el día y 3-5°C por la noche. Este cultivo es más susceptible a las temperaturas elevadas que las bajas, ya que como temperatura máxima puede soportar hasta los 30°C y como mínima temperaturas de hasta -6°C. La exposición prolongada a temperaturas bajas de sus hojas produce una coloración rojiza, que se puede confundir con alguna carencia (Pérez et al. 1994).

2.2.6.3. Humedad relativa

Presenta un sistema muy reducido en comparación con la parte aérea, por lo que es muy sensible a la falta de humedad y no resiste bien un periodo de sequía, aunque sea muy corto. La humedad relativa adecuada para la lechuga es entre el 60-80%, aunque en determinados momentos prefiere menos del 60%. Este cultivo en condiciones de invernadero incrementa la humedad ambiental, por lo que se

recomienda su cultivo al aire libre, cuando las condiciones climatológicas lo permitan (Pérez et al. 1994).

2.2.7. Requerimientos nutricionales

El cultivo de lechuga no requiere de cantidades altas de nutrientes; sin embargo se debe realizar una comparación con los análisis de suelo y discutir la fertilización para obtener una buena producción. En el tabla 6, se encuentran las recomendaciones de fertilización de acuerdo al contenido de nutrientes, expresadas en términos de elementos minerales puros. Recomendaciones de fertilización en hortalizas de hoja (lechuga) por hectárea (Suquilanda, 1996).

Tabla 6. Valores nutricionales requeridos para lechuga

Nivel de nutrientes en el suelo	M.O. % (SUELO)	N Kg/ha	P (ppm)	P ₂ O ₅ (Kg/ha)	K (meq/100/1)	K ₂ O (Kg/ha)
BAJO	5	40 - 60	< 20	80 -120	< 0,20	40 -60
MEDIO	5-10	20 - 40	20 -40	40-80	0,20 -0,40	20 -40
ALTO	10-20	40	> 40	10-40	> 40	10-20

Fuente: Suquilanda, 1996

En función de microelementos en los cultivos en suelo, si están fertilizados con estiércol, las necesidades de la lechuga en estos elementos normalmente quedan garantizadas, pues el que más necesitan de todos ellos es el hierro y con 2 ppm es suficiente. No obstante conviene examinar el suelo y, en caso necesario, aportarlos en forma de quelatos. Las concentraciones de referencia (ppm) en las soluciones nutritivas serían: hierro 2; manganeso 1; cobre 0,3; zinc 0,25; boro 0,22; molibdeno 0,20 [CITATION Jar95 \l 12298].

2.2.8. Tecnología del Cultivo

Suquilanda (1996) plantea la siguiente tecnología del cultivo para la variedad Green salad bowl:

Arada: Esto se realiza un mes antes del trasplante, debe ser a una profundidad de 30 centímetros, para airearlo y exponerlo a la acción de los agentes meteorológicos y controladores naturales, con el fin de eliminar plagas que se encuentran en el campo.

Nivelada: Se debe realizar de manera que cuando se requiera dar riego, el agua se distribuya de forma equivalente.

Elaboración de surcos: Estos surcos se los debe realizar tomando en cuenta las curvas de nivel con el fin de evitar que el agua erosione el suelo por arrastre de materiales.

Desinfección del suelo: Se utiliza agentes microbiológicos antagónicos, como también se debe espolvorear ceniza si se trata de áreas pequeñas, con esto se pretende evitar enfermedades a la zona radicular y al follaje.

Siembra: Se debe intercalar la lechuga con otras hortalizas como leguminosas, hierbas medicinales, empleando un sistema de rotación de cultivos con la finalidad de controlar plagas y lograr un manejo ecológico del suelo.

Siembra indirecta: Se realiza almácigos para luego de 4 a 5 semanas llevar al campo donde serán trasplantadas.

Es aconsejable realizar esta labor cuando la plántula tiene de 3 a 5 hojas, y aproximadamente de 10 a 12 centímetros de altura. Se debe realizar una selección de plántulas para garantizar la homogeneidad del cultivo.

Distancias de siembra: Cuando el riego se lo va hacer por gravedad se debe realizar surcos de 0,30 m y se deja una distancia de 0,25 entre plantas.

Riego: El agua que se utiliza para esta actividad debe ser lo más limpia ya que la lechuga es una hortaliza que se consume cruda. La frecuencia del riego se lo hace dependiendo de la época.

Deshierbas: Esta labor se la realiza con la finalidad de retirar las malezas, empleando herramientas de labranza (azadón).

Cosecha: El tiempo de cosecha debe estar entre 6 a 8 semanas dependiendo de la variedad que se esté cultivando, esta labor se la debe realizar durante las primeras horas de la mañana para lograr tener una planta fresca y cumplir con parámetros de calidad que exige el mercado (pág. 105).

2.2.9. Plagas y enfermedades de la lechuga

Durante el cultivo de lechuga se pueden presentar las siguientes plagas y enfermedades:

Tabla 7. Plagas y enfermedades en Lechuga

Plagas	Enfermedades
Pulgones (<i>Macrosiphum solani</i>)	Antracnosis (<i>Marssonina panattoniana</i>)
Orugas verdes (<i>Heliothis armigera</i>)	Mildiu (<i>Bremia lactucae</i>)
Rosquilla negra (<i>Spodoptera littoralis</i>)	Podredumbre gris (<i>Botrytis cinerea</i>)
Minadores (Lyriomiza)	Sclerotinia (<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>)
Mosca blanca (<i>Trialeurodes vaporariorum</i>)	Mosaico de la lechuga (virosis)

Trips (<i>Frankliniella occidentalis</i>)	Clorosis férrica
---	------------------

Fuente: Suquilanda, 1996

2.2.10. Contenido nutricional de la lechuga

Según Jaramillo (1995) la lechuga es considerada una fuente importante de vitaminas y minerales, acompañado de un alto contenido de celulosa y proteínas.

Tabla 8. Composición de la lechuga por cada 100g de parte comestible cruda

Valor nutricional de la lechuga en 100g de sustancia			
Carbohidratos (g)	20.1	Hierro (mg)	7.5
Proteínas (g)	8.4	Niacina (mg)	1.3
Grasas (g)	1.3	Riboflavina (mg)	0.6
Calcio (g)	0.4	Tiamina (mg)	0.3
Fósforo (mg)	138.9	Vitamina A (U.I.)	1155
Vitamina C (mg)	125.7	Calorías (cal)	18

Fuente. Jaramillo, 1995

2.3. Nutrición vegetal

Según Piaggese (2004), los elementos químicos que se encuentran formando parte de la composición del nuestro planeta son poco más de cien, pero sólo algunos, en virtud de sus características químicas, constituyen la materia viva participando a la formación de las complejas moléculas biológicas y en su funcionamiento. Los nutrientes minerales poseen funciones específicas y esenciales en el metabolismo de la planta. Los elementos nutritivos son absorbidos por la planta bajo forma de iones. A excepción del hidrógeno, el oxígeno y el carbono que son aportados a la planta por el agua y el dióxido de carbono, los elementos nutritivos se clasifican de acuerdo a que tan grande sea la cantidad requerida para el crecimiento en tres grupos:

- Elementos principales: nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K).
- Elementos secundarios: azufre (S), calcio (Ca) y magnesio (Mg).
- Microelementos: hierro (Fe), manganeso (Mn), zinc (Zn), boro (B), molibdeno (Mo) y cobalto (Co).

2.3.1. El hierro en las plantas

Lara, Vásquez & Olivares (2004) señalan que aunque el hierro es el microelemento que se encuentra en mayor cantidad en los suelos y proporcionalmente es considerado el cuarto elemento en peso de la corteza terrestre (alrededor del 5%), no todas las formas son asimilables, en suelos de pH alto (cerca de 8.0) las deficiencias de fósforo y hierro son comunes.

La clorosis férrica es una alteración fisiológica de las plantas que se produce por insuficiente absorción de hierro aunque a veces puede ser debido a la inactivación del hierro dentro de la planta. El hierro actúa como catalizador que ayuda a la formación de clorofila y funciona como portador de oxígeno. También colabora en la formación de ciertos sistemas enzimáticos respiratorios. Debido al papel que tiene este metal para la formación de la molécula de clorofila, el hierro es un elemento esencial para la producción de energía en las plantas [CITATION Pia \l 12298].

La carencia de hierro es un factor limitante en el desarrollo de las plantas. El hierro está presente en gran cantidad en los suelos, pero su disponibilidad para las plantas es generalmente muy baja, y por lo tanto, la falta de hierro es un problema común. Las plantas pueden absorber el hierro en sus estados de oxidación Fe^{2+} (hierro ferroso) y Fe^{3+} (hierro férrico), pero la mayoría del Fe en la corteza terrestre está en forma férrica, la forma ferrosa es fisiológicamente más indispensable para las plantas. Esta forma es relativamente soluble, pero tiende a oxidarse fácilmente al Fe^{3+} , que tiende a precipitarse. El Fe^{3+} es insoluble en un pH neutral y en un pH alto, y por lo tanto no es aprovechable para las plantas en los suelos alcalinos y en los suelos calcáreos. Además, en estos tipos de suelo, el Fe se combina fácilmente con los fosfatos, los carbonatos, el calcio, el magnesio y con los iones de hidróxido [CITATION Nav03 \l 12298].

2.3.1.1. El Manejo de la deficiencia de hierro

Cuando se identifica la falta de hierro, se puede corregirla en el corto plazo, mediante la aplicación de una pulverización foliar de fertilizantes de hierro, pero la acción recomendada siempre es la prevención. Por lo tanto, el agricultor primeramente debe

identificar la causa verdadera de la falta de hierro y tratarla, para prevenir el problema en un futuro. Por lo general, la deficiencia de hierro no se da por la falta de aplicación de hierro, sino que también puede ser relacionada a varias condiciones que podrían afectar la disponibilidad del hierro. Antes de realizar aplicaciones ineficaces e innecesarias del hierro se debe evaluar y corregir estos factores, pues ahorran al agricultor una gran cantidad de dinero [CITATION Sma12 \l 12298].

2.3.1.2. La absorción del hierro por las plantas

Las plantas utilizan varios mecanismos para absorber el hierro. Uno de ellos es el mecanismo de quelación por el cual la planta excreta compuestos llamados sideróforos, estos forman un complejo con el hierro aumentando su solubilidad. Este mecanismo también implica bacterias. Otro mecanismo que utilizan implica la extrusión de protones (H^+) y de compuestos reductores a través de las raíces de la planta, para reducir el pH en la zona de raíces, el resultado es un aumento en la solubilidad del hierro [CITATION Nav03 \l 12298].

En este sentido, la elección de la forma de los fertilizantes nitrogenados es muy importante. El nitrógeno amoniacal (NH_4^+) incrementa la extrusión de los protones por las raíces, el pH baja, y el hierro es mejor asimilado por la planta. El nitrógeno nítrico (NO_3^-) aumenta la extrusión de iones de hidróxido, que aumentan el pH en la zona de raíces y contrarrestan la asimilación eficiente de hierro. Las raíces laterales jóvenes absorben mejor el hierro y, por lo tanto, es imperativo mantener un sistema de raíces saludable y activo. Cualquier factor que interfiera con el desarrollo de las raíces, interfiere con la absorción del hierro [CITATION Sán02 \l 12298].

2.3.1.3. Los fertilizantes como fuentes de hierro

El hierro puede ser aplicado como sulfato ferroso o en una forma quelatada. El Sulfato ferroso ($FeSO_4$) tiene en su composición un 20% de hierro. Este fertilizante es barato y utilizado principalmente para pulverización foliar. Una aplicación radicular a menudo no es efectiva, especialmente en suelos con pH encima de 7.0, porque el hierro se oxida rápidamente a Fe^{3+} y se precipita como uno de los óxidos de hierro. Los quelatos de Fe sirven para estabilizar los iones metálicos (en este caso

- de hierro) y los protegen de la oxidación y de precipitación. Los quelatos de Fe consisten en tres componentes:

- Iones de Fe^{3+}
- Un complejo, como el EDTA, DTPA, EDDHA, aminoácidos, ácidos húmicos-fluivicos, citrato.
- Iones de sodio (Na^+) o de amonio (NH_4^+) [CITATION Asc00 \l 12298].

Distintos quelatos varían en su fortaleza y estabilidad en los diferentes niveles de pH. También intervienen en su susceptibilidad al cambio del hierro por iones competitivos. Por ejemplo, en una alta concentración, los iones de calcio o magnesio podrían mover el Fe en el quelato [CITATION Sma12 \l 12298].

Fe-EDTA: Este quelato de hierro es estable en un pH inferior a 6.0. Por encima de un pH de 6.5, casi el 50% del hierro no está disponible. Por lo tanto, este quelato no resulta eficiente en suelos alcalinos. Este quelato posee alta afinidad al calcio, así que se recomienda no utilizarlo en suelos o aguas ricos en calcio. Se debe tomar en consideración que con otros microelementos, el EDTA forma quelatos muy estables, incluso en altos niveles de pH [CITATION Cor10 \l 12298].

“Fe-DTPA: Este quelato de hierro es estable en los niveles de pH de hasta 7.0, pero no es tan susceptible a desplazamiento del hierro por calcio” (FAO, 2002, pág. 102).

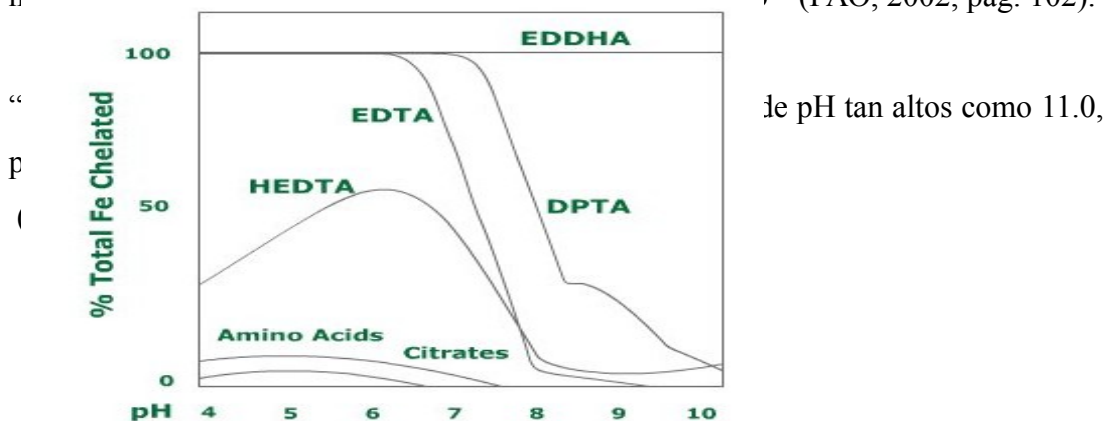


Figura 4.

Fuente: Smart, 2014

En las plantas de contenedor y en cultivos hidropónicos, el monitoreo del pH del agua y del sustrato de cultivo es relativamente más fácil que en los suelos. Cuando se realiza pruebas regulares, y el control del pH es el recomendado, es posible preferir utilizar quelato de hierro más barato y menos estable. En cambio, en suelos alcalinos, donde es difícil reducir el pH efectivamente es necesario utilizar los quelatos más estables de hierro, tales como EDDHA [CITATION Sma12 \l 12298].

2.3.1.4. La clorosis férrica

Clorosis significa deficiencia de clorofila en un órgano vegetal, que produce pérdida del color verde. La clorosis puede ser producida por el suministro deficitario de elementos esenciales para el desarrollo de la planta como (Fe, Mn, Mg, Zn, N, etc.), por la existencia de un estrés hídrico, el ataque de insectos, hongos, bacterias y virus. La clorosis, o amarillamiento de las hojas debido a una deficiencia de hierro, está generalmente relacionada a los suelos calizos, que ocupan un aproximado del 30% de la superficie terrestre [CITATION Che90 \l 12298].

La clorosis férrica se manifiesta como un amarillamiento entre las nervaduras de las hojas jóvenes que se combate con la utilización de tratamientos de hierro como sulfato ferroso y/o Fe-EDDHA, no siendo eficaces las aplicaciones de N, S, Zn, Mn, Cu o Co. Los agricultores que no usan ningún tipo de aplicación de fertilizantes férricos en zonas donde existe un riesgo de que los cultivos contraigan clorosis, obtienen grandes pérdidas en la producción y calidad de las cosechas, y a largo plazo,

a una muerte temprana de la planta o el árbol afectados por la deficiencia de Fe [CITATION San92 \l 12298].

2.3.1.4.1. Causas de la clorosis férrica

Las causas más influyentes en esta alteración fisiológica ampliamente extendida entre las plantas, es el bajo nivel de hierro en la disolución, presencia del ion bicarbonato, clorosis inducida por carbonatos, interacciones del hierro con otros elementos, adición de materia orgánica a suelos inundados, factores ambientales, contenido en agua, fase gaseosa y temperatura, salinidad [CITATION Mar95 \l 12298].

2.4. Técnicas metodológicas

2.4.1. Espectrofotometría de absorción atómica

La absorción atómica es una técnica que permite identificar y determinar cuantitativamente la mayoría de los elementos del sistema periódico, sus campos de aplicación tienen un alcance muy amplio. Este método se puede utilizar para la identificación de ciertos metales tales como: antimonio, cadmio, calcio, cesio, cromo, cobalto, oro, plomo, níquel, entre otros. Se emplea en el análisis de aguas, análisis de suelos, bioquímica, toxicología, medicina, industria farmacéutica, industria alimenticia, industria petroquímica, etc [CITATION Han10 \l 12298].

2.4.1.1. Fundamento

Este método radica en la medición de las especies atómicas por su absorción a una longitud de onda particular. La especie atómica se logra por atomización de la muestra, siendo los distintos procedimientos utilizados para llegar al estado fundamental del átomo lo que diferencia las técnicas y accesorios utilizados. La técnica de atomización con flama o llama es la más utilizada, que nebuliza la muestra y luego la disemina en forma de aerosol dentro de una llama de aire acetileno u óxido nitroso-acetileno. En metalurgia, es una técnica muy aprovechada porque permite identificar diversos elementos en un amplio rango de concentraciones. Entre las mayores dificultades que presenta es la puesta en solución de aleaciones, la que se genera por ataque con ácidos fuertes, por ejemplo nítrico, clorhídrico y perclórico. Se

determinan normalmente Fe, Pb, Ni, Cr, Mn, Co, Sb, etc. en rangos que van desde entre 0.003 % y 30 %, en aleaciones con base Cu, Zn, Al, Pb, Fe y Sn entre otras [CITATION McC12 \l 12298].

2.4.2. Espectrofotometría de absorción ultravioleta visible

La espectroscopia ultravioleta-visible o espectrofotometría ultravioleta-visible (UV/VIS) es una espectroscopia de emisión de fotones y una espectrofotometría. Maneja radiación electromagnética (luz) de las regiones visible, ultravioleta cercana (UV) e infrarroja cercana (NIR) del espectro electromagnético, es decir, una longitud de onda entre 380nm y 780nm. La radiación absorbida por las moléculas desde esta región del espectro provoca transiciones electrónicas que pueden ser cuantificadas (McCarthy, 2012, pág. 133).

La espectroscopia UV-visible se usa en la identificación de grupos funcionales de moléculas, y además, para determinar el contenido y fuerza de una sustancia. Se usa para determinar cuantitativamente los componentes de soluciones de iones de metales de transición y compuestos orgánicos altamente conjugados. Es ampliamente utilizado en laboratorios de química, bioquímica, biotecnología y farmacéuticos para determinar pequeñas concentraciones de cierta sustancia, como las trazas de metales en aleaciones o la concentración de cierto medicamento que puede llegar a ciertas partes del cuerpo [CITATION Bár14 \l 12298].

2.4.3. Análisis de suelos y su interpretación

El análisis de suelos es una herramienta esencial para el agricultor que usado de manera adecuada obtiene rendimientos altos, sostenidos y rentables. El análisis de suelo usado de manera conjunta con otra información de soporte, es una guía indispensable para llegar a diseñar recomendaciones que permitan el uso eficiente de fertilizantes y enmiendas. El análisis de suelo cumple con dos funciones básicas [CITATION Inp97 \l 12298]:

- Muestra los niveles nutricionales en el suelo y, por lo tanto, es el punto de inicio para desarrollar un programa de fertilización. Se diseña un programa

exitoso combinando la información obtenida del análisis de suelo con la proporcionada por el historial del campo o del sistema de cultivo, el potencial global de productividad del suelo y la capacidad de manejo del agricultor.

- Es una herramienta que puede utilizarse en forma regular para monitorear el cambio nutricional del suelo, procurando mantener la fertilidad global del sistema, en la busca de rendimientos altos duraderos, con un alto potencial de rentabilidad.

2.4.3.1. Muestreo

Es necesario recordar, que la práctica de la fertilización de cultivos se inicia con el análisis de suelo, continúa, si es necesario, con la corrección de la acidez y termina cuando se pone el fertilizante en el suelo. El uso e interpretación de todas estas herramientas requiere de habilidad y sentido común [CITATION Ram98 \l 12298]. Dos factores son esenciales en el análisis de suelo:

- Obtener muestras representativas. El análisis en el laboratorio no es mejor que la muestra obtenida en el campo. En el anexo 1 se establecen algunos criterios para la toma correcta de muestras de suelo.
- Estudios de correlación y calibración para interpretar los resultados de los análisis de suelo.

2.4.3.2. Interpretación

Según sean las características de detalle y especificidad de los estudios de calibración y correlación de los que surgen las tablas de niveles críticos, los niveles críticos varían según la solución extractora, según el tipo de suelo y según el cultivo, por lo tanto, antes de realizar una interpretación es necesario tomar en cuenta con qué soluciones se realizó el análisis, y con qué tabla de niveles críticos se cuenta [CITATION Ber95 \l 12298].

CAPÍTULO 3

MATERIALES, MÉTODOS Y EQUIPOS

3.1. Delimitación de lugares de estudio

La presente investigación se realizó en dos etapas, la primera para causar y evaluar la hiperacumulación de hierro en *Azolla filiculoides* se efectuó dentro de las instalaciones del Laboratorio de Investigación y Valoración de la Biodiversidad (CIVABI) ubicado en la Universidad Politécnica Salesiana (Quito) sede Girón y la segunda etapa para evaluar el efecto del abono a nivel de invernadero en un cultivo de lechuga Green salad bowl (*Lactuca sativa* var. *Inybacea*), que se realizó en

Cutuglahua, Cantón Quito, Provincia de Pichincha. El proyecto se inició en el mes de noviembre del 2013 y su parte experimental finalizó en noviembre del 2014.

3.2. Recolección e identificación botánica de *Azolla filiculoides*

Se eligió *Azolla* por su alta capacidad de hiperacumular metales descrito por Ballesteros (2011), y su tradicional uso en el cultivo de arroz. Se realizó la recolección del helecho en la provincia de Pichincha, cantón Quito, en la parroquia Itchimbía, barrio Guápulo; su cultivo realizó en estanques.

La biomasa de *Azolla filiculoides* que sirvió de inóculo para los experimentos fue cosechada 14 días después del cultivo, estuvo bajo sombra para mantener verde las frondas, se colocó el helecho en bolsas de plástico con agua y se trasladó al laboratorio del CIVABI, se tomó una muestra de 20g de helecho fresco y se llevó a una estufa a 50°C durante 2 días. Posteriormente se tomó una muestra seca y se llevó al Herbario de la Universidad Católica del Ecuador, ubicado en la Av. 12 de Octubre en la ciudad de Quito, donde se realizó la identificación botánica respectiva.

3.3. Acondicionamiento del medio de cultivo para *Azolla filiculoides*

Para el experimento en sistemas con hierro, las unidades experimentales utilizadas fueron recipientes cuadrados de vidrio (15 cm de diámetro x 7 cm de alto) que contenían 500 mL de medio de cultivo. Se instaló 24 recipientes para los diferentes tratamientos que fueron abastecidos continuamente de aire a través tres bombas de doble salida marca Oxyboost 200 interconectados con mangueras de plástico y luz fluorescente blanca controlada por temporizadores y un calefactor eléctrico en el ambiente[CITATION Bal11 \l 12298].

3.3.1. Diseño experimental

Para la evaluación se realizó 10 tratamientos con 8 repeticiones los cuales se detallan a continuación:

Tabla 9. Evaluación del cultivo de *Azolla filiculoides*

Cultivo de <i>Azolla filiculoides</i>		
N° Tratamiento	Descripción del tratamiento (todos son en matriz líquida: 0,5L de Agua)	N° de réplicas
Tr1	Testigo o control: Solo <i>Azolla filiculoides</i> (AF)	8
Tr2	AF + Solución nutritiva (SN).	8
Tr3	AF + SN + Sulfato ferroso (SF) a 0,35ppm.	8
Tr4	AF + SN + SF a 0,55ppm.	8
Tr5	AF + SN + SF a 0,75ppm.	8
Tr6	AF + SN + Quelato de hierro (QH) a 1,3ppm.	8
Tr7	AF + SN + QH a 2,6ppm.	8
Tr8	AF + SN + QH a 5,2ppm.	8
Tr9	AF + SN + QH a 7,8ppm.	8
T10	AF + SN + QH a 10,4ppm.	8

Elaborado por: Jorge Ruiz

A cada uno de los recipientes se adicionó 9g de *Azolla filiculoides* y posteriormente se dejó reposar por 15 días en condiciones monitoreadas.

3.3.2. Medio de cultivo

El medio de cultivo estuvo conformado por agua destilada tipo 1.

3.3.2.1. Solución nutritiva

Para el experimento se utilizó como solución nutritiva 3,75mL de nutriente mayor “Nutripón” de la casa AnnQuímica, diluido en 1 litro con agua destilada [CITATION Ann14 \l 12298].

Tabla 10. Composición química del nutriente mayor hidropónico Nutripón

Nutriente mayor	
Composición	g/L
Nitrógeno Total	107,4
Nitrógeno nítrico	95,6
Nitrógeno amoniacal	11,8
Fósforo asimilable (P2O5)	41,5
Potasio soluble (K2O)	98
Calcio (CaO)	102

Fuente: AnnQuímica, 2014

3.3.2.2. Fuentes de hierro a probar

3.3.2.2.1. Sulfato ferroso ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$)

Se utilizó sulfato ferroso en forma de sal heptahidratada, de color azul-verdoso al 100,6%, se pesa 496,23mg y se afora a 1 litro con agua destilada tipo 1 para preparar una solución de 100ppm de hierro [CITATION Ann14 \l 12298]. Para preparar las soluciones de 0,35; 0,55; 0,75ppm se utilizó la relación $C1.V1=C2.V2$ partiendo de la solución de 100ppm de hierro.

3.3.2.2.2. Quelato de hierro (E.D.T.A-Hierro)

Como quelato de hierro se utilizó E.D.T.A-Hierro (Acido Etileno Diamino Tetra Acético) un fertilizante líquido soluble de la marca Ecuaquímica tiene hierro al 5%. Se midió 5mL y se aforo a un litro.

De la solución se preparó los diferentes tratamientos para lo cual se midió 0,66mL; 1,32mL; 2,64mL; 5,29mL; 10,58mL y se aforo a un litro con agua destilada que fueron usadas para los tratamiento Tr6, Tr7, Tr8, Tr9, Tr10 respectivamente[CITATION Ann14 \l 12298].

3.4. Monitoreo del cultivo de *Azolla filiculoides*

Al inicio del experimento, es decir antes de adicionar la planta al medio con metales, se tomó las muestras correspondientes al tiempo cero (duplicados de 20 ml de medio).

Para el monitoreo de *Azolla filiculoides* se revisó diariamente el estado de los temporizadores para monitorear la cantidad de luz, el periodo establecido de luz fue 18 horas con 6 de oscuridad, temperatura ambiente promedio de 18°C, humedad relativa aproximada 60%.

Adicionalmente se midió cada día la temperatura, pH y conductividad, para mantener los parámetros dentro de los límites detallados en la tabla 11 y si los valores superan el límite se procede a cambiar el medio de cultivo.

Tabla 11. Límites de pH, conductividad y oxígeno disuelto en los diferentes tratamientos

Tratamiento	pH	Conductividad ($\mu\text{s}/\text{cm}$)	Oxígeno disuelto (mg/L)
	Min.-Max.	Min.-Max.	Min.-Max.
Tr1	6,0 – 5,6	12 - 26	5,8 – 6,1
Tr2	3,2 – 2,8	2239 - 2725	5,8 – 6,1
Tr3, Tr4, Tr5	3,2 – 2,5	2210 - 2714	5,8 – 6,3
Tr6, Tr7, Tr8, Tr9, Tr10	3,5 – 2,9	2050 - 2628	5,8 – 6,3

Elaborado por: Jorge Ruiz

Para el reconocimiento de daño de frondas en *Azolla filiculoides* se tomaron fotografías al final de los 15 días del experimento, las cuales con la ayuda de una guía para reconocimiento de frondas (ver anexo 3) se observaron los diferentes daños causados en las hojas del helecho [CITATION Bal11 \l 12298].

3.5. Cuantificación de hierro en las muestras de *Azolla filiculoides*

3.5.1. Tratamiento preliminar del material vegetal

Transcurrido 15 días de contacto entre *Azolla filiculoides* y el medio de cultivo las frondas fueron colectadas, lavadas con agua de chorro y luego con agua destilada, secadas al aire por media hora. Posteriormente se pesó el material vegetal para obtener el peso fresco total, y luego se colocó al helecho en cajas petri debidamente identificadas, fueron llevadas a una estufa a 60°C durante 3 días hasta su secado.

Finalmente se procedió a triturar el helecho con la ayuda de un mortero de cerámica, hasta lograr el mínimo tamaño de partícula, y se colocó el polvo de helecho en tubos de ensayo con tapa rosca correctamente etiquetados [CITATION Esp03 \l 12298].

3.5.2. Digestión ácida de biomasa

Se pesó 300mg de planta seca en un vaso de digestión dentro de una balanza analítica marca METTLER TOLEDO, luego dentro del flujo laminar del laboratorio, se añadió 5ml de ácido nítrico al 68 % y se dejó reposar por 15 minutos aproximadamente.

A continuación se introdujeron los vasos en un digestor microondas marca BERGHOF modelo MWS-2, y se procedió a realizar la digestión con un método modificado de BERGHOF (ver anexo 4) para planta seca indicado en la tabla 12.

Tabla 12. Método BERGHOF modificado de digestión ácida para plantas secas

	Temperatura (°C)	Rampa (min)	Tiempo (min)	Poder (%)
Paso 1	145	11	5	90
Paso 2	190	5	10	90
Paso 3	100	1	10	90

Elaborado por: Jorge Ruiz

Finalmente, una vez enfriados los vasos de digestión se filtró el contenido y se vertió en un balón aforado de 100mL con agua destilada tipo 1 [CITATION Bal11 \l 12298].

3.5.3. Método espectrofotométrico en muestras de *Azolla filiculoides*

El análisis y cuantificación de hierro se realizó por un método espectrofotométrico, utilizando un espectrofotómetro de absorción atómica (EAA) de aspiración directa marca VARIAN con flama de aire-acetileno y lámpara de Fe; A=248,3nm. Los requerimientos del equipo se detallan en el anexo 5.

A partir de la solución stock estandarizado se prepararon soluciones en un intervalo de concentraciones de 0,5 a 15 ppm. Se calibró el equipo con las soluciones

preparadas, para obtener una curva de calibración con un coeficiente de regresión lineal $r^2 = 0,9996$ o superior. Se procedió a realizar las lecturas de la biomasa. Asimismo, se leyeron regularmente (cada 15 muestras) los estándares, para confirmar la calibración y la estabilidad del equipo [CITATION Bal11 \l 12298].

3.6. Cultivo de *Azolla filiculoides* con hiperacumulación de hierro

Los resultados fueron analizados usando intervalos de confianza derivados de la distribución t de Student al 95% de confianza. Una vez establecido cuales fueron las mejores condiciones para el cultivo de *Azolla filiculoides* en las cuales existía una hiperacumulación de hierro se procedió a replicar el mejor tratamiento de hiperacumulación a las mismas condiciones en cantidades suficientes para su evaluación en el cultivo de lechuga.

3.7. Elaboración del abono orgánico sólido

Para la preparación del abono orgánico sólido se procedió a sacar la *Azolla filiculoides* de los recipientes, se unió, mezcló y enjuagó el material vegetal con agua destilada por 2 veces. Posteriormente, se depositó todo el material vegetal en papel absorbente seco, luego se dejó secar a la sombra por 21 días removiéndolo en un lugar con aireación constante, transcurrido el tiempo de secado se tomó toda la muestra y se molió utilizando un molino manual.

3.8. Cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* var. *Inybasea*)

Se eligió el cultivo de lechuga por su corto periodo de cultivo y por su alta capacidad de absorción de hierro, además porque es uno de los cultivos de mayor importancia en el país.

3.8.1. Establecimiento del sitio y sustrato de siembra

Para evaluación del abono se acondicionó un invernadero existente cuyas dimensiones son de 3m de ancho x 3m de largo x de 4m alto de plástico de invernadero verde. El sustrato utilizado un suelo calcáreo de la provincia de Cotopaxi fue tierra con baja concentración de hierro que se adquirió en la Estación

Experimental Salache de la Universidad Técnica de Cotopaxi ubicada en la ciudad de Latacunga cuya ubicación se detalla en el anexo 6.

Antes de utilizar el sustrato se tomó 15 muestras de 20cm de profundidad, se mezcló entre si y se tomó 0,5k se puso en funda plástica teniendo en cuenta los criterios para la toma correcta de muestras de suelo establecidas en el anexo 1 y se la envió a la entidad pública Santa Catalina del INIAP para que se realice el análisis químico del suelo.

Debido a que la tierra obtenida poseía muchas impurezas como piedras, ramas pequeñas y raíces, se procedió a tamizarla con un tamiz de tamaño de poro 1mm x 0,5mm, se secó con luz solar en el invernadero y se procedió a mezclarla, se introdujo el sustrato en fundas de tela para su esterilización con calor directo para lo cual se puso la tierra dentro de un horno a 80-82°C por 30min. Finalmente, se sacaron las fundas del horno, se dejó enfriar y posteriormente se procedió a llenar las fundas con el sustrato [CITATION THC14 \l 12298].

3.8.2. Diseño experimental

Para la evaluación del abono a base de *Azolla filiculoides* en el cultivo de lechuga se realizó el diseño experimental con 7 tratamientos y 15 repeticiones dando un total de 105 plantas de lechuga que se detalla en la tabla 13.

Tabla 13. Evaluación del abono en un cultivo de *Lactuca sativa* var. *Inybacea*

Cultivo de <i>Lactuca sativa</i> var. <i>Inybacea</i>		
Nº de Tratamiento	Descripción del tratamiento (todos son en sustrato: 2,5Kg de Tierra)	Nº de repeticiones
T1	Sustrato (S) + <i>Lactuca sativa</i> var. <i>Inybacea</i> (LS).	15
T2	S + LS+ Abono <i>Azolla filiculoides</i> (AAF) concentración 1g/2,5Kg suelo.	15
T3	S + LS + AAF concentración 2g/2,5Kg suelo.	15
T4	S + LS + AAF concentración 3g/2,5Kg suelo.	15
T5	S+ LS + EDDHA concentración 5mg/2,5Kg suelo.	15

T6	S+ LS + EDDHA concentración 10mg/2,5Kg suelo.	15
T7	S+ LS + EDDHA concentración 15mg/2,5Kg suelo.	15

Elaborado por: Jorge Ruiz

3.8.3. Semilleros y trasplante

Para la siembra se compró un sobre de semillas certificadas de lechuga (*Lactuca sativa* var. *Inybacea*). Por la dificultad de obtener una buena germinación primeramente se puso las semillas de lechuga en bandejas con algodón humedecido. Una vez que estas ya iniciaron su germinación se las depositó en bandejas germinadoras, que contenían turba humedecida luego se colocaron la semilla a una profundidad de 2,5mm y se cubrieron con el mismo sustrato. Se tapó las bandejas con funda plástica negra para facilitar y reducir el tiempo de germinación aproximadamente a 4 días.

El trasplante se lo realizó con plántulas obtenidas de las bandejas de germinación tomando las planta uniformes. El trasplante se realizó a los 15 días cuando las plántulas tenían de 3 a 4 hojas verdaderas a fundas con 2,5kg de sustrato previamente humedecido, luego se colocó las fundas en su totalidad en la misma distancia para asegurar la igual incidencia de luz, humedad y temperatura.

Para el monitoreo de microclima pasando un día se realizó mediciones de temperatura, en el riego se utilizó una manguera con una boquilla de gota fina para asegurar que la cantidad de agua vertida sea igual para todas las plantas, el riego se hizo dos veces al día cada 48 horas. Para administrar el agua de manera adecuada, se procuró no exceder la capacidad de campo del sustrato impidiendo que el aire presente en los poros del suelo sea desplazado por el agua, evitando una posible asfixia radicular (Suquilanda, 1995)

3.8.4. Fertilización

En los tratamientos T2, T3, T4 se adicionó 1, 2, 3g de abono de *Azolla* respectivamente 7 días antes del trasplante.

En la evaluación del quelato de hierro se utilizó Libfer SP (Fe-EDDHA) de marca Basf cuya descripción química se detalla en el anexo 7, este se aplicó. Para su aplicación se pesó 10g y se aforo a un litro, de la solución se midió 10; 20; 30mL con una jeringa y se regó en forma de círculo a un radio de 5cm alrededor de la planta en los tratamientos T5, T6, y T7 respectivamente 7 días después del trasplante.

3.8.5. Evaluación de los parámetros de crecimiento en lechuga

La evaluación de los parámetros de crecimiento de Lechuga se realizó durante los 45 días en las 105 plantas individualmente. Las variables que se midieron fueron[CITATION Riv09 \l 12298]:

3.8.5.1. Porcentaje de prendimiento y sobrevivencia

Se registró hasta el décimo día después del trasplante.

3.8.5.2. Número de hojas

Se contaron en unidades desde la parte inferior hasta la superior a los 15 y 45 días, adicionalmente el desarrollo durante los últimos 30 días de cultivo después del trasplante.

3.8.5.3. Altura de la planta

Se mide en centímetros a los 15 ,45 y el desarrollo durante los últimos 30 días de cultivo después del trasplante. Esta variable fue evaluada con un flexómetro, con el cual se tomó la medida de la altura a partir del nivel de la tierra hasta la hoja con más empinamiento

3.8.5.4. Ancho y largo de la cuarta hoja

Se mide en centímetros la cuarta hoja contando desde abajo hacia arriba a los 15 ,45 y el desarrollo durante los últimos 30 días de cultivo después del trasplante.

3.8.5.5. Longitud de raíces

Se mide en centímetros al momento de la cosecha. Con la ayuda de flexómetro se tomó la medida a partir de la raíz más larga y fue medida en centímetros desde la base del tallo al ápice radical.

3.8.5.6. Perímetro de tallo

Se mide en centímetros al momento de la cosecha. Se tomó la medida del tallo a partir del extremo más próximo al nivel de la tierra en la maceta para ello se utilizó un hilo se puso alrededor del tallo y se cortó el hilo, posteriormente este fue medido en una regla.

3.8.5.7. Rendimiento

Se mide en gramos por planta al momento de la cosecha, a la planta se le retira todo el exceso de tierra, se la lava en por dos veces con agua, se deja secar y se pesa en una balanza analítica.

3.8.5.8. Peso fresco de la raíz y del follaje

Se evaluó en gramos al momento de la cosecha después de evaluar el rendimiento se toma un bisturí y se corta el tallo del extremo más próximo al nivel de la tierra y se pesa individualmente en una balanza analítica.

3.8.5.9. Cuantificación foliar de hierro en hojas exteriores de lechuga

Tratamiento preliminar

Se realizó mediante espectrofotometría de absorción atómica con llama de aire-acetileno al momento de la cosecha, para ello cortan las hojas exteriores de la planta de lechuga, se lavaron con abundante agua por dos ocasiones, se cortaron con la ayuda de un bisturí en pequeños trozos y luego se colocó al helecho en cajas petri debidamente identificadas, que fueron llevadas a una estufa a 60°C durante 3 días

hasta su secado. Finalmente se procedió a triturar con la ayuda de un mortero de cerámica, hasta lograr el mínimo tamaño de partícula y se colocó el polvo en tubos de ensayo con tapa rosca correctamente etiquetados.

Digestión ácida de biomasa de lechuga

Se pesó 300 mg de planta seca en un vaso de digestión dentro de una balanza analítica luego dentro del flujo laminar, se añadió 5 ml de ácido nítrico al 68 % se mezcló y se dejó reposar por 15 minutos aproximadamente. A continuación se introdujeron los vasos en un digestor microondas y se procedió a realizar la digestión con un método modificado de BERGHOF (ver anexo 4) para planta seca indicado en la tabla 14.

Tabla 14. Método BERGHOF modificado de digestión ácida para plantas secas

	Temperatura (°C)	Rampa (min)	Tiempo (min)	Poder (%)
Paso 1	145	11	5	90
Paso 2	190	5	10	90
Paso 3	100	1	10	90

Elaborado por: Jorge Ruiz

Finalmente, una vez enfriados los vasos de digestión se filtró el contenido y se vertió en un balón de cristal con tapa para su aforo a 50mL con agua destilada tipo 1 [CITATION Bal11 \l 12298].

Método espectrofotométrico en muestras de *Lactuca Sativa*

La cuantificación de hierro se realizó utilizando un espectrofotómetro de absorción atómica de aspiración directa marca VARIAN usando flama de aire-acetileno con lámpara de Fe; $\lambda = 248,3\text{nm}$. A partir de la solución Stock estandarizada se prepararon soluciones en un intervalo de concentraciones de 0,5 a 15 ppm. Se calibró el equipo con las soluciones preparadas, para obtener una curva de calibración con un coeficiente de regresión lineal $r^2 = 0,9996$ o superior. Se procedió a realizar las lecturas de la biomasa, se leyeron regularmente (cada 15 muestras) los estándares, para confirmar la calibración y la estabilidad del equipo [CITATION McC12 \l 12298].

3.8.5.10. Cuantificación foliar de clorofila

Se midió la concentración foliar en hojas exteriores de clorofila al momento de la cosecha para lo cual se realizó el siguiente procedimiento:

Extracción de pigmentos:

Se realiza una extracción con acetona según Hansmann (2014). Se corta las hojas exteriores de la planta de lechuga, con la ayuda de un bisturí se obtiene pequeños trozos de las hojas evitando las nervaduras, Se pesa 0,5 g de hojas fresca, se deposita el materia en un mortero y se añade poco a poco mientras se machaca 10 ml de acetona al 80%, disgregando el tejido vegetal de modo que los pigmentos salgan al exterior y se disuelvan en acetona. Cuando la acetona está bien verde, el macerado se introduce en un tubo de centrífuga de plástico y se centrifuga a 2000 rpm durante 10 minutos. Después de centrifugar se obtiene un sobrenadante verde que contiene los pigmentos. Ajustar el volumen final a 6 ml con acetona al 80%.

Medida de clorofila en espectrofotómetro ultravioleta visible

Se toman 0.5 ml del sobrenadante de cada uno de los extractos y se diluye hasta 5 ml con acetona al 80%.

Se calibra el equipo con el blanco que es la acetona al 80%. Después se mide en el espectrofotómetro a longitudes de onda de 645 para clorofila b y 663 nm para clorofila a. Para calcular las clorofilas totales aplicamos la siguiente fórmula:

Clorofila total ($\mu\text{g/ml}$ o mg/l) = $(20,2 \cdot \text{DO645}) + (8,02 \cdot \text{DO663})$

3.8.6. Análisis estadístico de los parámetros de crecimiento en lechuga

A todos los tratamientos se realizó primeramente un test de Levene para ver homogeneidad de varianzas utilizando un programa estadístico PAST versión 2.17c, si el $p < 0,05$ se procede a un test no paramétrico como Kruskal Wallis y si el $p > 0,05$ se hace un Anova de una vía y un posterior análisis de Tukey a un nivel de

significancia $p < 0.05$ y teniendo en cuenta los valores de F tabulados usando el programa STATISTIX (versión 8.0).

CAPÍTULO 4

RESULTADOS

4.1. *Azolla*

4.1.2. Acondicionamiento del medio de cultivo para *Azolla filiculoides*

Lam.

Las unidades experimentales se ubicaron dentro de las instalaciones del CIVABI en condiciones controladas de luz, temperatura y aireación. El agua usada para el cultivo fue de tipo 1 la cual tiene un pH 5,78, conductividad $7,4\mu\text{s}/\text{cm}$, oxígeno disuelto $5,80\text{mg}/\text{L}$ a una temperatura de $23,5^\circ\text{C}$.

La formulación del nutriente utilizado es adecuada para las condiciones experimentales, no existe precipitación y coagulación por efecto del pH de trabajo.

La tabla 15 muestra los valores que se introdujeron en las unidades experimentales de peso fresco del helecho, nutriente y hierro al inicio del experimento.

Tabla 15. Peso de la biomasa, nutriente y metales pesados introducidos

Tratamiento	Peso fresco (g)	Nutriente mayor (mL)	Sulfato ferroso (mg/L)	Quelato de hierro (mg/L)
Tr1	9,001	1,875	-	-
Tr2	9,002	1,875	-	-

Tr3	9,001	1,875	0,35	-
Tr4	9,001	1,875	0,55	-
Tr5	9,000	1,875	0,75	-
Tr6	9,002	1,875	-	1,3
Tr7	9,001	1,875	-	2,6
Tr8	9,001	1,875	-	5,2
Tr9	9,000	1,875	-	7,8
Tr10	9,001	1,875	-	10,4

Elaborado por: Jorge Ruiz

4.1.3. Monitoreo del cultivo de *Azolla filiculoides*

Las condiciones ambientales estuvieron controladas en todo momento para asegurar el cumplimiento metodológico del proyecto. La temperatura promedio en el laboratorio fue de 18°C y una humedad relativa aproximada 60% dentro de las instalaciones del laboratorio ya que se utilizó un calefactor eléctrico.

Las mediciones de pH, conductividad y oxígeno de los diferentes tratamientos durante los 15 días de cultivo se encuentran detallados en el anexo 2 y el promedio por tratamiento se detalla en la tabla 16 el que estuvo dentro de los límites establecidos en la metodología.

Tabla 16. Promedio de pH, conductividad y oxígeno durante 15 días de contacto de *Azolla filiculoides* con el medio de cultivo.

Tratamiento	Promedio durante los 15 días de contacto		
	pH	Conductividad (µs/cm)	Oxígeno (mg/L)
Tr1	5,83	19	6,0
Tr2	3,01	2482	6,1
Tr3	3,02	2472	6,1
Tr4	3,03	2466	6,3
Tr5	2,90	2455	6,1
Tr6	3,11	2382	6,1
Tr7	3,15	2332	6,0

Tr8	3,21	2284	6,1
Tr9	3,25	2235	6,0
Tr10	3,33	2185	5,9

Elaborado por: Jorge Ruiz

El medio de cultivo se cambió cada 5 días durante los 15 días de cultivo, por el consumo del nutriente y la acumulación de sales para evitar que los valores salieran del límite recomendado por Espinoza et al. (2003), para propiciar las mejores condiciones para que *Azolla* acumule hierro.

4.1.3.1. Caracterización de biomasa de *Azolla filiculoides* Lam.

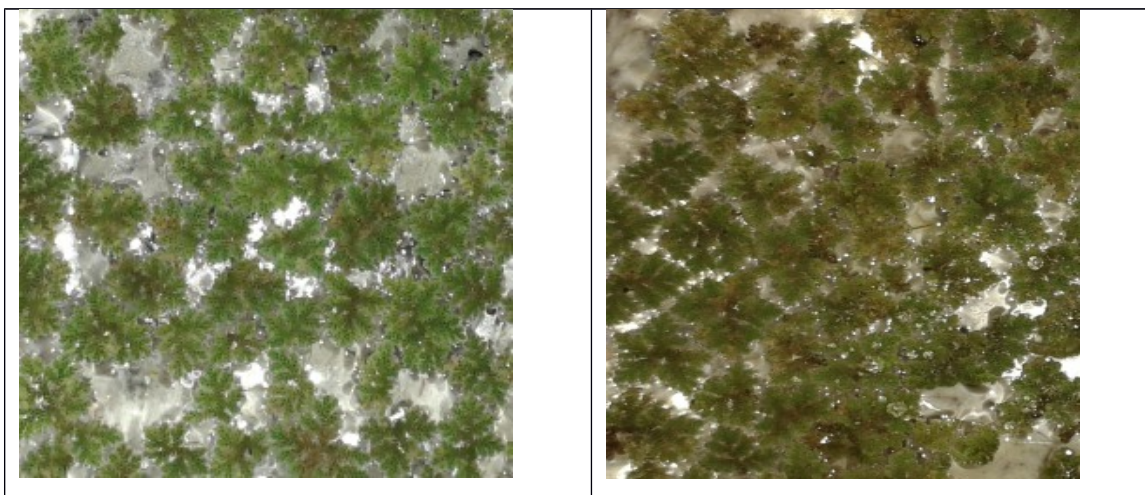
Tabla 17. Aspecto de la biomasa después de 15 días de contacto con el medio

Tratamiento	Solución Nutritiva	Tipo de hierro	Característica de frondas
Tr1	No	No	Sana
Tr2	Si	No	Sana
Tr3	Si	Sulfato ferroso	Sana
Tr4	Si	Sulfato ferroso	Sana
Tr5	Si	Sulfato ferroso	Clorótica
Tr6	Si	Quelato de hierro	Sana
Tr7	Si	Quelato de hierro	Cloróticas
Tr8	Si	Quelato de hierro	Sana
Tr9	Si	Quelato de hierro	Clorótica
Tr10	Si	Quelato de hierro	Sana

Elaborado por: Jorge Ruiz

Tabla 18. Fotos de referencia del aspecto de la biomasa antes y después de 15 días de contacto

<i>Azolla filiculoides</i> sana	<i>Azolla filiculoides</i> clorótica
---------------------------------	--------------------------------------



Elaborado por: Jorge Ruiz

Tomando como base el anexo 3 se evidenció que *Azolla filiculoides* no presentó daños significativos en sus frondas a pesar de estar expuesta a concentraciones elevadas de hierro por un periodo de 2 semanas. En la tabla 17 indica que este helecho presenta alta eficiencia en sus mecanismos de tolerancia al hierro.

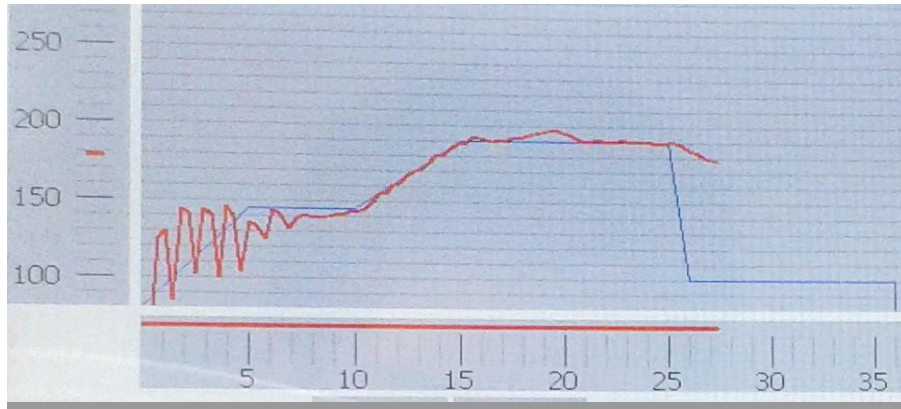
Los resultados se pueden comparar con los obtenidos por Ballesteros (2011), afirman que *Azolla* no presentó graves daños en sus frondas a pesar de estar expuesta a concentraciones elevadas de metales por un periodo de 2 semanas, lo que indica que este helecho presenta alta eficiencia en sus mecanismos de tolerancia a la exposición de metales.

4.1.4. Cuantificación de la concentración de hierro hiperacumulado por *Azolla filiculoides* Lam.

4.1.4.1. Digestión ácida de biomasa

Al final del proceso de digestión de la biomasa, se obtuvo una solución clara de color verde que fue filtrada al vacío para posteriormente ser leída por el espectrofotómetro de absorción atómica. La figura 6 muestra temperaturas en relación al tiempo en el proceso de digestión de la biomasa, la línea azul representa el método teórico establecido y la línea roja representa el proceso real que sucedió en la digestión. Según Ballesteros (2011), el método modificado de BERGHOF es el más adecuado para digestión de *Azolla*.

Digestión ácida de biomasa utilizando un método modificado de BERGHOF



4.1.4.2. Concentración de hierro en muestra seca de *Azolla*

Figura 5
filiculoides

En la tabla 19 y figura 7 se indica la concentración final en ppm de hierro total después del tiempo de contacto en los diferentes tratamientos (ver anexo 9, 10).

Tabla 19. Concentración de hierro en ppm en muestra seca de *Azolla filiculoides*

Tratamiento	Concentración de hierro (ppm)
Tr1	496,5±19,5
Tr2	505,6±13,8
Tr3	683,3±27,2
Tr4	922,9±53,5
Tr5	1088,9±45,2
Tr6	713,9±35,5
Tr7	996,5±24,1
Tr8	2354,2±24,3
Tr9	3501,4±36,7

Concentración de hierro en ppm en muestra seca de *Azolla filiculoides* después de 36,7 días de cultivo

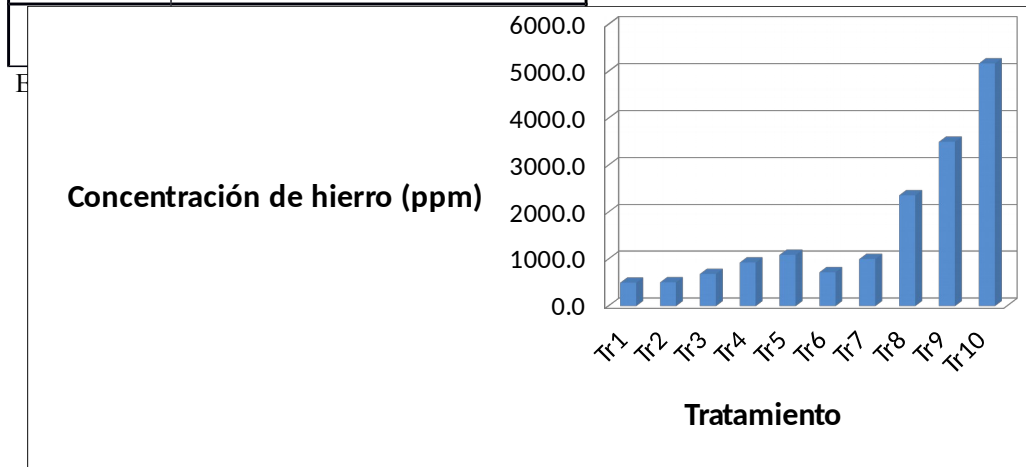


Figura 6.

La concentración final de hierro en los tratamientos se analizó con intervalos de confianza derivados de la distribución t de Student al 95% de confianza. La concentración de hierro en el Tr1 (testigo) es de $496,5 \pm 19,5$ ppm la que es similar a la descrita por Cabezas (2011), no presentó acumulación de hierro ya se encontraba en un medio compuesto solo por agua para obtener la cantidad inicial de hierro de tiene *Azolla*.

La solución nutritiva fue evaluada en el Tr2 que tiene una concentración de hierro de $505,6 \pm 13,8$ ppm que es similar al testigo demostrando que no aporta hierro al medio de cultivo.

Los tratamientos Tr3, Tr4, Tr5, expuestos a sulfato ferroso presentaron concentraciones de 683,3 ppm; 922,9 ppm; 1088,9 ppm respectivamente demostrando una relación directamente proporcional a la acumulación, a mayor concentración mayor acumulación de hierro y el tratamiento Tr5 tiene el promedio más alto.

Según Smart (2012), las plantas pueden absorber el hierro en sus estados de oxidación Fe^{2+} (hierro ferroso) y Fe^{3+} (hierro férrico), pero, la forma ferrosa es fisiológicamente más importante para las plantas, es relativamente soluble, pero se oxida fácilmente al Fe^{3+} , que tiende a precipitarse. El Fe^{3+} es insoluble en un pH neutral y en un pH alto, y por lo tanto no es disponible para las plantas en los suelos alcalinos y en los suelos calcáreos. Además, en estos tipos del suelo, el hierro se combina fácilmente con los fosfatos, los carbonatos, el calcio, el magnesio y con los iones de hidróxido.

Los tratamientos Tr6, Tr7, Tr8, Tr9, Tr10 expuestos al quelato con E.D.T.A-Hierro acumularon en promedio 713,9ppm; 996,5ppm; 2354,2ppm; 3501,4ppm; 5165,3ppm de hierro respectivamente. Los tratamientos demostraron una relación directamente proporcional a la acumulación, a mayor concentración mayor acumulación de hierro y el tratamiento Tr10 tiene el promedio más alto de todos los tratamiento casi 11 veces el contenido de hierro por el testigo, verificando el proceso de hiperacumulación de este metal por parte de *Azolla filiculoides*.

Muchas especies toleran las elevadas concentraciones de metales porque restringen su absorción y/o translocación hacia las hojas, lo que les permite mantener concentraciones constantes y relativamente bajas en la biomasa aérea sin embargo, otras absorben los metales activamente a partir del suelo y los acumulan en formas no tóxicas en su biomasa aérea. Actualmente se utiliza el término hiperacumuladora de metales para designar plantas que acumulan más de 1mg/g de peso seco [CITATION Bro98 \l 12298].

4.2. Cultivo de lechuga

4.2.1. Sustrato

El reporte del análisis químico del suelo realizado en la Estación Experimental Santa Catalina INIAP detallado en el anexo 11 reporta el contenido de hierro es 16 ppm el cual está en un nivel bajo, el pH tiene 8,36 que es moderadamente alcalino y para cultivo de lechuga es recomendable un pH de 6.

Los valores de pH, en suelos alcalinos reportan pH de 7.85 hasta de 8.36 donde puede verse limitada la disponibilidad de Fe; por otro lado los resultados reflejan que son suelos delgados con contenido medio-bajo de materia orgánica (MO) por lo que hay una baja actividad microbiana, afectando la absorción de nutrimentos por las plantas, considerando que las la materia orgánica afectan el equilibrio y movilidad de los nutrientes del suelo y su absorción por las plantas. Estos resultados muestran que se tiene el bloqueo a nivel de la rizósfera que impide que la planta pueda absorber el Fe que necesita [CITATION Cor10 \l 12298].

4.2.2. Porcentaje de germinación

En la germinación de la lechuga no hubo diferencias entre tratamientos, al cuarto día había más del 90% de plantas ya había germinado, para esta variable no se realizó un análisis estadístico, sin embargo no se observaron diferencias entre tratamientos, debido en parte porque para la germinación se sometió la planta a oscuridad para acelerar el proceso lo que contribuyó a que la semilla siempre tuviera suficiente humedad y por lo tanto favoreció para que la germinación fuera uniforme en todos los tratamientos.

4.2.3. Evaluación de los parámetros de crecimiento en lechuga

De acuerdo al valor de p reportado por el test de Levene se procedió con el Anova de una vía o Kruskal Wallis los cuales se detallan en la tabla 20; los promedios de cada tratamiento se detallan en el anexo 12 y 13.

Tabla 20. Valores de p reportados para test de Levene, Anova y Kuskal Wallis

Variables analizadas en Lechuga	Valor de p		
	Levene	Anova	Kruskal Wallis
Número de hojas a los 15 días	0,8071	0,0946	
Número de hojas a los 45 días	0,3229	0,0000	
Número de hojas en los últimos 30 días	0,0063		0,0000
Altura de la planta a los 15 días	0,5805	0,0268	
Altura de la planta a los 45 días	0,6376	0,0008	
Altura de la planta en los últimos 30 días	0,0657	0,0000	
Ancho de la cuarta hoja a los 15 días	0,3870	0,0986	
Ancho de la cuarta hoja a los 45 días	0,1319	0,0115	
Ancho de la cuarta hoja en los últimos 30 días	0,0000		0,0000
Largo de la cuarta hoja a los 15 días	0,0253		0,0005
Largo de la cuarta hoja a los 45 días	0,0422		0,0000
Largo de la cuarta hoja en los últimos 30 días	0,2034	0,0000	
Longitud de la raíz a los 45 días	0,3884	0,0000	
Diámetro del tallo a los 45 días	0,0000		0,0000
Rendimiento a los 45 días	0,0713	0,0000	
Peso de la raíz a los 45 días	0,2714	0,0000	
Peso del follaje a los 45 días	0,6791	0,0000	
Concentración foliar de hierro a los 45 días	0,8889	0,0000	
Concentración foliar de clorofila a los 45 días	0,9110	0,0000	

Elaborado por: Jorge Ruiz

4.2.3.1. *Prendimiento y sobrevivencia del cultivo*

El porcentaje de prendimiento y sobrevivencia se registró hasta el décimo día del trasplante (ver anexo 14).

En relación al prendimiento se pudo verificar que tanto el testigo, los tratamientos con abono de *Azolla* y los tratamientos con fertilización quelatada de hierro presentaron el 100%. Para la sobrevivencia de igual manera no hubo una diferencia significativa entre los tratamientos, todos los tratamientos tienen sobrevivencia del 100%.

El comportamiento de los tratamientos es homogéneo, incluido el testigo tuvieron tasas de mortalidad de cero. No se registraron diferencias significativas por los que no fue necesario realizar un análisis estadístico. Según Guamán (2004), estos porcentajes altos se deben al manejo pre y post trasplante realizado desde la desinfección del suelo contra plagas y enfermedades, así como el riego realizado antes y después de dicha labor evitando problemas de estrés, también se debe a la reacción del cultivo a las condiciones climáticas de la zona. Las plántulas de lechuga respondieron adecuadamente al nuevo sustrato que no presentó ninguna dificultad para la adaptación.

4.2.3.2. *Número de hojas*

Número de hojas de lechuga a los 15, 45 y últimos 30 días de cultivo

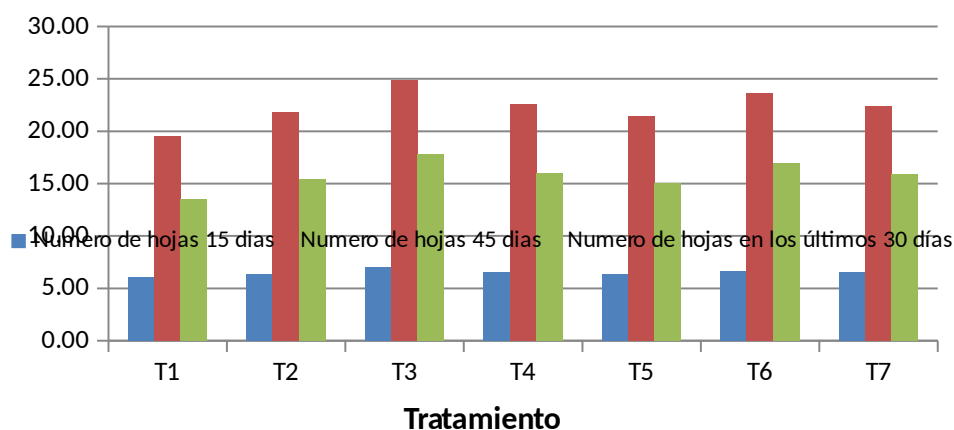


Figura 7.

Elaborado por: Jorge Ruiz

Al realizar el test de Levene para el número de hojas a los 15 días, después del trasplante dio un $p > 0,05$ lo cual demuestra homogeneidad de varianzas y el ANOVA al nivel del 95% de probabilidad estadística $p < 0,05$ lo que indica que no se encontraron diferencias significativas en los tratamientos resultando ser estadísticamente parecidos (ver anexo 15), por lo que se considera que los abonos actuaron de manera similar en el desarrollo de las plantas a los 15 días del trasplante. El promedio general fue de 7 hojas y el coeficiente de variación fue de 13,05%.

Estadísticamente los tratamientos son iguales a los 15 días, por lo que la aplicación de Fe no influyó directamente en el número de hojas. Los resultados pueden atribuirse a características propias de la variedad [CITATION Ord \l 12298].

A los 45 días después del trasplante el test de Levene dio un $p > 0,05$ lo cual demuestra la homogeneidad y en el posterior Anova se encontraron diferencias significativas en los diferentes tratamientos resultando no ser estadísticamente similares. El promedio general fue de 22 hojas, el coeficiente de variación fue de 4,93% (ver anexo 16).

Tabla 21. Prueba de Tukey al 5% para número de hojas a los 45 días

Tratamiento	Medias	Rango
T3	24,867	A
T6	23,6	B
T4	22,533	BC
T7	22,4	BC
T2	21,8	C
T5	21,467	C
T1	19,533	D

Elaborado por: Jorge Ruiz

Mediante la prueba de Tukey al 5% a los 45 días (tabla 21) se formaron 4 grupos, para el número de hojas a los 45 días, se determinó que el tratamientos T3 con una concentración de abono de *Azolla* 2g/2,5K de suelo obtuvo la media más alta con un valor de 25 hojas y se ubicó en el rango “A”. El tratamiento T1 (testigo) obtuvo la media más baja con 20 hojas que se ubicó en el rango “D” comprobando todos los tratamientos expuestos a hierro obtuvieron mejores resultados.

En cuanto al número de hojas desarrolladas en los últimos 30 días el test de Levene dio un $p < 0,05$ lo cual demuestra que no hay homogeneidad de varianzas y el posteriormente el análisis de Kruskal Wallis tiene $p < 0,05$ lo que indica se encontraron diferencias significativas en los tratamientos resultando no ser estadísticamente similares (ver anexo 17).

Al comparar con los resultados obtenidos reportados de 23 hojas por Cadena (2013), en cuanto al número de hojas al momento de la cosecha, el T3 demuestra mayor número de hojas debido a que *Azolla* proporciona altas dosis de hierro de fácil y rápida asimilación, este participa activamente en el proceso fisiológico de la planta mostrando mejores resultados que los tratamientos sometidos a Fe-EDDHA.

4.2.3.3. Altura de la planta

Altura de la planta de lechuga a los 15, 45 y últimos 30 días de cultivo

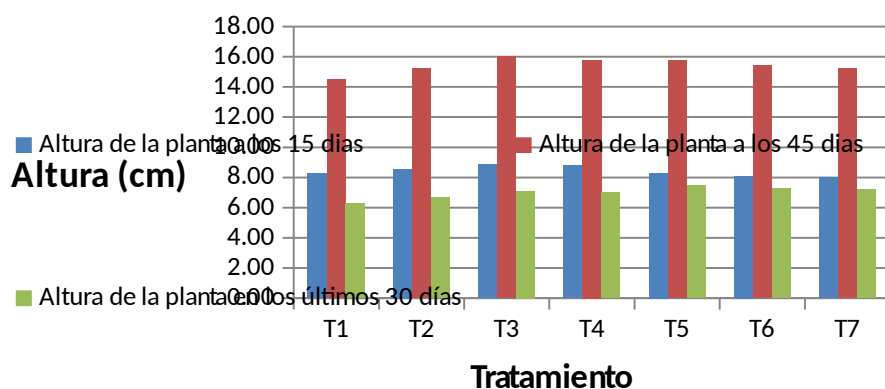


Figura 8.

Elaborado por: Jorge Ruiz

El test de Levene a los 15 días tiene un $p > 0,05$ demostrando homogeneidad en las varianzas, el ANOVA tiene un $p < 0,05$ encontrando diferencias significativas en los diferentes tratamientos resultando no ser estadísticamente similares. El promedio general fue de 8,4cm y el coeficiente de variación fue de 9,97% (ver anexo 18).

Tabla 22. Prueba de Tukey al 5% para altura de la planta a los 15 días.

Tratamiento	Medias	Rango
-------------	--------	-------

T3	8,8867	A
T4	8,8067	A
T2	8,56	A
T5	8,3	A
T1	8,24	A
T6	8,1	A
T7	8	A

Elaborado por: Jorge Ruiz

Al aplicar la prueba de Tukey al 5% a los 15 días se formó un grupo A". Los tratamientos T2 T3, T4 con abono de *Azolla* tienen las medias más altas. El tratamiento T3 con una concentración de abono de *Azolla* 2g/2,5K de suelo obtuvo el valor más alto 8,8cm. El tratamiento T7 con fertilización quelatada de hierro con una dosis de 15mg/2,5k se suelo obtuvo la media más baja con 8cm inferior al testigo que tuvo una media de 8,24cm.

El test de Levene a los 45 días tiene un $p > 0,05$, el ANOVA tiene un $p < 0,05$ encontrando diferencias significativas en los diferentes tratamientos. El promedio general fue de 15,4cm y el coeficiente de variación de 6,14% (Ver anexo 19).

Tabla 23. Prueba de Tukey al 5% para altura de la planta a los 45 días.

Tratamiento	Medias	Rango
T3	16	A
T4	15,8	A
T5	15,76	A
T6	15,4	AB
T2	15,253	AB
T7	15,2	AB
T1	14,5	B

Elaborado por: Jorge Ruiz

El test de Tukey al 5% al momento de la cosecha formó 2 grupos, el tratamiento T3 obtuvo la media más alta y se encuentra en el rango "A", que corresponde a la dosis de 2g/2,5K de suelo aplicada al cultivo resultando más efectivo el abono de *Azolla*.

El T1 que corresponde al testigo tiene la media más baja con 14,5cm de altura lo que demuestra que los tratamientos con fertilización fueron mejores.

El test de Levene % para altura de la planta obtenida durante los últimos 30 días cultivo tiene un $p > 0,05$, el ANOVA tiene un $p < 0,05$ encontrando diferencias significativas en los diferentes tratamientos El promedio general fue de 7cm y el coeficiente de variación fue de 5,18%. (Ver anexo 20).

Tabla 24. Prueba de Tukey al 5% para altura de la planta obtenida durante los últimos 30 días cultivo.

Tratamiento	Medias	Rango
T5	7,4667	A
T6	7,2933	AB
T7	7,2	AB
T3	7,1133	AB
T4	6,9933	BC
T2	6,6933	C
T1	6,2533	D

Elaborado por: Jorge Ruiz

El test de Tukey al 5% para altura de la planta obtenida durante los últimos 30 días cultivo formó 4

grupos. Los tratamientos con Fe-EDDHA tienen medias más altas, razón por la cual tuvieron un mayor desarrollo en el últimos 30 días, el T5 tiene la media más alta 7,4cm con una concentración de 15mg de Fe-EDDHA en 2,5Kg de suelo. El T1 (testigo) es la media inferior.

Estos resultados confirman lo aseverado por Guamán (2010), que dice, que la lechuga es una planta herbácea, cuyo ciclo vegetativo en general, alcanza a una altura entre 10 y 20cm.

Se pudo evidenciar que en los primeros días después del trasplante existió una diferencia significativa entre los tratamientos, pero al transcurrir el tiempo

estas diferencias fueron disminuyendo a medida que el cultivo se aclimataba a las condiciones ambientales de la zona [CITATION Cab10 \l 12298].

Guamán (2004), señala que la media general para la altura de las plantas a los 15 y 45 días fueron 7,19cm y 14,5cm respectivamente, valores inferiores a los presentes en el tratamiento T3 en donde se obtuvo los siguientes resultados: 8,8cm; 16cm a los 15 y 45 días comprobando la eficacia del abono de *Azolla filiculoides* hiperacumulado de hierro.

4.2.3.4. Ancho de la cuarta hoja

Ancho de la cuarta hoja de lechuga a los 15, 45 y últimos 30 días de cultivo

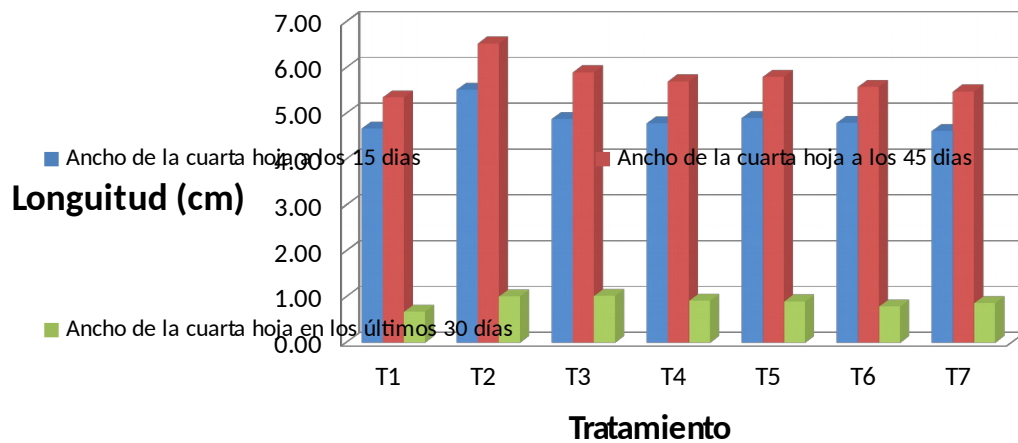


Figura 9.

Elaborado por: Jorge Ruiz

Según el test de Levene a los 15 días tiene un $p > 0,05$ demostrando homogeneidad en las varianzas y un posterior ANOVA un $p > 0,05$ no se encontraron diferencias significativas en los diferentes tratamientos resultando ser estadísticamente similares. El promedio general fue de 4,8cm y el coeficiente de variación fue de 17,64% (ver anexo 21).

Según el análisis de Levene a los 45 días tiene un $p > 0,05$ y el ANOVA un $p < 0,05$ se encontró diferencias significativas en los diferentes tratamientos. El promedio general fue de 5,7cm y el coeficiente de variación fue de 15% (ver anexo 22).

Tabla 25. Prueba de Tukey al 5% ancho de la cuarta hoja obtenida a los 45 días de cultivo.

Tratamiento	Medias	Rango
T2	6,5267	A
T3	5,9	AB
T5	5,8	AB
T4	5,7	AB
T6	5,6	AB
T7	5,5	B
T1	5,3467	B

Elaborado por: Jorge Ruiz

El test de Tukey al 5% para ancho de la cuarta hoja obtenida a los 45 días de cultivo formó 2 grupos.

El tratamiento T2 tiene la media más alta con 6,5cm que aplico una dosis de 1g de *Azolla* por 2,5K de suelo. El T1 (testigo) es la media inferior demostrando que los tratamientos con fertilización tuvieron mejor desarrollo.

El test de Levene para el crecimiento en los últimos 30 días dio un $p < 0,05$ por lo cual se realizó un test de Kruskal Wallis obteniendo un $p < 0,05$, se encontraron diferencias significativas en los diferentes tratamientos resultando no ser estadísticamente similares (ver anexo 23).

4.2.3.5. Largo de la cuarta hoja

Largo de la cuarta hoja de lechuga a los 15, 45 y últimos 30 días de cultivo

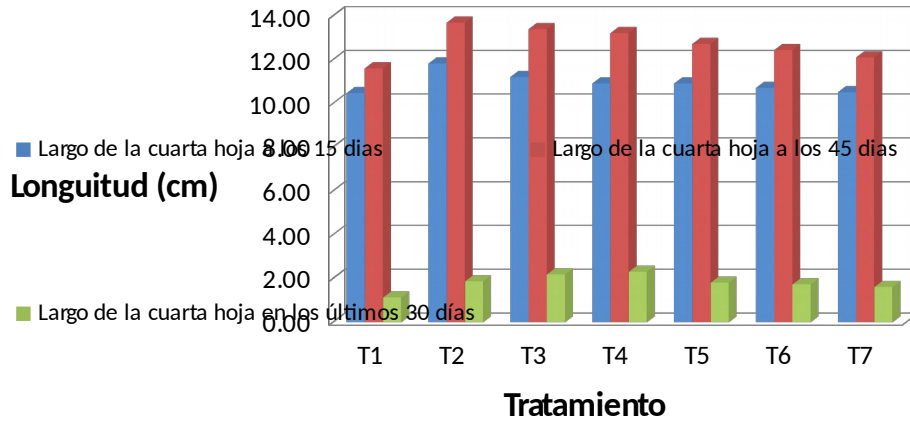


Figura 10.

Elaborado por: Jorge Ruiz

El test de Levene para el crecimiento a los 15 días dio un $p < 0,05$ por lo cual se realizó un test de Kruskal Wallis obteniendo un $p < 0,05$, se encontraron diferencias significativas en los diferentes tratamientos resultando no ser estadísticamente similares (ver anexo 24).

El test de Levene para el crecimiento en los 45 días dio un $p < 0,05$ por lo cual se realizó un test de Kruskal Wallis obteniendo un $p < 0,05$, se encontraron diferencias significativas en los diferentes tratamientos resultando no ser estadísticamente similares (ver anexo 25).

El test de Levene para el crecimiento en los últimos 30 días dio un $p > 0,05$ por lo cual se realizó análisis de varianza al nivel del 95% de probabilidad estadística, obteniendo $p < 0,05$ se encontraron diferencias significativas en los diferentes

tratamientos resultando no ser estadísticamente similares. El promedio general fue de 1,7cm y el coeficiente de variación fue de 13,71% (ver anexo 26).

Tabla 26. Prueba de Tukey al 5% para el largo de la cuarta hoja obtenida durante los últimos 30 días de cultivo.

Tratamiento	Medias	Rango
T4	2,3	A
T3	2,1867	A
T2	1,86	B
T5	1,7933	B
T6	1,72	B
T7	1,6	B
T1	1,1267	C

Elaborado por: Jorge Ruiz

El test de Tukey al 5% para el largo de la cuarta hoja obtenida durante los últimos 30 días de

cultivo formó 3 grupos. El tratamiento T4 tiene la media más alta con 2,3cm que aplicó una dosis de 3g de abono *Azolla* por 2,5K de suelo. El T1 (testigo) es la media inferior demostrando que los tratamientos con fertilización tuvieron mejor desarrollo.

Los tratamientos con presencia de abono de *Azolla* tienen la media más alta, se observa que su mayor desarrollo lo obtuvieron durante los últimos 30 días al contrario de los tratamientos con fertilización quelatada de hierro que crecieron más en los 15 primeros días.

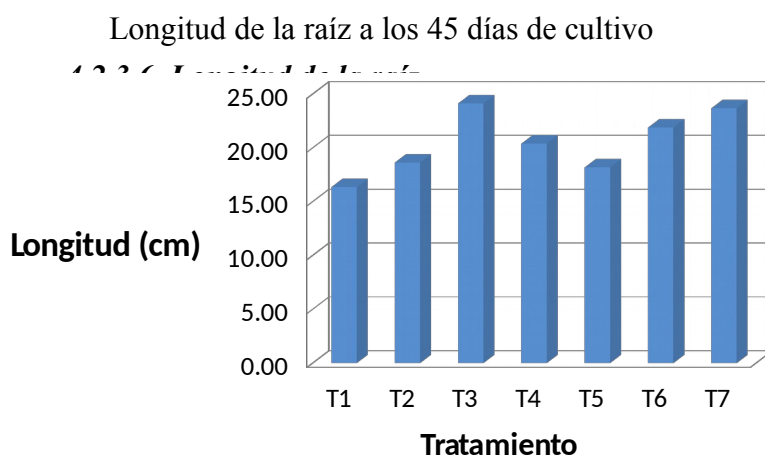


Figura 11.

El test de Levene a los 45 días después del trasplante dio un $p > 0,05$ por lo cual se realizó el análisis de varianza al nivel del 95% de probabilidad estadística, con un $p < 0,05$ se encontraron diferencias significativas en los diferentes tratamientos resultando no ser estadísticamente similares. El promedio general fue de 20,4cm y el coeficiente de variación fue de 5,0% (ver anexo 27).

Tabla 27. Prueba de Tukey al 5% longitud de la raíz obtenida a los 45 días de cultivo.

Tratamiento	Medias	Rango
T3	24,133	A
T7	23,7	A
T6	21,9	B
T4	20,4	C
T2	18,627	D
T5	18,2	D
T1	16,38	E

Elaborado por: Jorge Ruiz

El test de Tukey al 5% longitud de la raíz obtenida a los 45 días de cultivo formo 5 grupos. El tratamiento T3 tiene la media más

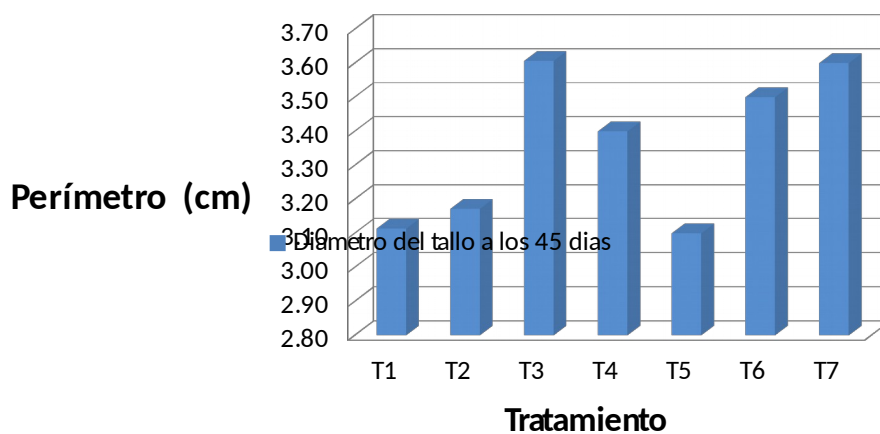
alta con 24,1cm que aplico una dosis de 2g de *Azolla* por 2,5Kg de suelo. El T1 (testigo) es la media inferior demostrando que los tratamientos con fertilización tuvieron mejor desarrollo.

Cadena (2013), reporta una longitud de raíz (cm) para cultivo de Green salad bowl al

n
o
A
e

Perímetro del tallo a los 45 días de cultivo

la media
l abono de
a variedad



E
r

lo cual se
diferencias

Figura 12.

significativas en los diferentes tratamientos resultando no ser estadísticamente similares (ver anexo 28).

En la figura 14 se puede observar que el perímetro del tallo con el valor más alto fue el tratamiento T3 evaluado con Abono de *Azolla*.

4.2.3.8. Rendimiento de la planta

Rendimiento de la planta a los 45 días de cultivo

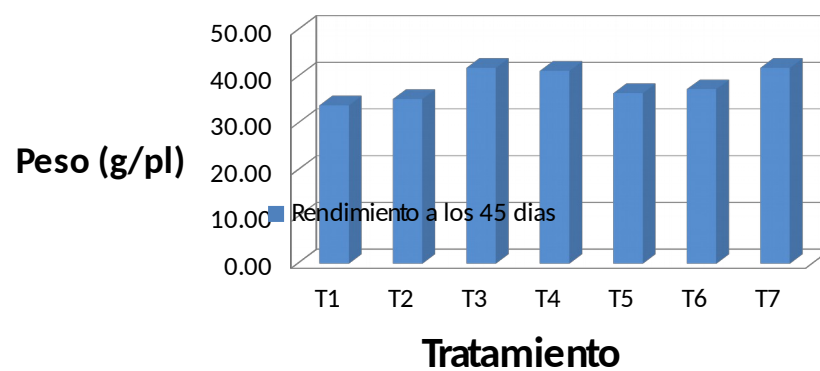


Figura 13.

Elaborado por: Jorge Ruiz

El test de Levene a los 45 días después del trasplante tiene un $p > 0,05$ por lo cual se realizó el análisis de varianza al nivel del 95% de probabilidad estadística, con un $p < 0,05$ se encontraron diferencias significativas en los diferentes tratamientos resultando no ser estadísticamente similares. El promedio general fue de 38,262 y el coeficiente de variación fue de 4,68% (ver anexo 29).

Tabla 28. Prueba de Tukey al 5% longitud de la raíz obtenida a los 45 días de cultivo.

Tratamiento	Medias	Rango
T7	41,9	A
T3	41,873	A
T4	41,2	A
T6	37,3	B
T5	36,5	BC
T2	35,227	CD
T1	33,833	D

Elaborado por: Jorge Ruiz

El test de Tukey al 5% para rendimiento al momento de la cosecha a los 45 días de cultivo formo 4 grupos. El tratamiento

T7 tiene la media más alta con 41,9g/planta que aplico una dosis de 15mg Fe-EDDHS por 2,5Kg de suelo, seguido del tratamiento T3 con una media de 41,8g/planta al que se aplicó una dosis de 2g de abono de *Azolla* por cada 2,5Kg de suelo. El T1 (testigo) es la media inferior demostrando que los tratamientos con fertilización tuvieron mejor desarrollo.

Analizando la variable rendimiento gramos por planta, se observó que existe una tendencia a mayor concentración de hierro aumenta el rendimiento total de la lechuga. El hierro forma parte de numerosos procesos enzimático, interviene en los procesos respiratorios de la planta, en la síntesis de la clorofila como catalizador, en la fotosíntesis y en la reducción de nitratos [CITATION Rin08 \l 12298]

Rojas (2003), mencionan que el quelato EDDHA-Fe tiene mayor capacidad para proporcionar Fe a las plantas por lo que cuando mayor sea el contenido en isómero orto-orto (posición de los dos hidroxilos en el anillo aromático) mejor será sus enlaces de coordinación del Fe con la molécula de agente quelante. En general la estabilidad del quelato aumenta con el número de anillos formados entre la molécula del quelato y ion metálico así, los anillos de 5

átomos son los más estables, siendo los que predomina en los quelatos EDDHA-Fe. La estabilidad es muy elevada, siendo eficaz en un intervalo amplio de pH 3 a 9.

4.2.3.9. *Peso de la raíz*

El test de Levene a los 45 días después del trasplante tiene un $p > 0,05$ por lo cual se realizó el análisis de varianza al nivel del 95% de probabilidad estadística, con un $p < 0,05$ se encontraron diferencias significativas en los diferentes tratamientos resultando no ser estadísticamente similares. El promedio general fue de 12,8g y el coeficiente de variación fue de 7,32% (ver anexo 30).



Figura 14.

Elaborado por: Jorge Ruiz

Tabla 29. Prueba de Tukey al 5% peso de la raíz obtenida a los 45 días de cultivo.

Tratamiento	Medias	Rango
T3	14,473	A
T4	14,12	A
T7	13,68	A
T6	12,42	B
T5	12,22	BC
T2	11,647	BC
T1	11,32	C

Elaborado por: Jorge Ruiz

El test de Tukey al 5% para el peso fresco de la raíz al momento de la cosecha formó 3 grupos. El

Tratamiento T3 tiene la media más alta con 14,4g que aplico una dosis de 2g de abono de *Azolla* por 2,5Kg de suelo. El T1 (testigo) es la media inferior demostrando que los tratamientos con fertilización tuvieron mejor desarrollo. El abono a partir de *Azolla filiculoides* favorece el crecimiento de la raíz.

Los datos reportados por Rivera (2009), con un peso de raíz de 12 en la misma variedad al momento de la cosecha son inferiores a la media de los tratamientos T3 y T7, por lo que el hierro favorece el desarrollo de la raíz.

4.2.3.10. Peso del follaje

Peso del follaje a los 45 días de cultivo

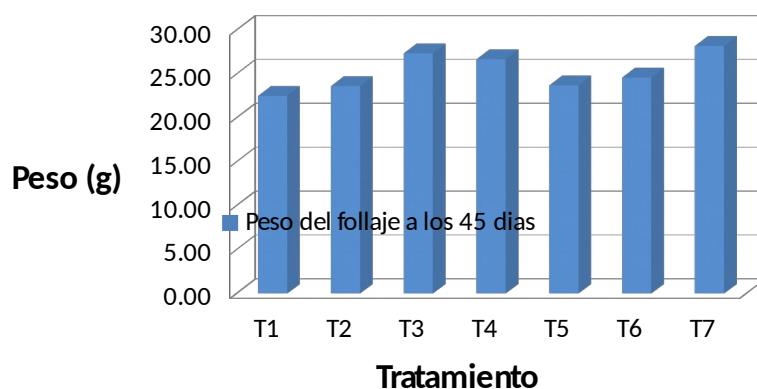


Figura 15.

Elaborado por: Jorge Ruiz

El test de Levene a los 45 días después del trasplante tiene un $p > 0,05$ por lo cual se realizó el análisis de varianza al nivel del 95% de probabilidad estadística, con un $p < 0,05$ se encontraron diferencias significativas en los diferentes tratamientos resultando no ser estadísticamente similares. El promedio general fue de 25,2g y el coeficiente de variación fue de 3,71% (ver anexo 31).

El test de Tukey al 5% para el peso fresco de la raíz al momento de la cosecha se formó 4 grupos. El tratamiento T7 tiene la media más alta con 28,22g se encuentra

en el rango “A”. El tratamiento T3 tiene segunda media más alta, está en el rango “AB” El T1 (testigo) es la media inferior demostrando que los tratamientos con fertilización tuvieron mejor desarrollo.

Tabla 30. Prueba de Tukey al 5% peso del follaje obtenido a los 45 días de cultivo.

Tratamiento	Medias	Rango
T7	28,22	A
T3	27,36	AB
T4	26,72	B
T6	24,62	C
T5	23,72	C
T2	23,6	C
T1	22,5	D

Elaborado por: Jorge Ruiz

4.2.3.11. Concentración foliar de hierro

Concentración foliar de hierro a los 45 de cultivo

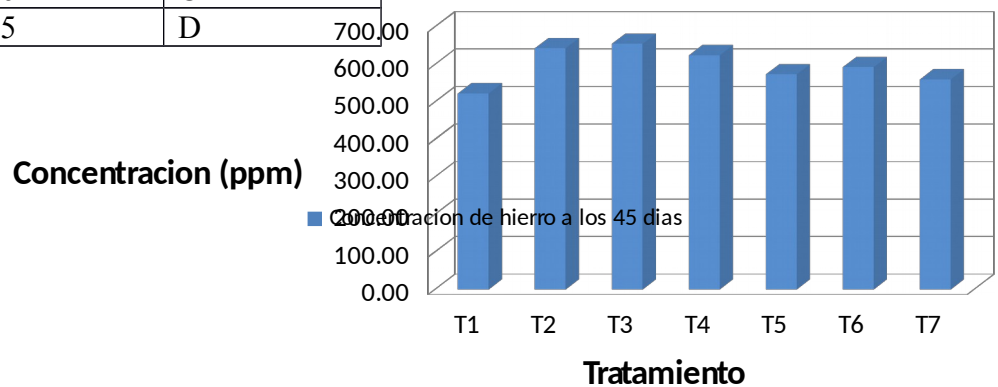


Figura 16.

Elaborado por: Jorge Ruiz

El test de Levene a los 45 días después del trasplante tiene un $p > 0,05$ por lo cual se realizó el análisis de varianza al nivel del 95% de probabilidad estadística, con un $p < 0,05$ se encontraron diferencias significativas en los diferentes tratamientos resultando no ser estadísticamente similares. El promedio general fue de 595,89ppm y el coeficiente de variación fue de 12,48% (ver anexo 32).

Tabla 31. Prueba de Tukey al 5% de la concentración de hierro obtenido a los 45 días de cultivo.

Tratamiento	Medias	Rango
T3	654,67	A
T2	643,11	A
T4	624,44	AB
T6	593	ABC
T5	573,34	ABC
T7	560	BC
T1	522,67	C

Elaborado por: Jorge Ruiz

El test de Tukey al 5% para la concentración de hierro obtenido a los 45 días de cultivo formó 3 grupos. El tratamiento T3 tiene la media más alta con 654,67ppm de hierro, seguida del T2 con 643,11 se encuentran en el rango “A”. El tratamiento T4 tiene la media de 624,44 y se encuentra en el rango “AB”. A continuación están los tratamientos T6 y T5 con medias de 593; 573,34 respectivamente que se encuentran en el rango “ABC”. El T7 tiene la media de concentración más baja de los tratamientos sometidos a exposición con hierro con una media de 560ppm. El T1 (testigo) es la media inferior demostrando que los tratamientos expuestos a hierro si acumularon este metal.

Rivera (2009), reporta un límite máximo de concentración foliar de hierro de 540 para la variedad Green salad bowl, lo que es inferior al reportado en esta investigación por los tratamientos, el T3 tiene la media superior de 654,67ppm de hierro.

Los tratamientos en los que se evaluaron el Abono de *Azolla filiculoides* con hiperacumulación de hierro tienen las medias más altas por lo que se considera que *Azolla* proporciona altas dosis de hierro de fácil y rápida asimilación, este participa activamente en el proceso fisiológico de la plata mostrando mejores resultados que los tratamientos sometidos a Fe-EDDHA.

Sánchez (2002), manifiesta que la eficacia de los distintos quelatos férricos

en
col
de

lato, las
también

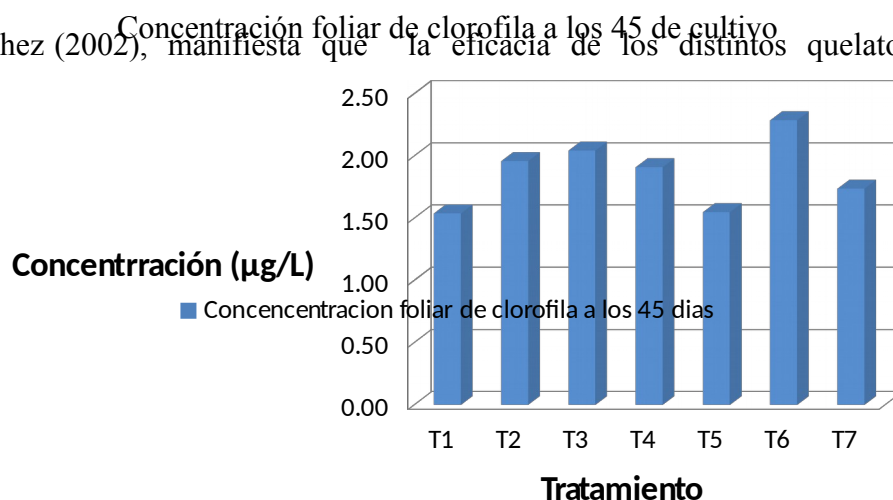


Figura 17.

El test de Levene a los 45 días después del trasplante tiene un $p > 0,05$ por lo cual se realizó el análisis de varianza al nivel del 95% de probabilidad estadística, con un $p < 0,05$ se encontraron diferencias significativas en los diferentes tratamientos resultando no ser estadísticamente similares. El promedio general fue de $1,8 \mu\text{g/L}$ y el coeficiente de variación fue de 5,47% (ver anexo 33).

Tabla 32. Prueba de Tukey al 5% de la concentración foliar de clorofila obtenido a los 45 días de cultivo.

Tratamiento	Medias	Rango
T6	2,29	A
T3	2,04	B
T2	1,96	BC
T4	1,91	C
T7	1,74	D
T5	1,55	E
T1	1,54	E

Elaborado por: Jorge Ruiz

El test de Tukey al 5% para la concentración de clorofila obtenido a los 45 días de cultivo

formo 5 grupos. El tratamiento T6 tiene la media más alta con $2,29 \mu\text{g/L}$ en el rango "A". A continuación el T3 con $2,04 \mu\text{g/L}$ en el rango "B", el T2 con $1,96 \mu\text{g/L}$ en el rango "BC", el T4 con $1,91 \mu\text{g/L}$ en el rango "C", el T7 con $1,74$ en el rango "D", el T5, T1 con $1,55; 154 \mu\text{g/L}$ en el "E". El T1 (testigo) es la media inferior demostrando que los tratamientos expuestos a hierro si propiciaron la formación de clorofila en el cultivo de lechuga.

El mejor resultado se obtuvo con la aplicación de EDDHA-Fe con dosis de 10mg por cada 2,5Kg de suelo, esto puede deberse a una mejora de la eficiencia fotosintética, habiéndose aumentado el contenido de clorofila en las hojas y por lo tanto haberse corregido la clorosis férrica foliar, dando a las hojas un color más verde comparado. Además es un quelato de alta calidad por el hecho de utilizar la molécula orto-orto EDDHA como agente quelatante. Esta molécula, a diferencia de las existentes en el mercado, se caracteriza por tener una elevada afinidad por el hierro y por su capacidad incluso para movilizar el hierro nativo del suelo transportándolo hasta la zona radicular [CITATION Sma12 \l 12298].

En segundo lugar se encuentra el T3 con abono de *Azolla* que tiene una media similar demostrando la aportación de hierro al cultivo y en la formación de clorofila ya que proporciona altas dosis de hierro de fácil y rápida asimilación, este participa activamente en el proceso fisiológico de la planta. Sánchez (2002), menciona que dentro de la acción fotosintética el hierro está asociado con la síntesis de proteína cloroplástica y su contribución en la formación de la molécula de clorofila y los demás compuestos que intervienen en esta reacción, por lo que asume que el Fe es un elemento esencial para la producción de energía para la planta.

Figura 18.

Elaborado por: Jorge Ruiz

4.2.4. Variación del rendimiento en función de la concentración de hierro presente en lechuga

De la gráfica se puede analizar el rendimiento en gramos por planta en función de la concentración en ppm de hierro, el rendimiento más bajo se obtuvo con el tratamiento T1 (testigo), los mejores rendimientos se obtuvieron con el T3, T4 y T7; se demostró así que el hierro mejora los procesos fisiológicos dando más producción y previniendo enfermedades especialmente la clorosis férrica.

Al analizar la variable rendimiento gramos por planta, se observó que existe una tendencia a mayor concentración de hierro aumenta el rendimiento total de la lechuga. El hierro forma parte de numerosos procesos enzimáticos, interviene en los procesos respiratorios de la planta, en la síntesis de la clorofila como catalizador, en la fotosíntesis y en la reducción de nitratos [CITATION Rin08 \l 12298]

Rojas (2003), mencionan que el quelato EDDHA-Fe tiene mayor capacidad para proporcionar Fe a las plantas por lo que cuando mayor sea el contenido en isómero orto-orto (posición de los dos hidroxilos en el anillo aromático) mejor será sus enlaces de coordinación del Fe con la molécula de agente quelante. La estabilidad es muy elevada, siendo eficaz en un intervalo amplio de pH 3 a 9.

CONCLUSIONES

El monitoreo realizado a las frondas de *Azolla filiculoides*, después de los 15 días de contacto mostró que las frondas a pesar de estar expuesta a concentraciones elevadas de hierro presenta alta eficiencia en sus mecanismos de tolerancia a la exposición.

Las fuentes de hierro probadas en la solución nutritiva, sulfato ferroso y E.D.T.A-Hierro produjeron hiperacumulación en el tejido de *Azolla filiculoides* Lam de los diferentes tratamientos superando el resultado obtenido por el testigo lo que muestra su validez en la selección abono orgánico.

El más alto promedio en acumulación de hierro por *Azolla* se registró en el tratamiento Tr10 con una concentración de 5165,3ppm, en un medio de cultivo compuesto con E.D.T.A-Hierro con una dosis de hierro de 10,4ppm, el mismo fue replicado para su evaluación en un cultivo de lechuga.

En el cultivo de lechuga realizado se pudo demostrar los diferentes comportamientos agronómicos, en gran manera por los efectos de la aplicación de hierro. Esta diferencia se puede interpretar claramente en los resultados experimentales expresados en gráficos, donde se notan las diferencias en cada una de las variables tomadas.

El porcentaje de prendimiento y sobrevivencia fue del 100% con tasas de mortalidad de cero demostrando un correcto manejo pre-post trasplante.

Todas las dosis de abonos orgánicos aplicados, superaron el rendimiento obtenido por el tratamiento testigo sin fertilizar

El abono de *Azolla* influye positivamente en el número de hojas, altura de la planta, largo y ancho de la cuarta hoja, longitud de la raíz, peso de la raíz, perímetro del tallo evaluadas al momento de la cosecha mostrando mejores resultados que los tratamientos sometidos a Fe-EDDHA comprobando la eficacia del abono orgánico.

El cultivo de lechuga presenta una tendencia, a mayor concentración foliar de hierro aumenta el rendimiento total de la planta. El más alto rendimiento se lo obtuvo con la aplicación Fe-EDDHA en dosis de 15mg/2,5Kde suelo pero no hay diferencias significativas respecto a los tratamientos T3 y T4 con *Azolla*.

Los tratamientos aplicados de abono con *Azolla* obtuvieron mayor concentración foliar de hierro por lo que se considera que el abono proporciona altas dosis de hierro de fácil y rápida asimilación.

Todos los tratamientos expuestos a fertilización con hierro tienen una concentración de clorofila superior al testigo. Los análisis foliares en las hojas exteriores de lechuga muestran que el hierro incide en la concentración de clorofila y presenta una tendencia a mayor concentración de hierro mayor contenido de clorofila.

El mejor tratamiento fue el T3 con una dosis de 2g de abono de *Azolla* hiperacumulada de hierro por cada 2,5Kg de suelo, el cual obtuvo la media más alta en cuanto al número de hojas a los 45 días; altura de la planta; longitud de la raíz, peso de la raíz, concentración foliar de hierro obtenida a los 45 días de cultivo

demostrando que el abono de *Azolla* mejora los cultivos de *Lactuca sativa* var. *Inybacea*.

El abono de *Azolla filiculoides* se puede utilizar para tratar suelos con déficit de hierro los cuales provocan la clorosis férrica en los cultivos.

RECOMENDACIONES

Probar el abono a partir de *Azolla* posterior al secado en diferentes dosis en suelos de diferente pH en cultivos de hortalizas u otros.

Buscar formas alternativas de fuente de hierro para cultivar *Azolla filiculoides* como residuos metálicos de las siderúrgicas.

Realizar una investigación relacionada con la utilización del abono orgánico a base del helecho *Azolla* combinado con otro tipo de abono como puede ser el Compost y el Humus, para determinar la eficiencia que tienen en un cultivo y en la conservación de suelo.

Se debe difundir a la sociedad las técnicas utilizadas en esta investigación para que puedan ser aplicadas en beneficio del sector agrícola.

LISTA DE REFERENCIAS

- Altieri, M. (2000). *Teoría y práctica para una agricultura sostenible*. Recuperado el 14 de Septiembre de 2014, de <http://www.ambiente.gov.ar/infoteca/descargas/altieri01.pdf>
- Annquímica. (2014). *Vademécum Agrícola*. Quito: Edifarm.
- Assche, F. (2000). Efecto de los metales en la actividad enzimática de las plantas. *Plant, Cell and Environment*, 195-206.
- Ballesteros, J. (2011). *Determinación de la eficacia de Azolla caroliniana como matriz de hiperacumulación de metales pesados cuantificados*. Recuperado el 23 de Febrero de 2014, de <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5046/1/UPS-QT02529.pdf>
- Barahona, M. (2000). Materia de horticultura. *Facultad de Ciencias Agropecuarias LASA*, 68-71.
- Bárcena, A. (2014). *Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas*. Recuperado el 21 de Diciembre de 2014, de http://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETR%C3%8DA.pdf
- Bertsch, F. (1995). *La Fertilidad de los suelos y su manejo*. San José: Boletín Técnico ACCS.
- Blanco, A., Alkorta, I., & Llama, M. (2005). *Bioteconología con Cianobacterias*. Recuperado el 14 de Diciembre de 2013, de http://www.escet.urjc.es/biodiversos/espaa/docencia/micro/micro_cianobacterias.pdf
- Brooks, R. (1998). *Geobotany and hyperaccumulators*. Wallingford: Cab International.
- Cabezas, O. (2010). *Aclimatación de 15 cultivares de lechuga (lactuca sativa), en el cantón riobamba, provincia de chimborazo*. Recuperado el 15 de Diciembre de 2014, de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/671/1/13T0694%20CABEZAS%20OMAR.pdf>

- Cabezas, R. (2011). *Relación simbiótica de Azolla-Anabaena para la producción de nitrógeno en ecosistemas acuáticos*. Recuperado el 13 de Octubre de 2014, de <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/1830/12/UPS-YT00098.pdf>
- Cadena, S. (2013). *Efecto de azolla sp., en la productividad y mejoramiento del suelo en la granja experimental yuyucocha, imbabura*. Recuperado el 3 de Diciembre de 2014, de <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/2068/1/03%20RNR%20164%20TESIS.pdf>
- Campillo, R. (2010). *La acidificación de los suelos, origen y mecanismos involucrados*. Recuperado el 12 de Diciembre de 2014, de <http://www2.inia.cl/medios/biblioteca/serieactas/NR33853.pdf>
- Chamorro, C. (2013). *Suelo: Maravilloso Teatro de la Vida*. Recuperado el 20 de Diciembre de 2014, de http://www.accefyn.org.co/revista/Vol_25/97/483-494.pdf
- Chen, Y., & Aviad, T. (1990). *Effects of humic substances on plant growth*. Chicago: Humic substances in Soil and Crop Sciences.
- Cortez, G. (2010). *Corrección de clorosis ferrica*. Recuperado el 16 de Diciembre de 2014, de http://www.biblio.colpos.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/10521/335/Cortez_Hernandez_G_MC_EDAR_2010.pdf?sequence=1
- Cunningham, S., Berti, W., & Huang, J. (1997). Fitorremediación de suelos contaminados. *Plant Science*, 21-28.
- Espinoza, Y., & Gutiérrez, R. (2003). Variabilidad intraespecífica de *Azolla filiculoides*, colectadas en la zona centro-occidental de Venezuela. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*, 156-167.
- FAO. (2002). *Manejo Agronómico*. Recuperado el 14 de Marzo de 2014, de <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/a1359s/a1359s03.pdf>
- Fernández, J., Ruiz, G., & Rodríguez, R. (1998). La biorremediación como alternativa al tratamiento de suelos contaminados. *Avance y Perspectiva*, 293-302.
- Fernández, M. (2013). *Efecto de diferentes niveles de aireación de la solución nutritiva sobre el crecimiento y la calidad de canónigos y berros cultivados en bandejas flotantes*. Recuperado el 4 de Diciembre de 2014, de <http://repositorio.bib.upct.es:8080/jspui/handle/10317/3130>
- Flathman, P. (1998). Fitorremediación: punto de vista de una tecnología verde emergente. *Soil Contamination*, 415-432.
- Freire, R. (2012). *Evaluación del potencial biofertilizante de tres consorcios de Cianobacterias en el crecimiento y valor nutricional de Pasto Ryegrass anual (Lolium multiflorum) a nivel de Cámara de invernadero*. Recuperado el 15 de Abril de 2014, de <http://repositorio.espe.edu.ec/xmlui/handle/21000/5557>

- Galván, G. (2005). *Cultivo de hoja*. Recuperado el 13 de Noviembre de 2013, de http://www.fagro.edu.uy/~horticultura/CURSO%20HORTICULTURA/CULTIVOS_HOJA/Cultivos%20de%20Hoja%20Ecofisiolog%EDa.pdf
- González, M., & Guerrero, S. (2005). *Estudio de los mecanismos implicados en la homeostasis de metales pesados en el hongo formador de Micorrizas arbusculares Glomus intraradices*. Recuperado el 25 de Julio de 2014, de <http://digibug.ugr.es/bitstream/10481/626/1/15432440.pdf>
- Guamán, R. (2010). *Estudio bioagronómico de 10 cultivares de lechuga*. Recuperado el 15 de Noviembre de 2014, de <http://dspace.espoeh.edu.ec/bitstream/123456789/313/1/TESIS.pdf>
- Guzmán, G. (2004). *Hidroponía en casa*. Recuperado el 12 de Octubre de 2014, de http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_ciencia/Hidroponia.pdf
- Hannaford, P. (2010). *AAS Biographical Memoirs*. Sidney: Australian Academy of Science.
- Hansmann, L. (2014). *Extracción y determinación de clorofilas totales de material vegetal*. Recuperado el 22 de Noviembre de 2014, de <http://www.ual.es/~jlguil/Programas/Practicas%20Extractivas.PDF>
- Hydroenv. (2014). *La importancia de monitorear y regular el pH*. Recuperado el 15 de Febrero de 2014, de http://www.hydroenv.com.mx/catalogo/index.php?main_page=page&id=34&chapter=2
- Inpofos. (1997). *Manual Internacional de la Fertilidad del Suelo*. Quito: Instituto de la Potasa y el Fosfato.
- Jaramillo, J. (1995). *Producción de hortalizas en el Departamento de Antioquia*. Bogotá: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria.
- Lara, M., Vásquez, A., & Olivares, S. (2004). Tolerancia a la Clorosis Ferrica de diferentes Cultivares de Frijol en Suelos Calcáreos. *Fitotécnica Mexicana*, 43-47.
- Las Eras, J. (2011). *Azolla Caroliniana*. Recuperado el 7 de Enero de 2015, de <http://www.atlasdrpez.ar/acuarioaguadulce/plantasdeaguadulceplanbtasflotantes/azolla/2010>
- Mallar, A. (1998). *La lechuga*. Recuperado el 23 de Noviembre de 2014, de <http://cultivodelalechuga.blogspot.com/2011/03/revision-de-literatura.html>
- Maroto, J., & García, A. (2010). *La lechuga y la escarola*. Valencia: Fundación Ediciones Mundi-Prensa.
- Marschner, H. (1995). *Mineral nutrition of higher plants*. London: Academic Press Inc.
- McCarthy, G. (2012). *Alan Walsh and the First Atomic Absorption Spectrometer*. Sidney: Encyclopedia of Australian Science.

- Montaño, J. (2005). Estudio de la aplicación de Azolla Anabaena como bioabono en el cultivo de arroz en el Litoral ecuatoriano. *Revista Tecnológica Espol*, 147-151.
- Montaño, M. (2010). *Proyecto Azolla*. Guayaquil: Instituto de Ciencias Químicas y Ambientales de la Escuela Superior Politécnica del Litoral.
- Navarro, B. (2003). *Química Agrícola: El suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal*. Madrid: Mundi-Prensa.
- Ordoñez, P. (2010). *Eficacia de la aplicación edáfica de tres quelatos de hierro con dos dosis, en la producción de rosas de corte (rosa sp), variedad orange unique*. Recuperado el 19 de Diciembre de 2014, de <http://dspace.espech.edu.ec/handle/123456789/653?mode=full>
- Pachacama, S. (2011). *Aplicación de un consorcio de hongos Micorrízicos arbusculares (HMA) y su evaluación como posible biofertilizante en el cultivo de cebada (Hordeum vulgare, Variedad cañicapa) en la hacienda Aychapicho. Machachi - Ecuador*. Recuperado el 13 de Febrero de 2014, de <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/3503/1/T-ESPE-031212.pdf>
- Perez, F., & Martinez, J. (1994). *Introducción a la fisiología vegetal*. Madrid: Mundi Prensa.
- Piaggese, A. (2004). *Los microelementos en la nutrición vegetal*. Lanciano: Valagro.
- Ramirez, F. (1998). *Muestreo de suelos para diagnóstico de fertilidad*. San José: Boletín Técnico ACCS.
- Rincon, L. (2008). *La fertirrigación de la lechuga*. Recuperado el 6 de Enero de 2015, de <http://www.precirieg.net/documentacion/lechugaIceberg.pdf>
- Rivera, V. (2009). *Efecto de la aplicación de dos fuentes de hierro en solución nutritiva y foliar sobre el rendimiento de dos cultivares de lechuga (Lactuca sativa L.)*. Obtenido de <http://repositorio.educacionsuperior.gob.ec/bitstream/28000/958/1/P-SENESCYT-0027.pdf>
- Rodríguez, C., & Sevillano, F. (1984). *La fijación de nitrógeno atmosférico, una biotecnología en la producción agraria*. Salamanca: Instituto de recursos naturales y agro biología española.
- Rojas, I. (2003). *Eficacia de los isómeros orto-orto y orto- para del Fe-EDDHA en plantas cultivadas en solución nutritiva o en suelo calcáreos*. Recuperado el 15 de Diciembre de 2014, de <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2347262>
- Sanches, A. (2009). *Mejora en la eficacia de los quelatos de hierro sintéticos a través de sustancias húmicas y aminoácidos*. Recuperado el 12 de Enero de 2015, de [file:///C:/Users/User/Downloads/S%C3%A1nchez%20%C3%A1nchez,%20Antonio%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/User/Downloads/S%C3%A1nchez%20%C3%A1nchez,%20Antonio%20(2).pdf)

- Sánchez, A. (2002). *Mejora en la eficacia de los quelatos de hierro sintéticos a través de sustancias*. Recuperado el 22 de Octubre de 2014, de http://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/10120/4/S%C3%A1nchez%20S%C3%A1nchez,%20Antonio_3.pdf
- Sanz, M., Cavero, J., & Abadía, J. (1992). *Iron chlorosis in Ebro river*. Madrid: Plant Nutr.
- Scagel, R. (1996). *Un estudio evolutivo del Reino Vegetal*. Málaga: Wadsworth.
- Shaw, J. (2000). *Tolerancia de metales pesados por las plantas*. Chicago: Crc Press.
- Sigrago. (2005). *Lechuga*. Recuperado el 23 de Septiembre de 2014, de <http://www.sica.gov.ec/agronegocios/Biblioteca/Convenio%20MAG%20IIICA>
- Smart. (2012). *El hierro en las planta*. Recuperado el 2 de Junio de 2014, de <http://www.smart.fertilizer.com/articulos/hierro>
- Suárez, J. (2005). *Las plantas acuaticas en un contexto de aprovechamiento de los recursos naturales*. Recuperado el 6 de Enero de 2015, de <http://payfo.ihatuey.cu/Revista/v21n1/pdf/pyf01198>
- Suquilanda, M. (1995). *Nuestro pequeño huerto, con método orgánico intensivo*. Quito: Editorial Abaya Ayala.
- Suquilanda, M. (1996). *Serie de agricultura orgánica*. Quito: UPS ediciones.
- THC. (2014). *Esterilización y reciclamiento de la tierra para cultivo en macetas*. Recuperado el 23 de Noviembre de 2014, de <http://forothc.com/cultivo-basico/2200-esterilizaci%F3n-y-reciclamiento-de-la-tierra-para-cultivo-en-macetas.html#.VMC6KcKSz7Q>
- Tiscornia, J. (1998). *Hortalizas de hoja*. Buenos Aires: Albatro.
- UNAD. (2010). *Curso de Biología*. Recuperado el 8 de Diciembre de 2013, de http://www.unad.edu.co/curso_biologia/evaluacion.htm
- Valdez, A. (1994). *Producción de Hortalizas*. Mexico D.F.: Limusa.
- Wunderground. (2011). *Condiciones climatológicas*. Recuperado el 21 de Noviembre de 2014, de <http://espanol.wunderground.com/history/airport/SEQU/2011/2/1/MonthlyHistory.html>

ANEXOS

Anexo 1. Criterios para la toma correcta de muestras de suelo

Criterio	Observación
1. Selección del área: Topografía Límites naturales Vegetación o cultivo Manejo Color Textura	Se escogen áreas con características similares de topografía, con un mismo cultivo o variedad, con un manejo similar (riego, sombra, poda, sistema de siembra). Un límite natural como un camino o un río pueden separar lotes. Suelos con color y textura similar
2. Tamaño de lotes Cultivos perennes Cultivos intensivos Cultivos extensivos	En frutales y otros perennes: 2 y 10 has. En cultivos intensivos como hortalizas, ornamentales y flores: menos de 2 has Cultivos extensivos en riego por goteo como melón y sandía: 2-5 has Cultivos extensivos como arroz, pastos y banano : 5-10 has Cultivos extensos y homogéneos (caña de azúcar, palma, forestales): 10-20 has
3. Número y tamaño de submuestras Número de submuestras Tamaño de submuestras	Mínimo 15 submuestras, se mezclan entre sí y se selecciona 0.5 kg para análisis Profundidad para mayoría de cultivos: 0-20 cm Pastos: 7-10 cm Cultivos perennes y forestales: 0-20 cm y 20-40 cm
4. Sitio de muestreo Área de aplicación de fertilizante Entrecalle	Aleatorio en zig zag Banda de fertilización: 10-50 cm de planta en cultivos de hortalizas, y perennes de alta densidad Zona de rodaja en perennes y forestales No muestrear sitios recién fertilizados o encalados (<1 mes), caminos, trillos, cerca de edificios, áreas encharcadas Riego por goteo: zona media entre el gotero y el extremo del bulbo de humedecimiento
5. Época de muestreo Antes de siembra Áreas sembradas	1-2 meses antes de sembrar para contar con tiempo suficiente para correcciones Poco antes de inicio de lluvias Pastos: después del pastoreo Frecuencia de muestreo: 1-3 años, depende de fertilidad
6. Identificación Nombre empresa Ubicación Cultivo Lote o sección, fecha	Utilizar bolsas plásticas Muestras de suelo no se deterioran si pasa un tiempo prudencial sin ser enviadas al laboratorio
7. Tipo de análisis	Rutina: pH, Acidez intercambiable, Ca, Mg, K, P, S, Fe, Cu, Zn, Mn Muestreo primera vez: rutina + textura, materia orgánica Clasificación: anteriores + CIC y bases en acetato de amonio, densidad aparente y de partículas, curvas de retención de humedad Riego por goteo: rutina + conductividad eléctrica

Fuente: Ramírez, 1998

Anexo 2. Medición del pH, conductividad y oxígeno disuelto en los diferentes tratamientos cada 5 días por tres veces

Primer medio						
Tratamiento	Siembra			5 Días después		
	pH	Conductividad (µs/cm)	Oxígeno (mg/L)	pH	Conductividad (µs/cm)	Oxígeno (mg/L)
Tr1	6,05	10,00	5,74	5,70	28,00	6,10
Tr2	3,21	2239,00	5,74	2,80	2725,00	6,31
Tr3	3,22	2229,00	5,74	2,82	2714,00	6,17
Tr4	3,23	2221,00	5,74	2,83	2711,00	6,07
Tr5	3,25	2210,00	5,74	2,54	2701,00	6,19
Tr6	3,31	2175,00	5,74	2,91	2628,00	6,13
Tr7	3,35	2126,00	5,74	2,95	2550,00	6,07
Tr8	3,41	2090,00	5,74	3,01	2470,00	6,23
Tr9	3,46	2048,00	5,74	3,04	2390,00	6,15
Tr10	3,55	1992,00	5,74	3,10	2320,00	5,97

Elaborado por: Jorge Ruiz

Segundo medio						
Tratamiento	Siembra			5 Días después		
	pH	Conductividad (µs/cm)	Oxígeno (mg/L)	pH	Conductividad (µs/cm)	Oxígeno (mg/L)
Tr1	6,06	12,00	5,89	5,65	24,50	6,18
Tr2	3,20	2238,00	5,89	2,81	2723,00	6,48
Tr3	3,21	2227,00	5,89	2,83	2712,00	6,51
Tr4	3,23	2219,00	5,89	2,84	2709,00	7,08
Tr5	3,25	2207,00	5,89	2,55	2699,00	6,50
Tr6	3,32	2056,00	5,89	2,92	2626,00	6,45
Tr7	3,36	2089,00	5,89	2,96	2548,00	6,42
Tr8	3,42	2114,00	5,89	3,02	2468,00	6,41
Tr9	3,47	2139,00	5,89	3,05	2388,00	6,33
Tr10	3,54	2164,00	5,89	3,11	2318,00	6,18

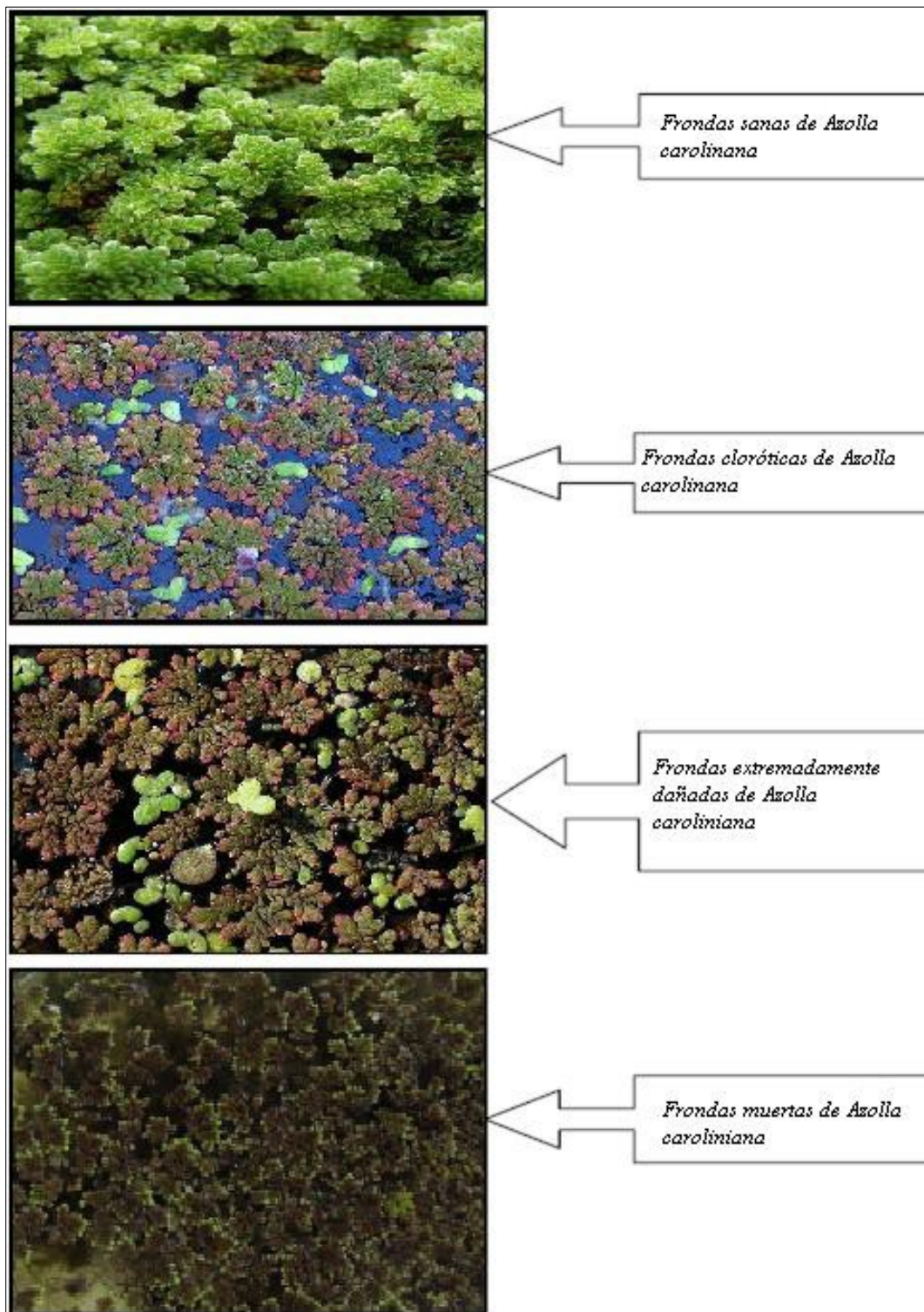
Elaborado por: Jorge Ruiz

Tercer medio						
Tratamiento	Siembra			5 Días después		
	pH	Conductividad (µs/cm)	Oxígeno (mg/L)	pH	Conductividad (µs/cm)	Oxígeno (mg/L)
Tr1	5,96	12,50	5,78	5,53	24,00	6,065

Tr2	3,22	2241,00	5,78	2,79	2727,00	6,37
Tr3	3,23	2231,00	5,78	2,81	2716,00	6,40
Tr4	3,24	2223,00	5,78	2,82	2713,00	6,97
Tr5	3,26	2212,00	5,78	2,53	2703,00	6,39
Tr6	3,32	2177,00	5,78	2,90	2630,00	6,34
Tr7	3,36	2128,00	5,78	2,94	2552,00	6,31
Tr8	3,42	2092,00	5,78	3,00	2472,00	6,30
Tr9	3,47	2050,00	5,78	3,03	2392,00	6,22
Tr10	3,56	1994,00	5,78	3,09	2322,00	6,07

Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 3. Guía para diferenciar daños en las frondas de *Azolla filiculoides* expuesta a metales pesados



Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 4. Método Berghof de digestión para plantas seca

MICROWAVE DIGESTION OF DRIED PLANTS

Summary Dried plants are digested in a acid solution using a Berghof microwave digestion system

Equipment	Type	Manufacturer
	MWS-2	Berghof Products + Instruments, Germany
	DAP-60K	Berghof Products + Instruments, Germany

Reagents HNO₃ 65%

Procedure Weigh 300 mg of the sample into the digestion vessel and add 5 ml of nitric acid. Shake the mixture carefully or stir with a clean teflon or glass bar. Wait at least 20 min. before the vessel is closed. Heat in the microwave oven with the following program.

Temperature Program	Step	1	2	3	4
	T [°C]	145	190	100	
	Power* [%]	75	90	40	
	Time [min]	5	10	10	

To avoid foaming and splashing wait until the vessels have cooled to room temperature (about 20 min). Carefully open the digestion vessel in a fume hood wearing hand, eye and body protection since a large amount of gas will be produced during the digestion process.

Results Clear solution

Notes: This application serves only as a guide line and may need to be optimised for your sample.

*This application is outlined for 10 samples. Increase or decrease the power by 10% per sample, when using more or less samples. Minimum power is 40% independent of the sample number.

Berghof Products + Instruments GmbH
Laboratory Technology

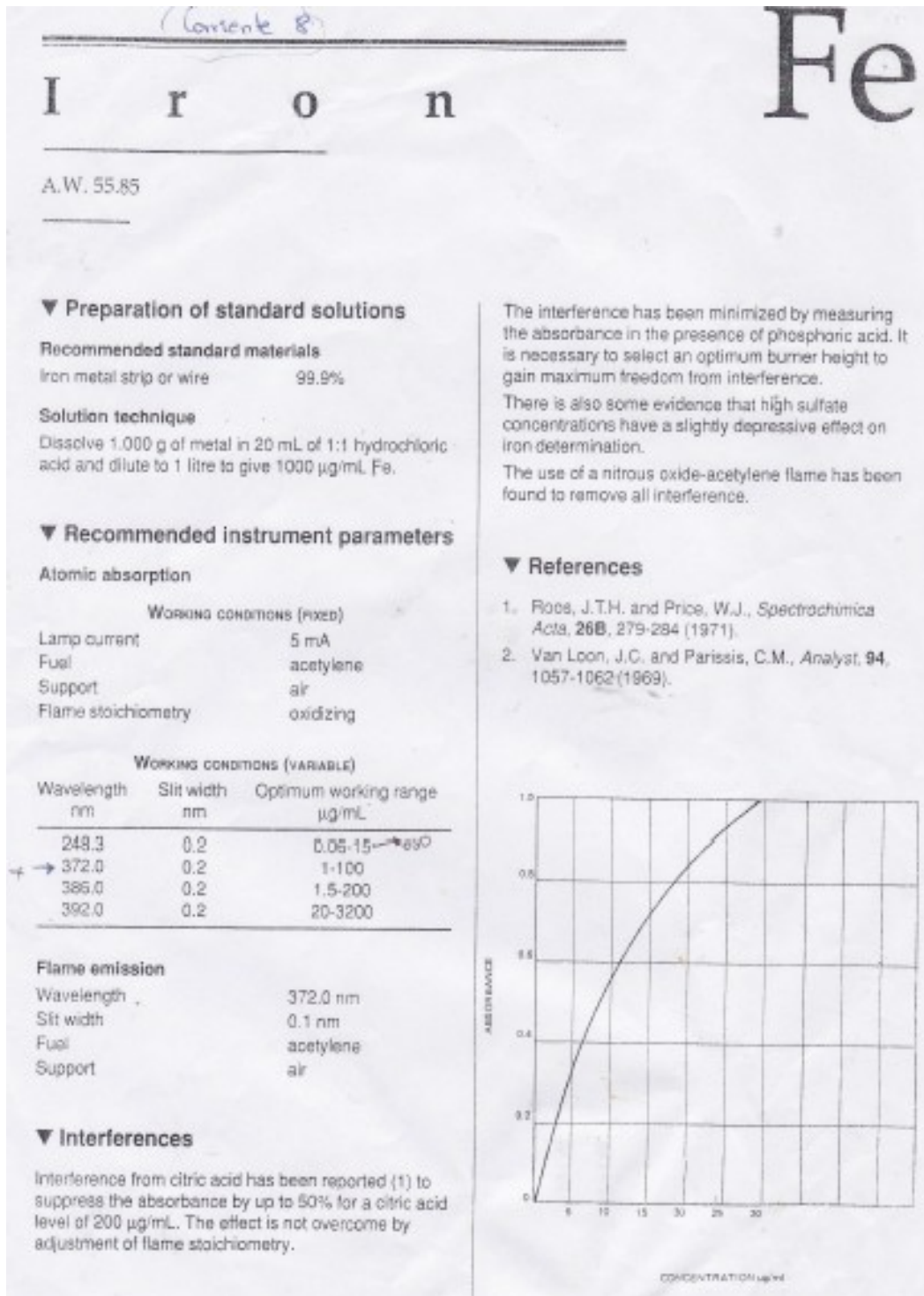
Harretstr. 1 • 72800 Eningen • Germany
Tel.: +49 7121 894-0 • Fax: +49 7121 894-300
<http://www.berghof-instruments.de>

Contact:
E-Mail: info@berghof-instruments.de



Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 5. Metodología de análisis de hierro en Espectrofotometría de absorción atómica



Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 6. Estación Experimental Salache de la Universidad Técnica de Cotopaxi en Latacunga



Elaborado por: Jorge Ruiz



Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 7. Descripción de Fe-EDDHA Libfer SP de la marca Basf

08_100205e-00 May 2010		Page 2 of 4		LibFer SP										
Product Information														
Product Type	Micronutrient fertiliser conforming to the definition of an "EC FERTILISER".													
Description	A soluble powder formulation of ferric ethylenediamine bis-(2-hydroxyphenyl acetate) (FeEDDHA).													
Intended Use	<ul style="list-style-type: none"> • For the treatment of iron deficiency in crops and ornamentals growing in highly alkaline and calcareous soils. • As a micronutrient source in hydroponics, liquid feed solutions and soilless growing media. 													
Typical Analysis			<table border="1"> <tr> <td>Water soluble iron (as Fe):</td> <td colspan="2">6.00% w/w</td> </tr> <tr> <td>Iron chelated by EDDHA (as Fe):</td> <td colspan="2">5.70% w/w minimum</td> </tr> <tr> <td>Iron chelated by 'o' - 'o' EDDHA (as Fe)</td> <td colspan="2">4.00% w/w</td> </tr> </table>			Water soluble iron (as Fe):	6.00% w/w		Iron chelated by EDDHA (as Fe):	5.70% w/w minimum		Iron chelated by 'o' - 'o' EDDHA (as Fe)	4.00% w/w	
Water soluble iron (as Fe):	6.00% w/w													
Iron chelated by EDDHA (as Fe):	5.70% w/w minimum													
Iron chelated by 'o' - 'o' EDDHA (as Fe)	4.00% w/w													
Analytical Method	Available on request													
Appearance	Dark red/black spray agglomerated microgranule													
PRD-No.	30483218													
Solubility (in water)	-120 g/l (at 20 °C)													
Specification	See separate document: "Standard Specification" available via BASF's WorldAccount: https://worldaccount.basf.com (registered access).													
Packaging	Detailed information on the packaging is available via BASF's WorldAccount: https://www.worldaccount.basf.com (registered access).													
Storage	LibFer SP will store indefinitely under normal conditions. For user convenience it is recommended that the product is stored in a dry place. Re-seal partly used packs tightly.													
Transport Precautions	No special precautions are necessary for transport by air, sea, rail or road.													
Harmonised Tariff No.	3105-9099-90													
Health & Safety	Detailed information on the product described in this leaflet can be found in our relevant Health and Safety Information (Material Safety Data Sheet) available via BASF's WorldAccount: https://worldaccount.basf.com (registered access).													

Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 8. Certificado de identificación botánica de *Azolla filiculoides* Lam.

Quito, 19 de Agosto del 2014

CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN

El espécimen examinado corresponden a:

***Azolla filiculoides* Lam.**

- Clase: Equisetopsida C. Agardh
- Subclase: Polypodiidae Cronquist, Takht. & W. Zimm.
- Orden: Salviniales Link
- Familia: Salviniaceae Martinov
- Género: *Azolla* Lam.
- Especie: *filiculoides* Lam.
- Nombre común: helecho de agua


Alvaro J. Pérez Castañeda
Curador de Angiospermas Herbario QCA



Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 9. Concentración de hierro medido en *Azolla filiculoides* medido por EAA con 6 réplicas por muestra

Tratamiento	Repetición	Concentración de hierro en ppm de <i>Azolla filiculoides</i> medidos en EAA						Promedio de la repetición
		Replica en el EAA de cada muestra						
1	1	600	500	500	533	500	567	533,3
1	2	433	467	433	467	433	500	455,6
1	3	533	433	467	467	500	433	472,2
1	4	500	467	533	500	500	500	500,0
1	5	533	500	500	567	433	500	505,6
1	6	500	567	433	467	500	533	500,0
1	7	500	467	533	500	600	433	505,6
1	8	500	467	533	500	500	500	500,0
2	1	433	467	533	567	400	700	516,7
2	2	567	533	533	500	500	567	533,3
2	3	400	467	533	533	600	433	494,4
2	4	500	533	467	533	533	467	505,6
2	5	500	433	533	433	433	533	477,8
2	6	533	567	400	467	533	533	505,6
2	7	500	467	533	533	533	433	500,0
2	8	500	467	533	567	400	500	494,4
3	1	767	800	733	667	700	700	727,8
3	2	767	567	633	633	700	667	661,1
3	3	767	700	667	633	633	700	683,3
3	4	567	633	633	667	633	633	627,8
3	5	700	733	667	633	633	800	694,4
3	6	700	633	733	700	733	800	716,7
3	7	733	667	633	633	600	700	661,1
3	8	700	633	633	767	733	700	694,4
4	1	1067	1033	967	1100	1067	1000	1038,9
4	2	933	900	833	967	933	867	905,6
4	3	800	833	900	867	767	833	833,3
4	4	833	967	867	800	867	933	877,8
4	5	800	833	900	967	900	967	894,4
4	6	900	967	1033	967	1033	967	977,8
4	7	833	933	967	933	933	833	905,6
4	8	900	967	900	967	967	1000	950,0
5	1	1167	1100	1033	1033	1067	1133	1088,9
5	2	1100	1133	1100	1167	1033	1167	1116,7
5	3	1100	1033	1033	1167	1100	1000	1072,2
5	4	1167	1000	1100	1033	1033	1167	1083,3
5	5	967	1100	1033	1033	1000	1167	1050,0
5	6	1167	1100	1033	1167	1200	1133	1133,3
5	7	1167	1100	1267	1233	1100	1167	1172,2
5	8	1033	967	933	1100	1000	933	994,4
6	1	533	600	800	467	500	933	638,9

6	2	533	767	567	533	833	800	672,2
6	3	600	667	800	767	767	833	738,9
6	4	667	700	733	800	667	767	722,2
6	5	733	800	400	700	833	1167	772,2
6	6	567	667	767	733	733	800	711,1
6	7	700	767	633	700	833	600	705,6
6	8	667	700	733	800	833	767	750,0
7	1	1267	1067	1100	833	833	933	1005,6
7	2	900	1033	967	967	867	1100	972,2
7	3	1067	967	1100	1000	1033	1133	1050,0
7	4	967	1000	1100	967	1000	1067	1016,7
7	5	933	967	1100	900	933	933	961,1
7	6	867	1000	933	1000	967	1100	977,8
7	7	933	1033	1033	933	900	1067	983,3
7	8	1167	1067	1100	867	900	933	1005,6
8	1	2400	2267	2300	2367	2467	2267	2344,4
8	2	2267	2367	2433	2433	2267	2333	2350,0
8	3	2300	2467	2500	2400	2267	2400	2388,9
8	4	2233	2400	2300	2333	2267	2300	2305,6
8	5	2367	2333	2300	2367	2400	2333	2350,0
8	6	2333	2300	2367	2433	2300	2333	2344,4
8	7	2300	2300	2433	2433	2233	2400	2350,0
8	8	2367	2333	2467	2400	2367	2467	2400,0
9	1	3500	3600	3433	3433	3500	3500	3494,4
9	2	3433	3400	3500	3600	3567	3367	3477,8
9	3	3300	3433	3467	3500	3433	3367	3416,7
9	4	3600	3533	3467	3500	3433	3600	3522,2
9	5	3533	3500	3567	3600	3400	3600	3533,3
9	6	3633	3567	3533	3567	3500	3600	3566,7
9	7	3500	3533	3467	3533	3500	3467	3500,0
9	8	3500	3400	3533	3567	3567	3433	3500,0
10	1	5033	5100	5133	5167	5200	5267	5150,0
10	2	5267	5133	5167	5167	5067	5100	5150,0
10	3	5333	4933	5167	4900	5767	4700	5133,3
10	4	5167	5100	5267	5100	5233	5200	5177,8
10	5	5067	5200	5567	5233	5333	4967	5227,8
10	6	5067	5100	5133	5167	5033	5033	5088,9
10	7	5167	5200	5267	5100	5200	5200	5188,9
10	8	5233	5200	5267	5200	5200	5133	5205,6

Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 10 . Concentración promedio de hierro por tratamiento con intervalos de confianza derivados de la distribución t de Student al 95% medido en *Azolla filiculoides*

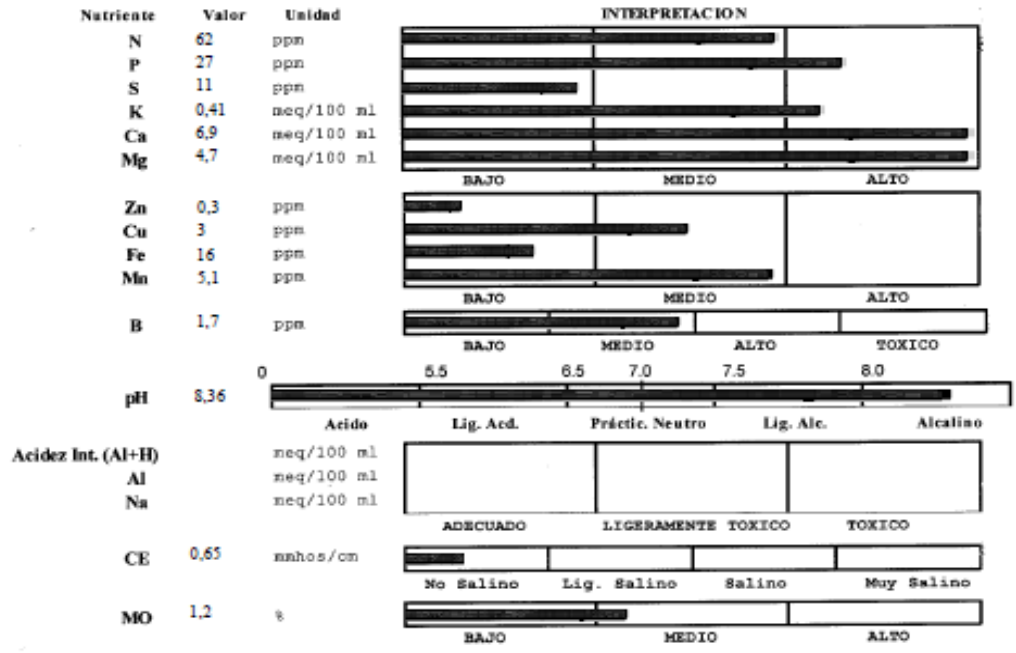
Tratamiento	Promedio	Concentración de hierro en cada repetición (ppm)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
1	496,5±19,5	533,3	455,6	472,2	500	505,6	500	505,6	500
2	505,6±13,8	516,7	533,3	494,4	505,6	477,8	505,6	500	494,4
3	683,3±27,2	727,8	661,1	683,3	627,8	694,4	716,7	661,1	694,4
4	922,9±53,5	1038,9	905,6	833,3	877,8	894,4	977,8	905,6	950
5	1088,9±45,2	1088,9	1116,7	1072,2	1083,3	1050	1133,3	1172,2	994,4
6	713,9±35,5	638,9	672,2	738,9	722,2	772,2	711,1	705,6	750
7	996,5±24,1	1005,6	972,2	1050	1016,7	961,1	977,8	983,3	1005,6
8	2354,2±24,3	2344,4	2350	2388,9	2305,6	2350	2344,4	2350	2400
9	3501,4±36,7	3494,4	3477,8	3416,7	3522,2	3533,3	3566,7	3500	3500
10	5165,3±36,8	5150	5150	5133,3	5177,8	5227,8	5088,9	5188,9	5205,6

Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 11. Reporte del análisis de suelo realizado por la Estación Experimental Santa Catalina INIAP

REPORTE DE ANALISIS DE SUELOS

<p style="text-align: center;">DATOS DEL PROPIETARIO</p> <p>Nombre : JORGE RUIZ Dirección : LATACUNGA Ciudad : Teléfono : Fax :</p>	<p style="text-align: center;">DATOS DE LA PROPIEDAD</p> <p>Nombre : Provincia : COTOPAXI Cantón : LATACUNGA Parroquia : Ubicación :</p>
<p style="text-align: center;">DATOS DEL LOTE</p> <p>Cultivo Actual : Cultivo Anterior : Fertilización Ant. : Superficie : Identificación :</p>	<p style="text-align: center;">PARA USO DEL LABORATORIO</p> <p>N° Reporte : 37.308 N° Muestra Lab. : 99683 Fecha de Muestreo : 15/10/2014 Fecha de Ingreso : 16/10/2014 Fecha de Salida : 27/10/2014</p>



Ca	Mg	Ca+Mg	(meq/100ml)	%	ppm	Clase Textural (%)		
Mg	K	K	Σ Bases	NTot	Cl	Areca	Limo	Arcilla


RESPONSABLE LABORATORIO


LABORATORISTA



LABORATORIO DE MANEJO DE SUELOS Y AGUAS - E.E.S.C.
Teléfono: 26590-694
Correo electrónico: laboratorio@iniaz.gov.ec

Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 12. Evaluación de los parámetros de crecimiento en Lechuga en cada repetición

Id.	Tratamiento	Número de Hojas			Altura de la planta (cm)			Ancho de la cuarta hoja (cm)			Largo de la cuarta hoja (cm)			Longitud de raíz (cm)	Perímetro del tallo (cm)	Rendimiento (g/pl)	Peso de raíz (cm)	Peso del follaje (cm)	Concentración de hierro (ppm)	Concentración de clorofila (µg/L)
		15 días	45 días	Últimos 30 días	15 días	45 días	Últimos 30 días	15 días	45 días	Últimos 30 días	15 días	45 días	Últimos 30 días	45 días	45 días	45 días	45 días	45 días	45 días	45 días
1	T1	6	19	13	8,2	15,0	6,8	5,0	5,5	0,5	10,5	12,0	1,5	17,0	3,2	35,4	12,4	22,9	533,3	1,60
2	T1	6	20	14	9,0	15,0	6,0	5,2	6,0	0,8	11,0	12,0	1,0	17,0	3,5	34,0	11,5	22,5	533,3	1,56
3	T1	6	19	13	8,0	14,8	6,8	4,9	5,0	0,1	11,0	12,0	1,0	16,4	3,4	35,0	12,6	22,4	466,7	1,60
4	T1	7	21	14	8,7	15,6	6,9	5,3	5,6	0,3	10,5	12,0	1,5	17,0	3,3	36,0	12,8	23,2	600,0	1,55
5	T1	6	20	14	8,2	14,5	6,3	4,6	5,3	0,7	10,5	11,6	1,1	16,4	3,2	34,9	11,4	23,5	600,0	1,60
6	T1	7	21	14	8,3	15,5	7,2	4,7	5,5	0,8	10,8	11,8	1,0	16,6	3,1	34,2	12,1	22,1	600,0	1,68
7	T1	5	18	13	7,4	13,5	6,1	4,0	4,8	0,8	9,8	10,8	1,0	15,8	2,9	32,4	10,2	22,5	400,0	1,45
8	T1	5	18	13	7,5	13,5	6,0	4,0	4,7	0,7	9,8	10,8	1,0	15,9	3,0	31,3	10,5	20,8	400,0	1,48
9	T1	7	21	14	9,0	15,0	6,0	6,0	7,0	1,0	11,0	12,0	1,0	17,0	3,2	36,0	12,0	24,0	600,0	1,64
10	T1	5	18	13	7,4	13,0	5,6	4,0	4,5	0,5	9,8	10,8	1,0	15,8	2,8	32,5	10,0	22,4	466,7	1,40
11	T1	5	18	13	7,5	13,5	6,0	3,8	4,9	1,1	9,8	11,0	1,2	15,8	2,8	32,0	10,0	22,0	466,7	1,30
12	T1	8	20	12	10,0	16,0	6,0	4,7	5,5	0,8	11,0	12,5	1,5	18,0	3,3	36,3	12,8	23,3	666,7	1,70
13	T1	5	18	13	7,6	13,6	6,0	3,9	4,9	1,0	10,0	11,0	1,0	15,0	2,8	30,7	10,0	20,9	466,7	1,47
14	T1	6	21	15	7,9	14,0	6,1	4,2	5,0	0,8	10,5	11,6	1,1	15,0	3,0	30,8	10,0	20,8	440,0	1,43
15	T1	7	21	14	9,0	15,0	6,0	5,8	6,0	0,2	11,0	12,0	1,0	17,0	3,2	36,0	11,5	24,5	600,0	1,64
16	T2	6	22	16	8,6	15,2	6,6	5,5	6,5	1,0	11,9	13,7	1,8	18,6	3,1	35,2	11,6	23,5	646,7	1,97
17	T2	6	22	16	9,0	16,0	7,0	6,0	6,9	0,9	12,0	14,0	2,0	19,0	3,2	36,0	12,0	24,0	666,7	2,00
18	T2	6	21	15	8,0	15,0	7,0	5,0	6,1	1,1	11,5	14,0	2,5	18,0	3,0	34,0	10,0	24,0	533,3	1,85
19	T2	6	20	14	7,5	14,5	7,0	5,0	6,0	1,0	11,2	13,1	1,9	17,9	3,0	34,2	10,2	24,2	600,0	1,89
20	T2	5	20	15	7,7	14,4	6,7	4,8	5,9	1,1	10,9	12,8	1,9	17,5	3,0	34,0	10,5	23,4	533,3	1,81
21	T2	6	21	15	8,6	15,2	6,6	5,5	6,5	1,0	11,9	13,7	1,8	18,6	3,1	34,0	12,0	22,0	666,7	1,97
22	T2	7	22	15	9,0	16,0	7,0	6,0	7,0	1,0	12,0	14,0	2,0	19,0	3,3	36,0	12,0	24,0	666,7	2,00
23	T2	8	23	15	9,2	16,4	7,2	6,0	7,1	1,1	12,5	14,0	1,5	19,5	3,4	37,0	12,5	24,5	733,3	2,10
24	T2	8	22	14	9,1	16,3	7,2	5,9	7,0	1,1	12,5	13,7	1,2	19,3	3,3	36,5	12,4	24,4	733,3	2,05
25	T2	7	22	15	9,0	16,0	7,0	6,0	7,0	1,0	12,0	14,0	2,0	19,0	3,3	36,0	12,0	24,0	666,7	2,00
26	T2	6	21	15	8,0	15,0	7,0	5,0	6,0	1,0	11,5	13,0	1,5	18,0	3,0	34,0	11,0	23,0	600,0	1,85
27	T2	5	20	15	7,7	14,4	6,7	4,8	5,9	1,1	10,9	12,8	1,9	17,5	3,0	34,0	11,5	22,5	533,3	1,81
28	T2	7	23	16	9,0	14,5	5,5	6,3	7,0	0,7	12,2	14,4	2,2	19,5	3,3	36,0	13,0	23,0	733,3	2,10
29	T2	6	24	18	9,0	14,9	5,9	5,0	6,0	1,0	12,3	14,0	1,7	19,0	3,3	36,0	12,0	24,2	666,7	1,95
30	T2	6	24	18	9,0	15,0	6,0	6,0	7,0	1,0	12,0	14,0	2,0	19,0	3,2	35,5	12,0	23,3	666,7	2,05

31	T3	7	25	18	8,9	16,0	7,1	4,7	5,9	1,2	11,2	13,4	2,2	23,8	3,6	41,9	14,5	27,3	655,6	2,05
32	T3	8	26	18	9,4	17,0	7,6	5,7	6,9	1,2	12,4	14,4	2,0	25,0	3,7	43,0	15,0	28,0	733,3	2,12
33	T3	6	24	18	8,4	15,0	6,6	3,9	4,9	1,0	10,4	12,4	2,0	22,8	3,5	42,0	14,0	28,0	600,0	1,95
34	T3	8	25	17	9,4	17,0	7,6	5,5	6,4	0,9	11,5	13,9	2,4	24,2	3,8	42,9	15,0	27,8	686,7	2,10
35	T3	7	24	17	8,4	15,0	6,6	4,3	5,4	1,1	10,5	12,9	2,4	23,1	3,3	40,4	13,8	26,6	533,3	1,95
36	T3	6	24	18	7,8	14,8	7,0	3,7	4,6	0,9	10,0	12,0	2,0	22,6	3,4	41,0	14,0	27,0	600,0	1,95
37	T3	8	26	18	10,0	17,2	7,2	6,1	7,2	1,1	12,4	14,4	2,0	24,8	4,0	43,0	15,0	28,0	733,3	2,10
38	T3	7	25	18	8,7	16,2	7,5	4,9	5,8	0,9	11,2	13,6	2,4	28,9	3,7	42,0	14,6	27,4	655,6	2,06
39	T3	8	26	18	9,7	16,9	7,2	5,6	6,7	1,1	11,9	14,3	2,4	24,5	3,9	43,4	15,3	28,1	773,3	2,15
40	T3	6	24	18	8,2	14,9	6,7	4,2	5,2	1,0	10,6	12,7	2,1	23,3	3,3	40,0	14,0	26,0	600,0	1,98
41	T3	7	25	18	8,7	16,4	7,7	5,4	6,3	0,9	11,5	13,8	2,3	24,3	3,8	42,0	14,5	27,6	666,7	2,10
42	T3	7	24	17	9,0	15,6	6,6	4,5	5,5	1,0	10,7	13,0	2,3	23,4	3,4	40,9	14,0	26,8	620,0	2,00
43	T3	9	27	18	10,5	17,7	7,2	6,5	7,6	1,1	13,0	15,1	2,1	25,5	4,1	44,9	15,9	28,7	733,3	2,20
44	T3	5	23	18	7,3	14,3	7,0	3,3	4,2	0,9	9,5	11,8	2,3	22,1	3,1	38,9	13,1	25,9	573,3	1,90
45	T3	7	25	18	8,9	16,0	7,1	4,9	5,9	1,0	11,2	13,1	1,9	23,7	3,5	41,8	14,4	27,2	655,6	2,04
46	T4	7	23	16	8,8	15,8	7,0	4,8	5,7	0,9	10,9	13,2	2,3	20,4	3,4	41,2	14,1	26,7	624,4	1,91
47	T4	7	23	16	9,9	16,8	6,9	5,9	6,7	0,8	11,9	14,4	2,5	21,6	3,9	43,7	15,4	28,0	711,1	2,04
48	T4	6	22	16	7,7	14,8	7,1	3,7	4,7	1,0	9,9	12,4	2,5	19,4	3,0	39,2	13,1	25,7	591,1	1,81
49	T4	7	23	16	9,4	16,1	6,7	5,4	6,4	1,0	11,5	13,6	2,1	20,8	3,7	42,2	14,6	27,2	657,8	1,96
50	T4	6	22	16	8,2	15,5	7,3	4,2	5,0	0,8	10,3	12,4	2,1	19,8	3,2	39,8	13,4	26,0	597,8	1,83
51	T4	7	24	17	10,1	17,4	7,3	6,4	7,3	0,9	12,7	14,8	2,1	22,0	4,0	44,2	15,6	28,2	771,1	2,07
52	T4	6	21	15	7,5	14,2	6,7	3,3	4,1	0,8	9,5	11,6	2,1	19,2	2,9	38,7	12,9	25,5	537,8	1,78
53	T4	7	23	16	9,6	16,3	6,7	5,5	6,5	1,0	11,5	14,0	2,5	21,2	3,7	43,1	15,0	27,6	704,4	2,02
54	T4	6	22	16	8,0	15,3	7,3	4,0	4,8	0,8	9,9	12,4	2,5	19,6	3,0	39,3	13,2	25,8	544,4	1,80
55	T4	8	24	16	9,8	17,0	7,2	6,0	7,0	1,0	12,1	14,6	2,5	21,4	3,9	43,2	15,2	27,8	657,8	2,01
56	T4	6	21	15	7,8	14,6	6,8	3,5	4,5	1,0	9,7	11,8	2,1	18,8	2,8	38,2	12,6	25,2	477,8	1,75
57	T4	6	23	17	9,2	16,2	7,0	5,1	6,1	1,0	11,3	13,6	2,3	21,0	3,6	42,6	14,8	27,4	651,1	1,99
58	T4	6	22	16	8,6	15,4	6,8	4,4	5,3	0,9	10,3	12,8	2,5	20,0	3,1	40,2	13,6	26,2	591,1	1,86
59	T4	7	23	16	8,9	16,0	7,1	4,9	5,9	1,0	11,3	13,4	2,1	20,6	3,6	41,7	14,4	27,0	637,8	1,94
60	T4	6	22	16	8,6	15,6	7,0	4,7	5,5	0,8	10,7	13,0	2,3	20,2	3,2	40,7	13,9	26,5	611,1	1,88
61	T5	7	21	14	8,3	15,7	7,4	4,9	5,8	0,9	10,9	12,7	1,8	18,0	2,9	36,0	12,0	23,5	560,0	1,52
62	T5	7	22	15	9,5	16,7	7,2	5,7	6,8	1,1	12,1	13,7	1,6	19,2	3,5	38,5	13,2	24,7	606,7	1,65
63	T5	5	20	15	7,1	14,7	7,6	4,1	4,8	0,7	9,8	11,7	1,9	17,2	2,7	34,5	11,2	22,7	540,0	1,45
64	T5	7	22	15	9,0	16,3	7,3	5,5	6,5	1,0	11,7	13,3	1,6	18,6	3,4	37,5	12,7	24,2	606,7	1,60
65	T5	6	21	15	7,6	15,1	7,5	4,3	5,1	0,8	10,1	12,1	2,0	17,6	2,9	35,1	11,5	23,0	546,7	1,47
66	T5	7	23	16	9,9	17,0	7,1	6,6	7,4	0,8	12,5	14,5	2,0	19,8	3,7	39,5	13,7	25,2	720,0	1,71
67	T5	5	21	16	6,7	14,4	7,7	3,4	4,2	0,8	9,3	11,3	2,0	17,0	2,6	34,0	11,0	22,5	486,7	1,42
68	T5	7	22	15	9,1	17,8	8,7	5,6	6,6	1,0	11,7	13,3	1,6	19,0	3,5	38,4	13,2	24,7	653,3	1,66
69	T5	6	21	15	7,5	14,6	7,1	4,0	5,0	1,0	10,1	11,7	1,6	17,4	2,7	34,6	11,3	22,8	493,3	1,44
70	T5	7	23	16	9,3	16,9	7,6	6,1	7,0	0,9	12,3	13,9	1,6	19,4	3,6	39,0	13,5	25,0	660,0	1,68

71	T5	6	20	14	7,3	14,5	7,2	3,8	4,6	0,8	9,9	11,5	1,6	16,6	2,5	33,5	10,7	22,2	426,7	1,39
72	T5	7	22	15	8,7	16,3	7,6	5,2	6,2	1,0	11,3	13,1	1,8	18,8	3,3	37,9	12,9	24,4	600,0	1,63
73	T5	6	21	15	7,9	15,1	7,2	4,5	5,4	0,9	10,3	12,3	2,0	17,8	2,8	35,5	11,7	23,2	540,0	1,50
74	T5	7	22	15	8,7	15,9	7,2	5,1	6,1	1,0	10,9	12,9	2,0	18,4	3,3	37,0	12,5	24,0	586,7	1,58
75	T5	6	21	15	7,9	15,5	7,6	4,7	5,5	0,8	10,7	12,5	1,8	18,2	3,1	36,5	12,2	23,7	573,3	1,55
76	T6	7	24	17	8,1	15,4	7,3	4,8	5,6	0,8	10,7	12,5	1,8	21,9	3,5	37,3	12,4	24,6	593,0	2,29
77	T6	7	25	18	8,9	16,4	7,5	5,9	6,6	0,7	11,5	13,5	2,0	22,9	3,9	39,3	13,4	25,6	626,3	2,39
78	T6	6	23	17	7,3	14,4	7,1	3,9	4,6	0,7	9,9	11,5	1,6	21,1	3,1	35,4	11,5	23,7	513,0	2,18
79	T6	7	24	17	8,7	16,2	7,5	5,3	6,2	0,9	11,3	13,3	2,0	22,7	3,9	39,2	13,4	25,6	673,0	2,40
80	T6	6	23	17	7,5	14,6	7,1	4,1	5,0	0,9	10,1	12,1	2,0	21,3	3,3	35,9	11,7	23,9	566,3	2,21
81	T6	8	25	17	9,7	17,2	7,5	6,4	7,4	1,0	12,3	13,9	1,6	23,1	4,0	39,8	13,7	25,9	679,7	2,42
82	T6	5	21	16	6,5	13,6	7,1	3,2	4,2	1,0	9,1	10,7	1,6	20,3	2,9	34,3	10,9	23,1	446,3	2,13
83	T6	8	25	17	9,1	16,2	7,1	5,6	6,2	0,6	11,8	13,3	1,5	22,5	3,7	38,7	13,1	25,3	619,7	2,37
84	T6	6	23	17	7,1	14,6	7,5	4,0	4,6	0,6	10,2	11,7	1,5	20,9	3,1	35,3	11,4	23,6	559,7	2,19
85	T6	7	25	18	9,3	16,8	7,5	6,1	6,8	0,7	11,6	13,7	2,1	23,5	4,1	40,3	13,9	26,1	739,7	2,45
86	T6	6	22	16	6,9	14,0	7,1	3,5	4,4	0,9	9,2	11,3	2,1	20,7	3,0	34,8	11,2	23,4	506,3	2,16
87	T6	7	24	17	8,3	15,8	7,5	5,2	6,1	0,9	11,3	12,9	1,6	22,1	3,7	37,8	12,7	24,9	606,3	2,32
88	T6	6	23	17	8,0	15,0	7,0	4,4	5,1	0,7	10,1	12,1	2,0	21,5	3,2	36,3	11,9	24,1	559,7	2,24
89	T6	7	24	17	8,3	15,8	7,5	4,9	5,8	0,9	10,9	12,6	1,7	22,3	3,8	38,3	12,9	25,1	626,3	2,34
90	T6	7	23	16	7,9	15,0	7,1	4,7	5,4	0,7	10,5	11,2	0,7	21,7	3,3	36,8	12,2	24,4	579,7	2,26
91	T7	7	22	15	8,0	15,2	7,2	4,6	5,5	0,8	10,5	12,1	1,6	23,7	3,6	41,9	13,7	28,2	560,0	1,74
92	T7	7	23	16	8,7	16,2	7,5	5,8	6,5	0,7	11,2	13,1	1,9	24,9	4,1	44,4	14,9	29,5	646,7	1,87
93	T7	6	21	15	7,2	14,2	7,0	3,8	4,5	0,7	9,2	11,1	1,9	22,7	3,2	39,9	12,7	27,2	526,7	1,64
94	T7	7	23	16	8,6	16,0	7,4	5,0	6,1	1,1	11,4	12,7	1,3	24,3	3,8	43,3	14,4	28,9	586,7	1,82
95	T7	6	23	17	7,4	14,4	7,0	3,8	4,9	1,1	10,2	11,5	1,3	22,9	3,2	40,0	12,7	27,3	480,0	1,63
96	T7	8	23	15	9,3	16,8	7,5	6,2	7,3	1,1	12,1	13,9	1,8	25,3	4,2	44,9	15,2	29,7	706,7	1,90
97	T7	5	21	16	6,7	13,6	6,9	3,0	4,1	1,1	8,9	10,7	1,8	22,1	3,0	38,9	12,2	26,7	413,3	1,58
98	T7	8	23	17	8,9	16,0	7,1	5,4	6,1	0,7	11,3	13,1	1,8	24,5	4,0	43,8	14,6	29,2	640,0	1,85
99	T7	6	22	16	7,1	14,4	7,3	3,8	4,5	0,7	9,7	11,1	1,4	23,1	3,4	40,5	13,0	27,5	533,3	1,66
100	T7	7	24	16	9,2	16,1	6,9	5,9	6,7	0,8	11,7	13,1	1,4	24,7	4,0	43,9	14,7	29,2	593,3	1,84
101	T7	6	21	16	6,8	14,3	7,5	3,3	4,3	1,0	9,3	10,7	1,4	22,5	3,1	39,4	12,4	27,0	473,3	1,61
102	T7	7	23	15	8,8	15,6	6,8	5,1	5,9	0,8	11,2	12,5	1,3	24,1	3,9	42,9	14,2	28,7	593,3	1,79
103	T7	6	22	16	7,3	14,8	7,5	4,1	5,1	1,0	9,8	11,7	1,9	23,5	3,4	41,4	13,4	28,0	546,7	1,71
104	T7	7	23	16	8,2	15,6	7,4	4,8	5,6	0,8	10,9	12,3	1,4	23,9	3,8	42,4	13,9	28,5	573,3	1,77
105	T7	7	22	16	7,8	14,8	7,0	4,4	5,4	1,0	10,1	11,9	1,8	23,3	3,3	40,9	13,2	27,7	526,7	1,69

Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 13. Promedio de los tratamientos de la evaluación de los parámetros de crecimiento en lechuga

Tratamiento	Número de Hojas			Altura de la planta (cm)			Ancho de la cuarta hoja (cm)			Largo de la cuarta hoja (cm)			Longitud de raíz (cm)	Perímetro del tallo (cm)	Rendimiento (g/pl)	Peso de raíz (cm)	Peso del follaje (cm)	Concentración de hierro (ppm)	Concentración de clorofila (µg/L)
	15 días	45 días	Últimos 30 días	15 días	45 días	Últimos 30 días	15 días	45 días	Últimos 30 días	15 días	45 días	Últimos 30 días							
T1	6,07	19,53	13,47	8,25	14,50	6,25	4,67	5,35	0,67	10,47	11,59	1,13	16,38	3,11	33,83	11,32	22,52	522,67	1,54
T2	6,33	21,80	15,47	8,56	15,25	6,69	5,52	6,53	1,01	11,82	13,68	1,86	18,63	3,17	35,22	11,65	23,60	643,11	1,96
T3	7,07	24,87	17,80	8,89	16,00	7,11	4,88	5,90	1,02	11,20	13,39	2,19	24,13	3,61	41,87	14,47	27,35	654,67	2,04
T4	6,53	22,53	16,00	8,81	15,80	6,99	4,79	5,70	0,91	10,90	13,20	2,30	20,40	3,40	41,21	14,10	26,70	624,44	1,91
T5	6,40	21,47	15,07	8,30	15,77	7,47	4,90	5,80	0,90	10,91	12,70	1,79	18,20	3,10	36,50	12,20	23,70	573,33	1,55
T6	6,67	23,60	16,93	8,11	15,40	7,29	4,79	5,58	0,79	10,70	12,42	1,72	21,90	3,50	37,30	12,40	24,60	593,00	2,29
T7	6,67	22,40	15,87	8,00	15,20	7,20	4,62	5,48	0,86	10,50	12,10	1,60	23,70	3,60	41,90	13,68	28,20	560,00	1,74

Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 14. Porcentaje de prendimiento y sobrevivencia de lechuga medidos hasta el décimo día

Tratamientos	Prendimiento		Sobrevivencia	
	Número de plantas	Porcentaje (%)	Número de plantas	Porcentaje (%)
T1	15	100	15	100
T2	15	100	15	100
T3	15	100	15	100
T4	15	100	15	100
T5	15	100	15	100
T6	15	100	15	100
T7	15	100	15	100

Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 15. Análisis de varianza para número de hojas a los 15 días después del trasplante en lechuga

```

Statistix - 30 Day Trial Version 8.0                                15/01/2015, 2:27:10

One-Way AOV for: T1 T2 T3 T4 T5 T6 T7

Source      DF      SS      MS      F      P
Between     6      8.6286  1.43810  1.86  0.0946
Within     98     75.6000  0.77143
Total     104     84.2286

Grand Mean 6.5143      CV 13.48

Bartlett's Test of Equal Variances      Chi-Sq  DF      P
Cochran's Q                             4.60    6      0.5955
Largest Var / Smallest Var              2.6047

Component of variance for between groups  0.04444
Effective cell size                       15.0

Variable  Mean
T1        6.0667
T2        6.3333
T3        7.0667
T4        6.5333
T5        6.4000
T6        6.6667
T7        6.5333
Observations per Mean                    15
Standard Error of a Mean                  0.2268
Std Error (Diff of 2 Means)              0.3207
    
```

Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 16. Análisis de varianza para número de hojas a los 45 días después del trasplante en lechuga

```

Statistix - 30 Day Trial Version 8.0                                07/01/2015, 0:22:54

One-Way AOV for: T1 T2 T3 T4 T5 T6 T7

Source      DF      SS      MS      F      P
Between     6    254.095  42.3492  35.0  0.0000
Within     98    118.533   1.2095
Total     104    372.629

Grand Mean 22.314    CV 4.93

Bartlett's Test of Equal Variances    Chi-Sq  DF      P
Cochran's Q                          4.58    6    0.5982
Largest Var / Smallest Var           2.1034

Component of variance for between groups  2.74265
Effective cell size                       15.0

Variable   Mean
T1         19.533
T2         21.800
T3         24.867
T4         22.533
T5         21.467
T6         23.600
T7         22.400
Observations per Mean                    15
Standard Error of a Mean                  0.2840
Std Error (Diff of 2 Means)              0.4016

```

Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 17. Análisis de varianza para número de hojas en los últimos 30 días después del trasplante en lechuga

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV

Variable	Mean Rank	Sample Size
T1	9.9	15
T2	42.9	15
T3	94.2	15
T4	57.5	15
T5	34.1	15
T6	78.6	15
T7	53.9	15
Total	53.0	105

Kruskal-Wallis Statistic 79.3563
 P-Value, Using Chi-Squared Approximation 0.0000

Parametric AOV Applied to Ranks

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	6	70406.9	11734.5	52.6	0.0000
Within	98	21864.6	223.1		
Total	104	92271.5			

Total number of values that were tied 104
 Max. diff. allowed between ties 0.00001

Cases Included 105 Missing Cases 0

Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 18. Análisis de varianza de altura a los 15 días después del trasplante en lechuga

One-Way AOV for: T1 T2 T3 T4 T5 T6 T7

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	6	10.5863	1.76438	2.51	0.0268
Within	98	69.0093	0.70418		
Total	104	79.5956			

Grand Mean 8.4152 CV 9.97

	Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances	3.58	6	0.7334
Cochran's Q	0.1869		
Largest Var / Smallest Var	2.5314		

Component of variance for between groups 0.07068
 Effective cell size 15.0

Variable	Mean
T1	8.2467
T2	8.5600
T3	8.8867
T4	8.8067
T5	8.3000
T6	8.1067
T7	8.0000
Observations per Mean	15
Standard Error of a Mean	0.2167
Std Error (Diff of 2 Means)	0.3064

Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 19. Análisis de varianza de altura a los 45 días después del trasplante en lechuga

One-Way AOV for: T1 T2 T3 T4 T5 T6 T7

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	6	22.858	3.80975	4.25	0.0008
Within	98	87.851	0.89644		
Total	104	110.709			

Grand Mean 15.417 CV 6.14

	Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances	2.95	6	0.8153
Cochran's Q	0.1776		
Largest Var / Smallest Var	2.2294		

Component of variance for between groups 0.19422
 Effective cell size 15.0

Variable	Mean
T1	14.500
T2	15.253
T3	16.000
T4	15.800
T5	15.767
T6	15.400
T7	15.200
Observations per Mean	15
Standard Error of a Mean	0.2445
Std Error (Diff of 2 Means)	0.3457

Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 20. Análisis de varianza de altura durante los últimos 30 días después del trasplante en lechuga

One-Way AOV for: T1 T2 T3 T4 T5 T6 T7

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	6	15.1236	2.52060	19.2	0.0000
Within	98	12.8960	0.13159		
Total	104	28.0196			

Grand Mean 7.0019 CV 5.18

	Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances	19.2	6	0.0038
Cochran's Q	0.2814		
Largest Var / Smallest Var	5.9562		

Component of variance for between groups 0.15927
Effective cell size 15.0

Variable	Mean
T1	6.2533
T2	6.6933
T3	7.1133
T4	6.9933
T5	7.4667
T6	7.2933
T7	7.2000
Observations per Mean	15
Standard Error of a Mean	0.0937
Std Error (Diff of 2 Means)	0.1325

Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 21. Análisis de varianza de ancho de la cuarta hoja a los 15 días después del trasplante en lechuga

One-Way AOV for: T1 T2 T3 T4 T5 T6 T7

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	6	8.1933	1.36556	1.84	0.0986
Within	98	72.6347	0.74117		
Total	104	80.8280			

Grand Mean 4.8800 CV 17.64

	Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances	6.83	6	0.3367
Cochran's Q	0.1823		
Largest Var / Smallest Var	3.2903		

Component of variance for between groups 0.04163
Effective cell size 15.0

Variable	Mean
T1	4.6733
T2	5.5200
T3	4.8800
T4	4.7867
T5	4.9000
T6	4.8000
T7	4.6000
Observations per Mean	15
Standard Error of a Mean	0.2223
Std Error (Diff of 2 Means)	0.3144

Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 22. Análisis de varianza de ancho de la cuarta hoja a los 45 días después del trasplante en lechuga

One-Way AOV for: T1 T2 T3 T4 T5 T6 T7

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	6	13.1432	2.19054	2.93	0.0115
Within	98	73.3867	0.74884		
Total	104	86.5299			

Grand Mean 5.7676 CV 15.00

	Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances	9.66	6	0.1397
Cochran's Q	0.1788		
Largest Var / Smallest Var	3.8710		

Component of variance for between groups 0.09611
 Effective cell size 15.0

Variable	Mean
T1	5.3467
T2	6.5267
T3	5.9000
T4	5.7000
T5	5.8000
T6	5.6000
T7	5.5000
Observations per Mean	15
Standard Error of a Mean	0.2234
Std Error (Diff of 2 Means)	0.3160

Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 23. Análisis de varianza de ancho de la cuarta hoja durante los últimos 30 días después del trasplante en lechuga

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV

Variable	Mean Rank	Sample Size
T1	29.2	15
T2	75.1	15
T3	75.3	15
T4	54.0	15
T5	51.6	15
T6	33.6	15
T7	52.1	15
Total	53.0	105

Kruskal-Wallis Statistic 32.6630
 P-Value, Using Chi-Squared Approximation 0.0000

Parametric AOV Applied to Ranks

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	6	29033.5	4838.91	7.48	0.0000
Within	98	63410.0	647.04		
Total	104	92443.5			

Total number of values that were tied 102
 Max. diff. allowed between ties 0.00001

Cases Included 105 Missing Cases 0

Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 24. Análisis de varianza del largo de la cuarta hoja a los 15 días después del trasplante en lechuga

```

Statistix - 30 Day Trial Version 8.0                                15/01/2015, 23:26:03

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV

Variable      Mean  Sample
              Rank  Size
T1             36.6   15
T2             82.4   15
T3             60.5   15
T4             51.8   15
T5             52.2   15
T6             46.8   15
T7             40.6   15
Total          53.0   105

Kruskal-Wallis Statistic                                22.4377
P-Value, Using Chi-Squared Approximation                0.0010

Parametric AOV Applied to Ranks
Source      DF      SS      MS      F      P
Between     6    20770.0  3461.67  4.49  0.0005
Within     98    75500.0   770.41
Total     104    96270.0

Total number of values that were tied      94
Max. diff. allowed between ties           0.00001

Cases Included 105      Missing Cases 0

```

Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 25. Análisis de varianza del largo de la cuarta hoja a los 45 días después del trasplante en lechuga

```

Statistix - 30 Day Trial Version 8.0                                15/01/2015, 23:28:13

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV

Variable      Mean  Sample
              Rank  Size
T1             21.6   15
T2             81.5   15
T3             70.2   15
T4             65.3   15
T5             51.7   15
T6             44.7   15
T7             36.0   15
Total          53.0   105

Kruskal-Wallis Statistic                                42.2062
P-Value, Using Chi-Squared Approximation                0.0000

Parametric AOV Applied to Ranks
Source      DF      SS      MS      F      P
Between     6    39083.4  6513.89  11.2  0.0000
Within     98    57221.6   583.89
Total     104    96305.0

Total number of values that were tied      94
Max. diff. allowed between ties           0.00001

Cases Included 105      Missing Cases 0

```

Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 26. Análisis de varianza del largo de la cuarta hoja durante los últimos 30 días después del trasplante en lechuga

Statistix - 30 Day Trial Version 8.0

08/01/2015, 17:28:55

One-Way AOV for: T1 T2 T3 T4 T5 T6 T7

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	6	13.5436	2.25727	37.1	0.0000
Within	98	5.9560	0.06078		
Total	104	19.4996			

Grand Mean 1.7981 CV 13.71

	Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances	13.9	6	0.0307
Cochran's Q	0.3029		
Largest Var / Smallest Var	4.0148		

Component of variance for between groups 0.14643
Effective cell size 15.0

Variable	Mean
T1	1.1267
T2	1.8600
T3	2.1867
T4	2.3000
T5	1.7933
T6	1.7200
T7	1.6000

Observations per Mean 15
Standard Error of a Mean 0.0637
Std Error (Diff of 2 Means) 0.0900

Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 27. Análisis de varianza de longitud de la raíz a los 45 días después del trasplante en lechuga

Statistix - 30 Day Trial Version 8.0

08/01/2015, 17:32:02

One-Way AOV for: T1 T2 T3 T4 T5 T6 T7

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	6	767.718	127.953	122	0.0000
Within	98	102.587	1.047		
Total	104	870.305			

Grand Mean 20.477 CV 5.00

	Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances	13.3	6	0.0388
Cochran's Q	0.3589		
Largest Var / Smallest Var	5.6381		

Component of variance for between groups 8.46042
Effective cell size 15.0

Variable	Mean
T1	16.380
T2	18.627
T3	24.133
T4	20.400
T5	18.200
T6	21.900
T7	23.700

Observations per Mean 15
Standard Error of a Mean 0.2642
Std Error (Diff of 2 Means) 0.3736

Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 28. Análisis de varianza de diámetro del tallo a los 45 días después del trasplante en lechuga

Statistix - 30 Day Trial Version 8.0 15/01/2015, 23:35:19

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV

Variable	Mean Rank	Sample Size
T1	33.5	15
T2	37.7	15
T3	74.3	15
T4	55.6	15
T5	35.9	15
T6	63.2	15
T7	70.7	15
Total	53.0	105

Kruskal-Wallis Statistic 29.0984
P-Value, Using Chi-Squared Approximation 0.0001

Parametric AOV Applied to Ranks

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	6	26802.7	4467.12	6.35	0.0000
Within	98	68992.3	704.00		
Total	104	95795.0			

Total number of values that were tied 102
Max. diff. allowed between ties 0.00001

Cases Included 105 Missing Cases 0

Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 29. Análisis de varianza de rendimiento a los 45 días después del trasplante en lechuga.

Statistix - 30 Day Trial Version 8.0 08/01/2015, 18:11:09

One-Way AOV for: T1 T2 T3 T4 T5 T6 T7

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	6	1016.48	169.413	52.8	0.0000
Within	98	314.25	3.207		
Total	104	1330.73			

Grand Mean 38.262 CV 4.68

	Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances	6.97	6	0.3233
Cochran's Q	0.1843		
Largest Var / Smallest Var	3.5293		

Component of variance for between groups 11.0804
Effective cell size 15.0

Variable	Mean
T1	33.833
T2	35.227
T3	41.873
T4	41.200
T5	36.500
T6	37.300
T7	41.900

Observations per Mean 15
Standard Error of a Mean 0.4624
Std Error (Diff of 2 Means) 0.6539

Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 30. Análisis de varianza del peso de la raíz a los 45 días después del trasplante en lechuga

Statistix - 30 Day Trial Version 8.0

08/01/2015, 18:15:56

One-Way AOV for: T1 T2 T3 T4 T5 T6 T7

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	6	139.605	23.2676	26.3	0.0000
Within	98	86.667	0.8844		
Total	104	226.272			

Grand Mean 12.840 CV 7.32

	Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances	3.11	6	0.7948
Cochran's Q	0.1987		
Largest Var / Smallest Var	2.5295		

Component of variance for between groups 1.49221
Effective cell size 15.0

Variable	Mean
T1	11.320
T2	11.647
T3	14.473
T4	14.120
T5	12.220
T6	12.420
T7	13.680

Observations per Mean 15
Standard Error of a Mean 0.2428
Std Error (Diff of 2 Means) 0.3434

Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 31. Análisis de varianza del peso del follaje a los 45 días después del trasplante en lechuga

Statistix - 30 Day Trial Version 8.0

08/01/2015, 18:17:29

One-Way AOV for: T1 T2 T3 T4 T5 T6 T7

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	6	425.206	70.8677	80.9	0.0000
Within	98	85.796	0.8755		
Total	104	511.002			

Grand Mean 25.251 CV 3.71

	Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances	3.12	6	0.7941
Cochran's Q	0.2017		
Largest Var / Smallest Var	2.3258		

Component of variance for between groups 4.66615
Effective cell size 15.0

Variable	Mean
T1	22.520
T2	23.600
T3	27.360
T4	26.720
T5	23.720
T6	24.620
T7	28.220

Observations per Mean 15
Standard Error of a Mean 0.2416
Std Error (Diff of 2 Means) 0.3417

Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 32. Análisis de varianza de la concentración foliar de hierro a los 45 días después del trasplante en lechuga

Statistix - 30 Day Trial Version 8.0 08/01/2015, 18:28:54

One-Way AOV for: T1 T2 T3 T4 T5 T6 T7

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	6	204982	34163.7	6.18	0.0000
Within	98	541582	5526.4		
Total	104	746564			

Grand Mean 595.89 CV 12.48

	Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances	0.81	6	0.9919
Cochran's Q	0.1853		
Largest Var / Smallest Var	1.5361		

Component of variance for between groups 1909.15
Effective cell size 15.0

Variable	Mean
T1	522.67
T2	643.11
T3	654.67
T4	624.44
T5	573.34
T6	593.00
T7	560.00

Observations per Mean 15
Standard Error of a Mean 19.194
Std Error (Diff of 2 Means) 27.145

Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 33. Análisis de varianza de la concentración foliar de clorofila a los 45 días después del trasplante en lechuga

Statistix - 30 Day Trial Version 8.0 08/01/2015, 18:31:07

One-Way AOV for: T1 T2 T3 T4 T5 T6 T7

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	6	6.65829	1.10971	107	0.0000
Within	98	1.01653	0.01037		
Total	104	7.67482			

Grand Mean 1.8619 CV 5.47

	Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances	1.11	6	0.9812
Cochran's Q	0.1794		
Largest Var / Smallest Var	1.7482		

Component of variance for between groups 0.07329
Effective cell size 15.0

Variable	Mean
T1	1.5400
T2	1.9600
T3	2.0433
T4	1.9100
T5	1.5500
T6	2.2900
T7	1.7400

Observations per Mean 15
Standard Error of a Mean 0.0263
Std Error (Diff of 2 Means) 0.0372

Elaborado por: Jorge Ruiz

Anexo 34. Fotografías tomadas durante la investigación

**Foto 1. Recolección de *Azolla*,
Guapulo-Ecuador**



Elaborado por: Jorge Ruiz

**Foto 2. Secado de *Azolla filiculoides*
en la estufa**



Elaborado por: Jorge Ruiz

**Foto3. Acondicionamiento del medio
de cultivo para *Azolla filiculoides***



Elaborado por: Jorge Ruiz

**Foto 4. Bomba de aire de doble
salida marca Oxyboost 200**



Elaborado por: Jorge Ruiz

**Foto 5. Nutriente hidropónico
“Nutripón”**



Elaborado por: Jorge Ruiz

Foto 6. E.D.T.A-Hierro (Acido Etileno Diamino Tetra Acético) de la Marca Ecuaquímica.



Elaborado por: Jorge Ruiz

Foto 7. Medición de pH y conductividad con Medidor de pH marca Metter Toledo



Elaborado por: Jorge Ruiz

Foto 8. Biomasa de *Azolla filiculoides* en estufa a 60°C



Elaborado por: Jorge Ruiz

Foto 9. Pesaje de biomasa de *Azolla filiculoides* en la balanza analítica.



Elaborado por: Jorge Ruiz

Foto 10. Adición de ácido nítrico a la muestra de *Azolla filiculoides*



Elaborado por: Jorge Ruiz

Foto 11. Digestor de Microondas marca Berghof modelo MWS-2



Elaborado por: Jorge Ruiz

Foto 12. Aforo de balones de 100mL con agua destilada



Elaborado por: Jorge Ruiz

Foto 13. Espectrofotómetro de Absorción Atómica marca Varian.



Elaborado por: Jorge Ruiz

Foto 14. Invernadero para cultivo de lechuga



Elaborado por: Jorge Ruiz

Foto 15. Siembra de lechuga en bandejas de germinación



Elaborado por: Jorge Ruiz

Foto 16. Germinación de semillas de lechuga



Elaborado por: Jorge Ruiz

Foto 17. Pesaje del sustrato para lechuga



Elaborado por: Jorge Ruiz

Foto 18. Disposición de las lechugas dentro del Invernadero



Elaborado por: Jorge Ruiz

Foto 19. Adición del quelato de hierro en lechuga



Elaborado por: Jorge Ruiz

Foto 20. Medición de los parámetros de lechuga



Elaborado por: Jorge Ruiz

Foto 21. Secado de Lechuga a 60°C en estufa



Elaborado por: Jorge Ruiz

Foto 22. Extracción de clorofila con acetona



Elaborado por: Jorge Ruiz

Foto 23. Espectrofotómetro ultravioleta visible



Elaborado por: Jorge Ruiz