

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE QUITO

CARRERA:
INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de: INGENIERAS EN
BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

TEMA:
MEJORAMIENTO DEL ESTADO NUTRICIONAL DEL SUELO A TRAVÉS DE
LA ADICIÓN DE COMPOST ENRIQUECIDO CON BACTERIAS FOSFATO
SOLUBILIZADORAS EN LA FINCA DENMMAR. TABACUNDO - ECUADOR

AUTORAS:
JAQUELINE ISABEL FUERTES RENTERÍA
FRANCYS ELENA JARRÍN MANCERO

DIRECTORA:
LAURA ELIZABETH HUACHI ESPÍN

Quito, mayo del 2015

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD Y AUTORIZACIÓN DE USO DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Autorizamos a la Universidad Politécnica Salesiana la publicación total o parcial de este trabajo de titulación y su reproducción sin fines de lucro.

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

Quito, mayo del 2015

Jaqueline Isabel Fuertes Rentería

C.I: 1723598791

Francys Elena Jarrín Mancero

C.I: 1719346122

DEDICATORIA

A mis papis Fabián y Mili por su confianza y apoyo incondicional, por impulsarme día a día con amor a ser mejor y no dejarme vencer jamás.

A mis hermanos Fabián y Caty por ser mi alegría y ejemplo de perseverancia y superación.

A mi esposo Fernando Andrés Rosero, por ser mi mejor amigo y compañero, por su apoyo y cumplir mis sueños. Gracias amor por tanta felicidad.

A mi amiga y hermana de corazón Jaqueline Fuertes, por los momentos compartidos y hacer de este camino una aventura y experiencia llena de aprendizaje.

A mi Valentina por ser mi impulso y el más hermoso sueño hecho realidad.

Francys J.

A mi mami Maritza y hermano Fernando, por haberme brindado su apoyo y amor incondicional en todo momento ya que han sido mi ejemplo de constancia y esfuerzo siempre. Los amo mucho

A mis hermanas, sobrinas, y familiares, por ser quienes han hecho de mi vida día tras día una maravillosa experiencia.

A Camila y Victoria, por hacer de mi mundo y hogar un mejor lugar para vivir.

A Francys, por ser siempre una excelente y leal amiga, por contagiarme tu dulzura y paz cuando lo he necesitado. Te quiero Amiga

A mi novio Francisco, a quien se convirtió en mi mejor amigo, y cómplice de aventuras, gracias por tu apoyo y por alentarme a continuar cuando parecía que me iba a rendir.

Jaqueline F.

AGRADECIMIENTO

A la Msc. Ing. Laura Huachi. Por su preocupación y entrega al brindarnos su tiempo, conocimiento, consejos y colaboración para permitir que se lleve a cabo y culmine el presente trabajo de investigación.

Al Dr. Luis Alberto Valdés. Por haber sido parte central para la ejecución del proyecto de investigación, quien supo brindarnos su apoyo, conocimiento y tiempo de forma desinteresada cuando más lo necesitábamos.

A la Universidad Politécnica Salesiana por las enseñanzas compartidas durante toda la carrera Universitaria.

A la Florícola Denmar S.A. y su equipo de trabajo por haber autorizado la realización del proyecto en sus instalaciones y por permitirnos llevar su nombre en nuestra investigación.

A los Ing. Erika Paredes, Karina Hidalgo, Edison Osorio y Byron Suasnavas, por su amistad y colaboración en la realización de este proyecto.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 1	
MARCO TEÓRICO	5
1.1 Suelo.....	5
1.1.1 Descripción del suelo del Cantón Pedro Moncayo	5
1.1.2 Bacterias del suelo.....	6
1.2 Compostaje.....	7
1.2.1 Importancia del compost	8
1.2.2 Técnicas de compostaje.....	9
1.2.3 Parámetros de calidad del compost	11
1.3 Fósforo	21
1.3.1 Fisiología del fósforo en la planta.....	21
1.3.2 Fósforo en el rosal.....	23
1.3.3 El fósforo en el suelo.....	24
1.3.4 Factores que afectan la solubilidad de fósforo en el suelo	27
1.3.5 Ciclo del fósforo.....	28
1.3.6 Biosolubilización del fósforo	30
1.4 Bacterias solubilizadoras de fósforo	35
CAPÍTULO 2	
MATERIALES Y MÉTODOS	37
2.1 Tipo de investigación	38
2.2 Fase de campo	38
2.2.1 Área del lugar de muestreo	38
2.2.2 Recolección y muestreo de suelo y compost.....	39
2.2.3 Formación de pilas de compost (Ensayo 1 y Ensayo 2).....	41
2.3 Trabajo en Laboratorios de Ciencias de la Vida- UPS.....	50
2.3.1 Preparación de Medios de cultivo	50
2.3.2 Aislamiento de bacterias solubilizadoras de fósforo.....	52
2.3.3 Selección de cepas bacterianas solubilizadoras de fósforo	57
2.3.4 Inoculación de cepas para la cuantificación <i>in vitro</i> de fósforo	60

2.3.5	Identificación bacteriana para bacterias solubilizadoras de fosforo.....	63
2.3.6	Producción de Biofertilizante.....	66
CAPÍTULO 3		
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		68
3.1	Diagnóstico del estado nutricional del suelo (Astroflores y Marledian).....	68
3.2	Diagnóstico del estado nutricional del compost (Astroflores y Marledian).....	73
3.3	Identificación macroscópica y microscópica	76
3.3.1	Caracterización fenotípica por siembra en medio específico.....	76
3.3.2	Identificación microscópica de cepas bacterianas.....	81
3.4	Evaluación de halos de solubilización de fosfato.....	82
3.5	Caracterización bioquímica de bacterias solubilizadoras de fósforo	84
3.6	Evaluación cuantitativa de bacterias solubilizadoras de fósforo.....	86
3.6.1	Cinética de crecimiento de la biomasa.....	86
3.6.2	Evaluación de la solubilización de fósforo in vitro.....	88
3.6.3	Evaluación de biofertilizante en campo	93
CONCLUSIONES.....		97
RECOMENDACIONES.....		99
GLOSARIO.....		100
ANEXOS.....		115

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Órdenes de suelos del Cantón Pedro Moncayo.....	6
Tabla 2. Contenido de nutrientes totales en cuatro tipos de residuos	18
Tabla 3. Degradabilidad de componentes orgánicos.....	20
Tabla 4. Compuestos más comunes de fósforo en el suelo.....	25
Tabla 5. Principales formas de fósforo inorgánico en el suelo.	27
Tabla 6. Nomenclatura y origen de las muestras de suelo.	40
Tabla 7. Nomenclatura y origen de las muestras de compost.	41
Tabla 8. Bacterias independientes en medio líquido PVK.....	61
Tabla 9. Bacterias en consorcio en medio líquido PVK	62
Tabla 10. Análisis de suelos.....	72
Tabla 11. Análisis de compost	73
Tabla 12. Criterios de identificación macroscópica.....	76
Tabla 13. Descripción macroscópica de JF1	76
Tabla 14. Descripción macroscópica de JF2.....	77
Tabla 15. Descripción macroscópica de JF3.....	77
Tabla 16. Descripción macroscópica de JF4.....	78
Tabla 17. Descripción macroscópica de JF5.....	78
Tabla 18. Descripción macroscópica de JF6.....	79
Tabla 19. Tinción Gram (100X).....	81
Tabla 20. Diámetro de Halos de solubilización de fósforo en medio PVK	82
Tabla 21. Identificación de cepas bacterianas según su reacción bioquímica (API)	84
Tabla 22. Identificación bioquímica de <i>Enterobacter agglomerans</i>	84
Tabla 23. Registro de absorbancia y UFC/ml de cepas aisladas.....	86
Tabla 24. Cuantificación de fosfato asimilado.....	88
Tabla 25. Cuantificación de fosfato asimilado por asociaciones microbianas.....	91
Tabla 26. Experimentos N°1 y N°2	94
Tabla 27. Contenido final de fósforo (ppm) en los experimentos N° 1	95

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Temperatura en el proceso de compostaje.....	12
Figura 2. Ciclo del Fósforo.	29
Figura 3. Movilidad de nutrientes en el suelo.	30
Figura 4. Reacción catalizada por la enzima fosfatasa	34
Figura 5. Localización de DENMMAR S.A.....	37
Figura 6. Croquis de las fincas Astroflores y Marledian.	39
Figura 7. Formación de cubos.....	42
Figura 8. Formación de pilas de compost	43
Figura 9. Esquema de las pilas de compost.....	44
Figura 10. Pilas conformadas	44
Figura 11. Volteo de pilas	45
Figura 12. Cajón de madera	46
Figura 13. Montaje de experimentos 1 y 2.....	47
Figura 14. Preparación del té de compost	48
Figura 15. Adición de compost	49
Figura 16. Experimentos terminados	49
Figura 17. Cartilla de color GN A.....	65
Figura 18. Biofrmentador New Brunswick.....	66
Figura 19. Halos de solubilización de cepa JF1 en medio PVK.....	83
Figura 20. Curva de crecimiento de las cepas JF1, JF3 y JF4	87
Figura 21. Cuantificación de mg fosfato/ g biomasa de cepas JF1, JF3 y JF4.	89
Figura 22. Cuantificación q (mg fosfato/g biomasa) en asociaciones bacterianas	91
Figura 23. Biofertilizante	93

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Análisis de suelos- INIAP.	115
Anexo 2. Análisis de compost- INIAP.....	119
Anexo 3. Ficha técnica- Bioearth Plus.....	120
Anexo 4. Ficha técnica: Bio-Beat	121
Anexo 5. Ficha técnica- Microriz.....	122
Anexo 6. Registro de temperatura y humedad durante el procesos de compostaje	123
Anexo 7. Composición de medios de cultivo.....	125
Anexo 8. Metodología.....	127
Anexo 9. Reportes de identificación de pruebas API	132

RESUMEN

En la presente investigación se logró aislar bacterias identificadas como *Enterobacter agglomerans* capaces de biosolubilizar el fósforo inorgánico que se encontraba inmovilizado en el suelo de la florícola Denmar S.A. La eficiencia de solubilización de las bacterias se determinó “*in vitro*” mediante el análisis por espectroscopia de absorción atómica (EAA), usando tres diferentes concentraciones de fósforo C1=0.03 [M]; C2=0.05 [M]; C3=0.07 [M] en el medio líquido Pikovskaya modificado. Para la evaluación en campo se usaron las bacterias identificadas y se elaboró a escala un biofertilizante, el mismo que fue inoculado en un compost para ser incorporado en el suelo de ambas fincas. Finalmente, las muestras de suelo a través de análisis físico químico mostraron mejoras en el contenido de micro y macronutrientes, principalmente la reducción de fósforo en Marledian con 294.0 ppm a 23.9 ppm y Astroflores con 298.0 ppm a 20.9 ppm.

Palabras clave: *Enterobacter*, biosolubilización, espectroscopia, biofertilizante, compost.

ABSTRACT

This investigation could isolate phosphate solubilizing microorganisms identified as *Enterobacter agglomerans* that may contribute to increase this element availability at the soil of Denmar S.A. The microorganism's solubilization efficiency was determined “*in vitro*” by analysis of atomic absorption spectroscopy (AAS), using three different concentrations of phosphorus C1 = 0.03 [M]; C2 = 0.05 [M]; C3 = 0.07 [M] in a modified liquid Pikovskaya culture medium. For field evaluation the identified bacteria was used to develop a biofertilizer which was inoculated into a compost to be incorporated into the soil of both farms. Finally, soil samples through physical and chemical analysis showed changes improving the content of micro and macronutrients, mainly the reduction of phosphorus in Marledian of 294.0 ppm to 298.0 ppm and 23.9 ppm to a 20.9 ppm in Astroflores.

Keywords: *Enterobacter*, biosolubilización, spectroscopy, bio-fertilizer, compost

INTRODUCCIÓN

Planteamiento del problema

“El auge de la floricultura llegó al Ecuador en los años 1980 con el inicio de las exportaciones a los mercados mundiales, especialmente al estadounidense”. (La Hora, 2003, pág. 1).

“En el Ecuador, gracias a sus condiciones climatológicas, se cultivan muchas variedades de flores de excelentes características, por lo que inversionistas ecuatorianos y extranjeros consideran a nuestro país como lugar propicio para el desarrollo de la floricultura”. (Centro de Información e Inteligencia Comercial, 2009, pág. 25).

Actualmente los problemas que enfrentan las florícolas como Denmar S.A en el sector de Tabacundo y Cayambe, son de carácter ambiental por el excesivo uso de pesticidas, fungicidas y fertilizantes al momento de cultivar y exportar rosas inmaculadas sin parásitos. La utilización desproporcionada de productos químicos afectan a los recursos naturales y de manera inhumana a los trabajadores, quienes se ven obligados a seguir realizando sus actividades diarias bajo condiciones anti sanitarias. (Santillán, 2014, pág. 1).

En las últimas décadas la agricultura basada en el uso indiscriminado de agroquímicos está siendo duramente cuestionada debido a sus efectos negativos para el ambiente y la salud del productor. El uso prolongado de agroquímicos en los campos de cultivo ha traído efectos como: mayor susceptibilidad a plagas y enfermedades, muerte de los microorganismos benéficos contenidos y salinización en el suelo, factor que constituye un limitante para el rendimiento y calidad de la flor. (Tutillo, 2011, pág. 2)

“El sector florícola en el Ecuador presenta varias problemáticas, entre ellas la disponibilidad de macronutrientes en el suelo para las plantas”. (Tutillo, 2011, pág. 3) En el caso de Denmar S.A, de acuerdo a análisis realizados se determinó altos niveles de

fósforo en el suelo, sin embargo, las flores son de tamaño pequeño, con tallos delgados y manchas amarillas en las hojas, que son signos de baja disponibilidad de fósforo.

La alta disponibilidad de fósforo insoluble en el suelo es uno de los mayores factores limitantes para la producción de los cultivos, por lo que la forma más común de incorporar este nutriente es mediante fertilizantes químicos. El uso indiscriminado de los mismos, además de resultar cada vez más costoso, altera significativamente el equilibrio de los suelos. (Tutillo, 2011, pág. 3)

Por sondeo a los responsables de Denmar S.A se conoce que el uso de fertilizantes y plaguicidas ha venido generando un costo anual aproximado de 4000 dólares, aplicando un litro por semana a cada cama logrando aparentemente plantas más vigorosas y no causando inconvenientes a los cultivos.

Otra problemática que presenta la florícola es un mal manejo en el proceso de compostaje, reflejado en bajos niveles de materia orgánica en el suelo y un pH ácido menor a 6 que no contribuyen a la disponibilidad de fósforo en el suelo.

Tema

“Mejoramiento del estado nutricional del suelo a través de la adición de compost enriquecido con bacterias fosfato solubilizadoras en la finca Denmar. Tabacundo – Ecuador.”

Objetivos

Objetivo general

Mejorar la disponibilidad de fósforo en el suelo a través de la adición de compost enriquecido con bacterias fosfato solubilizadoras en la finca Denmar en Tabacundo.

Objetivos específicos

- Diagnosticar el estado nutricional actual del suelo y de compost de la finca Denmar.

- Caracterizar la presencia de las bacterias fosfato solubilizadoras en el suelo de la finca Denmark para su posterior aislamiento y caracterización.
- Evaluar la disponibilidad del fósforo del suelo y en el compost luego de la inoculación de las bacterias fosfato solubilizadoras.

Justificación

La mayoría de fincas florícolas del Ecuador con el propósito de obtener una producción de alta calidad y rentabilidad, se han inclinado por el uso de fertilizantes químicos, los cuales tienen efectos tóxicos y contaminantes, causando también problemas de salinización en el suelo, factor que constituye un limitante para el rendimiento y calidad de lo que ahí se cultiva. (Tutillo, 2011, pág. 2)

La finca “Denmark”, en su afán, de una mejora continua realizó una serie de análisis del suelo y compost, arrojando entre sus resultados altos niveles de fósforo en el suelo. Sin embargo las plantas manifiestan hojas con manchas amarillas y coloraciones rojizas, flores pequeñas y tallos finos que son signos de deficiencia de fósforo en la planta. Además se observó niveles bajos de materia orgánica y arcillas. “Niveles bajos de materia orgánica y arcillas influyen en una baja capacidad de intercambio catiónico (CIC), lo que se ve reflejado en un suelo poco fértil y bajo en nutrientes”. (Airam, 2012, p. 12)

Se sabe además que el compost manejado en la finca Denmark actualmente no es de buena calidad, puesto que, no cumple con los factores que condicionan el proceso de compostaje como son humedad, temperatura, pH y población microbiana.

Una alternativa para mejorar la fertilidad de los suelos es el uso de enmiendas enriquecidas con microorganismos. La inoculación de microorganismos eficientes contribuyen a acelerar la descomposición de los desechos orgánicos, lo cual incrementa la disponibilidad de nutrientes, mejora la CIC, la estructura y equilibrio del suelo haciéndolo más apto para la producción de rosas de calidad. (Higa, 2013, p. 2)

La presente investigación es de interés en la finca Denmar, puesto que, con la producción de un compost rico en microbiota capaz de movilizar el fósforo insoluble en el suelo agrícola a formas solubles disponibles para las plantas, se mejoraría la sanidad del cultivo y las propiedades del suelo de una manera natural. Además, el uso de técnicas biológicas disminuiría el impacto ambiental, fitotoxicidad por mal manejo de dosis, y riesgos en la salud de los trabajadores. Finalmente, la producción de un buen compost es sustentable para la finca Denmar ya que reduciría el destino de fondos para la compra de fertilizantes y agroquímicos.

“Actualmente las flores ecuatorianas son consideradas como las mejores del mundo por su calidad y belleza inigualables”. (Dirección de Inteligencia Comercial e Inversiones, 2013, pág. 1). Por lo tanto, es loable tratar de mejorar adecuadamente los suelos para que sean sustentables y se mantenga la calidad de la flor por largos períodos de tiempo.

Hipótesis de trabajo

- Hipótesis Alternativa: La adición de bacterias solubilizadoras de fosfatos en el compost, inoculado al suelo de la finca Denmar, tienen la capacidad de mejorar la movilidad de fósforo en el suelo.
- Hipótesis Nula: La adición de bacterias solubilizadoras de fosfatos en el compost, inoculado al suelo de la finca Denmar, no tienen la capacidad de mejorar la movilidad de fósforo en el suelo.

Variables

- Independiente: Actividad fosfatosolubilizadora de bacterias.
- Dependiente: Capacidad de intercambio catiónico (CIC).

Indicadores

- UFC y % de minerales presentes en el suelo.

CAPÍTULO 1

MARCO TEÓRICO

1.1 Suelo

El suelo, considerado como soporte de la mayor parte de la vida sobre la tierra, se concibe más que como un simple material relativamente homogéneo debido a su alto contenido de organismos, así como cantidades de agua y aire que pueden variar. El suelo representa la inter fase entre las esferas atmosféricas, litológicas, biológicas e hidrológicas, es decir que “ el suelo es un consorcio de células vivas en una matriz orgánico-mineral, con decenas a miles de millones de hongos y bacterias, además de miles de diversas especies de plantas y animales”. (De la Rosa, 2008, p. 53)

De la Rosa (2008) informa que los horizontes más o menos paralelos a la superficie constituyen un suelo, es decir, que el medio natural para el desarrollo de las plantas se ve influido por distintos procesos físicos, biológicos y químicos. En su texto titulado Evaluación agro-ecológica de suelos para un desarrollo sostenible llega a la conclusión de que el proceso de formación del suelo es extremadamente lento y que este sería un recurso no renovable. (págs. 321-323)

En ese sentido es de suma importancia el estudio de los microorganismos del suelo por ser responsables del suministro de compuestos inorgánicos nutricionales en las plantas y por descomponer y mineralizar materia orgánica como una de sus principales funciones. (Giardina, 2010, pág. 155)

1.1.1 Descripción del suelo del Cantón Pedro Moncayo

En el cantón Pedro Moncayo se observa un paisaje caracterizado por cimas frías en las partes altas del volcán Mojanda, con pendientes fuertes y suelos formados de ceniza volcánica. Descendiendo se encuentran los flancos del volcán, con relieves y flujos de lava de pendientes variadas,

suelos negros y de formación Cangahua. (Instituto Espacial Ecuatoriano, 2013, pág. 3)

Los órdenes de suelos que forman el cantón Pedro Moncayo se pueden observar en la tabla 1.

Tabla 1.

Órdenes de suelos del Cantón Pedro Moncayo

Orden de Suelos USDA 2006	Orden de Suelos USDA 2006 (ha)	(%)
Andisol	14 805,74	44,09
Entisol	7 002, 08	20,85
Inceptisol	1 278,43	3,81
Molisol	9 787,94	29,15
No aplicable	672,38	2,00
Tierras misceláneas	34,51	0,10

Nota: El orden Andisol tiene un alto porcentaje de concentración 44,09%. Tomado de (Instituto Espacial Ecuatoriano, 2013, pág. 33)

1.1.2 Bacterias del suelo

Se caracterizan por vivir en forma libre o en simbiosis con las plantas, se estima que en el suelo se pueden hallar $10^9 \times 10^{10}$ UFC g^{-1} suelo. En los primeros 15 cm de profundidad la biomasa bacteriana del suelo puede variar de 350-7000 kg ha^{-1} aproximadamente. (Osorio & Osorno, 2011, pág. 42)

Osorio y Osorno (2011) afirman que entre los géneros más abundantes (aeróbicos o anaeróbicos), que llegan a representar entre el 75%-90% de la población presente en el suelo se encuentran *Arthrobacter*, *Pseudomonas* y *Bacillus*. (pág. 43)

Se puede establecer la siguiente clasificación de bacterias de acuerdo a la disponibilidad de nutrientes:

- *Rhizobium*: Reduce N_2 atmosférico y establece asociaciones simbióticas con leguminosas.
- *Anabaena*: Reduce N_2 , forma asociación simbiótica con el helecho *Azolla*.
- *Azotobacter*: Reduce N_2 atmosférico sin establecer asociaciones simbióticas.
- *Azospirillum*: Reduce N_2 atmosférico sin establecer asociaciones y estimula el crecimiento vegetal.
- *Nitrosomonas*: Oxida NH_4^+ para formar NO_2^- .
- *Nitrobacter*: Oxida NO_2^- para formar NO_3^- .
- *Acidithiobacillus thiooxidans*: Oxida S y sulfuros para formar SO_4^{2-} .
- *Acidithiobacillus ferrooxidans*: Reduce Fe_3^+ a Fe_2^+ .
- *Pseudomonas*: Forma sideróforos que quelatan Fe_2^+ .
- *Bacillus*: solubiliza compuestos fosfatados del suelo.
- *Geobacter*: reduce MnO_2 a Mn_2^+ .
- *Cellulomonas*: descompone celulosa. (Osorio & Osorno, 2011, pág. 74).

1.2 Compostaje

El compostaje es un proceso de transformación microbiana de la materia orgánica. Dicho de otra manera el compostaje constituye un proceso biotecnológico que combina fases mesófilas y termófilas para la descomposición y estabilización de la materia orgánica como consecuencia de la actividad metabólica de microorganismos, cuyo crecimiento depende de la temperatura de la masa, porcentaje de humedad, concentración de oxígeno y de la naturaleza del sustrato. (Iglesias, 2009, pág. 1)

Así pues se puede definir el proceso de compostaje como “la descomposición biológica oxidativa aerobia de la materia orgánica en condiciones controladas de temperatura, humedad y aireación, seguida por una estabilización y maduración del producto o compost”. (Iglesias, 2009, pág. 1)

El compost o producto a su vez se define como “ la mezcla de productos húmicos, usados como enmienda orgánica no como abono natural, y otros subproductos, que permiten un aprovechamiento de esta fracción orgánica de los residuos, así como la reducción hasta un 30% del volumen inicial”. (Editorial Vértice, 2008, pág. 98) Los métodos y parámetros para evaluar la madurez de un compost deben considerar aspectos físico- químico, bioquímico y microbiológico del proceso de compostaje. (Iglesias, 2009, pág. 1).

1.2.1 Importancia del compost

Un análisis de los beneficios del compost a través de experiencias en Latinoamérica evidencia la correlación entre la diversidad de composición del suelo con la descomposición de animales, plantas y microorganismos y el mejoramiento de proceso de descomposición contribuyen a constituir la materia orgánica (Román, Martínez, & Pantoja, 2013, pág. 63).

De acuerdo a información obtenida del depósito de documentos digitales del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), importantes contribuciones del compost sobre las propiedades físicas son:

- Mejora las estructuras plásticas y agrega las arenosas en beneficio de la estructura.
- La porosidad de los suelos beneficia el drenaje interno.
- La eficiencia del riego se da debido al aumento de la capacidad de retención de humedad del suelo.

Las principales contribuciones del compost sobre las propiedades físicas son:

- Hay posibilidades de nutrición de las plantas porque se aumenta la capacidad de intercambio catiónico.

- Hay un control respecto al alivio del agua de lluvia o de riego con retención y facilita la absorción de nutrientes por las plantas.
- Hay una estimulación del crecimiento debido al aporte de los enzimas lo que influye en el crecimiento de las plantas. Aumenta la disponibilidad de micro y macro elementos.
- Hay facilidad de absorción por la planta debido a que hay formación de compuestos orgánicos con el hierro (Fe), manganeso (Mn), cinc (Zn), cobre (Cu) y otros.

Las principales contribuciones del compost sobre las propiedades biológicas son:

- Estimulación en el crecimiento y actividad de la microbiota del suelo.
- Una mayor facilidad para la oxidación en la formación de compuestos que asimilan las plantas.
- La manera en se produce la germinación de las semillas mejora.
- Hay una fuente de energía para microorganismos heterótrofos y mejoramiento de los procesos de intercambio energético.
- Aumenta el rendimiento de los cultivos.
- La respiración radicular se ve favorecida.
- Favorece el estado sanitario de los órganos subterráneos.
- La presencia del CO₂ que se desprende se ve favorecido por la solubilización de compuestos minerales.
- La actividad enzimática se ve modificada.
- Hay una actividad de la rizogénesis.
- La nutrición mineral se ve mejorada. (CSIC, 2000, pág. 2)

1.2.2 Técnicas de compostaje

De acuerdo al CSIC (2000) existen ciertas técnicas de compostaje de acuerdo al tipo de sistemas sean estos abiertos, cerrados, a continuación un resumen de lo propuesto:

a) Sistemas abiertos: La forma de amontonamiento del material es muy variado (pilas, mesetas, zanjas, etc.). Entre sus técnicas se encuentran:

- Compostaje en pilas por volteo

Consiste en un sistema donde los subproductos se disponen en grandes pilas que son oxigenadas mediante volteos mecánicos (palas excavadoras o, volteadoras especializadas) (AgroWaste, 2013, pág. 1). “La frecuencia del volteo depende del tipo de material, de la humedad y de la rapidez con que interesa que sea realizado el proceso”. (CSIC, 2000, pág. 14)

- Compostaje en pilas estáticas con ventilación forzada

La gran diferencia con el sistema de pilas por volteo reside en que en el sistema estático la ventilación, ella ser realiza mediante aire que ingresa al interior mediante un sistema de ventilación de tuberías perforadas para asegurar el ingreso de oxígeno y la salida de CO₂, sin que se mueva la pila de material orgánico.

- Compostaje en pilas estáticas con aireación natural

El compostaje es el sistema más antiguo que se conoce y se realiza en pilas, de altura reducida, y no se mueven durante el compostaje. La característica radica en que es natural en lo que a ventilación se refiere a través de los espacios de la masa a compostar. (CSIC, 2000, pág. 13)

b) Sistemas cerrados o compostaje en reactores: “Utilizan un reactor o digestor, contando como sus principales sistemas cerrados de compostaje en tambor, en túnel, en contenedor y en nave”. (Solans, Alonso, & Gadea, 2001, pág. 2).

- Compostaje en túnel

“Tiene lugar en un túnel cerrado estático, fabricado generalmente en hormigón, con una vía de ventilación controlada por impulsión o aspiración, para el aporte de O₂, que es de vital importancia para los micro organismos”. (Villapudua & Sáinz, 2007, pág. 2)

- Compostaje en contenedor

El compostaje en contenedor es una técnica pareja a la anterior, solo que se diferencia en que el compostaje se realiza en contenedores de acero, en túneles de hormigón en menor tamaño. “A menudo es un proceso continuo, con carga del material a compostar en la parte superior y descarga por la parte inferior” (Villapudua & Sáinz, 2007, pág. 2).

- Compostaje en nave

El compostaje total del área de la nave se mueve por medio de grúas, las plantas modernas están totalmente automatizadas y equipadas con volteadoras. “El proceso de compostaje tiene lugar en una nave cerrada. La ventilación se realiza mediante una placa en la base y/o con ayuda de diferentes tipos de unidades rotativas (volteadoras)” (Villapudua & Sáinz, 2007, pág. 2).

1.2.3 Parámetros de calidad del compost

Las variables o parámetros de seguimiento que son medidos mediante procesos afectan los sistemas de compostaje por ello “sus valores deben estar en los intervalos considerados correctos para cada fase del proceso” (Jeris & Regan, *Controlling Environmental Parameters for Optimum Composting*, 1973, pág. 153).

Ello lo propusieron por primera vez Jeris y Regan (1973) en su investigación relacionada con los parámetros por un óptimo compost en el control del medio ambiente, en caso de ser necesario.

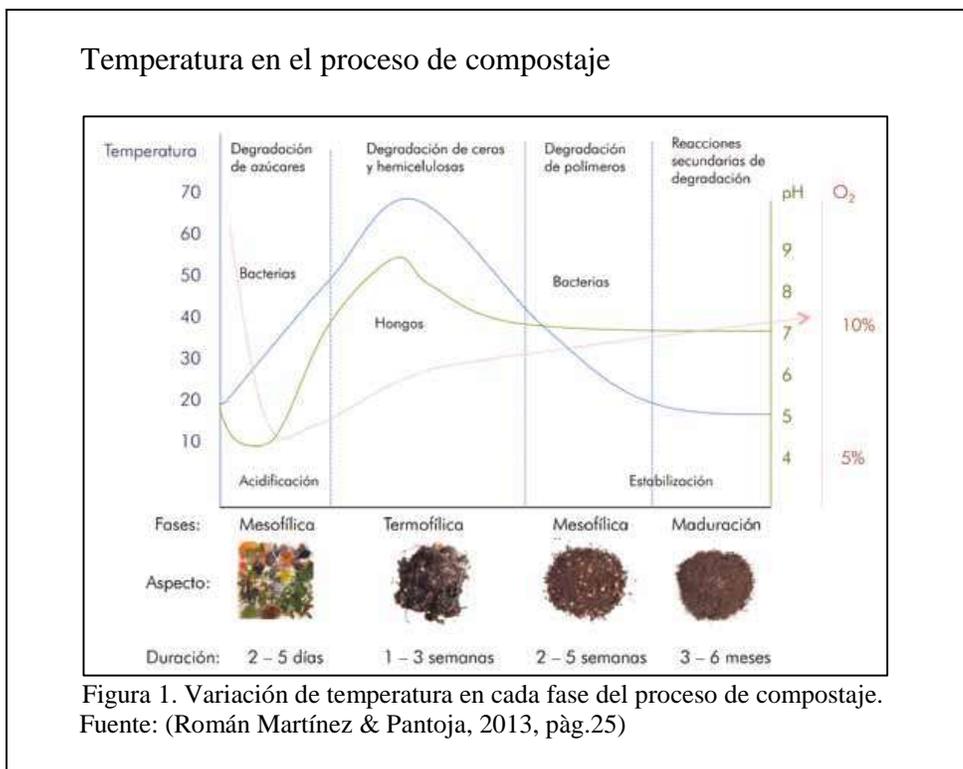
En cuanto a los parámetros relativos a la naturaleza del sustrato Madejon, Díaz, López y Cabrera Álvarez (2002) encontraron que deben ser medidos y adecuados a sus valores correctos fundamentalmente al inicio del proceso y que incide en el mismo (Madejón, Díaz, López, & Cabrera, 2002, pág. 275).

1.2.3.1 Parámetros de seguimiento

Luego de la revisión de distintos criterios de varios autores, se toma la propuesta de Román, Martínez, & Pantoja (2013) en su Manual de Compostaje del Agricultor Experiencias en América Latina, debido a ser la más actualizada y menciona que los parámetros de seguimiento del compostaje están relacionados con la temperatura, humedad, ph, aireación, espacio del aire libre.

- Temperatura

La temperatura varía en función del proceso y cuando el compostaje inicia a una temperatura ambiente que puede subir hasta los 65°C sin necesidad de ninguna actividad antrópica (calentamiento externo), para llegar nuevamente durante la fase de maduración a una temperatura ambiente como se ilustra en la figura 1.



En ese sentido, para cada fase del compostaje, es deseable que la temperatura no decaiga demasiado rápido, ya “que a mayor temperatura y tiempo, mayor es la velocidad de descomposición y mayor higienización” . (Román, Martínez, & Pantoja, 2013, pág. 28)

- Humedad

La humedad es un parámetro estrechamente vinculado a los microorganismos, ya que, como todos los seres vivos, usan el agua como medio de transporte de los nutrientes y elementos energéticos a través de la membrana celular (Román, Martínez, & Pantoja, 2013, pág. 28).

La humedad óptima para el compost aunque varía dependiendo del estado físico y tamaño de las partículas, así como sistema que se seleccione en la realización del compostaje, se sitúa alrededor 55%, en cambio, si la humedad está por debajo del 45%, disminuye la actividad microbiana, ello contribuye a que no se tenga tiempo a completar todas las fases de degradación, lo que provoca que haya inestabilidad biológica en el producto. Si la humedad es demasiado alta (>60%) el agua saturará los poros e interferirá la oxigenación del material.

- pH

El pH del compostaje depende de los materiales de origen y varía en cada fase del proceso desde 4.5 a 8.5. En los primeros estadios del proceso, el pH se acidifica por la formación de ácidos orgánicos. En la fase termófila, debido a la conversión del amonio en amoniaco, el pH sube y se alcaliniza el medio, para finalmente estabilizarse en valores cercanos al neutro. (Román, Martínez, & Pantoja, 2013, pág. 29)

El pH define la supervivencia de los microorganismos y cada grupo tiene pH óptimos de crecimiento y multiplicación. La mayor actividad bacteriana se produce a pH 6,0- 7,5, mientras que la mayor actividad

fúngica se produce a pH 5,5-8,0. El rango ideal es de 5,8 a 7,2. (Román, Martínez, & Pantoja, 2013, pág. 29)

- Aireación

El compostaje es un proceso aerobio y se debe mantener una aireación adecuada para permitir la respiración de los microorganismos, liberando a su vez, dióxido de carbono (CO₂) a la atmosfera. Así mismo, la aireación evita que el material se compacte o se encharque. Las necesidades de oxígeno o varían durante el proceso, alcanzando la mayor tasa de consumo durante la fase termofílica.

Se recomienda que la saturación de oxígeno en el medio no baje del 5%, recomendando un nivel óptimo del 10%. Debido a que un exceso de aireación provocaría el descenso de temperatura con una pérdida de la humedad por evaporación, para que el proceso de descomposición no se detenga por falta de agua; una baja aireación, impide la suficiente evaporación de agua, ello ocasiona exceso de humedad y la sustitución de microorganismos aerobios por anaerobios. Los malos olores y acidez se producen debido a el ácido acético, ácido sulfhídrico (H₂S) o metano (CH₄) en exceso. (Román, Martínez, & Pantoja, 2013, págs. 25-26)

- Espacio de aire libre

Schulze, introdujo el concepto de Espacio de Aire Libre (Free Air Space, FAS), adoptado de la ciencia del suelo, para establecer una relación entre los contenidos de humedad (H), la densidad aparente (D_a), la densidad real (D_r) y la porosidad (P). Con relación a lo propuesto por este autor, se destaca la importancia de la estructura física de los residuos.

El FAS, calculado por la Ecuación 1, da idea de las cantidades relativas de agua y aire existentes en la masa en compostaje.

$$FAS = P \left(1 - \frac{H}{100} \right) \quad [1]$$

Donde:

$$P = 100 \left(1 - \frac{D_a}{D_r}\right) \quad [2]$$

Por tanto:

$$FAS = 100 \left(1 - \frac{D_a}{D_r}\right) \left(1 - \frac{H}{100}\right) \quad [3]$$

Tanto las expresiones FAS, P como la H se expresan en porcentaje y Dr y Da en g cm-3.

Al estudiar diferentes residuos, se establece que el proceso de compostaje ocurre con mayor rapidez (mayor consumo de oxígeno) cuando el valor de FAS es de 30-35%, independientemente de la naturaleza del residuo. Por lo tanto, conocidos los valores de Da y Dr puede ser encontrada la humedad óptima para el residuo estudiado.

Un análisis realizado por Moreno y Moral (2011) en relación al compostaje, determina que a la densidad real es una constante para cada producto, también se debe considerar que en una pila de compostaje, la Da puede aumentar o disminuir dependiendo del grado de humedad de la mezcla. En el caso de que la humedad sea alta, disminuye el FAS y el producto se compacta, por el contrario cuando los valores se presentan bajos de humedad los espacios intersticiales están ocupados por aire, la densidad aparente aumenta. (Moreno & Moral, 2011, págs. 100-101).

1.2.3.2 Parámetros relativos a la naturaleza del sustrato

- Tamaño de partícula

Las partículas demasiado grandes presentan poca superficie de contacto para ser metabolizadas por los microorganismos haciendo que el tiempo de procesamiento se alargue. El Programa de Apoyo a la Formación Profesional para la Inserción Laboral en el Perú Capacítate Perú (APROLAB) como parte de un estudio centrado en parámetros

relativos a la naturaleza del sustrato y lo relacionado con el proceso de compostaje, determinó que el tamaño ideal de las partículas debe ser de 3 a 6 cm (APROLAB, 2007). “Por lo tanto, el desmenuzamiento del material facilita la acción de los microorganismos y aumenta la velocidad del proceso.” (Román, Martínez, & Pantoja, 2013, pág. 30)

- Relaciones C/N y C/P

Cuando de velocidad del proceso y la pérdida de amonio durante el compostaje se trata, se debe pensar en la relación C/N como un importante factor; si la relación C/N es mayor a 40 la actividad biológica disminuye y los microorganismos deben oxidar el exceso de carbono con la consiguiente ralentización del proceso, todo ello debido a que la disponibilidad de N es deficiente para la sintetización protéica de los microorganismos.

Para un correcto compostaje en el que se aproveche y retenga la mayor parte del C y del N, la relación C/N del material de partida debe ser la adecuada. “Los microorganismos utilizan generalmente 30 partes de C por cada una de N; por esta razón se considera que el intervalo de C/N teóricamente óptimo para el compostaje de un producto es de 25-35” (Jhorar, Phogat, & E., 1991, pág. 297).

Si el residuo tiene una alta relación C/N, pero la materia orgánica es poco biodegradable, la relación C/N disponible realmente para los microorganismos es menor y el proceso evolucionará rápidamente, pero afectará sólo a una proporción de la masa total. Si la relación C/N es muy baja el compostaje es más rápido y el nitrógeno en exceso se desprende en forma amoniacal, generándose una autorregulación de la relación C/N del proceso.

“La relación C/N ideal para un compost totalmente maduro es cercana a 10, similar a la del humus. Estas pérdidas, si bien no afectan negativamente al compostaje, suponen un derroche, porque el N es el nutriente fundamental” (Moreno & Moral, 2011, págs. 101-102). Finalmente, es importante que los microorganismos cuenten con un adecuado suministro de fósforo. “La relación carbono/fósforo óptima es cualquiera comprendida entre 120:1 y 175:1” (CICA, 2004, pág. 4).

- Nutrientes

La composición elemental es la característica química más relevante de los sustratos debido a que la utilidad agronómica de residuos que tengan posibilidad de ser compostados, dependen de los elementos nutritivos que estén disponibles o estén incluidos. Los microorganismos sólo pueden aprovechar compuestos simples, en ese caso “lo que ocurre es que las moléculas más complejas se rompen en otras más sencillas, este es el caso de las proteínas que se transforman en aminoácidos y estos en amoníaco para poder ser asimiladas” (Castaldi, Alberti, Merella, & Melis, 2005, pág. 209).

Entre los elementos químicos que componen el sustrato destacan el C, N, y P, que son componentes macronutrientes fundamentales para el desarrollo microbiano (Moreno & Moral, 2011). Como se demuestra en la tabla 2 relacionada con el contenido de nutrientes totales en cuatro tipos de residuos distintos se observa que los resultados expresados en base húmeda asumiendo 20% de humedad.

Tabla 2.

Contenido de nutrientes totales en cuatro tipos de residuos

	MATERIAL			
ELEMENTO	Deyección de Lombriz	Residuos Vegetales	Residuo Ind. Madera	Residuo Sól. Urbano
Humedad (%)	20,0	20,0	20,0	20,0
UNIDADES	%			
Nitrógeno (N)	0,90	1,72	1,60	0,85
Fósforo (P ₂ O ₅)	1,12	1,38	0,07	0,47
Potasio (K ₂ O)	0,98	2,96	0,06	0,76
Calcio (CaO)	1,68	6,04	1,30	3,87
Magnesio (MgO)	1,16	1,06	0,25	0,50
Azufre (S)	0,29	0,37	0,19	0,20
Hierro (Fe)	0,90	0,76	0,59	1,48
Manganeso (Mn)	0,036	0,040	0,029	0,015
Cobre (Cu)	0,002	0,005	0,002	0,004
Zinc (Zn)	0,014	0,015	0,042	0,014
Boro (B)	0,002	0,003	0,003	0,003
Sodio (Na)	0,100	0,070	0,017	0,206

Nota: Resultados expresados en base húmeda asumiendo 20% de humedad
Tomado de (AGRILAB LTDA., 2004, pág. 46)

Se comprueba que, en general, entre el inicio y el final de la incubación se produce un aumento de las concentraciones de los distintos nutrientes, provocada por la pérdida de materia orgánica de la masa a compostar (Díaz, Jiménez, Cabrera, Bertoldi, & M.D, 2004, pág. 42).

Además de C, N y P existen otros nutrientes presentes en menor cantidad (micronutrientes), pero no por ello menos importantes en la síntesis de las enzimas, en el metabolismo de los microorganismos y en los mecanismos de transporte intra y extracelular. (Moreno & Moral, 2011, pág. 82).

- Materia orgánica

El descenso de materia orgánica en el proceso de compostaje transcurre en dos etapas fundamentalmente. En la primera se produce un rápido decrecimiento de los carbohidratos dando lugar a los compuestos húmicos. Durante el compostaje la materia orgánica tiende a descender debido a su mineralización y a la consiguiente pérdida de carbono en forma de anhídrido carbónico; los porcentajes de pérdidas que se consideran pueden llegar hasta casi el 20% en peso de la masa compostada (Zucconi & De Bertoldi, 1987, págs. 56-61).

Haug, R.T (1993) destacó en su investigación publicada en inglés *The practical Handbook of Compost Engineering*, lo que ocurría en la segunda etapa una vez consumidos los compuestos lábiles, otros materiales más resistentes como las ligninas se van transformando y degradando en compuestos húmicos.

Algunos compuestos provenientes de la materia orgánica son transformados en anhídrido carbónico y agua por los microorganismos. “Estos materiales tienen propiedades que son diferentes de los materiales originales lo que da a la masa características químicas y físicas distintas” (pág. 8).

La velocidad de transformación de materia orgánica depende de su naturaleza física y química, además de las condiciones físico-químicas como la humedad, aireación, temperatura y pH) del proceso de los microorganismos que intervienen (Michel, Pecchia, & Rigot, 2004, pág. 323).

La celulosa en un periodo de unos 200 días se degrada entre un 23-54%, dependiendo de la mezcla; las celulosas y hemicelulosas son fácilmente degradables, los compuestos lipídicos tienen una degradabilidad limitada y las ligninas no se degradaban en absoluto. De acuerdo a lo propuesto en la tabla 3 que muestra la degradabilidad de algunos componentes de los residuos orgánicos (Haug, 1993,pág. 3).

Tabla 3.

Degradabilidad de componentes orgánicos

Componente	Degradabilidad (%)
Celulosas	70
Hemicelulosas	70
Otros azúcares	70
Ligninas	0
Lípidos	50
Proteínas	50

Nota: Degradabilidad de los principales componentes orgánicos de los sustratos. Tomado de (Haug, 1993, pág.3)

- Conductividad eléctrica (CE)

La naturaleza y la composición del material de partida influyen en la conductividad eléctrica, debido principalmente a su concentración de sales y a la presencia de iones amonio o nitrato en menor grado que se forman en el proceso (Sanchez, Roig, Paredes, & Bernal, 2001, pág. 8).

La CE tiende generalmente a aumentar durante el proceso de compostaje por la mineralización que se produce en de la materia orgánica, cabe recalcar que ello se debe a un descenso de la CE durante el proceso que se atribuye a una humectación excesiva de la misma lo que puede deberse a fenómenos de lixiviación en la masa. (Moreno & Moral, 2011, pág. 93)

La dosis de compost que puede añadirse a un suelo debe ser proporcional a la CE del compost. Un exceso de salinidad en la solución del suelo dificulta la absorción de agua por las raíces de las plantas, de modo que en algunos casos, en esas condiciones, sólo prosperan las especies resistentes (Moreno & Moral, 2011, pág. 94).

1.3 Fósforo

En un orden de no menos importancia que el nitrógeno, está el fósforo que es un nutriente esencial para el desarrollo y crecimiento de las plantas así como de los microorganismos, “sin embargo, el fósforo soluble es un nutriente limitado para la producción de biomasa en un ecosistema natural” (Hameeda, Harinni, Rupela, Wani, & Reddy, 2006, pág. 234).

Dependiendo del tipo del suelo, se puede decir que entre el 50- 60% corresponde a fracción orgánica, mientras que el resto se encuentra en forma inorgánica. Las plantas absorben el fósforo en forma inorgánica en estado insoluble, pero cuando se introduce al suelo, más del 90% de éste pasa rápidamente a formas solubles no disponibles. “El fósforo tiene como su principal función fisiológica la intervención en los procesos de acumulación y liberación de energía durante el metabolismo celular” (Conney, 2000, pág. 115).

Cuando un suelo es incapaz de suministrar este elemento según afirma Alexander (1980), este debe ser adicionado externamente de acuerdo a lo que los vegetales necesiten en forma de fertilizantes químicos o naturales. “De esta manera gran parte de los fertilizantes fosfatados que se aplican no son utilizados por las plantas, si no que se almacenan en el suelo” (Alexander, 1980, pág. 491).

Fernández atribuye que estos índices bajos del nutriente resultan de la reacción de iones como el calcio, el hierro, o el aluminio con el fósforo soluble que provocan precipitación o fijación, disminuyendo la disponibilidad para los vegetales. “Las plantas deben absorber el elemento del suelo, donde se encuentra en muy baja concentración, normalmente en niveles que varían entre 5 y 30mg/kg” (Fernández, 2005, pág. 32).

1.3.1 Fisiología del fósforo en la planta

El fósforo es un componente esencial de las plantas, alcanzando concentraciones (en forma de H_2PO_4) entre el 0,5 al 1% de la materia seca. “Se encuentra, en estado mineral,

y en forma de compuestos orgánicos fosforados como fosfolípidos, fitina, nucleótidos y ácidos nucleicos” (Milthope & Moorby, 1982, pág. 259).

Rodríguez (1982) en su investigación relacionada con nutrición vegetal afirma que, la mayor absorción de los fosfatos por parte de las plantas depende de los siguientes tres factores:

- Capacidad de solubilizar de las raíces: Las raíces excretan permanentemente, por sus funciones metabólicas, bióxido de carbono (CO_2), por tanto, una especie que tenga buena producción de CO_2 , tiene mayor capacidad de solubilizar el fósforo asimilable.
- Tamaño de la raíz: Un sistema radicular bien desarrollado permite mayor extracción de nutrientes, especialmente de los pocos móviles.
- Capacidad de absorción de la planta: Algunas especies tienen una mayor capacidad para la absorción de fosfatos de calcio que otras; las especies exigentes en calcio extraen mucho este elemento del suelo provocando indirectamente una mayor solubilización de los fosfatos (Rodríguez, 1982, pág. 362).

Una vez absorbido como monobásico PO_4H^- , y el bibásico PO_4H_2^- el fósforo circula y se traslada al vegetal como fosfato monobásico, siendo interiormente un elemento muy móvil, además de que interviene en la formación de las nucleoproteínas, ácidos nucleicos y fosfolípidos, y en aspectos como la división celular, la respiración y la fotosíntesis, síntesis de azúcar, grasas y proteínas, la acumulación de energía (en los compuestos ATP y NADP), en los fenómenos de fosforilación y en la regulación de pH de las células (sus ácidos y sus sales de “metal fuerte” forman soluciones “Buffer” que regulan el pH de las soluciones celulares), y otros.

Este elemento se acumula principalmente en los tejidos activos (síntesis, respiración), los meristemas (puntos de división celular), semillas y frutos; su carencia produce varios trastornos fisiológicos como:

- Falta de sintetización de las uniones peptídicas de las proteínas debido a la falta de energía.
- No se establece un equilibrio entre los azúcares y almidones, acumulándose los primeros y formando una sustancia rojiza, la antocianina.

A partir de los conceptos desarrollados, una deficiencia de fósforo tiene la siguiente sintomatología:

- Lento crecimiento y desarrollo de la planta.
- Floema y xilema poco desarrollados.
- Menos peso y tamaño.
- Pobre floración y fructificación.
- Retraso de maduración.
- Las hojas toman un color verde oscuro y a veces con matices rojizos (antocianinas).

En cambio, los efectos positivos que conlleva una buena disponibilidad de fósforo son:

- Mayor desarrollo radicular.
- Mayor crecimiento y desarrollo general de la planta.
- Aceleración de la floración y fructificación.
- Mayor resistencia a las condiciones adversas (clima, enfermedades, etcétera (Rodríguez ,1982, pàg.367)

1.3.2 Fósforo en el rosal

En fertilizantes aparece como fosfato aprovechable (P_2O_5). Estimula la pronta formación de las raíces y su crecimiento. En el caso de las plantas fortalece a su crecimiento y particularmente fortalece el rosal cuando se dan el caso de las heladas.

Es importante indicar además que favorece el desarrollo de los tejidos reproductores y esto afecta a la floración. La deficiencia de fósforo reduce el crecimiento vegetativo y radicular, en ese sentido las hojas se tornan opacas y se caen, lo que no ocurre con las hojas jóvenes. Los nematodos, mal drenaje y exceso de agua, se cuentan entre los factores que pueden limitar la absorción del fósforo, como son: “Con exceso puede también inhibir el calcio y aluminio. Existe sinergismo con el nitrógeno y el magnesio” (Fainstein, 1997, págs. 44-45).

1.3.3 El fósforo en el suelo

El fosforo puede estar presente de manera inmóvil o de diversas formas fuera de la rizósfera, la cantidad del mismo en el suelo puede ser alta. Así por ejemplo, en algunos suelos, más del 80% del fósforo aplicado se vuelve inmóvil, y la consecuencia es que no es asimilable para la absorción por parte de las plantas. “Entre el 20 al 80% del fósforo del suelo está en forma orgánica, el remanente se puede encontrar en la fracción inorgánica, contenido en cerca de 170 formas minerales de fósforo” (Reyes, 1991, pág. 397).

El fósforo aparece en el suelo bajo la forma de ortofosfatos en ciertos minerales, como los fosfatos de calcio insolubles, así como aquellos que se absorben en las superficies de los óxidos de hierro y aluminio hidratados. Se puede encontrar el fósforo en el suelo en forma de fluorapatita, que de forma fina se divide en hidroxapatita o clorapatita como se explica en mayor detalle en la Tabla 4, o en combinación con partículas de suelo; se puede encontrar también en combinación con el humus y otras fracciones orgánicas. (Reyes, 1991, pág. 398)

El suministro a las plantas está determinado por el equilibrio y tasa de liberación de los iones H_2PO_4 , de los compuestos de calcio, hierro y aluminio, con los que se relacionan, y de la materia orgánica en descomposición.

Cuando se agrega al suelo una forma soluble como el fosfato monocálcico ($Ca(H_2PO_4)_2$), este se transforma de manera rápida en la forma di cálcica

CaHPO_4 , que queda absorbida en los minerales arcillosos. Ello provoca que se mantenga una concentración de iones H_2PO_4 en la solución del suelo de 0.003 a 3 mg/kg, todo ello sujeto al tipo de suelo del que se trate. (Reyes, 1991, pág. 398)

De acuerdo a análisis estadísticos se estima que únicamente del 10-20% del fósforo que es aplicado como fertilizante es aprovechado en el suelo durante el primer año, ello sobre todo debido a que la mayor parte es rápidamente fijado o precipitado a formas de baja solubilidad. (Vance, 2001, pág. 390)

Tabla 4.

Compuestos más comunes de fósforo en el suelo

Compuestos que contienen calcio	Compuestos que contienen aluminio y hierro
Flúor apatito: $(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_3\text{F}_2\text{Ca}$	Variscita: $\text{PO}_4\text{Al} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
Carbonato apatito: $(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_3 \cdot \text{CO}_3\text{Ca}$	Stremgita: $\text{PO}_4\text{Fe} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
Hidroxi-apatito: $(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_3 \cdot \text{Ca}(\text{OH})_2$	Vivianita: $\text{Fe}(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$
Oxi-apatito: $(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_3 \cdot \text{CaO}$	Dufrenita: $\text{PO}_4\text{Fe}_2(\text{OH})_3$
Fosfato tricálcico: $3\text{Ca}(\text{PO}_4)_2$	Wavellita: $(\text{PO}_4)_2\text{Al}_3(\text{OH})_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
Fosfato bicálcico: CaHPO_4	Taranakita: $(\text{PO}_4)_8\text{H}_6\text{Al}_5\text{K}_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$
Fosfato monocálcico: $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	

Nota: compuestos de fósforo que poseen calcio, aluminio y hierro en su composición. Tomado de (Navarro, 2003, pág. 197).

a) Fósforo orgánico

Los principales reservorios de fósforo orgánico son las plantas, animales y microorganismos, los cuales al descomponerse liberan al medio los fosfatos orgánicos. (Eweis, 1999, pág. 14)

El fósforo orgánico es de carácter insoluble y se halla contenido en la materia orgánica y la biomasa microbiana en un porcentaje estimado del 20 al 80% del fósforo que esta presente en la superficie del suelo, el fósforo orgánico se encuentra en forma de inositol aportando del 1 al 62% del P orgánico del suelo, como ácidos nucleicos aportando entre un 0.2 a 1.8% y fosfolípidos y otras moléculas representando menos del 5% de fósforo orgánico. En razón de ello se estima que del 30 al 50% restante puede ser de los microorganismos una parte estructural (Valero, 2003, pág. 120).

b) Fósforo inorgánico

De acuerdo a Brady (2000) en su análisis sobre los elementos de la naturaleza y propiedades del suelo los compuestos de fósforo inorgánico se clasifican en dos importantes tipos: Los que contienen calcio y los que se componen de hierro, aluminio y en frecuencias menores manganeso (Tabla 5). (pág. 392).

Al respecto el autor afirma que:

Los fosfatos inorgánicos son totalmente insolubles en agua. Los fosfatos de calcio (minerales de apatita), son estables e insolubles a condiciones de pH alto, mientras que los fosfatos que contienen hierro y aluminio (estrenuita y variscita) son estables en suelos con pH bajo. (Brady, 2000, pág. 392).

Tabla 5.

Principales formas de fósforo inorgánico en el suelo

Tipo de fosfato	Denominación	Composición	Características
Fosfatos de Calcio	Hidroxiapatita	$3Ca_3(PO_4)_3 \cdot Ca(OH)_2$	Mayor abundancia
	Oxipatita	$3Ca(PO_4)_2CaO$	
	Fluorapatita	$3Ca_3(PO_4)_2CaF_2$	Mayor abundancia
	Carbonatoapatita	$3Ca_3(PO_4)_2CaCO_3$	
	Fosfato tricálcico	$3Ca(PO_4)_2$	
	Fosfato bicálcico	$CaHPO_4$	Mayor solubilidad
	Fosfato monocálcico	$Ca(H_2PO_4)_2$	Mayor solubilidad
Fosfatos de Hierro	Vivianita	$Fe(PO_4)_2 \cdot 8H_2O$	
	Estrengita	$FePO_4 \cdot 2H_2O$	
Fosfatos de Aluminio	Variscita	$AlPO_4 \cdot 2H_2O$	

Nota: Denominación, composición y características de de los tipos de fosfato contenidos en el suelo. Tomado de (Navarro, 2003, pág. 197).

1.3.4 Factores que afectan la solubilidad de fósforo en el suelo

Rodríguez (1982), en sus investigaciones sobre nutrición vegetal relacionada con fertilizantes detalla ciertos factores que afectan la solubilidad de fósforo en el suelo. El fósforo no asimilable por las plantas y retenido por el suelo depende de los siguientes factores:

- pH del suelo: El pH óptimo está entre 5.5 y 7.0.
- Temperatura: Temperaturas elevadas incrementan las reacciones químicas y el grado de absorción de las plantas, y la solubilidad de los químicos se incrementa.
- Humedad: Cuando la cantidad de agua, o humedad, aumenta en el suelo ocurre un incremento de iones fosfato en solución.

- Materia orgánica: que favorecen de igual manera la disponibilidad del fósforo en el suelo y a la asimilación del fósforo.
- Textura: Afecta principalmente a la disponibilidad en el suelo (humedad), ya que determina cuanto puede retener para que el fósforo se encuentre en solución. Las texturas pueden ser gruesas o finas dependiendo el contenido de agua y de la característica de absorción de aniones (texturas finas). (pág.367).

La fertilización consiste en:

- Aumentar la concentración de fósforo soluble en la solución, cerca de su saturación.
- Localización del fósforo en la aplicación para contrarrestar su poca movilidad.
- Las fertilizaciones deben ser constantes, ya que se inmoviliza de manera rápida este elemento (Rodríguez, 1982, págs. 369-371).

1.3.5 Ciclo del fósforo

El ciclo del fósforo está basado en reacciones biológicas y químicas, cuando las raíces y los microorganismos lo absorben y convierten el fósforo en compuestos orgánicos dentro de sus organismos, el proceso biológico del fósforo es inmovilizado. Al final una cantidad significativa de fósforo orgánico se encuentra en el suelo.

Debido a que la tasa de mineralización de compuestos orgánicos es muy alta, los microorganismo mineralizan el fósforo orgánico, y ello provoca que se libere de nuevo el $H_2 PO_4^-$ (ortofosfato) a la solución del suelo.

Ciclo del Fósforo.

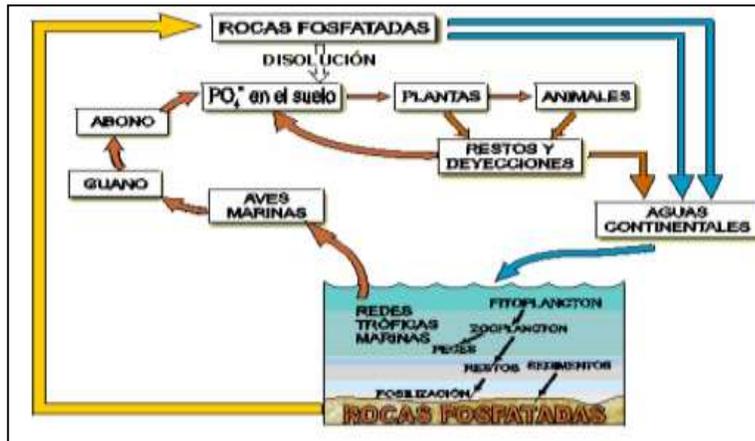


Figura 2. Reacción del ion fosfato con otros iones en la solución del suelo.
Fuente: (Brady, 2000, pàg. 392)

Respecto a la reacción del ion fosfato con otros iones en la solución del suelo, se advierte de acuerdo a la figura 2 que el ion fosfato reacciona rápidamente con otros iones en la solución del suelo resultando en precipitación y absorción a coloides minerales; al final el fósforo se convierte en un elemento fijo y no disponible.

Como resultado final la mayoría de los iones fosfato provenientes de la mineralización pueden ser transformados en una forma no disponible antes que las plantas tengan la oportunidad de absorberlo y antes que pueda ocurrir su pérdida por lixiviación. (Foth H. , 1990, págs. 162-163)

1.3.5.1 Dinámica del fósforo

La cantidad de fósforo disponible para las plantas, está condicionado a la modificación del equilibrio dinámico que mantiene la disolución con los compuestos inorgánicos insolubles o fijados por una parte, y la formación y descomposición de la materia orgánica. Por lo tanto las cantidades que se puedan asimilar dependerán de la modificación del equilibrio dinámico que mantenga la disolución con los compuestos inorgánicos insolubles que contiene.

Movilidad de nutrientes en el suelo.

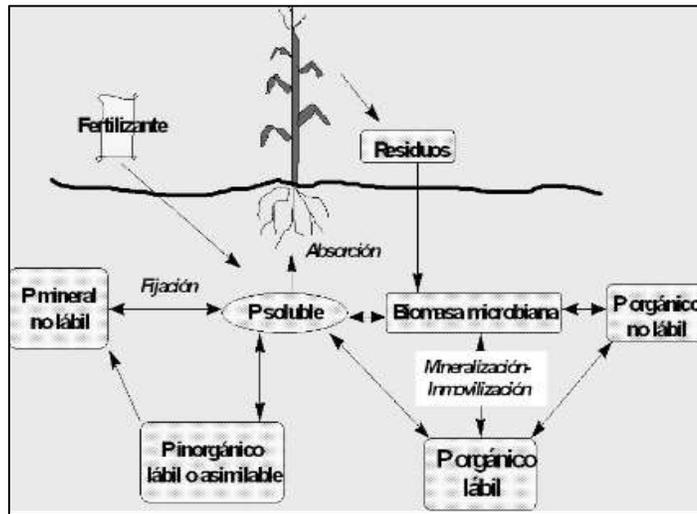


Figura 3. Movilidad de nutrientes en el suelo
Nota: (Torres, 2009, p. 96)

Para explicar la movilidad de nutrientes del suelo, se utilizara una Figura 3 que explica ello en detalles desde el uso del fertilizando hasta la últimas parte de fijación y absorción para demostrar que “el factor que influye directamente en el equilibrio es el pH, ya que condiciona el tipo de reacciones que harán que los compuestos fosfatados lleguen a las plantas” (Navarro, 2003, pág. 197).

1.3.6 Biosolubilización del fósforo

1.3.6.1 Ciclo microbiano

El ciclo microbiano del fósforo implica la transformación del fósforo entre los depósitos orgánicos e inorgánicos, así como entre las formas insolubles y solubles. La cantidad de fósforo disuelto en el suelo en cualquier momento varía entre 0,1 y 1 kg por hectárea (Coney, 2000, pág. 416).

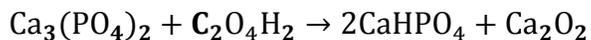
Los microorganismos juegan un papel primordial en la solubilización, la inmovilización y la mineralización.

a) Solubilización: Existen algunos mecanismos básicos para solubilizar el fósforo mineral y hacer que resulte más disponible:

✓ Producción de ácidos orgánicos

“La solubilización ocurre gracias a la producción de ácidos orgánicos tales como el ácido nítrico (producidos por agentes nitrificantes), el ácido sulfúrico (producidos por los tiobacilos) y el ácido carbónico (H_2CO_3) por acción microbiana” (Coney, 2000, pág. 416). Estos ácidos orgánicos actúan sobre los compuestos insolubles del fósforo inorgánico como: fosfato tricálcico, fosfato dicálcico, hidroxiapatita y roca fosfórica. Aunque ácidos orgánicos de bajos pesos moleculares como el oxálico, cítrico, láctico, succínico y acético se producen en los suelos gracias a la descomposición de la materia orgánica, y cada microorganismo degradará un tipo y una cantidad de estos ácidos; se detecta que estos están presentes cuando el pH en el suelo disminuye hasta valores aproximados a 2.

“Las bacterias que solubilizan activamente el fósforo representan un 10% de la población microbiana” (Coney, 2000, pág. 416). Se trata fundamentalmente de organismos de la rizosfera, como Bacillus, Micrococcus, Mycobacterium, Pseudomonas y algunos hongos.



Fosfato tricálcico + Ácido oxálico → Fosfato dicálcico + Oxalato de calcio

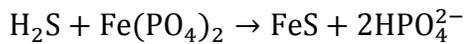
De acuerdo a la reacción química anterior, un fósforo inorgánico como el fosfato tricálcico en presencia de un ácido orgánico de bajos pesos moleculares como el ácido oxálico, da como resultado fosfato dicálcico más un oxalato.

✓ Quelación

Los compuestos orgánicos fabricados por los microorganismos, como el ácido oxálico, pueden quelar (unir) Ca^{2+} , Mg^{2+} y Fe^{3+} , desestabilizando así el mineral fosfato y

solubilizando el fósforo. Hay que considerar que el hierro ferroso (Fe^{2+}) es más soluble que el férrico (Fe^{3+}).

En consecuencia, todos los minerales en los que quepa encontrar Fe^{2+} se disuelven finalmente. Así, por ejemplo, desde el punto de vista anaerobio:

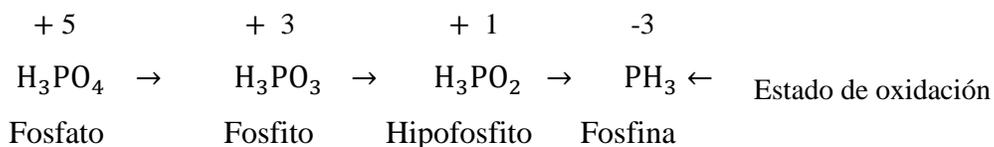


El fósforo disponible es mayor en los suelos secados al aire que en los suelos anegados con agua, con una excepción: cuando se examinan los compuestos de fosfato de hierro (García, 2003, pág. 49).

b) Inmovilización: Es otra transformación microbiana del fósforo, en el cual el P, es aprovechado en componentes celulares, ello implica la incorporación en la biomasa de los microorganismos, formando ácidos nucleicos, fosfolípidos y otras sustancias de tipo protoplasmáticas (García, 2003, pág. 50).

✓ Oxidación y reducción del fósforo.

“Los estados de oxidación del fósforo van desde -3 (fosfina) hasta +5 (ortofosfato). Los microorganismos al utilizar fosfitos pueden transformarlo en fosfatos en el interior de la célula, aunque este proceso puede ser reprimido por inhibidores biológicos como el tolueno” (García, 2003, pág. 50). A través de este proceso se provoca la solubilización del fósforo al reaccionar con los iones del suelo



c) Mineralización: “La mineralización microbiana está fuertemente influenciada por parámetros medioambientales como el pH, ya que a ún pH ligeramente alcalino esta relación se ve favorecida, considerando que la mineralización de la mayoría de los compuestos orgánicos se presentan por la acción de enzimas fosfatasas” (García, 2003,

pág. 51). Ello implica que catalizan hidrólisis de ésteres y anhídridos de H_3PO_4 ; estas enzimas se segregan fuera de la membrana plasmática, las cuales al ser liberadas actúan sobre componentes de alto peso molecular, como el DNA que no puede penetrar al interior. Otras enzimas son las fitasas que liberan fosfatos a partir del ácido fítico o sus sales de calcio, magnesio y fitina, extrayendo los fosfatos para producir penta, tetra, di y monofosfatos y finalmente inositol libre.

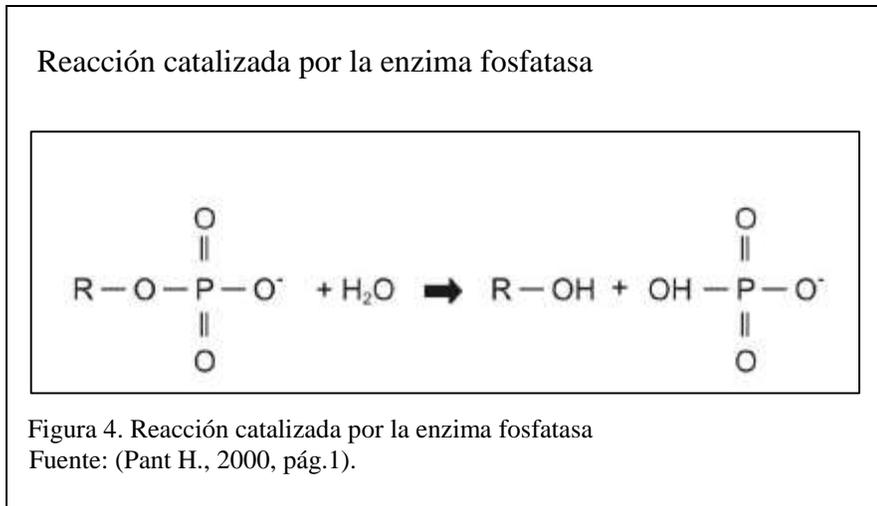
✓ Producción de fosfatasas

El término fosfatasas se emplea para designar a un amplio grupo de enzimas que catalizan la hidrólisis de ésteres y anhídridos de ácido fosfórico. En la rizosfera, existe la presencia de un gran depósito de fósforo orgánico, el cual no puede ser utilizado por las plantas, “enfaticándose el papel de la flora microbiana en la producción de diferentes enzimas, las mismas que están involucradas en la mineralización del fósforo, y al parecer están reguladas por la expresión de varios genes” (Bobadilla & Rincón, 2008, p. 12). “Las fosfatasas pueden ser sintetizadas, tanto por las raíces de las plantas (fosfatasas ácidas), como por ciertos grupos de bacterias y hongos capaces de producir fosfatasas ácidas y alcalinas” (Ridge & Rovira, 1971, pág. 159).

Las fosfatasas que actúan sobre enlaces de tipo éster se dividen en: monoésterfosfato hidrolasa, diésterfosfato hidrolasas, trifosfato monoéster hidrolasas, difosfato monoéster hidrolasas y triéster fosfato hidrolasas.

Dentro del grupo de monoésterfosfato hidrolasas se encuentran las fosfatas alcalinas y ácidas conocidas como fosfomonoesterasa alcalina y fosfomonoesterasa ácida, enzimas inespecíficas que catalizan la ruptura hidrolítica del fósforo orgánico del enlace éster (C-O-P), dejando el fósforo inorgánico disponible para que pueda ser asimilado ($H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-}) (Figura 4). (Begonia, Begonia, Miller, Guilliard, & Young, 2004, págs. 274-275)

Las enzimas se diferencian por su pH óptimo de acción. “Las fitasas catalizan la hidrólisis de uno de los seis grupos fosfato del hexofosfato de inositol, así como otras inositol fosfatas, que catalizan la hidrólisis de uno de los grupos fosfato de inositol que poseen entre uno y cinco fosfatos” (García, 2003, pág. 52). Se incluyen también las nucleotidasas (hidrólisis de nucleótidos) liberando una molécula de fosfato, o las azúcar fosfato fosfohidrolasas (hidrolizan azúcares fosfatos) liberando un fosfato.



“Las fosfatasas ácidas (excretadas por las raíces de las plantas) y los microorganismos hidrolizan el fósforo orgánico liberando ortofosfatos que se quedan en la rizosfera como fósforo disponible” (Pant H., 2000, pág. 1). Estas fosfatasas juegan un papel importante en el incremento del fósforo disponible y el pH óptimo para la actividad de la fosfatasa ácida, el cual es aproximadamente de 3.5 a 4.5. Las fosfatasas alcalinas actúan con un pH óptimo entre 9 a 11.

Otro grupo de fosfatasas son las diesterfosfato hidrolasas (fosfodiesterasas), en este grupo se pueden encontrar las nucleasas que catalizan la hidrólisis de ácidos nucleicos (ribo y desoxirribonucleico) liberando nucleótidos, y fosfolipasas que catalizan la hidrólisis de fosfolípidos. El triesterfosfato hidrolasas o fosfotriesterasas como el aril-alquil-fosfatasa degrada compuestos organofosforados como el paraoxón.

Las monoesterfosfato hidrolasas (fitasas y monoesterasa) son las fosfatasas más estudiadas, debido a que “la mayoría de fósforo orgánico presente en el suelo está en forma

de fosfatos de inositol. Los microorganismos productores de estas enzimas son: *Rhizobium* sp., *Antrobacter* sp., *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp” (Onthong, Gimsanguan, Pengnoo, & Nilnond, 2007, pág. 1).

1.4 Bacterias solubilizadoras de fósforo

Si se trata de obtener un mejoramiento del estado nutricional del suelo a través de la adición de compost enriquecido, “los microorganismos solubilizadores de fósforo desempeñan un rol importante en la nutrición de las plantas, constituyendo así, la única manera posible para incrementar el fosfato disponible para las plantas” (Boonkerd, 2000, p. 113), considerando que “los microorganismos solubilizadores de fósforo a menudo constituyen el 30% de la población de microorganismos de la rizosfera” (Rodas, 2006, pp. 13-27).

A decir de Bebenko y otros (1995) existe una gran variedad de bacterias fosfato solubilizadoras, que incluyen bacterias Gram negativas y positivas, incluso algunas especies de streptomycetos con capacidad de disolver fosfatos insolubles; dentro de los cuales se pueden encontrar: “*Streptomyces griseus*, *Bacillus licheniformis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. atrophaseus*, *Paenibacillus macerans*, *Vibrio proteolyticus*, *Xanthobacter agilis*, *Enterobacter aerogens*, *E. taylorae*, *E. asburiae*, *Kluverya cryocrescens*, *Pseudomonas stutzeri*, *Chryseomonas luteola*, *Bacillus circulans*, *Bacillus brevis*, *B. megaterium* var. *Phosphaticum*, *B. polymixa*, *B. sphaericus*, *B. thuringensis*, *Xanthomonas maltophilia*, *Pseudomonas aureofaciens*, *P. fluorescens*, *P. savastanoi*, *Agrobacterium radiobacter*, *Arthrobacter* sp. y *Enterobacter agglomerans*” (Babenko, Tyrygina, Grigoryev, Dolgikh, & Borisova, 1994, p. 533).

Datos de estudios relacionadas con bacterias fosfato solubilizadoras muestran que las especies de los géneros *Rhizobium*, *Pseudomonas* y *Bacillus* son las que presentan mayor actividad solubilizadora de fósforo (Rodas, 2006, p. 13). Sin embargo otras especies de los géneros *Pseudomonas* sp, *Pseudomonas cepacia*, *Pseudomonas gladioli*, *Xanthomonas* sp, *Xanthomonas malthophilia*, *Enterobacter agglomerans* y

Chromobacterium sp, constituyen nuevos reportes como bacterias solubilizadoras de fosfato. (Useche, 2003, pág. 157)

Además, debido a que muchas bacterias solubilizadoras de fósforo que se encuentran presentes en el suelo no están en un número suficiente para competir con las bacterias que se encuentran ya establecidas en diferentes rizosferas es necesario inocularlas en una alta concentración para obtener una alta solubilización de fósforo (Rodas, 2006, p. 13), solo de esta manera será posible obtener un mejoramiento del estado nutricional del suelo a través de la adición de compost enriquecido.

CAPÍTULO 2

MATERIALES Y MÉTODOS

Denmmar, es una finca especializada en la producción y comercialización de rosas ubicada en San Juan de Tabacundo, cantón Pedro Moncayo en la provincia de Pichincha (Fig.6). Fue ampliada en el año de 1994 dividiéndose así en 3 fincas: Denmmar, Marledian y Astroflores. Para llevar a cabo la investigación se trabajó en las fincas Marledian y Astroflores, tanto para la toma de muestras, como para las pruebas en campo.

Localización de DENMMAR S.A.



Figura 5. Sector Cantanvalle, Tabacundo, provincia de Pichincha.
Fuente: (Google maps, 2014).

2.1 Tipo de investigación

La investigación que se realizó fue de tipo experimental; ya que se aislaron bacterias capaces de transformar el fósforo insoluble del suelo a fósforo soluble in vitro y en suelo. Está dividida en dos fases que son: Fase de campo y Fase de laboratorio.

2.2 Fase de campo

Comprendió el muestreo de suelo y compost para los respectivos análisis de laboratorio, que fueron analizados en la Estación Santa Catalina del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). Así como la formación de dos pilas estáticas de compost en cada finca (ensayo 1, y ensayo 2) por lo que se realizaron cuatro ensayos en total. Finalmente el compost maduro fue distribuido en los bloques 12 (Marledian) y 6 (Astroflores) respectivamente.

2.2.1 Área del lugar de muestreo

En Marledian las muestras de suelo fueron recolectadas del bloque 12, mientras que, en Astroflores se tomaron muestras del bloque 6. Las muestras de compost se tomaron de los ensayos 1 y 2 ubicados en las composteras de las dos fincas (Fig.12).

Croquis de las fincas Astroflores y Marledian.

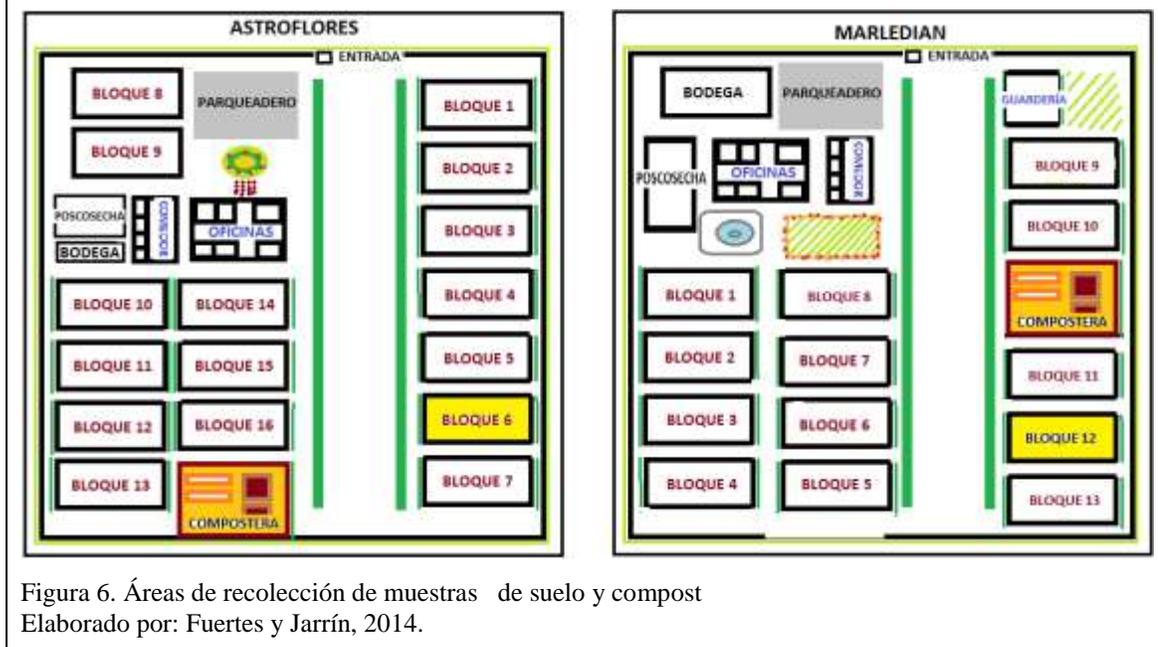


Figura 6. Áreas de recolección de muestras de suelo y compost
Elaborado por: Fuertes y Jarrín, 2014.

2.2.2 Recolección y muestreo de suelo y compost

Las muestras fueron recolectadas de las dos fincas, siguiendo el protocolo descrito por INIAP, 2006, y que recomienda tomar de 15 a 20 submuestras, en cada área, no mayor a 5 hectáreas, siguiendo un recorrido en zig-zag al azar. El área de muestreo fue de 5000m², por lo que, se tomaron 10 submuestras de suelo de cada bloque, y 3 submuestras de cada ensayo de compost.

El procedimiento que se siguió fue el siguiente:

- Recorridas las plantaciones fue delimitada el área de muestreo de suelo a dos bloques. En el bloque 6 de (Astroflores), se observaron plantas de rosas de 1 año de edad, mientras que el bloque 12 de (Marledian), era un invernadero nuevo de suelo virgen. Las muestras de compost, fueron tomadas de los ensayos 1 y 2 de ambas fincas.
- Se tomó las muestras al azar recorriendo en zig-zag.
- Se limpió la superficie del suelo para evitar cualquier material vegetal.

- Se hizo un hoyo en forma de “V” de 20 a 30cm de profundidad, muy cerca de la raíz. De uno de sus lados se tomó una porción de 2 a 3cm de espesor.
- Con un cuchillo se quitó los bordes dejando una submuestra de 5cm de ancho.
- Se depositó las submuestras en un balde.
- Se mezcló las submuestras manualmente para homogeneizar.
- Se tomó del balde 1 kg (2.2 libras) de muestra para enviar a los laboratorios del INIAP- Estación Santa Catalina, y 1kg para los laboratorios de Ciencias de la Vida de la UPS y se depositaron en fundas plásticas con su respectiva tarjeta de identificación. Para las muestras de suelo se tomó en cuenta el número de bloque, de muestra y su laboratorio de destino de la siguiente forma:

Tarjeta de identificación: B6.M1.INIAP

B6.M2.LCV¹

Para las muestras de compost se señaló: número de ensayo, número de muestra, finca de origen y laboratorio de destino de la siguiente forma:

Tarjeta de identificación: E1.M1.AST. INIAP

E1. M1.MAR.INIAP

Tabla 6.

Nomenclatura y origen de las muestras de suelo

Muestras de Suelo				
Número de muestras	Muestra	Hora de recolección	Bloque	Finca
2	B6.M1.INIAP	8:00 am	6	Astroflores
	B6.M2.LCV	8:00 am	6	Astroflores
2	B12.M1. INIAP	8:00 am	12	Marledian
	B12.M2.LCV	8:00 am	12	Marledian

Nota: Hora de recolección y origen de las muestras de suelo

Elaborado por: Fuertes y Jarrín (2014).

¹ LCV: Laboratorios de Ciencias de la Vida

Tabla 7.

Nomenclatura y origen de las muestras de compost

Muestras de Compost				
Número de muestras	Muestra	Hora de recolección	Ensayo	Compostera
2	E1.M1.AST.INIAP	8:30 am	1	Astroflores
	E2.M1.AST.INIAP	8:30 am	2	Astroflores
2	E1.M1.MAR.INIAP	8:30 am	1	Marledian
	E2.M1.MAR.INIAP	8:30 am	2	Marledian

Nota: Hora de recolección y origen de las muestras de compost

Elaborado por: Fuertes y Jarrín (2014).

2.2.3 Formación de pilas de compost (Ensayo 1 y Ensayo 2)

Para la formación de las pilas de compost se siguió las indicaciones del Dr. Hugo Astudillo, asesor de Denmmar S.A, que consistió en formar dos pilas en cada finca que se identificaron como Ensayo 1, que es el compost con el que ha venido trabajando Denmmar S.A y Ensayo 2, que es el compost propuesto en la investigación. Las dimensiones de cada pila fueron de 2.50 m de alto por 2.50 m de ancho. Se encontraron descubiertas y delimitadas por barreras hechas en madera y plástico de invernadero con dos tuberías en la parte central para permitir aireación y eliminación de CO₂. El procedimiento que se siguió para su edificación se divide en primera etapa, volteo y segunda etapa:

- ✓ Primera etapa (Ensayo 1 y 2)

Formación de cubos

- Se delimitó el área de formación de las pilas, tomando en cuenta para su ubicación, el espacio y las facilidades de transporte del material vegetal.
- Se utilizó palos de madera de 2.50m de largo y plástico de invernadero para la formación de los cercos (Fig.7).

Formación de cubos.



Figura 7. Dimensiones y materiales de los cercos: 2.50m de alto x 2.50m de ancho con madera y Plástico.

Fuente: (Fuertes y Jarrín, 2014)

Formación de pilas

- Se colocó 10 cm de compost semilla (compost producido por DENMAR S.A.) con la ayuda de una pala y rastrillo (Fig 8. a).
- Se trituró material vegetal fresco (flores, tallos y hojas), proveniente de invernadero y poscosecha hasta completar 50 cm de alto sobre el compost semilla controlando que el tamaño de las partículas no sea a mayor a los 5 o 6 cm de largo (Fig. 8. b).
- Se preparó 5 litros de una solución de Bioearth (Anexo 3.) (20cc/L) y se dispersó homogéneamente con una mochila de boquilla de 115mm de diámetro sobre el material verde picado (Fig. 8.c).
- Se colocó nitrato de amonio (1.7 kg) de forma homogénea mezclando con un rastrillo.
- Se colocaron firmemente en el centro de la pila dos tubos de PVC de 2.50m de largo y con un taladro se hicieron varias perforaciones de un diámetro de 2cm.

Formación de pilas de compost



Figura 8. a) compost semilla; b) material vegetal picado; c) Aspersión de Bioearth .

Fuente: (Fuertes y Jarrín, 2014).

- Se repitió el mismo procedimiento hasta completar cuatro capas (2.50 m de altura) (Fig. 9).

Esquema de las pilas de compost

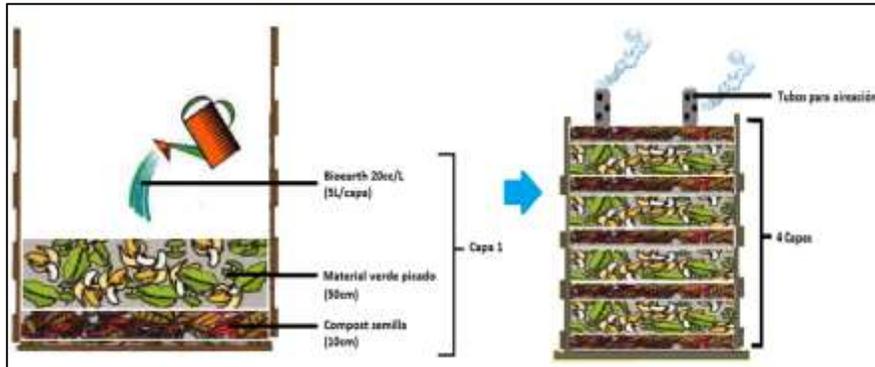


Figura 9. Formación de capas de las pilas de compost
Elaborado por: Fuertes y Jarrín, 2014

- Terminada la pila, se cierra el cubo, dejando descubierta la parte superior por donde los tubos de PVC permiten el ingreso de O₂ y la salida de CO₂ (Fig.10).

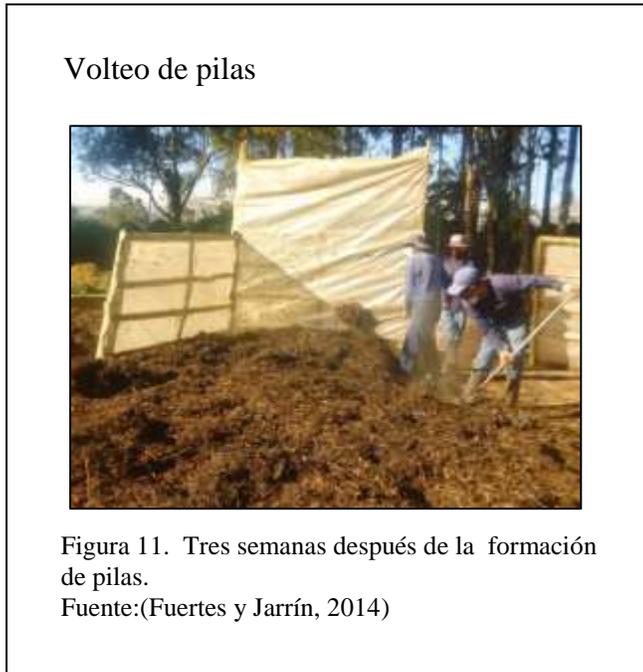
Pilas conformadas



Figura 10. Cubos cerrados descubiertos en la parte superior
Fuente: (Fuertes y Jarrín, 2014).

- Se dejó madurar el compost por un tiempo de 3 semanas durante el cual se llevó un registro diario de temperatura y humedad (Anexo 6).

- ✓ Volteo (Ensayo 1 y 2)
- Se desarmó los cubos y se procedió con el volteo con la ayuda de rastrillos, 3 semanas después de la conformación de las pilas (Fig.11).



- ✓ Segunda etapa (Laboratorios de Ciencias de la Vida)²

Con el propósito de comparar la actividad biosolubilizadora de fósforo de las bacterias en estudio en función de los productos actualmente utilizados por DENMAR S.A se procedió de la siguiente manera:

Recolección de muestras

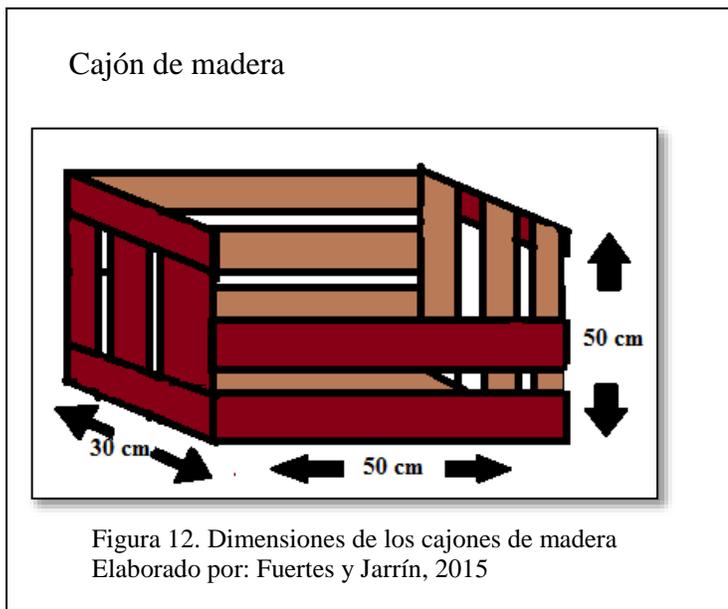
- Siguiendo el protocolo descrito por INIAP, 2006, para la recolección de muestras de suelo, se tomaron en total 20 kg de suelo y 9 kg de compost de Denmar S.A, es decir, 10 kg de suelo y 4 kg de compost de cada finca (Astroflores y Marledian). 1

² Por inconvenientes gerenciales en Denmar S.A no fue posible continuar la segunda etapa en la finca, por esta razón el estudio se llevó a cabo a escala en los Laboratorios de Ciencias de la Vida de la UPS.

kg de compost fue utilizado para la obtención del té de compost. Las muestras de suelo fueron recolectadas del bloque 6 y las muestras de compost de los ensayos 1 y 2 en el caso de Astroflores, mientras que en Marledian las muestras de suelo se tomaron del bloque 12 y las muestras de compost de los ensayos 1 y 2.

Conformación de cajones M1, M2, A1 y A2

- Se armaron 4 cajones de madera, dos que representan a Astroflores (A1 y A2) y dos que representan a Marledian (M1 y M2), de 50 cm de largo, 30 cm de ancho y 50 cm de alto (Fig.12)



- Los cajones fueron cubiertos con plástico negro y se colocó 5kg de suelo en cada uno (Fig. 13.a).
- Se sembró un rosal en cada cajón para evaluar los resultados finales de acuerdo al estado de los botones, tallos y hojas de las plantas (Fig. 13.b).



Preparación del té de compost

- Se colocó 1kg de compost dentro de una funda perforada en su base y se filtró 1000 ml de agua (Fig. 14.a)
- Se midió con un vaso de precipitación 120 ml del biofertilizante (524.4 x 10⁹ UFC), se añadió al té de compost y se dejó reposar por 15 min (Fig. 14.b).
- Se colocaron 8 kg de compost en un recipiente y se añadió la mezcla de té + biofertilizante con una regadera manual de boquilla perforada (Fig.14.c).
- Se determinó manualmente la consistencia del producto final tomando en cuenta que su humedad no sea mayor al 60% (Fig. 14. d).

Preparación del té de compost



Figura 14. a) Filtración de 1000 ml de agua en 1kg de compost; b) biofertilizante más té de compost; c) Riego de té en 8kg de compost; d) Determinación manual de la humedad del producto final
Elaborado por: Fuertes y Jarrín, 2015

Adición de compost inoculado

- Se adicionó 1 kg del compost inoculado con bacterias solubilizadoras de fósforo (*Enterobacter agglomerans*) en cada ensayo 1 a nivel de raíces con la ayuda de una pala (Fig.15), mientras que en los ensayos 2 se incorporó el compost sin el biofertilizante.

Adición de compost



Figura 15. Se puede observar la adición de compost a nivel de raíces.
Elaborado por: Fuertes y Jarrín, 2015

- Se esperó 4 semanas antes de realizar los análisis de suelo en INIAP para evaluar su estado actual (Fig. 16)

Experimentos terminados



Figura 16. Experimentos N° 2: Compost utilizado por las fincas actualmente
Experimentos N° 1: Con compost inoculado con bacterias solubilizadoras de fosfatos
Enterobacter agglomerans
Elaborado por: Fuertes y Jarrín, 2015

2.3 Trabajo en Laboratorios de Ciencias de la Vida- UPS

2.3.1 Preparación de Medios de cultivo

Equipos de laboratorio

- Autoclave
- Cámara de flujo laminar
- Balanza analítica
- Agitador

Materiales de laboratorio

- Frascos de 500 y 1000ml
- Papel absorbente
- Mechero de bunsen
- Mandil
- Guantes
- Mascarilla

Reactivos

- Medio Triptona Soya Agar (TSA) + acronistina
- Medio Estándar (ME)
- Medio Brain Heart Infusion (BHI)
- Medio Agar Sangre (AS)
- Medio Pikovskaya (PVK)
- Muestras de suelo
- Agua estéril

Procedimiento para medio TSA + Acronistina

- Se pesó 10.4g de TSA en la balanza analítica y se suspendió en 260ml de agua destilada.

- Se mezcló de manera homogénea y calentó sobre una plancha térmica, con agitación constante hasta que se observó la disolución completa
- El medio preparado se autoclavó a 121°C por 45 min. Finalmente sobre el medio estéril a 40°C se colocó 1ml de Acronistina.
- Se encendió y desinfectó la cámara de flujo laminar con sablón y alcohol al 70% y se prendió el mechero antes de introducir los materiales.
- Se dispensó en cajas Petri para su posterior uso.

Procedimiento para medio Estándar Enriquecido (MEE)

- Se pesó 11.7g de medio estándar y 50g de suelo en la balanza analítica y se suspendió en 500ml de agua destilada.
- Se calentó de manera homogénea sobre una plancha térmica con agitación constante hasta que se observó la disolución completa.
- Se llevó el medio listo a la autoclave a 121°C por 45 min.
- Se encendió y desinfectó la cámara de flujo laminar con sablón y alcohol al 70% y se prendió el mechero antes de introducir los materiales.
- Se dispensó en cajas Petri para su posterior uso.

Procedimiento para medio BHI

- Se pesó 52g de BHI en la balanza analítica y se suspendió en 1000ml de agua destilada.
- Se mezcló de manera homogénea y calentó sobre una plancha térmica con agitación constante hasta observar la disolución completa.
- Se llevó el medio listo a la autoclave a 121°C por 45 min.
- Se encendió y desinfectó la cámara de flujo laminar con sablón y alcohol al 70% y se prendió el mechero antes de introducir los materiales.
- Se dispensó en cajas Petri para su posterior uso.

Procedimiento para medio AS

- Se pesó 40g de Agar Sangre en la balanza analítica y se suspendió en 1000ml de agua destilada.
- Se mezcló de manera homogénea y calentó sobre una plancha térmica con agitación constante hasta observar la disolución completa.
- Se llevó el medio listo a la autoclave a 121°C por 45 min.
- Se encendió y desinfectó la cámara de flujo laminar con sablón y alcohol al 70% y se prendió el mechero antes de introducir los materiales.
- Se dispensó en cajas Petri para su posterior uso.

Procedimiento para medio PVK Modificado

- Se pesó en la balanza analítica 4g de glucosa, 0.001g de cloruro de sodio, 2.5g de fosfato de sodio, 2g de extracto de levadura, 2.5mg de sulfato de magnesio, 2.5mg de sulfato de zinc, 15g de agar y 6ml de azul de bromofenol y se suspendió en 1000ml de agua destilada.
- Se mezcló de manera homogénea y calentó sobre una plancha térmica con agitación constante hasta observar la disolución completa.
- Se llevó el medio listo a la autoclave a 121°C por 45 min.
- Se encendió y desinfectó la cámara de flujo laminar con sablón y alcohol al 70% y se prendió el mechero antes de introducir los materiales.
- Se dispensó en cajas Petri para su posterior uso.

2.3.2 Aislamiento de bacterias solubilizadoras de fósforo

Técnicas de diluciones seriadas (Tortora, Funke, & Case, 2007, págs. 159-214).

Equipos de laboratorio

- Autoclave
- Cámara de flujo laminar
- Cámara de Neubauer

- Balanza analítica
- Agitador
- Micropipeta
- Incubadora

Materiales de laboratorio

- Tamiz
- Frascos de 150ml
- Micropipetas de 1ml
- Cajas petri
- Papel absorbente
- Mechero de bunsen
- Mandil
- Guantes
- Mascarilla

Reactivos

- Medio TSA+ Acronistina
- Medio estándar enriquecido (MEE)
- Suero fisiológico
- Agua estéril
- Muestras de suelo (Marledian-Astroflores).

Procedimiento:

- A partir de las muestras de suelo tomadas de cada finca (Tabla 6), se tamizó para eliminar cualquier sustancia extraña como rocas, plásticos, metales, etc.
- Se pesó 10g de la primera muestra de suelo (B6.M2.LCV).

- Se encendió y desinfectó la cámara de flujo laminar con sablón y alcohol al 70% y se encendió el mechero antes de introducir los materiales.
- Se colocó los 10g de muestra en un matraz de Erlenmeyer de 150ml que contenía 90ml de suero fisiológico estéril para obtener la primera dilución 10^{-1} . Se agitó durante 15 minutos. Se repitió el procedimiento con la segunda muestra de suelo (B12.M2.LCV).
- Para la preparación de diluciones seriadas se tomó con la micropipeta 1 ml a partir de 10^{-1} y se colocó en un tubo que contenía 9ml de agua peptonada, y de esta nueva dilución se preparó la siguiente, siguiendo el mismo patrón hasta obtener la dilución 10^{-6} . Se etiquetó los tubos empezando desde la primera dilución D.1 hasta D.6 para una fácil identificación.
- Se preparó 12 cajas con medio TSA (Anexo 7. A) + Acronistina, y 12 cajas con Medio estándar enriquecido (Anexo 7. A).
- De cada una de las diluciones se tomó 1ml con una micropipeta y se colocó en cada caja Petri.
- Se codificó las cajas según el medio y número de dilución. (TSA.1 hasta TSA.6) y se incubó a 37°C durante 48h.
- De las cajas con medio TSA se aisló las mejores colonias en medio estándar enriquecido por el método de agotamiento en superficie, (consiste en tomar una pequeña muestra del inóculo con la ayuda de un asa estéril y realizar una estría por toda la caja petri) y se codificó las cajas según el medio y número de dilución (MEE.1 hasta MEE.6).
- Se incubó las cajas a 37°C durante 48h.
- Se contó las colonias de cada caja con la ayuda de una cámara de Neubauer tomando en cuenta su color y forma.

Método de siembra por estría para cultivos puros

Para un manejo adecuado de las bacterias estudiadas se realizó cultivos puros, usando el método de siembra por estría.

Equipos de laboratorio

- Cámara de flujo laminar
- Incubadora
- Congelador

Materiales de laboratorio

- Asa de inoculación
- Mechero de Bunsen
- Cajas Petri (estériles)
- Tubos con tapa rosca

Reactivos

- Medios de cultivos: BHI y AS

Procedimiento

- Se encendió y desinfectó la cámara de flujo laminar con sablón y alcohol al 70% y se prendió el mechero antes de introducir los materiales.
- Se preparó 24 cajas con medio BHI (Anexo 7.B), y 24 cajas con AS (Anexo 7.B).
- Realizar el rayado en cada caja Petri. Se esterilizó el asa flameando, y una vez fría, se tomó una pequeña muestra de las cajas MEE.1 hasta MEE.6.
- Se realizó el rayado en las cajas con medio BHI y AS y se codificó las cajas según el medio y número de dilución (BHI.1 o AS.1).
- Se Incubó las cajas a 37°C durante 48h.
- Para la conservación de las bacterias puras se tomó de cada caja petri (BHI.1-BHI.6/AS.1-AS-6), una colonia y se colocó en tubos de tapa rosca que contienen 10ml de medio estándar enriquecido y se congeló a -20°C.

- Después de las 48 horas de incubación se realizó minuciosamente la tinción Gram de cada una de las colonias. Finalmente las cajas que no presentaron contaminación (cultivo puro) se refrigeraron a 4°C.

Tinción Gram (Forbes, Sahm, & Weissdeld, 1998, págs. 253-256)

En las cajas petri (BHI1-BHI6/ AS1-AS6), se nombró las colonias que presentaron características macroscópicas distintas con letras mayúsculas y a continuación se realizó la coloración Gram para identificar las colonias positivas o negativas.

Materiales de laboratorio

- Asa de inoculación
- Mechero de Bunsen
- Porta objetos
- Microscopio

Reactivos

- Violeta- cristal
- Lugol
- Alcohol- Cetona
- Safranina
- Agua destilada

Procedimiento

- Se desinfectó la mesa de trabajo con cloro y alcohol al 70% y se prendió el mechero.
- Se colocó una gota de agua sobre el porta objetos con la ayuda de un gotero.
- Con el asa de inoculación estéril se tomó un inóculo de las cajas Petri que se prepararon en el procedimiento anterior y se disolvió en la gota de agua.

- Se fijó la muestra flameando la placa sobre el mechero de Bunsen.
- Se agregó 1 gota de azul violeta, se dejó reposar un minuto y se enjuagó con agua destilada.
- Se agregó 1 gota de lugol, se dejó reposar un minuto y se enjuagó con agua destilada.
- Se colocó 1 gota de alcohol- cetona y se dejó reposar por 30 segundos antes de enjuagar con agua destilada.
- Se colocó una gota de safranina y se dejó reposar por 30 segundos antes de enjuagar con agua destilada.
- Finalmente se flameó cuidadosamente el porta objetos par afijar y se observó bajo el microscopio con el lente 10x, 40x y el de inmersión 100x con aceite mineral para mirar detalladamente la morfología de las bacterias.
- Se identificó y codificó las bacterias de acuerdo a su reacción positiva o negativa (Gram + o Gram -).

2.3.3 Selección de cepas bacterianas solubilizadoras de fósforo

Técnica de enriquecimiento selectivo (Tortora, Funke, & Case, 2007, págs. 159-161)

Equipos de laboratorio

- Cámara de flujo
- Balanza analítica
- Mechero de Bunsen
- Incubadora
- Incubadora con agitación orbital

Materiales de laboratorio

- Matraces de 150ml
- Cajas Petri

- Asa de inoculación
- Tubos con tapa de rosca

Reactivos

- Medio minimal sólido PVK (Anexo 7.C)
- Medio minimal líquido PVK (Anexo 7.C)

Procedimiento

- Se procedió a sacar del congelador los 12 tubos (BHI.1-BHI.6/AS.1-AS.6) que contenían las colonias puras.
- Se encendió y desinfectó la cámara de flujo laminar con sablón y alcohol al 70% y se prendió el mechero antes de introducir los materiales.
- Se preparó 12 cajas de PVK para BHI.1- BHI.6 y 12 cajas de PVK para AS.1-AS.6.
- Dentro de la cámara de flujo con el asa estéril, se transfirió un inóculo de cada tubo a las cajas Petri preparadas por el método de estriado y se codificaron según el medio de origen, número de dilución y el medio de destino de la siguiente manera: (BHI.1.PVK; AS.1.PVK)
- Se incubó a 24°C durante 48h.
- Se seleccionaron las cepas con halos de crecimientos más grandes y se codificaron con las iniciales de los apellidos de las investigadoras y con el número de dilución respectivo (JF.1-JF.6)
- Se preparó 6 matraces de 150ml con 100ml de medio minimal líquido PVK (Anexo 5) y se codificaron de la misma manera como se hizo para las cepas que presentan halos de crecimiento más grandes (JF.1-JF.6)
- Se inocularon las colonias con un asa estéril en cada matraz y se incubaron los mismos a 24°C durante 96 horas.
- Se tomaron muestras cada 24, 48, 72 y 96 horas.

Cinética del crecimiento microbiano de microorganismos solubilizadores de fósforo (Skoog, Holler, & Nieman, 2000, págs. 410-411)

Se utilizó la técnica de Análisis en Espectroscopia para determinar las fases de crecimiento, utilizando un método que relacione la biomasa con la absorbancia de luz en una muestra de cultivo líquido minimal PVK.

Equipos de laboratorio

- Cámara de flujo laminar
- Micropipetas de 1ml
- Espectrofotómetro

Materiales de laboratorio

- Celdas de cristal de cuarzo
- Mechero de bunsen
- Papel de arroz

Reactivos

- Muestras JF.1-JF-6
- Agua destilada
- Alcohol al 70%

Preparación del equipo y análisis de la muestra

- Se verificó que el espectrofotómetro, se encuentre en buen estado. Se encendió y esperó 15 minutos antes de ajustar a la longitud de onda a 640nm (longitud de onda para el fósforo).
- Se lavó con alcohol al 70% y secó cuidadosamente la celda de cuarzo de volumen de 3ml con papel de arroz para evitar la presencia de huellas digitales.
- Se calibró el equipo con el blanco (medio minimal líquido PVK).

- Con el porta celda vacío se ajustó 0.0% de transmitancia, para bloquear el haz de luz y evitar que llegue radiación al detector.
- Con la celda con 0.75ml de agua destilada, ajustar al 100% de transmitancia para eliminar interferencias debido al blanco.
- Se tomó con la micropipeta 2ml de cada muestra (JF.1 a JF.6) y se colocó dentro de la celda de cuarzo previamente lavada.
- Se elaboró una gráfica de concentración vs tiempo (cinética). Las concentraciones que se obtuvieron de fósforo soluble se expresaron en mg/L.
- Se realizó el mismo procedimiento de las muestras a las 24, 48, y 72 horas.

2.3.4 Inoculación de cepas para la cuantificación *in vitro* de fósforo

Las bacterias que han sido identificadas previamente se usarán para cuantificar la cantidad de fosforo solubilizado en un medio minimal PVK líquido.

Equipos de laboratorio

- Cámara de flujo
- Balanza analítica

Materiales de laboratorio

- Cajas Petri
- Tubos falcon 50ml
- Asa de inoculación
- Pipetas
- Mechero de bunsen
- Estufa
- Frascos huecos

Reactivos

- Medio minimal PVK líquido y sólido.

- Colonias aisladas de microorganismos (JF1, JF2, JF5)
- Fosfato de sodio
- Agua destilada

Procedimiento

- Se preparó una solución madre uno molar, la cual se compone de Fosfato de sodio como reactivo más agua destilada. De la solución madre se elaboró distintas concentraciones que sirvieron para realizar la cuantificación del fósforo solubilizado por cada bacteria.
- A partir de la solución madre, se realizó tres diferentes concentraciones (C1=0.03; C2=0.05; C3=0.07) las cuales se adicionaron a cada medio líquido.
- Se preparó medio minimal líquido (Anexo 7.C), para cada concentración.
- Se dispensó por cada concentración 3 tubos (63 en total): 1.5ml en cada tubo (solución madre) para C1=0.03; 2.5ml para C2=0.03; 3.5ml para C3=0.07 y aforar a 50ml con el medio PVK líquido.
- Se inoculó en medio líquido las bacterias candidatas JF1, JF2, JF5 (Anexo 8.B), obtenidas con anterioridad, de forma independiente (Tabla 6) y en forma de consorcio (Tabla 7).
- Se incubó a 25°C/7 días.

Tabla 8.

Bacterias independientes en medio líquido PVK

Colonias	Concentraciones Molaridad		
	C1	C2	C3
JF1	3	3	3
JF2	3	3	3
JF5	3	3	3

Nota: Cepas JF1, JF2 y JF5 a diferentes concentraciones.
Elaborado por: Fuertes y Jarrín (2014)

Tabla 9.

Bacterias en consorcio en medio líquido PVK

Colonias Consortio	Concentraciones Molaridad		
	C1= 0.03	C2= 0.05	C3= 0.07
JF1-2	3	3	3
JF1-5	3	3	3
JF2-5	3	3	3

Nota: Colonias en consorcio a diferentes concentraciones
Elaborado por: Fuertes y Jarrín (2014)

Cuantificación de Fósforo solubilizado por las bacterias candidatas por espectrofotometría de absorción atómica (EAA)

Se utilizó la técnica de Análisis en EAA para determinar la concentración de fósforo insoluble (inmóvil) en muestras de cultivo líquido minimal PVK.

Equipos de laboratorio

- Cámara de flujo laminar
- Espectrofotómetro de absorción atómica

- Materiales de laboratorio
- Mechero de bunsen
- Vasos de precipitación
- Balones aforados

Reactivos

- Muestras JF1-JF6
- Agua destilada
- Alcohol al 70%

Preparación del equipo y análisis de la muestra

- Se tomó los 21 frascos falcon preparados con anterioridad (que contenían las muestras). (con las bacterias obtenidas en medio líquido PVK a diferentes concentraciones), cada frasco falcón (muestra) se centrifugó para obtener el medio minimal líquido libre de bacteria, por lo que seguido a la centrifugación se procedió a filtrar cada muestra.
- Se diluyó las muestras que estaban a diferentes concentraciones hasta 10^{-1} , dado que la concentración de fosforo que presentaba cada uno no permitiría la lectura en el espectrofotómetro de absorción atómica.
- A continuación se preparó soluciones estándar con NaCl para realizar la curva de calibración del equipo a: 25, 50, 100, 400, y 500ppm.
- Finalmente se encendió el equipo y se calibró con las soluciones estándar preparadas y se procedió a la lectura de cada muestra.

2.3.5 Identificación bacteriana para bacterias solubilizadoras de fosforo

Pruebas MICROGEN GN ID. (Microgen GN ID, 2013, págs. 5-31)

Esta prueba ayudará a identificar las cepas bacterianas seleccionadas con anterioridad las cuales presentan las mejores capacidades de solubilizar fosforo.

Equipos

- Incubadora

Materiales de laboratorio

- Mechero de Bunsen
- Asas bacteriológicas
- Micropipetas 100-1000 μ l
- Tabla de identificación
- Carta de color para leer los resultados

Reactivos

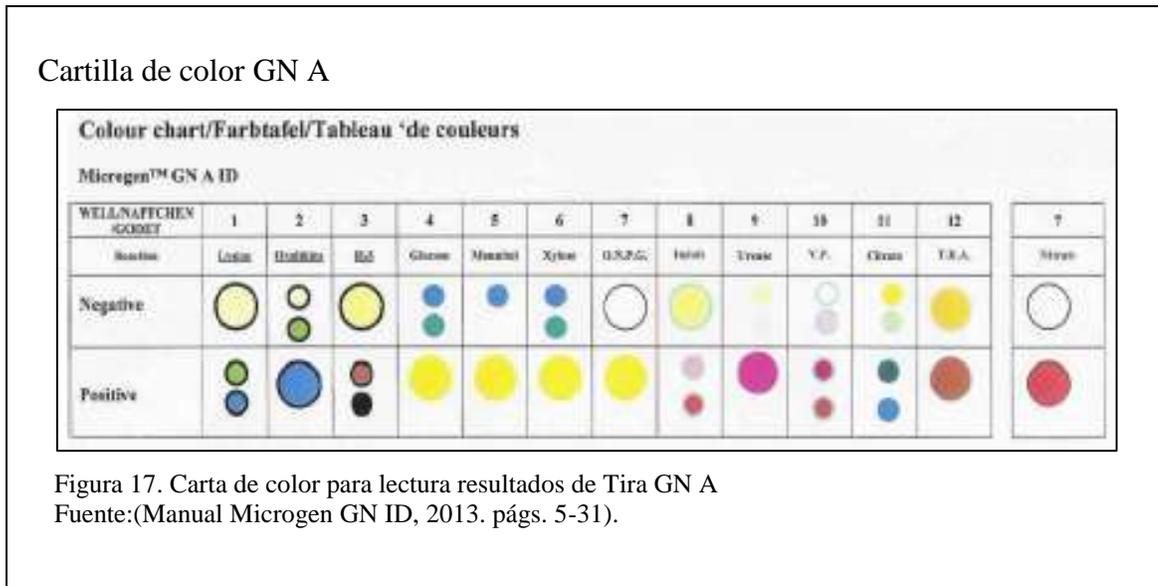
- Tiras GN A
- Aceite mineral
- Reactivos Voges-Proskauer I (VP I) y Voges-Proskauer II (VP II)
- Reactivo Triptófano desaminasa (TDA)
- Reactivo Kovac's
- Solución salina estéril 0.85%
- Agua estéril

Procedimiento

- Se emulsificó una única colonia obtenida de un cultivo de 18-24 horas (JF1-JF6) en 3 ml de solución salina estéril 0.85% para la tira GN A. Se mezcló bien.
- Se quitó la lámina adhesiva que sella los pocillos cuidadosamente sin tirar.
- Con una micropipeta con puntas estériles, se añadió 4 gotas (aproximadamente 100µl) de la suspensión bacteriana a cada pocillo de la tira(s).
- Para comprobar la pureza del inóculo, se transfirió 1 gota de la suspensión bacteriana a una placa de medio no-selectivo. Se incubó la placa aeróbicamente a 35°C durante 18-24 horas.
- Después de la inoculación, se revistió los pocillos 1,2 y 3 con 3 gotas de aceite mineral. Estos pocillos se encontraban marcados con un círculo negro alrededor para facilitar su identificación.
- Se selló la parte superior de la tira(s) con la cinta adhesiva que se había retirado antes y se incubó a 35°C.
- Las tiras GN A se leyeron después de 24 horas de incubación para las Enterobacteriaceae, y tras 48 horas para los aislados oxidasa positivos.

Lectura y adición de reactivos Tira GN A

- Se retiró la cinta adhesiva y anotó todas las reacciones positivas con la ayuda de la carta de color (incluida) (Fig.17). Se anotó los resultados en la hoja de resultados proporcionada.
- Se añadió los reactivos apropiados a los siguientes micropocillos:
- 2 gotas de reactivo Kovac's al pocillo 8. La lectura y apunte de resultados se realizó después de 60 segundos.
- 1 gota del reactivo VP I y 1 gota del reactivo VP II al pocillo 10. La lectura y apunte de resultados se realizó después de 20 minutos.
- 1 gota del reactivo TDA al pocillo 12. Su lectura se llevó a cabo después de 60 segundos.
- Se anotó los resultados adicionales en la hoja de resultados proporcionada (Anexo 9).



2.3.6 Producción de Biofertilizante

(Anexo 8)

Producción del inóculo

- Se preparó 10 cajas Petri con medio sólido PVK.
- Se sembró sobre las cajas, las cepas seleccionadas que presentaron mayor poder de solubilización de fósforo (JF1). Se incubó por 48h/25°C.
- Se preparó 1000ml de medio líquido PVK y con la ayuda de un asa se inoculó las cepas previamente obtenidas.

Fermentación discontinua

- Posterior al tiempo de incubación y de verificar la pureza de la cepa mediante coloración Gram, se realizó el proceso de fermentación discontinua a escala de laboratorio de la cepa JF1.
- Se preparó 1000 ml de medio líquido PVK.
- Se calibró el Fermentador New Brunswick Bioflo/CelliGen 115 (Fig.18), bajo condiciones de prueba: temperatura 25°C a 150 rpm, pH 7, demanda de oxígeno (DO) 8.5% y 72 horas de fermentación. Se trabajó con fermentadores con capacidad para 2000 ml.

Biofermentador New Brunswick



Figura 18. Producción de biofertilizante
Fuente: (Fuertes y Jarrín, 2014).

- Se adicionó a través de dos mangueras el medio líquido con el inóculo y el medio líquido sin bacterias.
- Se envasó 2 litros de producto final para su posterior inoculación al compost (Beltrán, 2005, pág. 105).

CAPÍTULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Diagnóstico del estado nutricional del suelo (Astroflores y Marledian)

Se diagnosticó el estado nutricional del suelo y compost de las fincas Denmar-Marledian y Denmar- Astroflores mediante análisis realizados por el INIAP- Estación Santa Catalina (Anexos 1–3).

Según la tabla 10, basada en los análisis de suelo realizados por el INIAP (anexo 1), el contenido de P en el suelo de las fincas Marledian y Astroflores es alto con valores de 294 ppm y 284 ppm respectivamente. Los niveles óptimos de contenido de P en el suelo de la sierra del Ecuador van de 10.0 a 20.0, valores mayores a 20 son considerados muy altos (INIAP, 2011).

Por otro lado el alto contenido de fósforo (P) en el suelo de la finca, puede deberse a la capacidad propia del tipo de suelo de inmovilizar este nutriente. Espinosa, (2006) afirma que, una de las características más importantes de los Andisoles (suelos derivados de zonas volcánicas) es su capacidad para inmovilizar fósforo (P) y que además, la fijación del mismo en el Ecuador está estrechamente relacionada con el contenido de C en el suelo.

En Marledian (anexo 1) el nivel de macronutrientes como N y Ca son medios con 55.0 ppm y 8.10 ppm. Para S, K y Mg el nivel es alto con 88.0 ppm, 0.99 meq/100ml y 2.40 meq/100 ml respectivamente. En la Finca Astroflores el nivel de N es bajo con 29.0 ppm y alto para S, K, Ca y Mg con 131.0 ppm, 3.10 ppm, 18.20 meq/100ml y 2.90 meq/100ml respectivamente.

Los niveles óptimos de contenido de N en el suelo de la Sierra del Ecuador van de 30.0 a 60.0ppm, los niveles de Ca de 4.0 a 8.0ppm, los de S de 10.0 a 20.0ppm, los de K de 0.2 a 0.4ppm, y los de Mg de 1.0 a 2.0ppm. (INIAP, 2011).

El nivel bajo de N en Astroflores posiblemente es debido a la textura de suelo, que de acuerdo al INIAP es franco arenoso lo que hace que se lixivie o se pierda rápidamente.

Otra razón puede ser que durante el proceso de compostaje el material vegetal utilizado para la enmienda proveniente de invernaderos y poscosecha estaba compuesto en gran parte por restos vegetales viejos que tienen alto contenido de carbono y bajo de nitrógeno.

Los suelos francos arenosos tienen una mayor cantidad de partículas de arena (>60%), lo cual significa que este tiene partículas más grandes que aquellos que son menos arenosos. De acuerdo a la Universidad de Georgia (2010), estas tienen un diámetro de 0.05 a 2.0 milímetros que le da gran porosidad y por ende mayor drenaje que aquellos con más partículas pequeñas por lo que no mantienen bien los nutrientes (Rodríguez, 1982, pàg. 367).

Los niveles altos de micronutrientes como Zn, Cu, Fe, Mn y B, pueden ser el resultado de que la finca fertiliza de lunes a sábado causando acumulación de los mismos y a un bajo índice de microorganismos que ayuden a su movilización en el suelo y absorción por parte de las plantas.

En cuanto al pH, en la Tabla 10 el nivel de pH registrado del bloque 6 en Astroflores fue de 7.15 que de acuerdo al INIAP (2011) es considerado como prácticamente neutro y alto para un cultivo de rosas. Esto posiblemente se deba a que en la finca haya realizado alguna enmendación con calcio antes de los análisis.

En el caso de Marledian, el nivel de pH registrado del bloque 12 fue de 5.22 que de acuerdo al INIAP es ácido por estar por debajo de 5.5.

Los niveles óptimos de pH para cultivos de rosas en el Ecuador están entre 5.5 y 6. (Fainstein, 1997, págs. 30-31). Por otro lado González, Ordóñez, Espejo y Peregrini, 2003, en su estudio de cambios del pH de un suelo cultivado, recomiendan evitar añadir calcio o magnesio con los abonos para no exagerar así el efecto acidificante.

La conductividad eléctrica (C.E) en los bloques de ambas fincas de acuerdo al INIAP (2011), determina un suelo ligeramente salino por encontrarse dentro de un rango de 2.0

a 4.0 mmhos/cm. Marledian presentó una C.E de 2.18 mmhos/cm y Astroflores una C.E de 3.64 mmhos/cm.

De acuerdo a Bustillo (2011), la C.E óptima para el cultivo de rosas está en un rango entre 0,8 a 1,5 que determinaría que el suelo de Denmar S.A, es altamente salino ya que sobrepasa el límite de CE recomendado. Además afirma que, si se mantiene alrededor de 1 con un equilibrio adecuado en la fertilización, se tendrán hojas grandes y un buen botón.

Otro aspecto que puede influir en el alto contenido de sales en el suelo de ambas fincas es una mala fertilización. Richard (1973), indica que la presencia de excesos de sales en los suelos puede ser consecuencia de la fertilización que plantea dificultades en los suelos de invernadero fuertemente abonados y en las bandas en que se aplican los fertilizantes.

La capacidad de intercambio catiónico (CIC), de acuerdo a los análisis del INIAP (2011), en el suelo de las fincas son de 10.8 meq/100g suelo en Marledian y 17.2 meq/100g suelo en Astroflores.

“El CIC para un suelo franco arenoso puede ir de 3 a 10, por lo tanto los niveles de CIC en Marledian y Astroflores son altos. Los suelos con alta CIC son considerados más fértiles, ya que pueden retener más nutrientes” (Airam, 2012, pág. 12).

En cuanto al contenido de materia orgánica según los análisis realizados por INIAP, Marledian tiene 2.60% que por ser menor a 3 es considerado bajo y de 3.90% en Astroflores que por estar dentro de un rango de 3.0 a 5.0% se encuentra en un nivel medio.

“La materia orgánica (MO) representa, aproximadamente, el 5% en el volumen de un suelo ideal. A pesar de ser un porcentaje relativamente pequeño, su presencia es altamente importante en el crecimiento de las plantas”. (Molina, 2010, pág. 1) Por lo tanto se determinó que el porcentaje de materia orgánica en ambas fincas es bajo, lo cual puede ser debido a que es un monocultivo, a un mal manejo del suelo en cuanto a su fertilización o a la forma superficial en que se aplica el compost en el campo.

El nivel de MO depende del clima, suelo y del manejo del mismo (labranzas, rotaciones, fertilización). La intensificación de la actividad agrícola y la falta de rotaciones

con pasturas ha producido un deterioro de los niveles de MO (Sainz, Echeverría, & Angelini, 2010, pág. 1).

Tabla 10.

Análisis de suelos

		SUELO														
		Macro nutrientes						Micro nutrientes					pH	C.E (mmhos/cm)	CIC (meq/ 100g suelo)	M.O (%)
Finca	Bloque	N (ppm)	P (ppm)	S (ppm)	K (meq/100ml)	Ca (meq/100ml)	Mg (meq/100ml)	Zn (ppm)	Cu (ppm)	Fe (ppm)	Mn (ppm)	B (ppm)				
Marledian	12	55.00	294.00	88.00	0.99	8.10	2.40	78.00	21.20	447.00	29.40	1.40	5.22	2.18	10.8	2.60
Interpretación		M	A	A	A	M	A	A	A	A	A	A	Ac.	LS		B
Astroflore	6	29.00	284.00	131.00	3.10	18.20	2.90	40.20	17.50	165.00	14.60	3.10	7.15	3.64	17.2	3.90
Interpretación		B	A	A	A	A	A	A	A	A	M	A	PN	LS		M

Nota: B= bajo; M= medio; A= alto; Ac= ácido; PN= prácticamente neutro; LS= ligeramente salino.

Elaborado por: Fuertes y Jarrín (2015)

3.2 Diagnóstico del estado nutricional del compost (Astroflores y Marledian)

Tabla 11.

Análisis de compost

Finca	COMPOST					
	pH	R	C.E (dS/m)	%		
		C/N		N TOTAL	P	M.O
Marledian	8.08	8.32	5.71	2.70	0.33	36.85
Astroflores	8.48	10.1	3.59	3.67	0.46	64.10

Nota: R= Relación; C/N= Carbón/ Nitrógeno; C.E= Conductividad Eléctrica

P= Fósforo; M.O= Materia orgánica

Elaborado por: Fuertes y Jarrín (2015).

La tabla 11, basada en los análisis realizados por INIAP (2014) del compost de cada finca (anexo 2) se observa que el pH en Marledian es de 8.08 y en Astroflores de 8.48, es decir pH alcalino, datos que no son favorables para bacterias que se desarrollan a pH ácidos como es el caso de *Enterobacter agglomerans*, solubilizadora de fósforo. Cañamas et al; 2007.

Sin embargo, Román, Martínez y Pantoja (2013), indica que los valores de pH pueden variar, debido a que un compost atraviesa diferentes fases, en las que intervienen muchas reacciones químicas y biológicas que hacen que el pH incremente o disminuya considerablemente; por tal manera, determinan que el pH óptimo de un compost de origen vegetal puede estar entre 4.5 a 8.5 en su etapa final; es importante determinar la fase en la que el compost tenga pH bajo, es decir ácido, para poder inocular las bacterias, permitiendo que se adapten en el medio y crezcan sin problemas.

En cuanto a la relación C/N, los análisis muestran valores de 8.32 para Marledian y 10.0 para Astroflores.

Según Moreno & Moral (2011) indican que la relación C/N ideal para un compost totalmente maduro es cercano a 10, similar al del humus.

Por lo que se podría determinar, que la relación C/N para Astroflores es la adecuada, mientras que para Marledian no, ya que su valor se encuentra por debajo de los niveles recomendados.

En Marledian, la relación C/N puede ser baja, debido al tipo de material vegetal usado para la conformación de las pilas, y como se indicó anteriormente se trató en gran parte de material vegetal fresco que afecta la relación C/N, ya que son residuos altos en carbono y bajos en nitrógeno, de igual manera el manejo de las pilas es de suma importancia, dado que si no existe un adecuado monitoreo el compost se lo puede cosechar inmaduro lo que traería con él, grandes riesgos en las plantaciones.

Los restos vegetales frescos como hojas, frutas, verduras, tubérculos, etc son ricos en nitrógeno (N) y pobres en carbono (C). Los restos vegetales más adultos como troncos, ramas, tallos, etc son menos ricos en nitrógeno y aportan carbono y a la estructura (Valencia, 2012, pp. 1-4).

Respecto a la conductividad eléctrica (CE), los valores fueron de 5.71 dS/m para Marledian y 3.59 dS/m para Astroflores.

Según la norma de calidad de compost de Chile, 2000, mencionan que todo compost deberá cumplir con rangos óptimos para conductividad eléctrica, los mismos que son menores o iguales a 5 dS/m, por tanto se puede mencionar que Astroflores se encuentra dentro de los valores recomendados, mientras que Marledian no se encuentra dentro de los rangos.

“La CE tiende generalmente a aumentar durante el proceso de compostaje debido a la mineralización de la materia orgánica”. (Moreno & Moral, 2011, pág. 106)

Por otro lado, los resultados obtenidos de N y P fueron de 2.70% y 0.33% respectivamente para Marledian y de 0.33% y 0.46% para Astroflores. De acuerdo a Agrilab (2004) los rangos de porcentaje adecuado de N total en un compost de origen

vegetal es de 1-2.5%, y de P es de 0.40-1.2%. De acuerdo a esto, Marledian presenta exceso de N y baja cantidad de fósforo, mientras que en Astroflores el porcentaje de N es bajo y el de P se encuentra dentro de los rangos recomendados. Esto, como se había indicado puede deberse al tipo de material vegetal utilizado en la conformación de pilas, si es fresco o viejo, o a un exceso de fertilizantes o a una baja carga microbiana.

Finalmente, los valores obtenidos de materia orgánica (MO) se encuentra en un porcentaje de 36.85 % en Marledian y en 64.10% en Astroflores.

Y según la Norma de Calidad de Compost de Chile (2000), se señala que los rangos óptimos que debe tener un compost de calidad para materia orgánica están entre el 30 y 60%, datos que permiten asegurar que el compost de ambas fincas en cuanto a este parámetro cumplen con los valores recomendados. (pág. 6).

“La velocidad de transformación de materia orgánica depende de su naturaleza física y química, carga microbiana y a las condiciones fisico-químicas del proceso (humedad, aireación, temperatura y pH)”. (Michel, Pecchia, & Rigot, 2004, pág. 323)

Aquí se puede observar que existe una gran diferencia entre ambas fincas, la misma que pudo deberse a un mal manejo del proceso de compostaje y que las condiciones físico-químicas como aireación, humedad, temperatura y pH variaron de acuerdo a los registros diarios realizados en cada finca, además del tipo de suelos. (anexo 6).

3.3 Identificación macroscópica y microscópica

3.3.1 Caracterización fenotípica por siembra en medio específico

Tabla 12.

Criterios de identificación macroscópica

Apariencia	%	Color	%	Forma	%	Superficie	%	Bordes	%
Brillante	50	Blanco	66,6	Circular	100	Convexa	50	Lisos	100
Seca	50	Crema	33,3			Plana	50		

Nota: Identificación macroscópica de cepas aisladas en medio PVK
Elaborado por: Fuertes y Jarrín (2015).

De acuerdo a la tabla 12, la identificación macroscópica de las 6 cepas que presentaron crecimiento en medio mínimo PVK, según los criterios de caracterización se establece que el 50% de las bacterias son de apariencia brillante, el 66.6% es de color blanco, el 100% de las cepas es de forma circular, el 50% posee una superficie convexa, y los bordes lisos representan el 100% del total de las cepas aisladas.

Tabla 13.

Descripción macroscópica de JF1

Vista macroscópica de JF1	Descripción macroscópica
 <p>Fuente: Fuerte y Jarrín (2015)</p>	<p>Apariencia: Brillante Color: Crema Forma: Circular Superficie: Convexa Bordes: Lisos</p>

Nota: Descripción de JF1 en medio PVK.
Elaborado por Fuertes y Jarrín (2015).

La tabla 13, muestra la descripción y comparación morfológica de la cepa JF1 que presentó crecimiento en el medio mínimo PVK, presenta colonias brillante, color crema, forma circular, superficie convexa y bordes lisos.

Tabla 14.

Descripción macroscópica de JF2

Vista macroscópica de JF2	Descripción macroscópica
 <p data-bbox="313 957 634 984">Fuente: Fuerte y Jarrín (2015)</p>	<p data-bbox="764 632 971 659">Apariencia: Seca</p> <p data-bbox="764 663 992 690">Color: Blanca</p> <p data-bbox="764 695 1003 722">Forma: Circular</p> <p data-bbox="764 726 976 753">Superficie: Plana</p> <p data-bbox="764 758 976 785">Bordes: Lisos</p>

Nota: Descripción de JF1 en medio PVK
Elaborado por Fuertes y Jarrín (2015).

La tabla 14, muestra la descripción y comparación morfológica de la cepa JF2 que presentó crecimiento en el medio mínimo PVK, presenta colonias seca, color blanca, forma circular, superficie plana y bordes lisos.

Tabla 15.

Descripción macroscópica de JF3

Vista macroscópica de JF3	Descripción macroscópica
 <p data-bbox="313 1818 634 1845">Fuente: Fuerte y Jarrín (2015)</p>	<p data-bbox="740 1577 954 1604">Apariencia: Seca</p> <p data-bbox="740 1608 976 1635">Color: Blanca</p> <p data-bbox="740 1640 987 1667">Forma: Circular</p> <p data-bbox="740 1671 992 1698">Superficie: Convexa</p> <p data-bbox="740 1703 959 1730">Bordes: Lisos</p>

Nota: Descripción de JF3 en medio PVK
Elaborado por Fuertes y Jarrín (2015).

La tabla 15, se muestra la descripción y comparación morfológica de la cepa JF3 que presentó crecimiento en el medio minimal PVK, presenta colonias seca, color blanca, forma circular, superficie convexa y bordes lisos.

Tabla 16.

Descripción macroscópica de JF4

Vista macroscópica de JF4	Descripción macroscópica
 <p data-bbox="313 909 634 936">Fuente: Fuerte y Jarrín (2015)</p>	<p data-bbox="768 632 980 659">Apariencia: Seca</p> <p data-bbox="768 663 1000 690">Color: Crema</p> <p data-bbox="768 695 1016 722">Forma: Circular</p> <p data-bbox="768 726 1021 753">Superficie: Convexa</p> <p data-bbox="768 758 987 785">Bordes: Lisos</p>

Nota: Descripción macroscópica de JF4 en medio PVK
Elaborado por Fuertes y Jarrín (2015).

La tabla 16, se muestra la descripción y comparación morfológica de la cepa JF4 que presentó crecimiento en el medio minimal PVK, presenta colonias seca, color crema, forma circular, superficie convexa y bordes lisos.

Tabla 17.

Descripción macroscópica de JF5

Vista macroscópica de JF5	Descripción macroscópica
 <p data-bbox="329 1728 651 1755">Fuente: Fuerte y Jarrín (2015)</p>	<p data-bbox="760 1528 1008 1556">Apariencia: Brillante</p> <p data-bbox="760 1560 987 1587">Color: Crema</p> <p data-bbox="760 1591 1003 1619">Forma: Circular</p> <p data-bbox="760 1623 976 1650">Superficie: Plana</p> <p data-bbox="760 1654 976 1682">Bordes: Lisos</p>

Nota: Descripción macroscópica de JF5 en medio PVK
Elaborado por Fuertes y Jarrín (2015)

La tabla 17, se muestra la descripción y comparación morfológica de la cepa JF5 que presentó crecimiento en el medio mínimo PVK, presenta colonias brillantes, color crema, forma circular, superficie plana y bordes lisos.

Tabla 18.

Descripción macroscópica de JF6

Vista macroscópica de JF6	Descripción macroscópica
 <p data-bbox="326 909 646 934">Fuente: Fuerte y Jarrín (2015)</p>	<p data-bbox="748 684 1013 716">Apariencia: Brillante</p> <p data-bbox="748 716 987 747">Color: Crema</p> <p data-bbox="748 747 1003 779">Forma: Circular</p> <p data-bbox="748 779 980 810">Superficie: Plana</p> <p data-bbox="748 810 980 842">Bordes: Lisos</p>

Nota: Descripción macroscópica de JF6 en medio PVK.
Elaborado por Fuertes y Jarrín (2015)

La tabla 18, se muestra la descripción y comparación morfológica de la cepa JF6 que presentó crecimiento en el medio minimal PVK, presenta colonias brillantes, color crema, forma circular, superficie plana y bordes lisos.

La identificación macroscópica permite diferenciar entre las características morfológicas de las colonias aisladas para la obtención de cepas puras. Por esta razón, es importante tener en cuenta los factores que influyen en el crecimiento de las bacterias.

Datos de estudios muestran que las especies de los géneros *Rhizobium*, *Pseudomonas* y *Bacillus* son las que presentan mayor actividad solubilizadora de fósforo (Rodas, 2006, p. 13).

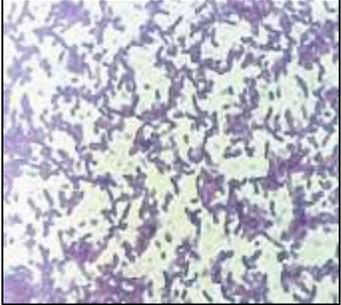
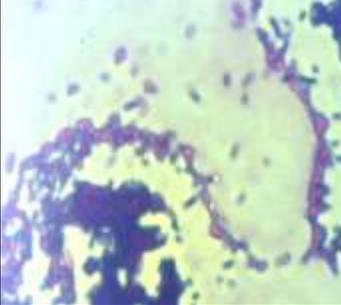
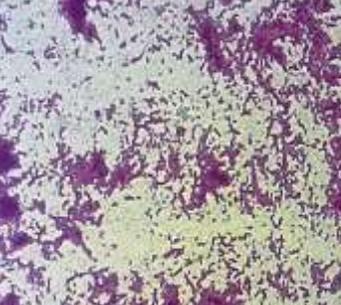
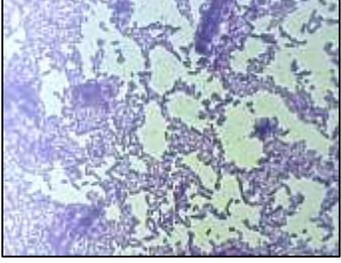
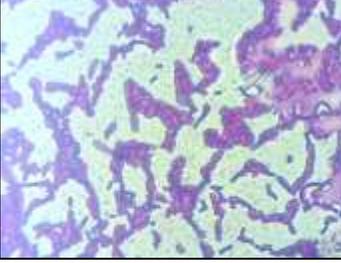
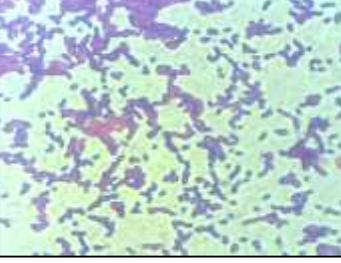
Finalmente, estas cepas se presumen que son bacterias solubilizadoras de fósforo por las características antes mencionadas, ya que según menciona Lara (2013) “las bacterias solubilizadoras de fósforo se caracterizan en la identificación macroscópicas por presentar colonias circulares, color blanco o crema, bordes elevados, superficie suave y brillante”.

Además, Patiño (2010) añade que “el medio de cultivo Pikovskaya modificado, enriquecido con fosfato de sodio, es específico para bacterias solubilizadoras de fósforo”. Por tanto es un buen criterio para afirmar que la identificación macroscópica fue bien realizada y apoya a la investigación.

3.3.2 Identificación microscópica de cepas bacterianas

Tabla 19.

Tinción Gram (100X)

JF1	JF2	JF3
		
Fuente: Fuertes y Jarrín (2015)	Fuente: Fuertes y Jarrín (2015)	Fuente: Fuertes y Jarrín (2015)
JF4	JF5	JF6
		
Fuente: Fuertes y Jarrín (2015)	Fuente: Fuertes y Jarrín (2015)	Fuente: Fuertes y Jarrín (2015)
<p>Descripción microscópica: Abundantes bastones de forma alargada aproximadamente de 1µm de diámetro, y tinción rojiza.</p>		
<p>Vista microscópica de bacteria solubilizadora de fósforo <i>Enterobacter</i> sp.</p>		
		
Fuente: (Bobadilla & Rincón, 2008)		

Nota: comparación microscópica de cepas aisladas con *Enterobacter* sp.
Elaborado por Fuertes y Jarrín (2015).

En la tabla 19, se observa los resultados obtenidos en la identificación microscópica de las bacterias JF1, JF2, JF3, JF4, JF5, y JF6 que presentaron características macroscópicas similares a las bacterias solubilizadoras de fósforo.

Mediante el uso de tinción Gram, se evidenció que el 100% de las bacterias aisladas corresponden al grupo Gram negativo por presentar coloración rojiza. Además se observó que las células presentan forma de bastones alargados, aproximadamente de 1µm de diámetro. Estos resultados concuerdan con la descripción y fotografía dada por Bobadilla & Rincón (2008), que corresponde a *Enterobacter* sp.

3.4 Evaluación de halos de solubilización de fosfato

Tabla 20.

Diámetro de Halos de solubilización de fósforo en medio PVK

Muestra	Halos de Solubilización (mm)				
	24h	48h	72h	96h	120h
JF1*	3	7	7.5	8.8	9
JF3	1.9	2.2	2.4	3.8	4.2
JF4	1.5	1.7	2	2.4	2.6

Nota: Medidas de halos de solubilización de JF1, JF3 y JF4 a diferente tiempo
Elaborado por: Fuertes y Jarrín (2014).

Halos de solubilización de cepa JF1 en medio PVK

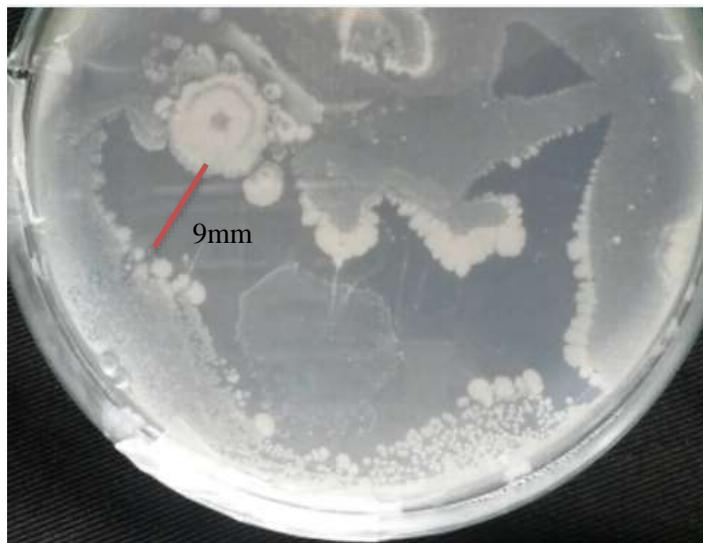


Figura 19. Halo de solubilización de JF1 de 9mm
Fuente: Fuertes y Jarrín (2014)

Una vez realizadas las pruebas de caracterización micro y macroscópica, se tomó en cuenta la formación de halos de solubilización de las bacterias aisladas (JF1-JF6) en medio mínimo PVK para apoyar la investigación.

De las 6 cepas descritas anteriormente, se seleccionaron 3 por haber presentado halos de solubilización en diferentes periodos de tiempo.

Los resultados tras la medición de los halos de solubilización de las cepas seleccionadas JF1, JF3, JF4, difieren por sus diámetros. En la tabla 20 se observa, que de 24 hasta 120 horas; la cepa JF1 es la mejor cepa por haber alcanzado un diámetro igual a 9mm, superior a las otras cepas; mientras que JF4 es la cepa con menor tamaño de halo de solubilización con un diámetro de a 2.6mm.

Beltrán, Chen y Reyes (2006) mencionan que la diferencia de diámetro entre los halos de solubilización de las cepas aisladas JF1, JF3 y JF4, se puede deber a diferentes factores, como al tipo de microorganismo aislado, a cambios en el metabolismo de la bacteria, al

medio de cultivo empleado, a las condiciones del ambiente en el que se desarrollan como pH, temperatura, y otros.

Por tanto, el diámetro del halo de solubilización es otro criterio, que permite seleccionar a JF1 (Fig. 22) como la mejor cepa solubilizadora de fósforo, por haber presentado el mayor diámetro de solubilización a diferencia de las cepas JF3 con diámetro 4.2mm y JF4 de 2.6mm, descartando a JF2, JF5 y JF6 por no haber presentado halo de solubilización.

3.5 Caracterización bioquímica de bacterias solubilizadoras de fósforo

Tabla 21.

Identificación de cepas bacterianas según su reacción bioquímica (API)

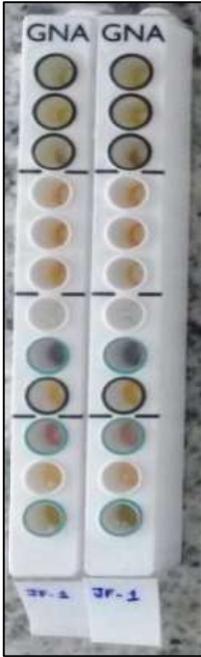
N° Pocillo	Reacción Bioquímica												Identificación	Certeza
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
Cepas	Lisina	Ornitin	H ₂ S	Glucosa	Manitol	Xilosa	ONPG	Indol	Ureasa	V.P	Citrato	TDA		
JF1*	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	<i>Enterobacter agglomerans</i>	99.24%
JF2	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>	99.92%
JF3*	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	<i>Enterobacter agglomerans</i>	96.94%
JF4*	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	<i>Enterobacter agglomerans</i>	79.17 %
JF5	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	<i>Serratia marcescens</i>	50.91%
JF6	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	<i>Serratia marcescens</i>	50.91%

Nota: * bacteria fosfosolubilizadora

Elaborado por: Fuertes y Jarrín (2014)

Tabla 22.

Identificación bioquímica de *Enterobacter agglomerans*

JF1	JF3	JF4
		
Fuente: Fuertes y Jarrín (2015)	Fuente: Fuertes y Jarrín (2015)	Fuente: Fuertes y Jarrín (2015)
		
Fuente: Sakurada (2007)		

Nota: Comparación bibliográfica de pruebas bioquímicas de *Enterobacter agglomerans*.
Elaborado por: Fuertes y Jarrín (2015).

La tabla 22, muestra como resultado que la cepas JF1, JF3 Y JF4 se identificaron con *Enterobacter agglomerans*. JF1 reaccionó de manera positiva para la prueba de glucosa, manitol, xilosa, ONPG (orto-nitrofenilgalactopiranosido), indol, y V.P (Voges-Proskauer) debido a que la bacteria genera una tonalidad amarilla al reaccionar con los posillos 4, 5, 6, 7 y una tonalidad rosa con el posillo 10. Mientras que JF3 dio negativo para indol (posillo 8) al generar una tonalidad amarilla y positivo para ureasa (posillo 9) al describir una tonalidad rosada. Por otro lado JF4 a diferencia de JF1 reaccionó negativo para manitol (posillo 5).

JF1 es identificada como *Enterobacter agglomerans*, también conocida como *Pantoea agglomerans*, de acuerdo al manual de Microgen GN ID, con un 99.24% de similitud que coincide con estudios realizados por Bergey (2001) del género *Enterobacter*, donde describe como principales características una reacción positiva para glucosa, indol, V.P, citrato, y lisina, y una reacción negativa para H₂S, ureasa y ornitina.

JF3 es descartada del grupo de *Enterobacter agglomerans*, ya que “las bacterias pertenecientes al género *Enterobacter* son indol positivo” (Leiva, 2002, pág. 58). Por otro lado, la prueba de ureasa se utiliza para diferenciar organismos rápidamente ureasa positivos de miembros de *Enterobacterias* (Bailón, González, & Cervantes, 2004, págs. 80-81).

JF4 es descartada como *Enterobacter agglomerans* por su reacción negativa a manitol que contradice a estudios realizados por Delétoile, Decré y Courant (2009) que demostraron que esta bacteria usa manitol como sustrato.

De acuerdo a estudios realizados por Useche (2003) “*Enterobacter agglomerans*, es un bacilo gram negativo, que ha sido identificada como bacteria solubilizadora de fósforo” (pág. 48).

3.6 Evaluación cuantitativa de bacterias solubilizadoras de fósforo

3.6.1 Cinética de crecimiento de la biomasa

Tabla 23.

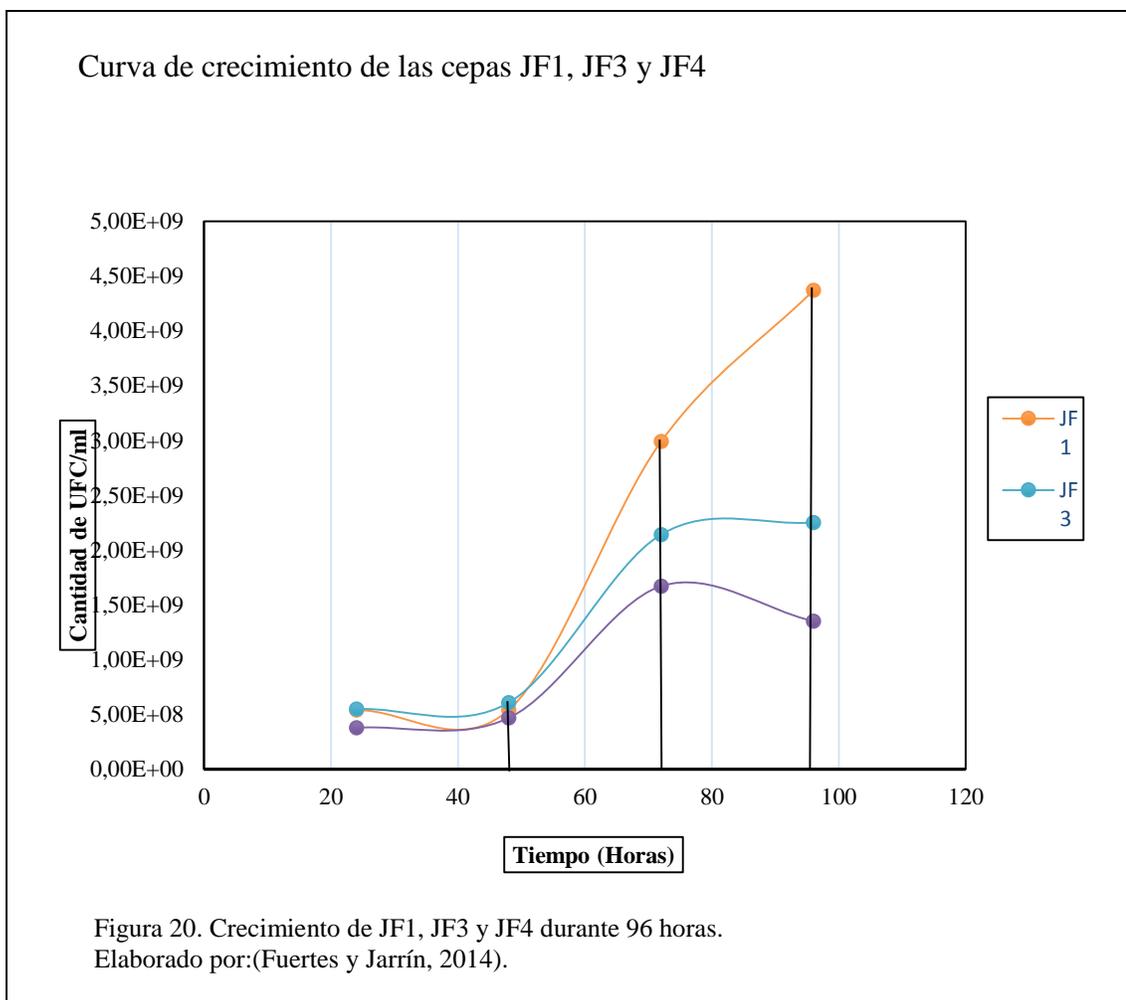
Registro de absorbancia y UFC/ml de cepas aisladas

Cepa	24 horas	UFC/ml	48 horas	UFC/ml	72 horas	UFC/ml	96 horas	UFC/ml
JF1*	0.7506	539× 10 ⁶	0.7519	540× 10 ⁶	3.7471	2990× 10 ⁶	5.4186	4370× 10 ⁶
JF3	0.7607	547× 10 ⁶	0.8324	606× 10 ⁶	2.7045	2140× 10 ⁶	2.8379	2250× 10 ⁶
JF4	0.5535	377× 10 ⁶	0.6635	467× 10 ⁶	2.1287	1670× 10 ⁶	1.7444	1350× 10 ⁶

Nota: Cepas aisladas a diferentes períodos de tiempo

* bacteria solubilizadora de fósforo

Elaborado por: Fuertes y Jarrín (2015)



Según la tabla 23 de cinética de crecimiento de las bacterias aisladas, se observa que después de la inoculación, a las 96 horas la cepa JF1 presentó niveles de 4370×10^6 UFC/ml, seguido de JF3 con 2250×10^6 UFC/ml y finalizando con la cepa JF4 con 1350×10^6 UFC/ml, datos que fueron obtenidos por medio del análisis de espectroscopia UV.

Según Smotzer (2007) “el comportamiento de las bacterias inicia con una fase de latencia, seguido de una fase exponencial, para finalmente llegar a una fase estacionaria, en donde ya no existe un mayor crecimiento y/o multiplicación”.

En la figura 23 se muestra que a las 48 horas las cepas inoculadas aumentan su biomasa, destacándose JF1 que alcanzó su fase exponencial a las 96 horas, mientras que JF3 y JF4 inician su fase de latencia a las 72 horas, estos resultados muestran finalmente que JF1 es la cepa que alcanza el mayor número de UFC/ml.

Cabe recalcar que si bien las 3 cepas bacterianas presentaron crecimiento bajo los mismos parámetros, se aprecia que hay diferencia en la producción de UFC/ml, esto probablemente esté relacionado con el metabolismo de la cepa aislada. (Larrea, 2010, pág. 40)

“El pH influye directamente en la solubilización de fosfatos, y la temperatura en la velocidad de transformación de nutrientes, la velocidad del metabolismo microbiano es proporcional a este parámetro” (Larrea, 2010, pág. 43).

3.6.2 Evaluación de la solubilización de fósforo in vitro

Tabla 24.

Cuantificación de fosfato asimilado

q (mg/g biomasa)			
Cepas	C1 (0.03M)	C2 (0.05M)	C3 (0.07M)
JF1	57	45	52
JF3	48	39	41
JF4	42	31	36

Nota: Fosfato asimilado a diferentes concentraciones
Elaborado por: Fuertes y Jarrín (2015)

Cuantificación de mg fosfato/ g biomasa de cepas JF1, JF3 y JF4.

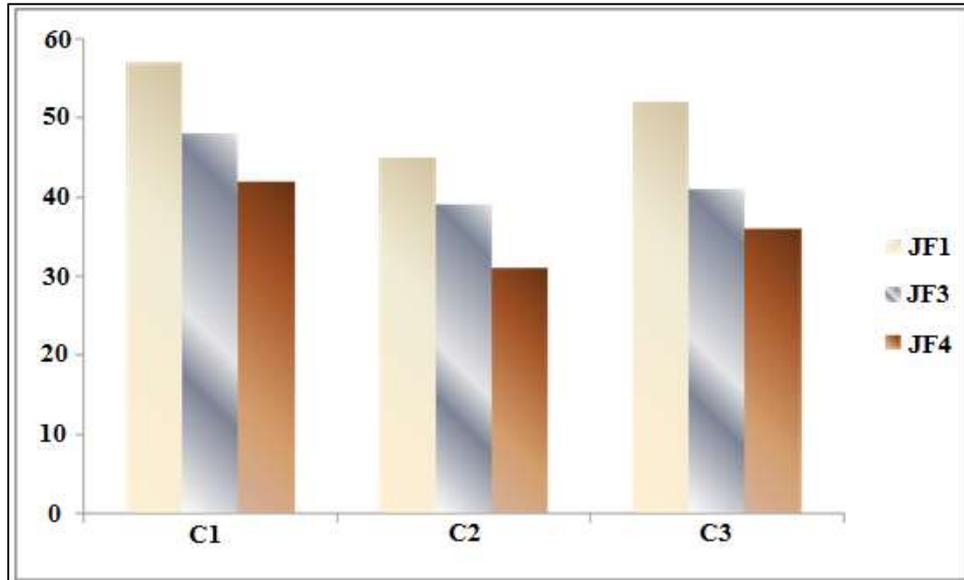


Figura 21. Comparación de la cuantificación q (mg fosfato/g biomasa) a diferentes concentraciones por cepas microbianas caracterizadas: JF1, JF3 y JF4.

C1= 0.03 M; C2= 0.05 M y C3= 0.07 M

Elaborado por: Fuertes y Jarrín, 2015

En la tabla 24 se muestra el comportamiento de la asimilación in vitro de las diferentes cepas microbianas caracterizadas en el estudio.

Según el registro de valores obtenidos, se puede señalar que las cepas JF1, JF3 y JF4 solubilizan fosfatos a las tres concentraciones (Fig. 21) en la investigación, por lo que puede deducirse que no existe inhibición para 0.03, 0.05 y 0.07 de molaridad, por parte de las bacterias en su fisiología.

La cepa JF1 incorpora más fosfatos inorgánicos del medio a las concentraciones C1 y C3, mientras que la JF3 y JF4 incorporan fosfatos inorgánicos a la C1. Esto puede explicarse tomando en cuenta: los mecanismos empleados por las células en la incorporación de las sustancias exógenas al interior celular, los diferentes tipos de metabolismos celulares intrínsecos de cada género microbiano y los factores externos del proceso; aunque este no es significativo en la investigación ya que todas las cepas son sometidas a iguales condiciones. Sin embargo a pesar de que existen diferencias

significativas entre los valores de consumo de fosfato en el medio de cultivo, desde el punto de vista estadístico, cabe señalar que las cepas tienen un comportamiento positivo en la incorporación de fosfatos inorgánico del medio.

Los mecanismos celulares empleados por los microorganismos procariontes solubilizadores de fosfatos se basan fundamentalmente en el intercambio entre el interior y el exterior celular por canales específicos llamados intercambiadores iónicos. Este tipo de intercambio con el exterior bioquímicamente tiene un costo energético a la célula, llamados generalmente mecanismos activos de transporte (Bermúdez V, 2006, págs. 76-86).

En el caso de la entrada y salida de fosfato al citoplasma se realiza mediante el uso de la bomba Glucosa-Sodio, donde el paso del fosfato se realiza a expensas de la entrada de glucosa, luego el sodio y por último los aniones fosfatos, mientras que su salida se efectúa por estos mismos mecanismos pero de forma asimilable por parte de organismos eucariotas. (Corrales, Arévalo, & Moreno, 2014, págs. 67-79).

Se conoce que por cada catión sodio que penetra, logra hacerlo un ion fosfato. De ahí la posible medición indirecta del anión en la investigación. Esto conlleva un consumo energético para la célula que necesita equilibrar su medio externo con la salida de iones H^+ . Esta es una de las razones por las que se explica la acidez en el suelo cuando ocurre la salida de los protones hidrógeno en el proceso. En suelos altamente alcalinizados este mecanismo no se efectúa sin el uso de un agente quelante que logre disminuir el pH. (Alam, Khalil, & Ayub, 2002, págs. 454-458) (Henri, y otros, 2008., págs. 171-178).

Según Corrales y otros (2014) “las plantas asimilan el fosfato liberado por los microorganismos procariontes mediante la excreción al medio de ácidos orgánicos” (pág. 410), esto explica lo anteriormente expuesto, donde se evidencia que la entrada y salida de fosfato conllevan la acidificación del medio. Otros autores han demostrado la inhibición de este mecanismo por la presencia de cationes como calcio (Ca^{2+}), Magnesio (Mg^{2+}) entre otros. Por lo que la asimilación de fosfatos inorgánicos por parte de las plantas cultivadas en suelos altamente alcalinos disminuye si no se emplean técnicas y

mecanismos para la acidificación del suelo, logrando un pH entre 5 y 6.5. (Chen, Rekha, Arunshen, Lai, & Young, 2006, págs. 33-41)

Tabla 25.

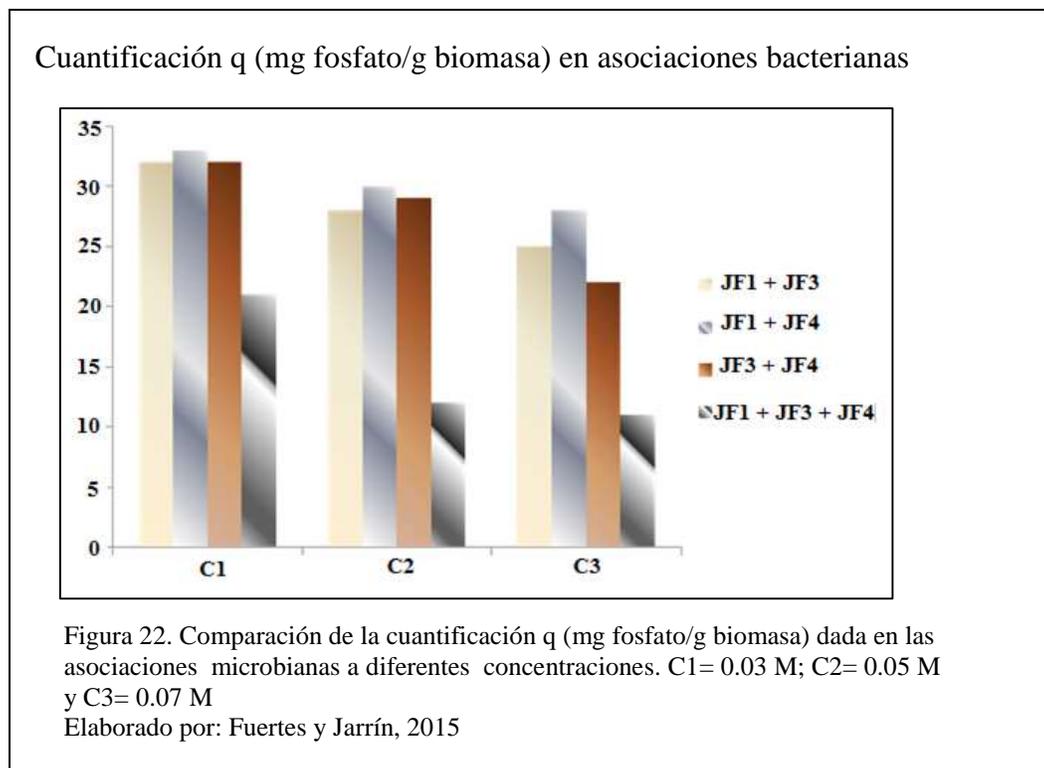
Cuantificación de fosfato asimilado por asociaciones microbianas

q (mg/g biomasa)			
Cepas	C1	C2	C3
JF1 + JF3	32	28	25
JF1 + JF4	33	30	28
JF3 + JF4	32	29	22
JF1 + JF3 + JF4	21	12	11

Nota: Fosfato asimilado a diferentes concentraciones

C1= 0.03 M; C2= 0.05 M y C3= 0.07 M

Elaborado por: Fuertes y Jarrín (2015).



El uso de consorcios bacterianos con actividad biológica es ampliamente conocido en la biotecnología. Es por esto que en la tabla 25 se muestra la actividad in vitro de la incorporación al medio celular de las bacterias en estudio.

En comparación con el registro del comportamiento individual (tabla 24), puede apreciarse la disminución de los mg de aniones captados por las cepas cuando están en consorcios microbianos. Se aprecia que de las combinaciones experimentadas las de mayores valores están siempre enmarcadas en los grupos donde está presente la cepa JF1 (Fig. 22).

Es notable destacar que no existe una relación directa entre la cantidad de cepas empleadas con la cantidad de fosfato incorporado, ya que en el caso del consorcio constituido por JF1 + JF3 + JF4 (Fig. 22) es el que muestra menor valor. Existen diferencias significativas desde el punto de vista estadístico en el comportamiento de los consorcios frente a las tres concentraciones, apreciándose que con el aumento de la cantidad de fosfato disuelto, los niveles de mg por unidades de biomasa (g) son cada vez menores.

Madigan y otros (2009), coincide con los resultados presentados en la investigación al plantear el efecto competitivo positivo o negativo en el crecimiento microbiano por parte de las cepas, aún cuando se trata de la misma especie, fenómeno conocido como competencia intraespecífica, mientras que cuando se trata de individuos de especies diferentes se denomina interespecífica. Este comportamiento es típico de las bacterias que tienen relación directa con las plantas y regulan su crecimiento, ya sea por ser fijadoras de nitrógeno como solubilizadoras de fosfatos. (Esmail, Esmaili, Pirdashti, & Saedeb, 2008, págs. 490-494).

Avellaneda y otros (2012) menciona que en el uso biotecnológico de consorcios microbianos debe tener en cuenta este factor limitante de la actividad biológica de los microorganismos a emplear, ya que de no tenerse en cuenta podría disminuir el potencial biológico de las cepas con la que se pretenda un fin productivo.

Dentro de los factores abióticos más planteados en la literatura especializada para explicar este comportamiento microbiano se encuentra el efecto que provocan algunas cepas microbianas en las propiedades físicas y químicas de los medios de cultivo y

ambientes naturales, inhibiendo la actividad enzimática de las otras cepas presentes. Esto viene dado ya sea por cambios de pH, disponibilidad de nutrientes o el aumento de la tasa de crecimiento microbiano por potencial metabólico de forma competitiva. En este estudio, puede deberse a las transformaciones que sufre en su composición el medio de cultivo cuando están presentes diferentes cepas microbianas de los mismos o diferentes géneros. (Windevoxhel, y otros, 2009, págs. 314-318).

Pinellia y otros (2012), en Uruguay obtuvieron resultados similares a este. Cuando en un estudio de biorremediación, las cepas microbianas disminuyeron su potencial al encontrarse en consorcios frente al comportamiento individual de las mismas.

3.6.3 Evaluación de biofertilizante en campo



En la figura 23 se observa el Biofertilizante (*Enterobacter agglomerans*) envasado y listo para su aplicación en los experimentos N° 1.

Tabla 26.

Experimentos N°1 y N°2

Marledian- Bloque 12		Astroflores- Bloque 6	
Experimento N°1 (Compost enriquecido)	Experimento N°2 (Compost propio de la finca)	Experimento N°1 (Compost enriquecido)	Experimento N°2 (Compost propio de la finca)
Antes			
			
Después			
			

Nota: Imágenes del antes y después de los experimentos 1 y 2 del bloque 12 y 6-.
Fuente: Fuertes y Jarrín (2015)

En la tabla 26 se observan los experimentos N°1 (compost enriquecido) y N°2 (compost propio de la finca) sustitutos del bloque 12 de Marledian y los experimentos N°1 (compost enriquecido) y N°2 (compost propio de la finca), sustitutos del bloque 6 de Astroflores.

Tres semanas después de ser aplicado el compost con biofertilizante a nivel de raíces se pudo observar en el experimento N°1 que las plantas mostraron mayor número de hojas verdes brillantes por rama y botones abiertos.

En los experimentos N°2, tres semanas después de ser aplicado el compost propio de la finca enriquecido con cocteles bacterianos como Bioearth, Biobeat y Microriz, a nivel de raíces, se pudo observar que las plantas a pesar de que presentaron floración se diferencian de los experimentos N°1 porque presentaron menor número de hojas por rama, se observaron hojas con manchas amarillas, tallos más delgados y menor tamaño de botones.

La presencia de fósforo en el rosal estimula la formación de las raíces y su crecimiento. Ayuda al rápido crecimiento y fortalecimiento de las plantas en caso de heladas. Desarrolla los tejidos reproductores y afecta a la floración. La deficiencia de fósforo reduce el crecimiento vegetativo y radicular. Las hojas se vuelven opacas y pueden caerse. El peso de la rosa y su número de pétalos se reducen con la deficiencia de fósforo. (Fainstein, 1997, págs. 44-45).

Tabla 27.

Contenido final de fósforo (ppm) en los experimentos N°1

Experimento	Niveles de fósforo (ppm) apropiados de acuerdo al INIAP para la provincia de Pichincha	Contenido inicial de fósforo (ppm) en el suelo	Contenido final de fósforo (ppm) en el suelo	Variedad de Rosa
M1	10.0 – 20.0	294	23.9	Firework
A1		284	20.9	Kordana

Nota: M1= Marledian Experimento N°1; A1= Astroflores Experimento N°1

Elaborado por: Fuertes y Jarrín (2015).

La tabla 27 presenta el contenido inicial y final de fósforo en el suelo de las dos fincas. Para Marledian se observó que los niveles de fósforo bajaron de 294.0 ppm a 23.9.0 ppm y en Astroflores los niveles de fósforo bajaron de 284.0 ppm a 20.9 ppm según los análisis realizados en los Laboratorios de Suelos y Aguas de la Universidad Politécnica Salesiana-Cayambe.

Basándonos en los niveles de fósforo apropiados en el suelo para la provincia de Pichincha recomendados por INIAP (2011) y los análisis finales de suelo, se logró afirmar

que el enriquecimiento del compost con el biofertilizante compuesto de *Enterobacter agglomerans* ayudó a movilizar el fósforo retenido en los suelos de las fincas.

Es importante tener en cuenta, que a pesar de que el resultado final del contenido de fósforo en el suelo de ambas fincas se encuentra aún excede el valor óptimo recomendado, hubo un descenso cuantitativamente representativo, reflejándose de esta manera que hay una buena respuesta por parte la bacteria *Enterobacter agglomerans*, que podría ser probada en otro tipo de suelos y cultivo, así se demuestra su eficiencia como una alternativa biológica en manejo de suelos.

Los biofertilizantes son preparados de microorganismos con el fin de aplicarlos al suelo o planta para sustituir parcial o totalmente la fertilización sintética así como disminuir la contaminación generada por agroquímicos. Los microorganismos utilizados en los biofertilizantes se caracterizan por cumplir varias funciones y una de ellas puede ser solubilizar el fósforo inorgánico mejorando de tal manera el crecimiento y estado nutricional de la planta (Kloepper, Schroth, & Miller, 1980, págs. 18-20).

CONCLUSIONES

El diagnóstico inicial de suelos y compost demuestra que los niveles de fósforo son altos en el cultivo de rosas de las dos fincas. Al ser el fósforo un elemento inmóvil y al encontrarse sobre los niveles recomendados ocasiona problemas como manchas amarillas en las hojas, botones pequeños, tallos delgados que hace que disminuya la calidad del botón de exportación. Siendo el diagnóstico, por medio de análisis físico químicos, una herramienta importante para poder evaluar el desarrollo de las plantas y el estado nutricional de un suelo acompañado de otros parámetros como condiciones ambientales.

Los suelos de las fincas a pesar de tener una textura franco arenosa poseen gran riqueza microbiana, lo que hizo que sea posible el aislamiento e caracterización microbiana (fenotípica y bioquímica) de la mejor cepa bacteriana solubilizadora de fósforo (*Enterobacter agglomerans*), la misma que solubilizó el nutriente in vitro y en campo, permitiendo discernir que la bacteria se encuentra y es nativa de los suelos en estudio de la Florícola Denmar S.A.

El crecimiento bacteriano de las cepas aisladas se determinó a través del análisis por espectroscopia UV, lo que permitió conocer a que tiempo hay mayor producción de biomasa y el momento óptimo para inoculación de la bacteria de interés.

La efectividad de las bacterias solubilizadoras de fósforo se determinó in vitro empleando un análisis cuantitativo basado en el método de espectroscopia de absorción atómica (EAA), que ayudo a cuantificar eficazmente la presencia de los iones fosfato en medio líquido PVK, es decir la presencia de fósforo soluble final de la muestra.

Los niveles de fósforo bioacumulado en el suelo eran altos y ocasionaban bloqueos entre los nutrientes, dificultando el desarrollo y crecimiento normal de la planta que comparando con los niveles de fósforo obtenidos, después de la aplicación final de la bacteria aislada, *Enterobacter agglomerans*, se comprobó que se redujo la cantidad del fósforo a más del 80%, demostrando la eficiencia de la bacteria, que fue aislada del mismo sitio y reinoculada en los suelos estudiados; propiciándose como una alternativa para el uso de fertilizantes fosforados usados comúnmente en el negocio de rosas.

El biofertilizante producido en las instalaciones de los laboratorios de ciencia de la vida mejoró el estado nutricional y estructura del suelo de la finca.

La aplicación del compost inoculado con el biofertilizante en el suelo dió buenos resultados, ya que existieron cambios notables a simple vista en los rosales de cada ensayo, físicamente tuvieron un aspecto diferente al de los ensayos testigos, tanto en la coloración de las hojas, números de botones por rama, aspecto del suelo, entre otros. Lo que permitió presumir que las bacterias que han sido aisladas e identificadas como *Enterobacter agglomerans* incrementan la biodisponibilidad de fósforo para la planta.

Las bacterias que fueron inoculadas sobre el compost e incorporado en el suelo tienen un efecto positivo sobre el suelo de la florícola.

La aplicación de productos con cocteles de microorganismos sobre el suelo (Bioearth, Microriz), no garantizan que el fósforo que se encuentra inmovilizado en el suelo sea solubilizado y utilizado por las plantas, ya que al contener un consorcio de microorganismos, estos pueden crear sinergismo o antagonismo, por lo que no asegura que cada producto cumpla una función específica, e aquí la diferencia con el biofertilizante elaborado, que a través de algunas pruebas se afirmó el poder de la biosolubilización de fósforo en el suelo.

RECOMENDACIONES

Sugerimos que las bacterias aisladas y caracterizadas como *Enterobacter agglomerans* en esta investigación; sean estudiados en otros tipos de suelos con diferentes cultivos de flores, pues podrían tener efectos potencialmente beneficiosos para la industria agrícola.

Desarrollar el estudio de la filogenia de las bacterias aisladas, ya que hay autores que la consideran dentro del grupo de microorganismos solubilizadores de fósforo, y sin embargo no es muy reconocida entre los microorganismos que poseen esta habilidad.

Realizar un estudio en el que se involucren a otros microorganismos con la capacidad de solubilizar el fósforo del suelo, con el objetivo de probar que a través del sinergismo microbial entre estos se puede aumentar la capacidad de biosolubilización de fósforo, reduciendo al máximo el uso de fertilizantes químicos fosforados.

Efectuar los estudios de costo beneficio de la producción del biofertilizante a gran escala.

GLOSARIO

A

- ✓ **Ac. Acético:** Es un ácido orgánico que se está en la mayoría de las frutas, y se caracteriza por ser un líquido incoloro con intenso olor a vinagre, conocido también como ácido etanóico.
- ✓ **Ac. Cítrico:** Es un ácido orgánico tricarbóxico débil. Es un importante intermediario metabólico para convertir las grasas y los carbohidratos en energía
- ✓ **Ac. Oxálico:** Es el ácido más simple de los ácidos dicarbóxicos alifáticos, pero esto mismo hace que se caracterice por ser un ácido orgánico sumamente fuerte.
- ✓ **Ac. Succínico:** Es un ácido dicarbóxico, participa en el ciclo de Krebs, reduciendo el coenzima FAD y obteniendo así la energía por fosforilación oxidativa tras la cesión de electrones a intermediarios de la cadena de transporte de electrones.
- ✓ **Agente quelante:** Es una sustancia que promueve la formación de complejos con iones de metales pesados con el fin de evitar la intoxicación.

B

- ✓ **Barreno:** Es un instrumento o dispositivo que se usa para realizar agujeros en el suelo, extrayendo al material que se ha perforado.
- ✓ **Bioearth:** Cultivo mixto de diversos microorganismos rigurosamente seleccionados. Esta formulación contiene especies de levaduras, actinomicetos, bacterias mesófilas y termófilos, hongos altamente especializados en el proceso de la biodegradación de residuos orgánicos.
- ✓ **Bio-beat:** Es un Fitofortificante, bioremediador y desinfectante de suelos, capaz de promover la mineralización de los suelos y aprovechamiento de los mismos.
- ✓ **Biomasa:** Es el total de la materia orgánica que forma parte de un ecosistema determinado, expresada habitualmente en peso estimado por unidad de área o de volumen.
- ✓ **Buffer:** Es una solución amortiguadora-reguladora que está compuesta por un ion común de un ácido débil o una base débil

C

- ✓ **Capacidad de intercambio catiónico:** (CIC) Es la capacidad de un suelo para retener y liberar iones positivos. Las arcillas contienen cargas negativas, por lo que suelos con altas concentraciones de arcillas exhiben capacidades de intercambio catiónico superiores. El CIC del suelo aumenta con la presencia de materia orgánica.
- ✓ **Celulosa:** Es un polisacárido compuesto exclusivamente de moléculas de β -glucosa (desde cientos hasta varios miles de unidades), constituyente principal de las paredes de las células vegetales. Se obtiene de la pulpa de la madera

D

- ✓ **Densidad:** Es la relación entre la masa por unidad de volumen de una sustancia dada.
- ✓ **dS/m:** Decisiemens por metro

E

- ✓ **Éster:** Compuesto orgánico que se forma por la reacción entre un ácido y un alcohol (simbolizados por R').

F

- ✓ **Fase mesófila:** Fase que se caracteriza por tener una reacción de síntesis de elementos nutritivos, materia orgánica, la misma que usa compuestos orgánicos como fuente de energía, En este proceso la temperatura se eleva rápidamente alcanzando alrededor de 45°C.
- ✓ **Fase termófila:** Fase en la que la temperatura aumenta, disminuyendo la cantidad de microorganismos y la proporción de fungi en beneficio de las bacterias. Cuando la temperatura llega a los 60 - 70°C sólo las bacterias termófilas y los actinomicetos sobreviven.
- ✓ **Fluorapatita:** Es un mineral fosfato de calcio fluorado sólido cristalino y duro.

H

- ✓ **Hidroxiapatita:** Es un componente inorgánico, está formado por fosfato de calcio cristalino.

I

- ✓ **Intercambiadores iónicos:** Es el intercambio de iones en un disolución de electrolitos y un complejo.

L

- ✓ **Lábil:** Describe a un complejo con ligandos que pueden reemplazarse fácilmente por otros ligandos con enlaces más fuertes.
- ✓ **Lignina:** Es la sustancia intercelular de las células fibrosas de los vegetales y que ayudan a mantener unidas las fibras de celulosa que los componen: la lignina constituye el 25% de la madera.

N

- ✓ **Nucleoproteína:** Son proteínas que forman parte del grupo de proteínas conjugadas., y poseen un grupo prostético, y no proteico unido a una o más moléculas de una proteína simple.

Q

- ✓ **Quelante:** Es una sustancia que tiene la propiedad de unirse a los iones metálicos de un determinado complejo molecular.

R

- ✓ **Rizogénesis:** Es el desarrollo de raíces jóvenes con meristema funcional

S

- ✓ **Siemens:** Es la unidad que se usa para medir de la conductancia eléctrica de diferentes sustancias.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRILAB LTDA. (2004). *Contenido de Nutrientes Totales*. Recuperado el 22 de Octubre de 2014, de <http://slideplayer.es/slide/1026369/>
- AgroWaste. (Febrero de 2013). *Acerca de nosotros: Agrowaste*. Recuperado el 15 de Octubre de 2014, de <http://www.agrowaste.eu/wp-content/uploads/2013/02/COMPOSTAJE.pdf>
- Ainsworth, R. (2004). *Safe piped water: Managing microbial water quality in piped distribution systems*. Londres: IWA Publishing. Obtenido de http://www.bvsde.paho.org/cd-gdwq/docs_microbiologicos/Bacterias%20PDF/Klebsiella.pdf
- Airam, N. (15 de Noviembre de 2012). *Capacidad de Intercambio Catiónico*. Recuperado el 3 de Febrero de 2015, de <http://es.slideshare.net/Airam9/cic-edaf>
- Alam, S., Khalil, N., & Ayub, M. (2002). In vitro solubilization of inorganic phosphate by phosphate solubilizing microorganism (PSM) from maize rhizosphere. 454-458.
- Alexander, M. (1980). *Introducción a la Microbiología del suelo*. México: AGT Editor, S.A.
- Alexander, M. (1980). Transformaciones microbianas del fósforo. En *Introducción a la microbiología del suelo* (pág. 491). México: AGT.
- Ambiente, C. N. (2000). *Norma de Calidad de Compost*. Santiago.
- APROLAB. (Diciembre de 2007). *Acerca de nosotros: Em- La*. Recuperado el 16 de Octubre de 2014, de sitio web dw Em- La: http://www.em-la.com/archivos-de-usuario/base_datos/manual_para_elaboracion_de_compost.pdf
- ASOINCO. (2002). *Curso Internacional de Microbiología del suelo. Biofertilizantes y la Biofertilización. Memorias*. Quito: René Novos.
- Avellaneda, L., Melgarejo, L., Narváez, C., & Sánchez, J. (2012). Actividades Enzimáticas en Consorcios Bacterianos de Suelos Bajo Cultivo de Papa con Manejo Convencional y Bajo Pastizal. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 6349-6360.
- Babenko, Y., Tyrygina, G., Grigoryev, E., Dolgikh, L., & Borisova, T. (1994). *Biological activity and physiologo- biochemical properties of bacteria dissolving phosphates*.
- Bailón, L., González, R., & Cervantes, A. (2004). *Atlas interactivo de ppruebas bioquímicas*. Obtenido de <http://es.scribd.com/doc/39602083/Atlas-Interactivo-de-pruebas-bioquimicas#scribd>
- Begonia, M. B. (2004). Phosfatase Activity and Populations of Microorganism from cadmiun and Lead Contaminated Soils. *Envirom Contam Toxicol*.

- Begonia, M., Begonia, G., Miller, G., Guilliard, D., & Young, C. (2004). *Soils, Phosfatase Activity and Populations of Microorganism from cadmiun and Lead Contaminated*. Envirom Contam Toxicol.
- Begonia, M., Begonia, G., Miller, G., Guilliard, D., & Young, C. (2004). *Soils, Phosfatase Activity and Populations of Microorganism from cadmiun and Lead Contaminated*. Envirom Contam Toxicol.
- Beltrán, S. &. (2005). *Aislamiento de bacterias con actividad fosfato solubilizadora a partir de suelos ácidos del norte de Boyacá y producción de un inóculo mixto en fermentación discontinua*. Bogota-Colombia: Pontificia Universidad Javeriana.
- Bendeck, M. (s.f.). *AGRILAB*. Recuperado el 7 de Octubre de 2004, de Parámetros de Calidad de un Compost.
- Bergey, D. (2001). *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Obtenido de http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/826/1/rafael_mz.pdf
- Bermúdez V, B. F. (2006). *Biología molecular de los transportadores de glucosa: clasificación, estructura y distribución Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*.
- Bobadilla, C., & Rincón, S. (Junio de 2008). *Aislamiento y evaluación de bacterias fosfato solubilizadoras a partir de compost obtenido de residuos de plaza*. Obtenido de <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis130.pdf>
- Bobadilla, C., & Rincón, S. (Junio de 2008). *Aislamiento y evaución de bacterias fosfato solubilizadoras a partir de compost obtenido de residuos de plaza*. Obtenido de <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis130.pdf>
- Bohn, H. (1993). *Química del Suelo*. Limusa.
- Boonkerd, N. (2000). *Biofertilizer Development*.
- Boschetti, N., CE, Q., & MR, B. (2004). *Dinámica de las fracciones de fósforo en el suelo en una pastura fertilizada*. Rev. Ciente. Agropec.
- Brady, N. (2000). *Elements of the nature of properties of soil*. . USA: 12 th Edition.
- Buendía, D. (2 de Julio de 2013). *Espectrofotometría*. Recuperado el 1 de Diciembre de 2014, de file:///C:/Users/TOSHIBA/Downloads/Guia_TP_2_Quimica_II_2010.pdf
- Bustillo, R. (29 de Junio de 2011). *El secreto de las rosas*. Obtenido de http://manejodelasrosas.blogspot.com/2011_06_26_archive.html
- C, H., Q, K., D, D., R, S., & K., C. (2005). *Phosphorus*.
- Canãma's, T., Irma, V., & Abadías, M. (27 de Febrero de 2007). *Acid tolerance response induced in the biocontrol agent Pantoea agglomerans CPA-2 and effect on its survival ability in*

- acidic environments*. Recuperado el 1 de Marzo de 2015, de file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/0c960527d4f0b7ddef000000.pdf
- Cañamas, T., Irma, V., & Abadías, M. (27 de Febrero de 2007). *Acid tolerance response induced in the biocontrol agent Pantoea agglomerans CPA-2 and effect on its survival ability in acidic environments*. Recuperado el 1 de Marzo de 2015, de file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/0c960527d4f0b7ddef000000.pdf
- Castaldi, P., Alberti, G., Merella, R., & Melis, P. (2005). Study of the organic matter evolution during. En W. Manag.
- Catalina, B., & Rincon, S. (2008). *Aislamiento y evaluación de bacterias fosfato solubilizadoras a partir de compost obtenido de residuos plaza*. Bogotá-Colombia.
- Centro de Análisis Clínica Rotger. (4 de Enero de 2006). *Serratia marcescens, la bacteria "prodigiosa"*. Obtenido de <http://www.clinicarotger.es/doc/gacmic/gacmic04.pdf>
- Centro de Información e Inteligencia Comercial. (Junio de 2009). *Sector florícola*. Obtenido de http://www.puce.edu.ec/documentos/perfil_de_flores_2009.pdf
- Chen, Y., Rekha, A., Arunshen, W., Lai, A., & Young, C. (2006). Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Soil Ecology*, 33-41.
- CICA. (2004). *Progai*. Recuperado el 21 de Octubre de 2014, de Compostaje: <http://www.progai.ucr.ac.cr/documentos/brochures/folleto-compost-progai.pdf>
- CIEMAT. (2000). *Acerca de nosotros: CIEMAT*. Recuperado el 15 de Octubre de 2014, de sitio web de CSIC: <http://digital.csic.es/bitstream/10261/16792/1/2000%20Compost%20CIEMAT.pdf>
- Coney, M. (2000). *Microbiología del suelo: Un enfoque exploratorio*. Madrid. España: Paraninfo.
- Conney, M. (2000). *Microbiología del suelo: Un enfoque exploratorio*. Madrid España: Paraninfo.
- Consorcio Agropecuario Provincial de Segovia- CAPS. (2010). *Importancia del pH en los cultivos*. Obtenido de <http://www.agropecuariosegovia.com/notas2.pdf>
- Corrales, L., Arévalo, Z., & Moreno, V. (2014). Solubilización de fosfatos: una función microbiana importante en el desarrollo vegetal. *NOVA*, 12(21), 67-79. Obtenido de <http://unicolmayor.edu.co/publicaciones/index.php/nova/article/view/251>
- Coyne, M. (1000). *Microbiología del suelo*.
- CSIC. (2000). *Consejo Superior de Investigaciones Digitales. Acerca de nosotros: CIEMAT*. Recuperado el 15 de Octubre de 2014, de sitio web de CSIC: <http://digital.csic.es/bitstream/10261/16792/1/2000%20Compost%20CIEMAT.pdf>

- De la Rosa, D. (2008). *Evaluación agro- ecológica de suelos para un desarrollo sostenible*. Madrid-España: Ediciones Mundi-Prensa.
- Delétoile, A., Decré, D., & Courant, S. (29 de Febrero de 2009). *Phylogeny and identification of Pantoaea species and typing of Pantoaea agglomerans strains by multilocus gene sequencing*. Obtenido de <http://jcm.asm.org/content/47/2/300.full>
- Delgado, M. (2002). *Acerca de nosotros: ORIUS Biotecnología*. Recuperado el 16 de Octubre de 2014, de Los Microorganismos del Suelo en la Nutrición Vegetal: http://www.oriusbiotecnologia.com/index.php?option=com_k2&view=item&layout=item&id=51
- Dexter, A. (2004). *Soil physical qualit. Part I. Theory, effects of soil texture, density and organic matter, and effects on root growth*. Geoderma 120.
- Díaz, M., Jiménez, L., Cabrera, F., Bertoldi, D., & M.D. (2004). *Digital Csic*. Obtenido de Using a second order polynomials model to determine the optimum vinasse/grape marc ratio for in vessel composting: <http://digital.csic.es/bitstream/10261/20837/3/Factores%20que%20afectan%20al%20proceso%20de%20compostaje.pdf>
- Dirección de Inteligencia Comercial e Inversiones. (2013). *Análisis sectorial de flores*. Recuperado el 28 de Julio de 2014, de Pro Ecuador: http://www.proecuador.gob.ec/wp-content/uploads/2013/07/PROEC_AS2013_FLORES.pdf
- Dumitru, C. (2011). 'Synthetic' chromosome permits rapid, on-demand 'evolution' of yeast; Artificial system has built-in diversity generator. *Science Daily - Johns Hopkins Medical Institutions. Nature Journal of Science*, 471–476.
- Editorial Vértice. (2008). *Gestión Medioambiental: Manipulación de residuos y productos químicos*. España: Vértice.
- Ekinci, K., Keener, H., & Elwell, D. (2004). Experimental studies. En *Effects of aeration strategies on the composting process* (págs. 1697-1708).
- Esmail, Y., Esmaili, A., Pirdashti, H., & Saedeb, M. (2008). Azotobacter and Azospirillum inoculants as Biofertilizers in Canola (Brassica nupus L.) cultivation. *Plant Sciences*, 490-494.
- Espinosa, J. (2006). Fijación de fósforo en suelos derivados de ceniza volcánica. *Nitro Reader*, 1-2.
- Espinosa, J. (s.f.). Fijación de fósforo en suelos derivados de ceniza volcánica. *Nitro Reader*, 1-2.
- Eweis, J. (1999). *Principios de biorrecuperación: Tratamientos para descontaminación y regeneración de suelos y aguas subterráneas mediante procesos biológicos y químicos*. Madrid-España: Editorial Mc Graw Hill, Interamericana.

- EXPOFLORES. (2014). *La Estrategia Exitosa de la Floricultura Ecuatoriana*. Recuperado el 7 de Octubre de 2014, de EXPOFLORES: <http://www.expoflores.com/index.php/servicios/25-kril-penectus-aliquet>
- Fainstein, R. (1997). *Manual para el cultivo de rosas en Latinoamérica*. Ecuador: Ecuoffset Cia. Ltda.
- FAO-ISRIC. (1990). *Guidelines for soil description*. Roma: 3 Edition.
- Fernández, L. (2005). *Bacterias solubilizadoras de fosfato inorgánico aislados de suelos de la región sojera*. *Cienc. Suelo* 23 (1).
- Fitz, P. (1978). *Introducción a la ciencia del suelo*. México: Cultura.
- Forbes, B., Sahm, F., & Weissdeld, A. (1998). *Diagnostic Microbiology* (Décima ed. ed.). Missouri, USA: Von Hoffmann Press Mosby.
- Foth, H. (1990). *Fundamentals of soil science*. USA: 8a Edición. Ed. John Wiley & Sons.
- Gamazo, C. (2005). *Manual Práctico de Microbiología*. Barcelona: Masson.
- García, C. (2003). *Técnicas de análisis de parámetros bioquímicos en suelos: Medida de actividades enzimáticas y biomasa microbiana*.
- Giardina, E. (2010). *La Importancia de los Microorganismos del Suelo*. *Corpoica-Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 155-164.
- Gliessman, S. (2007). *Agroecology: The ecology if sustainable food sytems*. Boca Ratón FL: Taylor & Francis CRC Press.
- Golueke, C. D. (1987). *Composting and the Limiting Factors Principle*. Biocycle.
- Gómez, I., & Zabala, M. (2001). *Determinación de la capacidad solubilizadora de fosforo en hongos aislados de la rizósfera del Maní*. Mexico.
- González, F., & Tristán, F. (1988). *Sobre la fijación del fósforo en suelos calizos*. Obtenido de <http://digital.csic.es/bitstream/10261/78801/1/Sobre%20la%20fijaci%C3%B3n%20del%20f%C3%B3sforo%20en%20suelos%20calizos.pdf>
- González, P., Ordoñez, R., Espejo, R., & Peregrini, F. (2003). *Cambios en el pH del perfil de un suelo ácido cultivado y enmendado con diversos materiales para mejorar su fertilidad*. Obtenido de <http://www.zonanosaturada.com/publics/V6/p373-378.pdf>
- Gros, A. (1996). *Guía práctica de la fertilización*. España: Editorial Limusa.
- Gunn, R. B. (1988). *Australian soil and land survery handbook: Guidelines for conducting surveys*. Melbourne: Inkata Press.
- Hameeda, B., Harinni, G., Rupela, o., Wani, P., & Reddy, G. (2006). *Growth promotion of Maize by phosphate-solubilizing bacteria isolated from compost and macrofauna*. Obtenido de

EL SEVIER: http://ac.els-cdn.com/S0944501306000589/1-s2.0-S0944501306000589-main.pdf?_tid=76383ace-a710-11e4-b1f8-0000aacb35f&acdnat=1422465167_78e1df105ec67143f81eb07d2acea13e

- Haug, R. (1993). *The practical Handbook of Compost Engineering*. Florida: Lewis Publishers.
- Henri, F., Laurette, D., Annette, Q., John, M., Wolfgang, E., François, X., & Dieudonné, N. (2008.). Solubilization of inorganic phosphates and plant growth promotion by strains of *Pseudomonas fluorescens* isolated from acidic soils of Cameroon. *African Journal of Microbiology*, 171-178.
- Higa, T. (5 de Enero de 2013). *Una alternativa para mejorar la fertilidad de los suelos es el uso de enmiendas enriquecidas con microorganismos. La inoculación de microorganismos eficientes contribuyen a acelerar la descomposición de los desechos orgánicos, lo cual incrementa la dispo.* Recuperado el 8 de Noviembre de 2014, de http://www.fundases.com/userfiles/file/MicroorG_Benef_Efect.pdf
- Higuera, M. (2002). *Acerca de nosotros: ORIUS Biotecnología*. Recuperado el 16 de Octubre de 2014, de Los Microorganismos del Suelo en la Nutrición Vegetal: http://www.oriusbiotecnologia.com/index.php?option=com_k2&view=item&layout=item&id=51
- Horn R & Fleige, H. (2000). *Prediction of mechanical strength and ecological properties of subsoils for a sustainable land use*. Univ. of Kiel, Soil Science Dept. Kiel.
- Iglesias, E. (2009). Unidad temática 4. Métodos y Parámetros para Evaluar la Madurez de un Compost. *Aspectos Físico- Químicos, Bioquímicos y Microbiológicos del Proceso de Compostaje. Evaluación de la calidad*, pág. 1.
- INIAP. (2006). *Muestreo de Suelos para Análisis Químico con Fines Agrícolas*. Guayas- Ecuador.
- INIAP. (2011). *Niveles para la interpretación de análisis de suelos*. Ecuador: Dpto. Manejo de suelos y aguas.
- Instituto Espacial Ecuatoriano. (2013). Generación de geoinformación para la gestión del territorio a nivel nacional, escala 1:25.000. *Geopedología del Cantón Pedro Moncayo*, 3. Quito, Ecuador.
- IPNI. (2003). *Fósfor en Agricultura*. Argentina.
- Jaramillo, R. (2010). *Manejo de Fertilizantes Fosfatados*. Lima: International Plant Nutrition Institute.
- Jeris, J., & Regan, R. (1973). *Controlling Environmental Parameters for Optimum Composting*.
- Jhorar, B., Phogat, V., & E., M. (1991). Kinetics of composting rice straw with glue waste at .
- Kiehl, F. (1985). *Fertilizantes orgánicos*. Sao Paulo: Agronômica Ceres Ltda.

- Kloepper, J., Schroth, M., & Miller, T. (1980). *Effects of rhizosphere colonization by plant growth-promoting rhizobacteria on potatoe plant development and yield*. Obtenido de <http://www.uaim.edu.mx/webraximhai/Ej-16articulosPDF/07%20Biofertilizantes.pdf>
- Knicker H., A. G.-V.-P. (2006). *Characteristic alterations of quantity and quality of the soil organic matter caused by forest fires in continental Mediterranean ecosystems* (A solid-state C NMR study ed.). European Journal of Soil Science.
- La Hora. (20 de Julio de 2003). *Florícolas en quiebra*. Obtenido de http://www.lahora.com.ec/index.php/noticias/show/1000178325/-1/Flor%C3%ADcolas_en_quiebra.html#.VOTvcPmUdqU
- Laich, F. (2009). El papel de los microorganismos en el proceso de compostaje. *Unidad de Microbiología Aplicada*, 7.
- Larrea, C. (2010). *Proyecto final- Bacterias solubilizadoras de fósforo*. Obtenido de <http://repositorio.uisek.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/497/1/Proyecto%20de%20Fin%20de%20Carrera-Cristina%20Larrea.pdf>
- Leiva, M. (2002). *Materiales de referencia y comparaciones interlaboratorios*. Obtenido de <https://books.google.com.ec/books?id=EkhX7SxFBnQC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>
- Lemke, M. &. (1995). *Effect of Sustrate and Cell Surface Hydrophobicity on Phosphato Utilization in Bacteria*. Applied and Environmental Microbiology.
- Liang, C., & Das, K. C. (2004). The influence of temperature and moisture contents regimes on the aerobic microbial activity of a biosolids composting blend.
- Madejón, E., Díaz, M., López, R., & Cabrera, F. (2002). Co-composting of sugarbeet vinasse: Influence of the organic matter nature of the bulking agents used.
- Madigan, M., Martinko, J., Dunlap, P., & Clark, D. (2009). *Biología de los microorganismos*. Madrid, España: PEARSON Addison Wesley.
- Martin, A. (1980). Transformaciones microbianas. En *Introducción a la microbiología del suelo* (pág. 646). Mexico: AGT Editores.
- Mejía, L. (1997). Mapa General de Clasificación por Capacidad-Fertilidad Suelos del Ecuador. Quito-Ecuador.
- Michel, F., Pecchia, J., & Rigot, J. (2004). Mass and nutrient losses during the composting of dairy. En C. Sci.
- Microgen GN ID. (2013). *Microgen GnA*. Camberley U.K: GU15 3DT.
- Milthope, & Moorby. (1982). *Introducción a la fisiología de cultivos*. México: Primera edición.

- Miyatake, F., & Iwabuchi, K. (2006). *Effect of compost temperature on oxygen uptake rate, specific growth rate and enzymatic activity of microorganisms in dairy cattle manure*.
- Molina, J. (2010). *La materia orgánica del suelo*. Obtenido de <http://www.monografias.com/trabajos87/materia-organica-del-suelo/materia-organica-del-suelo.shtml>
- Moorby, & Milthope. (1982). *Introducción a la fisiología de cultivos*. Primer edición.
- Moreno, J., & Moral, R. (2011). *Compostaje*. Madrid: Mundi- Prensa.
- Mozes, N. (1987). *Methods for measuring hydrophobicity of*. Journal of Microbiological Methods.
- Munsell Color Company. (1975). *Munsell soil color charts*. Baltimore, MR.
- Nakasaki, K., Nag, K., & Karita, S. (2005). *Microbial succession associated with organic matter decomposition during thermophilic composting of organic waste*. Waste Manag.
- Nautiyal, C. (1999). *An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganism*. FEMS Microbiol Lett.
- Navarro, G. (2003). *Química Agrícola: el suelo y los elementos químicos esenciales para la vida*. Mundi-Prensa.
- Nutriterra. (2013). *Relación entre la textura y CIC de los suelos*. Recuperado el 1 de Febrero de 2015, de http://www.nutriterra.com/images/PDF/Info%20Tecnica/valores_suelos.pdf
- Onthong, J., Gimsanguan, S., Pengnoo, A., & Nilnond, C. y. (2007). *Effect of pH and some cations of activity of acid phosphatase secreted from Ustilago sp. Isolated from acid sulphate soil*. Technol .
- Osorio, W., & Osorno, L. (2011). *Microorganismos del suelo y su efecto sobre la disponibilidad de nutrientes*. Medellín: Universidad Nacional de Colombia.
- Pant H., y. W. (2000). *Enzymatic hydrolysis of soil organic phosphorus by immobilized phosphates*. Bio Fertil Soils.
- Parés, J. (2008). *Efecto de los niveles de salinidad sobre la densidad esomática, índice estomático y el grosor foliar en las plantas de Carica papaya L.* Obtenido de http://tecnociencia.uach.mx/numeros/v5n3/data/Efectos_por_salinidad_en_el_desarrollo_vegetativo.pdf
- Pérez, N. (2012). *Compostaje vs residuos orgánicos*. Obtenido de view-source:<http://www.monografias.com/trabajos46/compostaje/compostaje2.shtml>
- Picone, L., & Zamuner, E. (2002). *Fosforo orgánico y fertilidad fosfórica*. Informaciones Agronómicas del Cono Sur.

- Pinellia, L., Da Cunha, J., Bellinia, M., & Fernández, A. (2012). Selection and characterization of bacterial consortium as a tool for bioremediation of atrazine contamination in water treatment plants. *VII Congreso de Medio Ambiente /AUGM*.
- Plaster, E. (2005). *La Ciencia del suelo y su manejo*. Madrid: Thomson.
- Prats, C. G., & Vives-Rejob, J. (2008). *Analysis and IBM simulation of the stages in bacterial lath phases: Basis for an updated definition*. *Journal of Theoretical Biology*.
- PRONAREC. (1980). *Mapa de Suelos del Ecuador. Tabacundo*.
- Ramos, S. (2013). *Espectrofotometría*. Obtenido de <http://perso.wanadoo.es/sergioram1/espectrofotometria.htm>
- Rayment G.E & Higginson, F. (1992). *Australian laboratory handbook of soil and water chemical methods*. Melbourne: Inkata Press.
- Realpe, M. H. (2002). *Especies del género Bacillus: morfología macroscópica y microscópica*. Bogotá: División de Biblioteca y Publicaciones, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia.
- Reyes, I. (1991). *Dinámica del fósforo y aislamiento de algunos microorganismos en la mezcla de pulpa de café-roca fosfórica*. Venezuela.
- Richard, B. (1973). *Sainidad en el suelo*. Obtenido de <http://dspace.esoch.edu.ec/bitstream/123456789/674/1/13T0697%20SANCHEZ%20EDWARD.pdf>
- Ridge, E., & Rovira, A. (1971). *Phosphatase activitt of intact young wheat roots under sterile and non sterile conditions*.
- Rivera, C. T. (2006). *Redalyc* (Recuperado 6 de Enero del 2013 ed.). <http://redalyc.com>.
- Röben, E. (2002). *Manual de Compostaje para Municipios*. 68.
- Rodas, A. (2006). *La Agricultura y Microorganismos*.
- Rodríguez, F. (1982). *Nutrición Vegetal*. En *Fertilizantes*. México. D.F: AGT. Editor, S.A.
- Román, P., Martínez, M., & Pantoja, A. (2013). *Manual de Compostaje del Agricultor. Experiencias en América Latina*. Santiago de Chile: FAO.
- Román, P., Martínez, M., & Pantoja, A. (2013). *Manual de Compostaje del Agricultor: Experiencias en Latinoamérica*. Chile: ISBN.
- Sainz, H., Echeverría, H., & Angelini, H. (2010). *Niveles de materia orgánica y pH en suelos agrícolas*. Obtenido de [https://www.ipni.net/ppiweb/iaarg.nsf/\\$webindex/C27D5B57B45EAAEF032578BA006BD8B1/\\$file/6.pdf](https://www.ipni.net/ppiweb/iaarg.nsf/$webindex/C27D5B57B45EAAEF032578BA006BD8B1/$file/6.pdf)

- Sanchez, M., Roig, A., Paredes, C., & Bernal, M. (2001). *Nitrogen transformation during organic waste composting by the Rutgers system and its effects on pH, EC and maturity of the composting mixtures*. Obtenido de <http://digital.csic.es/bitstream/10261/20837/3/Factores%20que%20afectan%20al%20proceso%20de%20compostaje.pdf>
- Santillán, D. (25 de Febrero de 2014). *Vistazo a un país- caso florícolas cayambe*. Obtenido de <http://www.puce.edu.ec/economia/efi/index.php/economia-internacional/14-competitividad/157-vistazo-a-un-pais-caso-floricolas-de-cayambe>
- Sanzano, A. (2003). *El fósforo en el suelo*. Obtenido de Facultad de agronomía y zootecnia: <http://www.edafologia.com.ar/Descargas/Cartillas/Fosforo%20del%20Suelo.pdf>
- Scharrer, K. (1960). *Química Agrícola*. Primera edición.
- Schlichting E., B. H. (1995). *Bodenkundlichers oraktinkum* (Segunda Edition ed.). Berlin: Blackwell.
- Skoog, D., Holler, J., & Nieman, T. (2000). *Principios de Análisis Instrumental*. Madrid: Interamericana de España.
- Smith, H. (2001). *Abuso de los agroquímicos y sus consecuencias*. Panamá: Universidad Tecnológica de Panamá.
- Solans, X., Alonso, R., & Gadea, E. (2001). *Acerca de nosotros: Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo*. Recuperado el 15 de Octubre de 2014, de sitio web de Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo: http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/501a600/ntp_597.pdf
- Suler, D., & Finstein, S. (1977). Effect of Temperature, Aeration, and Moisture on CO₂ Formation in Bench-Scale, continuously Thermophilic Composting of Solid Waste.
- Sundberg, C., Smars, S., & Jonsson, H. (2004). *Low pH as an inhibiting factor in the transition from mesophilic to thermophilic phase in composting*.
- Tchobanogolus, G., Theisen, H., & Vigil, S. (1994). Evolution of humic acid molecular weight as an index of . En *Compost sci* (págs. 108-115).
- Tisdale, S., & Werner, N. (1988). *Fertilidad de Suelos y Fertilizantes*. Editorial Limusa.
- Tomati, U. M. (2000). *Evolution of humic acid molecular weight as an index of compost stability*.
- Torrent, J. (2002). *Mediterranean soil*. . Nueva York: En: Lal R. (Ed.), *The encyclopedia of soil science*. Dekker.
- Torres, M. (2009). *Ciclo del fósforo en agroecosistemas y reacción de los fertilizantes fosfatados en el suelo*. Buenos Aires: Asociación Argentina de la Ciencia del Suelo (AACS).

- Tortora, G., Funke, B., & Case, C. (2007). *Introducción a la Microbiología (Novena edición)*. Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana.
- Tutillo, M. A. (2011). *Repositorio Universidad Técnica del Norte*. Obtenido de Efecto de tres abonos orgánicos líquidos, aplicados al área foliar y al suelo en el cultivo de rosas: <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/788/1/ARTICULO.pdf>
- Uphoff N., B. A. (2006). *Biological Approaches to Sustainable Soil Syetms*. Boca Ratón FL: Taylor. & Francis CRC Press.
- UPO. (2014). *Fundamentos de química- práctica 4*. Recuperado el 2 de Febrero de 2015, de Espectrofotometría: <http://www.upo.es/depa/webdex/quimfis/docencia/quimbiotec/FQpractica4.pdf>
- USDA. (19 de Febrero de 2013). *Texturas de suelos*. Recuperado el 4 de Febrero de 2015, de <http://www.tecnicoagricola.es/texturas-de-suelos-agricolas/>
- Useche, Y. (2003). *Caracterización de bacterias y hongos solubilizadores de fosfato bajo tres uso del suelo en el sur del trapezio amazónico*. Colombia: Trabajo de Grado. Carrera de de Biología. Universidad Nacional de Colombia.
- Valencia, M. (2012). *Resumen técnico del cursode compostaje y lombricultura para la gestión de residuos*. Obtenido de http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:_VCX0VubytgJ:www.asociacionllanquihue.cl/descargas/material-minimizacion/resumen_curso_compostaje_y_lumbricultura.doc+&cd=10&hl=es&ct=clnk&gl=ec
- Valencia, M. (Junio de 2013). *Resumen técnico del curso de compostaje y lombricultura para a gestión de residuos*. Obtenido de http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:_VCX0VubytgJ:www.asociacionllanquihue.cl/descargas/material-minimizacion/resumen_curso_compostaje_y_lumbricultura.doc+&cd=10&hl=es&ct=clnk&gl=ec
- Valero, N. (2003). *Potencial biofertilizante de bacterias diatrozofas y solubilizadoras de fosfato asociadas al cultivo de arroz (Oriza sativa)*. Bogotá- Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Vance, C. (2001). *Symbiotic nitrogen fixation and phosphorus acquisition*.
- Vasco- Paguay, L. &. (2013). *Aislamiento de bacterterias solubilizadoras de calcio de la rizósfera de cultivos de alcachofa (Cyrana scolymus) ubicados en Lasso-Latacunga-Cotopaxi*. Quito.
- Vilaseca, J. R. (1995). Fundamentos para la interpretación de los análisis de suelos y la recomendación de abono. *La Gestión de los suelos.*, Pág. 150.

Villapudua, J., & Sáinz, R. (2007). *El Compostaje*. Sinaloa, México.

Windevoxhel, R., Malaver, N., Bastardo, H., Subero, N., Sánchez, N., & Marcano, L. (2009). Caracterización de la comunidad bacteriana de un Ripio de perforación y aislamiento de un consorcio bacteriano con capacidad hidrocarburoclástica. *Revista Ingeniería UC*, 16(2), 14-19.

Zucconi, F., & De Bertoldi, M. (1987). Specifications for solid waste compost.

ANEXOS

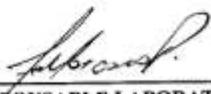
Anexo 1. Análisis de suelos- INIAP.

Denmar- Astroflores

	ESTACION EXPERIMENTAL "SANTA CATALINA" LABORATORIO DE MANEJO DE SUELOS Y AGUAS Km. 14 1/2 Panamericana Sur, Apdo. 17-01-340 Quito- Ecuador Telf.: 690-691/92/93 Fax: 690-693																								
REPORTE DE ANALISIS DE SUELOS																									
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th colspan="2" style="text-align: center;">DATOS DEL PROPIETARIO</th> </tr> <tr> <td>Nombre :</td> <td>DENMAR</td> </tr> <tr> <td>Dirección :</td> <td>PEDRO MONCAYO</td> </tr> <tr> <td>Ciudad :</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Teléfono :</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Fax :</td> <td></td> </tr> </table>	DATOS DEL PROPIETARIO		Nombre :	DENMAR	Dirección :	PEDRO MONCAYO	Ciudad :		Teléfono :		Fax :		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th colspan="2" style="text-align: center;">DATOS DE LA PROPIEDAD</th> </tr> <tr> <td>Nombre :</td> <td>FINCA ASTROFLORES</td> </tr> <tr> <td>Provincia :</td> <td>PICHINCHA</td> </tr> <tr> <td>Cantón :</td> <td>PEDRO MONCAYO</td> </tr> <tr> <td>Parroquia :</td> <td>TABACUNDO</td> </tr> <tr> <td>Ubicación :</td> <td></td> </tr> </table>	DATOS DE LA PROPIEDAD		Nombre :	FINCA ASTROFLORES	Provincia :	PICHINCHA	Cantón :	PEDRO MONCAYO	Parroquia :	TABACUNDO	Ubicación :	
DATOS DEL PROPIETARIO																									
Nombre :	DENMAR																								
Dirección :	PEDRO MONCAYO																								
Ciudad :																									
Teléfono :																									
Fax :																									
DATOS DE LA PROPIEDAD																									
Nombre :	FINCA ASTROFLORES																								
Provincia :	PICHINCHA																								
Cantón :	PEDRO MONCAYO																								
Parroquia :	TABACUNDO																								
Ubicación :																									
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th colspan="2" style="text-align: center;">DATOS DEL LOTE</th> </tr> <tr> <td>Cultivo Actual :</td> <td>ROSAS</td> </tr> <tr> <td>Cultivo Anterior :</td> <td>PASTO</td> </tr> <tr> <td>Fertilización Ant. :</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Superficie :</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Identificación :</td> <td>BLOQUE 6 C 80-82</td> </tr> </table>	DATOS DEL LOTE		Cultivo Actual :	ROSAS	Cultivo Anterior :	PASTO	Fertilización Ant. :		Superficie :		Identificación :	BLOQUE 6 C 80-82	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th colspan="2" style="text-align: center;">PARA USO DEL LABORATORIO</th> </tr> <tr> <td>N° Reporte :</td> <td>37.303</td> </tr> <tr> <td>N° Muestra Lab. :</td> <td>99678</td> </tr> <tr> <td>Fecha de Muestreo :</td> <td>14/10/2014</td> </tr> <tr> <td>Fecha de Ingreso :</td> <td>15/10/2014</td> </tr> <tr> <td>Fecha de Salida :</td> <td>27/10/2014</td> </tr> </table>	PARA USO DEL LABORATORIO		N° Reporte :	37.303	N° Muestra Lab. :	99678	Fecha de Muestreo :	14/10/2014	Fecha de Ingreso :	15/10/2014	Fecha de Salida :	27/10/2014
DATOS DEL LOTE																									
Cultivo Actual :	ROSAS																								
Cultivo Anterior :	PASTO																								
Fertilización Ant. :																									
Superficie :																									
Identificación :	BLOQUE 6 C 80-82																								
PARA USO DEL LABORATORIO																									
N° Reporte :	37.303																								
N° Muestra Lab. :	99678																								
Fecha de Muestreo :	14/10/2014																								
Fecha de Ingreso :	15/10/2014																								
Fecha de Salida :	27/10/2014																								

Nutriente	Valor	Unidad	INTERPRETACION															
N	29.00	ppm	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
P	284.00	ppm	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
S	131.00	ppm	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
K	3.10	meq/100 ml	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
Ca	18.20	meq/100 ml	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
Mg	2.90	meq/100 ml	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
Zn	40.20	ppm	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
Cu	17.50	ppm	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
Fe	165.00	ppm	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
Mn	14.60	ppm	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
B	3.10	ppm	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
N - NO ₃	160	ppm	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
pH	7.15		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20%;"></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">0</td> <td style="text-align: center;">5.5</td> <td style="text-align: center;">6.5</td> <td style="text-align: center;">7.0</td> <td style="text-align: center;">7.5</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">Acido</td> <td style="text-align: center;">Lig. Acd.</td> <td style="text-align: center;">Práctic. Neutro</td> <td style="text-align: center;">Lig. Alc.</td> <td style="text-align: center;">Alcalino</td> </tr> </table>						0	5.5	6.5	7.0	7.5	Acido	Lig. Acd.	Práctic. Neutro	Lig. Alc.	Alcalino
0	5.5	6.5	7.0	7.5														
Acido	Lig. Acd.	Práctic. Neutro	Lig. Alc.	Alcalino														
Acidez Int. (Al+H)		meq/100 ml	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
Al		meq/100 ml	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
Na	0.38	meq/100 ml	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
CE	3.64	mmhos/cm	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															
			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>															

Ca	Mg	Ca+Mg	(meq/100ml)	%	ppm	%			Clase Textural
Mg	K	K	Σ Bases	NTot	Cl	Arena	Limo	Arcilla	
6,3	0,9	6,8	24,6	0,13	177,00	61	26	13	Franco-Arenoso


RESPONSABLE LABORATORIO


LABORATORISTA



ESTACIÓN EXPERIMENTAL SANTA CATALINA
LABORATORIO DE SUELOS, PLANTAS Y AGUAS
Km 1 Panamericana Sur, Apdo. 17-01-340
Telf. -Fax 2690694
QUITO – ECUADOR



NOMBRE DEL PROPIETARIO: DENNAR
NOMBRE DEL REMITENTE: SEBASTIÁN ROMOLEROX I
NOMBRE DE LA GRANJA: DENMAR
LOCALIZACIÓN TABACUNDO PEDRO MONCAYO PICHINCHA
PARROQUIA CANTÓN PROVINCIA

FECHA DE MUESTREO : 14/10/2014
FECHA INGRESO AL LABORATORIO: 15/10/2014
FECHA DE SALIDA DE RESULTADOS: 27/10/2014

DETERMINACIÓN DE SALINIDAD EN SUELO

No. de Lab.	IDENTIFICACIÓN	pH	C.E. mmoh/cm	CATIONES milieq./ litro					ANIONES milieq./litro				
				Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	Na ⁺	K ⁺	Σ cation	CO ₃ ⁻²	HCO ₃ ⁻	SO ₄ ⁻²	Cl ⁻	Σ anion
99678	BLOQUE 6 C 80-82	7.05	3.64	14.0	5.3	3.7	4.5	27.5	0.0	4.8	12.8	5.4	23.0

C.E.: Conductividad Eléctrica

TODAS LAS DETERMINACIONES SON REALIZADAS EN EXTRACTO DE SATURACIÓN

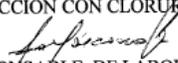

RESPONSABLE DE LABORATORIO


LABORATORISTA

ANÁLISIS DE CAPACIDAD DE INTERCAMBIO CATIONICO

No. de Laboratorio	IDENTIFICACIÓN	Miliequivalentes / 100 g. de suelo				Suma de Bases Meq/100g suelo	% Saturación Bases	CIC Meq/100g suelo
		K	Ca	Mg	Na			
99678	BLOQUE 6C 80-82	1.8	20.4	4.2	0.49	26.9	Saturado	17.2

MÉTODO: EXTRACCIÓN CON CLORURO DE BARIO


RESPONSABLE DE LABORATORIO


LABORATORISTA

 INIAP <small>INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS</small>	ESTACION EXPERIMENTAL "SANTA CATALINA" LABORATORIO DE MANEJO DE SUELOS Y AGUAS Km. 14 1/2 Panamericana Sur, Apdo. 17-01-340 Quito- Ecuador Telf.: 690-691/92/93 Fax: 690-693																																																																																										
REPORTE DE ANALISIS DE SUELOS																																																																																											
DATOS DEL PROPIETARIO Nombre : DENMAR MARLEDIAN Dirección : PEDRO MONCAYO Ciudad : Teléfono : Fax :	DATOS DE LA PROPIEDAD Nombre : DENMAR Provincia : PICHINCHA Cantón : PEDRO MONCAYO Parroquia : TABACUNDO Ubicación :																																																																																										
DATOS DEL LOTE Cultivo Actual : ROSAS Cultivo Anterior : ROSAS Fertilización Ant. : Superficie : Identificación : BLOQUE 12	PARA USO DEL LABORATORIO N° Reporte : 37.302 N° Muestra Lab. : 99677 Fecha de Muestreo : 14/10/2014 Fecha de Ingreso : 15/10/2014 Fecha de Salida : 27/10/2014																																																																																										
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>Nutriente</th> <th>Valor</th> <th>Unidad</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>N</td><td>55.00</td><td>ppm</td></tr> <tr><td>P</td><td>294.00</td><td>ppm</td></tr> <tr><td>S</td><td>88.00</td><td>ppm</td></tr> <tr><td>K</td><td>0.99</td><td>meq/100 ml</td></tr> <tr><td>Ca</td><td>8.10</td><td>meq/100 ml</td></tr> <tr><td>Mg</td><td>2.40</td><td>meq/100 ml</td></tr> <tr><td>Zn</td><td>78.00</td><td>ppm</td></tr> <tr><td>Cu</td><td>21.20</td><td>ppm</td></tr> <tr><td>Fe</td><td>447.00</td><td>ppm</td></tr> <tr><td>Mn</td><td>29.40</td><td>ppm</td></tr> <tr><td>B</td><td>1.40</td><td>ppm</td></tr> </tbody> </table>	Nutriente	Valor	Unidad	N	55.00	ppm	P	294.00	ppm	S	88.00	ppm	K	0.99	meq/100 ml	Ca	8.10	meq/100 ml	Mg	2.40	meq/100 ml	Zn	78.00	ppm	Cu	21.20	ppm	Fe	447.00	ppm	Mn	29.40	ppm	B	1.40	ppm	INTERPRETACION <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">BAJO</td> <td style="text-align: center;">MEDIO</td> <td style="text-align: center;">ALTO</td> </tr> </table> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">BAJO</td> <td style="text-align: center;">MEDIO</td> <td style="text-align: center;">ALTO</td> <td style="text-align: center;">TOXICO</td> </tr> </table> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20%;"></td> <td style="width: 15%;">0 Requiere Cal</td> <td style="width: 15%;">5.5</td> <td style="width: 15%;">6.5</td> <td style="width: 15%;">7.0</td> <td style="width: 15%;">7.5</td> <td style="width: 15%;">8.0</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">pH</td> <td style="text-align: center;">5.22</td> <td colspan="5"></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">Acido</td> <td style="text-align: center;">Lig. Ac.</td> <td style="text-align: center;">Práctic. Neutro</td> <td style="text-align: center;">Lig. Alc.</td> <td colspan="3" style="text-align: center;">Alcalino</td> </tr> </table> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">ADECUADO</td> <td style="text-align: center;">LIGERAMENTE TOXICO</td> <td style="text-align: center;">TOXICO</td> </tr> </table> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">No Salino</td> <td style="text-align: center;">Lig. Salino</td> <td style="text-align: center;">Salino</td> <td style="text-align: center;">Muy Salino</td> </tr> </table> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">BAJO</td> <td style="text-align: center;">MEDIO</td> <td style="text-align: center;">ALTO</td> </tr> </table>				BAJO	MEDIO	ALTO					BAJO	MEDIO	ALTO	TOXICO		0 Requiere Cal	5.5	6.5	7.0	7.5	8.0	pH	5.22						Acido	Lig. Ac.	Práctic. Neutro	Lig. Alc.	Alcalino						ADECUADO	LIGERAMENTE TOXICO	TOXICO				No Salino	Lig. Salino	Salino	Muy Salino				BAJO	MEDIO	ALTO
Nutriente	Valor	Unidad																																																																																									
N	55.00	ppm																																																																																									
P	294.00	ppm																																																																																									
S	88.00	ppm																																																																																									
K	0.99	meq/100 ml																																																																																									
Ca	8.10	meq/100 ml																																																																																									
Mg	2.40	meq/100 ml																																																																																									
Zn	78.00	ppm																																																																																									
Cu	21.20	ppm																																																																																									
Fe	447.00	ppm																																																																																									
Mn	29.40	ppm																																																																																									
B	1.40	ppm																																																																																									
BAJO	MEDIO	ALTO																																																																																									
BAJO	MEDIO	ALTO	TOXICO																																																																																								
	0 Requiere Cal	5.5	6.5	7.0	7.5	8.0																																																																																					
pH	5.22																																																																																										
Acido	Lig. Ac.	Práctic. Neutro	Lig. Alc.	Alcalino																																																																																							
ADECUADO	LIGERAMENTE TOXICO	TOXICO																																																																																									
No Salino	Lig. Salino	Salino	Muy Salino																																																																																								
BAJO	MEDIO	ALTO																																																																																									
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>Ca</th> <th>Mg</th> <th>Ca+Mg (meq/100ml)</th> <th>%</th> <th>ppm</th> <th colspan="3">Clase Textural</th> </tr> <tr> <th>Mg</th> <th>K</th> <th>K</th> <th>Σ Bases</th> <th>NTot</th> <th>Cl</th> <th>Arena</th> <th>Limo</th> <th>Arcilla</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>3,4</td> <td>2,4</td> <td>10,6</td> <td>11,7</td> <td>0,07</td> <td>160,00</td> <td>61</td> <td>26</td> <td>13</td> </tr> </tbody> </table>	Ca	Mg	Ca+Mg (meq/100ml)	%	ppm	Clase Textural			Mg	K	K	Σ Bases	NTot	Cl	Arena	Limo	Arcilla	3,4	2,4	10,6	11,7	0,07	160,00	61	26	13	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%; text-align: center;">  RESPONSABLE LABORATORIO </td> <td style="width: 50%; text-align: center;">  LABORATORISTA </td> </tr> </table>	 RESPONSABLE LABORATORIO	 LABORATORISTA																																																														
Ca	Mg	Ca+Mg (meq/100ml)	%	ppm	Clase Textural																																																																																						
Mg	K	K	Σ Bases	NTot	Cl	Arena	Limo	Arcilla																																																																																			
3,4	2,4	10,6	11,7	0,07	160,00	61	26	13																																																																																			
 RESPONSABLE LABORATORIO	 LABORATORISTA																																																																																										

DETERMINACIÓN DE SALINIDAD EN SUELO

No. de Lab.	IDENTIFICACIÓN	pH	C.E. mmoh/cm	CATIONES milieq./ litro					ANIONES milieq./litro				
				Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	Na ⁺	K ⁺	Σ cation	CO ₃ ⁻²	HCO ₃ ⁻	SO ₄ ⁻²	Cl ⁻	Σ anion
99677	BLOQUE 12	5.87	2.18	7.7	3.5	1.8	2.7	15.7	0.0	2.8	9.6	2.6	15.0

C.E.: Conductividad Eléctrica

TODAS LAS DETERMINACIONES SON REALIZADAS EN EXTRACTO DE SATURACIÓN


RESPONSABLE DE LABORATORIO


LABORATORISTA

ANÁLISIS DE CAPACIDAD DE INTERCAMBIO CATIONICO

No. de Laboratorio	IDENTIFICACIÓN	Miliequivalentes / 100 g. de suelo				Suma de Bases	% Saturación Bases	CIC
		K	Ca	Mg	Na	Meq/100g suelo		Meq/100g suelo
99677	BLOQUE 12	1.06	7.4	2.2	0.18	10.8	100	10.8

MÉTODO: EXTRACCIÓN CON CLORURO DE BARIO


RESPONSABLE DE LABORATORIO


LABORATORISTA

Anexo 2. Análisis de compost- INIAP

Denmar- Astroflores

NOMBRE DEL PROPIETARIO: DENNAR		FECHA DE MUESTREO: 14/10/2014	
NOMBRE DEL REMITENTE: SEBASTIÁN ROMOLEROUX		FECHA INGRESO AL LABORATORIO: 15/10/2014	
NOMBRE DE LA GRANJA: ASTROFLORES		FECHA DE SALIDA DE RESULTADOS: 28/10/2014	
LOCALIZACIÓN TABACUNDO PEDRO MONCAYO PICHINCHA			
PARROQUIA CANTÓN PROVINCIA			

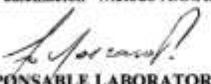
INFORME DE RESULTADOS DE ANÁLISIS DE ABONOS ORGÁNICOS

No. Laborat.	Identificación	pH	R		N TOTAL	P	K	Ca	g/100g (%)		M.O	mg/kg (ppm)				
			C/N	C.E.					dS/m	Mg		S	B	Zn	Cu	Fe
811	CAMA 1 CON BIOCARTH	8.48	10.1	3.59	3.67	0.46	2.46	2.06	0.59	0.36	64.10	81.3	110.9	25.8	4110.0	204.1

METODOLOGÍA USADA:

PH y CE al 20%
Materia Orgánica por pérdida por calcinación –Método A.O.A.C.

C.E. = Conductividad eléctrica dS/m = decisiems/metro
M.O. = Materia orgánica


RESPONSABLE LABORATORIO


LABORATORISTA

Denmar- Marledian

		ESTACIÓN EXPERIMENTAL SANTA CATALINA DE SUELOS, PLANTAS Y AGUAS Km 1, Panamericana Sur, Apdo. 17-01-340 Telf. Fax 2690694 QUITO – ECUADOR			
		NOMBRE DEL PROPIETARIO: DENNAR		FECHA DE MUESTREO: 14/10/2014	
NOMBRE DEL REMITENTE: SEBASTIÁN ROMOLEROUX		FECHA INGRESO AL LABORATORIO: 15/10/2014			
NOMBRE DE LA GRANJA: MARLEDIAM		FECHA DE SALIDA DE RESULTADOS: 28/10/2014			
LOCALIZACIÓN TABACUNDO PEDRO MONCAYO PICHINCHA					
PARROQUIA CANTÓN PROVINCIA					

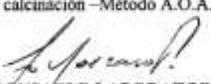
INFORME DE RESULTADOS DE ANÁLISIS DE ABONOS ORGÁNICOS

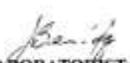
No. Laborat.	Identificación	pH	R		N TOTAL	P	K	Ca	g/100g (%)		M.O	mg/kg (ppm)				
			C/N	C.E.					dS/m	Mg		S	B	Zn	Cu	Fe
813	ENSAYO CON BIOBETH	8.08	8.32	5.71	2.70	0.33	1.60	1.50	0.45	0.30	36.85	79.5	124.3	33.9	7060.0	254.7

METODOLOGÍA USADA:

PH y CE al 20%
Materia Orgánica por pérdida por calcinación –Método A.O.A.C.

C.E. = Conductividad eléctrica dS/m = decisiems/metro
M.O. = Materia orgánica


RESPONSABLE LABORATORIO


LABORATORISTA

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

BIOEARTH PLUS



Vocación
Agroecológica

Código del material: B001
Versión: 1

Última revisión: 17-05-2011
Pág.: 1 de 5

1. Identificación del producto y de la empresa.

Nombre comercial:

BIOEARTH PLUS

Número del material: B001

Uso previsto de la sustancia o del preparado

Ramo industrial: Agrícola

Tipo de aplicación: Biodegradación de residuos orgánicos

Identificación de la sociedad o empresa:

Vocación Agroecológica S.A.

Calle Rio San Pedro E6-31 y Av. Interoceánica

Tumbaco

Teléfono: 593-22046479

Información de la sustancia o el preparado:

Vocación Agroecológica S.A.

Seguridad del producto 593-22046479

Teléfono de emergencia: 593-22046479

Certificado De Registro De Fertilizantes Y Afines

REGISTRO MAG No. 021961964

2. Composición/Información de los componentes

Contiene especies de levaduras, actinomicetos, bacterias mesófilas y termófilos, hongos altamente especializados en el proceso de la biodegradación de residuos orgánicos.

Concentración mínima 1×10^8 UFC/ml

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD



FITOFORTIFICANTES

Código del material: F008
Versión: 1

Última revisión: 25-05-2011

Página 1/6

1. Identificación del producto y de la empresa.

Nombre comercial:

BIO-BEAT

Número del material: 008

Uso previsto de la sustancia o del preparado

Ramo industrial: Industria agrícola

Tipo de aplicación: Fitofortificante, Biorremediador y Desinfectante de suelos con plantas establecidas.

Identificación de la sociedad o empresa:

Vocación Agroecológica S.A.

Calle Río San Pedro 128 y Av. Interoceánica

Tumbaco

Teléfono: 593-2 2046479

Información de la sustancia o el preparado:

Vocación Agroecológica S.A.

Seguridad del producto 593-22046479

Teléfono de emergencia: 593-22046479

2. Composición/Información de los componentes

Características químicas:

Es un Fitofortificante, capaz de inducir en las plantas un desarrollo vigoroso o resistencias frente a patógenos y a condiciones ambientales adversas.

Es un bioremediador y desinfectante de suelos, capaz de promover la mineralización de los suelos y aprovechamiento de los mismos.

Es una mezcla líquida de un oligoelemento quelatado por un ácido natural obtenido mediante acción de la bacteria Acetobacter.

Anexo 5. Ficha técnica- Microriz

TOXICIDAD:

Microriz, pese a que carece de toxicidad intrínseca para humanos y animales, es necesario evitar la ingestión y posible contaminación de alimentos. La ingestión de este producto puede ocasionar trastornos gastrointestinales.

Ojos: No causa irritación.

Piel: No causa irritación o quemaduras.

Inhalación: No causa irritación

EQUIPO DE PROTECCIÓN:

Ventilación: Ninguna.

Caretas de fumigación: Necesaria.

Gautes de protección: Necesaria (Látex).

Gafas de seguridad: Necesaria.

Ropa de protección: Necesaria (overol).

INSTRUCCIONES PARA PRIMEROS AUXILIOS Y CONSEJOS PARA LOS MÉDICOS:

En caso de contaminación accidental:

Por ingestión: preferiblemente inducir al vómito puede ocasionar trastornos gastrointestinales. Realizar tratamiento sintomático.

Por contacto: Quitar la ropa contaminada y lavar las partes expuestas a la piel con bastante agua y jabón.

En caso de contacto con los ojos, lávese con agua durante 15 minutos y realice tratamiento sintomático.

Tratamiento: es sintomático.

MANEJO DE FUGAS O DERRAMES

Colocar solución de hipoclorito de calcio o hipoclorito de sodio al 3% sobre el producto derramado y dejar actuar durante 30 minutos. Lavar con abundante agua.



VOCACIÓN
AgroEcológica

Microriz

AVISO AL COMPRADOR:

El fabricante garantiza la composición y calidad del producto. No se responsabiliza por el uso imprudente, excesivo o indebido por parte del consumidor.

CATEGORÍA TOXICOLÓGICA:

IV (Franja verde)

PRESENTACIONES DISPONIBLES Y EMBALAJE:

Envase	Unidades	Material
1 litro	24	Envases de plástico
4 litros	6	Envases de plástico
20 litros	1	Envase de plástico

CERTIFICADO DE REGISTRO DE FERTILIZANTES Y AFINES:

Registro MAG N° 021961962

FORMULACIÓN Y COMERCIALIZACIÓN:

VOCACIÓN AGROECOLÓGICA Cía. Ltda.
Quito-Ecuador
Teléfono: (096) 975 49 47
www.vocagro.com






Anexo 6. Registro de temperatura y humedad durante el procesos de compostaje

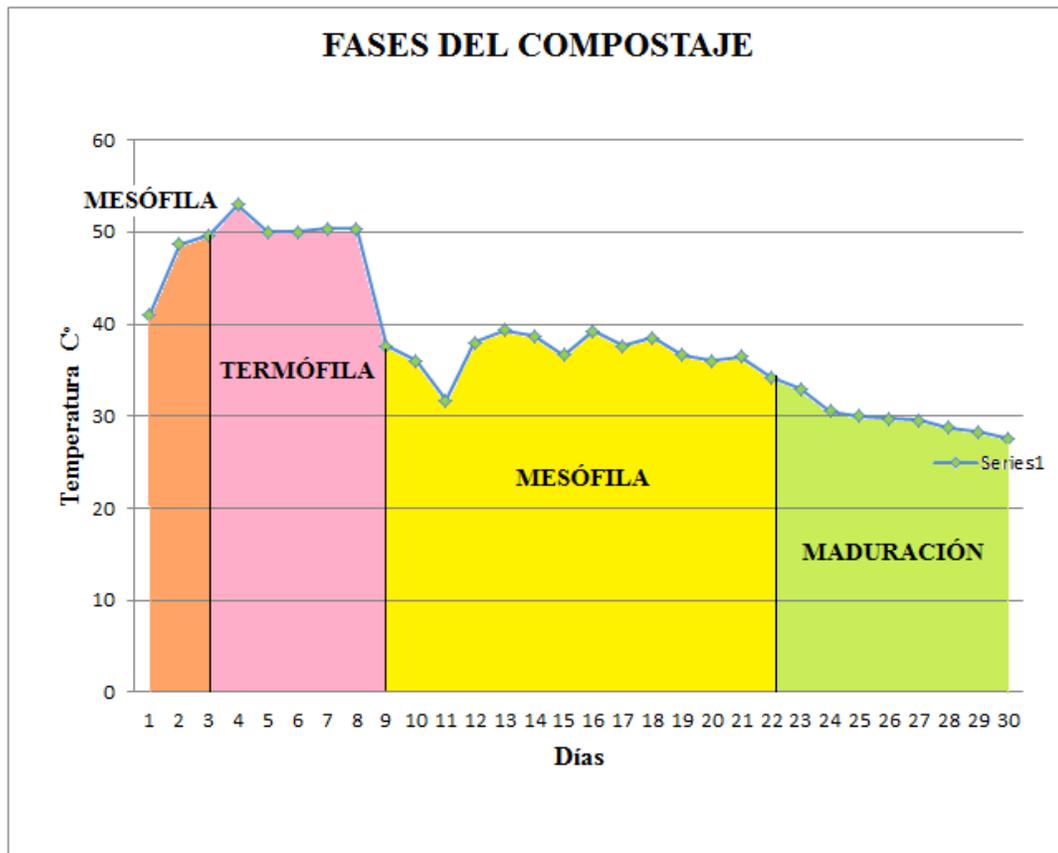
Registro diario de temperatura del compost

Días	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Temperatura C°	41	48,7	49,7	53	50	50	50,3	50,3	37,7	36	31,7	38	39,3	38,7	36,7

Elaborado por: Fuertes y Jarrín, 2014

Días	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Temperatura C°	39,2	37,7	38,5	37	36	37	34,2	33,0	30,5	30,0	29,7	30	28,7	28,3	27,6

Elaborado por: Fuertes y Jarrín, 2014



Elaborado por: Fuertes y Jarrín, 2014

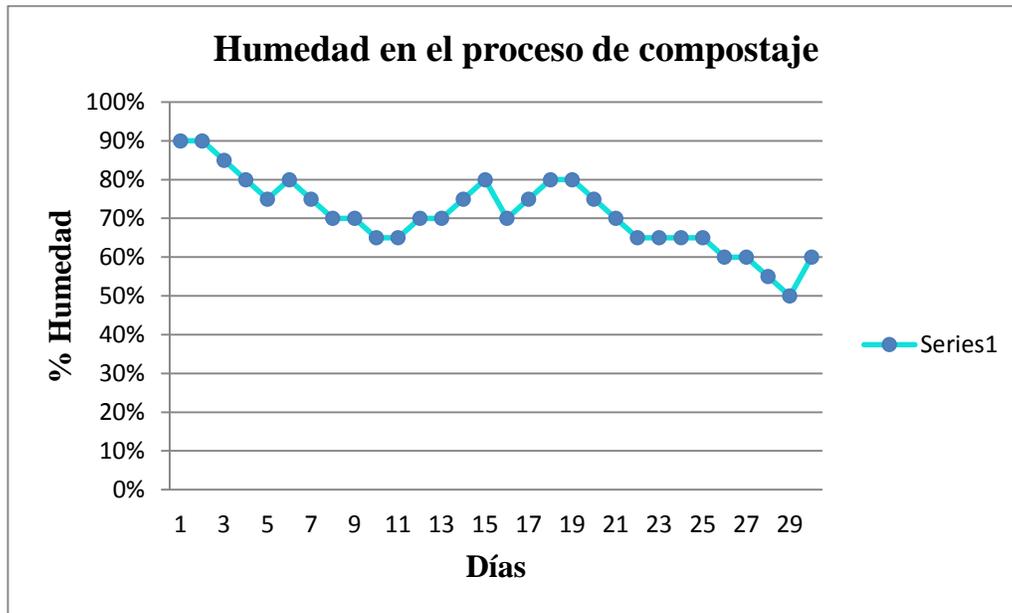
Registro diario de humedad del compost

Días	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Humedad	90%	90%	85%	80%	75%	80%	75%	70%	70%	65%	65%	70%	70%	75%	80%

Elaborado por: Fuertes y Jarrín, 2014

Días	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Humedad	70%	75%	80%	80%	75%	70%	65%	65%	65%	65%	60%	60%	55%	50%	60%

Elaborado por: Fuertes y Jarrín, 2014



Elaborado por: Fuertes y Jarrín, 2014

Anexo 7. Composición de medios de cultivo

A. Medio de cultivo para el aislamiento de bacterias por diluciones

Medio de Cultivo	Composición
TSA+ Acronistina	15g/L Agar, 5g/L Cloruro sódico, 5g/L Digerido papaínico de soja, 15g/L Digerido pancreático de caseína con pH = 7.3. MERK. Se adicionó 1ml Acronistina para inhibir el crecimiento de hongos
Agar estándar enriquecido.	15 g/L Agar, 5 g/L Peptona de caseína, 2.5 g/L Extracto de levadura, 1 g/L Glucosa con pH= 7.0. CRITERION. Se adicionó al medio 50 g de suelo obtenido de la finca, con el objetivo de propiciar un ambiente natural a las bacterias.

Elaborado por: Fuertes y Jarrín, 2014

B. Medio de cultivo para el aislamiento de cultivos puros

Medio de Cultivo	Composición
BHI (Brain Heart Infusion Agar)	15g/L Agar, 2.5g/L Fosfato de sodio, 5g/L Cloruro de sodio, 2g/L Dextrosa, 10g/L Peptona proteosa, 250g/L Infusión corazón de res, 200g/L Infusión cerebro de becerro con pH= 7.4 (HIMEDIA).
Agar Sangre	15g/L Agar, 5g/L Cloruro de sodio, 10g/L Peptona, 375g/L Infusión de músculo de corazón con pH= 7.3 (BRITANIA).

Elaborado por: Fuertes y Jarrín , 2014.

C. Medio minimal sólido y líquido para el aislamiento de bacterias solubilizadoras de fosfatos.

Medio de Cultivo	Composición
Pikovskaya (sólido)	4g/L Glucosa, 2.5g/L Fosfato de sodio, 0.001g/L Cloruro de sodio, 2.5 mg/L Sulfato de magnesio, 2.5 mg/L Sulfato de zinc, 2 g/L Extracto de levadura, 15 g/L Agar, 6 ml Azul bromofenol con pH= 7.0 (HIMEDIA).
Pikovskaya (líquido)	4g/L Glucosa, 2.5g/L Fosfato de sodio, 0.001g/L Cloruro de sodio, 2.5 mg/L Sulfato de magnesio, 2.5 mg/L Sulfato de zinc, 2 g/L Extracto de levadura, 6 ml Azul bromofenol con pH= 7.0 (HIMEDIA).

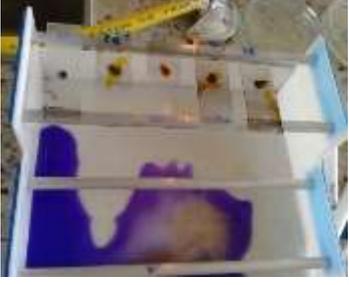
Elaborado por: Fuertes y Jarrín, 2014.

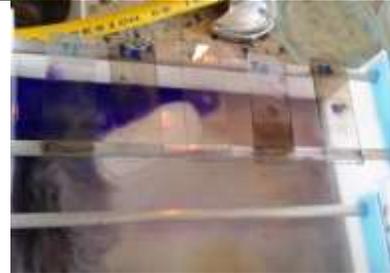
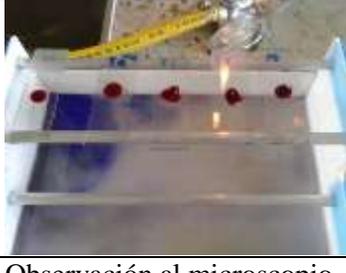
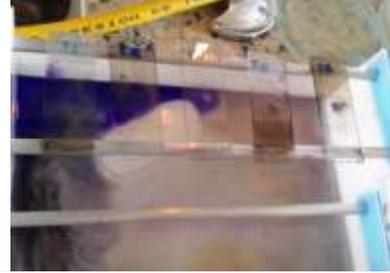


Funete: Fuertes y Jarrín, 2014.

Anexo 8. Metodología

A. Tinción Gram

Reactivos	Toma de muestra con asa	Dilución de bacterias en una gota de agua sobre el porta objetos
		
Bacterias fijadas en porta objetos	Una gota de cristal violeta (30 segundos)	Lavado con agua
		
Fijación de color	Una gota de lugol (30 segundos)	Lavado con agua
		

Fijación de color	Una gota de alcohol cetona (15 segundos)	Lavado con agua
		
Fijación de reactivo	Una gota de safranina (30 segundos)	Lavado con agua
		
Fijación de color	Observación al microscopio	Bacterias Gram negativas
		

Funete: Fuertes y Jarrín, 2014.

B. Inoculación en medio líquido

<p>Cepas JF1-JF6</p> 	<p>Toma de cepas</p> 	<p>Inoculación de cepas en medio PVK líquido</p> 
<p>Cella con papel aluminio y parafilm</p> 	<p>Cepas inoculadas en medio líquido</p> 	<p>Incubación de cepas en medio líquido</p> 

Funete: Fuertes y Jarrín, 2014.

C. Preparación de muestras para espectroscopia UV

<p>Se toma 5ml de cada muestra</p>	<p>Centrífuga</p>	<p>Pelet</p>
		

Funete: Fuertes y Jarrín, 2014.

D. Espectroscopía de absorción atómica

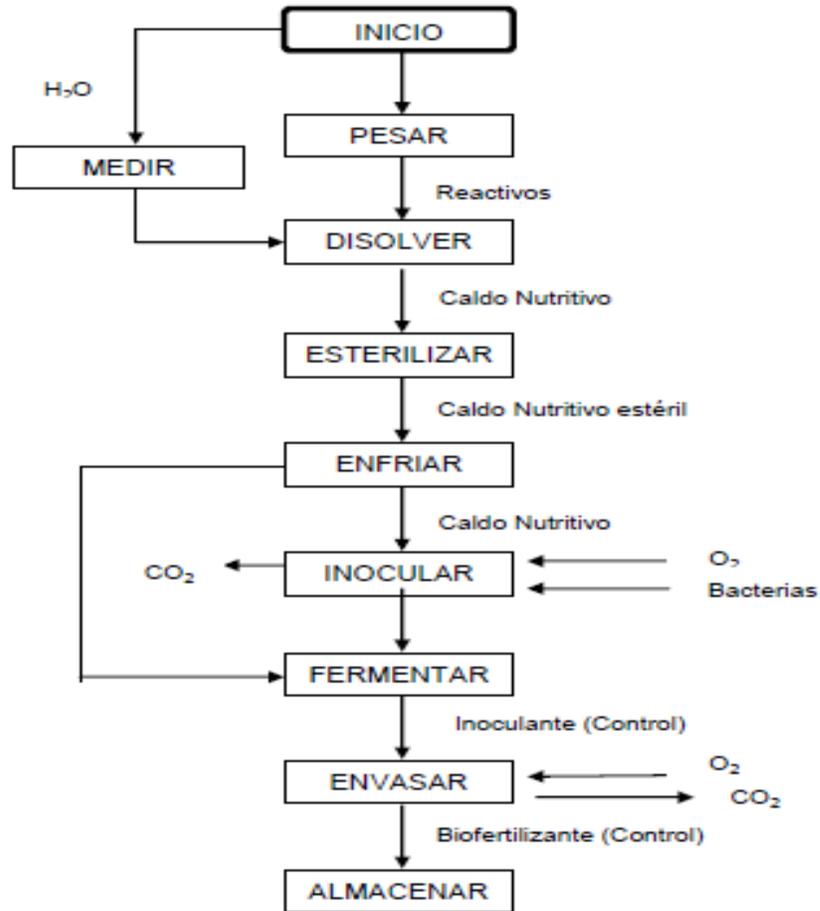
Celdas de cuarzo	Desinfección de celadas
	
Toma de muestra	Corrida en el espectrofotómetro
	

Funete: Fuertes y Jarrín, 2014.

E. Ecuación de la línea:

$$Y_{abs} = 1.218 \times 10^{-9} \cdot X_{ufc/ml} + 0.094_{abs}$$

F. Diagrama de flujo de proceso de producción del biofertilizante



Fuente: (Vasco- Paguay, 2013)

Anexo 9. Reportes de identificación de pruebas API



Funete: Fuertes y Jarrín, 2014.

GN-ID A PANEL															
REPORT FORM															
Lab. No. JF1		Specimen Type:													
		Date: 18 / Dic / 2104													
				GN A wells											
Well Number				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Reaction	Oxidase	Motility	Nitrate	Lysine	Ornithine	H ₂ S	Glucose	Mannitol	Xylose	ONPG	Indole	Urease	V.P.	Citrate	TDA
	Result				-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-
Reaction Index	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1
Sum of Positive Reactions				0			7			6			4		
Final Identification: 99.24% <i>Enterobacter agglomerans</i>															

Elaborado por: Fuertes y Jarrín, 2014.

GN-ID A PANEL															
REPORT FORM															
Lab. No. JF2			Specimen Type:												
			Date: 18 / Dic / 2104												
				GN A wells											
Well Number				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Reaction	Oxidase	Motility	Nitrate	Lysine	Ornithine	H2S	Glucose	Mannitol	Xylose	ONPG	Indole	Urease	V.P.	Citrate	TDA
	Result				+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
Reaction Index	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1
Sum of Positive Reactions				4			7			7			4		
Final Identification: 99.92% <i>Klebsiella oxytoca</i>															

Elaborado por: Fuertes y Jarrín, 2014.

GN-ID A PANEL															
REPORT FORM															
Lab. No. JF3			Specimen Type:												
			Date: 18 / Dic / 2104												
				GN A wells											
Well Number				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Reaction	Oxidase	Motility	Nitrate	Lysine	Ornithine	H2S	Glucose	Mannitol	Xylose	ONPG	Indole	Urease	V.P.	Citrate	TDA
	Result				-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-
Reaction Index	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1
Sum of Positive Reactions				0			7			5			4		
Final Identification: 96.94% <i>Enterobacter agglomerans</i>															

Elaborado por: Fuertes y Jarrín, 2014.

GN-ID A PANEL															
REPORT FORM															
Lab. No. JF5		Specimen Type:													
		Date: 18 / Dic / 2104													
				GN A wells											
Well Number				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Reaction	Oxidase	Motility	Nitrate	Lysine	Ornithine	H2S	Glucose	Mannitol	Xylose	ONPG	Indole	Urease	V.P.	Citrate	TDA
	Result				+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-
Reaction Index	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1
Sum of Positive Reactions				6			0			6			4		
Final Identification: 50.91% <i>Serratia marcescens</i>															

Elaborado por: Fuertes y Jarrín, 2014.

GN-ID A PANEL															
REPORT FORM															
Lab. No. JF6		Specimen Type:													
		Date: 18 / Dic / 2104													
				GN A wells											
Well Number				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Reaction	Oxidase	Motility	Nitrate	Lysine	Ornithine	H2S	Glucose	Mannitol	Xylose	ONPG	Indole	Urease	V.P.	Citrate	TDA
	Result				+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-
Reaction Index	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1
Sum of Positive Reactions				6			0			6			4		
Final Identification: 50.91% <i>Serratia marcescens</i>															

Elaborado por: Fuertes y Jarrín, 2014.

GN-ID A PANEL																
REPORT FORM																
Lab. No. JF4		Specimen Type:														
		Date: 18 / Dic / 2104														
GN A wells																
Well Number				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Reaction		Oxidase	Motility	Nitrate	Lysine	Ornithine	H ₂ S	Glucose	Mannitol	Xylose	ONPG	Indole	Urease	V.P.	Citrate	TDA
Result					-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-
Reaction Index		4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1
Sum of Positive Reactions					0			5			6			4		
Final Identification: 79.17% <i>Enterobacter agglomerans</i>																

Elaborado por: Fuertes y Jarrín, 2014.

Microgen Identification System Software (MID-60)

Identification						Specimen		
Test system	Octal code	Identificaction	Likelihood	Probability	Percent probability	Date	Lab. Ref	Name
MID 12T	0764	E. agglomerans	25%	1/27	99,24%	18/12/2014	Biología	JF1
MID 12T	4774	K. oxytoca	5,26%	1/24	99,92%	18/12/2014	Biología	JF2
MID 12T	0754	E. agglomerans	25%	1/27	96,94%	18/12/2014	Biología	JF3
MID 12T	0564	E. agglomerans	0,03%	1/26.775	79,17%	18/12/2014	Biología	JF4
MID 12T	6064	S. marcescens	<0,01	<1/100	50,91%	18/12/2014	Biología	JF5
MID 12T	6064	S. marcescens	<0,01	<1/100	50,91%	18/12/2014	Biología	JF6

Fuente: Software (MID-60).