

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Evaluación de Prototipos de Biofertilizantes Solubilizadores de Fósforo a Base de Bacterias en el Cultivo de Calabacita Larga (*Cucurbita pepo* L.)

Por:

SAMUEL CRUZ GONZÁLEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México
Noviembre, 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Evaluación de Prototipos de Biofertilizantes Solubilizadores de Fósforo a Base de Bacterias en el Cultivo de Calabacita Larga (*Cucúrbita pepo* L.)

Por:

SAMUEL CRUZ GONZÁLEZ

TESIS

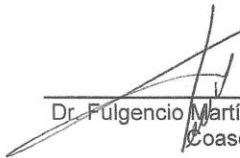
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

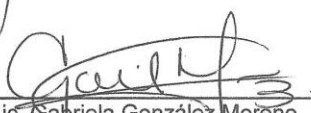
Aprobada por el Comité de Asesoría



Ing. Gustavo Alfonso Burciaga Vera
Asesor Principal



Dr. Fulgencio Martín Tucuch Cauich
Coasesor



Lic. Gabriela González Moreno
Coasesor



Dr. Gabriel Ballegos Morales
Coordinador de la División de Agronomía

Coordinación
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Noviembre, 2015

DEDICATORIAS

A mis padres: Porfiria González Chávez Miguel Cruz Hernández

Por darme la vida y ser la gran inspiración de mí existir, ser un ejemplo a seguir y darme una educación que no se encuentra en las aulas, por ustedes aprendí a valorar la vida y todo lo que la rodea, respetar, valorar y conservar una amistad, pareja o persona valiosa. Gracias por todo el amor que me han dado por sus consejos y por haber hecho de mí una persona honesta, respetuosa, jamás podré pagarles todo lo que han hecho y sé que harían por mí, pero esta tesis es una muestra de lo que puedo lograr con el apoyo de las mejores personas que pude tener en la vida, esto es el principio de muchas satisfacciones que podré darles en la vida gracias mamá, gracias papá los amo con todo mi ser.

A mí esposa: Liliana López Alfaro

Por todo el apoyo, amistad, confianza, amor incondicional que me has brindado desde que estas a mi lado. Gracias por darme la dicha de ser padre de un hermoso niño y de todos esos grandes momentos que llenos de felicidad que compartes con migo, gracias por formar parte de mi vida y de mi familia en donde tú y nuestro bebe son mi fuerza para seguir adelante.

A mi hijo: Moisés Eliam Cruz López

Gracias por regalarme días llenos de felicidad con esas sonrisas y abrazos que a diario recibo de ti mi pequeño bebe, porque tú eres mi razón para seguir adelante día con día te amo con todo mi ser.

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro** por permitirme formarme como profesionalista, enseñarme el valor que tiene la agronomía para la humanidad, así como la responsabilidad que se asume al llegar a ser ingeniero.

A la empresa Green Corp., por permitirme participar en uno de sus trabajos de experimentación para realizar el presente trabajo.

Al Ing. Gustavo Alfonso Burciaga Vera por su cooperación, comprensión a lo largo del trabajo, también por la amistad que me brindo a lo largo de la carrera.

Al Dr. Fulgencio Martin Tocuch Cauich por el apoyo, la confianza y amistad que me brindo para realizar el trabajo de experimentación.

A la Lic. Gabriela González Moreno por apoyo y amistad que me brindado durante todo el tiempo que llevamos de conocernos.

Al Ing. José Ángel Daniel González por brindarme su apoyo, su amistad y sus consejos desde mí llegada a la universidad.

A Gilberto Abdón por brindarme su amistad y ser como un hermano para mí durante toda la carrera.

A Abraham Díaz y familia por su amistad que me han brindado.

A Eustrain Roblero, Larisa Alelí y Ángel Macín por ser más que mis amigos y apoyo que me han brindado.

A mis profesores y compañeros que compartieron sus conocimientos y por lo tanto contribuyeron a mi formación, gracias.

INDICE

DEDICATORIAS	V
AGRADECIMIENTOS	VI
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	2
La importancia fósforo como nutriente en las plantas	2
La solubilidad de los fosfatos.....	3
Microorganismos solubilizadores de fosfato.	4
MATERIALES Y MÉTODOS	10
Descripción del área de estudio.....	10
Descripción de prototipos.....	10
Descripción del material genético	10
Material experimental y procedimientos	11
Fuentes de fósforo a utilizar en el experimento fueron:	12
Prototipos	13
Cálculo de dosis de aplicación de fertilizantes.	13
Dosis de prototipo	13
Cronología.....	15
Mezcla del sustrato:	15
Germinación de la semilla para obtener la plántula:	15
Incorporación de los fertilizantes solidos a las macetas:	16
Trasplante del cultivo a las macetas:.....	16
Aclareo del cultivo:	17
Incorporación del fertilizante líquido a las macetas.....	18
Aplicación de tratamientos:	18
Control fitosanitarios:	19
Mediciones en la plantas (variables evaluadas).....	19

Rendimiento:	19
Longitud de raíz:.....	20
Peso seco de la raíz:.....	21
Peso seco de la planta:.....	21
Análisis de varianza de un diseño bloques al azar con arreglo factorial con 4 factores	21
Análisis estadístico:.....	22
Análisis de varianza de un diseño bloques al azar con arreglo factorial con 3 factores.....	26
Análisis estadístico:.....	27
DISCUSIÓN Y RESULTADOS.....	29
CONCLUSIONES	36
RECOMENDACIONES	37
BIBLIOGRAFÍA	38

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Descripción de tratamientos en un diseño factorial.....	12
Cuadro 2. Indicativo de la estructura del análisis factorial de 4 factores.....	23
Cuadro 3. Indicativo de la estructura del análisis factorial de 3 factores.....	27
Cuadro 4. Análisis de varianza de un diseño bloques al azar con arreglo factorial con 4 factores en la variable de rendimiento.	29
Cuadro 5. Cuadrados medios y su significancia de las variables longitud de raíz, peso seco de raíz y peso seco de planta de un diseño bloques al azar con un arreglo factorial con 3 factores.....	30
Cuadro 6. Concentración de medias de los factores prototipos, fertilizantes, dosis y cortes de la variable rendimiento.....	32
Cuadro 7. Concentración de medias del factor prototipos de las variables longitud de raíz, peso seco de raíz y peso seco de planta.	33
Cuadro 8. Concentración de medias del factor fertilizantes de las variables longitud de raíz, peso seco de raíz y peso seco de planta	33
Cuadro 9. Concentración de medias del factor dosis de las variables longitud de raíz, peso seco de raíz y peso seco de planta.	34

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Macetas con sustrato para establecimiento de cultivo.....	15
Figura 2. Charola con plántula de calabacita larga.	16
Figura 3. Incorporación de fertilizantes fosforados a las macetas.....	16
Figura 4. Trasplante de plántula a las macetas.....	17
Figura 5. Aclareo del cultivo de calabacita larga	17
Figura 6. Aplicación de fertilizante líquido a los tratamientos correspondientes.	18
Figura 7. Aplicación de los prototipos al cultivo de calabaza larga.....	19
Figura 8. Producto utilizado como preventivo de plagas y enfermedades durante el cultivo.....	18
Figura 9. Frutos de la calabaza larga	20
Figura 10. Longitud de raíz de la calabaza larga.	21

Correo electronico; Samuel Cruz Gonzalez, samuelcruz1911@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

La agricultura siempre ha estado relacionada con la sociedad, ya que ha sido la innovación humana que satisface diversas necesidades, principalmente las alimenticias. Sin embargo, el incremento de la población mundial en los últimos años viene exigiendo un constante reto a la agricultura para proporcionar un mayor número de alimentos, tanto en cantidad como en calidad.

El uso de los fertilizantes en la agricultura ha sido un complemento importante para la producción de diversos productos, ya que la producción incrementa de manera significativa, sin embargo hay que tener en cuenta que la aplicación en exceso o continua de los fertilizantes químicos acidifica los suelos, favorece la erosión y afecta los organismos (flora y fauna), alterando las propiedades químico-físicas de los componentes del suelo, lo cual si en un principio es benéfico, en un periodo posterior termina siendo contraproducente.

Actualmente se sabe que es más recomendable el uso de biofertilizantes que están compuestos de microorganismos, que ayuda a la captación de nutrientes, así como la formación de compuestos que se enfocan hacia una nutrición mejor de la planta; lo favorable de los biofertilizantes es mejor la absorción de nutrientes y que permita un desarrollo radicular mejor, así podemos decir que nuestra planta explota mayor cantidad de superficie y puede tener mayor cantidad de nutrientes.

En este contexto las investigaciones por parte de las empresas como Green Corp., en las que involucra la evaluación de prototipos de biofertilizantes a base de microorganismos para uso comercial han cobrado gran importancia en la agricultura. Por lo que en el presente trabajo se consideró la evaluación de dos prototipos de biofertilizantes solubilizadores fósforo a base de bacterias con acción demostrada in vitro en uno de los laboratorios de la empresa en el año 2014 en Saltillo, Coahuila. Con el propósito de obtener biofertilizantes que permitan a los cultivos mayor aprovechamiento de nutrientes e incrementar su producción así mismo mejorar, la calidad del suelo.

Palabras clave: Bacterias solubilizadoras, prototipos, biofertilizantes, fósforo.

ANTECEDENTES

La importancia fósforo como nutriente en las plantas.

Elías Afif Khouri, en el 2005, menciona que el fósforo es un componente esencial de los vegetales, cuya riqueza media en forma de P_2O_5 es del orden del 0.5 al 1 % de la materia seca. Se encuentra en parte en estado mineral, pero principalmente formando complejos orgánicos fosforados con lípidos, proteínas, carbohidratos, ácidos nucleicos y otros compuestos como la fitina (hexafosfato de inositol, una forma de almacenamiento de fósforo en las semillas). Juega un papel vital en todos los procesos que requieren transferencia de energía en la planta. Ya que los fosfatos de alta energía, encontrados en el adenosin difosfato (ADP) y en el adenosin trifosfato (ATP), son la fuente de energía que empuja una multitud de reacciones químicas dentro de la planta. Donde la transferencia de los fosfatos entre estos compuestos a otras moléculas (fosforilación) es el factor desencadenante de una gran cantidad de procesos celulares en las plantas.

En la naturaleza, el fósforo forma parte de las rocas y los minerales del suelo. Sin embargo, las plantas absorben únicamente el fósforo que está en la solución del suelo en forma de HPO_4^{-2} (ión fosfato monoácido) y $H_2PO_4^{-1}$ (ión fosfato diácido). Por lo que cualquier fertilizante, ya sea de origen orgánico o mineral, debe transformarse primero en esas formas químicas antes de ser utilizado por el cultivo. Los fertilizantes minerales son compuestos inorgánicos de fósforo que se extraen de los grandes yacimientos de "roca fosfórica". Estos compuestos minerales, son tratados para hacerlos más solubles para que así, sean disponibles para las plantas y puedan ser utilizados por estas en la formación de tejidos y órganos vegetales.

Guerrero (1990), afirma que el fósforo forma parte los compuestos fertilizantes más importantes para el agricultor, ya que el fósforo es considerado como un factor de crecimiento, al igual que el nitrógeno,

sobre todo durante la primera fase del desarrollo de la planta, particularmente el radicular. Además aumenta la resistencia de la planta al frío y a las enfermedades. En términos generales, puede decirse que es un elemento regulador de la vegetación y por tanto, un factor de calidad, al favorecer los periodos de vegetación que son críticos para el rendimiento del cultivo: fecundación, maduración y movimiento de las reservas.

Alexander, M. en 1987 dice que las carencias de fósforo en las plantas se ponen de manifiesto por un follaje de color verde oscuro, casi azulado, acompañado por el amarillamiento y secado de la punta de las hojas y una ondulación característica, mostrando, a veces, manchas púrpuras.

La solubilidad de los fosfatos.

Teuscher en 1965 dijo que principal razón por la cual el fósforo elemental (P) no se encuentra en estado libre en la naturaleza es debido a su facilidad de oxidación. Es muy abundante en la corteza terrestre, sin embargo, sólo una pequeña proporción está disponible para las plantas, por lo que debe ser suministrado por medio de fertilizantes.

El principal inconveniente del empleo de los fertilizantes minerales es que gran parte del fósforo suministrado tiende a acumularse en el suelo en forma de compuestos insolubles. En la materia orgánica se halla contenido en varios compuestos orgánicos complejos (lecitina, ácidos nucleicos, fitina, etc.) los cuales son atacados y descompuestos por las bacterias y hongos del suelo por medio de enzimas como la "fitasa", liberándose el fósforo en forma de fosfatos o de ácido fosfórico.

La solubilidad de estos fosfatos está bajo el control de varios factores. Uno de ellos es la cantidad total de fosfato en fase sólida que existe en el suelo. Cuanto mayor es la cantidad total presente en el suelo, mayor es la posibilidad de que este último tenga más fósforo en solución. Otro factor importante es el nivel de contacto que existe entre el fosfato en fase sólida y la solución del suelo. La mayor exposición del fosfato a la solución del suelo y

a las raíces de las plantas, aumenta la capacidad para que exista una reserva adecuada.

Sin embargo, el factor decisivo para el aprovechamiento de los fosfatos en el suelo, es sin duda el valor del pH, puesto que de él depende la existencia de diferentes fosfatos. El fosfato dicbásico, que es uno de los más fácilmente aprovechables, existe solo entre pH 6 a 7. Por debajo de pH 6 aumenta la solubilidad de los compuestos de hierro y aluminio, formándose fosfatos de hierro y aluminio insolubles. Por encima de pH 7.5 se forman fosfatos tricálcicos que son prácticamente insolubles.

Microorganismos solubilizadores de fosfato.

(Drouillon y Merckx, 2003; Begonia 2004; Johson y Loeppert., 2006 y Onthong 2007). Afirman que existen microorganismos que solubilizan el fósforo mediante procesos de producción de ácidos orgánicos, fosfatasas, quelatación y reacciones de intercambio.

Mkanová, 2002; Chen, e Ivanova, 2006, han reportado la capacidad que tienen diferentes especies bacterianas para solubilizar compuestos fosfatados inorgánicos como el fosfato tricálcico, fosfato dicálcico, hidroxiapatita y roca fosfórica. Las principales bacterias que se han estudiado son especies de los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Rhizobium* y *Burkholdelia*. Estas bacterias se caracterizan por presentar producción de ácidos orgánicos que ayudan a la solubilización de los minerales de fósforo, la producción de polisacáridos extracelulares y la producción de enzimas como la fosfatasa alcalina.

Vásquez en el 2000 de igual forma reporto otros microorganismos solubilizadores de fosfato como: *Bacillus licheniformis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. Atrophaceus*, *Paenibacillus macerans*, *Vibrio proteolyticus*, *Xanthobacter agilis*, *Enterobacteraerogenes*, *E. taylorae*, *E. asburiae*, *Kluverya cryocrescens*, *Pseudomonas stutzeri* entre otros.

En Colombia también se han realizado diversos estudios sobre el aislamiento y evaluación de este tipo de microorganismos. Sobre bacterias ya existen datos que demuestran el gran potencial de éstas con respecto a la solubilización de fosfatos. En donde Useche *en el* 2004, investigó en suelos ácidos amazónicos de bosques poco intervenidos, en rastrojos y pastizales la presencia de hongos y bacterias fosfato solubilizadores, en estos trabajos los investigadores realizaron un gran aporte en cuanto a la identificación de nuevas especies de bacterias solubilizadoras de fósforo en Colombia tales como *Pseudomonas spp.*, *P.cepacia*, *P.gladioli*, *Xanthomonas spp.*, *X. maltophilia*, *Enterobacter agglomerans*, *Chromobacterium sp.*, *X. maltophilia*, *Chromobacterium sp.* y *P. gladioli*.

Kloepper JW y Schroth MN en 1978. Comprueban que existen bacterias que se ha denominado promotoras del crecimiento vegetal rizobacterias, y entre ellos se encuentran las cepas de géneros tales como *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Rhizobium*, *Erwinia*, *Serratia*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter* y *Flavobacterium*.

Kloepper en 1989, con base a sus estudios realizados anteriormente determina bacterias que solubilizan fósforo, donde se encuentran los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Achromobacter*, *Micrococcus* y *Aerobacter*, las que además pueden producir otros metabolitos como fitohormonas, cianidas, fijar nitrógeno, y/o metabolitos tóxicos para promover el crecimiento, inducir defensas o inhibir patógenos. Algunos exhiben una estrecha especificidad mientras que otros pueden tener un amplio espectro de huéspedes.

Bonilla en 2005, menciona que los géneros bacterianos más estudiados por su capacidad de solubilizar fosfatos se encuentran *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Aerobacter*, *Flavobacterium*, *Azotobacter* y *Erwinia*, observando una cantidad considerablemente mayor en la rizosfera, en comparación con el suelo norizosférico.

Whitelaw en el 2000, Vassilev y Vassileva en el 2003 en su investigación de la introducción directa de microorganismos RPO solubilizantes confirma normalmente la actividad microbiana demostrado en estudios de fermentación. La reducción a corto plazo de la rizosfera pH debido a la producción de ácido orgánico y posterior complejación de cationes como resultado la liberación de fosfato soluble, que a su vez aumenta su accesibilidad a la planta. Los microorganismos solubilizantes tal como Pseudomonas, Bacillus, Rhizobium, Burkholderia, Enterobacter, Achromobacter, Agrobacterium, Micrococcus, Aerobacter, Erwinia, Aspergillus, Penicillium, y algunas levaduras son comunes en la rizosfera.

Rodríguez y Fraga en 1999 confirma algunas cepas de bacterias solubilizadoras tales como Aspergillus, Penicillium, Bacillus, Pseudomonas, Enterobacter.

Cantú Soto Silverio et al 2012 En su tesis logró demostrar que las bacterias que presentaron una actividad solubilizadora de fósforo in vitro pueden ayudar a la asimilación de fósforo en suelos alcalinos, mostrando un efecto positivo en las plantas de tomate en las cuales fue aplicado el consorcio bacteriano.

En pruebas previas de laboratorio en condiciones in vitro se lograron identificar bacterias como: Moraxella, Pseudomona, P. aeruginosa, Pantoea, Enterobacter, Bacillus y algunas bacterias no patógenas con diversas claves CBLA y CBNG. En el estudio realizado bajo condiciones de invernadero el ensayo 2 muestra una mejoría en comparación del ensayo 1. Las bacterias que representaron CBLA135 fue la que obtuvo un resultado mayor en la altura de la planta.

Las bacterias con clave CBLA 208 mostraron un efecto significativo en el peso seco de la raíz. En el peso seco del área foliar las bacterias con clave CBLA191, 194, 199, 200 (Bacterias no patógenas aun no identificadas) fueron las mejores y en el fósforo asimilado las bacterias con clave CBLA-66 arrojaron resultados positivos, aun así se hace notar que las bacterias con clave CBLA 191, 194, 199 y 200 se encuentran en las variables evaluadas de altura de la

planta, peso seco de la raíz y peso seco del área foliar formando parte de las mejores bacterias de este estudio.

Comparando con el control de roca fosfórica el tratamiento 5 se considera como un antagónico para el buen rendimiento en cada variable de la planta de tomate ya que se mostraron plantas pequeñas. Las bacterias que representan a este tratamiento son *Pseudomona aeruginosa* y *Enterobacter*.

El presente trabajo se realizó por invitación en la empresa Green Corp., en este trabajo experimental se buscó determinar el comportamiento de los biofertilizantes a base de bacterias solubilizadoras de fósforo.

Comúnmente conocida como calabacita larga, a la aplicación de biofertilizantes a base de bacterias con potencial de solubilización de fosforo previamente analizado in vitro. Para ello se estableció el cultivo de calabacita larga a la que se le hicieron aplicaciones de dos diseños de biofertilizantes de bacterias solubilizadoras de fosforo con el fin de ser evaluados y así determinar si los prototipos muestran resultados positivos, para que la empresa pueda sacarlos al mercado.

H1) Con la aplicación de los biofertilizantes a base de bacterias solubilizadoras de fosforo en el cultivo de calabacita larga presentara mejores características agronómicas.

- Al menos uno de los biofertilizantes a base de bacterias solubilizadoras de fosforo muestre mejores características agronómicas en el cultivo de calabacita larga en diferentes dosis con alguno de los tres fertilizantes fosforados.
- Los dos biofertilizantes a base de bacterias solubilizadoras de fosforo muestre mejores características agronómicas en el cultivo de calabacita larga en diferentes dosis con alguno de los tres fertilizantes fosforados.
- Al menos uno de los tres fertilizantes fosforados muestre respuestas positivas con la aplicación de diferentes dosis de biofertilizantes a base de bacterias solubilizadoras de fosforo en el cultivo de calabacita larga.

- Los tres fertilizantes fosforados muestran respuestas positivas con la aplicación de diferentes dosis biofertilizantes a base de bacterias solubilizadoras de fósforo en el cultivo de calabacita larga.
- Al menos una dosis de biofertilizantes a base de bacterias solubilizadoras de fósforo muestre efectos positivos con algún fertilizante fosforado en las características agronómicas de la calabacita larga.
- Las tres dosis de biofertilizantes a base de bacterias solubilizadoras de fósforo muestre efectos positivos con algún fertilizante fosforado en las características agronómicas de la calabacita larga.

Los objetivos específicos de esta investigación son:

- a) Determinar cuál de los dos prototipos de biofertilizantes a base de bacterias solubilizadoras de fósforo tiene mayor interacción con alguno de los tres fertilizantes utilizados en relación con las dosis aplicadas.
- b) Determinar la efectividad biológica de los biofertilizantes a base de bacterias solubilizadoras de fósforo en cultivo de calabacita larga (*Cucúrbita pepo L.*).

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del área de estudio

La evaluación de los prototipos se llevó a cabo en los invernaderos de la empresa Green Corp., ubicados en Saltillo, Coahuila durante el año 2014.

La clasificación climática así como la ubicación geográfica donde se evaluaron los biofertilizantes a base de bacterias solubilizadoras de fósforo son los siguientes:

Saltillo, Coahuila se encuentra localizado a 25°25'60.00" latitud Norte y a 101° 0'0.00" longitud Oeste. Con una altitud de 1700 msnm. Presentando una temperatura media anual de 18 a 22 °C y una precipitación anual de 400 mm (INEGI, 2014).

La evaluación se realizó en un invernadero de aproximadamente 10 metros de largo y 3 metros de ancho con una cubierta de polietileno color blanco, con paredes de ventilación en sus laterales y sistema de riego por goteo.

Descripción de prototipos

Llamaremos prototipos a las mezclas de bacterias con potencial solubilizante que proporcione la empresa Green Corp., para los propósitos de este estudio.

La presente evaluación abarco 2 prototipos de biofertilizantes derivados de bacterias solubilizadoras de fosforo con acción demostrada in vitro.

Descripción del material genético

El material vegetal utilizado en este experimento fue semilla de calabaza larga (*Cucúrbita pepo L.*), de la empresa Rancho los Molinos la cual fue adquirida en un centro de distribución de la compañía Arysta LifeScience.

Material experimental y procedimientos

Las semillas se germinaron en charolas para este propósito de 200 cavidades colocando una semilla por cavidad, utilizando un sustrato de peat moss y perlita en una proporción de 70 y 30 % respectivamente, se realizaban riegos cada tercer día posteriormente cuando la plántula tubo aproximadamente una longitud de 7 cm de altura y 3 mm de diámetro de tallo se trasplantaron en macetas de 9 litros de volumen en donde el sustrato utilizado fue tierra mezclada homogéneamente obtenida de una de las parcelas de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, las fuentes de fosforo que se utilizaron para probar los prototipos fueron: (MAP, Superfosfato simple, 08-24).

Las plántulas de calabaza, fueron trasplantadas en pares en cada una de las macetas obteniendo un total de 72 macetas con un volumen de 9 litros con la mezcla de sustrato arriba mencionada , se aplicó una dosis de fertilización al 100% de 3 fuentes diferentes de fosforo (según recomendaciones) en dosis de 120 unidades de fosforo por hectárea y posteriormente se inocularon con los biofertilizantes a base de bacterias solubilizadoras de fósforo en dosis de 2 y 4 L/Ha, dejando testigos que no fueron inoculados.

El ensayo contará con 18 tratamientos en un diseño factorial Completamente al Azar y 4 repeticiones por tratamiento.

Cuadro 1. Descripción de tratamientos en un diseño factorial.

Prototipos	Dosis	Fertilizantes	Tratamientos
Prototipo 1 (P ₁)	D ₁ =0 ml.	F ₁ = MAP	T ₁ =P ₁ D ₁ F ₁
		F ₂ = 08-24	T ₂ =P ₁ D ₁ F ₂
		F ₃ =Superfosfato simple	T ₃ =P ₁ D ₁ F ₃
	D ₂ =1 ml.	F ₁ = MAP	T ₄ =P ₁ D ₂ F ₁
		F ₂ = 08-24	T ₅ =P ₁ D ₂ F ₂
		F ₃ =Superfosfato simple	T ₆ =P ₁ D ₂ F ₃
	D ₃ =2 ml.	F ₁ = MAP	T ₇ =P ₁ D ₃ F ₁
		F ₂ = 08-24	T ₈ =P ₁ D ₃ F ₂
		F ₃ =Superfosfato simple	T ₉ =P ₁ D ₃ F ₃
Prototipo 2 (P ₂)	D ₁ =0 ml.	F ₁ = MAP	T ₁₀ =P ₂ D ₁ F ₁
		F ₂ = 08-24	T ₁₁ =P ₂ D ₁ F ₂
		F ₃ =Superfosfato simple	T ₁₂ =P ₂ D ₁ F ₃
	D ₂ =1 ml.	F ₁ = MAP	T ₁₃ =P ₂ D ₂ F ₁
		F ₂ = 08-24	T ₁₄ =P ₂ D ₂ F ₂
		F ₃ =Superfosfato simple	T ₁₅ =P ₂ D ₂ F ₃
	D ₃ =2 ml.	F ₁ = MAP	T ₁₆ =P ₂ D ₃ F ₁
		F ₂ = 08-24	T ₁₇ =P ₂ D ₃ F ₂
		F ₃ =Superfosfato simple	T ₁₈ =P ₂ D ₃ F ₃

Fuente: elaboración propia.

Fuentes de fósforo a utilizar en el experimento fueron:

- MAP (12 – 60 – 00)
- Superfosfato simple (00-18-20-11)
- Fertilizante liquido (08 – 24 – 00)

Los fertilizantes MAP y Superfosfato Simple se aplicaron en las macetas a una profundidad aproximada de 10 centímetros homogenizando el fertilizante con el sustrato en cada maceta.

El fertilizante líquido, fue aplicado en drench disuelto en agua, dosificado en 3 tiempos durante la primera semana.

Prototipos

Se realizaron 3 aplicaciones de los biofertilizantes a base de bacterias solubilizadoras de fósforo a dosis de 2 y 4 L según corresponda. La primera aplicación se realizó a los 15 días después del trasplante, y posteriormente cada 15 días hasta completar la tercera aplicación.

Las aplicaciones se realizaron al drench mediante un atomizador a cada planta además de que al terminar cada aplicación se realizaba un riego al cultivo.

Cálculo de dosis de aplicación de fertilizantes.

Dosis de fertilizante según fuente por planta.

- MAP -> 8 g/planta.
- Superfosfato 00-18-20-11 ->55.9 g/planta.
- Líquido fosfórico 8-24 (Densidad 1.24) -> 26 ml/planta.

Los cálculos se hacen en base a una dosis de fertilización de 120 Unidades de P para 25,000 plantas (densidad/Ha).

Dosis de prototipo

Para los fines del experimento se denomina prototipo al producto de biofertilizantes derivados de bacterias solubilizadoras de fósforo, que fue

proporcionado por la empresa Green Corp., que contienen las siguientes especies de bacterias *Leclercia* sp, *Enterobacter* spp y *Cedecea* sp.

Para el cálculo de las dosis se tomó en referencia recomendación para una hectárea aplicación de 2 y 4 litros de los prototipos 1 y 2 diluidos en 100 litros de agua, los cuales fueron recomendados por la empresa Green Corp., para realizar el experimento.

Realizando los cálculos la proporción correspondientes a escala de las dosis fueron:

Para la dosis de 2 L por hectárea, la proporción correspondiente para el experimentos fue de 1 ml del prototipo que fue diluido en 450 ml de agua, la cual se aplicó para 12 plantas que son las que incluye cada tratamiento.

Para la dosis de 4 L por hectárea, la proporción correspondiente para el experimento fue de 2 ml del prototipo que fue diluido en 450 ml de agua, la cual se aplicó para 12 plantas que son las que incluye cada tratamiento.

Cronología

Mezcla del sustrato:

La preparación del sustrato, se realizó el 24 de septiembre del 2014, la cual fue una mezcla de tierra homogenizada obtenida y cribada en una parcela de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Con el sustrato ya mezclado, se procedió al llenado de las macetas, obteniendo un total de 72 macetas al final para el experimento.



Figura 1. Macetas con sustrato para establecimiento de cultivo.

Germinación de la semilla para obtener la plántula:

Las semillas se germinaron el 25 de septiembre del 2014, en charolas de 200 cavidades colocando una semilla por cavidad, utilizando un sustrato de peat moss y perlita en una proporción de 70 y 30 % respectivamente, se realizaban riegos cada tercer día hasta obtener las características de la plántula deseada.



Figura 2. Charola con plántula de calabacita larga.

Incorporación de los fertilizantes solidos a las macetas:

El día 7 de octubre que se incorporaron los fertilizantes MAP y el Superfosfato Simple a una profundidad aproximada de 10 centímetros homogenizándolos con el sustrato en las macetas correspondientes.

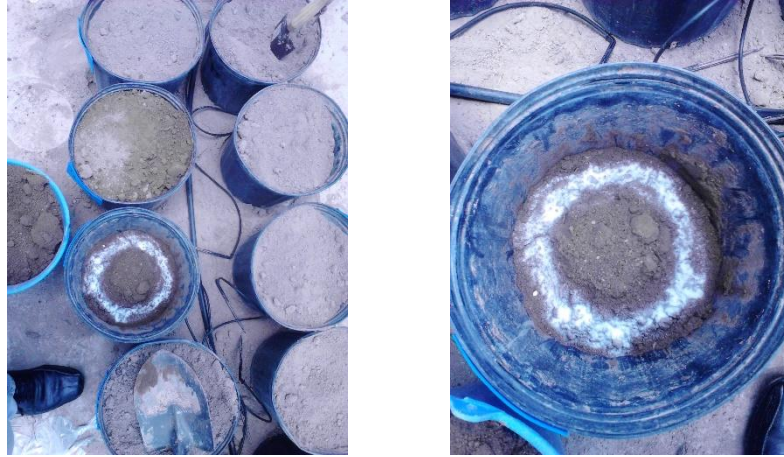


Figura 3. Incorporación de fertilizantes fosforados a las macetas.

Trasplante del cultivo a las macetas:

Este se realizó el día 8 de octubre del 2014, cuando la plántula tuvo aproximadamente una longitud de 7 cm y 3 mm de diámetro de tallo, se trasplantaron dos plántulas de calabaza por maceta las cuales fueron establecidas en un invernadero de la empresa Green Corp.



Figura 4. Trasplante de plántula a las macetas.

Aclareo del cultivo:

El día 11 de octubre se realizó el aclareo de plantas dejando solamente una planta por maceta esto para evitar competencia entre ellas.



Figura 5. Aclareo del cultivo de calabacita larga.

Incorporación del fertilizante líquido a las macetas

El fertilizante líquido, fue aplicado al drench disuelto en agua, dosificado en 3 tiempos durante la primera semana que se trasplantaron las plántulas en las macetas correspondientes.



Figura 6. Aplicación de fertilizante líquido a los tratamientos correspondientes.

Aplicación de tratamientos:

Se aplicaron los dos prototipos en las tres diferentes dosis a los 15 días después del trasplante, y posteriormente cada 15 días hasta completar la tercera aplicación. Cada dosis de los prototipos se diluyó en agua y se aplicó al drench a un lado de la planta de calabaza.



Figura 7. Aplicación de los prototipos al cultivo de calabaza larga.

Control fitosanitarios:

Se realizaron las aplicaciones necesarias de los productos Best ultra S y fulkover como preventivos de enfermedades hacia el cultivo.



Figura 8. Producto utilizado como preventivo de plagas y enfermedades durante el cultivo.

Mediciones en la plantas (variables evaluadas)

Rendimiento:

Este carácter se obtiene al realizar varios ajustes y correcciones al peso total de los frutos cosechados en los diferentes cortes, el que se obtuvo al pesar los frutos en una báscula analítica la que expresaba su valor en gramos.

También debe realizo una corrección para obtener el rendimiento en kg/ha, para transformar el rendimiento de gramos/tratamiento a kg/ha se utilizó la siguiente formula:

$$Fc = \frac{1000m^2}{25000 \frac{p}{h} \times 50 \times 4 \times 30}$$



Figura 9. Frutos de la calabaza larga.

Longitud de raíz:

Para la determinación la longitud de la raíz se tuvo que sacar cada planta de las macetas de cada tratamiento, todas las raíces se lavaron para después ser medidas con una regla.

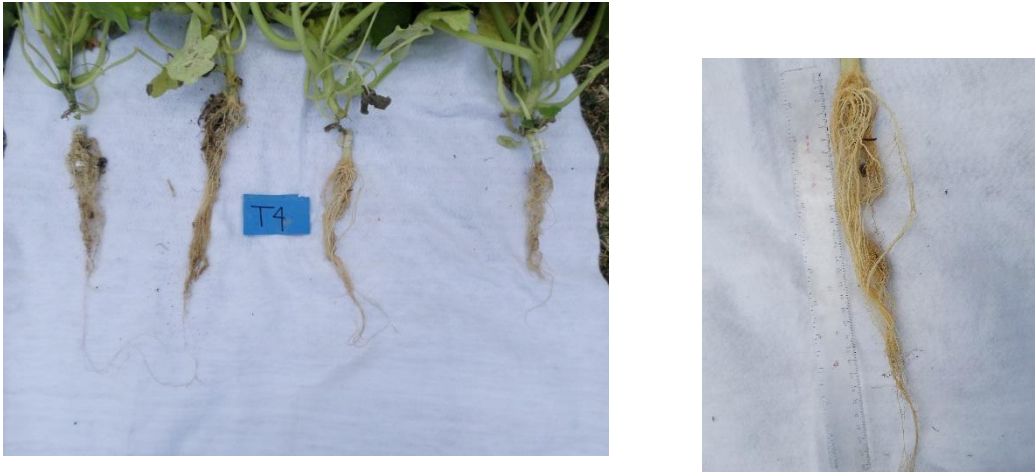


Figura 10. Longitud de raíz de la calabaza larga.

Peso seco de la raíz:

Para determinar el peso seco de la raíz, se colocó cada raíz en una bolsa de papel la cual fue etiquetada, todas las bolsas fueron colocadas en el invernadero para que se secaran a temperatura ambiente para después ser pesadas con una balanza analítica.

Peso seco de la planta:

Para determinar el peso de seco de las plantas de cada tratamiento cada una de ellas fue etiquetada en el tallo para después colocarlas en el invernadero para que se secaran, una vez secas se pesó cada planta con una balanza analítica.

Análisis de varianza de un diseño bloques al azar con arreglo factorial con 4 factores

Una vez obtenidos todos los datos se realizó un análisis de varianza para cada variable mediante un diseño factorial con 4 factores (desglosando la fuente de variación de rendimiento) el cual tiene el siguiente modelo lineal estadístico:

$$\begin{aligned}
 Y_{ijklm} = & \mu + \alpha_j + \beta_k + \alpha\beta_{jk} + \lambda_l + \alpha\lambda_{jk} + \beta\lambda_{kl} + \alpha\beta\lambda_{jkl} + \Omega_m + \alpha\Omega_{jm} \\
 & + \beta\Omega_{km} + \alpha\beta\Omega_{jkm} + \lambda\Omega_{lm} + \alpha\lambda\Omega_{jlm} + \beta\lambda\Omega_{klm} + \alpha\beta\lambda\Omega_{jklm} \\
 & + \epsilon_{ijklm}
 \end{aligned}$$

Dónde:

Y_{ijklm} = efecto del total

μ = Efecto de la media general.

α_j = Efecto del j-esimo prototipo

β_k = Efecto del k-esimo fertilizante

$\alpha\beta_{jk}$ = Efecto de la interacción del j-esimo prototipo con el k-esimo fertilizante

λ_l = Efecto de la l-esima dosis

$\alpha\lambda_{jl}$ = Efecto de la interacción del j-esimo prototipo con la l-esima dosis

$\beta\lambda_{kl}$ = Efecto de la interacción del k-esimo fertilizante con la l-esima dosis

$\alpha\beta\lambda_{jkl}$ = Efecto de la interacción del j-esimo prototipo con el k-esimo fertilizante en la l-esima dosis

Ω_m = Efecto del m-esimo corte

$\alpha\Omega_{jm}$ = Efecto de la interacción del j-esimo prototipo con el m-esimo corte

$\beta\Omega_{km}$ = Efecto de la interacción del k-esimo fertilizante con el m-esimo corte

$\alpha\beta\Omega_{jkm}$ = Efecto de la interacción del j-esimo prototipo con el k-esimo fertilizante en el m-esimo corte

$\lambda\Omega_{lm}$ = Efecto de la interacción del j-esimo prototipo con el m-esimo corte

$\alpha\lambda\Omega_{jlm}$ = Efecto de la interacción del j-esimo prototipo con la l-esima dosis en el m-esimo corte

$\beta\lambda\Omega_{klm}$ = Efecto de la interacción del k-esimo fertilizante con la l-esima dosis en el m-esimo corte

$\alpha\beta\lambda\Omega_{jklm}$ = Efecto de la interacción del j-esimo prototipo con el k-esimo fertilizante en la l-esima dosis en el m-esimo corte

ε_{ijkml} = Efecto del error experimental

En las fórmulas utilizadas para el cálculo de las operaciones del análisis de varianza individual se encuentra en el cuadro 4.

Análisis estadístico:

Para conocer si los datos obtenidos en el análisis de varianza son confiables, se

determinó el coeficiente de variación (C.V.) de la siguiente manera:

$$C.V. = \sqrt{\frac{CME}{X}} \times 100$$

Dónde:

CME = Cuadrado medio del error.

X = Media general.

Cuadro 2. Indicativo de la estructura del análisis factorial de 4 factores.

F.V	g.l	S.c	M.C	F.C
Repeticiones	(r-1)	$\sum_{j=1}^{t=2} \frac{Y_{i \dots j}^2}{j k l m} - \frac{Y_{i \dots}^2}{i j k l m}$	$\frac{S.c}{g.l}$	$\frac{M.C}{C.M.E.E.}$

Prototipos	(p-1)	$\sum_{j=1}^{t=2} \frac{Y..j...^2}{i k l m} - \frac{Y.....^2}{i j k l m}$	$\frac{S.c}{g.l}$	$\frac{M.C}{C.M.E.E.}$
Fertilizantes	(f-1)	$\sum_{k=1}^{t=3} \frac{Y..k...^2}{i j l m} - \frac{Y.....^2}{i j k l m}$	$\frac{S.c}{g.l}$	$\frac{M.C}{C.M.E.E.}$
Prototipos x Fertilizantes	(p-1)(f-1)	$\sum_{j=1}^{t=2} \sum_{j=1}^{t=3} \frac{Y.jk...^2}{i l m} - \frac{Y.....^2}{i j k l m}$	$\frac{S.c}{g.l}$	$\frac{M.C}{C.M.E.E.}$
Dosis	(d-1)	$\sum_{l=1}^{t=3} \frac{Y...l.^2}{i j k m} - \frac{Y.....^2}{i j k l m}$	$\frac{S.c}{g.l}$	$\frac{M.C}{C.M.E.E.}$
Prototipo x Dosis	(p-1)(d-1)	$\sum_{j=1}^{t=2} \sum_{l=1}^{t=3} \frac{Y.j.l.^2}{i k m} - \frac{Y.....^2}{i j k l m}$	$\frac{S.c}{g.l}$	$\frac{M.C}{C.M.E.E.}$
Fertilizante x Dosis	(f-1)(d-1)	$\sum_{k=1}^{t=3} \sum_{l=1}^{t=3} \frac{Y..k.l.^2}{i k m} - \frac{Y.....^2}{i j k l m}$	$\frac{S.c}{g.l}$	$\frac{M.C}{C.M.E.E.}$
Prototipo x Fertilizante x Dosis	(p-1)(f-1)(d-1)	$\sum_{j=1}^{t=2} \sum_{k=1}^{t=3} \sum_{l=1}^{t=3} \frac{Y.jk.l.^2}{i m} - \frac{Y.....^2}{i j k l m}$	$\frac{S.c}{g.l}$	$\frac{M.C}{C.M.E.E.}$
Cortes	(c-1)	$\sum_{m=1}^{t=5} \frac{Y...m^2}{i j k l} - \frac{Y.....^2}{i j k l m}$	$\frac{S.c}{g.l}$	$\frac{M.C}{C.M.E.E.}$
Prototipo x Cortes	(p-1)(c-1)	$\sum_{j=1}^{t=2} \sum_{m=1}^{t=5} \frac{Y.j..m^2}{i k l} - \frac{Y.....^2}{i j k l m}$	$\frac{S.c}{g.l}$	$\frac{M.C}{C.M.E.E.}$
Fertilizante x Cortes	(f-1)(c-1)	$\sum_{k=1}^{t=3} \sum_{m=1}^{t=5} \frac{Y..k.m^2}{i j l} - \frac{Y.....^2}{i j k l m}$	$\frac{S.c}{g.l}$	$\frac{M.C}{C.M.E.E.}$
Prototipo x Fertilizante x Cortes	(p-1)(f-1)(c-1)	$\sum_{j=1}^{t=2} \sum_{k=1}^{t=3} \sum_{m=1}^{t=5} \frac{Y.jk.m^2}{i l} - \frac{Y.....^2}{i j k l m}$	$\frac{S.c}{g.l}$	$\frac{M.C}{C.M.E.E.}$

Continuación del cuadro 2.

--	--	--	--	--

Dosis Cotes	x (d-1)(c-1)	$\sum_{l=1}^{t=3} \sum_{m=1}^{t=5} \frac{Y \dots l m^2}{i j k} - \frac{Y \dots^2}{i j k l m}$	$\frac{S.c}{g.l}$	$\frac{M.C}{C.M.E.E.}$
Prototipo Dosis Cortes	x x (p-1)(d-1)(c-1)	$\sum_{j=1}^{t=2} \sum_{l=1}^{t=3} \sum_{m=1}^{t=5} \frac{Y . j . l m^2}{i k} - \frac{Y \dots^2}{i j k l m}$	$\frac{S.c}{g.l}$	$\frac{M.C}{C.M.E.E.}$
Fertilizante Dosis Cortes	x x (f-1)(d-1)(c-1)	$\sum_{k=1}^{t=3} \sum_{l=1}^{t=3} \sum_{m=1}^{t=5} \frac{Y .. k l m^2}{i j} - \frac{Y \dots^2}{i j k l m}$	$\frac{S.c}{g.l}$	$\frac{M.C}{C.M.E.E.}$
Prototipo Fertilizante Dosis Cortes	x x x (p-1)(f-1)(d-1) (c-1)	$\sum_{j=1}^{t=2} \sum_{k=1}^{t=3} \sum_{l=1}^{t=3} \sum_{m=1}^{t=5} \frac{Y . j k l m^2}{i} - \frac{Y \dots^2}{i j k l m}$	$\frac{S.c}{g.l}$	$\frac{M.C}{C.M.E.E.}$
<i>Exp</i>	(pfdc-1)(r-1)	S.c. Total – (S.c. Repeticiones + S.c. Prototipos + S.c. Fertilizantes + S.c. Prototipos x Fertilizantes + S.c. Dosis + S.c. Prototipo x Dosis + S.c. Fertilizante x Dosis + S.c. Prototipo x Fertilizante x Dosis + S.c. Cortes + S.c. Prototipo x Cortes + S.c. Fertilizante x Cortes + S.c. Prototipo x Fertilizante x Cortes + S.c. + S.c. Dosis x Cotes + S.c. Prototipo x Dosis x Cotes + S.c. Fertilizante x Dosis x Cortes + S.c. Prototipo x Fertilizante x Dosis x Cortes	$\frac{S.c}{g.l}$	
Total	(pfdcr-1)	$\sum_{i=1}^{t=4} \sum_{j=1}^{t=2} \sum_{k=1}^{t=3} \sum_{l=1}^{t=3} \sum_{m=1}^{t=5} Y i j k l m - \frac{Y \dots^2}{i j k l m}$	$\frac{S.c}{g.l}$	

Para cada una de las características evaluadas se realizó la prueba de medias mediante el método de diferencia mínima significativa (DMS) para obtener los diferentes grupos estadísticos que determinan la igualdad o desigualdad estadística de los factores.

Esta prueba se obtiene mediante la siguiente formula:

$$DMS = t_{\alpha 0.05x} = \sqrt{\frac{2 CM \varepsilon \varepsilon_{xp}}{r}}$$

Dónde:

- DMS= Diferencia mínima significativa
- $t_{\alpha 0.05x}$ = Constante de tablas
- CMEE= Cuadrado medio del error experimental
- r= Repeticiones

Análisis de varianza de un diseño bloques al azar con arreglo factorial con 3 factores

Para cada uno del resto de los caracteres evaluados se realizó un análisis de varianza de un diseño factorial con 3 factores el cual cuenta con el siguiente modelo lineal estadístico:

$$Y_{ijklm} = \mu + \alpha_j + \beta_k + \alpha\beta_{jk} + \lambda_l + \alpha\lambda_{jl} + \beta\lambda_{kl} + \alpha\beta\lambda_{jkl} + \varepsilon_{ijklm}$$

Dónde:

Y_{ijklm} =efecto del total

μ = Efecto de la media general.

α_j = Efecto del j-esimo prototipo

β_k = Efecto del k-esimo fertilizante

$\alpha\beta_{jk}$ = Efecto de la interacción del j-esimo prototipo con el k-esimo fertilizante

λ_l = Efecto de la l-esima dosis

$\alpha\lambda_{jl}$ = Efecto de la interacción del j-esimo prototipo con la l-esima dosis

$\beta\lambda_{kl}$ = Efecto de la interacción del k-esimo fertilizante con la l-esima dosis

$\alpha\beta\lambda_{jkl}$ = Efecto de la interacción del j-esimo prototipo con el k-esimo fertilizante en la l-esima dosis

ε_{ijklm} = Efecto del error experimental

En las fórmulas utilizadas para el cálculo de las operaciones del análisis de varianza individual se encuentra en el cuadro 5.

Cuadro 3. Indicativo de la estructura del análisis factorial de 3 factores.

F.V	g.l	S.c	M.C	F.C
Repeticiones	(r-1)	$\sum_{j=1}^{t=2} \frac{Y_{i \dots j \dots}^2}{j k l m} - \frac{Y_{\dots}^2}{i j k l m}$	$\frac{S.c}{g.l}$	$\frac{M.C}{C.M.E.E.}$
Prototipos	(p-1)	$\sum_{j=1}^{t=2} \frac{Y_{. j \dots}^2}{i k l m} - \frac{Y_{\dots}^2}{i j k l m}$	$\frac{S.c}{g.l}$	$\frac{M.C}{C.M.E.E.}$
Fertilizantes	(f-1)	$\sum_{k=1}^{t=3} \frac{Y_{. . k \dots}^2}{i j l m} - \frac{Y_{\dots}^2}{i j k l m}$	$\frac{S.c}{g.l}$	$\frac{M.C}{C.M.E.E.}$
Prototipos x Fertilizantes	(p-1)(f-1)	$\sum_{j=1}^{t=2} \sum_{j=1}^{t=3} \frac{Y_{. j k \dots}^2}{i l m} - \frac{Y_{\dots}^2}{i j k l m}$	$\frac{S.c}{g.l}$	$\frac{M.C}{C.M.E.E.}$
Dosis	(d-1)	$\sum_{l=1}^{t=3} \frac{Y_{\dots l}^2}{i j k m} - \frac{Y_{\dots}^2}{i j k l m}$	$\frac{S.c}{g.l}$	$\frac{M.C}{C.M.E.E.}$
Prototipo x Dosis	(p-1)(d-1)	$\sum_{j=1}^{t=2} \sum_{l=1}^{t=3} \frac{Y_{. j \dots l}^2}{i k m} - \frac{Y_{\dots}^2}{i j k l m}$	$\frac{S.c}{g.l}$	$\frac{M.C}{C.M.E.E.}$
Fertilizante x Dosis	(f-1)(d-1)	$\sum_{k=1}^{t=3} \sum_{l=1}^{t=3} \frac{Y_{. . k \dots l}^2}{i k m} - \frac{Y_{\dots}^2}{i j k l m}$	$\frac{S.c}{g.l}$	$\frac{M.C}{C.M.E.E.}$
Prototipo x Fertilizante x Dosis	(p-1)(f-1)(d-1)	$\sum_{j=1}^{t=2} \sum_{k=1}^{t=3} \sum_{l=1}^{t=3} \frac{Y_{. j k \dots l}^2}{i m} - \frac{Y_{\dots}^2}{i j k l m}$	$\frac{S.c}{g.l}$	$\frac{M.C}{C.M.E.E.}$
$\epsilon\epsilon xp$	(pfdc-1)(r-1)	S.c. Total - (S.c. Repeticiones + S.c. Prototipos + S.c. Fertilizantes + S.c. Prototipos x Fertilizantes + S.c. Dosis + S.c. Prototipo x Dosis + S.c. Fertilizante x Dosis + S.c. Prototipo x Fertilizante x Dosis)	$\frac{S.c}{g.l}$	
Total	(pfdcr-1)	$\sum_{i=1}^{t=4} \sum_{j=1}^{t=2} \sum_{k=1}^{t=3} \sum_{l=1}^{t=3} \sum_{m=1}^{t=5} Y_{ijklm} - \frac{Y_{\dots}^2}{i j k l m}$	$\frac{S.c}{g.l}$	

Análisis estadístico:

Para conocer si los datos obtenidos en el análisis de varianza son confiables, se determinó el coeficiente de variación (C.V.) de la siguiente manera:

$$C.V. = \sqrt{\frac{CM \ \varepsilon\varepsilon_{xp}}{X}} \times 100$$

Dónde:

CME = Cuadrado medio del error.

X = Media general.

Para cada una de las características evaluadas se realizó la prueba de medias mediante el método de diferencia mínima significativa (DMS) para obtener los diferentes grupos estadísticos que determinan la igualdad o desigualdad estadística de los factores. Esta prueba se obtiene mediante la siguiente formula:

$$DMS = t \ \alpha \ 0.05x = \sqrt{\frac{2 \ CM \ \varepsilon\varepsilon_{xp}}{r}}$$

Dónde:

DMS= Diferencia mínima significativa

t α 0.05x= Constante de tablas

CMEE= Cuadrado medio del error experimental

r= Repeticiones

DISCUSIÓN Y RESULTADOS

Como se mencionó anteriormente en la metodología a continuación se presentan y discuten los resultados obtenidos del análisis de varianza, de un diseño bloques al azar con arreglo factorial, con 4 factores.

Cuadro 4. Análisis de varianza de un diseño bloques al azar con arreglo factorial con 4 factores en la variable de rendimiento.

F.V	g.l	S.c	M.C	F.C	F T	
					0.5	0.1
Repeticiones	3	8884797.8	2961599.267	2.744*	2.62	3.83
Prototipos	1	1347511.0	1347511.0	1.248	3.86	6.70
Fertilizantes	2	36790423.1	1839521105	17.041**	3.02	4.66
Prototipos x Fertilizantes	2	2006207.6	1003103.8	0.929	3.02	4.66
Dosis	2	3515765.8	1757882.9	1.628	3.02	4.66
Prototipo x Dosis	2	618686760.9	3093380.45	2.866	3.02	4.66
Fertilizante x Dosis	4	3573992.8	893498.2	0.828	2.39	3.36
Prototipo x Fertilizante x Dosis	4	1747336.7	436834.0	0.405	2.39	3.36
Cortes	4	97005628.9	24251407.23	22.466**	2.39	3.36
Prototipo x Cortes	4	15216428.4	3804107.1	3.524**	2.39	3.36
Fertilizante x Cortes	8	30916805.7	3864600.713	3.580**	1.96	2.55
Prototipo x Fertilizante x Cortes	8	4680140.4	585017.65	0.542	1.96	2.55
Dosis x Cortes	8	13014070.0	16251758.75	15.055**	1.96	2.55
Prototipo x Dosis x Cortes	8	67626803.1	8453350.388	7.831**	1.96	2.55
Fertilizante x Dosis x Cortes	16	66965319.4	4185332.463	3.877**	1.67	2.04
Prototipo x Fertilizante x Dosis x Cortes	16	350593193.8	21912674.61	20.299**	1.67	2.04
<i>Exp</i>	267	290377187.6	1079469.077			
Total	359	100448367.0				

*significativo al 0.05

** Significativo al 0.01

Como se pudo observar en el cuadro 4. Análisis de varianza de un diseño bloques al azar con arreglo factorial, con 4 factores en la variable de rendimiento, donde las fuentes de variación de mayor importancia son: prototipos, fertilizantes, dosis y cortes. En las que solamente fertilizantes y cortes presentaron valores de alta significancia, mientras que prototipos y dosis no presentaron significancia. Esto pudo deberse a las condiciones donde se realizó el experimento tales como: tipo de suelo, pH del suelo y agua, ya que no fueron controladas, así mismo tampoco se observó la etapa de reproducción de cada planta y al abortamiento de frutos que se presentó en los tratamientos.

En las interacciones prototipo x corte, fertilizante x corte, dosis x corte y las dobles interacciones prototipo x dosis x corte y fertilizante x corte x dosis presentaron una probabilidad mayor al 0.01 lo que pudo deberse al efecto de fertilizantes y cortes, ya que los individuos de estudio tuvieron diferente respuesta a la aplicación de los fertilizantes fosforados. En cuanto a los cortes cada planta presentó una desigualdad en los días de floración, afectando la polinización. También se mostraron valores de significancia en repeticiones, esto pudo deberse a la heterogeneidad del suelo en donde se estableció el experimento.

Cuadro 5. Cuadrados medios y su significancia de las variables longitud de raíz, peso seco de raíz y peso seco de planta de un diseño bloques al azar con un arreglo factorial con 3 factores.

F.V	g.l	S.c Longitud de Raíz	S.c Peso Seco Raíz	S.c Peso Seco Planta
Repeticiones	3	174.592*	172.444*	237.020
Prototipos	1	102.722	29.388	2.35
Fertilizantes	2	26.055	7.597	5973.041**
Prototipos x Fertilizantes	2	108.389	38.431	29.339
Dosis	2	88.722	85.055	175.875
Prototipo x Dosis	2	47.724	9.389	75.845
Fertilizante x Dosis	4	270.305**	8.555	439.729**
Prototipo x Fertilizante x Dosis	4	115.998*	24.055	297.667**
<i>Exp</i>	51	39.243	45.801	102.700

*significativo al 0.05
 ** Significativo al 0.01

En el cuadro 5, cuadrados medios y su significancia de las variables longitud de raíz, peso seco de raíz y peso seco de planta en diseño bloques al azar con un arreglo factorial con 3 factores. En donde se puede observar que la variable longitud de raíz no presento significancia en sus principales fuentes de variación, prototipos, fertilizantes y dosis, solamente en la interacción fertilizante x corte presento valor de alta significancia y la interacción prototipo x fertilizante x corte mostro significancia el 0.05 esto se puede deber a la primera interacción mencionada.

En el mismo cuadro se puede observar la variable peso seco de raíz no presento significancia en ninguna de las principales fuentes de variación que son prototipos, fertilizantes y dosis así mismo ninguna interacción mostro significancia, a excepción de repeticiones que mostro significancia al 0.05.

Con respecto a la variable peso seco de planta, la única fuente de variación que mostro alta significancia fue fertilizantes por lo que prototipos y dosis no manifestaron significancia lo que puede deberse a las condiciones en donde se realizó el experimento.

En las interacciones fertilizantes x dosis y prototipo x fertilizante x dosis mostraron alta significancia esto puede deberse al efecto que presento la fuente de variación de fertilizantes.

Cuadro 6. Concentración de medias de los factores prototipos, fertilizantes, dosis y cortes de la variable rendimiento.

Factor					Media
Prototipo 1 958.628kg		Prototipo 2 1080.9 kg			1020 kg
Fertilizante 1 (MAP) 918.976 kg	Fertilizante 2 (08-24) 1451.889 kg		Fertilizante 3 (superfosfato) 688.560 kg		1020 kg
Dosis 1 (0 ml) 885.018 kg		Dosis 2 (1 ml) 1055. 225 kg		Dosis 3 (2 ml) 1119.182 kg	1020 kg
Corte 1 562.173	Corte 2 1869.457	Corte 3 525.020	Corte 4 1356.959	Corte 5 785. 431	1020 kg

En el cuadro 6 se presentan los valores medios de las fuentes de variación de prototipos, fertilizantes, dosis y cortes de la variable rendimiento. Donde se puede apreciar que la primera característica que son prototipos, estadísticamente no manifestaron significancia sin embargo a la media de 1020 kg, el prototipo 2 con un valor de 1356.959 kg mostro ligeramente estar por encima de la misma. Esto puede deberse al pH que como ya se mencionó no se llevó registro afectando el crecimiento microbiano según autores antes citados.

La segunda característica de importancia fue fertilizante en donde si hubo significancia al 0.5 y al 0.1 de acuerdo a la media de 1020 kg como se ve en cuadro 6 el fertilizante 2 (08-24) fue superior al fertilizante 1 (MAP) y al fertilizante 3 (Superfosfato simple) con 918.976 kg y 688.560 kg respectivamente, esto puede deberse a propiedades de los fertilizantes utilizados correspondiendo al (08-24).

La tercera característica fue dosis la cual no presento significancia pero de acuerdo a la media que es 1020 kg que se observa en el cuadro 6, en donde la dosis 3 (2 ml) es superior a la dosis 2 (1 ml) y a dosis 1 (0 ml), esto pudo deberse

a que la composición del fertilizante propicio condiciones favorables para que las bacterias optimizaran su proceso de solubilizarían.

La ultima característica fue cortes que estadísticamente manifestaron significancia, de acuerdo con la media que es 1020 kg en cual se muestra en el cuadro 4, siendo mejor el corte 2 seguido del corte 4 estando por encima de la media, los cortes 5, 1 y 3 se encuentran por debajo de la misma respectivamente, lo que pudo deberse a que no hubo una homogeneidad en la floración o al abortamiento de frutos que se presentó.

Cuadro 7. Concentración de medias del factor prototipos de las variables longitud de raíz, peso seco de raíz y peso seco de planta.

Variable evaluada	Factor (Prototipos)		Media
Longitud de raíz	Prototipo 1 40.138 cm	Prototipo 2 37.75	38.944 cm
Peso seco de raíz	Prototipo 1 15.41 gr	Prototipo 2 16.69 gr	16.05 gr
Peso seco de planta	Prototipo 1 45.94 gr	Prototipo 2 46.30 gr	46.12 gr

Cuadro 8. Concentración de medias del factor fertilizantes de las variables longitud de raíz, peso seco de raíz y peso seco de planta.

Variable evaluada	Factor (Fertilizantes)			Media
Longitud de raíz	Fertilizante 1 (MAP) 40 cm	Fertilizante 2 (08-24) 37.91 cm	Fertilizante 3 (superfosfato simple) 38.91 cm	38.67 cm
Peso seco de raíz	Fertilizante 1 (MAP) 15.5 gr	Fertilizante 2 (08-24) 16.04 gr	Fertilizante 3 (superfosfato simple) 16.62	16.05 gr
Peso seco de planta	Fertilizante 1 (MAP) 45.66 gr	Fertilizante 2 (08-24) 62.12 gr	Fertilizante 3 (superfosfato simple) 30.58 gr	46.12 gr

Cuadro 9. Concentración de medias del factor dosis de las variables longitud de raíz, peso seco de raíz y peso seco de planta.

Variable evaluada	Factor (Dosis)			Media
Longitud de raíz	Dosis 1 (0 ml) 40.3 cm	Dosis (1 ml) 39.75 cm	Dosis (2 ml) 36.75 cm	38.93 cm
Peso seco de raíz	Dosis 1 (0 ml) 14.08 gr	Dosis (1 ml) 16.25 gr	Dosis (2 ml) 17.83 gr	16.05 gr
Peso seco de planta	Dosis 1 (0 ml) 43 gr	Dosis (1 ml) 47.62 gr	Dosis (2 ml) 47.75	46.12 gr

La segunda variable evaluada fue longitud de raíz donde se evaluaron las características de prototipos que estadísticamente no presentaron significancia sin embargo, el prototipo 1 se encuentra ligeramente por encima de la media con un valor de 38.94 cm la cual se puede observar en el cuadro 7, siendo superior que el prototipo 2. Lo que se pudo a la composición del prototipo.

La segunda característica de importancia fue fertilizantes con una media con un valor de 38.67 cm que se puede ver en el cuadro 8 en donde el fertilizante 1 (MAP) es superior, del fertilizante 3 (Superfosfato simple) y del fertilizante 2 (08-24).

La tercera característica es dosis que estadísticamente no mostraron significancia, pero sin embargo a la media 38.93 cm como se puede ver en el cuadro 9, se encuentran por encima de la media la dosis 1 (0 ml) y la dosis 2 (1ml) y por debajo de la misma se encuentra la dosis 3 (2 ml).

Lo que pudo deberse a las características de la variedad en la que se realizó el experimento.

La tercera variable evaluada fue peso seco de raíz en donde los datos obtenidos en el experimento se multiplicaron por 10, esto para no obtener resultados muy pequeños al realizar los análisis. En donde prototipos no mostraron estadísticas significativas sin embargo de acuerdo a la media con un valor 16.05 gr que se

observa en el cuadro 7 el prototipo 2 es superior que el prototipo 1. Esto puede deberse a lo anteriormente mencionado como: tipo de suelo, clima y pH.

Para el factor fertilizantes como se puede observar en el cuadro 8 con una media con un valor de 16.05 gr el fertilizante 3 (Superfosfato simple) se encuentra por encima de los fertilizantes 2 (08-24) y 1 (MAP) respectivamente y mientras el factor dosis con una media con un valor de 16.05 gr como se aprecia en el cuadro 9 la dosis 3 (2ml) se encuentra ligeramente por encima de la dosis 2 (1ml) en donde la dosis 1 (0 ml) se encuentra por debajo de la media. Por lo que se puede deberse a las características radiculares que presenta la variedad estudiada.

La cuarta variable que se tomó en cuenta en el experimento fue peso seco de planta en donde la fuente de variación prototipos no mostró estadísticamente diferencia sin embargo a la media con un valor de 46.12 gr que se muestra en el cuadro 7 el prototipo 2 es ligeramente superior que el prototipo 1. Por lo que tal vez las bacterias del prototipo dos son más resistentes a las diferentes circunstancias no observadas que ya se mencionaron.

La segunda característica evaluada es fertilizantes siendo estadísticamente diferentes en donde, es superior el fertilizante 2 (08-24) con respecto a la media con un valor 46.12 gr como se observa en el cuadro 8 seguido del fertilizante 1 (MAP) y el fertilizante 3 (Superfosfato simple). Lo que pudo ocurrir debido a que las bacterias pueden interactuar más con el fertilizante 2.

La tercera característica de importancia fue dosis la cual no mostro estadísticamente diferencias significativas, sin embargo con respecto con la media con un valor de 46.12 gr que se puede ver en el cuadro 9 es superior la dosis 3 (2ml) seguida de la dosis 2 (1 ml) y dosis 1 (0 ml) respectivamente. Por lo que se puede deber a que a dosis 3 del prototipo 2 tienen mayor interacción con el fertilizante 2.

CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos en el experimento se concluye lo siguiente:

- Los prototipos estudiados no incrementan estadísticamente las características agronómicas que fueron los parámetros (Rendimiento, peso seco de raíz, peso seco planta y longitud de raíz) afectadas directamente. Sin embargo el prototipo dos fue superior de acuerdo a la media en todas características agronómicas.
- Los fertilizantes fosforados si incrementan las características agronómicas mostrando superioridad el fertilizante líquido fosfórico en rendimiento y peso seco de planta.
- Las dosis aplicadas no mostraron incremento en las características agronómicas. Sin embargo la dosis que sobresalió con base a la media es la dosis tres en rendimiento, peso seco de raíz y peso seco de planta.
- Por último se concluye que el prototipo dos con la aplicación de la dosis tres con fertilizante líquido fosfórico mostro en él experimento un incremento en las características agronómicas evaluadas en el cultivo de la calabacita larga.

RECOMENDACIONES

Para el presente trabajo realizado se recomienda:

- Manejar rangos más amplios en el establecimiento del experimento.
- Tomar en cuenta las características del suelo, pH del suelo y agua así como las características de la variedad.
- Utilizar otros rangos de dosis de los biofertilizantes a base de bacterias solubilizadoras de fosforo en futuros experimentos.

BIBLIOGRAFÍA

Alexander, M.1987. Introduction of soil microbiology. New York Ed. Wiley and Sons p. 83-88.

Asociation California Fertilizar. 1995. Manual de fertilizantes para Horticultura, soil improvement committee, california fertillizer association. Ed. Limusa, S.A. de C.V. México D.F. p. 93-94.

Begonia, M., Begonia, G.; Miller, G.; Gilliard, D. y Young, C. 2004. Phosphatase Activity and Populations of Microorganisms from Cadmium – and Lead Contaminated Soils. Bull. Environ. Contam Toxicol. 73: 1025-1032.

Bonilla, M.A., 2005. Estrategias adaptativas de Llas plantas del páramo y del bosque Altoandino en la cordillera oriental de Colombia. Universidad Nacional de Colombia. 1:178-179p

Cantú S. Silverio. 2012. Efecto de bacterias solubilizadoras de fósforo en plantas de tomate bajo condiciones de invernadero en un suelo alcalino.

Chen, Y.; Rekha, P. ;Arun, A.; Shen, F; LAI, W. y Young, C. 2006. Phosphate

solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Applied Soil Ecology* 34: 33-41.

Drouillon, M. Y Mercry, R 2003. El papel del ácido cítrico en la movilización del fosfato de óxido de hierro. *Ciencia del suelo Society of America Diario* 70: 222-234.

Elías Afif Khouri. 2005. Dinámico del fósforo en suelos cálcicos de áreas mediterráneas. Ediciones de la Universidad de Oviedo Servicio de publicaciones de la U.O. Campus de Humanidades. Edificio de servicios 33011 oviedo. 91 pp.

Guerrero, A., 1990. El suelo, los abonos y la fertilización de los cultivos. Ed. Mundi-prensa. Pp. 53

Ivanova, R.; Bojinova, D.; Nedialkoba, K. 2006. Roca fósforica de solubilización por las bacterias del suelo, *Diario de la Universidad de la Tecnología Química*.41 (3): 297-302.

Jaramillo Raúl 2010. Manejo de fertilizantes fosfatados. pp. 21

Johnson, S.E. Y Loeppert, R.H 2006. Role of Organic Acids in Phosphate Mobilization from Iron Oxide. *Soil Science Society of America Journal* 70: 222-234.

Kloepper, J., Lifshitz, R. and Zablotowicz, R. 1989. Free-living bacteria inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol* 7: 39-44. U.S.A.

- Kloepper JW, Schroth MN. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. In: Station de Pathologievegetale et Phyto-bacteriologie, editor. Proceedings of the 4th International Conference on Plant Patho-genic Bacteria Vol II. Tours: Gilbert-Clary, 1978. pp. 879–82.
- Mikanová, O y Novákova, J, 2002. Evaluation of the P. Solubilizing activity of soil microorganisms and its sensivity to soluble phosphate. Rostlinná Vyroba 48(2): 397-400.
- Moura R., Martin J., Martin A., y Liras P. 2001. Substrate analysis and molecular cloning of the extracellular alkaline phosphatase of *Streptomyces griseus*. *Microbiologia*. 147: 1525-1533.
- Teuscher, H., Adler R., Seaton, J.P. 1965. El suelo y su fertilidad. Compañía Editorial Continental, S.A. pp. 249.
- Onthong, J.; 2007. Effect of pH and some cations on actibity of acid phosphatase secreted from *Ustilago* sp. Isolated from acid sulphate soil. *Songklanakarin J. Sci. Technol* 29: 275-286.
- Vasquéz P, Holgun G., Puente M., Lopez A., y Bashan Y. 2000. Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. *Biol. Fertil. Soils*. 30: 460-468.
- Vera, D.; Pérez, H y Valencia, h. 2002. Aislamiento de hongos Solubilizadores De Fosfatos De la Rizosfera De Arazá (*Eugenia stipitata*, Myrtaceae). *Acta Biologica Colombiana* 7 (1): 33-40. Santiago Martínez G. Juan 2012.

Vassilev N, Vassileva M (2003) Biotechnological solubilization of rock phosphate on media containing agro-industrial wastes. *Appl Microbiol Biotechnol* 61:435–440

Whitelaw MA (2000) Growth promotion of plants inoculated with phosphate-solubilizing fungi. *Adv Agron* 69:99–151