



UNIVERSIDAD DE
TALCA



Gobierno de Chile
Ministerio de Agricultura
Instituto de Investigaciones Agropecuarias
Fundación para la Innovación Agraria

20

INFORME TECNICO FINAL

**PROYECTO “DESARROLLO DE
BIOFERTILIZANTE PARA EL CULTIVO DE ARROZ
EN CHILE”**

Código: C98-1-A-004

Talca, Chile, Noviembre de 2002

Talca, 29 de Noviembre de 2002

Señora
Margarita d'Etigny
Directora Ejecutiva
Fundación para la Innovación Agraria
Presente

De mi consideración

A través de la presente hago llegar a Ud. informe final Técnico y de Gestión del proyecto titulado "Desarrollo de Biofertilizantes para el cultivo de arroz en Chile", código C98-1-A-004 , en tres copias más un CD con la información incorporada.

Sin otro particular, le saluda atentamente.



Dra
Iris Pereira Riquelme
Investigador principal
Instituto de Biología Vegetal y
Biotecnología
Casilla 747
Universidad de Talca

INFORME FINAL PROYECTO:

“Desarrollo de biofertilizantes para el cultivo de arroz en Chile”

Código C98-1-A-004

EQUIPO TECNICO DEL PROYECTO:

COORDINADOR GENERAL: Iris Pereira Riquelme
Dra. en Ciencias Biológicas
Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología
Universidad de Talca

CORDINADOR ALTERNO: Nicasio Rodríguez
Ingeniero Agrónomo
Director Depto. Recursos Naturales
CRI Quilamapu INIA, Chillán

INVESTIGADORES ASISTENTES: Víctor Kramm
Ingeniero Agrónomo, M. Sc.
Producción Vegetal
CRI Quilamapu INIA, Chillán

Juan Hirzel
Ingeniero Agrónomo
Depto. Recursos Naturales
CRI Quilamapu INIA, Chillan

Leticia Barrientos
M.Sc. Microbiología
Depto. De Recursos Naturales
CRI Carillanca, Temuco

ASISTENTE TECNICO: Mario Moya Moraga
Licenciado en Biología
Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología
Universidad de Talca

Guissella Reyes
Profesora de Estado
Asistente del área de Producción Vegetal
CRI Quilamapu INIA, Chillán

I. ANTECEDENTES GENERALES

Nombre del Proyecto:	“Desarrollo de Biofertilizantes para el cultivo de arroz en Chile”, C98-1-A-004, VII región.
Código del proyecto:	C98-1-A-004
Región:	VII Región del Maule
Fecha de aprobación:	07 de Junio 1998,
Forma de ingreso al FIA:	Concurso
Agente Ejecutor:	Universidad de Talca
Agente Asociado:	INIA, Quilamapu, Chillán.
Coordinador del Proyecto:	Dra. Iris Pereira Riquelme Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca.
Coordinador alterno:	Nicasio Rodríguez
Costo Total:	\$ 99.082.411
Aporte del FIA:	\$ 37.148.058 (37,45 % del costo total)
Período de Ejecución:	Septiembre 1998-Septiembre 2002

II. RESUMEN EJECUTIVO

El proyecto “Desarrollo de biofertilizantes para el cultivo de arroz en Chile” se ejecutó en un período de 48 meses entre Septiembre de 1998 y Septiembre del 2002.

En este estudio se determinó un total de 12 especies de algas fijadoras de nitrógeno, de las cuales 4 se utilizaron finalmente en el desarrollo del biofertilizante.

Este proyecto pretendía encontrar en los suelos arroceros, algas fijadoras de nitrógeno de vida de libre que permitieran fomentar la fertilidad del suelo en forma natural. Para ello se potenciaría su crecimiento en el laboratorio especialmente de aquellas especies que presentasen las más altas de fijación y crecimiento y que estuviesen presente en un mayor número de localidades con la finalidad de disminuir el consumo de fertilizantes nitrogenados sintéticos, reduciendo con ello los impactos ambientales negativos.

El trabajo tanto de terreno como de laboratorio fueron las herramientas claves en el logro de los 3 primeros objetivos propuestos en este proyecto, y los restantes fueron cubiertos por ensayos en macetas bajo invernadero y posteriormente por ensayos de campo.

Los resultados obtenidos fueron muy satisfactorios, aportando sin dudas información desconocida e inédita hasta el presente en nuestro país en relación a la importancia de este grupo de algas en este tipo de cultivo en particular y posiblemente con un potencial aún no evaluado para ciertos cultivos de hortalizas. Tal vez un problema aún no resuelto sea la masificación a gran escala de estas algas y en definitiva del biofertilizante, sin embargo, una solución a ello podría ser el uso de biorrectores que comienzan en la actualidad a tener gran éxito en la masificación de microorganismos y a ser económicamente más rentable que otros medios de masificación..

A través de las distintas actividades de difusión se despertó el interés tanto entre los agricultores, empresarios, como la gente del mundo científico y el público en general, de conocer la función de estos organismos en este cultivo y los beneficios que ellos aportaban. Al cierre de este proyecto se trabajó en la presentación de un seminario, en el cual se dieron a conocer los resultados finales del proyecto como así mismo se preparó un manual que contendrá la metodología y los resultados más relevantes de este proyecto.

III. TEXTO PRINCIPAL

1. BREVE RESUMEN DE LA PROPUESTA

Dado las altas dosis de fertilizante nitrogenado sintético (100-120 Kg/ha) que se utilizan comúnmente en el cultivo de arroz en Chile, este proyecto tuvo como finalidad intentar reducir el consumo de fertilizante nitrogenado sintético (urea) tratando de propender hacia una agricultura más limpia y a su vez reducir los impactos ambientales negativos y además disminuir el costo de fertilización nitrogenada. Este objetivo se esperaba lograr gracias a la capacidad que poseen de ciertos organismos procariontes de vida libre, como son las algas verde-azules que tiene la capacidad de desarrollar un proceso bioquímico denominado fijación de nitrógeno, permitiendo de esta forma abonar o fertilizar estos suelos en forma natural.

En base a la información anterior, se planteó obtener un biofertilizante, a base de algas fijadoras de nitrógeno que provinieran de la flora cianofítica de los propios arrozales y que poseyeran los siguientes características: altas tasas de crecimiento y altas tasas de fijación de nitrógeno para ser aplicado primeramente en forma experimental en ensayos de macetas y posteriormente en ensayos de campos en suelos arroceros del país y de esa forma evaluar su posible uso como fertilizante natural contribuyendo a disminuir el uso de nitrógeno sintético.

Las muestras de algas fueron tomadas en triplicado, una de las muestras, se usó en la determinación taxonómica, las dos restantes fueron usadas en el aislamiento, cultivo y masificación. Los cultivos obtenidos fueron de tipo unialgal y se mantuvieron en cámara de crecimiento bajo las siguientes condiciones: entre 20-25°C y luz constante y una intensidad de luz de 800 lux. La tasa de crecimiento de las algas, se determinó mediante la obtención de peso seco del alga en un período de tiempo conocido y la tasa de fijación mediante la técnica de reducción acetileno-etileno. En la elaboración del biofertilizante, se utilizó un total de 4 especies, el cual fue posteriormente aplicado en suelos arroceros con la finalidad de fomentar la fertilidad del suelo en forma natural.

En este trabajo, se determinó un total de 12 especies de algas fijadoras de nitrógeno provenientes de 34 localidades de suelos arroceros chilenos comprendidos entre VI y VIII región. A 9 de ellas, se le determinó la tasa de fijación y a 5 de ellas la tasa de crecimiento. Con 4 de estas especies se elaboró el biofertilizantes. Los resultados obtenidos en los ensayos de campo revelan que es posible disminuir en un 50 % el uso de fertilizante nitrogenado con un ahorro de un 15,3 % en la fertilización.

1. Cumplimiento de los objetivos del proyecto:

Descripción breve de los resultados obtenidos

Uno de los primeros objetivos propuestos era coleccionar material algal de 30 localidades arroceras, comprendidas entre la sexta y la octava región, finalmente este número fue extendido a 4 localidades más. A partir de las localidades muestreadas en la primera temporada del cultivo de arroz fue posible determinar un total de 9 especies, en la segunda temporada, se encontraron 3 nuevas taxa, con lo cual el número total de taxa determinados ascendió a 12.

Respecto a la determinación de parámetros físico-químicos del suelo y del agua, se propuso originalmente determinarlos para un total de 30 localidades, sin embargo, sólo fueron analizadas 23 localidades, debido a que no se observaron variaciones significativas en la composición de nutrientes.

En forma paralela a la determinación de los parámetros físico-químicos, se determinó la abundancia relativa del BGA (Blue-green algae) de 11 localidades. Este objetivo no estaba contemplado en el proyecto, sin embargo, pareció importante hacer un análisis de esta naturaleza con la finalidad de conocer si las algas del suelo diferían sustancialmente de las muestras de agua y además evaluar distribucionalmente su abundancia in-situ.

Inicialmente se esperaba obtener un total de 10 taxa fijadoras de nitrógeno provenientes tanto de muestras de agua como de suelo, sin embargo, en una primera etapa se aislaron 8 taxa y en una segunda 4 más.

En relación a los medios de cultivo se propuso trabajar con agua tierra y chu-10, sin embargo, estos medios no resultaron ser los más apropiados para el desarrollo y crecimiento de las algas, por lo cual se optó por la utilización del medio Watanabe líquido y Agar-Watanabe. Utilizando especialmente Agar-Watanabe se logró masificar a pequeña escala alguno de los taxa que fueron utilizados posteriormente en la elaboración del biofertilizante en condiciones más adecuadas.

En una primera etapa fue posible mantener un máximo de 8 especies en cultivo de las 12 encontradas. No obstante, en el transcurso del desarrollo del proyecto hubo varias de estas especies que no fue posible mantenerlas vivas, para lo cual se variaron algunos factores nutricionales y de pH, sin resultados satisfactorios. Por esta razón sólo fue posible determinar la tasa de crecimiento y de fijación de 5 de estas especies, sin embargo, a otras 3 solo fue posible determinar su tasa de fijación de nitrógeno pero no su tasa de crecimiento, fundamentalmente porque los cultivos no se mantuvieron en el tiempo. De aquellas 5 especies a las cuales se le determinaron ambos parámetros (tasa de fijación de nitrógeno y tasa de crecimiento), solo 4 de ellas no presentaron mayores problemas en la mantención de sus cultivos, razón por la cual fueron finalmente las seleccionadas para desarrollar el biofertilizante.

El biofertilizante elaborado se obtuvo a partir de la mezcla de las 4 especies de algas seleccionadas en una proporción definida de acuerdo a su mayor capacidad de crecimiento y fijación de nitrógeno.

Otro de los objetivos era evaluar distintas formas de aplicación, dosis óptimas de biofertilización y su relación con distintas dosis de nitrógeno. Efectivamente, estos ensayos fueron realizados en dos temporadas consecutivas pero en localidades diferentes, para ello, se evaluó formas distintas de aplicación de biofertilizante entre las que se consideró: la aplicación sola o en mezclas, dosis distintas de nitrógeno con dosis distintas de biofertilizante y distintas prácticas de manejo como: preparación de suelo, manejo de agua y fertilización.

El biofertilizante obtenido fue primeramente probado en ensayos en maceta y posteriormente en ensayos de campo en dos temporadas consecutivas pero en localidades diferentes. En las aplicaciones de campo el biofertilizante fue suministrado bajo distintas prácticas de manejo del suelo arrocero.

2.2. CUMPLIMIENTO DE LAS METAS PROPUESTAS

RESULTADOS ESPERADOS E INDICADORES (metas/Logros)			
Resultado esperado	Indicador	Meta final propuesta	Meta final lograda
Colecta de material algal: Localidades muestreadas	N° de localidades	30	34
Determinación taxonómica de las especies encontradas	N° de taxa	10	12
Determinación de los parámetros físico-químicos del suelo y del agua asociados a cada localidad mustrada.	Parámetros físico-químicos	30	23
3.- Aislar y cultivar las especies de mayor distribución espacial dentro del área.	N° de taxa	10	4
4.- Seleccionar las especies y variedades de mayor eficiencia en la tasa fijación de nitrógeno y crecimiento.	N° de taxa	-	4
5.- Elaboración del biofertilizante	N° de taxa	1	1
6.- Transferir paquete tecnológico compatible con el uso de biofertilizante en arroz.	Paquete tecnológico	1	1
7.- Transferir los resultados a través de días de campo y publicaciones divulgativas	- Días de campo,	2	2
	- Presentación a congreso	0	1
	- Seminario	1	1
	- Manual divulgativo	0	1

Descripción breve de los impactos obtenidos

En base a la determinación taxonómica de las algas presentes en los arrozales y la determinación de su tasa de crecimiento y fijación de nitrógeno se pudo establecer:

1.- Un biofertilizante el cual fue elaborado con la finalidad de probarlo en los ensayos de campo.

Como resultado de los ensayos de campo realizados en las diferentes temporadas de siembra de arroz, se puede concluir que:

1.- El biofertilizante es compatible con las diferentes prácticas de manejo establecidos por los agricultores en la actualidad.

2.- En base a las distintas prácticas de manejo establecidas en los ensayos de campo junto a diversas dosis de fertilización nitrogenada sintética y de biofertilización se pudo establecer que:

La dosis de nitrógeno sintético utilizada comúnmente por los agricultores (120 Kg/ha) puede disminuirse a un 50% y el excedente ser reemplazado por el biofertilizante con resultados equivalentes en el rendimiento del cultivo de arroz.

Además, mediante esta práctica se puede disminuir en un 15,3% los costos de fertilización nitrogenada.

3.- ASPECTOS METODOLOGICOS DEL PROYECTO:

3.1.- Descripción de la metodología efectivamente utilizada

A) COLECTA DEL MATERIAL ALGAL

De cada localidad se obtuvo muestras de agua con algas en tres períodos durante el crecimiento y desarrollo del cultivo de arroz, colectando en cada período tres muestras acuosas en frascos de vidrio, las cuales fueron transportadas al laboratorio en una nevera Coleman para su posterior análisis. Una de las muestras fue fijada con formalina al 4 % con la finalidad de ser utilizadas en la determinación taxonómica, y las otras dos restantes se usaron para el aislamiento y cultivo de las algas.

B) DETERMINACION TAXONOMICA

La determinación taxonómica se realizó con la ayuda de una lupa binocular Kyowa y un microscopio Nikon Optiphot equipado con una cámara clara, una cámara microfotográfica y ocular graduado. Para la determinación taxonómica, se usó bibliografía especializada: Desikachary (1959), Geitler (1932). Los caracteres usados en la determinación taxonómica fueron el ancho y largo de los tricomas; y forma, tamaño y color de las células vegetativas, heterocistos y aquinetas. Y además, textura y ornamentación de la pared celular de las aquinetas.

C) MEDIOS DE CULTIVO, METODOS DE AISLAMIENTO, MANTENIMIENTO DE CULTIVOS UNIALGALES Y MASIFICACION DE LOS CULTIVOS.

C.1) MEDIOS DE CULTIVO

Se usaron dos medios de cultivos: Watanabe líquido y Agar Watanabe. Ambos medios carecen de cualquier tipo de fuente de nitrógeno, pero el primero es líquido y el segundo coloidal o semisólido.

Los componentes y la forma de preparación de estos medios de cultivo son:

a) Medio Watanabe líquido

<u>Reactivos</u>	<u>g/l</u>
K ₂ HPO ₄	0,3
MgSO ₄	0,2
CaCl ₂ (2H ₂ O)	0,05 (0,0662)
*Tartrato férrico	1 ml (2-3 gotas)

**Solución A₆ 1 ml

***Preparación de solución stock de tartrato férrico**

Pesar 5 g de ácido tartárico y 5 g tricloruro de fierro y llevar a 1 litro de agua destilada.

****Preparación de Solución stock de A₆**

Reactivos	g/l
H ₃ BO ₃	2,86
MnCl ₂ x 4H ₂ O	1,81
ZnSO ₄ x 7H ₂ O	0,222
Na ₂ MoO ₄ x 2H ₂ O	0,391
CuSO ₄ x 5H ₂ O	0,079
CoCl ₂ x 6H ₂ O	0,0415

Disolver en 1 litro de agua destilada.

Preparación de una solución stock de medio Watanabe 10 veces concentrado

Reactivos	g/l
K ₂ HPO ₄	3,0 g
MgSO ₄	2.0 g
CaCl ₂ (2H ₂ O)	0,5 g
Tartrato férrico	20-30 gotas
Solución A ₆	10 ml

1.- Llevar a 1 litro con agua destilada. Autoclavar durante 20 min. A 120 °C y 1 atm. de presión.

Preparación de un litro de medio de cultivo Watanabe a partir de la solución stock concentrada.

Tomar 100 ml de medio Watanabe 10 veces concentrado y completar con 900 ml de agua destilada. El pH debe quedar entre 7 a 7,5, sino ajustar a pH: 7-7,5 con KOH o HCl. Autoclavar durante 20 min., a 120 °C y 1 atm. de presión.

b) Medio Agar Watanabe

La composición química de este medio es similar a Watanabe líquido, salvo que a éste se adiciona 15 g de Agar por litro. Este medio se utiliza fundamentalmente para masificar las algas, ya que en general todas las especies analizadas, crecen a una tasa de crecimiento mayor que en el medio Watanabe líquido.

C. 2: METODOS DE AISLAMIENTO

Para el aislamiento de las algas fijadoras de nitrógeno, se procedió a trasvasiar todo el contenido de los frascos en placas Petri, el cual fue cuidadosamente examinado bajo una lupa estereoscópica para individualizar las algas y proceder a su aislamiento. Dependiendo del tipo de alga a aislar, se utilizó la técnica de lavados sucesivos en vidrio reloj, transfiriéndolas de un vidrio reloj a otro con una respectiva pipeta pasteur (Micropipete Washing Technique) debidamente esterilizada. Antes de comenzar el lavado, se acumuló cierta cantidad de algas en un vidrio reloj, previa observación microscópica del taxon en cuestión.

En otros casos, se utilizó la técnica de dilución en tubos de ensayos que consiste en una dilución a lo menos 5 a 10 veces en agua destilada para su posterior siembra bajo la cámara de flujo laminar.

C. 3: MANTENIMIENTO DE LOS CULTIVOS UNIALGALES

Los cultivos fueron mantenidos en una cámara de cultivo bajo las siguientes condiciones: Temperatura entre 20-25 °C, fotoperíodo: 14 hr/luz; 10 hr/oscuridad y a una intensidad de luz de 800 lux.

C. 4: MASIFICACION DE LAS ALGAS FIJADORAS DE NITROGENO

Para la masificación de las algas, se procedió a homogeneizar las algas mediante un potter. A partir de este homogeneizado, se inocularon por medio de una pipeta Pasteur algunas gotas de la solución algal, las cuales fueron sembradas en placas Petri con un medio de cultivo sólido (Agar Watanabe sin nitrógeno), las cuales fueron colocadas en una cámara de cultivo a luz constante y una temperatura de 25°C y una intensidad de luz de 800 lux. Después de 4 semanas de crecimiento, éstas fueron trasvasiadas a matraces con medio Watanabe líquido y de esta forma, se prosiguió hasta obtener la suficiente cantidad algal para ser utilizadas en los ensayos en macetas y posteriormente para la obtención de estas en la elaboración del biofertilizante.

D.- COLECTA DE MUESTRAS DE SUELOS PARA AISLAR ALGAS

Mediante un barreno se obtuvieron muestras de suelos, las cuales se depositaron en frascos de vidrio y se trasladaron al laboratorio. Posteriormente las muestras, se secaron en una estufa a 75 °C, para determinar su peso (en gramos); una vez conocido su peso a cada frasco se le agregaron 200 ml de agua destilada, estas muestras se homogeneizaron y del sobrenadante, se procedió a realizar el método de dilución. Este método consiste en lo siguiente: Se toma del sobrenadante 1 ml de solución, y ésta es traspasada a un tubo de ensayo que contiene 9 ml de agua destilada, se homogeniza la solución resultante, la cual queda a una concentración de 1:10; de esta solución se toman 1 ml y se traspasa a un nuevo tubo que contiene 9 ml de agua destilada esterilizada, y así se prosigue hasta obtener una concentración de 1:1000, o más si fuera necesario. De cada uno de estos tubos, se toman 0,1 ml y se siembran en placas Petri, las

que contienen medio Agar Watanabe sin nitrógeno. El objetivo de dicho procedimiento es obtener colonias algales que puedan ser manipuladas individualmente con la menor contaminación posible, de las que presenten estas características, serán nuevamente repicadas en placas Petri que contienen medio Agar Watanabe sin nitrógeno, para obtener cultivos unialgales; los cuales se utilizarán para propósitos de masificación. Estas placas fueron depositadas en una cámara de cultivo a 25°C y luz continua, al cabo de tres semanas las algas que allí crecieron fueron aisladas y sembradas en matraces Erlenmeyer con medio líquido Watanabe para su masificación. Todo este procedimiento se realizó en una cámara de flujo laminar para evitar de esta forma una posible contaminación.



Foto: Muestra algal en medio Cultivo Watanabe líquido.

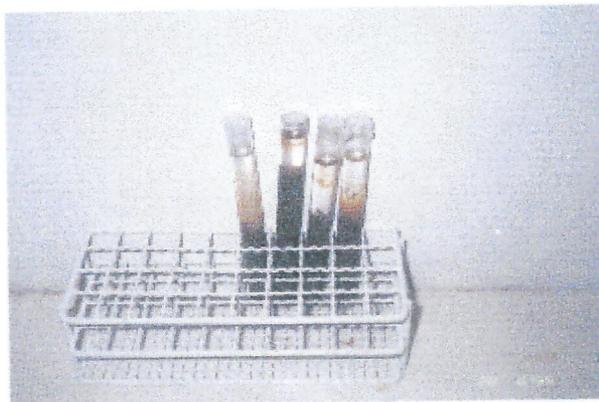


Foto : Muestra de suelo

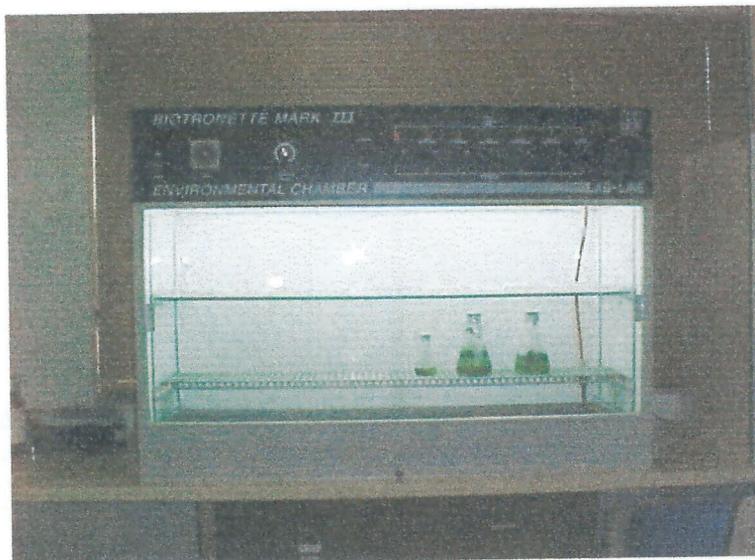


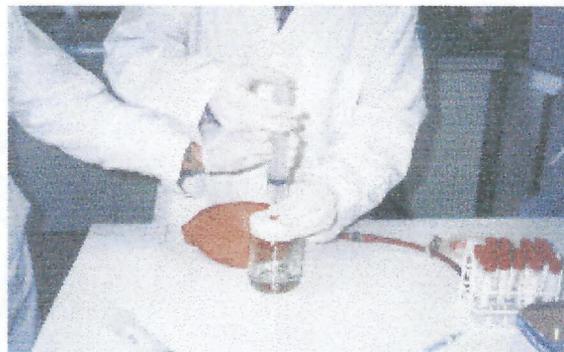
Foto: Mantenimiento de las algas en Cámara de cultivo

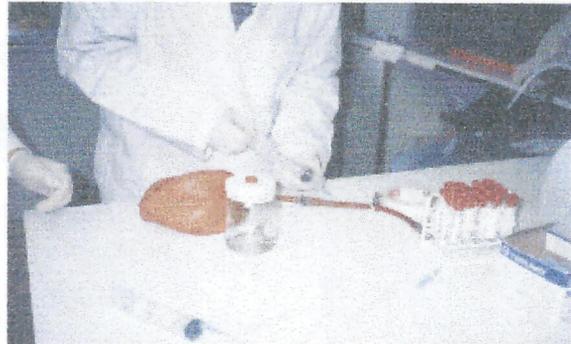
E.- DETERMINACION DE NUTRIENTES EN MUESTRAS DE SUELOS

Se determinó un total de 11 nutrientes (Mo, N, P, K, Na, Zn, Fe, Cu y Mn) además del pH del suelo. Las determinaciones de los diferentes nutrientes se realizaron de acuerdo a métodos rutinarios de análisis de muestras de suelos en el Laboratorio de Suelo del Centro Regional de Investigación Quilamapu, Chillán.

F.- DETERMINACION DE LA TASA DE FIJACIÓN DE NITROGENO DE LAS ALGAS AISLADAS Y CULTIVADAS EN EL LABORATORIO

Las estimaciones de las tasas de fijación de nitrógeno, se efectuaron con muestras de algas obtenidas durante los meses de Diciembre de 1998 a Marzo de 1999 y a su vez con las especies aisladas al inicio de este trabajo y masificadas en el laboratorio, en medio de cultivo Watanabe. Se tomaron 25 cc de medio de cultivo con algas y se transfirieron a frascos de vidrio sellados de 450 cc de capacidad, como muestra la foto 4, reduciendo el volumen de aire a 425 cc. Luego, se extrajo el 10 % de volumen de aire, es decir, 42,5 cc. Posteriormente ese volumen de aire es reemplazado por 42,55 cc. De acetileno, para dicho propósito, se utilizó una jeringa de 500 cc. Este procedimiento, se realizó para 9 muestras incluyendo un blanco (Sin material algal), con tres repeticiones. Luego, los frascos se depositaron en una caja sellada herméticamente con cinta adhesiva, para mantenerlos en incubación por tres horas a la oscuridad. Al término de la incubación, se extrajo aire de cada muestra, utilizando para ello una aguja doble y se transfirió a un tubo venojet de 10 ml., previamente rotulado. En ellos, se determinó la concentración de etileno en un cromatógrafo Perkin Elmer modelo 8600 equipado con un detector de ionización de llama y una columna empacada poropak N. La temperatura de trabajo de inyección fue de 75 grados Celsius. La concentración de la muestra, se determinó comparándola con altura pick de curvas de etileno. La actividad de reducción de acetileno se expresó como moles de etileno producidos por hora.





G.- DETERMINACION TASA DE CRECIMIENTO

Para determinar la tasa de crecimiento en biomasa algal, primeramente se procedió a la activación celular de las algas, la cual consiste en adicionar medio de cultivo nuevo a un cultivo de alga previamente establecido por un período de 24 horas, con la finalidad de que todas las algas reinicien por igual su división celular. Transcurrido este período se procede a disgregar las masas algales utilizando un potter esmerilado con la finalidad de homogeneizar el cultivo.

Posteriormente se toma una alicuota de 5 ml del medio de cultivo homogeneizado y se transfiere a un matraz Erlenmeyer que contiene 20 ml de medio Watanabe líquido esterilizado, para de esta forma llevar un registro del crecimiento algal en un período determinado de tiempo (curva de crecimiento). En paralelo, se toman 5 ml de cultivo algal y se transfieren a pesa filtros debidamente rotulados y pesados con el propósito de determinar la cantidad en gramos de algas inoculados en los 5 ml, este proceso se realiza en triplicado y el material es secado en una estufa por 48 horas a 50°C. (peso seco).

Cabe señalar que este proceso se realiza bajo condiciones de esterilidad adecuadas, utilizando para ello una cámara de flujo laminar. Se utilizan 12 matraces para evaluar el crecimiento exponencial de las algas, contabilizando por triplicado días 3, 5, 7 y 14.



I.- ESTABLECIMIENTO DEL BIOFERTILIZANTE

Se estableció un biofertilizante en base 4 algas fijadoras de nitrógeno: Las algas utilizadas en la elaboración del biofertilizante fueron: *Nostoc* sp1., *Anabaena iyengarii* var. *tenuis*, *Nostoc linckia* y *Nostoc* sp2.

Para la elaboración del mismo se mezclaron estas algas en los siguientes porcentajes:

Material Algal utilizado para la elaboración del biofertilizante: 24,584 gr.

	Dosis de Alga Utilizada	Porcentaje
<i>Nostoc</i> sp1.	11,065gr.	45%
<i>Anabaena iyengarii</i> var. <i>tenuis</i>	6,148 gr.	25%
<i>Nostoc linckia</i>	6,148 gr.	25%
<i>Nostoc</i> sp2.	<u>1,223 gr.</u>	<u>5%</u>
TOTAL →	24,584 gr	100%

Stock de cada Alga

	Material Algal disponible
<i>Nostoc</i> sp1.	11,639 gr.
<i>Anabaena iyengarii</i> var. <i>tenuis</i>	6,780 gr.
<i>Nostoc linckia</i>	8,880 gr.
<i>Nostoc</i> sp2	2,000 gr.

J.- PLANIFICACION DE LOS ENSAYOS EN MACETAS.

Se planteó un set de ensayos con los siguientes tratamientos:

Tratamiento 1: Este ensayo, se planificó en base a la variación en la concentración de N sintético (Urea) respecto a concentraciones crecientes de una especie en particular, en este caso el alga corresponde a *Gloeotrichia natans*.

→ 4 NIVELES.

T N° 1				
	0	60	120	240
<i>Gloeotrichia natans</i> 0 ml	0	0	0	0
<i>Gloeotrichia natans</i> 5 ml	5	5	5	5
<i>Gloeotrichia natans</i> 10 ml	10	10	10	10
<i>Gloeotrichia natans</i> 20 ml	20	20	20	20

Tratamiento 2: Este ensayo, se planificó en base a la variación de la concentración de N sintético (urea) y concentraciones variables de otra especie de alga, en este caso *Noctoc linkia*

→ K₂NH₂

T N° 2				
	0	60	120	240
<i>Nostoc linckia</i> 0 ml				
<i>Nostoc linckia</i> 5 ml	5	5	5	5
<i>Nostoc linckia</i> 10 ml	10	10	10	10
<i>Nostoc linckia</i> 20 ml	20	20	20	20

Tratamiento 3: Este ensayo, se planificó con la finalidad de evaluar distintas dosis de la misma especie algal (*Nostoc* sp. 2) en relación a dos dosis de nitrógeno.

→ K₂NH₂

T N° 3		
	0	120
<i>Nostoc</i> sp. 2 0 ml		
<i>Nostoc</i> sp. 2 10 ml	10	10
<i>Nostoc</i> sp. 2 20 ml	20	20

Tratamiento 4: Este ensayo, se planificó con la finalidad de evaluar concentraciones crecientes de alga (*Nostoc* sp. 1) y diferentes dosis de nitrógeno. Además se evaluó la efectividad de una mezcla de algas en el crecimiento de las plantas de arroz.

→ K₂NH₂

T N° 4		
	0	120
<i>Nostoc</i> sp. 1 10 ml	10	10
<i>Nostoc</i> sp. 1 20 ml	20	20
Mezcla algal 20 ml	20	20

Mezcla algal: *Nostoc* sp. 1 + *Anabaena iyengarii* var. *tenuis*

b) Planificación y montaje de ensayos en macetas.

b.1 Diseño experimental para los ensayos en maceta.

Para el montaje del ensayo se utilizó el siguiente diseño experimental que consiste en un arreglo factorial de 4 dosis de nitrógeno y 4 dosis de alga x 4 repeticiones. Para ello se utilizaron 152 macetas.

Las dosis de N utilizadas fueron 0, 60, 120 y 240 Kg N/ha utilizando como fuente nitrogenada Urea. También se utilizó Fósforo y Potasio suministrados a partir de Super Fosfato Triple y Muriato de Potasio respectivamente a iguales dosis (120 Kg/ha).

Para suministrar las respectivas dosis de nutrientes, se procedió a medir el diámetro interno de cada maceta, y luego a partir de una conversión de unidades, se determinó la cantidad equivalente en gramos de nutrientes a incorporar en cada una de ellas. En forma simultánea, se preparaba la tierra para incorporar dichos nutrientes. La tierra fue tamizada para obtener un suelo lo más homogéneo posible. Debido a que se contaba con sólo 5 especies algales (*G. natans*, *N. linckia*, *N. sp1*, *N sp2*, *A. Iyengarii var. tenuis*), las cuales se encontraban en distintas cantidades, se optó por realizar sólo cuatro tratamientos, de los cuales dos fueron completos, es decir se combinaron distintas dosis de nitrógeno versus distintas dosis de algas; para los otros dos tratamientos solo se pudo combinar dos dosis de nitrógeno y dos dosis de algas.

T N° 1				
	0	60	120	240
<i>Gloeotrichia natans</i> 0 ml	0	0	0	0
<i>Gloeotrichia natans</i> 5 ml	5	5	5	5
<i>Gloeotrichia natans</i> 15 ml	10	10	10	10
<i>Gloeotrichia natans</i> 20 ml	20	20	20	20

Para el tratamiento N° 2 se utilizó *Nostoc linckia*, siguiendo el mismo procedimiento anterior, sólo que no se usó control ya que se consideró el mismo del primer tratamiento; tal como se muestra en el siguiente cuadro resumen:

T N° 2				
	0	60	120	240
<i>Nostoc linckia</i> 0 ml				
<i>Nostoc linckia</i> 5 ml	5	5	5	5
<i>Nostoc linckia</i> 10 ml	10	10	10	10
<i>Nostoc linckia</i> 20 ml	20	20	20	20

Para el tratamiento N°3, no se utilizó patrón ya que se consideró el mismo del tratamiento N°1; pero sólo a dos dosis de N (0 y 120 kgN/ha).

T N° 3		
	0	120
<i>Nostoc</i> sp. 2 0 ml		
<i>Nostoc</i> sp. 2 10 ml	10	10
<i>Nostoc</i> sp. 2 20 ml	20	20

Para el tratamiento N°4, nuevamente se utilizó como patrón el mismo del tratamiento N°1.

En este tratamiento se utilizó *Nostoc* sp. 1 y además una mezcla algal que consiste en *Nostoc* sp. 1 y *Anabaena iyengarii* var. *tenuis*

T N° 4		
	0	120
<i>Nostoc</i> sp. 1 0 ml		
<i>Nostoc</i> sp. 1 10 ml	10	10
<i>Nostoc</i> sp. 1 20 ml	20	20
Mezcla algas 20 ml	20	20

1.) Preparación del suelo.

La tierra utilizada para los ensayos en maceta proviene del área arroceras de la VII Región. Aproximadamente se colectaron 10 sacos de tierra, los cuales posteriormente fueron tamizados (10 µm), para obtener un suelo más homogéneo. Posteriormente, se realizó la incorporación de los nutrientes. Para ello cada dosis de nutriente se disolvió en agua y esta solución se mezcló con la tierra. Antes de poner el suelo a las macetas los orificios de estas, se sellaron utilizando silicona. Una vez selladas se dejaron en el invernadero durante un día, para que la silicona se seque apropiadamente.

2.) Preparación del material algal.

Cada una de las especies algales, fue mantenida bajo condiciones apropiadas de laboratorio hasta el momento de ser utilizadas. Cada matraz contenía alga + medio de cultivo, para la inoculación posterior en las macetas se procedió a eliminar el medio de cultivo, siendo transferidas a un nuevo matraz que contenía solamente agua destilada. Una vez echo esto, las muestras fueron homogeneizadas por medio de una juguera.

3.) Preparación de las semillas de arroz.

Las semillas de arroz que se utilizaron para los ensayos corresponden a la variedad Diamante. Estas semillas se dejaron por un espacio de una semana en agua, logrando de esta forma su germinación. Pasado este período, las semillas se sembraron en las respectivas macetas y una semana más tarde se procedió a la inoculación algal.

4.) Inoculación del material algal.

Después de una semana de sembradas las semillas, se procedió a la inoculación de las algas. Para ello, se utilizó una macropipeta y un agitador magnético con la finalidad de reducir la pérdida de material algal. Para conocer las dosis de algas aplicadas (en gramos) se procedió a colocar en un pesa filtro las dosis en ml aplicadas de las mismas, todas por triplicado.

K.- ESTABLECIMIENTO DE LOS ENSAYOS DE CAMPO EN LAS 4 LOCALIDADES.

ACTIVIDADES REALIZADAS DURANTE LA TEMPORADA 2000/2001

OBJETIVO N°1: Determinar formas de aplicación y dosis óptima de biofertilización y su relación con las dosis de Nitrógeno.

1.1.- Formas de Aplicación:

Localidad: Chillán (Quilamapu)

Se evaluarán 4 formas de aplicación del Biofertilizante considerando algunas combinaciones con el herbicida.

Se utilizará una dosis media de Biofertilizante (60 gr/ha) y un diseño de Bloques Completamente al Azar

4 parcelas (15 m² por parcela) * **4 repeticiones** = **16 parcelas**

T1: Biofertilizante aplicado en presiembra (90 mg * 1 parcela).

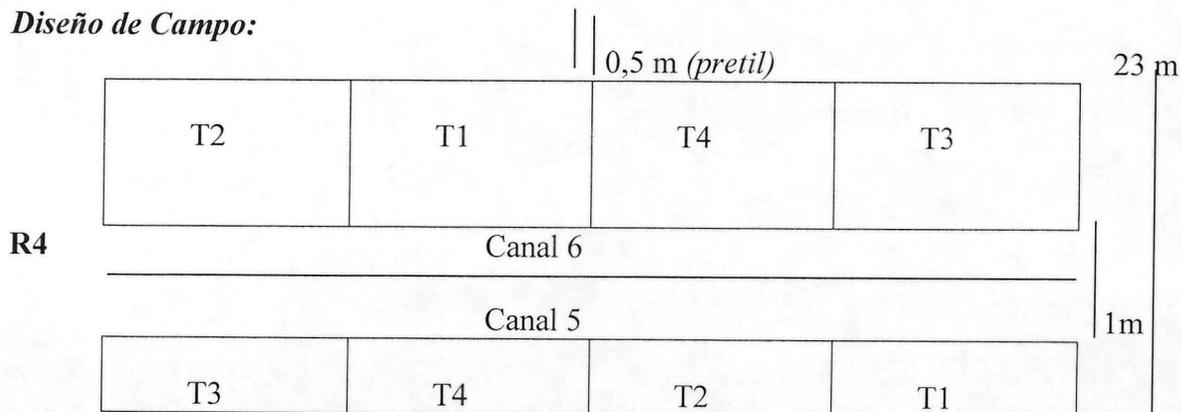
T2: Biofertilizante aplicado a la siembra (90 mg * 1 parcela).

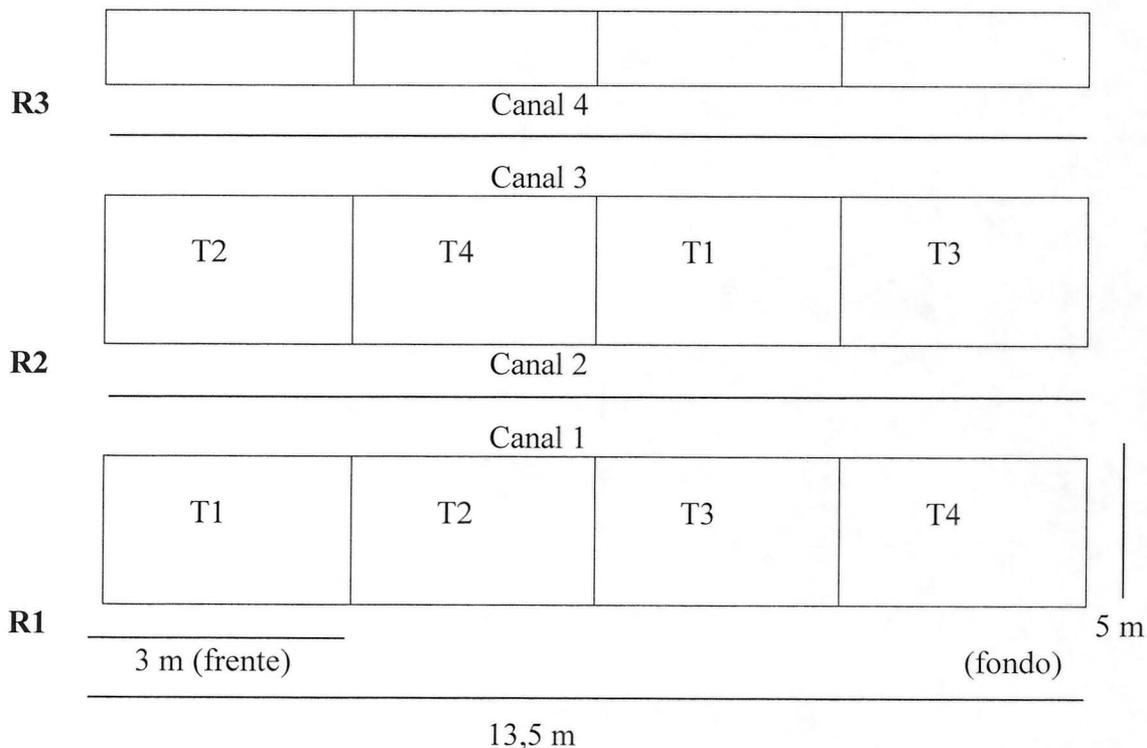
T3: Biofertilizante aplicado en mezcla con el herbicida (90 mg * 1 parcela).

T4: Biofertilizante aplicado en la macolla (90 mg * 1 parcela).

Requerimiento de Biofertilizante = 90 mg/parcela * 16 parcelas = 1.440 mg.

Diseño de Campo:





Nota: El diseño de campo puede variar según condiciones existentes.

Starter: (200 g Urea + 195 g SFT + 150 g Muriato) * 16 parcelas

Requerimiento total = 3.200 g Urea, 3.120 g SFT, 2.400 g Muriato.

Fecha de siembra: 13 de noviembre.

La aplicación de fertilizantes se realizó junto a la siembra.

1.2.- Dosis óptima de Biofertilización:

Localidades: 1) Titinvalo.
2) Linares.

Se utilizará un DBA con Arreglo Factorial de 4*5 con 3 repeticiones.

4 dosis de N (0-30-60-120 Kg/ha)

5 dosis de Biofertilizante (0-15-30-60-120 gr/ha)

60 parcelas * 2 localidades = **120 parcelas** (15 m² por parcela)

Tratamientos de Fertilización:

- F1: 0 g N/parcela * 5 parcelas * 3 repeticiones * 2 localidades = 0 g de N
F2: 45 g N/parcela * 5 parcelas * 3 repeticiones * 2 localidad. = 1.350 g de N
F3: 90 g N/parcela * 5 parcelas * 3 repeticiones * 2 localidad. = 2.700 g de N
F4: 180 g N/parcela * 5 parcelas * 3 repeticiones * 2 localidad. = 5.400 g de N

Requerimiento de N = 9.450 g (21.000 g de Urea)

Tratamientos de Biofertilización:

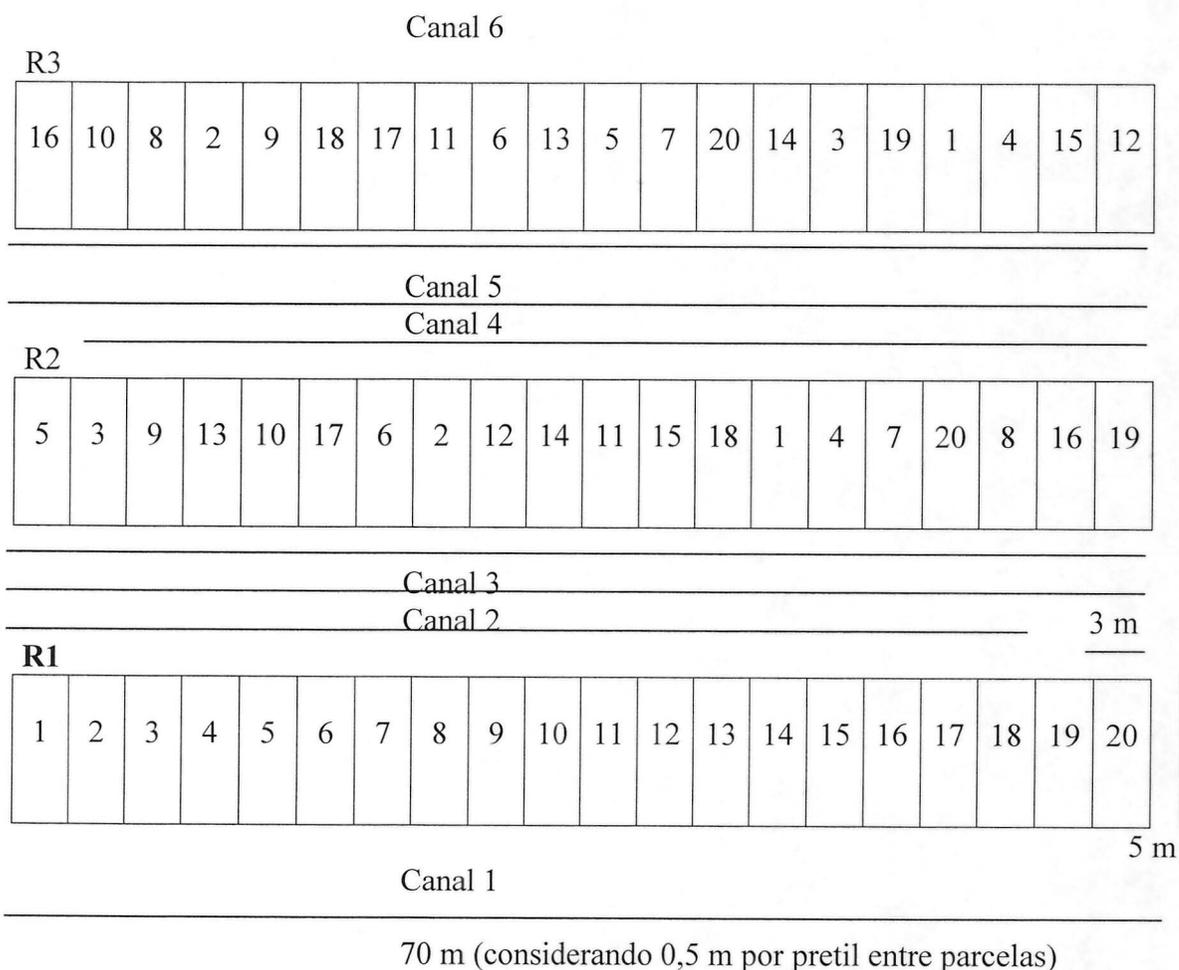
- B1: 0 mg de Biofert./parcela * 4 parcelas principales * 3 repet. * 2 localidades = 0 mg de Biofertilizante.
B2: 22,5 mg de Biofert./parcela * 4 parcelas principales * 3 repet * 2 localidades = 540 mg de Biofertilizante.
B3: 45 mg de Biofert./parcela * 4 parcelas principales * 3 repet. * 2 localidades = 1.080 mg de Biofertilizante.
B4: 90 mg de Biofert./parcela * 4 parcelas principales * 3 repet. * 2 localidades = 2.160 mg de Biofertilizante.
B5: 180 mg de Biofert./parcela * 4 parcelas principales * 3 repet * 2 localidades = 4.320 mg de Biofertilizante.

Requerimiento de Biofertilizante = 8.100 mg

Evaluaciones a realizar:

- 1) Conteo de población de algas cianofíticas (Método NMP).
- 2) Eficiencia de fijación de N *in Situ* (Método reducción de Acetileno).
- 3) Rendimiento de grano y componentes de rendimiento.
- 4) Contenido y extracción de N (grano + paja).

Diseño de Campo para 1 localidad:



Nota: el diseño en el campo puede variar de acuerdo a condiciones existentes.

Descripción de tratamientos (combinaciones):

- 1 = N0 + Alga 0 = Testigo 0
- 2 = N0 + Alga 15 = 22,5 mg de algas
- 3 = N0 + Alga 30 = 45 mg de algas
- 4 = N0 + Alga 60 = 90 mg de algas
- 5 = N0 + Alga 120 = 180 mg de algas
- 6 = N30 + Alga 0 = 45 g N = 100 g Urea
- 7 = N30 + Alga 15 = 45 g N + 22,5 mg de algas = 100 g Urea
- 8 = N30 + Alga 30 = 45 g N + 45 mg de algas = 100 g Urea
- 9 = N30 + Alga 60 = 45 g N + 90 mg de algas = 100 g Urea
- 10 = N30 + Alga 120 = 45 g N + 180 mg de algas = 100 g Urea

11 = N60 + Alga 0 = 90 g N	= 200 g Urea
12 = N60 + Alga 15 = 90 g N + 22,5 mg de algas	= 200 g Urea
13 = N60 + Alga 30 = 90 g N + 45 mg de algas	= 200 g Urea
14 = N60 + Alga 60 = 90 g N + 90 mg de algas	= 200 g Urea
15 = N60 + Alga 120 = 90 g N + 180 mg de algas	= 200 g Urea
16 = N120 + Alga 0 = 180 g N	= 400 g Urea
17 = N120 + Alga 15 = 180 g N + 22,5 mg de algas	= 400 g Urea
18 = N120 + Alga 30 = 180 g N + 45 mg de algas	= 400 g Urea
19 = N120 + Alga 60 = 180 g N + 90 mg de algas	= 400 g Urea
20 = N120 + Alga 120 = 180 g N + 180 mg de algas	= 400 g Urea

Starter: (195 g SFT + 150 g Muriato) * 60 parcelas * 2 localidades

Requerimiento total: 23.400 g SFT, 18.000 g Muriato, 21.000 g Urea

Siembra: En Titinvilo se sembró el día 22 de noviembre de 2000.

En Linares se sembró el día 28 de noviembre de 2000.

La aplicación de fertilizantes se realizó al momento de siembra.

OBJETIVO N°2: Diseñar prácticas de manejo compatibles con la aplicación de biofertilizantes.
(preparación de suelos, fertilización, manejo de agua, control de malezas).

2.1.- Efecto de la preparación de suelo sobre la eficiencia del Biofertilizante:

Localidad: Chillán (Quilamapu)

- Sistema tradicional (aradura y rastraje).
*90 mg de Biofertilizante/parcela * 1 parcela = 90 mg.*
- Preparación en agua (aradura y fangueo).
*90 mg de Biofertilizante/parcela * 1 parcela = 90 mg.*
- Barbecho químico.
*90 mg de Biofertilizante/parcela * 1 parcela = 90 mg.*
- Sistema mixto (aradura y rastraje + barbecho químico)
*90 mg de Biofertilizante/parcela * 1 parcela = 90 mg.*

4 parcelas (15 m² por parcela) * **4 repeticiones** = **16 parcelas.**

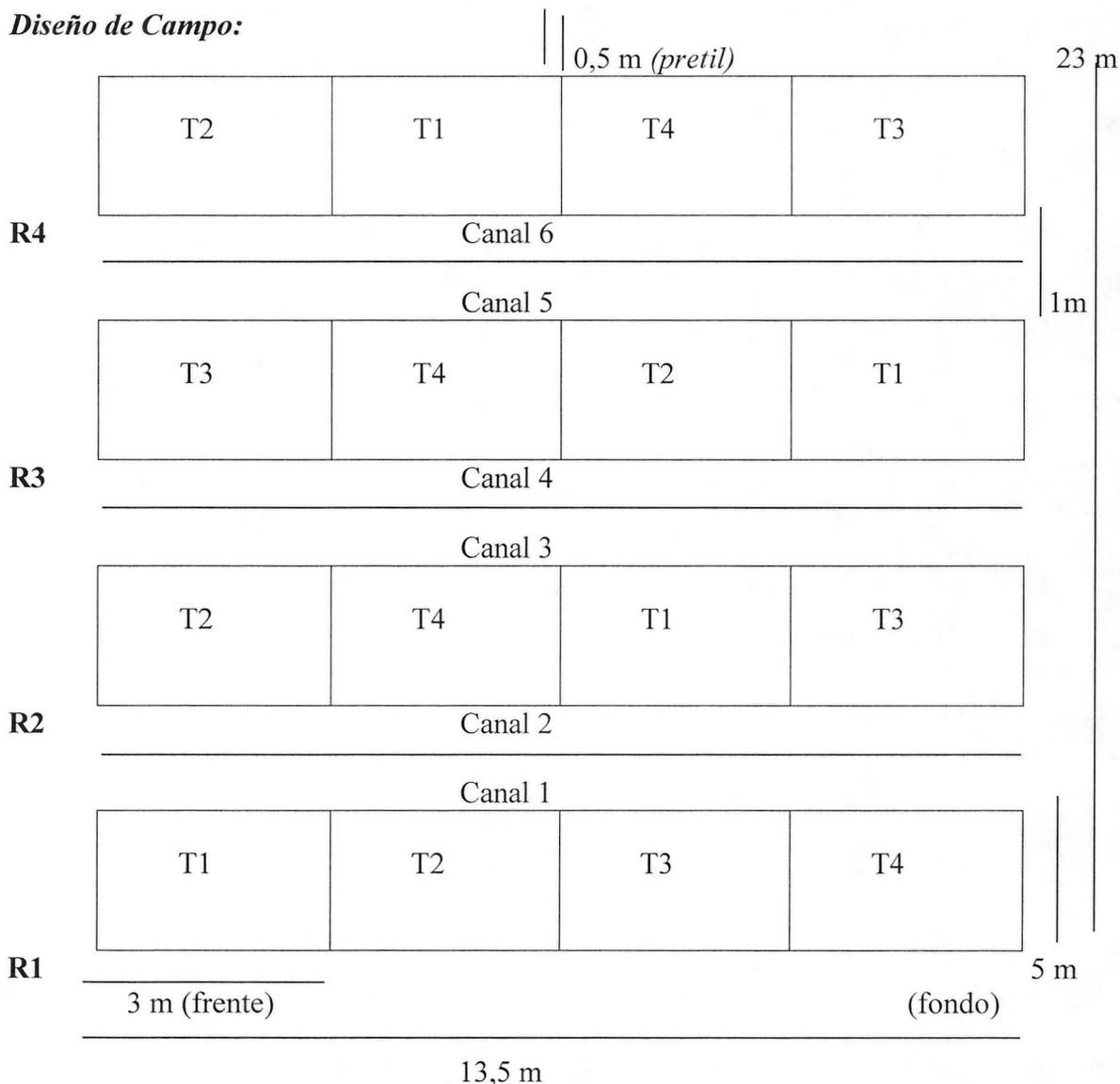
Requerimiento de Biofertilizante = 1.440 mg.

Evaluaciones a realizar:

- 1) Conteo de población de algas cianofíticas (Método NMP).
- 2) Eficiencia de fijación de N *in Situ* (Método reducción de Acetileno).
- 3) Rendimiento de grano y componentes de rendimiento.

4) Contenido y extracción de N (grano + paja).

Diseño de Campo:



Nota: el diseño en el campo puede variar de acuerdo a condiciones existentes.

Starter: (200 g Urea + 195 g SFT + 150 g Muriato) * 16 parcelas

Requerimiento total = 3.200 g Urea, 3.120 g SFT, 2.400 g Muriato.

Siembra: La fecha de siembra fue el 13 de noviembre de 2000.

La aplicación de fertilizantes se realizó al momento de siembra.

2.2.- Efecto del manejo de la lámina de agua sobre la eficiencia del Biofertilizante:

Localidad: Chillán (Quilamapu)

Se usará un DBA con Arreglo en parcelas divididas de 4 * 2 y 3 repeticiones.
 4 láminas de agua (5, 10, 20, 40 cm).
 2 sistemas de irrigación (flujo continuo y reposición).

24 parcelas (15 m² por parcela)
 1 dosis promedio de 60 gr de biofertilizante/ha
 equivalente a **90 mg de Biofertilizante/parcela**.

Parcela principal: Sistema de irrigación.
 Parcela Secundaria: Láminas de agua.

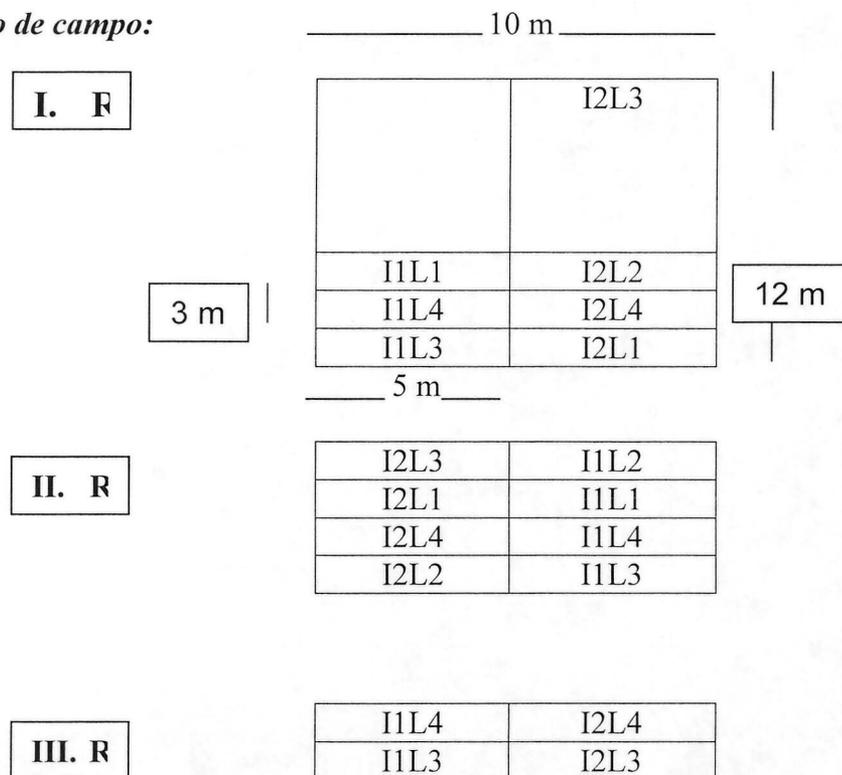
24 parcelas * 90 mg/parcela = 2.160 mg de Biofertilizante

Requerimiento de Biofertilizante = 2.160 mg

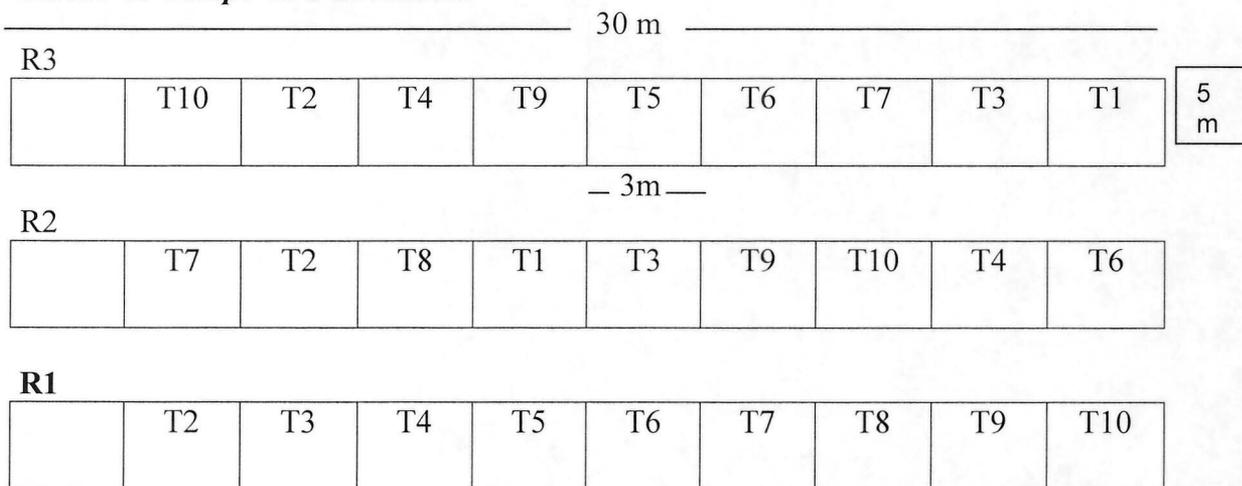
Evaluaciones a realizar:

- 1) Conteo de población de algas cianofíticas (Método NMP).
- 2) Eficiencia de fijación de N *in Situ* (Método reducción de Acetileno).
- 3) Rendimiento de grano y componentes de rendimiento.
- 4) Contenido y extracción de N (grano + paja).

Diseño de campo:



Diseño de Campo en 1 Localidad:



Nota: el diseño en el campo puede variar de acuerdo a condiciones existentes.

Requerimiento de fertilizantes:

200 g Urea * 7 tratamientos * 3 repeticiones = 4.200 g de Urea (21 bolsitas)

195 g SFT * 7 tratamientos * 3 repeticiones = 4.095 g de SFT (21 bolsitas)

150 g de KCl * 7 tratamientos * 3 repeticiones = 3.150 g de KCl (21 bolsitas)

3 Kg de Cal * 7 tratamientos * 3 repeticiones = 63 Kg de Cal (21 bolsitas)

15 g de SO₄Zn * 7 tratamientos * 3 repeticiones = 315 g de SO₄Zn (21 bolsitas)

15 g de SO₄Cu * 7 tratamientos * 3 repeticiones = 315 g de SO₄Cu (21 bolsitas)

15 g de Borax * 7 tratamientos * 3 repeticiones = 315 g de Borax (21 bolsitas)

Siembra: En Peralillo se sembró los días 7 y 8 de 2000.
En Titinvilo se sembró el 22 de noviembre de 2000.

La aplicación de fertilizantes se realizó al momento de siembra.

2.4.- Efecto de la aplicación de distintos tratamientos herbicidas sobre la eficiencia del Biofertilizante.

- Localidades:**
- 1) Peralillo.
 - 2) Titinvilo.
 - 3) Chillán.

Se usará un DBA con 5 tratamientos y 3 repeticiones.

15 parcelas por localidad con 1 dosis media de Biofertilizante (60 gr/ha).
Equivalente a 90 mg de Biofertilizante/parcela

- T0: Biofertilizante a la siembra sin aplicación posterior de Herbicida
 T1: Biofertilizante a la siembra + una mezcla de Sirius y Molinate aplicados a la macolla.
 T2: Biofertilizante a la siembra + una mezcla de Oryza y Molinate aplicados a la macolla.
 T3: Biofertilizante + una mezcla de Sirius y Molinate, todos aplicados a la macolla.
 T4: Biofertilizante + una mezcla de Oryza y Molinate, todos aplicados a la macolla.

45 parcelas. (15 m² por parcela)

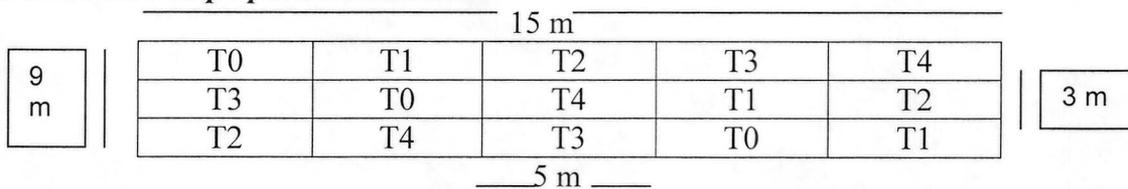
90 mg de Biofertilizante/parcela * 45 parcelas = 4.050 mg

Requerimiento de Biofertilizante = 4.050 mg

Evaluaciones a realizar:

- 1) Conteo de población de algas cianofíticas (Método NMP).
- 2) Eficiencia de fijación de N *in Situ* (Método reducción de Acetileno).
- 3) Rendimiento de grano y componentes de rendimiento.
- 4) Contenido y extracción de N (grano + paja).

Diseño de Campo para 1 Localidad:



Nota: El diseño en el campo puede variar de acuerdo a condiciones existentes.

Requerimiento de fertilizantes:

- 200 g Urea * 45 parcelas = 9.000 g de Urea
 195 g SFT * 45 parcelas = 8.775 g de Urea
 150 g KCl * 45 parcelas = 6.750 g de KCl

Siembra: En Chillán se sembró el 13 de noviembre de 2000.
En Peralillo se sembró los días 7 y 8 de noviembre de 2000.
En Titinvilo se sembró el 22 de noviembre de 2000.

La aplicación de fertilizantes se realizó al momento de siembra.

RESUMEN DEL ENSAYO POR LOCALIDAD

1. Chillán: VIII Región

- 1.1) Formas de aplicación del Biofertilizante * 12 parcelas
(1.440 mg de algas)
- 1.2) Efecto de la preparación de suelo * 12 parcelas
(1.440 mg de algas)
- 1.3) Efecto de la lámina de agua * 24 parcelas
(2.160 mg de algas)
- 1.4) Efecto del Herbicida * 15 parcelas
(1.350 mg de algas)

2. Linares: VII Región

- 2.1) Dosis óptima de Biofertilizante * 60 parcelas
(4.050 mg de algas)

3. Titinivilo: VII Región

- 3.1) Dosis óptima de Biofertilizante * 60 parcelas
(4.050 mg de algas)
- 3.2) Efecto de la Fertilización * 30 parcelas
(2.700 mg de algas)
- 3.3) Efecto del Herbicida * 15 parcelas
(1.350 mg de algas)

4. Peralillo: VI Región

- 4.1) Efecto de la Fertilización * 30 parcelas
(2.700 mg de algas)
- 4.1) Efecto del Herbicida * 15 parcelas
(1.350 mg de algas)

Número de parcelas totales: 257

Dosis promedio de Biofertilizante (algas): 60 gr/ha = **6 mg/m²**

Tamaño de cada parcela: **15 m²** (5 m * 3 m)

Requerimiento total de algas:	22.590 mg
-------------------------------	-----------

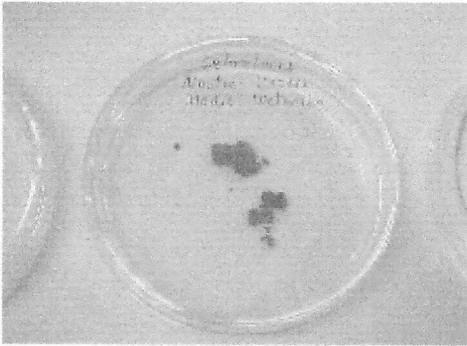


Fig 1. Muestra seca de *Nostoc linckia*, Día 0

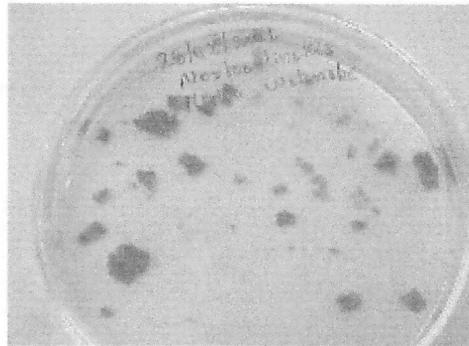


Fig 2. Muestra de *Nostoc linckia* a los 10 días después de la siembra



Fig 3. Muestra seca de *Nostoc sp1*, Día 0

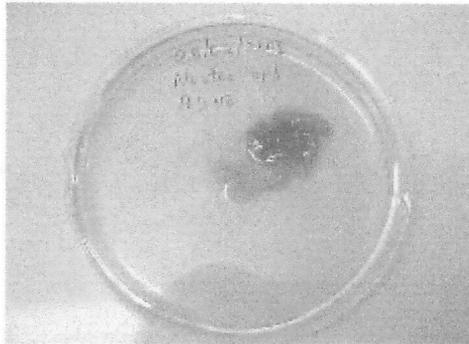


Fig 4. Muestra de *Nostoc sp1* a los 10 días después de la siembra



Fig 5. Muestra seca de *Anabaena iyengarii* var. *Temuis*, Día 0

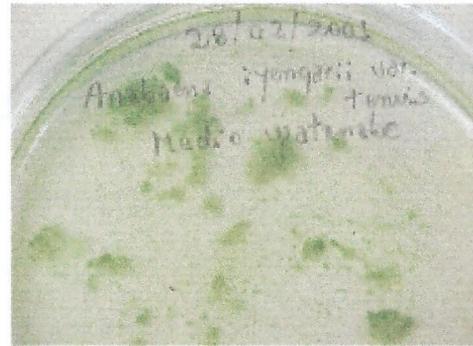


Fig 6. Muestra de *Anabaena iyengarii* var. *temuis* a los 10 días después de la siembra

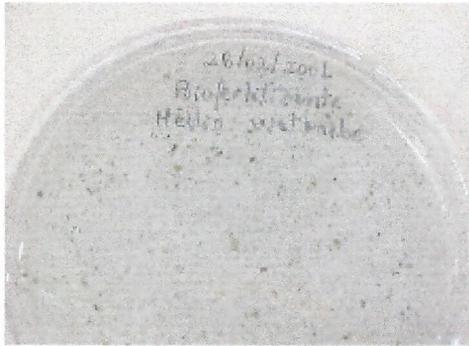


Fig 7. Biofertilizante liofilizado, Día 0



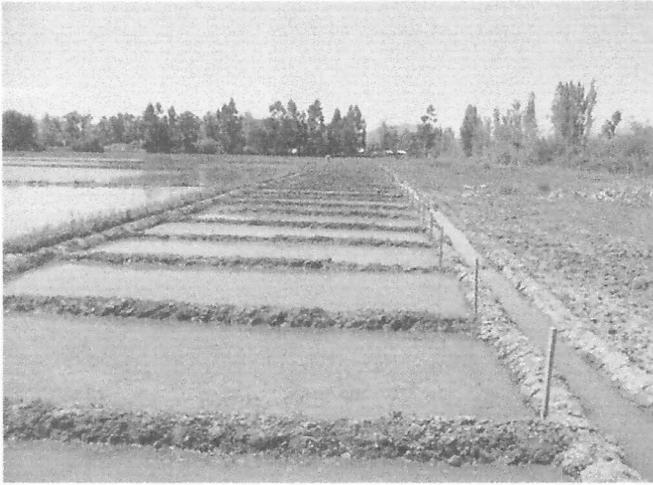
Fig 8. Biofertilizante liofilizado a los 10 días después de la siembra



Fig 9. Muestra seca *Nostoc* sp2, Día 0



Fig 10. Muestra de *Nostoc* sp2. a los 10 días después de la siembra



Muestra general de parcelas para los ensayos de campo



Instalación de tubo para circulación de agua en cada parcela

L.- PLANIFICACION ENSAYOS DE CAMPOS DEL PROYECTO DURANTE TEMPORADA 2001-2002:

1.1) Ensayo de determinación de dosis óptima de biofertilizante y nitrógeno a usar en forma combinada en el cultivo de arroz.

Los tratamientos realizados se describen en el cuadro 1.

Cuadro 1. Tratamientos de fertilización nitrogenada utilizados en el ensayo.

Tratamiento	Dosis de Biofertilizante (gr/ha)	Dosis de N (kg/ha)
1	0	0
2	0	45
3	0	90
4	30	0
5	30	45
6	30	90
7	60	0
8	60	45
9	60	90
10	120	0
11	120	45
12	120	90

Para cada tratamiento se utilizaron 3 repeticiones, con parcelas experimentales de 15 m². El diseño experimental utilizado fue de bloques al azar con arreglo factorial.

El fertilizante nitrogenado usado fue Urea, y su aplicación se realizó completamente al momento de siembra. La fertilización base consideró la aplicación de 60 kg/ha de P₂O₅ (superfosfato triple), 60 kg/ha de K₂O (Muriato de Potasio), 2000 kg/ha de Cal, 20 Kg/ha de Sulfato de Zinc y 20 kg/ha de Boronatrocalcita.

La aplicación del biofertilizante fue realizada un día posterior a la siembra, para lo cual se utilizó un frasco de vidrio en el cual se disolvió el biofertilizante, que posteriormente fue distribuido uniformemente sobre cada parcela experimental.

El control de malezas fue realizado a través de la aplicación de Molinate + Pirazosulfuron Etil en dosis de 3 Lt y 90 cc de producto comercial por ha, respectivamente. Posteriormente se realizaron 2 aplicaciones de desmanche con el producto Bentazón en dosis de 0,96 lt/ha de i.a., producto comercial Basagran (2 Lt/ha). Estas aplicaciones fueron necesarias debido a la alta infestación de malezas posiblemente resistentes a los herbicidas de la familia Sulfonilureas (cyperáceas principalmente) observada en el sitio del ensayo.

Al momento de floración se realizó un muestreo de malezas para determinar la producción de materia seca como índice de infestación. Los resultados obtenidos se presentan en el cuadro 2.

Al momento de cosecha de grano se determinó el rendimiento total y la calidad industrial. Los resultados obtenidos se presentan en los cuadros 3 y 4, respectivamente.

Cuadro 2. Materia seca de malezas (gramos/m²) al momento de floración del cultivo de arroz. Parral 2001-2002.

Nitrógeno	Algas				
	0	30	60	120	Media N
0	83,2	102,4	98,0	105,2	97,2 n.s.
45	114,8	158,0	70,0	154,4	124,4
90	90,4	108,8	115,6	156,0	117,6
Media algas	96,0 n.s.	123,2	94,8	138,4	113,2

c.v. = 57,9%

n.s.: no significativo, según Duncan 5%

Los resultados que se presentan en el cuadro 2 indican que existió una gran presión de malezas en el sitio de este ensayo, situación generada por la aparición de malezas resistentes a los herbicidas empleados en tal situación. Por esta razón, fue necesario realizar aplicaciones de desmanche con herbicidas de diferente mecanismo de acción sobre las malezas. No obstante lo anterior, la pérdida de rendimiento generada por la competencia de las malezas frente al cultivo no fue remediada, puesto que, en la fase final del cultivo (llenado de grano) se logra alrededor de un 30% de acumulación de materia seca respecto al total del ciclo fenológico. Adicionalmente, los resultados de producción de materia seca de malezas no difirieron estadísticamente entre tratamientos.

Cuadro 3. Rendimiento de grano (qq/ha) al momento de cosecha del ensayo. Parral 2001-2002.

Nitrógeno	Algas				
	0	30	60	120	Media N
0	35,0	50,1	41,2	42,8	42.3 n.s.
45	37,0	46,0	43,2	33,1	39.8
90	41,0	41,5	41,9	32,8	39.3
Media algas	37.7 n.s.	45.9	42.1	36.2	40.5

c.v = 23.7%; Letras distintas indican diferencia estadística ($p < 0,05$).

Como se observa en el cuadro 3, los rendimientos obtenidos en este ensayo no fueron destacables, debido a la condición de presión de malezas anteriormente explicada. Además, dichos rendimientos no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. Sin embargo, al analizar la tendencia de las medias de cada factor, se observa una disminución de rendimiento frente a aumentos en la dosis de N empleada. Por su parte, las medias obtenidas frente a diferentes dosis de algas manifestaron un comportamiento errático.

Cuadro 4. Calidad industrial del grano cosechado (% de grano entero). Parral 2001-2002.

Nitrógeno	Algas				Media N
	0	30	60	120	
0	50,7 a	53,7 abc	52,7 abc	55,0 abc	53.0
45	54,7 abc	55,3 bc	51,7 ab	51,7 ab	53.4
90	55,3 bc	51,0 ab	53,3 abc	56,3 c	54.0
Media algas	53.6	53.3	52.6	54.3	53.5

c.v.= 4,4 %

Letras distintas indican diferencia estadística ($p < 0,05$).

En el cuadro anterior se observa que el rendimiento industrial del arroz manifestó variaciones de forma errática en función de los diversos tratamientos. No obstante, al analizar las tendencias de las medias de cada factor, se observa un aumento de la calidad industrial directamente proporcional a la dosis de N empleada. Finalmente, el rendimiento industrial alcanzado en el ensayo varió entre 50,7 y 56,3 %, con un coeficiente de variación bastante bajo (4,4 %).

Ensayo de Fijación Biológica:

Durante la temporada agrícola 2001-2002 se realizó un ensayo experimental que tenía como objetivo determinar la dosis óptima de biofertilizante y nitrógeno a usar en forma combinada en el cultivo de arroz.

Descripción del ensayo: Ensayo de determinación de dosis óptima de biofertilizante y nitrógeno a usar en forma combinada en el cultivo de arroz. Los tratamientos empleados se describen en el cuadro 1, y este experimento correspondió a un complemento del ensayo en el cual se determinó la fijación biológica de N en 3 momentos durante el cultivo.

Los muestreos para la estimación de la fijación simbiótica de N, se efectuaron los meses de noviembre 2001, y durante enero y marzo de 2002, utilizando el método de reducción de acetileno descrita por Hardy *et al.*, (1973) y Manna y Singh (1990). Las lecturas en el Cromatógrafo de Gases se realizaron en la Universidad de Talca.

Cuadro 5. Estimación de la fijación simbiótica de nitrógeno ($\text{kg N fijado ha}^{-1} \text{ día}^{-1}$) de combinaciones de biofertilizantes y nitrógeno fertilizante aplicados al cultivo de arroz, en diferentes fechas de muestreo. Parral 2001-2002.

Tratamiento	27/11/01	01/2002	8/03/2002
T1	34	50	4
T2	21	0	35
T3	88	53	0
T4	50	111	0
T5	2	86	0

T6	69	114	21
T7	0	68	10
T8	1	87	6
T9	25	76	0
T10	92	120	25
T11	13	0	77
T12	43	29	6

En este cuadro podemos observar que los kg de N fijados son muy variables, dependiendo de la fecha de muestreo y el tratamiento. También es posible apreciar que las mejores tasas de fijación de N se determinaron en el mes de enero 2002.

Los mejores tratamientos, en cuanto a fijación de N, correspondieron al tratamiento 10 que tuvo una aplicación de 120 g de algas, sin aplicación de N fertilizante; el tratamiento 4, que tuvo una aplicación de 30 g de algas y sin N fertilizante; y el tratamiento 6 que corresponde a la aplicación de 30 g de algas y 90 kg ha⁻¹ de N fertilizante.

1.2) Ensayo de evaluación del uso combinado de biofertilizante y nitrógeno en dosis medias, en las condiciones de manejo de un productor de la zona de Parral.

Este ensayo fue realizado en el predio de la Sra. Erika Muñoz, localidad de Titinivilo, comuna de Parral. La superficie considerada para el ensayo de algas fue de 1.400 m².

La siembra de arroz se realizó durante la segunda semana de noviembre de 2001. La fertilización base consideró la aplicación de 60 kg/ha de P₂O₅ (superfosfato triple) y 60 kg/ha de K₂O (Muriato de Potasio).

La dosis de nitrógeno empleada fue de 50 kg/ha a la forma de urea, aplicada al momento de siembra. Posteriormente, a los 15 días después de siembra se aplicó el biofertilizante en una dosis equivalente a 60 gramos/ha.

Como testigo se utilizó un cuartel de 1.500 m², aproximadamente, cuya fertilización nitrogenada fue de 100 kg/ha, aplicada a la forma de urea en 2 parcialidades: 50 % al momento de siembra y 50 % al momento de macolla.

El control de malezas fue realizado en forma química, a través de la aplicación de Molinate en dosis de 3 Lt/ha a los 20 días después de la siembra, y MCPA al momento de plena macolla (40 días post siembra) en dosis de 1 Lt/ha.

Finalmente se tomaron 7 muestras de rendimiento de grano por cuartel para ser sometidas a un test de medias (T test). Los resultados obtenidos se presentan en el cuadro 5.

La rotulación de los tratamientos fue la siguiente:

T1 = Testigo agricultor.

T2 = 50% del N + biofertilizante.

Cuadro 6. Rendimiento de grano (qq/ha) y calidad industrial (% de grano entero) al momento de cosecha en el ensayo a nivel de campo. Parral 2001-2002.

Tratamiento	Rendimiento de grano (qq/ha)	Grano entero (%)	Costo estimado de la fertilización nitrogenada (\$/ha)
T1	72,7 n.s.	54,2 n.s.	31.111
T2	74,3 n.s.	54,4 n.s.	26.363
c.v. (%)	11,8	4,2	

Letras distintas indican diferencia estadística ($p < 0,05$).

En el cuadro anterior se observa que no se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. No obstante, los rendimientos obtenidos fueron bastante buenos, situación que se vio favorecida por la baja presión de malezas en las condiciones de este ensayo. La calidad industrial del arroz cosechado fue bastante estable entre tratamientos. Además, el costo de la fertilización nitrogenada fue disminuido en un 15,3%, respecto al tratamiento testigo, cuando se empleó el biofertilizante.

M.- EVALUACION ECONOMICA DE UN MODULO DE PRODUCCION DE BIOFERTILIZANTE

Se ha realizado una evaluación económica de un módulo de producción de Biofertilizante. Para la determinación del tamaño del módulo se ha considerado el criterio de definición de los equipos requeridos.

Se determinó un horizonte de evaluación de cinco años, en base a la duración de los equipos, evitando así su renovación. Luego, se determinó el gasto anual en reactivos, fungibles, mano de obra, consumos básicos y gastos generales.

Además, se consideraron dos escenarios tecnológicos. En primer lugar, se consideró tecnología de punta y un segundo escenario, tecnología económica.

Para determinar la cantidad a producir se fijó un precio, en base al costo alternativo de fertilizar con un fertilizante convencional y su costo es \$ 21.000 / ha. Con una dosis de 60 grs. de biofertilizante por hectárea el valor es de 350 (\$/gr.). Para ello se utilizó el valor de equilibrio de VAN (Valor Actual Neto) igual a cero.

Las tablas de evaluación económica son:

Tecnología 1. Alta tecnología (\$/año)

Año	0	1	2	3	4	5
Inversión	21.721.526					
- Microscopio	2.450.081					
- Cámara de cultivo (2)	2.648.000					
- Estufa de secado	1.098.000					
- Cámara de flujo laminar	1.985.000					
- Refrigerador	400.000					
- Balanza	600.000					
- Destilador de agua	384.585					
- Calefactor magnético	272.994					
- Autoclave	5.387.184					
- Liofilizador	6.058.800					
- Peachímetro	416.845					
- Mortero	20.037					
Costos Anuales	0	9.361.747	8.066.387	8.066.387	8.066.387	8.066.387
- Reactivos						
- K ₂ HPO ₄		1.221	1.221	1.221	1.221	1.221
- MgSO ₄		312	312	312	312	312
- CaCl ₂		184	184	184	184	184
- Tartrato férrico		547	547	547	547	547
- H ₃ BO ₃		48	48	48	48	48
- MnCl ₂ * 4H ₂ O		321	321	321	321	321
- ZnSO ₄ 7H ₂ O		28	28	28	28	28
- Na ₂ MoO ₄ * 2H ₂ O		60	60	60	60	60

- CuSO4* 5H2O		22	22	22	22	22
- CoCl2* 6H2O		402	402	402	402	402
- Agar		40.090	40.090	40.090	40.090	40.090
- Materia prima						
- Algas		80.000				
- Material de vidrio (Renovable)						
- Matracas Erlenmeyer		633.600	63.360	63.360	63.360	63.360
- Placas Petri		806.400	161.280	161.280	161.280	161.280
- Artículos de aseo						
-Toalla Nova		58.752	58.752	58.752	58.752	58.752
- Detergente		16.560	16.560	16.560	16.560	16.560
- Alcohol etílico		43.200	43.200	43.200	43.200	43.200
- Personal						
- Técnico		6.000.000	6.000.000	6.000.000	6.000.000	6.000.000
- Consumos básicos						
- Luz, agua, gas		840.000	840.000	840.000	840.000	840.000
- Combustible		240.000	240.000	240.000	240.000	240.000
- Gastos Generales						
- Infraestructura		600.000	600.000	600.000	600.000	600.000
Ingresos		14.412.993	14.412.993	14.412.993	14.412.993	14.412.993
- Producción (grs.)		41.180	41.180	41.180	41.180	41.180
Beneficio Neto	-21.721.526	5.051.247	6.346.607	6.346.607	6.346.607	6.346.607
VAN (12%) (\$)	0					
TIR	12%					

Precio	\$/gr.
Biofertilizante	350

Cantidad a producir	Grs/mes
Biofertilizante	3431,7

Tecnología 2. Tecnología económica (\$/año)

Año	0	1	2	3	4	5
Inversión	14.938.726					
- Microscopio	2.450.081					
- Cámara de cultivo	1.324.000					
- Estantes con iluminación	600.000					
- Estufa de secado	1.098.000					
- Cámara de flujo laminar	1.985.000					
- Refrigerador	400.000					
- Balanza	600.000					
- Destilador de agua	384.585					
- Calefactor magnético	272.994					
- Autoclave	5.387.184					
- Peachímetro	416.845					
- Mortero	20.037					

Costos Anuales	0	9.961.747	8.666.387	8.666.387	8.666.387	8.666.387
- Reactivos						
- K ₂ HPO ₄		1.221	1.221	1.221	1.221	1.221
- MgSO ₄		312	312	312	312	312
- CaCl ₂		184	184	184	184	184
- Tartrato férrico		547	547	547	547	547
- H ₃ BO ₃		48	48	48	48	48
- MnCl ₂ * 4H ₂ O		321	321	321	321	321
- ZnSO ₄ 7H ₂ O		28	28	28	28	28
- Na ₂ MoO ₄ * 2H ₂ O		60	60	60	60	60
- CuSO ₄ * 5H ₂ O		22	22	22	22	22
- CoCl ₂ * 6H ₂ O		402	402	402	402	402
- Agar		40.090	40.090	40.090	40.090	40.090
- Materia prima						
- Algas		80.000				
- Material de vidrio (Renovable)						
- Matraces Erlenmeyer		633.600	63.360	63.360	63.360	63.360
- Placas Petri		806.400	161.280	161.280	161.280	161.280
- Artículos de aseo						
- Toalla Nova		58.752	58.752	58.752	58.752	58.752
- Detergente		16.560	16.560	16.560	16.560	16.560
- Alcohol etílico		43.200	43.200	43.200	43.200	43.200
- Personal						
- Técnico		6.000.000	6.000.000	6.000.000	6.000.000	6.000.000
- Consumos básicos						
- Luz, agua, gas		840.000	840.000	840.000	840.000	840.000
- Combustible		240.000	240.000	240.000	240.000	240.000
- Gastos Generales						
- Infraestructura		600.000	600.000	600.000	600.000	600.000
- Servicios liofilización		600.000	600.000	600.000	600.000	600.000
Ingresos		13.131.379	13.131.379	13.131.379	13.131.379	13.131.379
- Producción (grs.)		37.518	37.518	37.518	37.518	37.518
Beneficio Neto	-14.938.726	3.169.632	4.464.992	4.464.992	4.464.992	4.464.992
VAN (12%) (\$)	0					
TIR	12%					

Precio	\$/gr.
Biofertilizante	350

Cantidad a producir	grs/mes
Biofertilizante	3126,5

3.2.- Principales problemas metodológicos enfrentados.

Uno de los principales problemas metodológicos fue la preservación de ciertas especies de algas fijadoras de nitrógeno en los medios de cultivo utilizados en el laboratorio, como por ejemplo: *Gloeotrichia natans* y *Cylindrospermum muscicola* var. *longispora*.

De las algas encontradas, una que destaca por su tasa de crecimiento y fijación de nitrógeno es *Gloeotrichia natans*; pero esta especie es muy difícil de mantener en cultivo, sin embargo, crece sin dificultad en forma espontánea en la mayoría de los suelos arroceros analizados.

Debido a las dificultades que se presentan en mantener a *Gloeotrichia natans* en cultivo, esta especie no fue considerada en la elaboración del biofertilizante, sin embargo, esta especie sin duda está contribuyendo a fomentar la fertilidad del suelo debido a su amplia distribución en el área de estudio.

En cuanto a la metodología, se proponía originalmente que se usarían los siguientes medios de cultivos: Chu 10 y Agua-tierra, sin embargo, estos medios a pesar de ser apropiados al crecimiento de estas algas, pudimos constatar que provocaban gran cantidad de contaminantes, razón por la cual se descartó su uso y en su reemplazo se utilizó el medio Watanabe líquido y Agar Watanabe con menores dificultades de contaminación.

Hay que mencionar que los primeros ensayos en maceta no tuvieron éxito debido a que las plántulas de arroz se infectaron con una bacteria del género *Pseudomonas*; razón por la cual se perdió prácticamente la totalidad del material algal que había sido masificado para ser utilizado en este primer set de ensayos. Esto nos obligó nuevamente a masificar las algas con la finalidad de montar un segundo set de ensayos, retrasando las actividades planificadas para este periodo.

3.3.- Adaptaciones o modificaciones introducidas.

En el primer set de ensayos se utilizaron 7 especies algales, en cambio, en el segundo montaje del experimento se utilizaron sólo 5, ya que algunas especies presentan una lenta tasa de crecimiento (*Anabaena fertilissima* y *Anabaena inaequalis*).

En el transcurso de este proyecto se introdujeron además nuevas técnicas con las siguientes finalidades

- 1) Determinar la tasa de crecimiento de las algas, con la finalidad de disponer de otra herramienta en la selección de las algas para elaborar el biofertilizante.
- 2) Evaluar la presencia de algas verde-azules (BGA) en el suelo y su abundancia relativa con el propósito de saber si las algas que crecen en el suelo son las mismas o diferentes a las que crecen en el plancton. como así mismo cuantificar su presencia.

En general, no se presentaron grandes modificaciones metodológicas en los ensayos de campo, excepto en el muestreo de malezas que no estaba planteado inicialmente, y cuya decisión de realización fue tomada en función del agresivo ataque de malezas manifestado. La modificación metodológica en las mediciones de laboratorio, respecto de la propuesta original, consistió en la medición de la fijación simbiótica de N en la Universidad de Talca, situación necesaria debido a que el Laboratorio de INIA Carillanca ya no cuenta con el equipo necesario para tal medición en funcionamiento.

3.4.- Descripción detallada de los protocolos y métodos utilizados

(Este punto se ha desarrollado en extenso en la parte metodológica del informe con lo cual nos parece que volver a describirlos parecería un tanto repetitivo.

4.- Descripción de las actividades y tareas ejecutadas para la consecución de los objetivos, comparación con las programadas, y razones que explican las discrepancias.

?

5.- Resultados del Proyecto Descripción detallada de los principales resultados del proyecto, incluyendo su análisis y discusión; utilizando gráficos, tablas, esquemas y figuras y material gráfico que permitan poder visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones relevantes del desarrollo del proyecto.

A.- COLECTA DEL MATERIAL ALGAL



Area de estudio

Posición geográfica de las localidades muestreadas

LOCALIDADES	POSICION GEOPGRAFICA
1.- Cruce camino a Trapiche. Las Garzas	36°22'46'' S; 71°57'50'' W
2.- Cruce camino Trapiche, mano derecha, Verqueco	36°28'50'' S; 72°33'36'' W
3.- Verqueco (2). Fundo El Mirador	36°17'16'' S; 72°07'41'' W
4.- Quella, Alejandro Ríos	36°07'25'' S; 72°28'50'' W
5.- Parcelas Racimo de Oro, Apolinario Toledo	36°28'50'' S; 72°33'36'' W
6.- Digua	36°04'35'' S; 72°00'07'' W
7.- Digua Frente	36°04'33'' S; 72°00'07'' W
8.- San Juan de las Petrillas	36°05'24'' S; 71°56'22'' W
9.- San Lorenzo	36°07'00'' S; 71°54'11'' W
10.- Talhuenes, La Palmera	36°02'51'' S; 71°52'38'' W
11.- Talhuenes, Agustín Retamal	36°01'34'' S; 71°53'24'' W
12.- Michongo	35°58'59'' S; 71°50'17'' W
13.- Santa Lucila	35°53'16'' S; 71°42'11'' W
14.- Crucero del Huique, Bautista Cornejo	34°31'41'' S; 71°21'07'' W
15.- Arboleda del Huique, Orlando Arce	34°30'52'' S; 71°19'38'' W
16.- Camino Sta Cruz, 5 km desde cruce molino Tucapel	34°33'41'' S; 71°23'39'' W
17.- Fdo. Sta Teresa, pasado cerro antes de Chépica, hacia derecha desde Sta Cruz	34°44'45'' S; 71°20'14'' W
18.- Chépica, Las Alamedas, Octavio Vargas	34°46'34'' S; 71°18'46'' W
19.- Sector Qusería, Armando García	35°23'25'' S; 71°23'14'' W
20.- Huenquecho, Josefina Correa	35°22'58'' S; 71°21'02'' W
21.- Sector El Manzano, Fdo. Raquel Argandoña	35°24'56'' S; 71°24'05'' W
22.- Cruce Linares, camino a Palmilla	35°49'42'' S; 71°41'42'' W
23.- Variante Palmilla	35°48'23'' S; 71°44'20'' W
24.- Camino Emboque	35°47'04'' S; 71°45'22'' W
25.- Jaime Maureira	35°44'06'' S; 71°45'04'' W
26.- Maureira N° 1	35°46'58'' S; 71°46'09'' W
27.- Fdo. Marimaura, pasado frente Sifón	35°46'58'' S; 71°48'26'' W
28.- Cruce Ruta 5, Villa Alegre	35°41'42'' S; 71°41'07'' W
29.- Villa Alegre Estación, lado Bomberos	35°45'38'' S; 71°40'38'' W
30.- Pasado Termas de Panimávida, lado carabineros	35°45'25'' S; 71°25'05'' W
31.- Condominio Sta. Elena	35°45'01'' S; 71°24'56'' W
32.- Frente Restaurant Miraflores	35°55'09'' S; 71°39'24'' W
33.- Ñiquén, camino a la Estación, 1° Siembra izq.E-O	35°55'09'' S; 71°51'44'' W
34.- Chillán	

B.- DETERMINACION TAXONOMICA

De las especies fijadoras de nitrógeno encontradas en los arrozales chilenos destaca la frecuencia y abundancia de *Gloeotrichia natans*, siendo su distribución, la más amplia en el área de estudio. Entre las algas fijadoras de nitrógeno con potenciales usos como biofertilizantes presentes en el plancton como en el bentos de los ecosistemas anegados en los cultivos de arroz en Chile, se pueden mencionar las siguientes especies: *Anabaena fertilissima*, *A. iyengarii* var. *tenuis*, *A. iyengarii* var. *unispora*, *Aphanizomenon* cf. *holsaticum*, *Cylindrospermum gorakhpurense*, *C. muscicola* var. *longispora*, *Gloeotrichia natans*, *Nostoc ellipsosporum*, *Nostoc linckia*, *Nostoc spongiaeforme* var. *tenuis*, *Nostoc* sp 1 y *Nostoc* sp.2

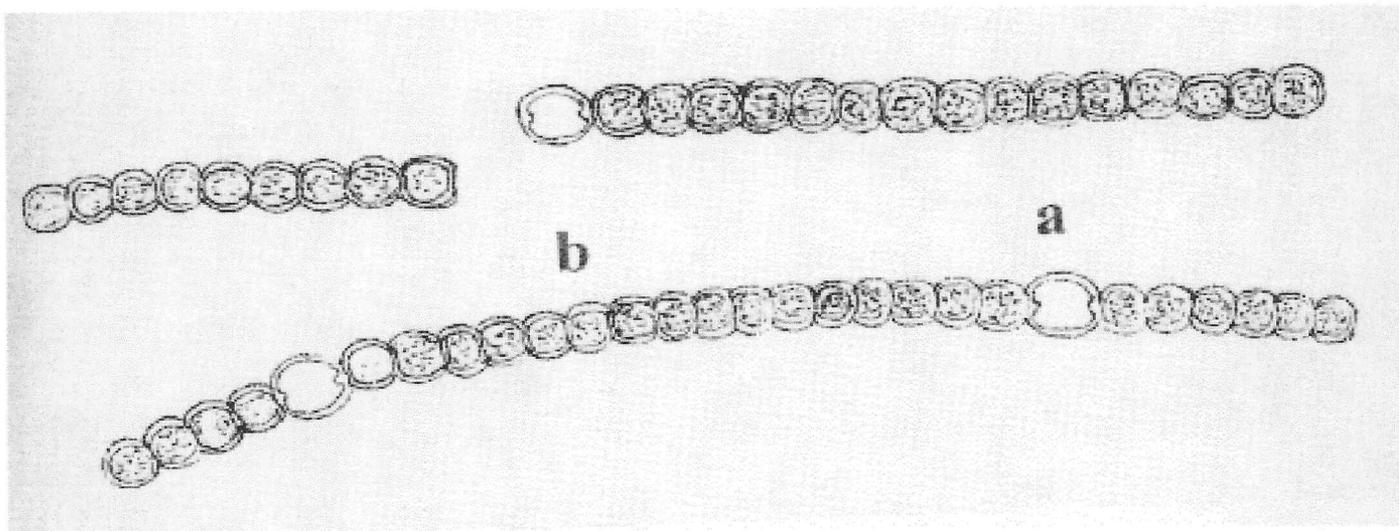
A continuación se describen, se ilustran y se mencionan en orden alfabético las especies de algas verde-azules encontradas:

1.- *Anabaena fertilissima* Rao, C.B.

Tricomas simples, con células de extremos redondeados, alcanzando hasta 310 μm de largo, 5,6-6,4 μm de ancho. Células en forma de barril, 4,8-5,6 μm de largo. Heterocistos esféricos, de 6,4-8 μm de diámetro. Aquinetas casi esféricas, en cadenas, con una pared externa hialina y lisa, 5,6-6,4 μm de ancho y 3,6-5,6 μm de largo, a menudo todo el tricoma se vuelve esporógeno.

Ecología: Especie planctónica. Los cenobios son gelatinosos, subsféricos, de color verde-azulado intenso, de 1,5-2 cm de diámetro. Esta especie crece junto a otras algas fijadoras de nitrógeno: *Gloeotrichia natans*, *Cylindrospermum muscicola* v. *longispora*, *Nostoc spongiaeforme* v. *tenuis* y *Anabaena iyengarii*.

Distribución geográfica: Esta especie sólo ha sido registrada en la localidad N° 15.



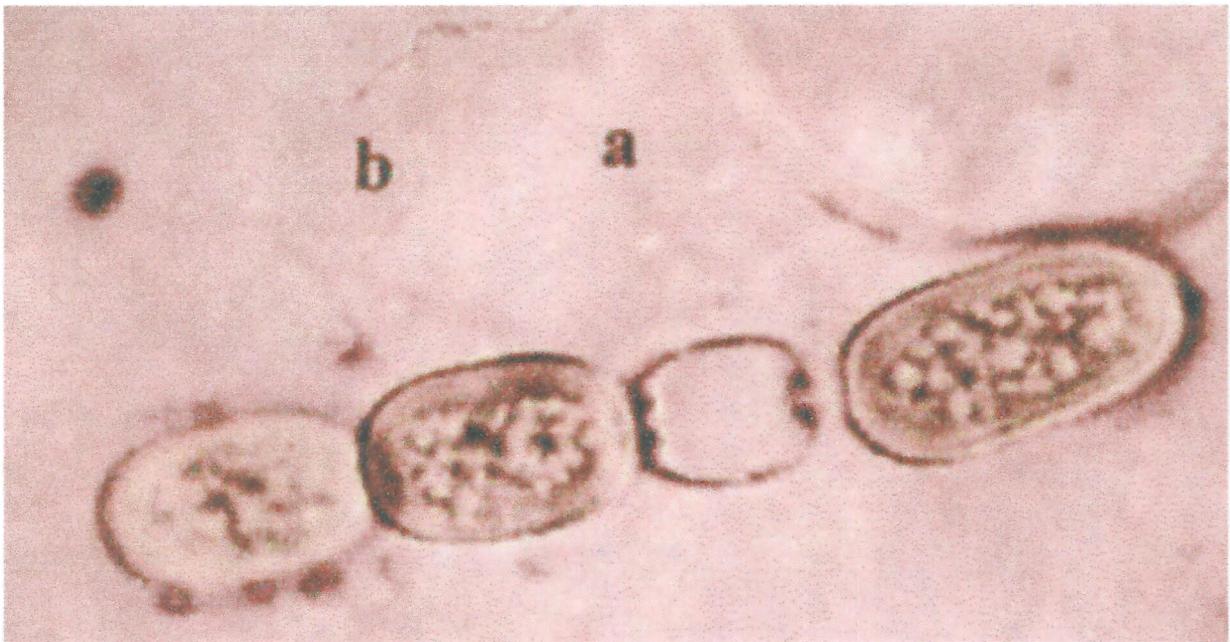
Tricomas de *Anabaena fertilissima*: a) Heterocisto y b) Aquineta.

2.- *Anabaena iyengarii* Bharad. var. *tenuis* Rao, C.B.

Masas flocosas, delgadas, libremente flotantes. Tricomas simples, rectos o irregularmente curvados, de 4-4,4 μm de ancho. Célula apical cónica con los extremos redondeados, tan largas como anchas o ligeramente más cortas o más anchas, 4-5,6 μm de largo. Heterocistos en su mayoría subsféricos, 4,8-6 μm de ancho y 4,8-7,2 μm de largo. Aquinetas elipsoidales o cilíndricas, con los extremos redondeados, uno o en pares a cada lado del heterocisto, 6,4-8 μm de ancho y 9,6-12 μm de largo, con una pared externa hialina y lisa.

Ecología: Es una alga planctónica que crece en la superficie del agua con aspecto de masa flocosa de color verde oscuro. Se encuentra junto a *Gloeotrichia natans* y *Nostoc spongiaeforme* v. *tenuis*.

Distribución geográfica: Aparece en las localidades N° 14, 20 y 29.



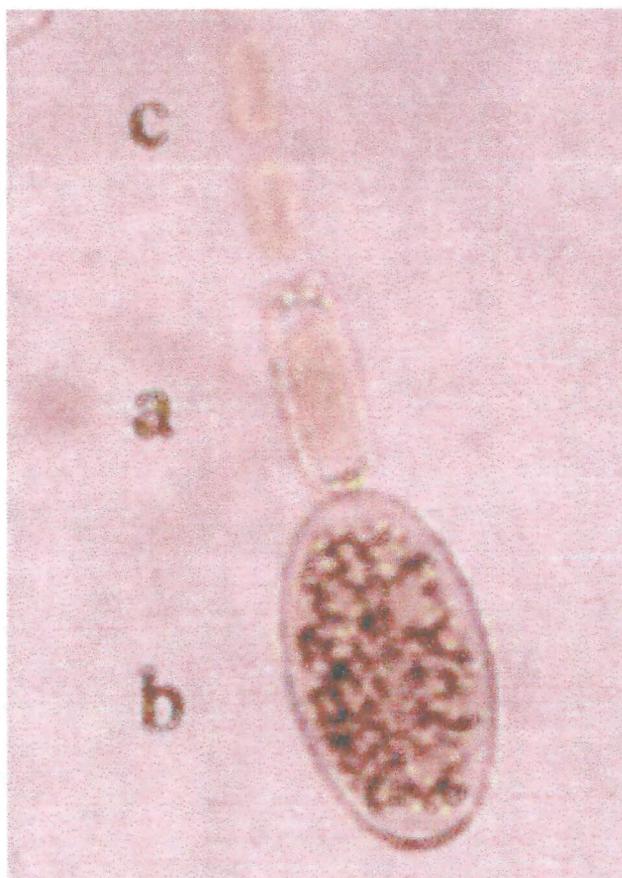
Tricoma de *Anabaena iyengarii* var. *tenuis*. a) Heterocisto y b) Aquineta.

3.- *Anabaena iyengarii* Bharad. var. *unispora* Singh, C.B.

Masas mucilaginosas, verde-azulado intenso. Tricomas simples, libremente flotantes, 3,2-4 μm de ancho, con una célula apical cónica con el ápice redondeado. Células en forma de barril o casi cuadradas 4-4,8 μm de largo. Heterocistos en forma de barril, raramente subesféricas, 4,8-7,2 μm de ancho y 8,8-12,8 μm de largo. Aquinetas elipsoidales o subesféricas, sólo una a cada lado del heterocisto, de 13,6-17,6 μm de ancho y 26,4-44 μm de largo; con una pared interna lisa y algo rojiza.

Ecología: Masas mucilaginosas de forma irregular, se presentan flotando en la superficie del agua en los campos arroceros. Se le ha encontrado junto a *Gloeotrichia natans* y *Cylindrospermum muscicola* v. *longispora*

Distribución geográfica: Esta especie se encuentra presente en las localidades N°2, 3, 4, 5, 9, 10, 15, 17, 22, 30, 31 y 34.



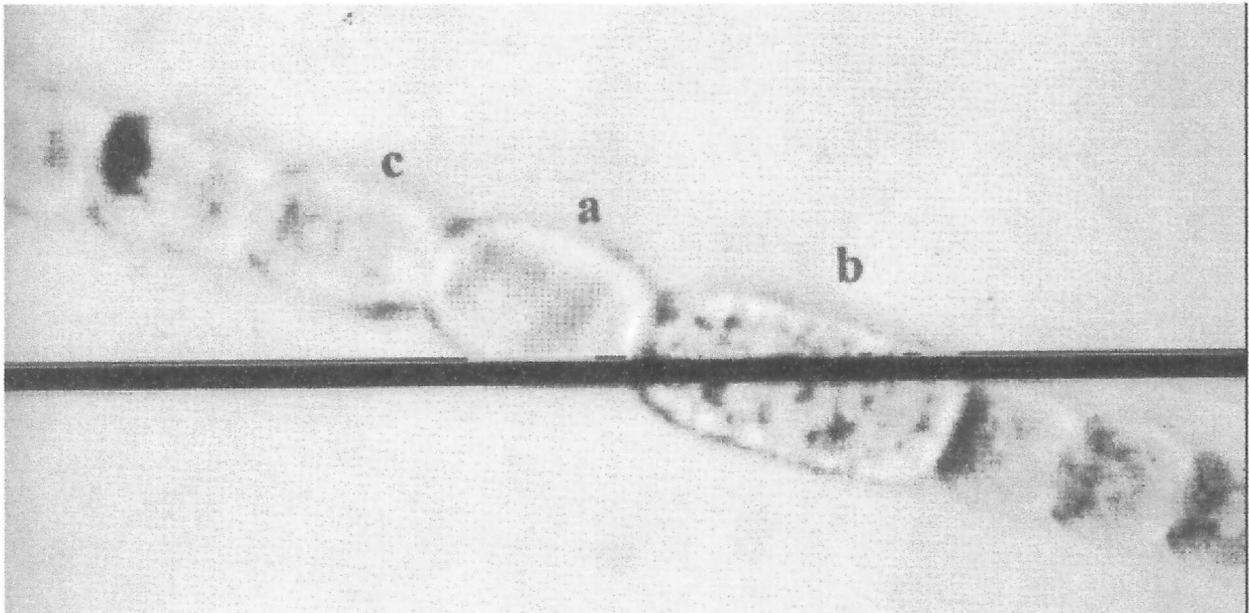
Tricoma de *Anabaena iyengarii* var. *unispora*. a) Heterocisto, b) Aquineta y c) Célula vegetativa.

4.- *Aphanizomenon* cf. *holsaticum* P. Richt.

Tricomas en sumayoría libres con ambos extremos adelgazados, células redondeadas o cuadradas o tan largo como ancho, 5-6 μm de ancho y 4,8-8 μm de largo. Heterocistos cilíndricos o esféricos, de 6,4-7 μm de ancho y de 5,6-9,6 μm de largo. Aquinetas cilíndricas, con los extremos redondeados, contiguas al heterocisto, de 7,2-8 μm de ancho y 12-13 μm de largo.

Ecología: es una especie planctónica, en general muy escasa

Distribución geográfica: Este taxon sólo ha aparecido en la localidad N° 34.



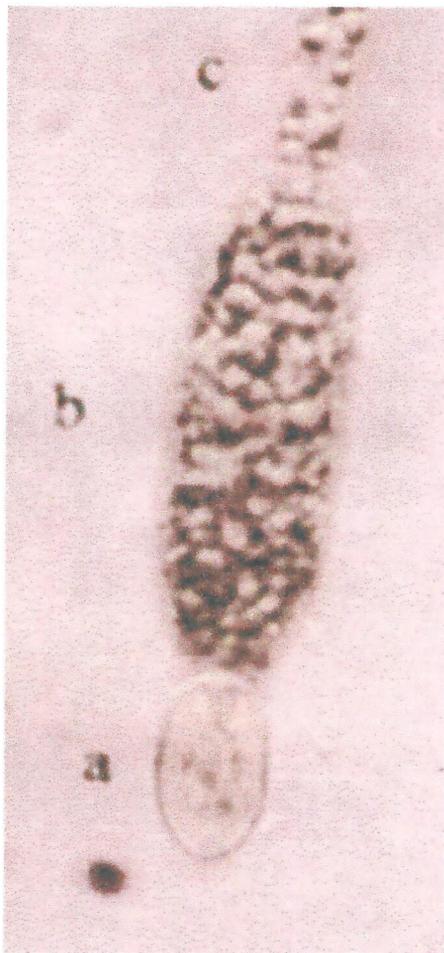
Tricoma de *Aphanizomenon* cf. *holsaticum*. a) Heterocisto, b) Aquineta y c) Célula vegetaiva.

5.- *Cylindrospermum gorakpurense* Singh, R.N.

Tricomas verde-azulado, simples, con profundas contricciones en las uniones, de 4-4,8 μm de ancho; células cilíndricas de 4-4,8 μm de ancho y 7,2-11,2 μm de largo. Heterocistos elipsoidales o casi elipsoidales, uno en cada extremo del tricoma, de 4,8-5,6 μm de ancho y 7,2-10,4 μm de largo. Aquinetas elipsoidales con los extremos redondeados, subterminales en cada extremo del tricoma, de 15,2-16,8 μm de ancho y 24-28 μm de largo; sin exospora de 12-12,8 μm de ancho, con una gruesa pared externa amarillo parda, la cual está provista de delicadas proyecciones en forma de aguja

Ecología: Especie planctónica, crece en la superficie del agua formando masas mucilaginosas de color verde oliva. Esta especie aparece junto a *Cylindrospermum muscicola* v. *longispora* y *Nostoc* sp.

Distribución geográfica: Esta especie sólo ha aparecido en la localidad N° 31.



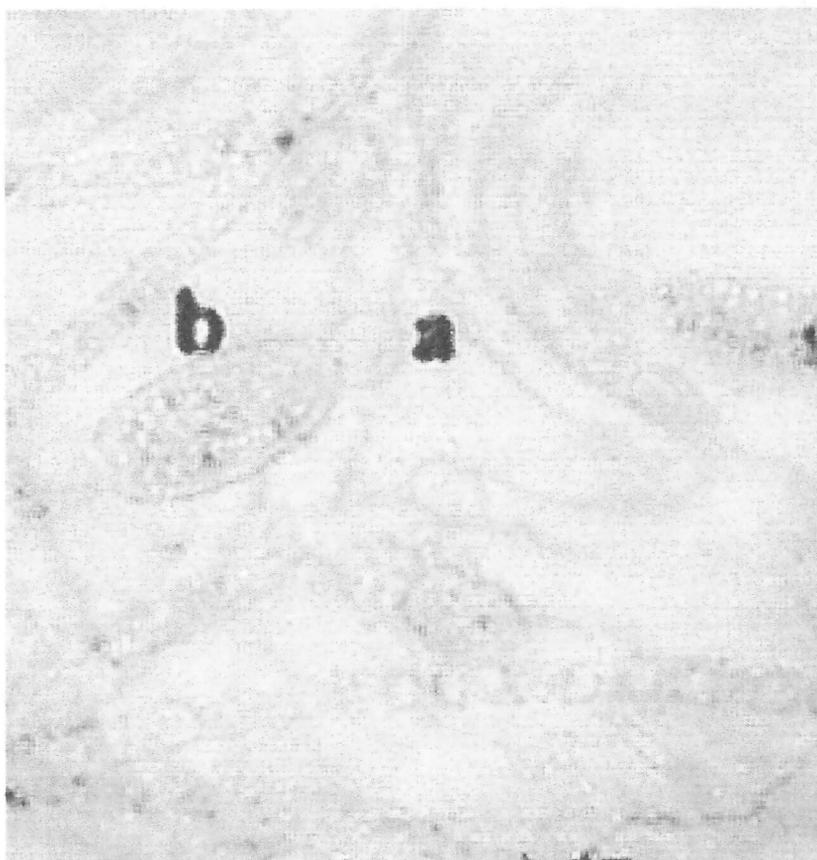
Tricoma de *Cylindrospermum gorakpurense*. a) Heterocisto, b) Aquineta y c) Célula vegetativa.

6.- *Cylindrospermum muscicola* Kützing ex. Born et Flah. var. *longispora* Dixit

Cenobios o talos extendidos mucilaginosos, verde azulado claro. Tricomas de 4-4,4 μm de ancho, células cilíndricas o casi cuadradas, de 6,4-10,4 μm de largo. Heterocistos terminales, oblongos, de 5,2-7,2 μm de ancho y 8,8-11,2 μm de largo. Aquinetas ovales, 8-12 μm de ancho y 16-20 μm de largo

Ecología: Alga planctónica, los talos mucilaginosos crecen en la superficie del agua y presentan un color verde-azulado claro. Esta alga crece junto a *Gloeotrichia natans* y *Anabaena iyengarii* v. *unispora*.

Distribución geográfica: Aparece en las localidades N° 2, 3, 4, 5, 9, 10, 15, 17, 22, 30, 31 y 34



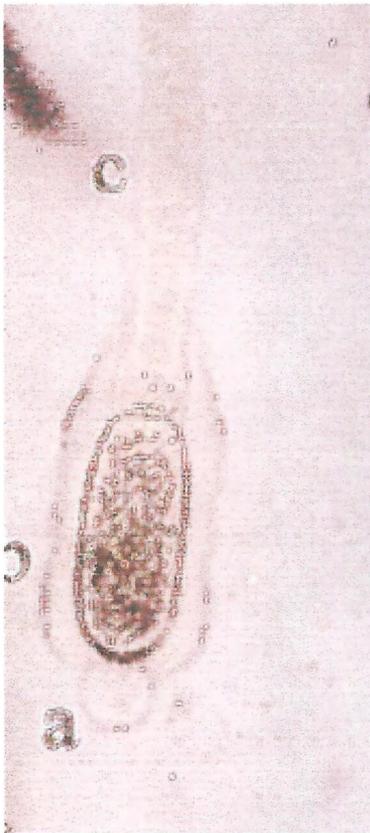
Tricoma de *Cylindrospermum muscicola* var. *longispora*. a) Heterocisto y b) Aquineta.

7.-*Gloeotrichia natans* Rabensh. ex Born. et Flah.

Cenobios o talos esféricos, hasta 10 cm de ancho, blandos, ahuecados, verde oliva negruzco a pardo; filamentos sueltamente ordenados. Tricomas 7,2-8 μm de ancho, oliváceo atenuándose en un pelo largo, células en la base en forma de barril, tan largas como anchas o a veces más cortas, en la parte superior, las células pueden ser hasta 4 veces más largas que anchas. Heterocistos basales, más o menos esféricos, 4,8-12 μm de ancho. Aquinetas cilíndricas, rectas o curvadas, sin vaina de 12-20 μm de ancho y 34,4-80 μm de largo, con vaina hasta cerca de 36 μm de ancho, sacciforme, transversalmente contriñida, hialina y lisa.

Ecología: Especie planctónica, cuyos cenobios globosos o subglobosos, de color verde oliva a pardo, se encuentran libremente flotando en la superficie del agua. Esta especie es muy abundante en algunas de las localidades estudiadas., donde aparece asociada a *Cylindrospermum muscicola* v. *longispora* y a especies de *Nostoc*.

Distribución geográfica: Es la especie de más amplia distribución en los arrozales del país. Aparece en las siguientes localidades: 2,3, 4, 10, 13, 14, 15, 16, 17, 22, 23, 25, 26, 27, 28, 33 y 34.



A.- Tricoma de *Gloeotrichia natans*. A) Heterocisto, b) Aquineta y c) Célula vegetativa.

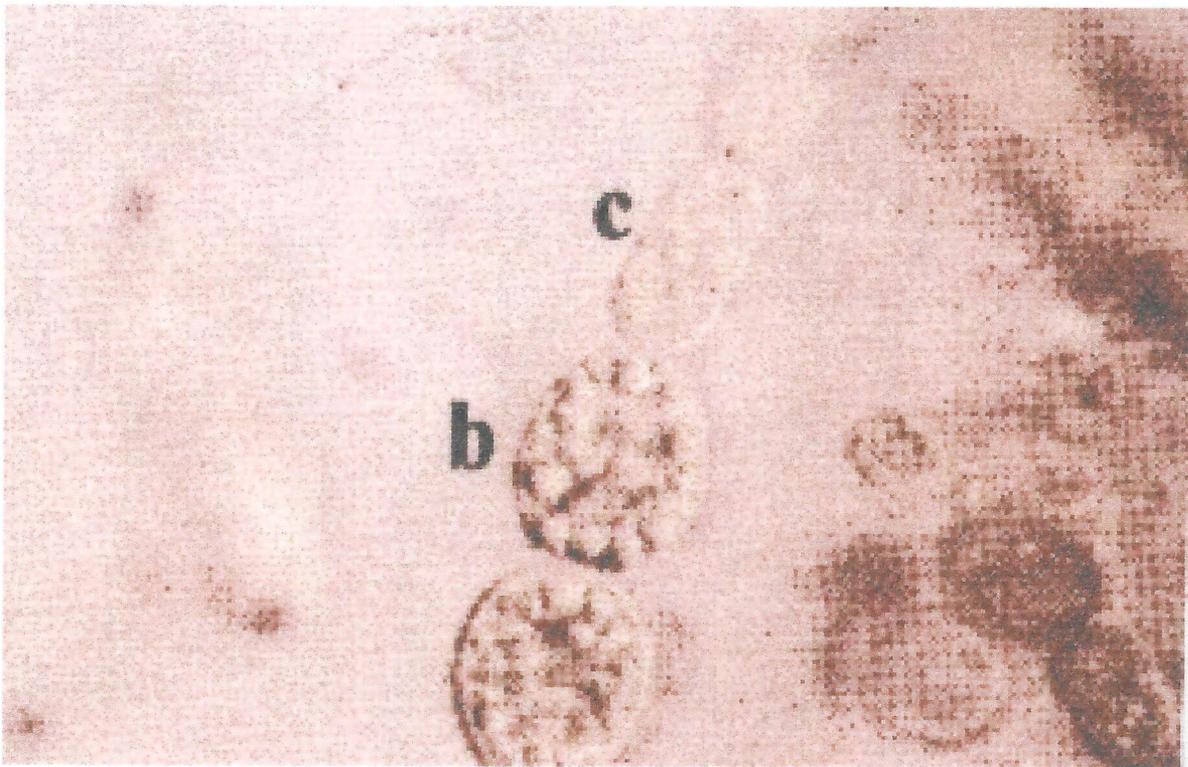
B.- Aspecto de los cenobios

8.- *Nostoc elliposporum* (Desm.) Rabensh. ex Born. et Flah.

Talos gelatinosos, irregularmente expandidos, pardo rojizo. Filamentos flocosos, laxamente enrollados. Tricomas de 4 μm de ancho, ligeramente verde-azulado u oliváceo; células cilíndricas, de 5,6-6,4 μm de largo. Heterocistos subsféricos u oblongos, 5,6-6,4 μm de ancho y 7,2-10 μm de largo. Aquinetas elipsoidales a oblongas-cilíndricas, de 6,4-6,8 μm de ancho y 8,8-11,2 μm de largo; episporio blando, hialino o parduzco.

Ecología: Especie planctónica que crece asociada a *Gloeotrichia natans*.

Distribución geográfica: Aparece sólo en la localidad N° 10.



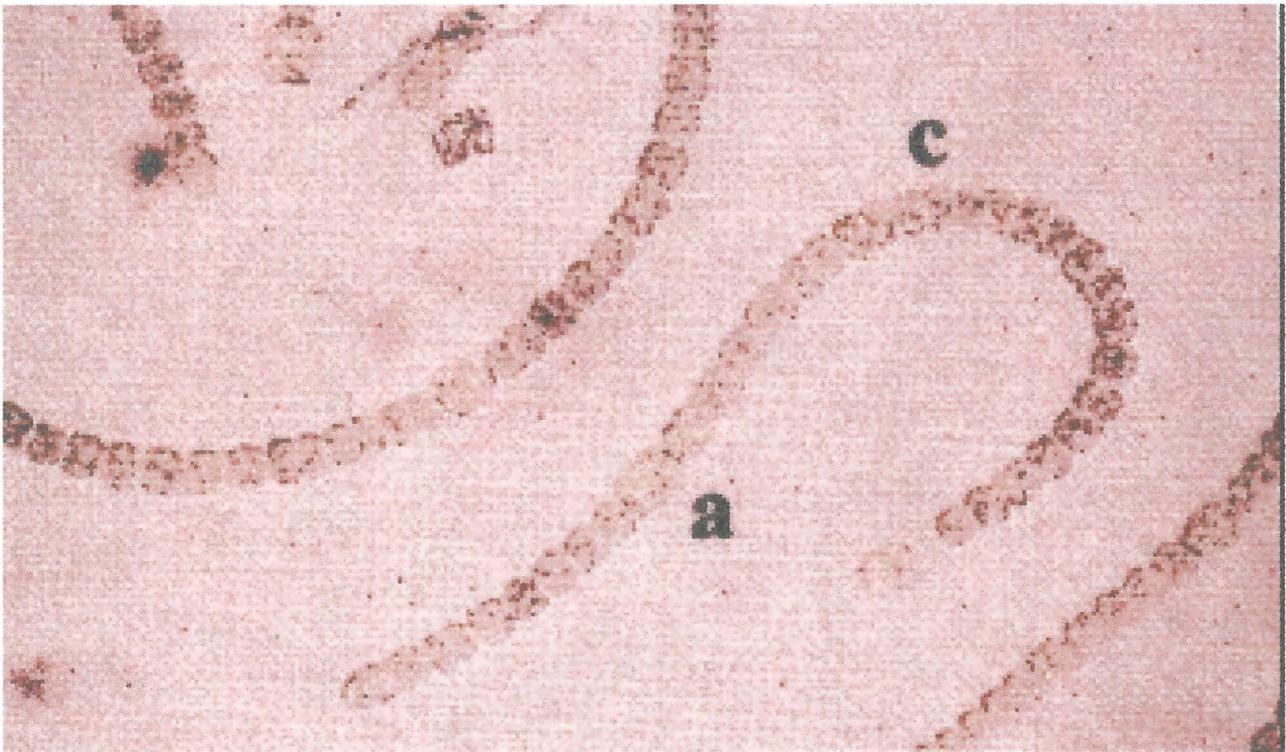
Tricoma de *Nostoc elliposporum*. B) Aquineta y c) Célula vegetativa.

9.- *Nostoc spongiaforme* Agardh. Ex Born et Flah. var. *tenue* Rao, C.B.

Masas gelatinosas, pequeñas, delgadas, expandidas, pardo negruzco a pardo, vaina hialina o amarillo pálido, generalmente más o menos difluente, ocasionalmente firme. Tricomas densamente enrollados, de 4-4,8 μm de ancho, células esféricas, subsféricas, elipsoidales o en forma de barril, aquellas que se encuentran junto a los heterocistos ligeramente adelgazadas, de 4-7,2 μm de largo, células de los extremos generalmente con el ápice puntiagudo. Heterocistos esféricos, subsféricos, elipsoidales o en forma de barril, raramente cilíndricas con los extremos redondeados o planos, de 4,8-7,2 μm de largo. Aquinetas en cadenas de 3-15, esféricas, subsféricas o elipsoidales, de 8-9,6 μm de ancho y 8-9,6 μm de largo, con pared externa hialina y lisa.

Ecología: Especie planctónica que crece sobre la superficie del agua con aspecto de masa mucilaginosa. Aparece junto a *Anabaena iyengarii* v. *unispora*, *Cylindrospermum muscicola* v. *longispora* y *Gloeotrichia natans*.

Distribución geográfica: Aparece en las siguientes localidades N° 1, 3,5, 13, 15, 16, 21, 22. 29 y 31.



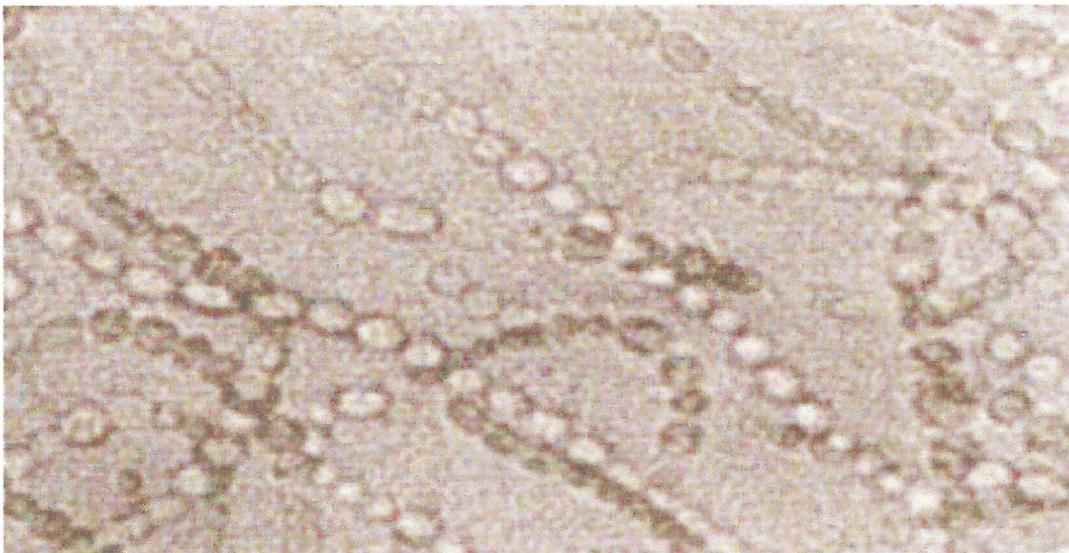
Tricomas de *Nostoc spongiaforme* var. *tenue*. a) Heterocisto y c) Célula vegetativa.

10.- *Nostoc linckia* (Roth) Bornet ex Born. et Flah.

Cenobios o talos de variado tamaño, al principio globosos más tarde irregularmente expandido, gelatinoso, desgarrado, verde- a violeta, o verde negruzco a pardo., filamentos densamente entremezclado. Tricomas de 3,5-4 μm de ancho, verde-azulado pálido, células cortas en forma de barril. Heterocistos subsféricos. Aquinetas subsféricas, 6-7 μm de ancho, 7-8 μm de largo, episporio liso.

Ecología: Especie bentónica. Aparece fundamentalmente sobre la superficie del fondo fangoso.

Distribución geográfica: Se encuentra presente en las localidades



Tricoma de *Noctoc linckia*

C.- MEDIOS DE CULTIVO, METODOS DE AISLAMIENTO, MANTENIMIENTO DE CULTIVOS UNALGALES Y MASIFICACION DE LOS CULTIVOS.

C.1.- MEDIOS DE CULTIVO

Inicialmente se usaron tres medios de cultivos: Medio Chu 10, Agua-tierra y Watanabe líquido. Finalmente sólo se trabajó con Watanabe líquido y Agar Watanabe

C.2.- METODOS DE AISLAMIENTO

Uno de los métodos de aislamiento más utilizado fue el de lavados sucesivos en vidrio reloj y segundo lugar el método de diluciones sucesivas en agua destilada.

C.3.- MANTENIMIENTO DE CULTIVOS UNIALGALES

Los cultivos fueron mantenidos en una cámara de cultivo con condiciones controladas: Fotoperíodo 14 horas luz y 10 horas oscuridad, con una intensidad de 800 lux y a una temperatura de 25 |C.

C.4.- MASIFICACION DE LOS CULTIVOS

Los cultivos fueron mantenidos en una cámara de cultivo con condiciones controladas: Luz continua, de 800 lux de intensidad y a una temperatura de 25 |C

D.- COLECTA DE NUESTRAS DE SUELOS PARA AISLAR ALGAS

De acuerdo al informe anterior se logró determinar las algas que presentaban mayor tasa de fijación de nitrógeno y mayor tasa de crecimiento. La tasa de fijación se determinó para 8 especies y la tasa de crecimiento para cuatro. Para los ensayos en macetas se utilizaron, las cuatro primeras especies de las cuales se conocía su tasa de fijación y su tasa crecimiento que se citan a continuación. Además, se utilizó *Anabaena iyengarii* var *tenuis* a pesar de no conocer aún su tasa de crecimiento

- 1.- *Nostoc sp1*
- 2.- *Gloeotrichia natans*
- 3.- *Nostoc linckia*
- 4.- *Nostoc sp2*
- 5.- *Anabaena iyengarii* var. *tenuis*

Las especies que se señalan a continuación, también se mantienen en cultivo pero por su lento crecimiento no han sido utilizadas en los ensayos de macetas.

- 1.- *Anabaena inaequalis*
- 2.- *Anabaena fertilissima*
- 3.- *Nostoc elliposporum*

E.- DETERMINACION DE NUTRIENTES

Propiedades del suelo

Debido a que en el informe anterior no se incluyó la totalidad de los datos de suelo que se encontraban en proceso, éstos se incluyen a continuación

Del análisis descriptivo de los datos de suelos de predios arroceros se desprende que en promedio, éstos presentan un nivel de fertilidad concordante con otros estudios del área realizados previamente. En promedio, la principal limitante nutricional para el crecimiento de las algas verde-azules es el potasio, aunque existen sitios en los cuales el cinc y el fósforo aparecen en un nivel claramente deficiente.

Estadístico	pH	MO	N	P	K	Ca	Mg	Na	K	Zn	Fe	Cu	Mn
Promedio	6.09	2.58	27.85	9.15	81.91	9.21	4.79	0.37	0.19	8.92	99.92	4.04	131.31
Mediana	6.00	2.60	28.00	6.00	71.00	7.73	4.43	0.25	0.16	1.01	100.07	3.90	114.24
Moda	5.60	2.20	25.00	4.00	53.00	4.88	-	0.23	0.15	-	-	-	-
Desviación estándar	0.48	0.64	9.27	7.68	42.49	5.04	-	0.43	0.10	17.23	45.84	1.63	81.18
Varianza	0.23	0.41	85.88	58.95	1805.21	25.38	8.58	0.19	0.01	296.78	2101.46	2.65	6589.39
Mínimo	5.30	1.40	6.00	2.00	27.00	2.73	1.04	0.12	0.06	0.20	16.59	1.50	18.07
Máximo	7.60	4.10	-52.00	32.00	238.00	25.48	17.62	2.59	0.54	71.57	207.51	8.82	414.77
N°de observ	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33

Relación entre la población de algas y propiedades del suelo.

Ninguna de las variables de suelo evaluadas correlacionó con el conteo de algas en placa. Esto ocurrió probablemente debido a la baja variabilidad en los datos de suelo y el bajo número de localidades en las que se realizó el conteo en placa.

Propiedad	pH	MO	N	P	K	Ca	
r	-0.37207	-0.22078	0.20346	-0.30295	-0.25084	-0.32887	
Valor de P	0.2598	0.5142	0.5485	0.3652	0.4569	0.3234	
Propiedad	Mg	Na	K	Zn	Fe	Cu	Mn
r	-0.28154	-0.33063	-0.25084	-0.19827	0.38702	0.09855	0.52091
Valor de P	0.4016	0.3207	0.4569	0.5589	0.2396	0.7731	0.1004

F.- DETERMINACIÓN DE LA TASA DE CRECIMIENTO

Día	Especie	Pesa filtro (gr)	Pesa filtro + alga (gr)	Peso seco del alga (gr)	\bar{X}	Localidad
0	<i>Gloeotrichia natans</i>	44,674	44,680	0.006		31
0	<i>Gloeotrichia natans</i>	45,069	45,075	0.006	0,005	31
0	<i>Gloeotrichia natans</i>	42,201	42,204	0.003		31
3	<i>Gloeotrichia natans</i>	22,963	22,973	0,01		31
3	<i>Gloeotrichia natans</i>	45,023	45,029	0,006	0,0083	31
3	<i>Gloeotrichia natans</i>	43,716	43,725	0,009		31
5	<i>Gloeotrichia natans</i>	42,203	42,213	0,01		31
5	<i>Gloeotrichia natans</i>	50,710	50,719	0.009	0,0106	31
5	<i>Gloeotrichia natans</i>	22,006	22,019	0.013		31
7	<i>Gloeotrichia natans</i>	43,877	43,885	0,008		31
7	<i>Gloeotrichia natans</i>	46,212	46,218	0,006	0,009	31
7	<i>Gloeotrichia natans</i>	45,684	45,697	0,013		31
14	<i>Gloeotrichia natans</i>	45,221	45,242	0,021		31
14	<i>Gloeotrichia natans</i>	45,318	45,340	0,022	0,0203	31
14	<i>Gloeotrichia natans</i>	43,266	43,284	0.018		31

Día	Especie	Pesa filtro (gr)	Pesa filtro + alga (gr)	Peso seco del alga (gr)	\bar{X}	Localidad
0	<i>Nostoc linckia</i>	50,712	50,716	0,004		21 B
0	<i>Nostoc linckia</i>	44,688	44,692	0,004	0,005	21 B
0	<i>Nostoc linckia</i>	43,878	43,885	0,007		21 B
3	<i>Nostoc linckia</i>	44,924	44,933	0,009		21 B
3	<i>Nostoc linckia</i>	43,765	43,776	0,011	0,0083	21 B
3	<i>Nostoc linckia</i>	45,075	45,080	0,005		21 B
5	<i>Nostoc linckia</i>	44,686	44,099	0,013		21 B
5	<i>Nostoc linckia</i>	43,879	43,889	0,01	0,011	21 B
5	<i>Nostoc linckia</i>	29,961	29,971	0,01		21 B
7	<i>Nostoc linckia</i>	45,768	45,780	0,012		21 B
7	<i>Nostoc linckia</i>	44,923	44,931	0,008	0,0086	21 B
7	<i>Nostoc linckia</i>	45,418	45,424	0,006		21 B
14	<i>Nostoc linckia</i>	45,651	45,669	0,018		21 B
14	<i>Nostoc linckia</i>	45,457	45,468	0,011	0,014	21 B
14	<i>Nostoc linckia</i>	43,305	43,318	0,013		21 B

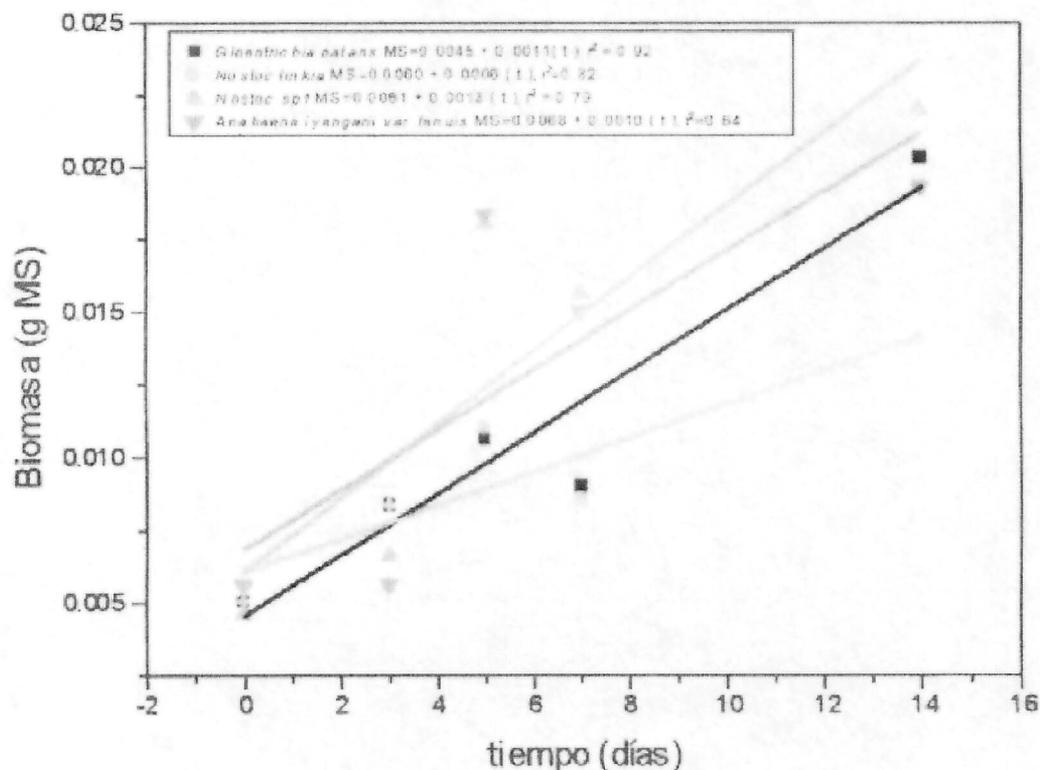
Día	Especie	Pesa filtro (gr)	Pesa filtro + alga (gr)	Peso seco del alga (gr)	\bar{X}	Localidad
0	<i>Anabaena iyengarii</i> var. <i>tenuis</i>	45,000	45,004	0,004		22
0	<i>Anabaena iyengarii</i> var. <i>tenuis</i>	45,070	45,076	0,006	0,0056	22
0	<i>Anabaena iyengarii</i> var. <i>tenuis</i>	44,678	44,685	0,007		22
3	<i>Anabaena iyengarii</i> var. <i>tenuis</i>	43,719	43,725	0,006		22
3	<i>Anabaena iyengarii</i> var. <i>tenuis</i>	42,204	42,210	0,006	0,0056	22
3	<i>Anabaena iyengarii</i> var. <i>tenuis</i>	50,710	50,715	0,005		22
5	<i>Anabaena iyengarii</i> var. <i>tenuis</i>	44,681	44,702	0,021		22
5	<i>Anabaena iyengarii</i> var. <i>tenuis</i>	45,064	45,082	0,018	0,0183	22
5	<i>Anabaena iyengarii</i> var. <i>tenuis</i>	45,013	45,029	0,016		22
7	<i>Anabaena iyengarii</i> var. <i>tenuis</i>	45,016	45,032	0,016		22
7	<i>Anabaena iyengarii</i> var. <i>tenuis</i>	44,930	44,946	0,016	0,015	22
7	<i>Anabaena iyengarii</i> var. <i>tenuis</i>	44,164	49,177	0,013		22
14	<i>Anabaena iyengarii</i> var. <i>tenuis</i>	44,675	44,689	0,014		22
14	<i>Anabaena iyengarii</i> var. <i>tenuis</i>	44,871	44,891	0,02	0,0193	22
14	<i>Anabaena iyengarii</i> var. <i>tenuis</i>	45,043	45,067	0,024		22

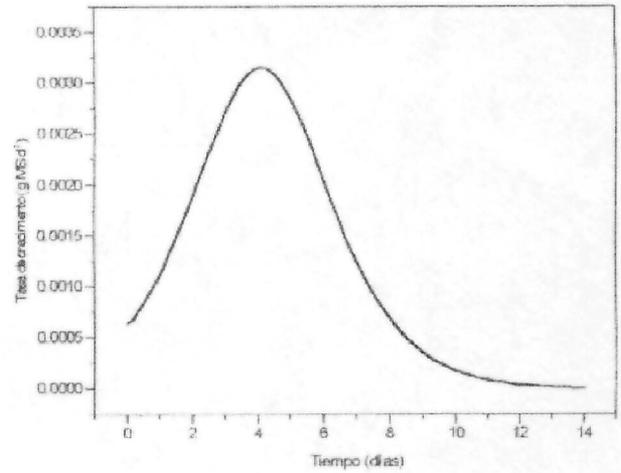
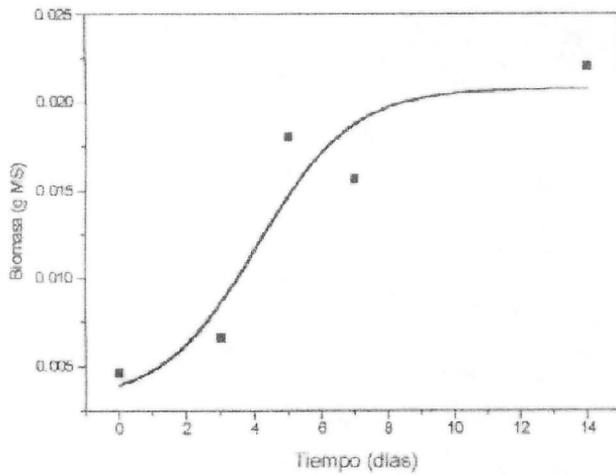
Día	Especie	Pesa filtro (gr)	Pesa filtro + alga (gr)	Peso seco del alga (gr)	\bar{X}	Localidad
0	<i>Nostoc</i> sp. 1	43,626	43,632	0,006		16
0	<i>Nostoc</i> sp. 1	46,382	46,384	0,002	0,0046	16
0	<i>Nostoc</i> sp. 1	44,606	44,612	0,006		16
3	<i>Nostoc</i> sp. 1	45,071	45,076	0,005		16
3	<i>Nostoc</i> sp. 1	44,610	44,618	0,008	0,0066	16
3	<i>Nostoc</i> sp. 1	22,965	22,972	0,007		16
5	<i>Nostoc</i> sp. 1	43,759	43,773	0,014		16
5	<i>Nostoc</i> sp. 1	45,960	45,981	0,021	0,018	16
5	<i>Nostoc</i> sp. 1	45,192	45,211	0,019		16
7	<i>Nostoc</i> sp. 1	44,500	44,518	0,018		16
7	<i>Nostoc</i> sp. 1	43,493	43,507	0,014	0,0156	16
7	<i>Nostoc</i> sp. 1	45,072	45,087	0,015		16
14	<i>Nostoc</i> sp. 1	43,715	43,740	0,025		16
14	<i>Nostoc</i> sp. 1	45,460	45,480	0,02	0,022	16
14	<i>Nostoc</i> sp. 1	45,342	45,363	0,021		16

Tasa de crecimiento

Al realizar un análisis de regresión lineal entre la biomasa de algas acumulada y el tiempo transcurrido fue posible calcular las tasas de crecimiento para las diferentes especies (figura 1). Estas fueron en orden decreciente: *Nostoc* sp.1, *Gloeotrichia natans*, *Anabaena iyengarii* var. *tenuis* y *Nostoc linckia*.

Al ajustar una curva sigmoideal a los datos de acumulación de materia seca de *Nostoc* sp. 1, se determinó que bajo condiciones de laboratorio, la máxima tasa de crecimiento (g MS d1) se produjo a los 4 días, alcanzándose los 0,032 g MS d1 (figura 2). Par el resto de las especies evaluadas (4), el ajuste sigmoideal no fue posible, debido a que el crecimiento no se estabilizó al día 14, por lo cual será necesario evaluarlas por un tiempo más prolongado. Estos resultados son muy importantes para predecir el comportamiento de las distintas especies de microalgas en terreno y también para la formulación de los biofertilizantes que deberán contener mezcla de especies de distintas tasa y períodos de crecimiento de manera de cubrir las necesidades de N del cultivo de arroz

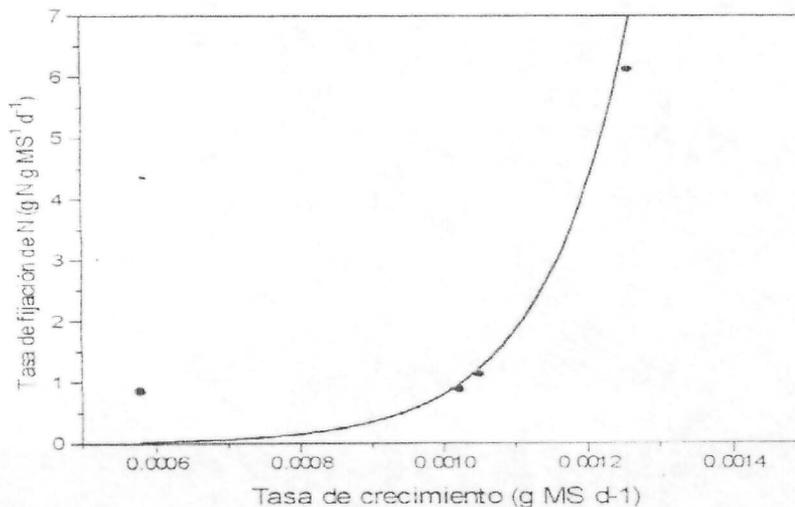




Relación entre tasa de crecimiento y tasa de fijación de N.

Al relacionar las tasas de crecimiento de cuatro especies seleccionadas con sus respectivas tasas de fijación, se observó un ajuste exponencial de los datos, determinándose una relación directa entre tasa de crecimiento y tasa de fijación biológica de N (figura 3). A bajas tasas de crecimiento, la tasa de fijación es cercana a cero, observándose un fuerte incremento a partir de los 0,001 g MS d⁻¹.

A partir de estos datos, es claro que un buen criterio de selección de las especies de microalgas a ser incluidas en el biofertilizante es su tasa de crecimiento. Sin embargo, estas relaciones deberán ser revisadas una vez que se complete la información respecto de las tasas de crecimiento y fijación de N para todas las especies y variedades prospectadas.



Como criterios para la selección de las especies que se utilizarán en la elaboración del biofertilizante, se ha considerado por un lado su tasa de fijación y además su tasa de crecimiento. Esta última actividad no se había considerado en este trabajo, sin embargo, es de vital importancia para el éxito del desarrollo del biofertilizante, ya sea a partir de una sola especie o de una mezcla de ellas para asegurar la efectividad del uso del biofertilizante en el terreno

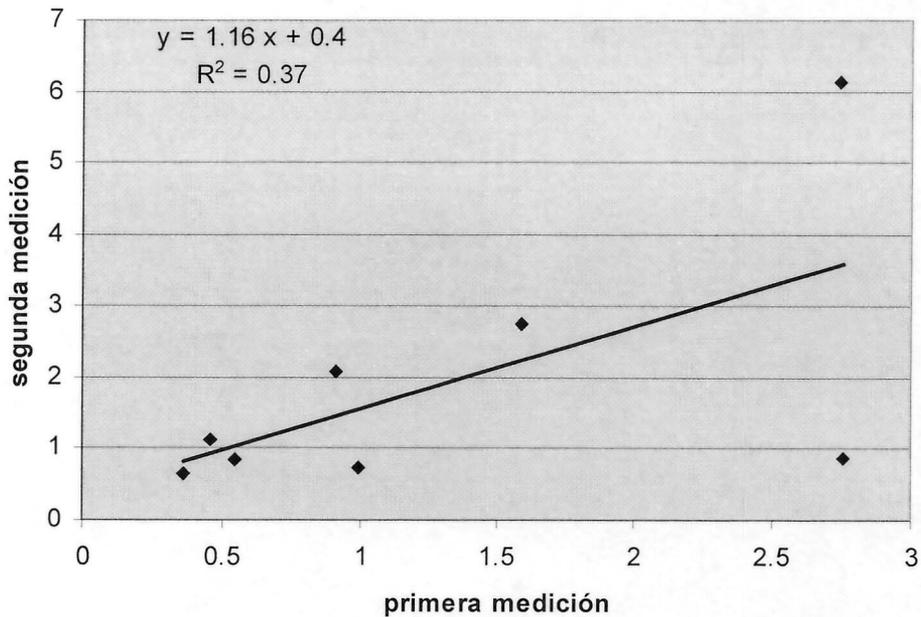
Posterior a la determinación de tasa de crecimiento de las 4 especies anteriores se determinó, la tasa de crecimiento de otra especie como es *Nostoc* sp. 2, la cual fue igualmente utilizada en la elaboración del biofertilizante

Día	Especie	Pesa filtro (gr)	Pesa filtro + alga (gr)	Peso seco del alga (gr)	\bar{X}	Localidad
0	Nostoc sp. 2	46,132	46,143	0,011		31 b
0	Nostoc sp. 2	45,63	45,639	0,009	0,012	31 b
0	Nostoc sp. 2	45,003	45,021	0,018		31 b
3	Nostoc sp. 2	44,596	44,626	0,03		31 b
3	Nostoc sp. 2	45,3	45,332	0,032	0,028	31 b
3	Nostoc sp. 2	43,858	43,88	0,022		31 b
5	Nostoc sp. 2	45,62	45,662	0,042		31 b
5	Nostoc sp. 2	46,092	46,138	0,046	0,049	31 b
5	Nostoc sp. 2	43,06	43,102	0,042		31 b
7	Nostoc sp. 2	45,117	45,165	0,048		31 b
7	Nostoc sp. 2	43,414	43,468	0,054	0,049	31 b
7	Nostoc sp. 2	45,025	45,072	0,047		31 b
14	Nostoc sp. 2	44,646	44,673	0,027		31 b
14	Nostoc sp. 2	45,752	45,802	0,05	0,038	31 b
14	Nostoc sp. 2	42,001	42,038	0,037		31 b

G.- DETERMINACION DE LA TASA DE FIJACION DE NITROGENO

Tabla: Tasa de fijación biológica de N de las algas en cultivo ya existentes y las obtenidas a partir de muestras de suelos

Especies o variedades	Localidad	Tasa de fijación g N/g NS
<i>Nostoc</i> sp. 1	16	6.12 a
<i>Anabaena inaequalis</i>	9	2.76 b
<i>Anabaena fertilissima</i>	15	2.09 b
<i>Gloeotrichia natans</i>	31	1.12 b
<i>Nostoc ellipsoforum</i>	15	1.02 b
<i>Anabaena iyengarii var tenuis</i>	22	0.88 b
<i>Nostoc linckia</i>	21 b	0.85 b
<i>Nostoc</i> sp. 2	31 b	0.73
<i>Microchaete tenera</i>	Argentina	0.64 b



H.- ESTABLECIMIENTO DEL BIOFERTILIZANTE

El biofertilizante se estableció a partir de las siguientes algas fijadoras de nitrógeno:

Algas que coronen el biofertilizante	Proporciones
Nosctoc sp 1	45 %
Anabaena iyengarii var tenuis	25 %
Nostoc linckia	25 %
Nostoc sp. 2	5 %

El motivo por el cual se utilizaron las proporciones indicadas con anterioridad se basa en lo siguiente:

Primero, se tomó en consideración las tasas de fijación de nitrógeno y de crecimiento, debido a ello se consideraron las especies anteriormente señaladas, ya que éstas presentaban las condiciones más óptimas.

Luego de cultivarlas, masificarlas y liofilizarlas, se determinó la cantidad de material algal disponible. Basándose en el antecedente anterior, se establecieron las proporciones equivalentes del biofertilizante. La idea era formular el biofertilizante en cantidades uniformes de tal manera que en una próxima oportunidad se pudiera elaborar nuevamente el producto con cantidades mayores de material, pero conservando en rigor las mismas proporciones que se utilizaron en la primera etapa.

I.- ENSAYOS EN MACETAS

1.- Efecto de la aplicación de *Gloeotrichia natans* en la altura de plantas de arroz (cm) a los 26 días después de la siembra.

La aplicación de *Gloeotrichia natans* no afectó la altura promedio de las plantas de arroz ($P>0.05$). También se observa que la altura de las plantas no aumentó con la aplicación de las diferentes dosis de nitrógeno ($P>0.05$), C.V. = 8,1 %

Cuadro 1: Efecto de la aplicación de *Gloeotrichia natans* en la altura de plantas de arroz (cm).

Alga	Altura plantas de arroz
0	42,4375
5	41,5
10	41,0
20	42,375
Significancia	ns
Nitrógeno	
0	40,125
60	42,375
120	42,125
240	42,6875
Significancia	ns
Alga x Nitrógeno	
Significancia	ns

Duncan 5 %, C.V. (%)= 8,1

Promedio en una columna seguidos por la misma letra no difieren estadísticamente

Significancia ns, no significativo; **, $p=0.01$, *, $p=0.05$

2.- Efecto de la aplicación de *Nostoc linckia* en la altura de plantas de arroz (cm) a los 26 días después de la siembra.

Con la aplicación de *Nostoc linckia* se observa diferencia en la altura de las plantas de arroz ($P>0,05$)

De acuerdo a las distintas dosis de nitrógeno aplicada, se logra observar un aumento en la altura promedio de las plantas de arroz altamente significativa ($P<0.01$). El análisis de los resultados a través del test de Duncan revela que el aumento en la altura promedio de las plantas es efectivo a 120 y 240 kg N/ha.

También, se observa diferencia significativa en la altura promedio de las plantas entre la interacción de diferentes dosis de alga versus diferentes concentraciones de nitrógeno ($P<0.05$).

Cuadro 2: Efecto de la aplicación de *Nostoc linckia* en la altura de planta de arroz

Alga	Altura plantas de arroz
0	42 b
5	41.625 b
10	39.6875 b
20	44.4375 a
Significancia	**
Nitrògeno	
0	39.75 b
60	40.5 b
120	42.6875 ab
240	44.8125 a
Significancia	**
Alga x Nitrógeno	
Significancia	*

Duncan 5 %, C.V. (%) = 8.6

Promedio en una columna seguidos por una misma letra no difieren estadísticamente

Significancia: ns, no significativo, **; p=0.01; *, p=0.05

3.- Efecto de la aplicación de *Nostoc sp. 2* en la altura de plantas de arroz (cm) a los 26 días después de la siembra.

La aplicación de *Nostoc sp. 2* afecta la altura promedio de la planta de arroz ($P < 0.05$).

La aplicación del nitrógeno no incrementó significativamente en la altura promedio de las plantas de arroz

Cuadro 3: Efecto de la aplicación de *Nostoc sp. 2* en la altura de plantas de arroz (cm)

Alga	Altura plantas de arroz
0	40.875 b
10	45.25 a
20	42.25 ab
Significancia	*
Nitrógeno	
0	42.25
120	43.3333
Significancia	ns
Alga x Nitrógeno	
Significancia	ns

Duncan 5 %, C.V. (%) = 6.7

Promedio en una columna seguidos por una misma letra no difieren estadísticamente

Significancia: ns, no significativo, **; p=0.01; *, p=0.05

4.- Efecto de la aplicación de *Nostoc* sp.1 en la altura de la planta de arroz (cm) a los 26 días después de la siembra.

La aplicación de *Nostoc* sp.1 afecta la altura promedio de las plantas ($P < 0,005$). Con respecto a las diferentes dosis de nitrógeno aplicadas, éstas no afectaron en la altura promedio de las plantas ($P > 0,05$).

Cuadro 4: Efecto de la aplicación de *Nostoc* sp.1 en la altura de plantas de arroz (cm)

Alga	Altura Plantas de Arroz
0	40.875 a
10	36.375 b
20	40.9375 a
Significancia	*
Nitrógeno	
0	38.7083
120	40.0833
Significancia	ns
Alga x Nitrógeno	
Significancia	ns

Duncan 5 %, C.V. (%) = 8.9

Promedio en una columna seguidos por una misma letra no difieren estadísticamente

Significancia: ns, no significativo, **; $p=0.01$; *, $p=0.05$

El ensayo de combinación de diversas de dosis de nitrógeno y algas se inició en febrero de 2000. Para este efecto se plantearon 2 experimentos que se describen a continuación:

Experimento N°1:

- 2 tipos de algas (2 tratamientos)
- 4 dosis de nitrógeno (0-60-120-240 Kg/ha)
- 4 dosis de nitrógeno de algas (0-30-60-120 gr/ha, equivalente a 0, 5, 10 y 20 ml, respectivamente).
- 4 repeticiones

El diseño usado fue completamente al azar con arreglo factorial.

Las especies de algas utilizadas en este ensayo fueron las siguientes:

Gloeotrichia natans	Tratamiento 1
Nostoc linckia	Tratamiento 2

El desarrollo del ensayo tuvo algunas dificultades derivadas de las condiciones climáticas que prevalecieron en el invernadero, lo cual dificultó el normal desarrollo de las plantas. Debido a esto no se alcanzó la madurez fisiológica en todas las macetas, quedando incluso muchas plantas sin espigar.

Las mediciones del ensayo se realizaron entre el 12 y el 17 de octubre de 2000, las cuales fueron los siguientes:

- 1) Altura de plantas
- 2) Peso fresco de planta entera (incluyendo raíces)
- 3) Peso seco de planta entera (incluyendo raíces)

Estos parámetros de evaluación fueron elegidos por estar relacionados directamente con los resultados de cosecha (rendimiento de grano) que se obtienen a nivel de campo. Al respecto cabe destacar que en cereales el rendimiento en grano tiene estrecha relación con la altura de plantas. Por otra parte, el "índice de Cosecha" es un factor estable en los cultivos, por lo cual conociendo el peso seco de las plantas, se puede estimar el resultado a obtener en rendimiento, existiendo una relación directa de carácter positivo entre ambos parámetros.

De acuerdo a los resultados del análisis estadístico (Tablas N°1, 2 y 3) se puede observar lo siguiente:

- a) **Altura de plantas (Tabla N°1):** Si bien el análisis de varianza no indica diferencias significativas entre postratamientos, al realizar el test de Duncan (5% de significancia) para la comparación entre las medias, se observa que el mejor resultado en altura corresponde a la combinación del T2 en dosis de 120 gramos de algas por ha con una dosis de 240 kg de n. esta combinación se aleja de lo realizado en forma práctico por los agricultores.

Tabla N° 1: Altura de plantas

Tratamientos	Ranking	Medias	Test Duncan (5%)
Testigo	12	70,6	abc
T1- 5A- 0N	2	66,45	ab
T1- 10A- 0N	1	66,0	a
T1- 20 A- 0N	8	69,5	abc
T1 - 0A - 60N	5	68,8	ab
T1 -5A - 60N	10	70,45	abc
T1 - 10A - 60N	24	74, 8	abc
T1 -20A - 60N	4	67, 6	ab
T1 - 0A - 120 N	25	75, 8	c
T1 -5A - 120 N	15	72, 3	abc
T1 - 10A - 120N	19	69,35	ab
T1 - 20 A- 120N	21	74,2	abc
T1 - 0A - 240N	6	69,0	ab
T1-5A- 240N	16	72,3	abc
T1 - 10 A - 240 N	7	69,35	ab
T1 - 20 A - 240N	23	74,33	abc
T2- 5A- 0N	14	71,4	abc
T2 - 10A - 0N	3	67,2	ab
T2 - 20A - 0N	13	71,05	abc
T2 - 5 A - 60N	21	74,2	abc
T2 - 10 A-60n	20	74,05	abc
T2- 20 A - 60 N	18	72,55	abc
T2 - 5 A - 120 N	16	72,3	abc
T2 - 10 A - 120N	22	74,25	abc
T2 - 20 A - 120 N	9	70,4	abc
T2 - 5 A - 240 N	17	72,45	abc
T2 - 10 A - 240 N	11	70,5	abc
T2 - 20 A -240 N	26	78,9	c

A = algas

N = nitrógeno

La combinación del T1 con 120 Kg de N/ ha sin alga, obtuvo la segunda mejor altura, lo cual corresponde a lo realizado normalmente por los agricultores arroceros.

La combinación la tercera mejor altura correspondió al T1 con 60 gramos y 60 Kg de N/ ha. Cabe destacar que esta combinación es estadísticamente igual a las dos anteriores.

- b)** Peso fresco (tabla N° 2): Si bien el análisis de varianza no indica diferencia significativa entre los tratamientos, al realizar el test de Duncan (5% de significancia), para la comparación entre media se observa que el mejor resultado en altura corresponde a la

combinación del T2 con 30 gramos de alga por hectárea y 60 Kg de N / ha, siendo estadísticamente igual a las siguientes combinaciones:

T1 en dosis de 60 gramos de algas + 60 kg de N por ha

T2 en dosis de 60 gramos de alga + 60 Kg de N por ha

T2 en dosis de 120 gramos de alga + 240 Kg de N por ha.

Tabla N° 2: Peso Fresco de plantas

Tratamientos	Ranking	Medias	Test Duncan (5%)
Testigo	5	2.15	abc
T1- 5A- 0N	8	2.28	abcd
T1- 10A- 0N	4	2.1	abc
T1- 20 A- 0N	3	1.9	ab
T1 - 0A - 60N	9	2.3	abcd
T1 -5A – 60N	7	2.18	abc
T1 - 10A - 60N	26	3.53	cde
T1 -20A - 60N	11	2.33	abcd
T1 – 0A – 120 N	2	1.88	ab
T1 -5A - 120 N	18	2.8	abcd
T1 – 10A - 120N	16	2.7	abcd
T1 – 20 A- 120N	22	3.02	abcde
T1 – 0A – 240N	28	4.35	e
T1-5A- 240N	24	3.28	abcde
T1 – 10 A – 240 N	19	2.83	abcd
T1 – 20 A – 240N	18	2.8	abcd
T2- 5A- 0N	1	1.83	a
T2 – 10A - 0N	13	2.35	abcd
T2 – 20A - 0N	17	2.78	abcd
T2 – 5 A - 60N	6	2.15	abc
T2 – 10 A-60n	20	2.85	abcd
T2- 20 A - 60 N	21	2.88	abcd
T2 – 5 A - 120 N	23	3.1	abcde
T2 – 10 A - 120N	15	2.45	abcd
T2 – 20 A - 120 N	14	2.38	abad
T2 – 5 A – 240 N	27	3.83	de
T2 – 10 A – 240 N	12	2.35	abcd
T2 – 20 A -240 N	25	3.4	bcde

Si bien hubo otros tratamientos que estadísticamente manifestaron ser iguales a los señalados, de acuerdo al ranking por el programa estadístico, tenderían a una menor altura.

- c) Peso seco: (Tabla N° 3): El análisis de varianza con estos resultados mostró diferencias estadísticas con alto nivel de significancia, sin embargo, al realizar el test de comparación de medias Duncan (5%) no se observaron diferencias entre medias:

El ranking realizado por el test de media indicó que la combinación que lograra el mejor peso correspondió al T2 en dosis de 30 gramos de alga + 60 Kg de N por ha, siendo estadísticamente igual a las siguientes combinaciones, en orden decreciente:

T2 en dosis de 30 gramos de algas + 240 Kg de N por ha
 T2 en dosis de 120 gramos de alga + 240 Kg de N por ha
 T1 en dosis de 60 gramos de algas + 60 Kg de N por ha
 T2 en dosis de 60 gramos de alga + 60 Kg de N por ha

Tabla N° 3 (Peso seco de plantas)

Tratamientos	Ranking	Medias	Test Duncan (5%)
Testigo	9	4.75	abc
T1- 5A- 0N	4	3.65	abc
T1- 10A- 0N	1	2.4	a
T1- 20 A- 0N	3	2.9	ab
T1 - 0A - 60N	7	4.5	abc
T1 -5A – 60N	11	5.05	abc
T1 - 10A - 60N	21	6.85	c
T1 -20A - 60N	12	5.1	abc
T1 – 0A – 120 N	15	5.9	abc
T1 -5A - 120 N	18	6.2	abc
T1 – 10A - 120N	8	4.7	abc
T1 – 20 A- 120N	6	4.25	abc
T1 – 0A – 240N	13	5.6	abc
T1-5A- 240N	10	4.9	abc
T1 – 10 A – 240 N	17	6.05	abc
T1 – 20 A – 240N	15	5.9	abc
T2- 5A- 0N	12	5.1	abc
T2 – 10A - 0N	2	2.85	ab
T2 – 20A - 0N	19	6.55	bc
T2 – 5 A - 60N	23	7.3	c
T2 – 10 A-60n	21	6.85	c
T2- 20 A - 60 N	20	6.65	bc
T2 – 5 A - 120 N	9	4.75	abc
T2 – 10 A - 120N	16	6.	abc
T2 – 20 A - 120 N	5	4.0	abc
T2 – 5 A – 240 N	23	7.0	c
T2 – 10 A – 240 N	14	5.7	abc
T2 – 20 A -240 N	22	7.25	c

Experimento N^o 2

- 2 tipos de algas (2 tratamientos)
- 2 dosis de nitrógeno (0 – 120 Kg/ha)
- 3 dosis de algas (0 – 60 – 120 gr/ha, equivalente a 0, 10 y 20 ml respectivamente)
- 4 repeticiones.

El diseño usado fue completamente al azar con arreglo factorial

Las especies de algas utilizadas en este ensayo del experimento N^o 1.

Las mediciones del ensayo se realizaron entre el 12 y el 17 de octubre de 2000, las cuales fueron las siguientes:

- 1) Altura de plantas
- 2) Peso fresco de planta entera (incluyendo raíces)
- 3) Peso seco de planta entera (incluyendo raíces)

De acuerdo a los resultados obtenidos estadístico (Tablas N^o 4, 5 y 6) se puede observar lo siguiente:

- a) Altura de plantas (Tabla N^o 4): De acuerdo al análisis de varianza hubo diferencias altamente significativas entre los tratamientos. El test de medias usado (Duncan al 5 %) indicó de acuerdo a un ranking que el mejor resultado se obtuvo con la combinación del T4 en dosis 60 gramos de algas por ha con 120 kg de N. Este resultado fue estadísticamente igual al de las siguientes combinaciones, señaladas en orden decreciente:

T4 en dosis de 120 gramos de algas (mezcla*) + 120 kg de N por ha

T4 sin adición de algas con 120 Kg de n por ha.

T4 en dosis de 60 gramos de algas por ha sin adición de N.

T4 en dosis de 120 gramos de algas + 120 Kg de N por ha.

T4 en dosis de 60 gramos de algas + 120 Kg de n por ha.

T4 en dosis de 120 gramos de algas por ha, sin adición de N.

- = mezcla de *Nostoc* sp. 1 y *Anabaena iyengarii*, variedad *tenuis*.

Otros tratamientos fueron estadísticamente diferentes.

Tabla N° 4: Altura de plantas

Tratamientos	Ranking	Medias	Test Duncan (5 %)
Testigo	4	70,6	b
T3 – 10 A – 0N	2	68,45	ab
T3 – 20 A – 0N	1	62,25	a
T3 – 0 A – 120N	10	75,8	bc
T3 – 10 A – 120N	7	72,65	bc
T3 – 20 A – 120N	5	71,9	bc
T4 – 10 A – 0N	9	74,5	bc
T4 – 20 A – 0N	6	72,45	bc
T4 – 20 M – 0N	3	69,5	ab
T4 – 10 A – 120N	12	79,55	c
T4 – 20 A – 120N	8	73,45	bc
T4 – 20 M – 120N	11	75,9	bc

M= mezcla de algas

- b) **Peso fresco (Tabla N° 5):** De acuerdo al análisis de varianza no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos. El test de medias tampoco mostró diferencias estadísticas, aunque de acuerdo al ranking arrojado el mejor resultado en peso fresco se obtuvo con la combinación del T4 en dosis de 60 gramos de algas por ha, más 120 kg de N.

Tabla N° 5: Peso fresco de plantas.

Tratamientos	Ranking	Medias	Test Duncan (5 %)
Testigo	2	4,75	b
T3 – 10 A – 0N	3	5,0	ab
T3 – 20 A – 0N	4	5,28	a
T3 – 0 A – 120N	7	5,9	bc
T3 – 10 A – 120N	3	5,0	bc
T3 – 20 A – 120N	8	6,05	bc
T4 – 10 A – 0N	6	5,35	bc
T4 – 20 A – 0N	5	5,3	bc
T4 – 20 M – 0N	1	4,7	ab
T4 – 10 A – 120N	11	8,45	c
T4 – 20 A – 120N	10	6,2	bc
T4 – 20 M – 120N	9	6,1	bc

- c) **Peso seco (Tabla N° 6):** El análisis de varianza indicó diferencias significativas entre los tratamientos. De acuerdo el test de medias realizado (Duncan al 5 %) el mejor resultado se obtuvo con la combinación del T3 en dosis de 120 gramos de algas, más

120 Kg de n por ha, siendo estadísticamente igual a las siguientes combinaciones indicadas en orden decreciente.

- T4 en dosis de 60 gramos de algas + 120 Kg de N por ha
- T4 en dosis de 60 gramos de algas + 120 Kg de N por ha
- T4 en dosis de 120 de gramos de algas (mezcla*) + 120 Kg de n por ha.
- T4 en dosis de 60 gramos de algas por ha, sin adición deN.
- T4 en dosis de 120 gramos de algas + 120 Kg de N por ha.

- = mezcla de *Nostoc* sp 1 y *Anabaena iyengarii*, variedad *tenuis*

Otros tratamientos fueron estadísticamente diferentes

Tabla N°6: Peso seco de plantas

Tratamientos	Ranking	Medias	Test Duncan (5 %)
Testigo	5	2,2	ab
T3 - 10 A - 0N	5	2,2	ab
T3 - 20 A - 0N	3	2,15	ab
T3 - 0 A - 120N	1	1,88	a
T3 - 10 A - 120N	9	3,05	abc
T3 - 20 A - 120N	11	3,43	c
T4 - 10 A - 0N	7	2,75	abc
T4 - 20 A - 0N	2	2,0	ab
T4 - 20 M - 0N	3	2,15	ab
T4 - 10 A - 120N	10	3,15	bc
T4 - 20 A - 120N	6	2,63	abc
T4 - 20 M - 120N	8	2,98	abc

Con los resultados en los 2 experimentos anteriores, se realizó un análisis de los resultados obtenidos para los siguientes niveles de n, especies y dosis de algas:

Especies de algas:	<i>Gloeotrichia natans</i>	Tratamiento 1
	<i>Nostoc linckia</i>	Tratamiento 2
	<i>Nostoc</i> sp. 2	Tratamiento 3
	<i>Nostoc</i> sp. 1	Tratamiento 4

Dosis de algas: el equivalente a 0 - 60 - 120 gramos por ha (0, 10 y 20 ml).

Dosis de N: el equivalente a 0 y 120 kg por ha

Las mediciones evaluadas fueron las siguientes:

- 1) Altura de plantas

- 2) Peso seco de planta entera (incluyendo raices)
- 3) Peso seco de planta entera (incluyendo raices)

De acuerdo a los resultados obtenidos del análisis estadístico se pudo observar lo siguiente:

- a) Altura de plantas (Tabla N^a 7): El análisis estadístico indicó diferencias altamente significativas entre las medias de los tratamientos. De acuerdo al test de medias utilizado (Duncan al 5 %), el mejor resultado se obtuvo con la combinación del T4 en dosis de 60 gramos de algas y 120 Kg por ha. Este resultado fue estadísticamente igual al obtenido en las siguientes combinaciones, indicadas en orden decreciente:

T4 en dosis de 120 gramos de algas (mezcla”) + 120 kg de N por ha.

Testigo (sin algas) + 120 kg de n por ha.

T4 en dosis de 60 gramos de algas por ha, sin adición de N

T2 en dosis de 60 gramos de algas + 120 Kg de n por ha.

“= Mezcla de Nostoc sp. 1 y Anabaena iyengarii var. tenuis

Tabla N^a 7. Altura de plantas

Tratamientos	Ranking	Medias	Test Duncan (5%)
Testigo	7	70,6	bcd
T1- 10A- 0N	2	66,0	ab
T1- 20 A- 0N	5	69,5	abcd
T1 - 0A - 120N	17	75,8	de
T1 -10A – 120N	13	73,75	bcde
T1 - 20A - 120N	14	74,2	cde
T2 -10A - 0N	3	67,2	abc
T2 – 20A – 0 N	8	71,05	bcd
T2 -10A - 120 N	15	74,25	cde
T2 – 20 A - 120N	6	70,4	bcd
T3 – 10 A- 0N	4	68,45	abcd
T3 – 20A – 0N	1	62,25	a
T3-10A-12 0N	11	72,65	bcde
T3 – 20 A – 120 N	9	71,9	bcde
T4- 10A- 0N	16	74,5	cde
T4 – 20 A - 0N	10	72,45	bcde
T4 – 20M - 0N	5	69,5	abcd
T4 – 10 A - 120N	19	79,55	e
T4 – 20 A-120N	12	73,45	bcde
T4- 20 M - 120 N	18	75,9	de

A= algas

M = mezcla de algas

N = nitrógeno

- b) **Peso fresco (Tabla N° 8):** El análisis estadístico no indicó diferencias entre las medias de los tratamientos. El test de medias empleado (Duncan al 5 %) coincidió con el análisis de varianza, sin encontrar diferencias entre medias

Tabla N° 8: Peso fresco de plantas

Tratamientos	Ranking	Medias	Test Duncan (5 %)
Testigo	7	2,2	Ab
T1- 10A- 0N	4	2,13	Ab
T1- 20 A- 0N	2	1,9	A
T1 - 0A - 120N	1	1,88	A
T1 -10A – 120N	14	2,77	abc
T1 - 20A – 120N	17	3,02	Abc
T2 -10A - 0N	9	2,35	Abc
T2 – 20A – 0 N	15	2,78	Abc
T2 -10A - 120 N	11	2,48	Abc
T2 – 20 A – 120N	10	2,38	Abc
T3 – 10 A- 0N	5	2,15	Ab
T3 – 20A – 0N	5	2,15	Ab
T3-10A-12 0N	18	3,05	Abc
T3 – 20 A – 120 N	20	3,43	C
T4- 10A- 0N	13	2,75	Abc
T4 – 20 A - 0N	3	2,0	A
T4 – 20M - 0N	8	2,23	Abc
T4 – 10 A – 120N	19	3,3	Bc
T4 – 20 A-120N	12	2,63	Abc
T4- 20 M - 120 N	16	2,98	Abc

A = algas

M = mezcla de algas

N = nitrógeno

- c) **Peso seco (Tabla N° 9):** El análisis estadístico indicó diferencias significativas entre las medias de los tratamientos. De acuerdo al test de medias utilizado (Duncan al 5 %), el mejor resultado se obtuvo con la combinación del T3 en dosis de 120 gramos de algas mas 120 Kg de N por ha. Este resultado fue estadísticamente igual al obtenido con las siguientes combinaciones indicadas en orden decreciente:

T4 en dosis de 60 gramos de alga + 120 Kg de N por ha.

T3 en dosis de 60 gramos de algas + 120 Kg de N por ha.

T1 en dosis de 120 gramos de algas + 120 Kg de N por ha.

T4 en dosis de 120 gramos de algas (mezcla*) + 120 Kg de N por ha.

*= mezcla de *Nostoc* sp. 1 y *Anabaena iyengarii*, variedad *tenuis*

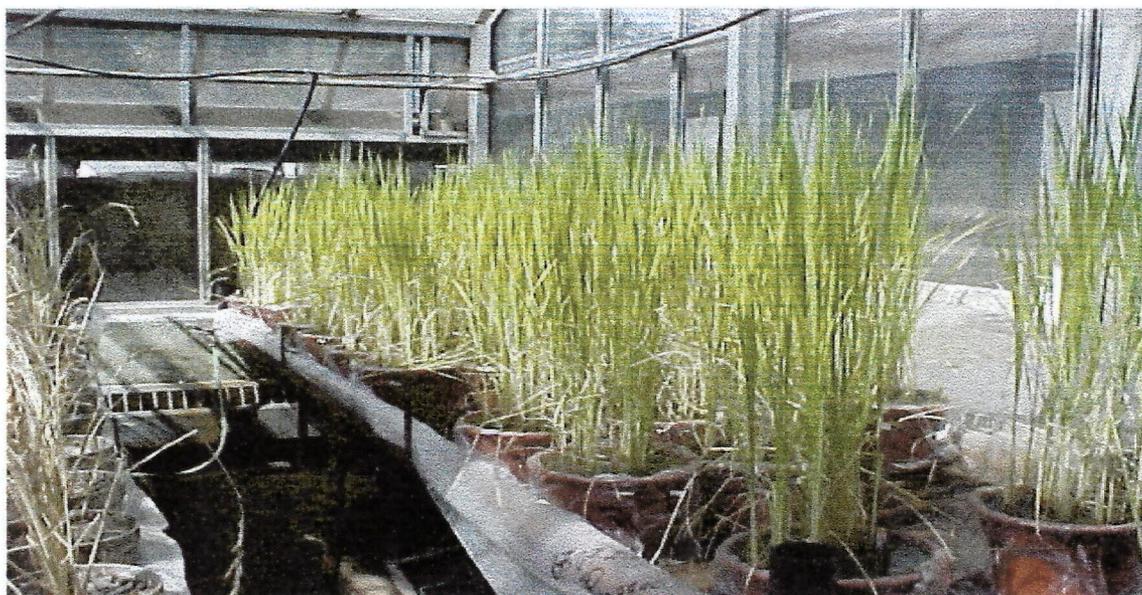
Tabla N° 9: Peso seco de plantas

Tratamientos	Ranking	Medias	Test Duncan (5 %)
Testigo	8	4,75	Abc
T1- 10A- 0N	1	2,4	A
T1- 20 A- 0N	3	2,9	Ab
T1 - 0A - 120N	13	5,9	Abcd
T1 -10A – 120N	7	4,7	Abc
T1 - 20A – 120N	5	4,25	Abc
T2 -10A - 0N	2	2,85	Ab
T2 – 20A – 0 N	18	6,55	Cd
T2 -10A - 120 N	14	6,0	Abcd
T2 – 20 A – 120N	4	4,0	Abc
T3 – 10 A- 0N	9	5,0	Abcd
T3 – 20A – 0N	10	5,2	Abcd
T3-10A-12 0N	9	5,0	Abcd
T3 – 20 A – 120 N	15	5,05	Bcd
T4- 10A- 0N	12	5,35	Abcd
T4 – 20 A - 0N	11	5,3	Abcd
T4 – 20M - 0N	6	4,7	Abc
T4 – 10 A – 120N	19	8,45	D
T4 – 20 A-120N	17	6,2	Bcd
T4- 20 M - 120 N	16	6,1	Bcd

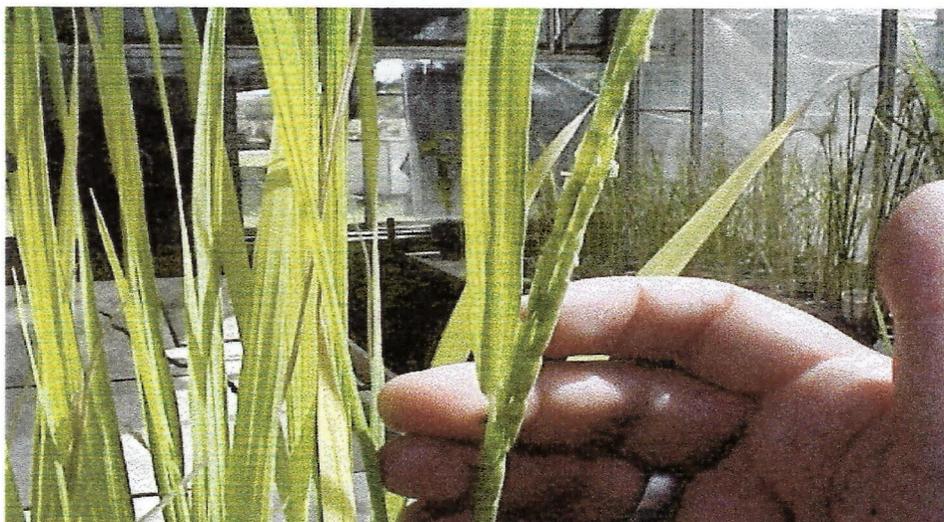
A = algas

M = mezcla de algas

N = nitrógeno



Vista general de los ensayos en maceta



Panícula de arroz en plena floración

Temporada

K.- ENSAYOS DE CAMPOS: TEMPERATURA 2000-2001

Notas Visita a Ensayos de Arroz Proyecto-Biofertilizante

Fecha: 8-9 de Marzo de 2001-03-12

TITINVILO (Parral)

1.-) Ensayo de Fertilidad (Chaminade) + Dosis Básica de Algas (60 gr/ha)

Visualmente en lo general del ensayo (todas las repeticiones) no se observa respuesta a la adición de los elementos: Fósforo, Cobre y Boro.

Si hay respuesta a la aplicación de Calcio, Zinc, Potasio y Nitrógeno.

El testigo sin fertilización inorgánica, sólo con adición de algas muestra un mejor desarrollo que el testigo absoluto (sin fertilizantes y sin algas).

3.-) Ensayo de Herbicidas + Dosis básica de Algas.

Visualment se observa efecto de la aplicación de herbicidas sobre el testigo (sin herbicida), sin encontrar diferencias sobre los diversos tratamientos de herbicidas.

3.-) Ensayo de Dosis de Biofertilizantes y Dosis de Nitrógeno

En general, las parcelas que recibieron mayores dosis de N muestran un mejor desarrollo. Aquellas parcelas que no recibieron nitrógeno muestran un efecto positivo de la aplicación de algas, respecto del testigo absoluto (sin alga y sin nitrógeno).

LINARES

1.-) Ensayo de Dosis de Biofertilizantes y Dosis de Nitrógeno

Las apreciaciones visuales mantienen la tendencia descrita en Parral para el mismo ensayo.

PERALILLO: (STA CRUZ)

En general esta localidad manifiesta poca presión de malezas.

1.-) Ensayo de Fertilidad (Chaminade) + Dosis básica de algas (60 gr/ha).

En general, en este ensayo se manifiesta respuesta a la aplicación de los elementos Nitrógeno, Calcio y Zinc.

También se observa respuesta a la adición de algas, respecto del testigo absoluto (sin fertilización y sin algas).

2.-) Ensayo de Herbicidas

Se observa claramente el efecto de los diversos herbicidas sobre el testigo.
ORYZA controla mejor CYPERACEAE que SIRIUS.

Nota: Los herbicidas utilizados en los ensayos de campo fueron las mezclas ORYZA + MOLINATE, SIRIUS + MOLINATE en las dosis recomendadas, y la aplicación de las algas se realizó en dos épocas, uno en el momento de la siembra y el otro en el momento de aplicación de los herbicidas, es decir, a los 15 y 30 días después de la siembra.

En ambas situaciones, el control de malezas fue satisfactorio y los tratamientos de herbicidas, aparentemente no eliminó la efectividad de las algas, situación que se verificara al momento de la cosecha de los ensayos.

Fecha de Siembra de arroz en los ensayos de campo:

Peralillo, Colchagua

Fecha de siembra de arroz: 6, 7 y 8 de Noviembre 2000.

Fecha de aplicación de alga: 6, 7 y 8 de Noviembre 2000

Palmilla, Linares

Fecha de siembra de arroz: 8 de Noviembre 2000

Fecha de aplicación de alga: 22 de Noviembre 2000

Titinivilo, Parral

Fecha de siembra de arroz: 19 de Noviembre 2000

Fecha de aplicación de alga: 20 de Noviembre 2000

Quilamapu, Chillán

Fecha de siembra de arroz:

Fecha de aplicación de alga:

Complemento de este ensayo con la colecta de muestras de algas fijadoras de nitrógeno presentes en los distintos ensayos de campo de la temporada 2000-2001 durante el período de macolla.

		PARRAL																												
Tratamiento		320	109	118	116	103	317	308	101	311	315	306	316	309	314	305	312	319	310	316	318	214	220	212	204	208	303	304	307	219
Especie																														
<i>Nostoc</i> sp1			x	x					x	x						x					x				x			x		
<i>Nostoc linckia</i>		x				x	x					x				x	x	x			x		x							
<i>Anabaena iyengarii</i>		x	x		x		x	x			x	x	x	x	x		x	x	x	x	x			x		x	x		x	
<i>Nostoc</i> sp2							x	x								x		x					x							
<i>Oedogonium</i>		x			x			x		x	x		x										x			x	x	x	x	x
<i>Spirogira</i>				x			x	x			x			x											x	x			x	
Diatomea		x			x					x			x	x														x		
<i>Cosmarium</i>			x								x																x			
Clorófitas									x																					
<i>Euastrum</i>															x															
<i>Cylindrocapsa gorakhpurensis</i>																														
<i>Anabaena fertilissima</i>																										x				
<i>Volvox</i>																													x	
<i>Hydrodictyon</i>																													x	
<i>Pediastrum</i>																														x

		LOCALIDAD																													
		PARRAL																													
Tratamiento		202	206	302	113	117	110	119	107	111	102	115	106	104	108	112	120	219	213	210	201	205	209	105	301	114	203	206	207	210	
Especie																															
<i>Nostoc</i> sp1				x			x					x							x										x	x	x
<i>Nostoc linckia</i>							x		x		x		x		x				x										x	x	x
<i>Anabaena iyengarii</i>					x		x			x	x	x	x	x		x				x			x					x	x	x	x
<i>Nostoc</i> sp2								x		x												x									
<i>Oedogonium</i>		x	x	x	x					x			x		x						x	x		x	x		x	x	x	x	
<i>Spirogira</i>										x						x	x				x				x						
Diatomea				x		x			x		x			x																	
<i>Cosmarium</i>						x																									
Clorófitas										x			x								x										
<i>Euastrum</i>																															
<i>Hydrodictyon</i>				x							x																				
<i>Pediastrum</i>											x																				
<i>Euglena</i>			x																												

		PARRAL													
Tratamiento		NPK 306	NPK 305	NPK 304	NPK 303	NPK 210	NPK 302	NPK 308	NPK 309	NPK 310	NPK 206	NPK 201	NPK 202	NPK 203	NPK 106
Especie															
<i>Nostoc</i> sp1			x		x								x		x
<i>Nostoc linckia</i>				x			x					x		x	x
<i>Anabaena iyengarii</i>		x	x	x		x	x	x	x	x		x	x	x	x
<i>Nostoc</i> sp2							x					x			
<i>Oedogonium</i>				x								x			
<i>Spirogira</i>		x											x		
Diatomea							x				x		x	x	
<i>Cosmarium</i>															
Clorófitas								x							
<i>Euastrum</i>									x						
<i>Hydrodictyon</i>							x								
<i>Pediastrum</i>															
<i>Gloetrichia natans</i>															x
<i>Anabaena unispora</i>					x										
<i>Nostoc</i> sp.										x					

		LOCALIDAD													
		PARRAL													
Tratamiento		NPK 103	NPK 205	NPK 102	NPK 108	NPK 204	NPK 104	NPK 107	NPK 115	NPK 107	NPK 101	NPK 110	NPK 208	NPK 207	NPK 301
Especie															
<i>Nostoc</i> sp1		x	x			x		x							x
<i>Nostoc linckia</i>		x	x					x				x			x
<i>Anabaena iyengarii</i>		x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		
<i>Nostoc</i> sp2				x	x		x		x	x	x				
<i>Oedogonium</i>				x	x		x		x	x	x	x			
<i>Spirogira</i>			x					x							x
Diatomea			x					x	x	x	x				
<i>Cosmarium</i>															
<i>Euastrum</i>															
<i>Hydrodictyon</i>			x						x						x
<i>Pediastrum</i>															
<i>Gloetrichia natans</i>		x										x			
<i>Nostoc</i> sp.															

		LOCALIDAD																		
		CHILLAN																		
Tratamiento		HB 303	PS 101	HB 305	HB 304	HB 102	HB 202	PS 301	HB 201	HE 101	HB 303	HB 301	HB 203	PS 201	HB 105	PS 302	HB 104	PS 202	PS 303	EA 204
Especie																				
<i>Nostoc sp1</i>		x		x			x	x		x					x					x
<i>Nostoc linckia</i>				x	x			x						x	x		x	x		x
<i>Anabaena iyengarii</i>						x			x					x	x			x		x
<i>Nostoc sp2</i>			x																	
<i>Oedogonium</i>		x				x			x		x	x	x		x	x				x
<i>Spirogyra</i>						x	x	x			x	x	x		x	x	x	x	x	x
Diatomea			x																	
<i>Cosmarium</i>					x															
Clorofita					x				x							x				
<i>Euastrum</i>																				
<i>Volvox</i>																				
<i>Hydrodictyon</i>						x						x	x						x	
<i>Pediastrum</i>																				
<i>Gloeotrichia natans</i>			x					x												
<i>Nostoc xx</i>															x					

		LOCALIDAD																			
		CHILLAN																			
Tratamiento		PS 104	PS 103	PS 204	PS 201	PS 203	PS 304	AG 105	AG 104	AG 202	AL 301	AL 102	EA 301	AG 205	SAL 306	AL 304	HB 204	EI 304	AG 108	AL 302	
Especie																					
<i>Nostoc sp1</i>		x					x							x			x				
<i>Nostoc linckia</i>			x		x						x					x					x
<i>Anabaena iyengarii</i>		x	x		x						x	x					x				x
<i>Nostoc sp2</i>																					
<i>Oedogonium</i>		x	x	x							x				x		x	x	x		
<i>Spirogyra</i>		x	x												x		x		x	x	x
Diatomea						x															
<i>Cosmarium</i>																					
Clorofita																					
<i>Euastrum</i>																					
<i>Cylindrocapsa garakhpurensis</i>					x																
<i>Anabaena fertilissima</i>																					
<i>Volvox</i>																					
<i>Hydrodictyon</i>					x		x	x		x	x										
<i>Pediastrum</i>																					
<i>Gloeotrichia natans</i>								x													

		LOCALIDAD																				
		LINARES - CHEPICA																				
Tratamiento		Che	101	210	219	103	204	Che.	cheb	ene103	109	Fer	102	103	104	105	301	302	303	304	305	
Especie																						
<i>Nostoc sp1</i>			x										x									
<i>Nostoc linckia</i>											x			x			x		x			x
<i>Anabaena iyengarii</i>			x			x					x	x		x			x	x				x
<i>Nostoc sp2</i>																						
<i>Oedogonium</i>			x		x		x			x						x	x					
<i>Spirogyra</i>		x	x		x		x			x	x	x										
Diatomea											x	x										
<i>Cosmarium</i>											x											
Clorofita		x	x			x	x				x											
<i>Euastrum</i>																						
<i>Hydrodictyon</i>					x					x		x										
<i>Pediastrum</i>																						
<i>Gloeotrichia natans</i>		x		x						x											x	x
<i>Nostoc sp.</i>		x		x																		

De acuerdo a las distintas muestras de algas provenientes de las 4 localidades donde se encuentran montados los ensayos de campo, se puede constatar que en las localidades de Parral y Linares se produce viabilidad

L.- ENSAYOS DE CAMPOS TEMPORADA 2001- 2002

Durante la temporada 2001-2002 se realizaron 2 ensayos experimentales, el primero a nivel de parcelas experimentales y el segundo a nivel de campo. El desarrollo de estos ensayos tuvo como fin determinar la combinación óptima de dosis de Nitrógeno y Biofertilizante a usar en el cultivo del arroz (parcelas experimentales en las cuales se combinaron 4 dosis de biofertilizantes y 3 dosis de nitrógeno en un diseño de bloques con arreglo factorial), y a la vez evaluar el resultado obtenido al emplear una dosis media de nitrógeno (50 kg de N/ha) junto a una dosis media de Biofertilizante (60 gr/ha), respecto de una fertilización nitrogenada normal (100 kg de N/ha). En cada uno de los ensayos se determinó el rendimiento de grano y la calidad industrial obtenida. El ensayo en parcelas experimentales fue afectado por una gran presión de malezas resistentes a los herbicidas usados comúnmente en el cultivo del arroz, lo cual incidió en la obtención de rendimientos bajos a medios. Por su parte, el ensayo de campo permitió obtener rendimientos muy aceptables, estadísticamente iguales entre si, con un costo de fertilización nitrogenada levemente inferior cuando se emplea la estrategia que involucra el uso del Biofertilizante.

Durante la temporada 2001-2002 se planteó realizar 2 ensayos con objetivos diferentes, según se indica a continuación:

- 1.1. El primer ensayo se realizó en parcelas experimentales, en las cuales se evaluaron diferentes combinaciones de dosis de nitrógeno (N) y biofertilizante, con el objetivo de determinar la dosis óptima de N y biofertilizante a usar en el cultivo del arroz. La justificación de este ensayo fue evaluar durante una segunda temporada diferentes dosis combinadas de N y biofertilizante, a modo de determinar con mayor certeza una recomendación técnica-económica para implementar el uso del Biofertilizante en el manejo agronómico del cultivo del arroz. Como resultado de este ensayo se esperaba poder diferenciar en función de los resultados obtenidos, las distintas combinaciones de dosis y fuentes de nitrógeno usadas. La metodología usada correspondió al planteamiento de dosis combinadas de fertilización nitrogenada empleando 4 dosis de algas (0 – 30 – 60 y 120 gr/ha) y 3 dosis de N (0 – 45 – 90 kg/ha), en un diseño de bloques al azar con arreglo factorial de 12 tratamientos (4 niveles de algas * 3 niveles de N) y 5 repeticiones (60 parcelas experimentales de 15 m² cada una). Las mediciones realizadas contemplaron rendimiento de grano, calidad industrial y materia seca de malezas al momento de floración, para lo cual se empleo el análisis de varianza y test de medias (DMS) cuando fue necesario.
- 1.2. El segundo ensayo correspondió a un experimento de campo en el cual se evaluó el efecto de la utilización de una dosis media de N (50 kg de N/ha) en combinación a una dosis media de biofertilizante (60 gr/ha), lo cual fue comparado en términos de rendimiento, calidad industrial y costo de la fertilización nitrogenada con las dosis de N usadas normalmente en el cultivo de arroz (100 kg de N/ha). La justificación de este ensayo fue la

necesidad de evaluar en condiciones de campo el uso de una dosis combinada de N y biofertilizante, ambos en dosis media, a modo de chequear en condiciones productivas reales una recomendación técnica-económica para implementar el uso del Biofertilizante en el manejo agronómico del cultivo del arroz. Como resultado de este ensayo se esperaba cuantificar en función de los resultados obtenidos, la estrategia de fertilización nitrogenada propuesta en comparación a la estrategia de fertilización tradicionalmente usada en el cultivo de arroz. La metodología empleada correspondió al análisis comparativo de los 2 tratamientos de fertilización planteados (propuesta que incluyó biofertilizantes y sistema tradicional), para lo cual se usó el T-test (DMS) en evaluaciones de rendimiento de grano y calidad industrial. Adicionalmente se realizó una comparación de costos de la fertilización nitrogenada.

Los objetivos planteados para la temporada agrícola 2001-2002 fueron los siguientes:

- 1) Determinar la dosis óptima de biofertilizante y nitrógeno a usar en forma combinada en el cultivo de arroz.
- 2) Evaluar el uso del biofertilizante en una dosis media en combinación a una dosis media de nitrógeno, en las condiciones de campo (manejo productivo de un agricultor en la zona de Parral).

Las mediciones realizadas consideraron;

- Análisis de infestación de malezas presentes al momento de floración del cultivo de arroz (sólo en el ensayo de dosis óptima de biofertilizante y nitrógeno).
- Rendimiento de grano.
- Calidad industrial.
- Costo de fertilización nitrogenada (sólo en el ensayo a nivel de agricultor).

El objetivo 1 fue logrado parcialmente, debido a que existió una gran infestación de malezas en el sitio de ensayo, los cuales manifestaron un alto grado de resistencia a los herbicidas usados actualmente en el cultivo de arroz. Esta situación afectó el rendimiento de grano obtenido, lo cual a su vez disminuyó la probabilidad de encontrar diferencias estadísticas, puesto que las medias de los rendimientos alcanzados fueron similares entre los diferentes tratamientos, manifestándose una gran variación dentro de cada tratamiento.

El objetivo 2 se logró completamente, con lo cual se comprobó la posibilidad de reemplazar una fracción del nitrógeno inorgánico usado en el cultivo de arroz (50 kg de N/ha), por una dosis media de Biofertilizante (60 gr/ha). Además, al incorporar el uso del Biofertilizante como reemplazo de la mitad de dosis del N, se logró una disminución del costo de la estrategia de fertilización nitrogenada.

6.- Fichas técnicas y análisis económico del cultivo, rubro, especie animal o tecnología que se desarrolló en el proyecto, junto con un análisis de las perspectivas del rubro después de finalizado el proyecto.

FICHA TÉCNICA CULTIVO DE ARROZ

Superficie: 1 ha

Rendimiento: 65 qq/ha

Precio unitario: \$9.000/qq

Mes	Labor	JH	JM	Costo (\$)
Febrero	Riego preliminar	0,3	--	1.125
Febrero	T/arado cincel	--	0,19	12.090
	T/rastra hidráulica	--	0,25	16.120
	T/nivelador	0,5	--	1.875
		--	0,25	14.040
Junio	Refuerzo pretilas	4,2	--	15.840
Septiembre	Control malezas Roundup 2 Lt/ha	--	--	6.330
	Motobomba espalda	--	0,5	2.600
		2	--	7.500
Octubre	Urea 100 kg/ha	--	--	10.200
	Muriato 80 kg/ha	--	--	8.640
	SFT 80 kg/ha	--	--	9.600
	T/trompo abonador	--	0,19	11.332
	T/rastra offset	--	0,125	8.640
	T/coloso	--	0,016	832
		0,5	--	1.875
Octubre	Llenado de cuadros	0,4	--	1.500
	Fanguero liviano T/rastra offset	--	0,25	17.280
	Siembra 140 kg semilla/ha	--	--	31.500
	T/coloso	--	0,016	832
		3	--	11.150
Octubre	Control malezas gramíneas 20 kg Ordram/ha	--	--	58.200
		0,3	--	1.125
Noviembre	2ª fertilización 100 kg Urea/ha	--	--	10.200
	T/coloso	--	0,016	832
		0,5	--	1.875
Noviembre	Riegos y manejo de agua	5	--	18.750
	Valor agua arroz/ha	--	--	15.000
Marzo	Cosecha	1,5	--	5.625
	Cosecha automotriz	--	2	60.420
Marzo	Flete	--	--	24.168
Marzo	Secado	--	--	19.262
Sub-Total Costos		--	--	406.358
Imprevistos	3%	--	--	12.190
Costo Total estándar				418.548
Ingreso bruto				585.000
Margen estándar				166.452

DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE COSTOS DE FERTILIZANTES

Tipo de Costo	Valor real	Valor porcentual
Total	418.548	100 %
Fertilizantes	38.640	9,23 %
Fertilizante Nitrogenado	20.400	4,87 %
50% Fertilizante Nitrogenado	10.200	2,44 %

FICHA TÉCNICA CULTIVO DE ARROZ CON BIOFERTILIZANTE

Superficie: 1 ha

Rendimiento: 65 qq/ha

Precio unitario: \$9.000/qq

Mes	Labor	JH	JM	Costo (\$)
Febrero	Riego preliminar	0,3	--	1.125
Febrero	T/arado cincel	--	0,19	12.090
	T/rastra hidráulica	--	0,25	16.120
	T/nivelador	0,5	--	1.875
		--	0,25	14.040
Junio	Refuerzo pretiles	4,2	--	15.840
Septiembre	Control malezas Roundup 2 Lt/ha	--	--	6.330
	Motobomba espalda	--	0,5	2.600
		2	--	7.500
Octubre	Urea 100 kg/ha	--	--	10.200
	Muriato 80 kg/ha	--	--	8.640
	SFT 80 kg/ha	--	--	9.600
	T/trompo abonador	--	0,19	11.332
	T/rastra offset	--	0,125	8.640
	T/coloso	--	0,016	832
0,5			1.875	
Octubre	Llenado de cuadros	0,4	--	1.500
	Fanguero liviano T/rastra offset	--	0,25	17.280
	Siembra 140 kg semilla/ha	--	--	31.500
	T/coloso	--	0,016	832
		3	--	11.150
Octubre	Aplicación de Biofertilizante 60 gr/ha (junto al herbicida)	--	--	4.900
	Control malezas gramíneas 20 kg Ordram/ha	--	--	58.200
		0,3	--	1.125
Noviembre	Riegos y manejo de agua	5	--	18.750
	Valor agua arroz/ha	--	--	15.000
Marzo	Cosecha	1,5	--	5.625
	Cosecha automotriz	--	2	60.420
Marzo	Flete	--	--	24.168
Marzo	Secado	--	--	19.262
Sub-Total Costos		--	--	398.351

Imprevistos	3%	--	--	11.951
Costo Total estándar				410.302
Ingreso bruto				585.000
Margen estándar				174.698

Comparación de Costos Con y Sin Tecnología

Tipo de Tecnología utilizada en el cultivo de arroz	Costo Total del cultivo (\$/ha)	Costo relativo de la tecnología aplicada
Tradicional	418.548	100%
Con incorporación del Biofertilizante	410.302	98,03%

La tecnología desarrollada permitió disminuir el costo de la fertilización nitrogenada en un 15%, pero en términos de costo total del cultivo no se produjo una disminución considerable, puesto que la fertilización nitrogenada representa aproximadamente un 5% del costo total del cultivo.

7.-Problemas enfrentados durante la ejecución del proyecto (legales, técnicos, administrativos, de gestión) y las medidas tomadas para enfrentar cada uno de ellos.

Técnicos

Debido al retraso en la llegada de la cámara de cultivo, las algas no crecieron en forma adecuada ya que las condiciones de cultivo no estaban controladas, sin embargo, el grado de contaminación fue muy bajo, de manera que cuando se dispuso de ésta, los cultivos fueron fácilmente repicados.

Hubo que montar por segunda vez los ensayos en macetas ya que el primer ensayo no arrojó resultados satisfactorios, puesto que las plantas de arroz nunca alcanzaron su madurez fisiológica como para evaluar el ensayo en su estado terminal. Lamentablemente, en el nuevo montaje no se realizaron los mismos tratamientos ya que no se disponía de todas las especies de algas que se utilizaron en el primer ensayo.

Con la finalidad de asegurarse acerca del verdadero rol de las algas verde-azules en la fertilidad de los suelos arroceros, los ensayos de campo se realizaron en dos temporadas en distintas localidades.

Administrativos

Se ha tenido que planificar internamente entre la Universidad de Talca e INIA, algunos trasposos internos de dinero desde INIA a Universidad de Talca ya que algunos items fueron subvalorados para la Universidad de Talca y supervalorados para INIA.

8.- Calendario de ejecución (programado, real) y cuadro resumen de costos (programados, efectivos) del proyecto. El cuadro de costos es el mismo que se presenta en el informe financiero final → financiamiento solicitado más financiamiento total.

El cuadro de costos ya fue presentado al FIA con un mes de anterioridad a la presentación este informe.

9.- Difusión de los resultados obtenidos adjuntando las publicaciones realizadas en el marco del proyecto o sobre la base de los resultados obtenidos, el material de difusión preparado y/o distribuido, las charlas, presentaciones y otras actividades similares ejecutadas durante la ejecución del proyecto.

Durante la ejecución del proyecto se llevaron a cabo las siguientes actividades de difusión

1.- Presentación de una ponencia oral en la XII Reunión Anual de la Sociedad de Botánica de Chile. XXVII Jornadas Argentinas de Botánica realizada en la Universidad de Concepción, 5-8 de Enero 2000. presentada por :

Pereira, I., Ortega, R., Kramm, V., Barrientos, I., Reyes G., Moya, M., y C. Salaza, 2000 Potencial de Cianófitas fijadoras de nitrógeno en el uso de biofertilizantes para el cultivo de arroz en Chile.

2.- Días de campo:

28 de Marzo 2001, VII región, Titinivilo, Parral

29 de Marzo de 2001, VIII región, Chillán (Quilamapu)

En ambas localidades, se dieron a conocer los resultados preliminares del proyecto y además se entregó a los asistentes un tríptico, en donde se daba a conocer información acerca de las algas fijadoras de nitrógeno con potencial uso como biofertilizante para el cultivo de arroz en Chile. Se adjunta tríptico.

3.- Seminario final Los resultados correspondientes a las actividades experimentales de la temporada 2001-2002 se dieron a conocer en el Seminario Final del proyecto realizado el 30 de agosto de 2002 en el Centro Regional de Investigación Quilamapu del INIA. En dicha actividad se entregaron también los resultados de las actividades experimentales desarrolladas en los años anteriores de duración del proyecto. Se adjunta tríptico

4.- Manual Junto con la entrega del informe técnico y de gestión final, se adjuntará un manual en el cual el lector podrá encontrar información referida a: a) formas de reconocer estas algas en terreno; b) conocer todas las etapas previas antes de elaborar el biofertilizante para su futura aplicación en el cultivo de arroz, c) Cómo elaborar el biofertilizante y finalmente d) conocer las prácticas de manejo compatibles con el uso de este biofertilizante.

10.- Impactos del proyecto: descripción y cuantificación de los impactos obtenidos, y estimación de lograr otros en el futuro, comparación con los esperados, y razones que explican las discrepancias.

Los resultados finales del proyecto permitieron corroborar la posibilidad práctica de emplear las algas verde-azules en la elaboración y uso de Biofertilizantes en el cultivo del arroz, con lo cual se logra principalmente un impacto ambiental positivo, puesto que se disminuye la utilización de N inorgánico y se evita una consecuente contaminación de aguas subterráneas o de escorrentía superficial.

En términos cuantitativos, el reemplazo del 50 % de N inorgánico por el uso de las algas como biofertilizante, disminuye en un 15,3% los costos de fertilización para el agricultor, no siendo significativamente importante en términos económico, pero si se potencia la fertilidad natural propendiendo hacia una agricultura cada vez más limpia.

11.-Conclusiones y Recomendaciones

Conclusiones

En base a las especies de algas verde-azules encontradas en las localidades estudiadas, se puede concluir que efectivamente éstas están aportando nitrógeno en forma natural, como lo demuestran las tasas de fijación de nitrógeno en ellas determinadas.

Las especies algales que se presentaron como una buena alternativa para la formulación del biofertilizante fueron: *Anabaena iyengarii* var. *tenuis*, *Nostoc linckia*, *Nostoc* sp. 1, *Nostoc* sp. 2. Sin embargo, también existen otras especies como: *Gloeotrichia natans* que a pesar de presentar una buena tasa de fijación de nitrógeno y una buena tasa de crecimiento no fue posible mantenerla en cultivo por un período prolongado parece tener ciertas exigencias en su crecimiento como es la presencia de nitrógeno en el medio, nutriente que no contiene el medio Watanabe.

De acuerdo a los ensayos en macetas, en los cuales se ensayaron varias especies como biofertilizantes, se pudo constatar que: todas ellas presentaban un efecto positivo sobre el crecimiento de las plántulas de arroz, ya que le permitieron alcanzar una mayor altura respecto al control.

En base a los ensayos en macetas, también se puede concluir que las mezclas de algas probadas no presentan ningún efecto sinérgico en el crecimiento de las plántulas de arroz..

En cuanto al costo de la elaboración del biofertilizante, podemos señalar

Como resultado de los ensayos de campo realizados en la temporada 2000-2001, se puede concluir

1.- El biofertilizante es compatible con las diferentes prácticas de manejo establecidos por los agricultores en la actualidad.

2.- En base a las distintas prácticas de manejo establecidas en los ensayos de campo junto a diversas dosis de fertilización nitrogenada sintética y de biofertilización se pudo establecer que:

La dosis de nitrógeno sintético utilizada comúnmente por los agricultores (120 Kg/ha) puede disminuirse a un 50% y el excedente ser reemplazado por el biofertilizante con resultados equivalentes en el rendimiento del cultivo de arroz.

Además, mediante esta práctica se puede disminuir en un 15,3% los costos de fertilización nitrogenada.

En relación a los resultados obtenidos en la temporada 2001-2002,, los rendimientos obtenidos fueron bastante buenos, situación que se vio favorecida por la baja presión de malezas en las condiciones de este ensayo. La calidad industrial del arroz cosechado fue bastante estable entre tratamientos. Además, el costo de la fertilización nitrogenada fue disminuido en un 15,3%, respecto al tratamiento testigo, cuando se empleo el biofertilizante.

Recomendaciones

En futuras investigaciones experimentales donde se utilice el biofertilizante sugerido en esta investigación en relación con el cultivo de arroz en el país, se sugiere realizar cultivos en forma sucesiva por espacio de tres años en las mismas parcelas, sin dejar descansar el terreno, y evaluar cada año el rendimiento de grano y rendimiento integral con la finalidad de evaluar si efectivamente la aplicación del biofertilizante en al primer año de siembra presenta un efecto multiplicador en el rendimiento del arroz sin biofertilizar año a año. (por lo menos en un lapso de tres años).

Se sugiere realizar análisis proximal de las algas que se utilizaron en la elaboración de biofertilizante con la finalidad de determinar el porcentaje de proteínas que poseen y ver la posibilidad de utilizarlas como complemento de otros biofertilizantes que se producen en el país, a base de algas pardas, los cuales presentan muy bajas cantidades de compuestos nitrogenados en su composición.

12.- Otros aspectos de interés

Se sugiere a futuro evaluar el biofertilizante obtenido en este proyecto, en otro tipo de cultivo con la finalidad de determinar su potencial uso, aunque no necesariamente inundado, pero muy húmedo, ej: algún tipo de cultivo de hortaliza.

13.- Anexos

GAYANA BOTANICA

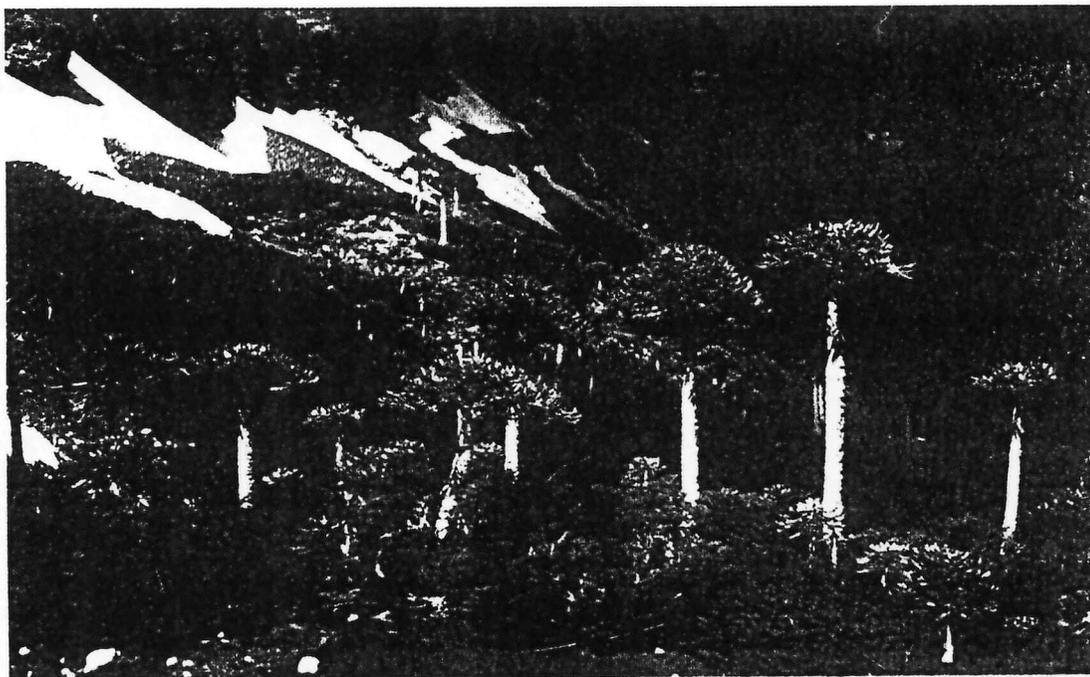
VOLUMEN 57

SUPLEMENTO

2000

UNIVERSIDAD DE CONCEPCION - CHILE

**XII Reunión Anual de la Sociedad Botánica de Chile
XXVII Jornadas Argentinas de Botánica**



Concepción, 5 - 8 de enero del 2000

cial de Ediciones
les en las áreas de
ta recibe trabajos
ra los autores, La
iomas deberá ser
ca sin costo, luego
y obituarios.

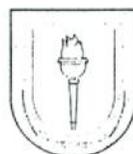
LIBRO DE RESÚMENES

of new names of

Scientific Abstract);
erature (Brittonia,

Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas,
Universidad de Concepción, Chile.

Concepción, del 5 al 8 de enero de 2000



cia se calculó la diversidad específica (Índice de Shannon) para cada sitio. Todas las especies sobre los defecaderos están presentes en los sitios vecinos. Sin embargo, la mayor riqueza de especies por unidad de superficie se presentó en los defecaderos con un promedio de 6,8 especies por cuadrante, contra un promedio de 2,0 de los sitios vecinos. La frecuencia promedio de las especies en los defecaderos fue mayor (35,3) que la de los sitios vecinos (6,6). La mayor diversidad específica se presentó

en los defecaderos con un índice promedio de 74,09, comparado con el 10,65 obtenido en los sitios vecinos. Por lo tanto, los defecaderos de guanaco aumentan la cobertura y diversidad de las especies presentes en sitios sucesionalmente tempranos sobre morenas glaciares en Tierra del Fuego.

Dirección Actual: Departamento de Botánica, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción.

ECOLOGIA IV

DIVERSIDAD DE SISTEMAS RADICULARES EN LA FLORA PERENNE DE PAPOSO. Root system diversity in the perennial flora of Paposó.

Olivares, N.C.^{1,4}, Squeo, F.A.¹, León, M.¹, Aguirre, E.² y Ehleringer, J.R.³.

¹Departamento de Biología, Universidad de La Serena. ²Comisión Chilena de Energía Nuclear. ³University of Utah, USA. ⁴Magíster en Ciencias Biológicas c/m Ecología de Zonas Áridas.

La adquisición continua de agua de las plantas perennes que habitan en los ecosistemas hiperáridos es crucial para su sobrevivencia y crecimiento. El objetivo de este trabajo es evaluar el tipo de sistema radicular y las fuentes de agua utilizadas por 14 especies de plantas perennes nativas dominantes del Desierto Costero de Taltal (precipitación promedio anual <10 mm). El estudio se realizó en la Quebrada de Portezuelo (25°00'S y 70° 26'0, 620 msnm), Proyecto Reserva Nacional Paposó. Para cada especie se determinó el tipo de sistema radicular y el cociente raíz tallo (RIT) mediante un procedimiento de excavación. Las fuentes de agua utilizadas se determinaron por comparación del contenido de isótopos de hidrógeno (²H) presente en tallos subterráneos, con muestra de agua proveniente de neblina y subterránea. Todas las especies estudiadas poseen sistemas radicales concentrados en los primeros 50 cm de profundidad. Sólo 2 especies profundizaron hasta cerca de 1 m. El RIT varió entre 0,2 y 1,7. El ²H de todas las especies es similar a la neblina. Se concluye que la fuente primaria de agua para las especies perennes es la neblina, y estarían posibilitadas para utilizar las precipitaciones.

FONDECYT 5960016.

POTENCIALIDAD DE CIANOFITAS FIJADORAS DE NITRÓGENO EN EL USO DE BIOFERTILIZANTES PARA EL CULTIVO DE ARROZ EN CHILE. Potentiality of cyanophytes fixers of nitrogen in the use of biofertilizers for the culture of rice in Chile.

¹Pereira, I., ²Ortega, R., ³Kramm, V., ⁴Barrientos, L., ⁵Reyes, G., ⁶Moya, M. y ⁷Salazar, C.

¹Instituto Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, casilla 747, Talca; ²INIA-Quilamapu, Vicente Méndez 215, Chillán; ³INIA-Carillanca, Temuco, Chile.

Con el fin de evaluar la capacidad que presentan las cianófitas para ser utilizadas como potenciales biofertilizantes, se analizó un total de 34 muestras colectadas entre Oct. de 1998 y Marzo de 1999, provenientes de 15 localidades comprendidas entre la VI (24°29'S, 71°18'O) y VIII (36°41'S, 71°54'O) región. Las algas fueron determinadas, aisladas y cultivadas bajo condiciones controladas. En la determinación taxonómica de las especies se utilizaron las siguientes referencias bibliográficas: Desikachary (1959) y Geitler (1932). La tasa de fijación, se determinó mediante la técnica de reducción acetileno-etileno, utilizando acetileno al 10%. Las tasas se expresaron finalmente en g N/g MS. El crecimiento de biomasa algal se determinó a partir de materia seca, expresada en g MS d⁻¹. Se determinó un total de 13 taxa, de las cuales 7 se mantienen en cultivo. En este trabajo se entrega la tasa de fijación y crecimiento para cuatro especies. La especie que registra mayor tasa de fijación corresponde a *Noctoc* sp.1, le siguen en orden decreciente, *Gloeotrichia natans*, *Anabaena iyengarii* var. *tenuis* y *Nostoc linckia*, siendo coincidentes en el mismo orden las tasas de crecimiento. *Nostoc* sp. 1, se puede señalar como el taxon más viable para el desarrollo de biofertilizantes ya que presenta una tasa de fijación 6 veces mayor que el resto de las especies estudiadas. Otras especies promisorias en el desarrollo de biofertilizantes serían *Gloeotrichia natans*, *Anabaena iyengarii* var. *tenuis* y *Nostoc linckia*, a pesar de presentar una tasa de fijación inferior a *Nostoc* sp 1.

Financiamiento: Fundación para la Innovación Agraria (FIA) C98-1-A-004

AREA DE DISTRIBUCION Y GRADOS DE INFESTACIÓN DE *CYPERUS ROTUNDUS* (CYPRO) EN LA PROVINCIA DE TUCUMAN, ARGENTINA. Nutgrass distribution and infestation degree of *Cyperus rotundus* (Cypro) in the province of Tucumán, Argentina.

Chaila, S.¹, Arévalo, R.A.², Nasif, A.M.¹ y Piscitelli, F.R.¹.

¹Facultad de Agronomía y Zootecnia, Universidad Nacional de Tucumán, Argentina; ²Instituto Agronómico de Campinas, Brasil.

Se realiza un relevamiento de la especie *Cyperus rotundus* (CYPRO) en diversos ambientes cultivados de la Provincia de Tucumán con la finalidad de conocer la distribución y el grado de infestación de esta maleza en los 22.524 km² de extensión territorial. La metodología empleada se basó en:

POSIBLES USUARIOS DE LA INFORMACIÓN DEL PROYECTO

Agricultores arroceros
Industrias Agroquímicas
Público en general

FINANCIAMIENTO

Este proyecto está siendo financiado por la FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA (FIA), dependiente del Ministerio de Agricultura



GOBIERNO DE CHILE
MINISTERIO DE AGRICULTURA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS
FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

INSTITUCIONES PARTICIPANTES

*UNIVERSIDAD DE TALCA

*INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS (INIA-QUILAMAPU) CHILLÁN

INVESTIGADOR RESPONSABLE:

Iris Pereira R.
Inst. Biología Vegetal y Biotecnología
Universidad de Talca, casilla 747, Talca.
e-mail: ipereira@pehuenche.secom.otalca.cl

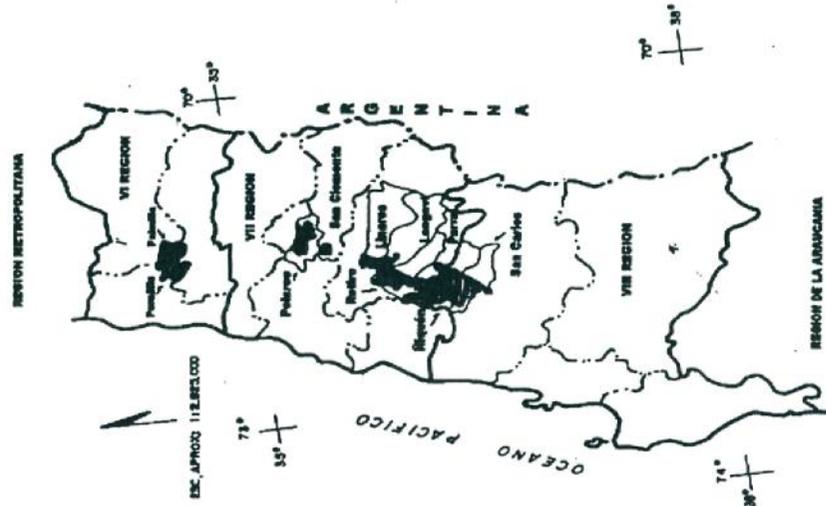
INVESTIGADOR ALTERNO:

Nicasio Rodríguez
Instituto de Investigaciones Agropecuarias INIA-Quilamapu, Chillán
e-mail: nrodriguez@quilamapu.inia.cl

EQUIPO TECNICO DEL PROYECTO

Victor Kramm
e-mail: vkramm@quilamapu.inia.cl
Juan Hirzel
e-mail: jhearzel@quilamapu.inia.cl
Guissella Reyes
e-mail: greyes@quilamapu.inia.cl
Matio Moya
e-mail: a94431011@cipres.otalca.cl
Leticia Barrientos
e-mail: lbarrien@carillanca.inia.cl
Ciro Belmar
e-mail: cbelmar@quilamapu.inia.cl
Carmen Lobos
e-mail: clobos@quilamapu.inia.cl

ZONA ARROCIERA DE CHILE



CARTILLA DIVULGATIVA DE EXTENSIÓN N° 1



“ALGAS FIJADORAS DE NITRÓGENO CON POTENCIAL USO COMO BIOFERTILIZANTE PARA EL CULTIVO DE ARROZ”

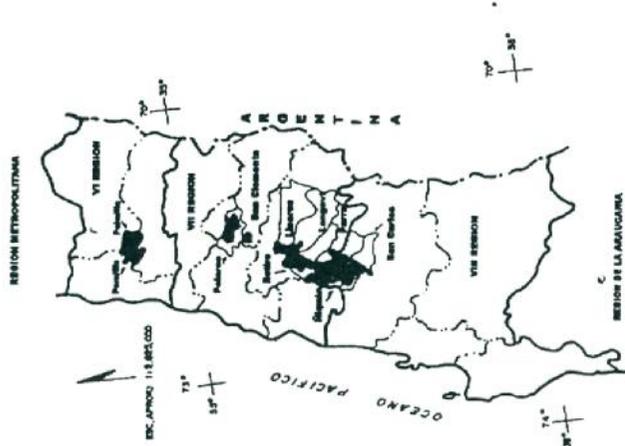


PROYECTO: “DESARROLLO DE BIOFERTILIZANTE PARA EL CULTIVO DE ARROZ EN CHILE”

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos no mostraron diferencias estadísticas entre las medias de los tratamientos, por lo cual se concluye que, el uso de este biofertilizante en el cultivo de arroz permite disminuir la dosis de N de origen químico (urea) en un 50%. A su vez, a través de esta tecnología se consigue disminuir el costo de fertilización nitrogenada en un 15.3%.

ZONA AGRICOLA DE CHILE



POSIBLES USUARIOS DE LA INFORMACIÓN DEL PROYECTO

Agricultores arroceros
Industrias Agroquímicas
Público en general

FINANCIAMIENTO

Este proyecto fue financiado por la FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA (FIA), dependiente del Ministerio de Agricultura

INSTITUCIONES PARTICIPANTES

UNIVERSIDAD DE TALCA

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS (INIA-QUILAMAPU) CHILLÁN

INVESTIGADOR RESPONSABLE:

Iris Pereira R.

Inst. Biología Vegetal y Biotecnología
Universidad de Talca, casilla 747, Talca.
e-mail: ipereira@pehuente.secom.utalca.cl

INVESTIGADOR ALTERNO:

Nicasio Rodríguez S.

Instituto de Investigaciones Agropecuarias INIA-Quilamapu, Chillán
e-mail: nrodriguez@quilamapu.inia.cl

EQUIPO TECNICO DEL PROYECTO

Victor Kramm

e-mail: vkramm@quilamapu.inia.cl

Juan Hirzel

e-mail: jhirzel@quilamapu.inia.cl

Guissella Reyes

e-mail: greyes@quilamapu.inia.cl

Mario Moya

e-mail: amoya@quilamapu.inia.cl

Leticia Barrientos

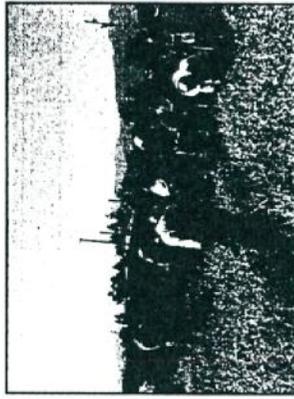
e-mail: lbarrien@carillanca.inia.cl

Ciro Belmar

e-mail: cbelmar@quilamapu.inia.cl

Carmen Lobos

e-mail: clobos@quilamapu.inia.cl



SEMINARIO "DESARROLLO DE BIOFERTILIZANTES PARA EL CULTIVO DE ARROZ EN CHILE"



Chillán, agosto de 2002.

Seminario de término de proyecto

Con la realización de un seminario de entrega de resultados, se puso término en INIA Quilamapu al proyecto FIA "Desarrollo de Biofertilizantes para el cultivo de arroz en Chile".

La actividad contó con las palabras de bienvenida del Director Regional de INIA, Hernán Acuña, y del supervisor del proyecto por parte de la Fundación para la Innovación Agraria, Juan Carlos Galaz.

Las exposiciones temáticas corrieron por parte de los investigadores Iris Pereira, Dra. en Ciencias Biológicas de la Universidad de Talca, quien se refirió al tema "Algas fijadoras de nitrógeno en suelos arroceros de Chile y su importancia biológica"; Leticia Barrientos, Microbióloga M.Sc. de INIA Carillanca "Fijación de nitrógeno por algas verde-azules"; Víctor Kramm, Ingeniero Agrónomo, M.Sc. malherbólogo de INIA Quilamapu "Aplicaciones de herbicidas y su efecto sobre la eficiencia de los biofertilizantes"; y Juan Hirzel, Ingeniero Agrónomo, M.Sc. fertilólogo de INIA Quilamapu "Resultados del uso de biofertilizantes en arroz y problemas de manejo".

El proyecto finalizado se desarrolló en forma conjunta por la Universidad de Talca y el INIA Quilamapu entre los años 1998 y 2002. Entre sus resultados más importantes destaca el hecho que gracias al uso de este biofertilizante basado en la utilización de algas verdes azules, es posible disminuir las aplicaciones de fertilizantes nitrogenados inorgánicos hasta en un 50%, lo que reduce los costos del cultivo en un 15%. ■



Unidos en mesa redonda aparecen los expositores Iris Pereira de la Universidad de Talca; Víctor Kramm de INIA Quilamapu; Leticia Barrientos de INIA Carillanca; y Juan Hirzel de INIA Quilamapu.

Nueva alternativa para Chiloé

Ganadería orgánica

La ganadería orgánica podría ser un interesante polo de desarrollo productivo para el sur de nuestro país y particularmente para la Isla de Chiloé. Así lo creen diversos especialistas e instituciones, entre ellos la Embajada de Chile ante la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y los miembros del recién formado Comité Décima Región del Convenio Chile-Suiza, entre ellos INIA, organizadores del seminario "Ganadería Orgánica para el Sur de Chile", que se efectuó en la ciudad de Castro. Para uno de los expositores, el investigador de INIA Remehue, **Héctor Uribe**, quien estuvo en Suiza participando en un curso de producción animal orgánica, "el criterio producción en base a praderas de los suizos, en donde uno de los objetivos principales es mantener una composición botánica estable, claramente es una de las estrategias que deben replicarse en nuestro país". ■



El investigador de INIA Remehue, Héctor Uribe, estuvo en Suiza participando en un curso de producción orgánica.

14.- Bibliografía Consultada

- CARRERES, R., GONZALEZ-TOME R., SENDRA J., BALLESTEROS R., FERNANDEZ-VALIENTE E., QUESADA A., NIEVA M. And F. LEGANES 1996. Effect of nitrogen rates on rice growth and biological nitrogen fixation. *Journal Agricultural Science* 127(3): 295-302.
- DHALIWAL M.K., PANDHER M.S., GUPTA R.P., GARCHA H.S. and M.R. GAGNEJA 1995. Effect of chemical nitrogen on the growth and nitrogen fixation by blue-green algae in hasmati rice. *Indian Journal of Microbiology* 22(1): 7-10.
- DUBEY, A.K. and A.K. RAI 1995. Application of algal biofertilizers (*Aulosira fertilissima* Tenuis and *Anabaena doliolum* Bnardawaja) for sustained paddy cultivation in northern India. *Israel J. Plant Sc.* 43(1): 41-51.
- DUBEY, S.K. and R.S. SHARMA 1995. Utilization of *Azolla* and blue-green algae as biofertilizer to meet partial nitrogen needs of rice. *Advances in Agricultural Research in India.* 1995 4: 134-140.
- GHOSH T.K. and K.C. SAHA 1997. Effects of inoculation on nitrogen status and nutrition of rice (*Oryza sativa* L.) in an Entisol emended with chemical and organic sources of nitrogen. *Biology and Fertility of Soils* 24(1): 123-128.
- NANDA, B. TRIPATHY, S.K. and S. PACHI 1991. Effect of algalization on seed germination of vegetable crops. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 7(6): 622-623.
- PEREIRA, I. REYES G. Y V. KRAMM 2000. Cyanophyceae, Euglenophyceae, Chlorophyceae, Zygnematophyceae y Charophyceae en arrozales de Chile. *Gayana Bot.* 57(1): 29-53.
- QUESADA, A. and E. FERNANDEZ-VALIENTE 1996. Relationship between abundance of N-fixing cyanobacteria and environmental features of Spanish rice fields. *Microbial Ecology* 32: 59-71.
- RAM G. 1995. An economic analysis of blue algae and nitrogen levels on rice. *Bhartiya Krishi Anusandhan Patrika* 10(1-2): 49-53.
- ROGER P.A. 1995. Biological N₂-fixation and its management in wetland rice cultivation. *Fertilizer Research* 42(1-3): 261-276.
- SHANG-SHUTIAN, DONG JUNGE, SU-BOALIN, , SHANG-ST, DONG-JD and SU-BL 1995. Studies on nitrogen fixing blue-green algae in the submerged rice field in Beijing area. II Nitrogen-fixing activity of surface soil layer and submerged stalk. *Acta Agriculturae Universitate-Pekinensis* 21(1): 1-6.

- SHARMA, A.R. and K.C. DAS 1993. Effect of nitrogen fertilization on performance of rice (*Oryza sativa*) under intermediate deep-water conditions (0-50 cm). *Indian J. Agron.* 39(1): 548-552.
- SINGH, A.L. and R.K. SINGH 1987. Comparative study on *Azolla* and blue-green algae dual culture with rice. *Isr. J. Bot.* 35(2): 53-61
- STEIN, J.R. 1973. *Handbook of Phycological Methods. Culture Methods and Growth Measurements* Sponsored by the Phycological Society of America. Inc. Cambridge University Press. 446 pp.
- SURI V.K. JAGGI, R.C. and U.K. PURI 1995. Response of irrigated rice to blue green algae in the presence and absence and its effect in wheat. *Crop Research Hisar.* 9(3): 403-408.
- VAISHAMPAYAN A., SINHA R.P., HADER D.-P., DEY T., GUPTA A.K., BHAN U. and A.L. RAO. 2201 Cyanobacteria biofertilizers in the rice culture. *The Botanical Review.* 67(4): 453-516.
- WAHAB, K. VEERABADRAN V. and SRINIVASAN K. 1998. Water and nitrogen management for lowland transplanted rice under limited water supply. *Madeas Agricultural Journal* 83(5): 286-288.
- WANG, Q.L., LIU y D., SHEN , Y.W., JIN, C.Y., LU, J.S., ZHU, J.M. and S.H., LI 1991. Studies on mixed mass cultivation of *Anabaena* spp. (nitrogen-fixing blue-green algae (cyanobacteria) on a large scale. *Bioresource Technol.* 38 (2/3): 221-228.