

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE AGRONOMÍA



“VERMICOMPOST, ESTIÉRCOL DE *Tenebrio molitor* Y *Trichoderma harzianum* COMO MITIGADORES DE ESTRÉS HÍDRICO Y SALINO EN ESPINACA (*Spinacia oleracea*)”

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERA AGRÓNOMA**

CARLA DIANA LEONARDO ALVARADO

LIMA – PERÚ

2024

Tesis Carla Leonardo

INFORME DE ORIGINALIDAD

11 %	10 %	4 %	1 %
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.lamolina.edu.pe Fuente de Internet	4 %
2	hdl.handle.net Fuente de Internet	1 %
3	purl.org Fuente de Internet	<1 %
4	repositorio.uco.edu.co Fuente de Internet	<1 %
5	JUAN RODRÍGUEZ GAMIR. "CONDUCTANCIA HIDRÁULICA EN PATRONES DE CÍTRICOS", 'Universitat Politecnica de Valencia', 2015 Fuente de Internet	<1 %
6	www.researchgate.net Fuente de Internet	<1 %
7	vidasana.org Fuente de Internet	<1 %
8	1library.co Fuente de Internet	<1 %

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMÍA

“VERMICOMPOST, ESTIÉRCOL DE *Tenebrio molitor* Y *Trichoderma harzianum* COMO MITIGADORES DE ESTRÉS HÍDRICO Y SALINO EN ESPINACA (*Spinacia oleracea*)”

CARLA DIANA LEONARDO ALVARADO

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERA AGRÓNOMA**

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

.....
Ing. M. S. Andrés Virgilio Casas Díaz
PRESIDENTE

.....
Ing. Mg. Sc. Pedro Pablo Gutiérrez Vílchez
ASESOR

.....
Ing. Mg. Sc. Medali Heidi Huarhua Zaquinaula
CO-ASESOR

.....
Dr. Oscar Oswaldo Loli Figueroa
MIEMBRO

.....
Ing. Mg. Sc. Sarita Maruja Moreno Llacza
MIEMBRO

Lima – Perú

2024

DEDICATORIA

A Ildaura y Victor, por su apoyo desde siempre en cada decisión y etapa de mi vida.

AGRADECIMIENTO

Al Mg. Sc. Pedro Pablo Gutiérrez y la Mg. Sc. Heidi Huarhua, por su orientación y paciencia durante la ejecución y culminación del presente proyecto. Sus conocimientos y comentarios fueron fundamentales para la culminación de este trabajo.

A mis padres, hermano Carlos y mi tía Antonia por su apoyo incondicional.

Finalmente, a mis amigos por su apoyo emocional y logístico en todo lo que estuvo en sus manos.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1.	CAMBIO CLIMÁTICO.....	4
2.1.1.	Informe del IPCC 2014.....	4
2.1.2.	¿Cómo afecta el cambio climático en la agricultura?.....	5
2.1.3.	Estreses bióticos y abióticos generados por el cambio climático	6
2.1.4.	¿Cómo responden los cultivos al estrés hídrico y salino?	6
2.2.	AGRICULTURA SUSTENTABLE	7
2.2.1.	Rol de las enmiendas orgánica en la agricultura sustentable.....	8
2.2.2.	Productos que contribuyen con el desarrollo de una agricultura sustentable	8
2.3.	CULTIVO DE ESPINACA.....	11
2.3.1.	Taxonomía	11
2.3.2.	Morfología	11
2.3.3.	Condiciones favorables.....	12
2.3.4.	Respuesta al estrés hídrico y salino	12
III.	METODOLOGÍA	14
3.1.	LUGAR DEL EXPERIMENTO	14
3.2.	CARACTERÍSTICAS CLIMÁTICAS	14
3.3.	CONDICIONES DE ESTRÉS	14
3.4.	MATERIALES.....	15
3.4.1.	Sustrato	15
3.4.2.	Agua.....	16
3.4.3.	Enmiendas orgánicas	16
3.4.4.	Microorganismo benéfico.....	16
3.4.5.	Material vegetal	16
3.4.6.	Otros materiales	17
3.5.	TRATAMIENTOS	17
3.6.	PROCEDIMIENTO	18
3.6.1.	Colecta de suelo.....	18
3.6.2.	Preparación del sustrato y macetas	19
3.6.3.	Siembra de almácigos y trasplante	19

3.6.4. Estrés hídrico y salino.....	19
3.6.5. Aplicación de <i>Trichoderma harzianum</i>	20
3.6.6. Monitoreo y control de plagas	20
3.6.7. Cosecha.....	20
3.7. EVALUACIONES	21
3.7.1. Parámetros biométricos	21
3.7.2. Parámetros químicos.....	22
3.7.3. Parámetros fisiológicos.....	25
3.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	26
3.8.1. Diseño experimental	26
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
4.1. LONGITUD FOLIAR.....	27
4.2. PESO FRESCO FOLIAR.....	29
4.3. CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA DEL SUELO.....	30
4.4. CONTENIDO RELATIVO DE AGUA (CRA).....	31
4.5. CONDUCTANCIA ESTOMÁTICA (G_s).....	32
4.6. TASA FOTOSINTÉTICA (A).....	33
4.7. CONTENIDO FOLIAR DE MACRONUTRIENTES PRIMARIOS.....	35
4.8. CONTENIDO FOLIAR DE MACRONUTRIENTES SECUNDARIOS	37
4.9. CONTENIDO FOLIAR DE MICRONUTRIENTES	39
V. CONCLUSIONES	43
VI. RECOMENDACIONES.....	44
VII. BIBLIOGRAFÍA	45
VIII. ANEXOS	52

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Promedio mensual de datos meteorológicos de La Molina (diciembre 2021-abril 2022)	14
Tabla 2: Análisis de caracterización del sustrato.....	15
Tabla 3: Análisis de caracterización de enmiendas orgánicas utilizadas	16
Tabla 4: Tratamientos asignados al ensayo	18
Tabla 5: Dosis de Polietilenglicol 6000 y cloruro de sodio en las soluciones de riego.....	19

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Peso foliar fresco posterior a la cosecha	21
Figura 2: Hojas frescas sumergidas en agua destilada por 24 horas para obtener peso turgente	22
Figura 3: Hojas secas después de 24 horas en estufa a 70°	22
Figura 4: Balón micro Kjeldahl con muestra vegetal, catalizador y H ₂ SO ₄ antes, durante y después de la digestión	23
Figura 5: Destilación de muestra digerida con NaOH al 50 %	24
Figura 6: Proceso de digestión húmeda	25
Figura 7: Uso del equipo CIRAS-3 para medir parámetros fisiológicos en hojas de espinaca	25
Figura 8: Longitud foliar promedio obtenido por efecto de los tratamientos de enmiendas y condición de estrés	27
Figura 9: Peso fresco foliar obtenido por efecto de los tratamientos de enmiendas y condición de estrés	29
Figura 10: Conductividad eléctrica del suelo obtenido por efecto de los tratamientos de enmiendas y condición de estrés	30
Figura 11: Contenido Relativo de Agua (CRA) foliar obtenido por efecto de los tratamientos de enmiendas y condición de estrés	31
Figura 12: Conductancia estomática obtenida por efecto de los tratamientos de enmiendas y condición de estrés	32
Figura 13: Tasa fotosintética obtenida por efecto de los tratamientos de enmiendas y condición de estrés	33
Figura 14: Contenido de nitrógeno foliar obtenido por el uso de enmiendas orgánicas bajo distintas condiciones de estrés	35
Figura 15: Contenido de fósforo foliar obtenido por el uso de enmiendas orgánicas bajo distintas condiciones de estrés	35
Figura 16: Contenido de potasio foliar obtenido por el uso de enmiendas orgánicas bajo distintas condiciones de estrés	36
Figura 17: Contenido de calcio foliar obtenido por el uso de enmiendas orgánicas bajo distintas condiciones de estrés	37

Figura 18: Contenido de magnesio foliar obtenido por el uso de enmiendas orgánicas bajo distintas condiciones de estrés	38
Figura 19: Contenido de sodio foliar obtenido por el uso de enmiendas orgánicas bajo distintas condiciones de estrés	39
Figura 20: Contenido de hierro foliar obtenido por el uso de enmiendas orgánicas bajo distintas condiciones de estrés	40
Figura 21: Contenido de zinc foliar obtenido por el uso de enmiendas orgánicas bajo distintas condiciones de estrés	41

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Análisis de varianza de la longitud foliar	52
Anexo 2: Análisis de varianza del peso foliar	52
Anexo 3: Análisis de varianza de la conductividad eléctrica del suelo.....	52
Anexo 4: Análisis de varianza del Contenido Relativo de Agua (CRA)	53
Anexo 5: Análisis de varianza de la Conductancia Estomática (Gs)	53
Anexo 6: Análisis de varianza de la Tasa Fotosintética (A)	53
Anexo 7: Análisis de varianza de contenido foliar de nitrógeno.....	53
Anexo 8: Análisis de varianza del contenido de fósforo foliar	54
Anexo 9: Análisis de varianza del contenido de potasio foliar	54
Anexo 10: Análisis de varianza del contenido de calcio foliar	54
Anexo 11: Análisis de varianza del contenido de magnesio foliar.....	54
Anexo 12: Análisis de varianza del contenido de sodio foliar	55
Anexo 13: Análisis de varianza del contenido de hierro foliar	55
Anexo 14: Análisis de varianza del contenido de zinc foliar	55

RESUMEN

La producción agrícola global enfrenta desafíos ambientales como la salinidad del suelo y la escasez de agua, que afectan negativamente los cultivos y la seguridad alimentaria. Este ensayo propone el uso de enmiendas orgánicas y *Trichoderma harzianum* para mitigar el estrés hídrico y salino en espinacas. Se evaluaron la biometría, el contenido nutricional y la actividad fisiológica (Tasa Fotosintética “A” y Conductancia Estomática “Gs”). Se utilizó un diseño experimental de Parcelas Divididas, con condiciones de estrés a nivel de parcela y enmiendas a nivel de subparcela. Bajo estrés salino, los tratamientos con enmiendas y *T. harzianum* no difirieron significativamente del Testigo Absoluto en longitud (12.3 cm) y peso (34.4 g), pero Vermicompost + *T. harzianum* mostró los valores más altos (17.7 cm; 62.7 g). Bajo estrés hídrico, solo Vermicompost + *T. harzianum* y Estiércol de *T. molitor* + Vermicompost + *T. harzianum* presentaron valores similares, pero más bajos. Las variables fisiológicas fueron afectadas por el estrés hídrico. Estiércol de *T. molitor* + Vermicompost + *T. harzianum* mitigó el estrés, mostrando la Tasa Fotosintética más alta (120.20 $\mu\text{molCO}_2/\text{m}^2\text{s}$) y la Conductancia Estomática más alta (5.34 $\text{mmH}_2\text{O}/\text{m}^2\text{s}$). Bajo estrés salino, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos con el testigo. Finalmente, el contenido nutricional en parte se vio influenciado por la composición inicial de cada enmienda empleada y por la condición de estrés sometida, siendo así que el contenido de macronutrientes primarios y secundarios no presentaron diferencias significativas a nivel de parcela y subparcela; mientras que, a nivel de micronutrientes, el contenido de sodio se vio influenciado por la misma condición salina a la que fue sometida, independiente de la enmienda incorporada y el contenido de hierro fue superior en las plantas sometidas a estrés hídrico.

Palabras clave: Salinidad, estrés hídrico, enmiendas orgánicas, *Trichoderma harzianum*, producción agrícola.

ABSTRACT

Global agricultural production faces environmental challenges such as soil salinity and water scarcity, which negatively impact crops and food security. This study proposes the use of organic amendments and *Trichoderma harzianum* to mitigate water and salt stress in spinach. Biometry, nutritional content, and physiological activity (Photosynthetic Rate "A" and Stomatal Conductance "Gs") were evaluated. A Split-Plot experimental design was used, with stress conditions at the plot level and amendments at the subplot level. Under salt stress, treatments with amendments and *T. harzianum* did not differ significantly from the Absolute Control in length (12.3 cm) and weight (34.4 g), but Vermicompost + *T. harzianum* showed the highest values (17.7 cm; 62.7 g). Under water stress, only Vermicompost + *T. harzianum* and *T. molitor* manure + Vermicompost + *T. harzianum* presented similar, but lower values. Physiological variables were affected by water stress. *T. molitor* manure + Vermicompost + *T. harzianum* mitigated stress, showing the highest Photosynthetic Rate (120.20 $\mu\text{molCO}_2/\text{m}^2\text{s}$) and Stomatal Conductance (5.34 $\text{mmH}_2\text{O}/\text{m}^2\text{s}$). Under salt stress, there were no significant differences between treatments. Finally, the nutritional content was partly influenced by the initial composition of each amendment and the stress condition, with primary and secondary macronutrient content showing no significant differences at the plot and subplot levels. Sodium content was influenced by the same saline condition, regardless of the incorporated amendment, while iron content was higher in plants subjected to water stress.

Keywords: Salinity, water stress, organic amendments, *Trichoderma harzianum*, agricultural production.

I. INTRODUCCIÓN

La agricultura es un sector productivo expuesto y dependiente de las condiciones ambientales, convencionalmente, las cuales al ser adversas, afectan a los cultivos en su crecimiento y productividad (Ribeiro *et al.*, 2018). Incrementos de la temperatura media, variabilidad en los niveles de precipitación, disponibilidad de agua y salinización, son algunos de los eventos que ha traído consigo el cambio climático, los cuales han ido impactando directamente en los sectores agropecuarios (Núñez *et al.*, 2017).

Al cambio climático se le suma el aumento de la población, lo cual trae consigo una mayor demanda de alimentos; sin embargo, la producción necesaria para compensarla se ve afectada por la escasez de agua apropiada para el riego de cultivos, resultando inevitable buscar otras fuentes, cayendo en el uso de aguas no apropiadas que presentan alto contenido de sales, ocasionando problemas de estrés salino (Yasour, 2017). Además de la escasez de agua de buena calidad, la escasez de agua en general es uno de los principales factores abióticos que afectan en la agricultura, generando así el evento de estrés hídrico por sequías.

En el Perú, principalmente en la costa, los suelos se ven afectados por efecto de la salinización, dada por la misma naturaleza de algunos suelos, deficiente sistema de drenaje y/o mal uso del agua. Al presente no se cuenta con información actualizada sobre la cantidad de suelos afectados por salinidad en el Perú, pero antiguos registros de los años 70 muestran alrededor de 300 mil ha de suelo costero afectados por mal drenaje y salinización (Hurtado, 2019).

Son estas situaciones mencionadas las que inducen a la búsqueda de soluciones, técnicas y productos que contrarresten sus efectos, para permitir así el buen desarrollo de los cultivos ante condiciones irreversibles.

En un contexto de agricultura sostenible, los abonos orgánicos juegan un papel importante en la recuperación y conservación de suelo, y en el suministro de nutrientes (Yasuor, 2017). Aunque su composición nutricional es baja a comparación de los fertilizantes sintéticos, su principal beneficio es el aporte de materia orgánica y microorganismos al suelo (Avarez *et al.*, 2009); pudiendo estos últimos cumplir la función de bioestimulante, mejorando en las plantas su eficiencia nutricional, atributos de calidad y la tolerancia a estreses abióticos (Agencia Agraria de Noticias, 2018).

Existe referencia que el vermicompost, como enmienda orgánica, en suelos salinos ha ayudado a reducir problemas como la pérdida de nutrientes del suelo debido al excesivo lavado y además a reducir el estrés generado por esta condición del suelo (Pastor *et al.*, 2016).

Una reciente enmienda orgánica que se está dando a conocer gracias a la crianza del insecto *Tenebrio molitor*, por su uso como alimento para animales y humanos, es su estiércol, el cual además de tener propiedades nutricionales y biopesticidas, contiene una gran diversidad de microorganismos benéficos, alto contenido de materia orgánica, alrededor del 50 % y presencia de quitosano, lo cual va a permitir que la planta se fito-fortifique frente a estreses abióticos (Poveda, 2018).

Los microorganismos son beneficiosos en los marcos de agricultura sostenible, conservación de la naturaleza y la mitigación del cambio climático, pues generan un bajo impacto ecológico. Dentro de los microorganismos más empleado en la agricultura orgánica está el hongo antagonista *Trichoderma harzianum*, el cual, además de ser usado en la agricultura como fungicida, promueve el crecimiento y las defensas contra daños bióticos y abióticos en las plantas (Rubio *et al.*, 2017).

Por tanto, teniendo en cuenta la importancia por las propiedades que poseen los abonos orgánicos y el hongo antagonista *Trichoderma harzianum*, se considera que su uso en la agricultura va ayudar a los cultivos a poder desarrollarse de manera eficiente ante condiciones adversas que ha traído y continuará trayendo consigo el cambio climático.

El objetivo general de la presente investigación fue:

Determinar si el vermicompost, estiércol de *Tenebrio molitor* y el hongo *Trichoderma harzianum*, como fuentes orgánicas, mitigan las condiciones de estrés hídrico y salino en el cultivo de espinaca, favoreciendo su crecimiento y desarrollo.

Asimismo, los objetivos específicos fueron:

- Comparar los efectos del estiércol de *Tenebrio molitor* con el vermicompost, asociados a *Trichoderma harzianum* en el crecimiento y desarrollo de la espinaca bajo condiciones de estrés hídrico y salino.
- Evaluar biométricamente la respuesta de la espinaca ante condiciones de estrés hídrico y salino y la adición de dos enmiendas orgánicas.
- Proponer una alternativa orgánica en el sector agrícola con el uso del estiércol de *Tenebrio molitor*.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. CAMBIO CLIMÁTICO

2.1.1. Informe del IPCC 2014

El Grupo Intergubernamental de Expertos sobre Cambio Climático (IPCC) es un órgano perteneciente a las Naciones Unidas, que proporciona información sobre el cambio climático. Este en su quinto informe del 2014, señala al humano como principal influyente de las condiciones climáticas actuales e indican que cuanto más las altere, los impactos serán mucho mayores e irreversibles.

La IPCC reporta consecuencias como los fenómenos meteorológicos extremos, reflejados en la ola de calor en Canadá, las inundaciones en el centro de Europa o China y los incendios a causa de las altas temperaturas en la cuenca del Mediterráneo (Planelles, 2021).

Adicionalmente, en su informe indican que, si el calentamiento global continúa en aumento, las consecuencias en el ciclo del agua se intensificarán y aumentarán, dando como resultado eventos extremos como altas precipitaciones, sequías e inundaciones frecuentes (Miranda, 2021).

Sin embargo, consideran a la adaptación y mitigación como estrategias complementarias que pueden reducir y gestionar los riesgos del cambio climático, las cuales deben apuntar hacia un desarrollo sostenible que respete el clima, pero que al mismo tiempo contribuyan a mejorar la producción de alimentos, bienestar social y la gestión ambiental (Rodríguez *et al.*, 2014).

2.1.2. ¿Cómo afecta el cambio climático en la agricultura?

Se considera a la agricultura como uno de los sectores más vulnerables a los efectos del cambio climático (Ribeiro *et al.*, 2018), puesto que los cultivos, en su mayoría, se encuentran expuestos en campo y dependen del clima.

El aumento y disminución de temperatura, así como las sequías, inundaciones y la salinidad, son los principales factores abióticos que afectan en la agricultura (Mendez y Vallejo, 2019) y, por tanto, en la seguridad alimentaria, en disponibilidad y acceso a los alimentos (Mariem *et al.*, 2021). Influye directamente en el cultivo sobre su fenología, producción y rendimiento. Indirectamente estas alteraciones promueven un incremento de incidencia de plagas y enfermedades, favorecidos por las condiciones climáticas más cálidas y húmedas, debido además al debilitamiento de sus enemigos naturales (Viguera *et al.*, 2017).

Sin embargo, los efectos en los cultivos no son iguales entre todos los países ni al interior de los mismos, ya que dependen de las condiciones climáticas locales. Aunque los impactos no se distribuyen por igual en todo el mundo, este es mayor en zonas tropicales y subtropicales, los cuales comprenden a países en desarrollo (Vieira *et al.*, 2021). Adicionalmente, en América Latina, la diversidad agroecológica y demográfica, hace que las consecuencias a causa de los cambios climáticos sean variadas, lo cual genera que en unas zonas la productividad se mantenga o incluso en otras se incremente ligeramente (López y Hernández, 2016).

López y Hernández (2016), señalan que alrededor del mundo, los agricultores buscan medidas de adaptación de bajo costo como solución a los problemas. Por ejemplo, ya se comienza a modificar las épocas de siembra, las variedades sembradas o incluso el tipo de cultivo. Claro está que estas medidas se pueden implementar ante mínimos aumentos de temperatura, pero no serían suficientes para hacer frente al cambio climático. Soluciones con mayores efectos implican desarrollar nuevas variedades, los cuales presentan elevados costos.

2.1.3. Estrés bióticos y abióticos generados por el cambio climático

El estrés en las plantas, dado por factores ambientales u organismos vivos, ocasiona un conjunto de respuestas bioquímicas o fisiológicas distintas a las observadas en condiciones óptimas, limitando de expresar su máximo potencial de desarrollo o rendimiento (Benavides, 2002). Este término refleja la magnitud de presión ambiental que genera el cambio en la fisiología de una planta (Montoliu, 2010).

El estrés abiótico se da por factores ambientales que afectan los procesos fisiológicos y metabólicos de las plantas, siendo considerada como la principal causa de pérdidas de producción, llegando a afectar en más de 50 % del total. En cuanto al crecimiento y desarrollo del cultivo, los factores abióticos afectan en más del 95 % de la superficie agrícola. Sin embargo, esta situación comienza a empeorar con el cambio climático (Méndez y Vallejo, 2019). Este estrés está comprendido por la sequía, salinidad, temperatura, radiación, nevadas, granizadas, vientos fuertes, entre otros (Montoliu, 2010).

El estrés biótico, a diferencia de los abióticos, se da a causa de seres vivos, microorganismos, patógenos, animales, inclusive plantas; estas últimas por medio de competencia o alelopatía (García, 2012). Estos además de aumentar los costos, disminuyen la producción y calidad de los cultivos, llegándose a registrar hasta un 40 % de pérdidas de producción a causa de las plagas (FAO, 2019). El cambio climático favorece este tipo de estrés por promover condiciones favorables para su desarrollo, siendo en su mayoría, las altas temperaturas y humedad en el ambiente.

2.1.4. ¿Cómo responden los cultivos al estrés hídrico y salino?

El agua en las plantas cumple un rol fundamental en la actividad bioquímica, influyendo en su crecimiento y productividad. La insuficiencia hídrica causa una deficiencia de potencial hídrico, ocasionando un exceso de transpiración en la planta, lo cual genera eventos como la alteración de la mitosis, reducción del metabolismo, deshidratación y emisión de señales osmóticas que son reconocidas por receptores, los cuales se expresan en las plantas por una reducción de altura, raíces, área foliar y biomasa (Luna *et al.*, 2012; Méndez y Vallejo, 2019).

Se considera a la fotosíntesis como uno de los principales procesos afectados por el estrés hídrico, ya que acelera la senescencia de las hojas más desarrolladas, promueve el cierre estomático y bloquea el movimiento del CO₂ al mesófilo (Arbizú *et al.*, 2018).

Como mecanismos de respuesta ante este evento, las plantas acumulan proteínas como las dehidrinas, que protegen a las membranas y macromoléculas ante la desnaturalización y pérdida de su función (Castañeda *et al.*, 2014). Asimismo, el crecimiento radicular disminuye, se reduce el área foliar y los estomas se cierran para evitar la pérdida de agua por transpiración (Méndez y Vallejo, 2019).

Por otro lado, la salinidad es calificada como el mayor estrés que perjudica la productividad y calidad de las cosechas, debido al daño en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Se considera que aproximadamente la mitad de las tierras agrícolas irrigadas a nivel mundial son afectadas por este factor (Hidalgo, 2019).

Hidalgo (2019) señala que, la salinidad puede ocasionar dos clases de estrés: osmótico e iónico. El estrés osmótico hace referencia a la pérdida de agua de la planta a causa de la reducción del potencial en el suelo. El estrés iónico se relaciona con altas relaciones de Na⁺/K⁺ y Na⁺/Ca²⁺ y acumulación de sodio y cloro, lo cual perjudica el metabolismo celular y generar toxicidad en las enzimas que participan en la fotosíntesis y nutrición.

Las plantas ante este evento reajustan su potencial osmótico o reducen los niveles tóxicos en sus células por medio de la compartimentación iónica en vacuolas. Además, como mecanismos de adaptación desarrollan tolerancia al estrés osmótico y acumulación de iones (Méndez y Vallejo, 2019).

2.2. AGRICULTURA SUSTENTABLE

La agricultura sustentable se considera como aquella que satisface las necesidades actuales sin comprometer las del futuro, sin destruir el medio ambiente y acabar con los recursos naturales, de manera que a largo plazo mejora las condiciones ambientales, cumple con las necesidades básicas de alimentación, es factible económicamente y optimiza la calidad de vida del productor y sociedad (Pensis, 2017; Troya, 2020). La economía, sociedad y

ambiente, son las tres dimensiones de la sustentabilidad agrícola, entre las cuales debe existir interrelación (Torres, 2017).

Además, dentro de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) que propone la ONU; se considera a la agricultura sustentable como base fundamental para lograr la ODS-2 (Hambre cero); la cual busca acabar con el hambre, mejorar la nutrición y lograr la seguridad alimentaria, por medio de una promoción de agricultura sostenible, la cual, según la FAO, debe promover ambientes saludables y un manejo razonable en el tiempo del suelo, agua y recursos naturales (FAO, 2015).

2.2.1. Rol de las enmiendas orgánica en la agricultura sustentable

El manejo y composición del suelo juega un papel fundamental en la producción, por lo que su mejora en contenido de materia orgánica e incremento de fertilidad es vital para una agricultura sostenible en el tiempo (García y Hernández, 2018).

García y Hernández (2018) resaltan que la agricultura convencional es muy eficiente en términos de producción, pero depende de insumos sintéticos para lograrlo, los cuales no contienen materia orgánica. Adicionalmente, la falta de prácticas de conservación de suelo ocasiona en sí mismo problemas de erosión, pérdida de nutrientes y disminución de materia orgánica, los cuales son desfavorables en términos de sostenibilidad.

Por ello, las enmiendas orgánicas cumplen un rol importante en la agricultura sustentable al mejorar las condiciones físicas, químicas y biológicas del suelo, puesto que poseen alto contenido de materia orgánica, microorganismos y nutrientes, los cuales proporcionan estabilidad estructural y contribuyen en la capacidad de almacenamiento de agua (Damián *et al.*, 2018).

2.2.2. Productos que contribuyen con el desarrollo de una agricultura sustentable

Son diversas las fuentes de enmiendas orgánicas que contribuyen a mejorar las condiciones de suelo, como los abonos verdes, residuos de cultivos, estiércol, vermicompost y compost; quienes combinados con microorganismos eficientes como *Trichoderma harzianum*, mejoran la disponibilidad de agua, disminuyen las emisiones de gases de efecto invernadero,

recuperan suelos degradados y mineralizan los nutrientes de manera que sean más estables en el suelo y estén disponibles para las plantas (Damián *et al.*, 2018; Murillo *et al.*, 2020).

a. Estiércol de *Tenebrio molitor*

Tenebrio molitor, conocido como el “gusano de la harina”, es un coleóptero que viene ganando importancia en los últimos años, junto con otros insectos como grillos y zophobas, en la alimentación animal y humana, gracias a su alto contenido de proteína, aminoácidos esenciales (Ocampo, 2019), porque su crianza se realiza en pequeños espacios y por presentar una baja huella de agua y carbono (Avendaño *et al.*, 2020).

El uso de su estiércol, como enmienda orgánica, surge como una nueva alternativa natural en la agricultura, gracias a su abundancia poblacional, fácil crianza (Ángeles *et al.*, 2018) y porque su estiércol presenta una composición nutricional considerada ideal, con un balance NPK de 3.5-1.5-1.5 o 3.4-1.0-1.4 y un contenido de materia orgánica alrededor del 80 % (Poveda, 2018).

Adicionalmente, su estiércol presenta un contenido de humedad muy bajo, lo cual favorece su estabilización y almacenaje. Así mismo, contiene microorganismos que son beneficiosos en la agricultura, ya que son considerados promotores de crecimiento como *Peaenibacillus sp.*, *Bacillus sp.* y *Rhizobium sp.*, los cuales a su vez inhiben el crecimiento y desarrollo de patógenos (Poveda, 2018).

b. Vermicompost

Es el resultado de la descomposición de residuos orgánicos por lombrices y microorganismos del suelo (Vila, 2017). Es considerado como una alternativa para la recuperación de suelos afectados por la salinidad, generado por el exceso de uso de fertilizantes sintéticos; y suelos degradados, ya que mejora las propiedades químicas y biológicas (Mogollón *et al.*, 2016).

Su composición se considera compleja, ya que contiene sustancias que actúan como reguladores de crecimiento, ácidos húmicos y fúlvicos que en combinación promueven una disposición inmediata de nutrientes asimilables por las plantas, promoviendo una mejor

nutrición vegetal debido al aumento de la capacidad de intercambio catiónico (CIC); así mismo, presenta una alta carga microbial lo cual favorece la propiedad biológica del suelo (Troya, 2020; Berríos, 2015).

Presenta un alto contenido de humedad, una composición nutricional con balance de NPK de 2-1.5-1 y una relación C/N de 10, la cual es considerada ideal. Además, su uso ha demostrado que puede fijar metales pesados en el suelo evitando que sean trasladados a las plantas y aguas subterráneas, de igual forma con los agroquímicos. Por dicha propiedad se considera al vermicompost como biorrecuperador de suelos contaminados (Milanés *et al.*, 2005).

c. *Trichoderma harzianum*

Trichoderma harzianum es un hongo antagonista que se encuentra de forma natural en el suelo, principalmente en aquellos que contienen materia orgánica en descomposición. En la agricultura es ampliamente utilizado como un biocontrolador de hongos fitopatógenos por medio de competencia, micoparasitismo y antibiosis (Companioni *et al.*, 2019; Rubio *et al.*, 2017).

Sin embargo, su uso en la agricultura actual va más allá de su efecto biocontrolador, puesto que se ha observado sobre las plantas efectos como estimulador de crecimiento e inductor de defensas contra estreses bióticos y abióticos, por ejemplo, aliviando efectos producidos por estrés salino (Rubio *et al.*, 2017).

Por medio de la descomposición de materia orgánica, su colonización de raíces que libera hormonas como auxinas, citoquininas y giberelinas; y su actividad solubilizadora, acondiciona a los nutrientes para que estén disponibles para las plantas y al mismo tiempo estimula su desarrollo y crecimiento (Camargo y Ávila, 2013).

Se ha registrado que su adición en compost incrementó su tasa poblacional de forma significativa, esto debido a que las altas concentraciones de carbono orgánico favorecen su propagación. En otras palabras, los abonos orgánicos favorecen al crecimiento poblacional, lo cual es traducido en mejores condiciones para las plantas (Donoso *et al.*, 2008).

2.3. CULTIVO DE ESPINACA

2.3.1. Taxonomía

Carlos Linneo, citado por Calvo (2018), indica la clasificación taxonómica de la espinaca de la siguiente forma:

Reino: Vegetal

División: Angiospermae

Clase: Dicotyledoneae

Orden: Centrospermales

Familia: Chenopodiaceae

Género: *Spinacia*

Especie: *Spinacia oleracea L.*

2.3.2. Morfología

Es una planta herbácea de ciclo anual, su descripción botánica se presenta a continuación:

a. Raíz

Presenta una raíz pivotante que alcanza una profundidad de 15-20 cm, esta genera un buen anclaje de la planta en el suelo. Presenta pocas ramificaciones debido a su desarrollo radicular no es profundo, sino superficial, siendo así importante mantener la humedad en esa zona (Bacho, 2011; Cámara de Comercio de Bogotá, 2015).

b. Tallo

Posee un tallo cilíndrico muy corto que sostiene toda la parte aérea. Sin embargo, presenta un tallo largo que sostiene su inflorescencia y este puede llegar a medir entre 60-80 centímetros (Jayo, 2018).

c. Hojas

Es el órgano comestible, posee un peciolo alargado los cuales se distribuyen en forma de roseta alrededor del tallo. Son de color verde intenso oscuro, en función de la variedad (Bacho, 2011).

d. Flores

Presenta flores dioicas, es decir las flores masculinas están separadas de las femeninas. Las flores masculinas se presentan en una inflorescencia tipo espiga y las femeninas en glomérulo. Son de color blanco o verde amarillento (Jayo, 2018; Cámara de Comercio de Bogotá, 2015)

e. Semilla

Valenzuela (2016) describe a la semilla de color gris verdoso y de aspecto coriáceo. Lo que se comercializa es el fruto en forma de aquenio, dentro de la cual se encuentran las semillas, sin embargo, esta forma desfavorece la germinación de la espinaca pues impide la entrada de la humedad.

2.3.3. Condiciones favorables

Según el manual del cultivo de espinaca, elaborado por la Cámara de Comercio de Bogotá (2015), las condiciones agroclimáticas favorables para el desarrollo del cultivo de espinaca son las siguientes:

- Altura: 1430-2800 msnm
- Temperatura: La germinación de 7-23 °C y el crecimiento de 15-25 °C
- Humedad relativa 60-75 %
- Necesidad hídrica: 800-1600 mm anuales
- Suelo: Franco a franco arenoso
- pH: 5.7-6.8
- Fotoperiodo: 12 horas

Su raíz es sensible a asfixia por exceso de agua, por lo cual, el suelo debe presentar buen drenaje y aireación. Se desarrolla apropiadamente en suelos salinos-ligeramente salinos

2.3.4. Respuesta al estrés hídrico y salino

Tanto el estrés hídrico como salino afectan directamente la parte comercial, disminuyendo así el rendimiento. El estrés hídrico en la espinaca, por exceso o deficiencia de agua afecta a la fotosíntesis provocando una reducción en el área de la hoja. Y aunque se considera una planta tolerante a la salinidad, la espinaca presenta un umbral de salinidad de 2 dSm⁻¹, a

partir del cual comienza a disminuir su rendimiento. Ante estas condiciones, la espinaca presenta síntomas de deformación y clorosis en las hojas (Doñate, 2013; Cámara de Comercio de Bogotá, 2015).

III. METODOLOGÍA

3.1. LUGAR DEL EXPERIMENTO

El trabajo de investigación se realizó en el laboratorio e invernadero experimental del Laboratorio e Invernadero de Fertilidad del Suelo “Sven Villagarcía Hermoza”, de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). Siendo su ubicación geográfica:

Latitud: 12° 05' 06'' S

Longitud: 76° 57' 00'' O

Altitud: 246 m.s.n.m.

3.2. CARACTERÍSTICAS CLIMÁTICAS

La información de temperatura y humedad durante el periodo experimental, diciembre 2021-abril 2022), se obtuvo de la estación meteorológica “Alexander Von Humboldt”, ubicada dentro del campus de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

Tabla 1: Promedio mensual de datos meteorológicos de La Molina (diciembre 2021-abril 2022)

VARIABLES METEOROLÓGICAS	DICIEMBRE	ENERO	FEBRERO	MARZO	ABRIL
Temperatura promedio (°C)	19.7	22.5	22.7	23.1	20.0
Humedad Relativa promedio (%)	76.8	71.4	69.0	67.5	74.1
Precipitación (mm/día)	0	0	0	0	0

FUENTE: Estación meteorológica “Alexander Von Humboldt”

3.3. CONDICIONES DE ESTRÉS

El cultivo de espinaca en el ensayo fue sometido a dos condiciones de estrés: hídrico y salino, adicional a la condición control. El estrés salino fue generado mediante el uso de cloruro de sodio químicamente puro, mientras que el estrés hídrico por la adición de Polietilenglicol 6000, ambos productos añadidos al agua de riego, siendo su adición progresiva interdiaria a partir de la etapa crítica del cultivo.

3.4. MATERIALES

3.4.1. Sustrato

El sustrato empleado en el ensayo fue extraído de la capa arable del campo experimental del Departamento de Suelos, ubicado dentro del campus de la UNALM. Para conocer sus propiedades físico-químicas, el suelo extraído fue sometido a un análisis de caracterización, siendo sus resultados presentados en la Tabla 2.

Los resultados presentan un suelo de textura franca de bajo contenido de materia orgánica (0.50 %), las cuales van a explicar la baja CIC (10.4 meq/100g), dando a conocer su baja fertilidad. Así mismo, el suelo se considera de reacción moderadamente alcalina, de baja conductividad eléctrica y bajos niveles de fosforo y potasio disponible.

Tabla 2: Análisis de caracterización del sustrato

Característica	Valor	Unidad
Textura	Franca	-
Arena	50	%
Limo	34	%
Arcilla	16	%
pH	7.57	-
C.E. (1:1)	0.18	dSm ⁻¹
CaCO ₃	3.05	%
Materia orgánica	0.5	%
Fósforo	1.3	mgkg ⁻¹
Potasio	101	mgkg ⁻¹
CIC	10.4	meq/100g
Ca ⁺²	8.78	meq/100g
Mg ⁺²	1.12	meq/100g
K ⁺	0.22	meq/100g
Na ⁺	0.29	meq/100g

FUENTE: Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes (LASPAF)

3.4.2. Agua

Para el riego de las plantas de espinaca se empleó agua proveniente de la localidad de Huachipa, el cual presentó un bajo nivel de conductividad eléctrica (0.82 dSm^{-1}), haciéndolo apto para el riego, además permitió a realizar la preparación de soluciones que generaron condiciones de salinidad y estrés hídrico. No se hizo uso del agua potable de la UNALM debido a su alta conductividad eléctrica (3.76 dSm^{-1}).

3.4.3. Enmiendas orgánicas

La caracterización de vermicompost y estiércol de *Tenebrio molitor*, empleadas como enmiendas orgánicas, se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3: Análisis de caracterización de enmiendas orgánicas utilizadas

Composición	Vermicompost	Estiércol de <i>Tenebrio molitor</i>
pH	6.95	6.31
C.E. (dSm^{-1})	9.89	19.3
Humedad %	55.39	44.24
Materia orgánica %	32.6	50.71
Nitrógeno %	1.79	2.97
Fósforo (P_2O_5) %	1.87	3.93
Potasio (K_2O) %	0.8	1.78
Calcio (CaO) %	5.5	7.98
Magnesio (MgO) %	1.74	2
Sodio %	0.15	0.29

FUENTE: Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes (LASPAF)

3.4.4. Microorganismo benéfico

Los inóculos del hongo antagonista *Trichoderma harzianum* empleado en el ensayo fueron producidos por la Clínica de Diagnóstico de la UNALM.

3.4.5. Material vegetal

Se emplearon semillas de espinaca (*Spinacea oleracea* cv. viroflay) de la empresa HORTUS.

3.4.6. Otros materiales

a. Fase de invernadero

- 84 macetas y platos de plástico con capacidad de 4 kg
- Malla Rachel al 50 % de sombra
- Balanza electrónica
- Tamiz de 2mm
- Pala
- Etiquetas
- Almaciguera

b. Fase de laboratorio

- Bolsas de papel kraft
- Balanza de precisión
- Bolsas ziploc
- Conductímetro
- Potenciómetro
- Latas de metal
- Guantes de latex
- Pipeta
- Balones Kjeldahl
- Horno
- Estufa
- Analizador de intercambio gaseoso IRGA CIRAS-3
- Cloruro de sodio
- Polietilenglicol 6000 (PEG-6000)

3.5. TRATAMIENTOS

El ensayo comprendió 21 tratamientos, empleando dos fuentes orgánicas (vermicompost y estiércol de *Tenebrio molitor*), un hongo antagonista (*Trichoderma harzianum*) y tres condiciones de estrés (hídrico, salino y control). Cada tratamiento constó de 4 repeticiones.

Tabla 4: Tratamientos asignados al ensayo

Tratamiento	Factor 1: Condición de estrés	Factor 2: Enmienda orgánica y/o contenido de <i>Trichoderma harzianum</i>
T1	Estrés salino	Control
T2	Estrés salino	<i>Tenebrio molitor</i>
T3	Estrés salino	Vermicompost
T4	Estrés salino	<i>Trichoderma harzianum</i>
T5	Estrés salino	<i>Tenebrio molitor</i> + <i>Trichoderma harzianum</i>
T6	Estrés salino	Vermicompost + <i>Trichoderma harzianum</i>
T7	Estrés salino	<i>Tenebrio molitor</i> + Vermicompost + <i>Trichoderma harzianum</i>
T8	Sin estrés	Control
T9	Sin estrés	<i>Tenebrio molitor</i>
T10	Sin estrés	Vermicompost
T11	Sin estrés	<i>Trichoderma harzianum</i>
T12	Sin estrés	<i>Tenebrio molitor</i> + <i>Trichoderma harzianum</i>
T13	Sin estrés	Vermicompost + <i>Trichoderma harzianum</i>
T14	Sin estrés	<i>Tenebrio molitor</i> + Vermicompost + <i>Trichoderma harzianum</i>
T15	Estrés hídrico	Control
T16	Estrés hídrico	<i>Tenebrio molitor</i>
T17	Estrés hídrico	Vermicompost
T18	Estrés hídrico	<i>Trichoderma harzianum</i>
T19	Estrés hídrico	<i>Tenebrio molitor</i> + <i>Trichoderma harzianum</i>
T20	Estrés hídrico	Vermicompost + <i>Trichoderma harzianum</i>
T21	Estrés hídrico	<i>Tenebrio molitor</i> + Vermicompost + <i>Trichoderma harzianum</i>

3.6. PROCEDIMIENTO

3.6.1. Colecta de suelo

El suelo extraído de los 15 primeros centímetros de la capa arable fue tamizado con una malla de 2mm de apertura, para así evitar la presencia de residuos y piedras. El suelo tamizado fue dividido y llenado en sacos de 50 kg, los cuales fueron llevados a esterilizar mediante autoclavado, para así evitar la presencia de malezas y patógenos viables que pudieran afectar al cultivo en maceta; así mismo la principal finalidad fue para observar el efecto exclusivo de *Trichoderma harzianum*, sin presencia de algún otro agente vivo. Posteriormente, se homogenizó el sustrato y se extrajo una muestra, la cual fue llevada al laboratorio para obtener su análisis de caracterización.

3.6.2. Preparación del sustrato y macetas

Cada maceta de 4 L de capacidad fue llenada con 3.5 kg del suelo extraído. Posteriormente, fueron ordenadas en las mesas, donde se etiquetaron y distribuyeron en función de los tratamientos y bloques. El abonamiento de las macetas con vermicompost y estiércol de *Tenebrio molitor* se realizaron dos semanas previas al trasplante, a la dosis del 2 % en peso del suelo, equivalente a 70 g/maceta.

3.6.3. Siembra de almácigos y trasplante

Se emplearon dos almacigueras, cada una de 72 celdas, las cuales fueron llenadas con sustrato comercial para germinar. Se colocó una semilla de espinaca por celda y se regó interdiariamente hasta mostrar buen desarrollo radicular y presentar su segunda hoja verdadera. Después de 2 semanas fueron trasplantadas a las macetas previamente abonadas.

3.6.4. Estrés hídrico y salino

Para inducir las condiciones de estrés hídrico y salino en el cultivo de espinaca, se empleó Polietilenglicol 6000 (PEG6000) y cloruro de sodio químicamente puro, respectivamente. Siendo determinada la cantidad necesaria y el potencial generado por cada uno, mediante el uso de la aplicación ‘GerminaQuant’.

La inducción al estrés fue progresiva, como se observa en la Tabla 5, de manera que la primera solución aplicada para ambas condiciones de estrés generó un potencial de -0.1MPa, e interdiariamente se fue aumentando las concentraciones hasta obtener un potencial de -0.5MPa. El estrés fue inducido 35 días después de la siembra, pues el crecimiento vegetativo previo a la madurez es considerado un momento crítico en el cultivo de espinaca.

Tabla 5: Dosis de Polietilenglicol 6000 y cloruro de sodio en las soluciones de riego

INDUCTOR	POTENCIAL				
	-0.1MPa	-0.2MPa	-0.3MPa	-0.4MPa	-0.5MPa
	Día 1-2	Día 3-4	Día 5-6	Día 7-8	Día 9-10
PEG 6000	78.49 g/l	119.57 g/l	151.40 g/l	178.34 g/l	202.12 g/l
NaCl	1.32 g/l	2.65 g/l	3.98 g/l	5.30 g/l	6.63 g/l

3.6.5. Aplicación de *Trichoderma harzianum*

La inoculación con *Trichoderma harzianum* se realizó en cuatro oportunidades. La primera se efectuó dos días previos al trasplante, mientras el cultivo se encontraba en almácigo. La siguiente aplicación se realizó dos semanas después y los dos restantes de igual forma, cada dos semanas, en pleno crecimiento vegetativo de la roseta. Cada inoculación se realizó con ayuda de una jeringa y tuvo un volumen de 5ml, representando cada 1 ml una concentración de 10^8 colonias del hongo *Trichoderma harzianum*.

3.6.6. Monitoreo y control de plagas

El monitoreo de plagas se realizó interdiariamente. Mientras el cultivo se encontraba en almácigo, se identificó la presencia del pulgón *Myzus persicae*, presente en el envés de las hojas cotiledóneas y verdaderas. Se observó además la presencia de *Agrotis sp*, el cual ocasionó la muerte en algunas plántulas. Sin embargo, al no presentar una alta población, el control se hizo de manera mecánica.

En maceta, se observó la presencia del lepidóptero *Spodoptera exigua*, siendo sus primeros estadios larvales los que ocasionaron daños en el envés de las hojas más desarrolladas por medio de raspados. Sus poblaciones no superaron el umbral de acción, motivo por el cual su control se hizo de forma mecánica. Así mismo, en la etapa de crecimiento vegetativo, el monitoreo de pulgones superó el umbral de acción, por lo cual se aplicó ACTARA® (Tiametoxam) para su control, a una dosis de 10g/20L.

3.6.7. Cosecha

La cosecha se llevó a cabo 80 días después de la siembra, cuando todas las plantas alcanzaron su madurez comercial, previo a la emisión del botón floral. Con ayuda de una tijera se cortó la parte aérea, que comprende hoja y peciolo, e inmediatamente se envasó en bolsas Kraft, debidamente etiquetada en base al tratamiento, para evitar su deshidratación y así obtener sus datos biométricos.

Para la obtención de las raíces, se vació el contenido de las macetas con la finalidad de quitar el exceso de suelo y así obtener las raíces completas sin dañarlas. Del mismo modo, fueron envasadas en bolsas Kraft para su posterior medición y pesado.

3.7. EVALUACIONES

3.7.1. Parámetros biométricos

Finalizado el periodo de crecimiento vegetativo y posterior a la cosecha se realizaron las distintas mediciones biométricas a las plantas, los cuales comprendieron:

- **Longitud de hojas y raíces (cm):** Con ayuda de una regla graduada se midieron ambas longitudes. Para la medición de las hojas, se seleccionó la hoja más desarrollada de cada planta y se midió desde la base del peciolo hasta el extremo final del limbo.
- **Peso fresco de hojas y raíces (g):** Ambas partes de las plantas cosechadas fueron pesadas por separado en una balanza de precisión, posteriormente se envasaron nuevamente en su bolsa Kraft respectiva.



Figura 1: Peso foliar fresco posterior a la cosecha

- **Contenido Relativo de Agua- CRA:** El estado hídrico de la planta de espinaca se determinó previo a la cosecha. Se inició colectando una hoja por planta, semejantes en tamaño, y se pesaron con una balanza de precisión para obtener su peso fresco (PF). Posteriormente, cada hoja fue sumergida en un vaso con agua destilada por 24 horas, tiempo en el cual las hojas adquirieron un estado turgente y se procedió a

pesar, consiguiendo así su peso turgente (PT). Finalmente, las hojas turgentes fueron llevadas a secar a estufa por 24 horas a 70°C y se pesaron obteniendo así su peso seco (PS).

Los valores de pesos obtenidos por tratamiento fueron reemplazados en la fórmula para conseguir su valor de CRA:

$$\text{CRA (\%)} = \frac{(PF-PS)}{(PT-PS)} \times 100$$



Figura 2: Hojas frescas sumergidas en agua destilada por 24 horas para obtener peso turgente



Figura 3: Hojas secas después de 24 horas en estufa a 70°

3.7.2. Parámetros químicos

- **C.E. (dSm⁻¹) del suelo:** Posterior a la inducción de estrés, con ayuda de un sacabocado, se tomaron porciones de suelo de cada maceta y se dejaron secar al sol por un día. De cada muestra se pesó y colocó 50 g en un vaso, al cual se le fue

agregando gradualmente agua destilada hasta obtener una pasta saturada. La pasta obtenida fue filtrada hasta para su extracto líquido, del cual se procedió a medir su conductividad eléctrica (dSm^{-1}) con ayuda del equipo Consort C860®.

- **Contenido nutricional:** Se evaluó contenido nutricional foliar de macronutrientes y micronutrientes como nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro y zinc. El proceso de evaluación de contenido partió por secar las hojas de cada tratamiento en estufa a 70° por 48 horas, obteniendo material vegetal seco.

El contenido de nitrógeno se determinó en las instalaciones del Laboratorio e Invernadero de Fertilidad del Suelo “Sven Villagarcía Hermoza”, por medio del método Kjeldahl. Este consistió en tres procesos: digestión, destilación y titulación. El proceso de digestión comenzó colocando una muestra de 0.1g del material vegetal seco molido en un balón tipo micro Kjeldahl (volumen de 100 ml), al cual se le añadió 3ml de H_2SO_4 concentrado y un 1g de catalizador (0.9g K_2SO_4 y 0.1g CuSO_4). Este fue llevado a hornilla con campana de extracción, para evitar la inhalación del humo del H_2SO_4 , hasta presenciar el cambio de color a verde turquesa. Una vez obtenido el color indicado se dejó reposar la muestra hasta bajar la temperatura y se añadió 15ml de agua destilada.



Figura 4: Balón micro Kjeldahl con muestra vegetal, catalizador y H_2SO_4 antes, durante y después de la digestión

Terminado el proceso de digestión se pasó al proceso de destilación. En esta etapa el balón micro Kjeldahl con la muestra digerida se colocó en el destilador, con el cual se fue añadiendo progresivamente NaOH al 50 % hasta observar una reacción de

color marrón oscura en el balón. Al mismo tiempo, en un matraz se colocó 20ml de ácido bórico H_3BO_3 al 2 %, en el cual se recibió el destilado, dando como resultado un cambio de color de morado a verde claro, a partir del cambio de color, se dejó continuar la destilación por tres minutos más.



Figura 5: Destilación de muestra digerida con NaOH al 50 %

El contenido final del matraz se llevó a titular con H_2SO_4 (0.02N) hasta obtener el cambio de color de verde claro a fucsia suave. Se anotó el gasto de H_2SO_4 y este fue introducido en la siguiente fórmula para determinar el % de nitrógeno:

$$\%N = \frac{G \times 0.02 \times 0.014 \times 100}{0.1}$$

G: Gasto de H_2SO_4 (0.02N) en ml

Finalmente, los valores de fósforo, potasio, calcio, magnesio, sodio, hierro y zinc se llevaron a determinar en el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes (LASPAF), al cual se le proporcionó las muestras foliares previamente pasadas por el proceso de digestión húmeda. El cual consistió en atacar con ácido nítrico perclórico (5:1) al material vegetal y someterlo a calor para obtener una oxidación completa. Este se realizó de igual forma en las instalaciones del Laboratorio e Invernadero de Fertilidad del Suelo “Sven Villagarcía Hermoza”



Figura 6: Proceso de digestión húmeda

3.7.3. Parámetros fisiológicos

La medición de parámetros fisiológicos de conductancia estomática (G_s) y tasa fotosintética (A) se realizó mediante el uso del equipo CIRAS 3 del departamento de Horticultura, el cual posee un sistema de medición práctico y preciso, sin dañar ni separar el tejido de la planta. Para su función requiere trabajar con CO_2 del ambiente, por lo que se ubicó en una zona ventilada y sin tránsito de personas. El uso del equipo se realizó de 10:30 a.m. a 2:30 p.m. Para la medición se seleccionó una hoja por planta, siendo estas uniformes en tamaño y buen estado.



Figura 7: Uso del equipo CIRAS-3 para medir parámetros fisiológicos en hojas de espinaca

3.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

3.8.1. Diseño experimental

Las condiciones y cantidad de variables aplicadas en el ensayo establecieron conveniente emplear un diseño de parcelas divididas, en bloques al azar. Se optó por el empleo de este diseño ya que la variable condición de estrés resultó ser un factor difícil de cambiar (parcela), pues su ejecución aleatoria resultaba poco práctica de aplicar. Mientras que las variables de enmienda orgánica y *Trichoderma harzianum*, se consideraron factores fáciles de cambiar (subparcelas). El modelo lineal del diseño de parcelas divididas se presenta a continuación:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \gamma_k + \delta_{ik} + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk};$$
$$i=1,2,3; \quad j= 1,2,3,4,5,6,7 \quad k= 1,2,3,4$$

Y_{ijk} : Respuesta observada con la i -ésima condición de estrés, j -ésima enmienda orgánica y k -ésimo bloque.

μ : Media general

τ_i : Efecto producido por la i -ésima condición de estrés

β_j : Efecto de la j -ésima enmienda orgánica

γ_k : Efecto del k -ésimo bloque

δ_{ik} : Error generado por la i -ésima condición de estrés ubicado en el k -ésimo bloque

$(\tau\beta)_{ij}$: Efecto de la interacción de la i -ésima condición de estrés con la j -ésima enmienda orgánica.

ε_{ijk} : Efecto del error experimental bajo la i -ésima condición de estrés, con la j -ésima enmienda orgánica en el k -ésimo bloque.

Nota: “Enmienda orgánica” comprende al Estiércol de *Tenebrio molitor*, Vermicompost y/o *Trichoderma harzianum*

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. LONGITUD FOLIAR

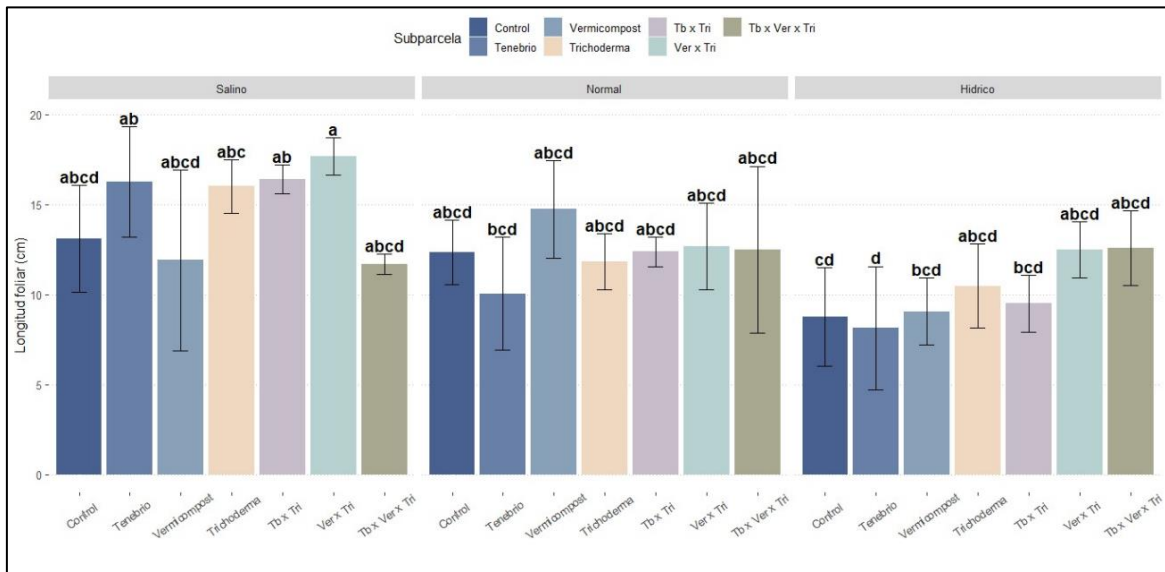


Figura 8: Longitud foliar promedio obtenido por efecto de los tratamientos de enmiendas y condición de estrés

Para todas las condiciones de estrés, los resultados de análisis de varianza muestran diferencias significativas (Anexo 1) para el parámetro de longitud foliar, siendo las condiciones de estrés salino el que presenta los valores de longitud más altos (Figura 8), a comparación de los valores obtenidos bajo la condición de estrés hídrico, los cuales presentaron los más bajos independientemente de la enmienda empleada. Esta diferencia se puede observar específicamente en el tratamiento con base a *Tenebrio molitor* presentando una longitud foliar de 8.1 cm bajo condiciones de estrés hídrico, comparado con los 16.3 cm de longitud foliar para condiciones de estrés salino.

Diversos autores califican al estrés hídrico como aquella condición de estrés que afecta de manera directa a las características biométricas como altura, área foliar, peso, etc. (Abad Farooqi *et al.*, 1994; Engelbrecht, 2001; Khurana y Singh, 2004; Singh y Singh, 2006). Sin embargo, dentro de esta condición, fueron los tratamientos *Vermicompost x T. harzianum* y *Vermicompost x T. molitor x T. harzianum* aquellos que pudieron mitigar el efecto negativo, pues mostraron valores de 12.5 cm y 12.6 cm, respectivamente; similares a los generados en una condición sin estrés.

Teniendo en cuenta el porcentaje de humedad inicial presente en el *Vermicompost* (55.39 %) y *T. molitor* (44.24 %), Babla *et al.* (2022) mencionan que dicho valor en las enmiendas orgánicas, incluyendo a los residuos de cultivos, estiércol y biocarbón; juegan un papel crucial en la biosíntesis de celulosa bacteriana, la cual puede comportarse como depósitos de agua en miniatura y de nutrientes. En este sentido, son las características bioquímicas de los tratamientos mencionados aquellos que habrían reducido de cierta forma los efectos negativos del estrés hídrico.

Rodríguez *et al.* (2019) consideran al estrés salino como aquella condición que genera los mayores daños al afectar y limitar el crecimiento, desarrollo y rendimiento de los cultivos, debido a la presencia de cloruro de sodio en niveles que resultan tóxicos para las plantas. Sin embargo, y a pesar de ello, fue esta condición aquella que presentó valores superiores de longitud foliar, a comparación de la condición sin estrés.

Se ha registrado que algunos tratamientos con *Trichoderma spp.* mitigaron los efectos de estrés generados por NaCl, esto gracias a su mecanismo de producción de enzimas hidrolíticas y acumulación de osmoreguladores como prolina, viéndose reflejado en un aumento significativo de variables biométricas como longitud, peso y área foliar en cultivos como maíz, trigo, pepino, etc. (Martínez, 2020).

4.2. PESO FRESCO FOLIAR

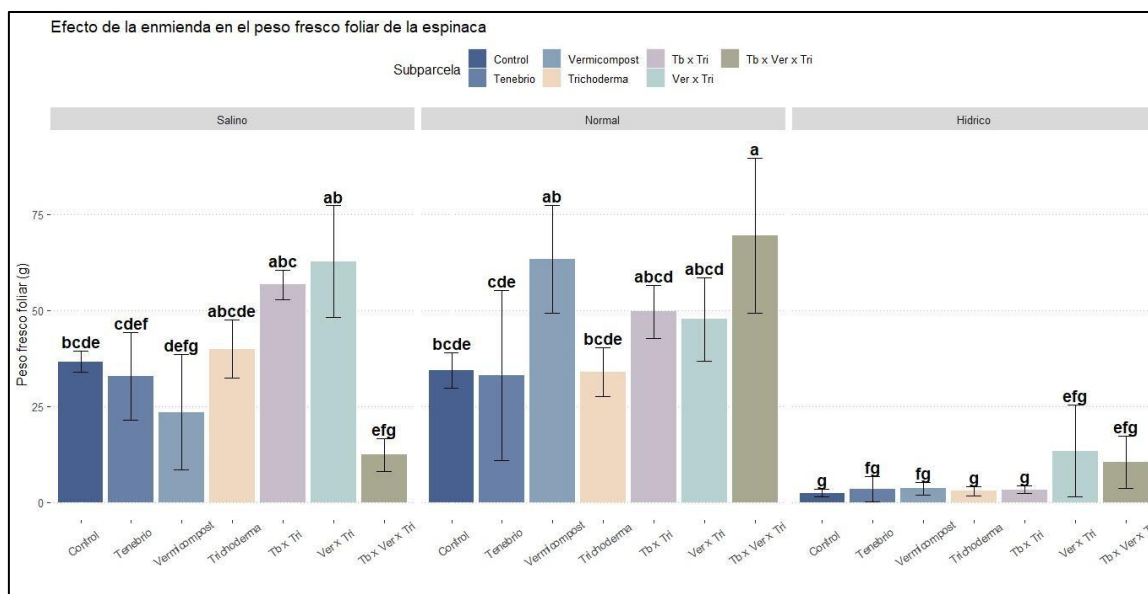


Figura 9: Peso fresco foliar obtenido por efecto de los tratamientos de enmiendas y condición de estrés

En base a los resultados de análisis de varianza del factor peso fresco foliar (Anexo 2), se pudo observar diferencias significativas entre las condiciones de estrés (parcela), entre las enmiendas orgánicas (subparcela) y entre la interacción de estas (parcela x subparcela). De esta manera, se registra que la condición de estrés hídrica fue aquella que presentó los valores más bajos de peso foliar en todos sus tratamientos, representando así un nulo efecto de los mismos en la mitigación de estrés; los cuales a la par no presentaron diferencias estadísticas significativas entre sí.

Dentro de la condición de estrés salina se observaron diferencias estadísticas significativas entre sus tratamientos, reflejándose en el valor más alto y bajo con los tratamientos a base de *Vermicompost x T. harzianum* (62.7g) y *Vermicompost x T. molitor x T. harzianum* (12.4g), respectivamente. Desde el punto de vista de mitigación, la mayoría de tratamientos mostraron pesos similares, sin diferencias significativas, a las obtenidas en la condición sin estrés, a excepción de los tratamientos con *Vermicompost* y *Vermicompost x T. molitor x T. harzianum*.

De manera general, los tratamientos que incluyen interacciones con *Trichoderma harzianum* presentaron mayores valores en peso fresco de las hojas de espinaca, pudiendo atribuirse a este hongo una buena compatibilidad con las enmiendas orgánicas. Sin embargo, la interacción de [T. molitor] y [Vermicompost] con *T. harzianum* no produjo los mismos resultados, pues se mostró valores muy bajos de peso fresco.

Singh *et al.* (2012), informaron que, en presencia de Vermicompost, las plantas inoculadas con *Glomus intraradices* o *Bacillus megaterium* aumentaron el rendimiento del cultivo, mientras que las inoculadas con *Trichoderma harzianum* disminuyeron el mismo. Esto sugiere que los estudios que se realicen con este tipo de enmiendas sean más exhaustivos con el fin de determinar los factores que realmente producen estos efectos en las plantas (Sivan y Chet, 1989).

4.3. CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA DEL SUELO

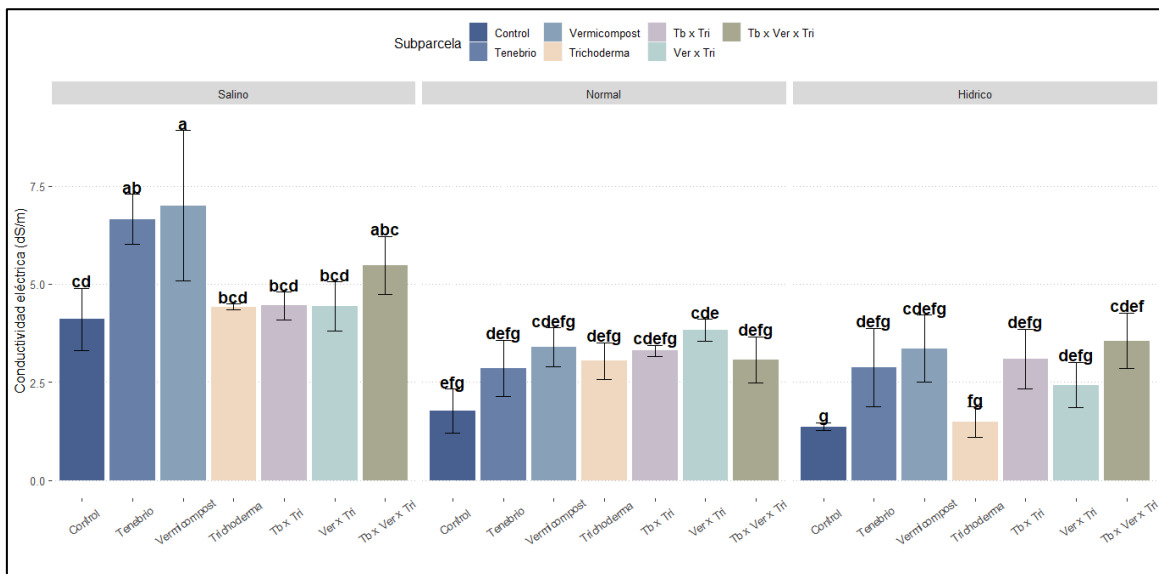


Figura 10: Conductividad eléctrica del suelo obtenido por efecto de los tratamientos de enmiendas y condición de estrés

El análisis de varianza del factor conductividad eléctrica del suelo (Anexo 3) mostró que existen diferencias significativas entre las condiciones de estrés (parcela), las enmiendas orgánicas (subparcela) y entre la interacción de estas (parcela x subparcela).

Los niveles de C.E. registrados en la Figura 10 muestran la influencia de las enmiendas y condiciones de estrés sobre dicho factor. En todas las condiciones con y sin estrés se observa que ante la incorporación de las enmiendas como Vermicompost y Estiércol de *Tenebrio molitor*, la conductividad fue mayor, debido a que estas fuentes poseen una propia C.E. con valores de 9.89 dSm⁻¹ y 19.3 dSm⁻¹, respectivamente. Y fue la condición de estrés salina aquella que presentó los valores más altos de salinidad, por el mismo hecho que para inducir esta condición se incorporó NaCl en su agua de riego.

Mass y Hoffman (1977) clasifican a la espinaca como un cultivo “moderadamente sensible a la salinidad” y determinan cómo C.E. límite para obtener su mayor rendimiento una conductividad de 2 dSm⁻¹. Sin embargo, otros autores como Ferreira *et al.* (2018), presentan el valor en C.E. de 4.5 dSm⁻¹ como umbral de salinidad para dicho cultivo e incluso mencionan que a 9 dSm⁻¹ el cultivo de espinaca aún puede mantener su tasa de crecimiento, composición mineral y su capacidad antioxidante.

4.4. CONTENIDO RELATIVO DE AGUA (CRA)

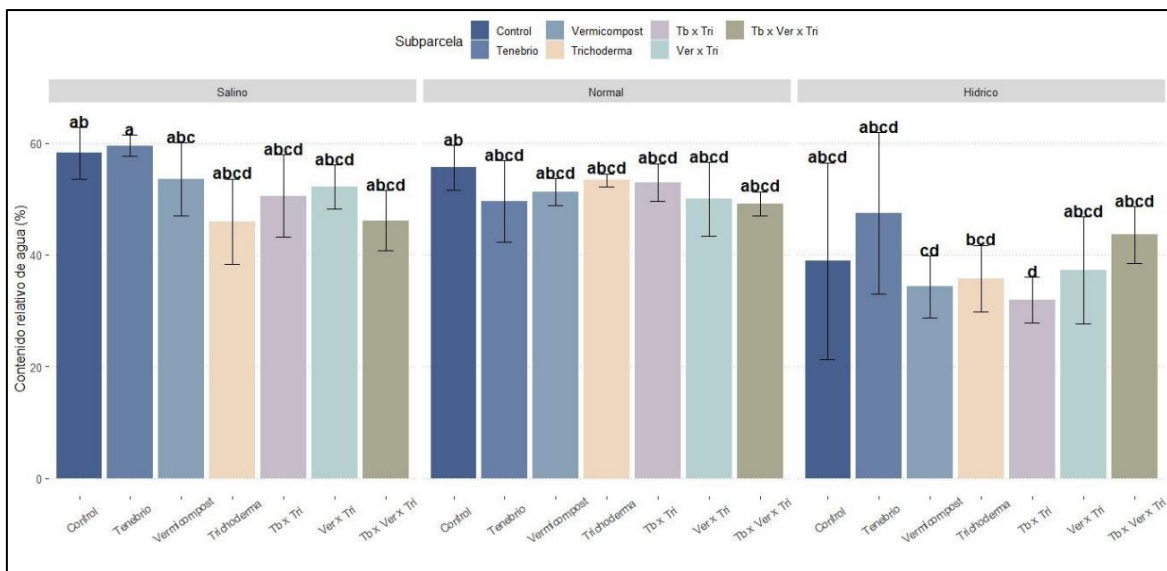


Figura 11: Contenido Relativo de Agua (CRA) foliar obtenido por efecto de los tratamientos de enmiendas y condición de estrés

El Análisis de Varianza del factor Contenido Relativo de Agua (Anexo 4), muestra la existencia de diferencias significativas entre las condiciones de estrés (parcela), más no a

nivel de tratamientos por enmiendas (subparcelas). Se resalta de manera general la influencia que produjo la condición de estrés hídrico en el nivel de contenido de agua en las plantas de espinaca, al presentar los niveles más bajos. Sin embargo, a pesar de presentar numéricamente los porcentajes más bajos, estos no presentaron diferencias significativas con los obtenidos en la condición sin estrés.

Estudios realizados por Dalmas y Sanfilippo (2012), indican que la resistencia al estrés hídrico está relacionado a la capacidad de la planta de regular el contenido de agua o el potencial hídrico foliar durante el periodo de estrés. Para el caso de este estudio en espinaca, de manera general, la influencia que produjo la condición de estrés hídrico en el nivel de contenido de agua en las hojas de espinaca, a comparación de las demás condiciones, es menor sin representar un problema crítico; lo que indicaría una cierta tolerancia por parte de esta variedad Viroflay.

4.5. CONDUCTANCIA ESTOMÁTICA (Gs)

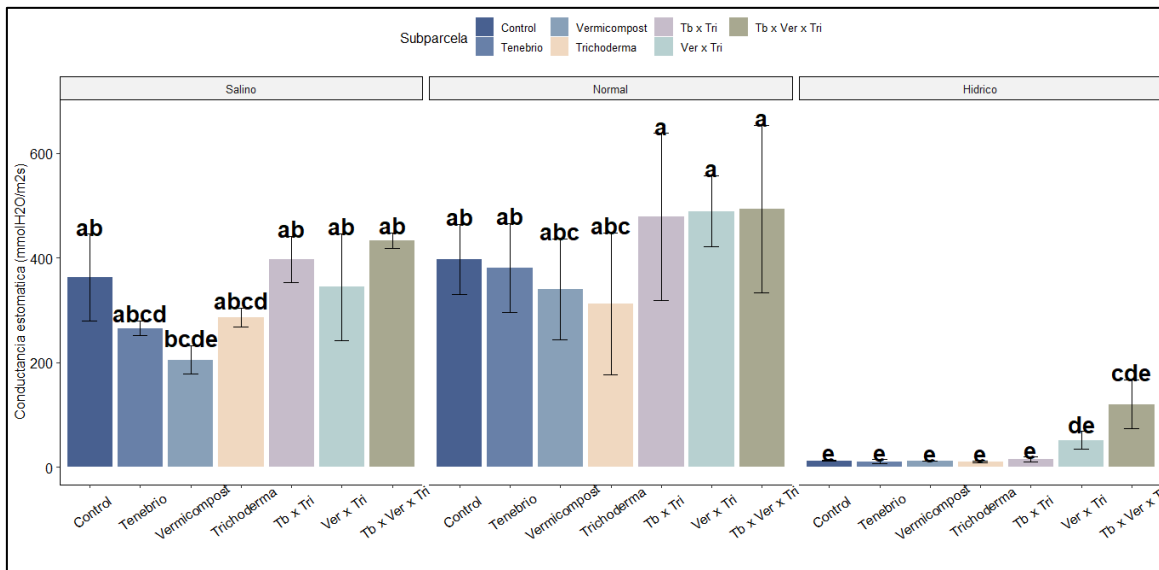


Figura 12: Conductancia estomática obtenida por efecto de los tratamientos de enmiendas y condición de estrés

El Análisis de varianza para el factor Conductancia Estomática (Gs) muestra diferencias significativas a nivel de condición de estrés (parcelas) y entre los tratamientos de enmiendas (subparcelas).

Nobel (2009), considera en los cultivos de tomate, remolacha, espinaca y guisante que la conductancia estomática debe oscilar entre 200- 800 mmH₂O/m²s cuando las estomas se encuentran abiertos y alrededor de 4 mmH₂O/m²s cuando estos se encuentran completamente cerrados.

En el presente ensayo los tratamientos bajo estrés salino y sin estrés mantuvieron valores dentro del rango ideal mencionado anteriormente; a comparación de los tratamientos sometidos a estrés hídrico, los cuales presentaron valores muy por debajo de lo establecido alterando el flujo normal de vapor de agua y CO₂, con un valor mínimo de 10.57mmol H₂O/m²s y un máximo de 120.2mmol H₂O/m²s, correspondiente a los tratamientos con *Trichoderma harzianum* y *Vermicompost x T. molitor x T. harzianum*, respectivamente.

La condición de estrés salino no presenta diferencias significativas con los valores de Gs obtenidos en la condición sin estrés, aunque numéricamente sea menor. A pesar de que esta condición presenta valores de conductividad eléctrica por encima del umbral de resistencia reportada para la espinaca (2 dSm⁻¹), con los valores de Gs demuestra nuevamente su moderada tolerancia a la salinidad por parte de esta variedad.

4.6. TASA FOTOSINTÉTICA (A)

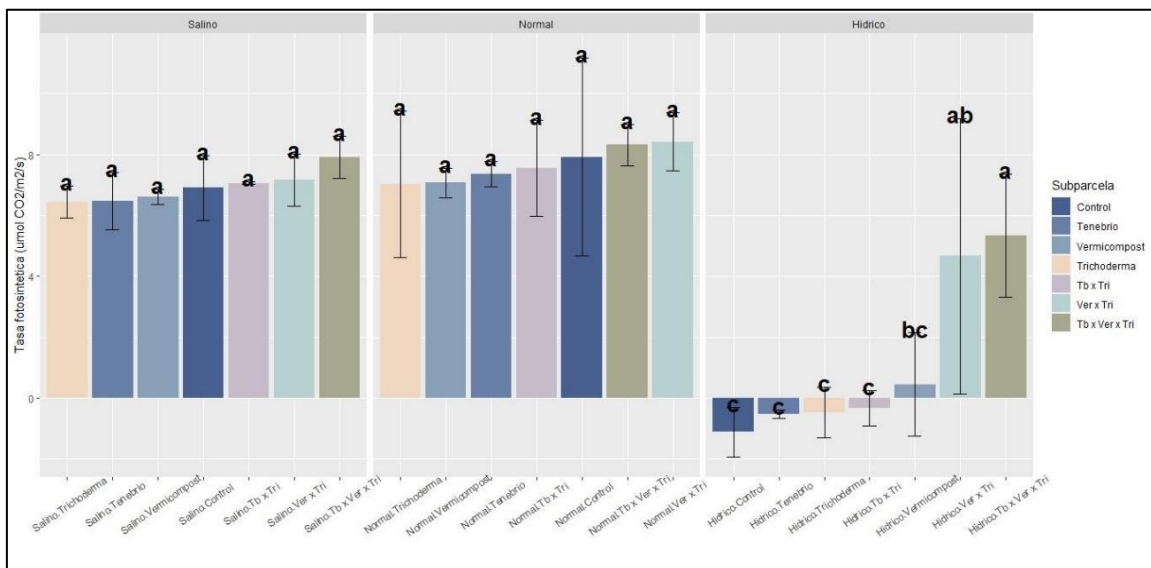


Figura 13: Tasa fotosintética obtenida por efecto de los tratamientos de enmiendas y condición de estrés

En base al Análisis de Varianza realizado para el factor Tasa Fotosintética (Anexo 6), se mostró la existencia de diferencias significativas entre las condiciones de estrés (parcela), las enmiendas orgánicas (subparcela) y entre la interacción de estas (parcela x subparcela). En la Figura 13 se puede observar que la condición de estrés hídrico afectó significativamente los niveles de tasa fotosintética de la espinaca. Sin embargo, dentro del mismo, se evidenció el efecto de los tratamientos a base de *Vermicompost x T. harzianum* y *Vermicompost x T. molitor x T. harzianum*, los cuales presentaron valores estadísticamente semejantes a los obtenidos en una condición sin estrés, siendo estos de 4.67 y 5.34 $\mu\text{molCO}_2/\text{m}^2\text{s}$ respectivamente.

Según Cornic *et al.* (1992), la limitación de Gs es la principal causa de la disminución de la fotosíntesis en condiciones de estrés hídrico y como se puede observar en la Gráfico 5, los valores para la Gs en condiciones de estrés hídrico son muy bajos en todos los tratamientos, sin embargo, se mostró un aumento de la Gs para los tratamientos anteriormente mencionados con base a *Vermicompost x T. harzianum* y *Vermicompost x T. molitor x T. harzianum*, reflejándose positivamente a su vez en los niveles de Tasa Fotosintética (A), asumiendo así su efecto como mitigadores bajo condiciones de estrés hídrico. Y además se puede asumir cierta correlación positiva entre la Gs y la A,

Según Fereres, (1984) y Turner (1986) cuando se presentan situaciones de estrés por sequía, las especies vegetales responden a está paralizando el crecimiento, la expansión foliar, el desarrollo de la parte aérea y la intercepción de la radiación solar disminuyendo la actividad fotosintética de la planta.

4.7. CONTENIDO FOLIAR DE MACRONUTRIENTES PRIMARIOS

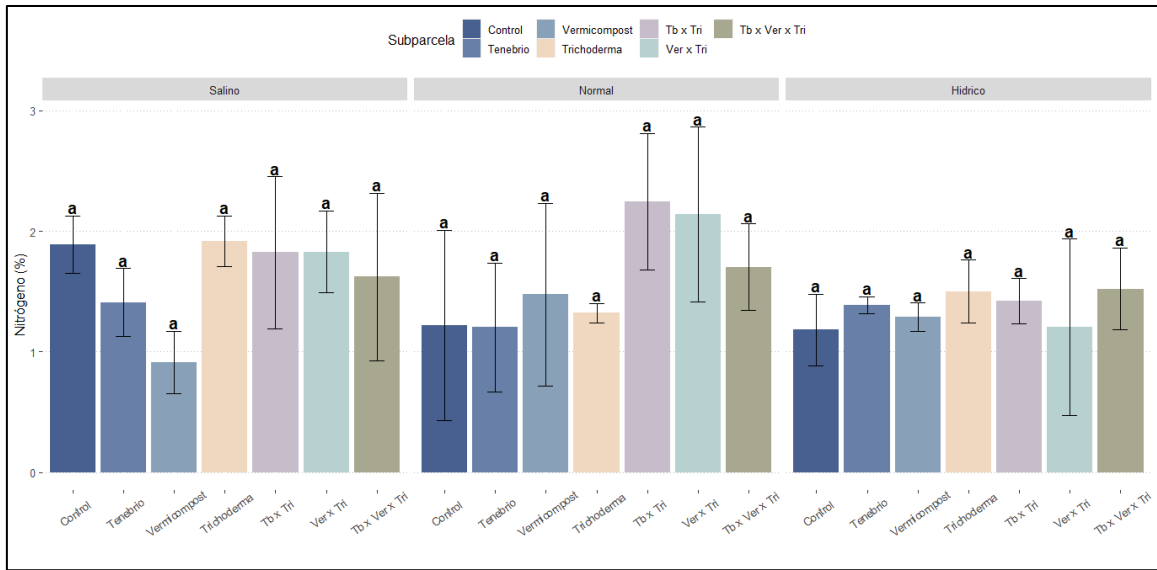


Figura 14: Contenido de nitrógeno foliar obtenido por el uso de enmiendas orgánicas bajo distintas condiciones de estrés

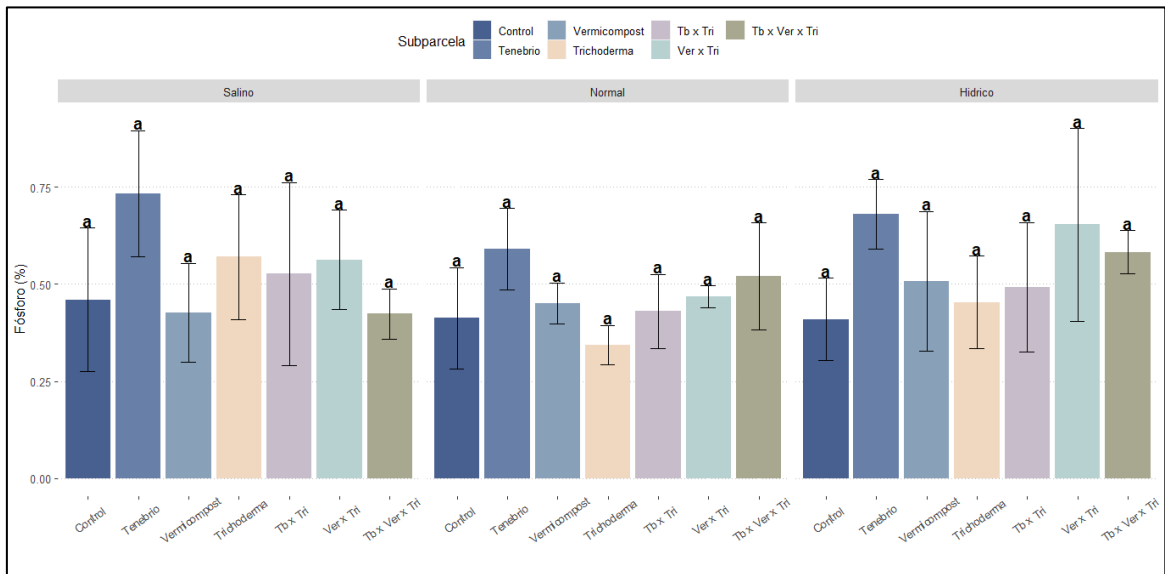


Figura 15: Contenido de fósforo foliar obtenido por el uso de enmiendas orgánicas bajo distintas condiciones de estrés

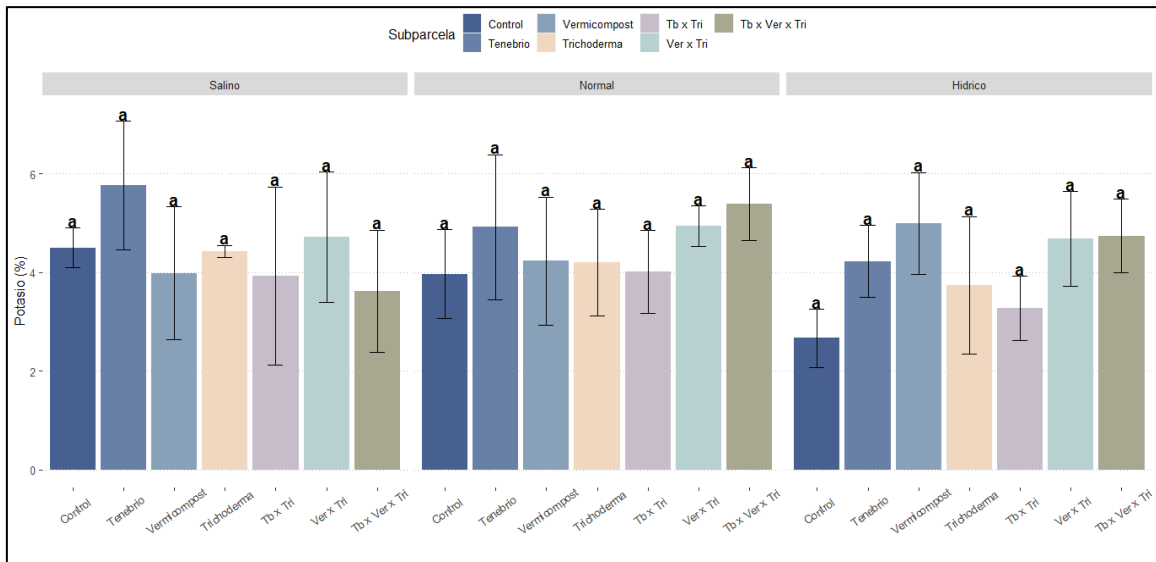


Figura 16: Contenido de potasio foliar obtenido por el uso de enmiendas orgánicas bajo distintas condiciones de estrés

El contenido de los macronutrientes nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) en las hojas de espinaca (Figura 14, 15 y 16) no muestran diferencias significativas por efecto de las condiciones de estrés (parcela), ni por efecto de las enmiendas incorporadas (subparcelas) (Anexo 7, 8 y 9).

Aunque no se presentan diferencias relevantes, bajo la condición sin estrés, los niveles de nitrógeno con los tratamientos a base de *T. molitor* x *T. harzianum* y *Vermicompost* x *T. harzianum* arrojaron un aumento en el contenido de N foliar en las plantas de espinaca, pudiendo deberse a una posible interacción de estas enmiendas en el suelo.

Tomando como referencia el análisis composicional de las enmiendas empleadas, tanto la fuente de *T. molitor* como Vermicompost contenían inicialmente un porcentaje de nitrógeno de 2.97 % y 1.79 %, respectivamente, representando así una fuente importante de este elemento, aumentando el contenido de N foliar. Este aporte se vio beneficiado en presencia de *T. harzianum*, pues de manera individual no se observó el mismo efecto.

Según Sharp (2013) y Bittelli *et al.* (2001), la quitina de la cual se compone el estiércol de *Tenebrio molitor* constituye un buen aporte de N para las plantas y a su vez, para promover el desarrollo de los microorganismos como *Paenibacillus* sp. y *Bacillus* sp. que se

encuentran presentes en el estiércol.

La Figura 15 nos muestra el contenido de fósforo foliar y si bien no existen diferencias significativas a nivel de parcelas y subparcelas (Anexo 8) el tratamiento a base de *T. molitor* en diferentes condiciones de estrés, muestra niveles superiores de dicho elemento, demostrando así que esta enmienda por sí sola aporta un mayor porcentaje de fósforo y favorece su disponibilidad para las plantas. Cabe mencionar que dicha enmienda presenta un contenido inicial de 3.93 % en comparación a la fuente de Vermicompost, el cual contiene 1.87 % (Tabla 3).

Finalmente, en la Figura 16 no se presentan diferencias estadísticas en los niveles de contenido de K, demostrando que el efecto de las enmiendas y de las condiciones de estrés no influenciaron en su contenido.

4.8. CONTENIDO FOLIAR DE MACRONUTRIENTES SECUNDARIOS

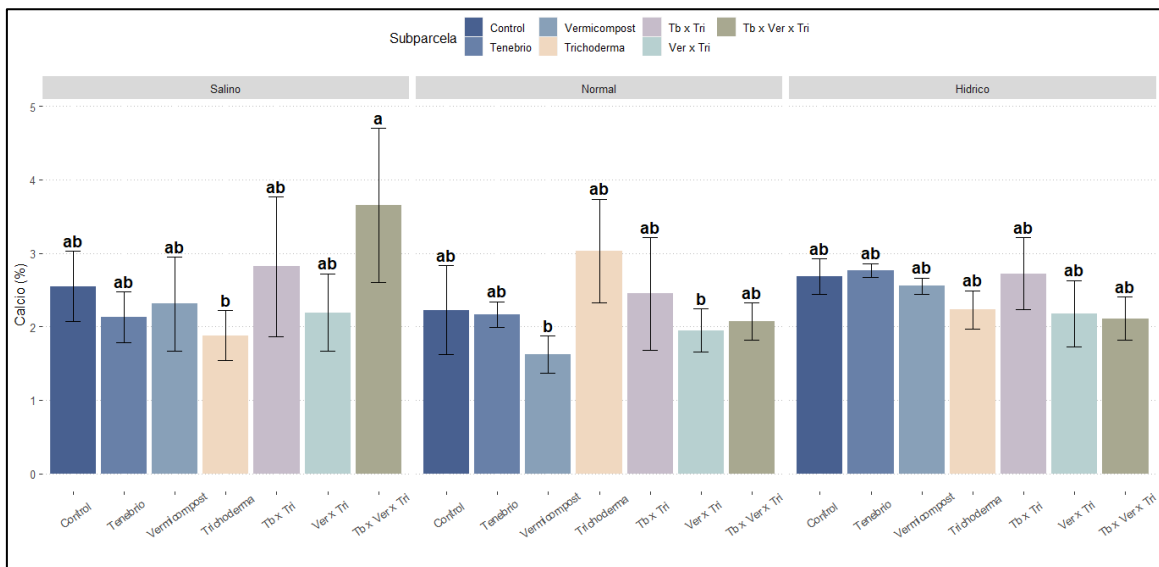


Figura 17: Contenido de calcio foliar obtenido por el uso de enmiendas orgánicas bajo distintas condiciones de estrés

La Gráfico 10 muestra la relación del contenido de calcio (Ca) en las hojas de la planta de espinaca a diferentes condiciones de estrés y enmiendas. En la Figura 17 se puede observar que las condiciones de estrés no han ejercido un cambio significativo en el contenido de Ca

dentro de la planta; sin embargo, existen diferencias significativas entre los tratamientos de distintas enmiendas (subparcelas) (Anexo 10), pudiendo observarse específicamente en la condición de estrés salino.

El calcio es responsable de la regulación de muchos procesos fisiológicos, procesos que involucran tanto en el crecimiento de la planta como la respuesta de esta al estrés ambiental (Hu & Schmidhalter, 2005). La salinidad es un factor muy importante con respecto al contenido de Ca en las plantas y su disponibilidad en el suelo, principalmente, en aquellos suelos que poseen altas concentraciones de Na. El exceso de Na^+ desplaza fácilmente al Ca^{2+} presente en el complejo de cambio, disminuyendo la disponibilidad de este elemento para la planta en condiciones de salinidad (Cramer *et al.*, 1988; Cramer, 2002).

En este sentido, se esperaría que el Ca presente en la Gráfico 10 fuera mucho menor que en las demás condiciones, pero este se mantuvo para todos los tratamientos e incluso fue más alto para el tratamiento con base a *Vermicompost x T. molitor x T. harzianum* pudiéndose atribuir a este tratamiento un efecto sinérgico con respecto a la absorción de calcio en condiciones de estrés salino.

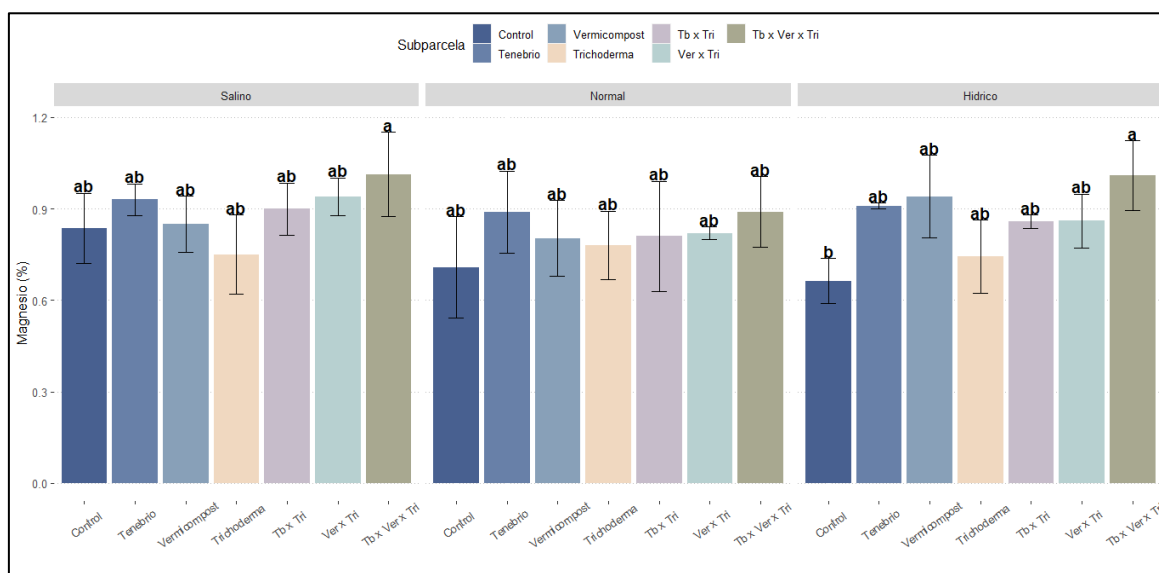


Figura 18: Contenido de magnesio foliar obtenido por el uso de enmiendas orgánicas bajo distintas condiciones de estrés

El análisis de varianza para el contenido de magnesio (Anexo 11) muestra que no existen

diferencias significativas para las distintas condiciones de estrés (parcelas), sin embargo, entre las enmiendas (subparcelas) si se pudo observar diferencias significativas para la condición de estrés hídrico, puntualmente entre los tratamientos con Vermicompost \times *T. molitor* \times *T. harzianum* y el Control, representando los valores más altos (1.01 %) y bajos (0.66 %) dentro de dicha condición, respectivamente.

4.9. CONTENIDO FOLIAR DE MICRONUTRIENTES

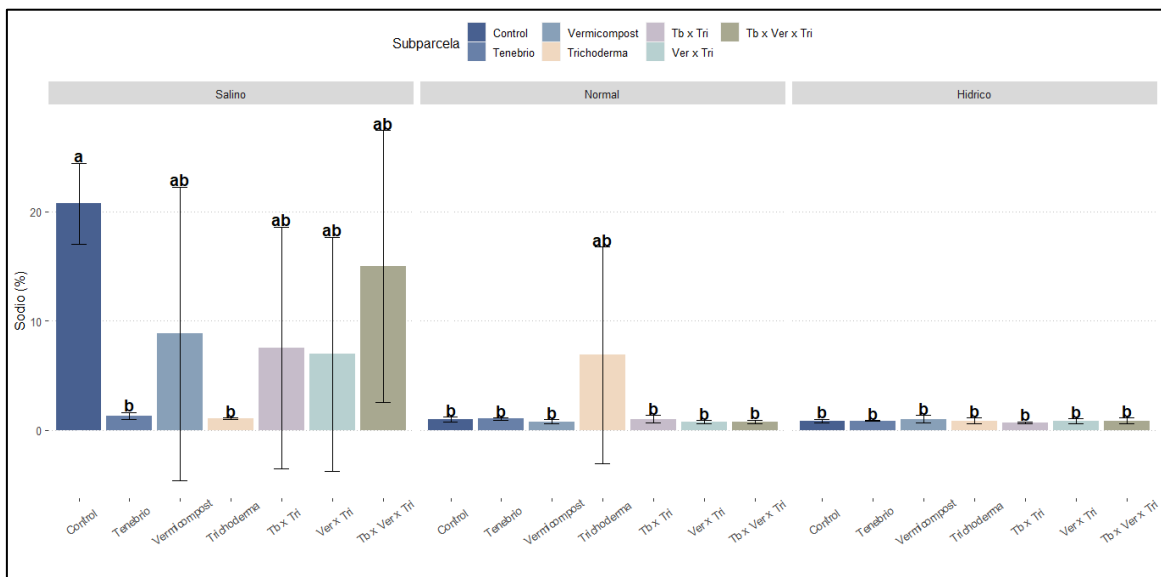


Figura 19: Contenido de sodio foliar obtenido por el uso de enmiendas orgánicas bajo distintas condiciones de estrés

Las diferencias se evidencian entre las condiciones de estrés y por influencia de las enmiendas. En todos los tratamientos dentro de la condición de estrés salino, se puede observar que el sodio (Na) aumenta su concentración, a excepción del tratamiento a base de estiércol de *T. molitor* que reduce fuertemente la asimilación de este elemento.

El Na está presente en la mayoría de los suelos utilizados para la agricultura. En concentraciones altas, el Na puede volverse un elemento tóxico para la planta, su excesiva absorción desencadena un desequilibrio iónico haciendo que el Na desplace al Ca de las membranas celulares modificando la absorción de nutrientes como el K (Azcón y Talón, 2000).

Lo mencionado anteriormente se relaciona con el contenido de K obtenido (Gráfico 9) con el tratamiento a base de *T. molitor*, observándose que al reducir la cantidad de Na absorbido, mejora la absorción y el contenido de K para condiciones de estrés salino. Sin embargo, para el tratamiento con base a [*T. harzianum*] no ocurre lo mismo pese a que hay un efecto que reduce la absorción de Na por parte de la planta por lo que este resultado puede deberse a otros factores no considerados para este apartado.

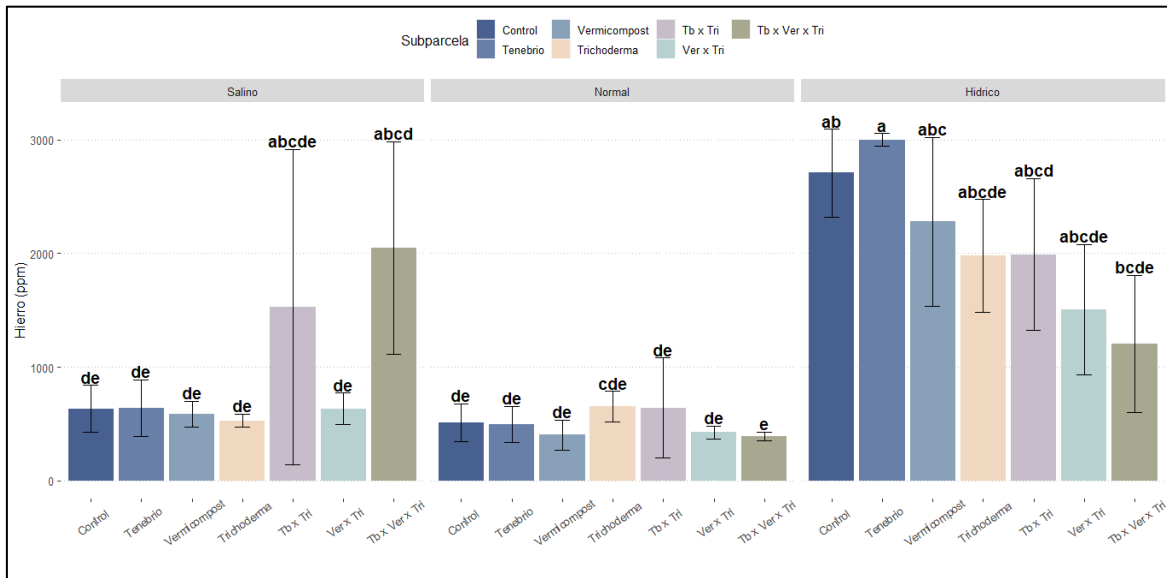


Figura 20: Contenido de hierro foliar obtenido por el uso de enmiendas orgánicas bajo distintas condiciones de estrés

En la Figura 20 se puede evidenciar claramente que el contenido de hierro (Fe) aumentó de manera drástica y significativa para las condiciones de estrés hídrico; sin embargo, se puede observar que, en condiciones de estrés salino, los tratamientos a base de *T. molitor* x *T. harzianum* y *Vermicompost* x *T. molitor* x *T. harzianum* aumentaron la absorción de hierro en las hojas de la planta.

El hierro es un microelemento presente en casi todos los suelos agrícolas. Este elemento puede o no estar disponible para las plantas dependiendo de las condiciones óxido-reductoras presentes. Para que el hierro esté en su forma más soluble y se vuelva disponible para la planta, este debe encontrarse en condiciones reductoras, transformando al hierro Fe^{3+} a Fe^{2+} , forma en la que se vuelve muy soluble al agua.

El Fe^{3+} es la forma más oxidada de este elemento siendo insoluble al agua a pH neutro. Sin embargo, el Fe^3 puede ser asimilado por la planta al quelatarse con moléculas solubles (agentes quelantes) volviendo al Fe^{3+} un complejo soluble que puede ser absorbido por la planta. Otro mecanismo para absorber Fe^{3+} es por medio de la acidificación del suelo. La planta acidifica el suelo a través de la activación de bombas de protones presentes en los tejidos de la raíz volviendo disponible al Fe^{3+} por la diferencia de la gradiente de protones que se produce entre el suelo y el citoplasma de las células de la raíz (Azcón y Talón, 2000). Para este estudio, el aumento de la absorción de hierro se produjo principalmente por la manipulación de las condiciones de estrés del suelo. Según Sikurajapathy *et al.* (1983), el potencial hídrico del suelo puede ser manipulado con el uso de soluciones de concentración y efecto conocidas pero el más reconocido por la comunidad científica ha sido el Polietilenglicol (PEG). La principal ventaja de (PEG) es que permite controlar con precisión el potencial hídrico del suelo. Sin embargo, el PEG para estudios prolongados, en ensayos de tolerancia a estrés hídrico, genera problemas de toxicidad y baja difusión de oxígeno (Lawlor, 1970; Mexal *et al.*, 1975), siendo esta última, la razón por la cual el aumento de contenido de hierro en la planta aumentó considerablemente.

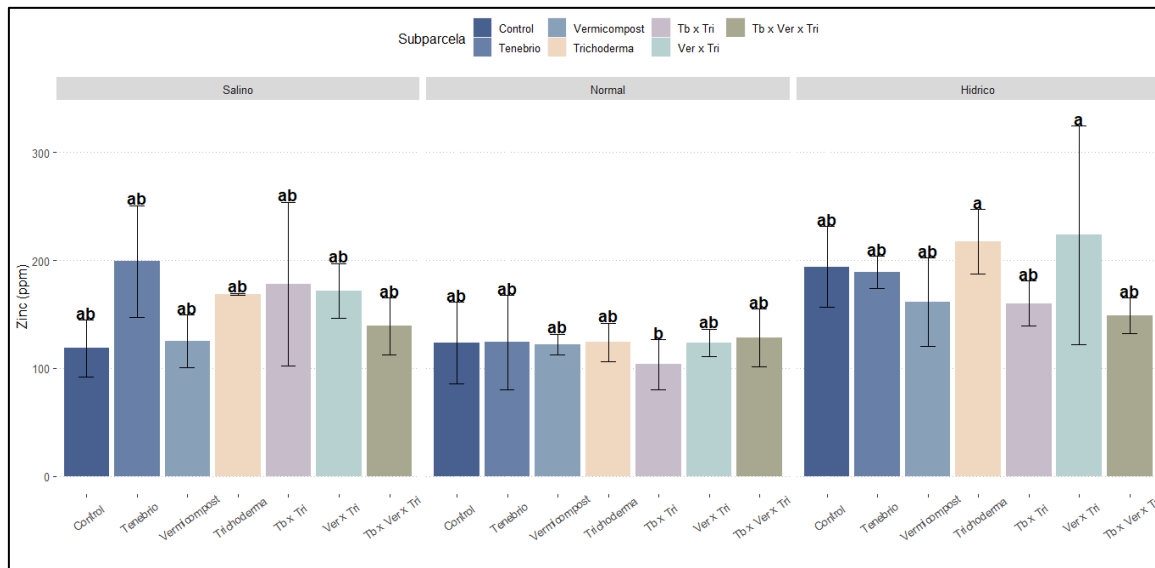


Figura 21: Contenido de zinc foliar obtenido por el uso de enmiendas orgánicas bajo distintas condiciones de estrés

En la Figura 21 se muestra que no existen diferencias significativas para el contenido de este elemento en las hojas de espinaca. Pese a ello, a nivel de condición de estrés, se puede observar que numéricamente, para las condiciones de estrés hídrico, el zinc aumentó su

concentración. El zinc es un catión divalente, su disponibilidad en el suelo es mayor a un pH más bajo (Azcón y Talón, 2000) por lo que el aumento de la concentración de este elemento en las hojas, se le puede atribuir al efecto del estrés hídrico producido por PEG.

V. CONCLUSIONES

- Se observó influencia tanto de las enmiendas orgánicas como del hongo antagonista en las medidas biométricas realizadas al cultivo de espinaca. Siendo diferentes sus efectos bajo las distintas condiciones de estrés. Bajo condiciones de estrés salino, los tratamientos con de [*T. molitor*] y [Vermicompost] solos y en presencia de [*T. harzianum*] ayudaron a mitigar los efectos adversos que traía consigo el estrés. Sin embargo, de manera general, bajo ambas condiciones de estrés, el tratamiento de Vermicompost en combinación con *Trichoderma harzianum* presentó un mejor efecto mitigando el estrés al presentar valores mayores al tratamiento control.
- La combinación de las dos enmiendas orgánicas sumadas al hongo antagonista *Trichoderma harzianum* no generaron un potencial de mitigación para las variables biométricas, pudiéndose deber a una incompatibilidad por sobresaturación de su microfauna.
- Los tratamientos que presentaron Vermicompost y *Trichoderma harzianum* en su composición presentaron valores más altos dentro de una misma condición de estrés, así como valores más cercanos al control en las variables fisiológicas de Conductancia estomática (Gs) y Tasa fotosintética (A).
- El estiércol de *Tenebrio molitor* cumplió un papel importante en la absorción de nutrientes, pues solo su presencia aumentó el contenido foliar de fósforo y potasio; redujo la absorción de sodio en condiciones salinas y presentó una mayor absorción de hierro en condiciones de estrés hídrico.

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda revalidar el uso del Polietilenglicol 6000 (PEG), por medio de evaluaciones en cantidad de producto, riego posterior a su incorporación al suelo, comprobar el potencial generado en suelo real con el obtenido mediante fórmula.
- Emplear semillas certificadas, para generar uniformidad en las plantas cultivadas y así evitar errores por efecto de la calidad fisiológica.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Abad Farooqi, A.H., Shukla, Y.N., Sharma, S. & Bansal, R.P. (1994). Relationship between gibberellin and cytokinin activity and flowering in *Rosa damascena* Mill. *Plant growth regulation*, 14, 109-113.
- Agencia Agraria de Noticias (2018). *Los microorganismos aplicados a las plantas pueden tener una función doble de agente de biocontrol y bioestimulante*. Recuperado de: <https://agraria.pe/noticias/los-microorganismos-aplicados-a-las-plantas-pueden-tener-una-16564>
- Ángeles, S., Meraz, E., Villagrán, B., García, A., Ramírez, A., Pino, J., Barranco, J. y Soto, E. (2018). *Efecto de la excreta del gusano amarillo (Tenebrio molitor) como abono orgánico en el rendimiento y calidad nutritiva de triticale (Triticosecale Witt)*. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. México. p. 1049-1054
- Arbizú, H., Barahona, G., Chaves, D., Guadamuz, J. y Quesada, D. (2018). *Efecto del estrés hídrico sobre la fotosíntesis en plantas híbridas de café con y sin frutos*. Recuperado de http://rstudio-pubs-static.s3.amazonaws.com/435885_2b0d7445aa3d492abdac77d45c5d98cb.html
- Avarez, J., Gomez, D., Leon, N. y Gutierrez, A. (2009). Manejo integrando de fertilizantes y abonos orgánicos en el cultivo de maíz. *Agrociencia*, 44(5), 575-586
- Avendaño, C., Sánchez, M. y Valenzuela, C. (2020). Insectos: son realmente una alternativa para la alimentación de animales y humanos. *Revista chilena de nutrición*, 47(6), 1029-1037.
- Azcón-Bieto, J. y Talón, M. (2000). *Fundamentos de fisiología vegetal*. Barcelona, España: Edicions Universitat de Barcelona.
- Babla, M., Katwal, U., Yong, M.T., Jahandari, S., Rahme, M., Chen, Z.H. & Tao, Z. (2022). Value-added products as soil conditioners for sustainable agriculture. *Resources, Conservation and Recycling*, 178, 106079.
- Bacho, J. (2011). *Fotosíntesis, transpiración y rendimiento de espinacas (Spinacea oleracea L.) bajo diferentes condiciones de humedad y riego por goteo* (tesis de pregrado). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, México.

- Barrios, E., López, C. y Kohashi, J. (2011). Relaciones hídricas y temperaturas altas en frijol del tipo “flor de mayo”. *Agronomía Costarricense*, 35(1), 131-145. Recovered from http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0377-94242011000100007&lng=en&tlng=es.
- Benavides, A. (2002). *Ecofisiología y bioquímica del estrés en plantas*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Recuperado de: https://www.researchgate.net/profile/Adalberto-Benavides-Mendoza/publication/305346608_Ecofisiologia_y_bioquimica_del_estres_en_plantas/links/57893ca808ae59aa6675e204/Ecofisiologia-y-bioquimica-del-estres-en-plantas.pdf
- Berríos, J. (2015). *Fuentes y niveles de materia orgánica en condiciones de invernadero* (Tesis pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú .
- Bittelli, M., Flury, M., Campbell, G.S. & Nichols, E.J. (2001). Reduction of transpiration through foliar application of chitosan. *Agricultural and Forest Meteorology*, 107(3), 167-175.
- Calvo, J. (2018). *Adaptabilidad y potencial de rendimiento de tres variedades de espinaca (Spinacia oleracea L.) en el distrito de Lamas* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de San Martín, Tarapoto, Perú.
- Cámara de Comercio de Bogotá (2015). *Manual: Espinaca*. Colombia. Recuperado de <https://bibliotecadigital.ccb.org.co/bitstreams/dc225f4c-6cc4-4163-9ea1-a879a817daf6/download>
- Camargo, D. y Ávila, E. (2013). Efectos del Trichoderma sp. sobre el crecimiento y desarrollo de la arveja (Pisum sativum L.). *Ciencia y Agricultura*, 11(1), 91-100.
- Castañeda, M., Córdova, L., Tapia, E., Delgado, A., González, V., Santacruz, A., Loza, H., García, G. & Vargas, M. (2014). Dehydrins patterns in common bean exposed to drought and watered conditions. *Revista fitotecnia mexicana*, 37(1), 59-68. Recuperado de: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802014000100009&lng=es&tlng=
- Companioni, B., Dominguez, G. y García, R. (2019). Trichoderma: su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura. *Bioteconología vegetal*, 19(4), 237-248.
- Cramer, G.R. (2002). Sodium-calcium interactions under salinity stress. *Salinity: environment-plants-molecules*, 205-227.
- Cramer, G.R., Epstein, E. & Läuchli, A. (1988). Kinetics of root elongation of maize in

- response to short-term exposure to NaCl and elevated calcium concentration. *Journal of Experimental Botany*, 39(11), 1513-1522.
- Dalmas, N.J. y Sanfilippo, J.G. (2012). *El contenido relativo de agua como indicador foliar en trigo para selección de genotipos y el manejo del cultivo* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de la Pampa, Argentina.
- Damián, M., Gonzales, F., Quiñones, P. y Terán, J. (2018). Plan de enmiendas, yeso agrícola, compost, mejorado y enriquecido con EM y humus de lombriz, para mejorar el suelo. *Arnaldoa*, 25(1), 141-158.
- Donoso, E., Lobos, G. y Rojas, N. (2008). Efecto de *Trichoderma harzianum* y compost sobre el crecimiento de plántulas de *Pinus radiata* en vivero. *Bosque*, 29(1), 52-57.
- Doñate, M. (2013). *Efecto de diferentes enmiendas orgánicas sobre el rendimiento y la concentración de nitrato en un cultivo ecológico de espinaca (Spinacea oleracea L.) en invernadero* (Tesis de maestría). Universidad Nacional del Sur, Argentina.
- Food and Agriculture Organisation (FAO). (2015). *Objetivos de Desarrollo Sostenible-Agricultura sostenible*. Recuperado de <http://www.fao.org/sustainable-development-goals/overview/fao-and-post-2015/sustainable-agriculture/es/>
- FAO. (2019). *La FAO presenta 2020 como Año Internacional de la Sanidad Vegetal*. Recuperado de <http://www.fao.org/news/story/es/item/1253562/icode/>
- FAO. (2019). World Fertilizer Trends and Outlook to 2022: Summary Report. Recovered from <https://www.fao.org/3/ca6746en/ca6746en.pdf>
- Fereres, E. (1984). Variability in adaptive mechanisms to water deficits in annual and perennial crop plants. *Bulletin de la Société Botanique de France. Actualités Botaniques*, 131(1), 17-32.
- García, C. y Hernández, T. (2018). *Fertilizantes/enmiendas orgánicas basadas en residuos orgánicos: su futuro en una agricultura sostenible*. España, recuperado de <https://www.interempresas.net/Grandes-cultivos/Articulos/208032-Fertilizantes-enmiendas-organicas-basadas-residuos-organicos-futuro-agricultura-sostenible.html>
- García, J. (2012). *Inductores de Tolerancia al Estrés Biótico y Abiótico en Plantas de Tomate* (Tesis pregrado). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, México.
- Hidalgo, E. (2019). Efecto del estrés salino en el crecimiento y contenido relativo del agua en las variedades IR-43 y amazonas de *Oryza sativa* “arroz” (Poaceae). *Arnaldoa*, 26(3): 931-942, doi: <https://doi.org/10.22497/arnaldoa.263.26305>
- Hu, Y. & Schmidhalter, U. (2005). Drought and salinity: a comparison of their effects on mineral nutrition of plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 168(4), 541-

- Hurtado, D. (2019). *Eficiencia de biorrecuperación mediante enmienda orgánica incorporada en el suelo salino de la ladera del Establo “Agropecuaria Villa Asis S.R.L.” comunidad autogestionaria Huaycán- Ate Vitarte* (tesis de pregrado). Universidad Peruana Unión, Lima, Perú.
- IPCC. (2014). *Cambio climático 2014: Impactos, adaptación y vulnerabilidad*. Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático. Suiza.
- Jayo, J. (2018). *Niveles de guano de isla y dosis de microorganismos eficaces en el rendimiento de espinaca (Spinacia oleracea L.) en Canaán, 2750 msnm- Ayacucho* (Tesis pregrado). Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho, Perú.
- Khurana, E. & Singh, J.S. (2004). Germination and seedling growth of five tree species from tropical dry forest in relation to water stress: impact of seed size. *Journal of Tropical Ecology*, 20(4), 385-396.
- Lawlor, D.W. (1970). Absorption of polyethylene glycols by plants and their effects on plant growth. *New phytologist*, 69(2), 501-513.
- López, A. y Hernández, D. (2016). Cambio climático y agricultura: una revisión de la literatura con énfasis en América Latina. *El trimestre económico*, 83(332). México.
- Luna Flores, W., Estrada-Medina, H., Jiménez Osornio, J.J.M. y Pinzón-López, L.L. (2012). Efecto del estrés hídrico sobre el crecimiento y eficiencia del uso del agua en plántulas de tres especies arbóreas caducifolias. *Terra Latinoamericana*, 30(4), 343-353.
- Mariem, S., Soba, D., Zhou, B., Loladze, I., Morales, F. y Aranjuelo, I. (2021). Climate change, Crop Yields, and Grain Quality of C3 Cereals: A Meta-Analysis of CO₂, Temperature, and Drought Effects. *Plants*, 10(6), 1052, doi: <https://doi.org/10.3390/plants10061052>
- Martínez, N. (2020). Efecto de *Trichoderma asperellum* en plantas de *Capsicum* spp. expuestas a NaCl (Tesis de maestría). Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.
- Mendez, C. y Vallejo, M. (2019). Mecanismo de respuesta al estrés abiótico: hacia una perspectiva de las especies forestales. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 10(56).
- Mexal, J., Fisher, J.T., Osteryoung, J. & Reid, C.P. (1975). Oxygen availability in polyethylene glycol solutions and its implications in plant-water relations. *Plant*

Physiology, 55(1), 20-24.

- Milanés, M., Rodríguez, H., Ramos, R. y Rivera, M. (2005). Efectos del compost vegetal y humus de lombriz en la producción sostenible de capítulos florales en *Calendula officinalis* L. y *Matricaria recutita* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 10(1).
- Miranda, D. (2021). *Las claves del informe del IPCC sobre la emergencia climática*. National Geographic, España. Recuperado de: https://www.nationalgeographic.com.es/naturaleza/claves-informe-ipcc-sobre-emergencia-climatica_17210
- Mogollón, J., Martínez, A. y Torres, D. (2016). Efecto de la aplicación de vermicompost en las propiedades biológicas de un suelo salino-sódico del semiárido venezolano. *Bioagro*, 28(1), 29-38.
- Montoliu, A. (2010). *Respuestas fisiológicas de los cítricos sometidos a condiciones de estrés biótico y abiótico. Aspectos comunes y específicos* (Tesis doctoral). Universitat Jaume I, España.
- Murillo, S., Mendoza, A. y Fadul, C. (2020). La importancia de las enmiendas orgánicas en la conservación del suelo y la producción agrícola. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 7(1), 58-68.
- Núñez, M., Amico, J., Pérez, M. y Betancourt, M. (2017). Estrés hídrico y salino en cítricos. Estrategias para la reducción de daños. *Cultivos Tropicales*, 38(4), 65-74.
- Ocampo, P., Rojas, R., Amasifuen, C., Amasifuen, F., Amasifuen, M., Sangama, A., Castro, A., Ruiz, C., Correa, Y. y Sauvain, M. (2019). *Sabrosos insectos peruanos*. Lima, Perú: RHD Soluciones Gráficas S.A.C.
- Pastor, J., Martínez, A. y Torres, D. (2016). Efecto de la aplicación de vermicompost en las propiedades biológicas de un suelo salino-sódico del semiárido venezolano. *Bioagro*, 28(1), 29-38.
- Pensis. (2017). *Agricultura sustentable: volver al origen*. Tecnológico de Costa Rica. Recuperado de <https://www.tec.ac.cr/pensis/articulos/agricultura-sustentable-volver-origen>
- Planelles, M. (2021). El gran informe científico sobre cambio climático responsabiliza a la humanidad del aumento de fenómenos extremos. *El país*. Recuperado de <https://elpais.com/clima-y-medio-ambiente/2021-08-09/el-gran-informe-cientifico-sobre-cambio-climatico-responsabiliza-a-la-humanidad-del-calentamiento-y-el-aumento-de-fenomenos-extremos.html>
- Poveda, J. (2018). *Nuevos abonos a partir de excrementos de insecto: el caso del gusano de*

- la harina (Tenebrio molitor)*. Rev. Ingeniería y Región, Vol. 19
- Ribeiro, F., Nascimento, G., Carvalho, K., Ferreira, H., Dázio de Souza, K., Huimaraes, L., Faquin, V. y Rodrigues, A. (2018). Selenium protects rice plants from water deficit stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 164, 562-570.
- Rodríguez, E., Picatoste, J. y Heras, F. (2014). *Quinto informe de evaluación del IPCC: Informe de síntesis*. Asociación Meteorológica Española, Vol. 5, n° 47
- Rodríguez, N., Torres, C., Chaman, M. e Hidalgo, J. (2019). Efecto del estrés salino en el crecimiento y contenido relativo del agua en las variedades IR-43 y amazonas de *Oryza sativa* “arroz” (Poaceae). *Arnaldoa*, 26(3).
- Rubio, M., Hermosa, R., Vicente, R, Gomez, F., Corcuende, R., Monte, E. y Bettiol, W. (2017). *The Combination of Trichoderma harzianum and Chemical Fertilization Leads to the Deregulation of Phytohormone Networking, Preventing the Adaptive Responses of Tomato Plants to Salt Stress*. *Frontiers in Plant Science*, doi: 10.3389/fpls.2017.00294
- Sharp, R.G. (2013). A review of the applications of chitin and its derivatives in agriculture to modify plant-microbial interactions and improve crop yields. *Agronomy*, 3(4), 757-793.
- Sikurajapathy, M., Cappy, J.J. & Gross, H.D. (1983). A Method for Inducing Controlled Moisture Stress on Seedlings 1. *Agronomy Journal*, 75(5), 840-843.
- Singh, B. & Singh, G. (2006). Effects of controlled irrigation on water potential, nitrogen uptake and biomass production in *Dalbergia sissoo* seedlings. *Environmental and Experimental Botany*, 55(1-2), 209-219.
- Sivan, A. & Chet, I. (1989). Degradation of fungal cell walls by lytic enzymes of *Trichoderma harzianum*. *Microbiology*, 135(3), 675-682.
- Torres, A. (2017). *Uso de Abonos Orgánicos para el Desarrollo Sustentable de la Escuela Técnica Agronómica Salesiana*. doi: <https://doi.org/10.29394/scientific.issn.2542-2987.2017.2.3.5.99-117>
- Troya, J. (2020). *Rehabilitación de suelos erosionados para promover sostenibilidad socio-económica y ambiental en Salache UTC, San Felipe, Cotopaxi* (Tesis de doctorado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Turner, N. C. (1986). Adaptation to water deficits: a changing perspective. *Functional Plant Biology*, 13(1), 175-190.
- Valenzuela, H. (2016). *Evaluación del efecto de abonos orgánicos en el cultivo de espinaca (Spinacea oleracea), variedades viroflay, dash en invernadero del centro de*

- investigación y producción Santo Tomás- Abancay* (Tesis pregrado). Universidad Tecnológica de los Andes, Apurímac, Perú.
- Vieira, C., Forst, A. y De Souza, J. (2021). Impactos potenciales del cambio climático en la agricultura y la economía en diferentes regiones de Brasil. *Revista de Economía y Sociología Rural*. doi: <https://doi.org/10.1590/1806-9479.2021.220611>
- Viguera, B., Martínez-Rodríguez, M.R., Donatti, C., Harvey, C.A. y Alpizar, F. (2017). *Impactos del cambio climático en la agricultura de Centroamérica, estrategias de mitigación y adaptación*. Materiales de fortalecimiento de capacidades técnicas del proyecto CASCADA, Costa Rica.
- Vila, L. (2017). *Implementación de manejo de residuos orgánicos en áreas verdes* (Tesis pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Perú
- Yasuor, H., Tamir, G., Stein, A., Cohen, S., Car-Tal, A., Ben-Gal, A. y Yermiyahu, U. (2017). Does water salinity affect pepper plant response to nitrogen fertigation?. *Agricultural Water Management*, 191, 57-66

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Análisis de varianza de la longitud foliar

Fuente de variación	df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Bloque	3	77.993	25.998		
Parcela	2	262.177	131.089	27.4850	0.000953***
E(a)	6	28.617	4.769		
Subparcela	6	60.546	10.091	1.5366	0.187651
Parcela*Subparcela	12	141.777	11.815	1.7991	0.076735
E(b)	40	302.078	6.567		
		cv(a)= 17.9 %,	cv(b)= 21 %,	Mean= 12.21013	

Anexo 2: Análisis de varianza del peso foliar

Fuente de variación	df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Bloque	3	1321.3	440.4		
Parcela	2	23702.2	11851.1	53.4322	0.0001502***
E(a)	6	1330.8	221.8		
Subparcela	6	2328.3	388.1	3.7411	0.0042988**
Parcela*Subparcela	12	6643.0	553.6	5.3368	0.0000180***
E(b)	40	4564.0	103.7		
		cv(a)= 52 %,	cv(b)= 35.5 %,	Mean= 28.66149	

Anexo 3: Análisis de varianza de la conductividad eléctrica del suelo

Fuente de variación	df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Bloque	3	0.235	0.078		
Parcela	2	100.335	50.168	117.7944	0.00001532***
E(a)	6	2.555	0.426		
Subparcela	6	35.409	5.902	9.6631	0.0000005771***
Parcela*Subparcela	12	19.201	1.600	2.6199	0.008995**
E(b)	48	29.315	0.611		
		cv(a)= 18.6 %,	cv(b)= 22.2 %,	Mean= 3.515513	

Anexo 4: Análisis de varianza del Contenido Relativo de Agua (CRA)

Fuente de variación	df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Bloque	3	18.8	6.27		
Parcela	2	3252.4	1626.18	64.7348	0.00008688***
E(a)	6	150.7	25.12		
Subparcela	6	533.4	88.89	1.4547	0.2149
Parcela*Subparcela	12	838.8	69.90	1.1439	0.3504
E(b)	40	2811.0	61.11		

cv(a)= 10.6 %, cv(b)= 16.5 %, Mean= 47.27855

Anexo 5: Análisis de varianza de la Conductancia Estomática (Gs)

Fuente de variación	df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Bloque	3	30811	10270		
Parcela	2	1950186	975093	113.9918	0.0000168***
E(a)	6	51324	8554		
Subparcela	6	199476	33246	5.6496	0.0002534***
Parcela*Subparcela	12	38902	3242	0.5509	0.8671591
E(b)	40	235386	5885		

cv(a)= 36.4 %, cv(b)= 30.2 %, Mean= 253.8096

Anexo 6: Análisis de varianza de la Tasa Fotosintética (A)

Fuente de variación	df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Bloque	3	2.24	0.75		
Parcela	2	653.64	326.82	334.6770	0.000000701***
E(a)	6	5.86	0.98		
Subparcela	6	95.70	15.95	5.9170	0.0001622***
Parcela*Subparcela	12	85.61	7.13	2.6466	0.0101383*
E(b)	40	110.52	2.70		

cv(a)= 19.6 %, cv(b)= 32.5 %, Mean= 5.047324

Anexo 7: Análisis de varianza de contenido foliar de nitrógeno

Fuente de variación	df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Bloque	3	0.4312	0.14374		
Parcela	2	1.1729	0.58646	4.2252	0.07158
E(a)	6	0.8328	0.13880		
Subparcela	6	2.8785	0.47976	1.8474	0.11430
Parcela*Subparcela	12	3.2817	0.27347	1.0530	0.42293
E(b)	40	10.3878	0.25970		

cv(a)= 24.1 %, cv(b)= 33 %, Mean= 1.546429

Anexo 8: Análisis de varianza del contenido de fósforo foliar

Fuente de variación	df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Bloque	3	0.10734	0.035779		
Parcela	2	0.09539	0.047693	4.0410	0.077350
E(a)	6	0.07081	0.011802		
Subparcela	6	0.35119	0.058532	3.4243	0.008022**
Parcela*Subparcela	12	0.21317	0.017764	1.0393	0.433996
E(b)	40	0.68373	0.017093		

cv(a)= 21.4 %, cv(b)= 25.8 %, Mean= 0.5071429

Anexo 9: Análisis de varianza del contenido de potasio foliar

Fuente de variación	df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Bloque	3	2.616	0.87192		
Parcela	2	2.430	1.21499	1.7087	0.25862
E(a)	6	4.266	0.71107		
Subparcela	6	14.402	2.40030	2.0677	0.07882
Parcela*Subparcela	12	14.488	1.20731	1.0400	0.43338
E(b)	40	46.434	1.16084		

cv(a)= 19.4 %, cv(b)= 24.8 %, Mean= 4.344286

Anexo 10: Análisis de varianza del contenido de calcio foliar

Fuente de variación	df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Bloque	3	1.3055	0.43518		
Parcela	2	1.2335	0.61677	3.3242	0.10674
E(a)	6	1.1132	0.18554		
Subparcela	6	1.8989	0.31648	1.0398	0.41436
Parcela*Subparcela	12	7.4833	0.62361	2.0489	0.04478*
E(b)	40	12.1748	0.30437		

cv(a)= 18.1 %, cv(b)= 23.1 %, Mean= 2.384857

Anexo 11: Análisis de varianza del contenido de magnesio foliar

Fuente de variación	df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Bloque	3	0.08574	0.028581		
Parcela	2	0.08439	0.042194	3.8180	0.0851891
E(a)	6	0.06631	0.011051		
Subparcela	6	0.37540	0.062566	5.3921	0.0003694***
Parcela*Subparcela	12	0.10444	0.008704	0.7501	0.6952398
E(b)	40	0.46413	0.011603		

cv(a)= 12.3 %, cv(b)= 12.6 %, Mean= 0.8535714

Anexo 12: Análisis de varianza del contenido de sodio foliar

Fuente de variación	df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Bloque	3	116.31	38.77		
Parcela	2	817.72	408.86	16.6720	0.003547**
E(a)	6	147.14	24.52		
Subparcela	6	195.95	32.66	1.0363	0.416437
Parcela*Subparcela	12	668.66	55.72	1.7682	0.088045
E(b)	40	1260.52	31.51		

cv(a)= 141.6 %, cv(b)= 160.5 %, Mean= 3.498286

Anexo 13: Análisis de varianza del contenido de hierro foliar

Fuente de variación	df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Bloque	3	2019328	673109		
Parcela	2	30460949	15230474	29.6848	0.0007733***
E(a)	6	3078435	513073		
Subparcela	6	1857540	309590	0.9887	0.4459138
Parcela*Subparcela	12	8369229	697436	2.2273	0.0290010*
E(b)	40	12525239	313131		

cv(a)= 61.3 %, cv(b)= 47.9 %, Mean= 1169.018

Anexo 14: Análisis de varianza del contenido de zinc foliar

Fuente de variación	df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Bloque	3	6215	2071.7		
Parcela	2	44143	22071.7	14.2600	0.005251**
E(a)	6	9287	1547.8		
Subparcela	6	16504	2750.7	2.2877	0.054262
Parcela*Subparcela	12	24164	2013.7	1.6747	0.109860
E(b)	40	48096	1202.4		

cv(a)= 25.8 %, cv(b)= 22.7 %, Mean= 152.5893