

# EVALUACIÓN DEL POTENCIAL BIOFERTILIZANTE DE CONSORCIOS DE CIANOBACTERIAS EN PASTO RAYGRASS (*Lolium multiflorum*)

Freire, Elizabeth<sup>b</sup>; Koch, Alma<sup>a</sup>; Salvador, Lorena<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Universidad de las Fuerzas Armadas, Facultad de Ciencias de la Vida, Centro de Investigaciones Científicas, Laboratorio de Microbiología, Av. Gral. Rumiñahui s/n Sangolquí – Ecuador.

<sup>b</sup> Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro – AGROCALIDAD, Av. Interoceánica km. 14 ½, La Granja MAGAP, Quito – Ecuador

## Resumen

Se evaluó el potencial biofertilizante de tres consorcios de cianobacterias en el crecimiento y valor nutricional del pasto Raygrass anual, con el propósito de contar con un tratamiento biológico alternativo al uso de fertilizantes químicos. Se obtuvieron tres consorcios microbianos con cianobacterias (CMA, CMB y CMC) a partir de muestras de tapetes bacterianos recolectados en el volcán Pasochoa. Se masificó y se mantuvo los consorcios microbianos en medio BG-11<sub>0</sub>, se siguió su crecimiento con un método espectrofotométrico y mediante recuento en cámara de Neubauer. Como tratamientos adicionales, se empleó un fertilizante químico y un blanco (agua destilada) como control. La capacidad fertilizante de los tratamientos fue evaluada mediante el análisis de altura de la planta, longitud de la raíz y cobertura. Posterior a la cosecha se analizó la influencia de los tratamientos respecto a las variables bromatológicas. Como resultados, se obtuvo que las muestras de Raygrass tratadas con CMA y CMB, mostraron mejores alturas, con 23,16 cm y 21,18 cm, respectivamente. En cuanto a la cobertura, las plantas tratadas con CMB cubrieron en un 83,8% a la maceta. La longitud de la raíz también se vio favorecida con CMB, alcanzando un valor de 4,68 cm. Respecto a las variables morfoagronómicas,

se encontró que CMA influyó en la síntesis de proteína y grasa del Raygrass, obteniéndose valores de 11,74% y 0,26% respectivamente y las plantas tratadas con CMC mostraron humedad del 79,73% y contenido de fibra del 4,08%.

**Palabras clave:** biofertilizante, cianobacterias, consorcios, suelos agrícolas

## EVALUATION OF THE BIOFERTILIZER POTENTIAL OF CYANOBACTERIA CONSORTIA IN RAYGRASS (*Lolium multiflorum*)

### Abstract

The bio-fertilizing potential of three consortia of cyanobacteria on the annual growth and nutritional value of Raygrass was evaluated. This work was performed based on the need for biological treatment as an alternative to chemical fertilizers. Three microbial consortia with cyanobacteria (CMA, CMB and CMC) were obtained from samples collected from the bacterial mats in Pasochoa volcano. The microbial consortia were massively multiplied and kept in BG-11<sub>0</sub>, the growth was monitored by using a spectrophotometric method and by counting in a Neubauer Chamber. In addition, a chemical fertilizer and a blank (distilled water) were used as control. The amount of the consortium of cyanobacteria to be used was determined by preliminary tests. The fertilizing capacity of the treatments was assessed through an analysis of plant height, root length and coverage in the pot. After harvesting the plants the

\*Correspondencia a: Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro – AGROCALIDAD, Av. Interoceánica km. 14 ½, La Granja MAGAP, Quito – Ecuador. Teléfono: +(593) 2 2370185 Ext. 204. e-mail: [rocio.freire@agrocalidad.gob.ec](mailto:rocio.freire@agrocalidad.gob.ec)

influence of the treatments regarding the nutritional variables were examined: dry matter, moisture, protein, fiber and ash. As a result, it was found that Raygrass samples treated with CMA and CMB, showed better heights with 23,16 cm and 21,18 cm, respectively. In terms of coverage, the plants treated with CMB covered the pot by 83,8%. The root length was also improved by the use of CMB, reaching a length of 4,68 cm. Regarding the quantification of morph agronomic variables, it was found that CMA positively influences the synthesis of protein and fat in Ryegrass, yielding values of 11,74% and 0,26% respectively. CMC-treated plants showed 79,73% humidity, and a fiber content of 4,08%.

**Keywords:** Biofertilizer, cyanobacteria, consortia, agricultural soil

## I. INTRODUCCIÓN

En el Ecuador, el uso de fertilizantes en la agricultura constituye un grave problema de contaminación ambiental y perjuicio a la salud de la población expuesta a este tipo de componentes químicos. [1] Con el objetivo de mejorar la producción y el rendimiento agronómico se emplean fertilizantes químicos duplicando y hasta triplicando dosis recomendadas, los cuales al ser deficientemente asimilados por los cultivos terminan contaminando los acuíferos y causando eutrofización de cuerpos de agua superficiales debido al exceso de nutrientes que provoca el desbalance de ecosistemas, la reducción de la diversidad microbiana deteriorando así la calidad del suelo. [2] En un suelo infértil se hace difícil producir nuevos cultivos, ya que las plantas se vuelven más vulnerables a enfermedades y, como consecuencia, la producción agrícola disminuye en cantidad y calidad. [3] Para intentar paliar los efectos de este tipo de sistemas agrarios en el Ecuador, se han establecido herramientas que minimicen el impacto negativo de los fertilizantes químicos. Es así, que entidades públicas como el Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP) capacitan a los agricultores para que realicen análisis de suelos previos a la fertilización, conozcan la composición de los fertilizantes, la dosis necesaria dependiendo del cultivo y la forma de aplicación. Sin embargo, esto no soluciona el problema de la contaminación. [4] Por esta razón, en los últimos años se ha generado mayor conciencia sobre la problemática y se han

desarrollado estudios sobre alternativas biológicas como “inoculantes microbianos” que resulten amigables con el ambiente, la salud y que favorezca los procesos de producción. [5]

Un tratamiento que está siendo adoptado a nivel industrial es la producción de microorganismos propios del suelo con potencial biofertilizante. [6] Entre los microorganismos que pueden ser empleados como biofertilizantes, están cierto tipo de cianobacterias, que son los únicos capaces de realizar la fotosíntesis de sus compuestos carbonados, por lo que no requieren un aporte exógeno; estos grupos de cianofíceas, poseen células especializadas que les permite fijar nitrógeno atmosférico y pueden también realizar esa función cuando se encuentran en simbiosis con varios tipos de plantas tales como el helecho *Azolla* y la cianobacteria *Anabaena* que habita en cavidades formadas por el helecho, del que obtiene aporte de nutrientes y por su parte, *Azolla* se beneficia de las sustancias nitrogenadas sintetizadas por la cianofícea. [7] Es así que los consorcios microbianos con cianobacterias son cada vez más importantes en el área agrícola, debido a su capacidad de fijar nitrógeno, potenciar la producción de metabolitos secundarios, retener la humedad del suelo y promover la captación de nutrientes en las plantas y pueden ser encontradas en ambientes lénticos, suelos húmedos, troncos muertos y corteza de árboles. [5,8] Con el uso de las cianobacterias como biofertilizante, la textura de los suelos también mejora, y con ello se promueve la germinación y desarrollo de las plantas, puesto que las cianobacterias aportan nutrientes al suelo y producen compuestos bioactivos como vitaminas y hormonas. [9] Debido a la creciente producción agropecuaria en el país, en este trabajo se estudió el aporte en nutrientes y fijación de nitrógeno que las cianobacterias pueden aportar a los cultivos de pasto Raygrass (*Lolium multiflorum*), mismo que es empleado en la alimentación de ganado. [10] Mediante procesos biotecnológicos se produjo biomasa de las cianobacterias aisladas de tapetes microbianos y se evaluó su influencia en el crecimiento y desarrollo de pasto Raygrass a nivel de cámara de invernadero, como tecnología clave en la reducción de la contaminación del suelo, el agua y el aire. [11]

## II. METODOLOGÍA

## Consortios de Cianobacterias

Para la obtención de los consorcios, se tomaron con pinzas estériles muestras de tapetes microbianos y suelo, del sector San Antonio al Oriente del volcán Pasochoa. Ubicación geográfica: altura: 2991 m, latitud S 00° 26,085'. Las muestras fueron colocadas en fundas Ziploc® estériles y trasladadas en un congelador a temperatura ambiente, hasta el Centro de Investigaciones Científicas de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, ubicado a 1 hora del lugar del muestreo, donde se procedió a inocular directamente sobre medio BG-11<sub>0</sub> sólido, compuesto de los macroelementos (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>, Fe(NH<sub>4</sub>)HC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, EDTA - Na<sub>2</sub>), y metales traza (Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, H<sub>3</sub>BO<sub>4</sub>, Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O), de sodio de acuerdo a un método utilizado en un trabajo previo. [12,13]

Se incubaron las cajas Petri en una repisa con un fotoperiodo programado de 16 horas de luz y 8 de oscuridad, con una irradiancia de 1000 lux y a temperatura ambiente (25°C) por 20 días; posteriormente se seleccionaron tres tipos de consorcios que mostraron mejor crecimiento en cajas Petri, que fueron trasladados a frascos con medio BG-11<sub>0</sub> líquido, cubiertos con tapones de algodón, aireados mediante mangueras y se mantuvieron con intensidad de luz de 1000 lux, fotoperiodo 16 horas luz y 8 horas de oscuridad, además de agitación constante hasta alcanzar suficiente biomasa (aproximadamente 5x10<sup>7</sup> cel/mL). [14]

## Análisis de la Biomasa

El crecimiento de los tres consorcios microbianos (CMA, CMB, CMC), se cuantificó por espectrofotometría en el equipo Genesys 10UV Scanning Thermo Scientific, se midió la absorbancia a una longitud de onda de 750 nm. El procedimiento se realizó cada 3 días. [15] El conteo celular (células/mL) se determinó mediante conteo directo en cámara de Neubauer con un microscopio cabezal trinocular marca Olympus modelo CX-31. Para el cálculo de las células por mililitro se empleó la ecuación 1. [16]

$$cel/mL = XC \times 10^4 \times fd$$

Ec. 1

Donde:

XC= promedio de células contadas en la cuadrícula de 25 cuadrados

fd = factor de dilución

## Preparación y esterilización de sustrato

Para el sustrato se empleó tierra negra que fue recolectada de la misma zona donde se tomaron los tapetes microbianos. Debido a que el Raygrass crece mejor en suelos franco arcillosos, se decidió usar la tierra negra mezclada con arena y arcilla. La arena crea espacios por donde puede penetrar más fácilmente el agua y las raíces, mientras que la arcilla fija aniones. [17] De la mezcla se retiró impurezas y se tamizó en mallas # 12; se la dejó secar, se esterilizó en autoclave a 121°C y 15 psi de presión por 30 min, y se procedió a llenar las macetas empleadas en el estudio. Las semillas de Raygrass fueron desinfectadas con alcohol al 70% por 3 minutos y lavadas con agua destilada estéril. Se colocaron las semillas a una profundidad de 5 cm y se cubrieron con sustrato.

## Aplicación de Tratamientos:

Los tratamientos que consistieron de consorcios microbianos con cianobacterias (CMA, CMB, CMC) y el fertilizante químico, de los cuales se aplicó 40 mL tanto al sustrato como a las hojas de Raygrass, de acuerdo a pruebas previas realizadas con tres volúmenes diferentes y referencias de estudios anteriores y como tratamiento control se aplicó agua destilada estéril. [13] Los consorcios microbianos fueron inoculados en fase exponencial con una absorbancia de 0,80 medida a 750 nm, correspondiente a una densidad celular de 5,01x10<sup>7</sup> cel/mL.

## Análisis de variables morfoagronómicas

Las variables morfoagronómicas que se analizaron de las plantas de Raygrass fue la altura que se evaluó a los 8, 16, 24 y 34 días después que la semilla emergiera, el porcentaje de cobertura en maceta y la medición de la longitud de la raíz se evaluó a los 35 días. Se realizó también el análisis de sobrevivencia de los consorcios microbianos para lo cual se tomó 1 g de sustrato y un segmento de las hojas y se las colocó en caja Petri con medio BG-11<sub>0</sub> sólido; se incubó con fotoperiodo 16 horas luz y 8 horas oscuridad y se observó su capacidad de crecimiento. [18] Respecto a la evaluación bromatológica se efectuaron análisis de humedad, determinación de proteína mediante digestión, destilación e hidrólisis de las muestras, se empleó el equipo de destilación de

proteína IFQ-12, determinación de grasa mediante hidrólisis, filtración y extracción de las muestras con el equipo SOXLET, determinación de fibra bruta por hidrólisis ácida seguida de una hidrólisis básica y determinación de cenizas.

### Análisis estadístico

Para la fase experimental desarrollada en cámara de invernadero, se empleó un diseño completamente al azar (DCA) que consiste en la asignación de los tratamientos en forma aleatoria a las unidades experimentales; se investigó la influencia de los diferentes fertilizantes (tratamientos), sobre las variables morfoagronómicas del Raygrass anual. Del DCA se realizaron cinco repeticiones por tratamiento. Para la evaluación de las variables nutricionales, analizadas en laboratorio se realizaron tres repeticiones por tratamiento. Los datos recogidos se analizaron mediante el programa estadístico Infostat; se realizó Análisis de Varianza (ANOVA) y la prueba LSD Fisher para las variables morfoagronómicas y nutricionales. [19]

### III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los consorcios microbianos obtenidos (CMA, CMB, CMC), estuvieron compuestos de al menos una cianobacteria, junto a microorganismos gram negativos y otros microorganismos no caracterizados. Principalmente en el consorcio microbiano A (CMA), se pudo identificar cianobacterias con células heterocísticas, propias de las cianobacterias fijadoras de nitrógeno. [20]

**Tabla 1:** Consorcios microbianos con cianobacterias observados al microscopio con aumento de 100X.

CONSORCIO	CIANOBACTERIAS	
	Cultivo en caja petri	Micrografía 100x
CMA		
CMB		
CMC		

### Variables Morfoagronómicas

En los datos de altura, existió diferencia estadística significativa para la variable, debido al efecto de cada tratamiento fertilizante. Las medias de los tratamientos resultaron diferentes como lo expresa un  $P = 0,0001$ . Debido a que existió diferencia significativa entre tratamientos, se realizó el análisis LSD Fisher. Se encontró que los tratamientos: consorcio microbiano con cianobacterias A (CMA) y consorcio microbiano con cianobacterias B (CMB), tuvieron los mejores promedios para la variable altura con 23,16 cm y 21,18 cm respectivamente.

Para la variable cobertura, se muestra que existió diferencia estadística significativa entre los tratamientos investigados, como lo expresa el valor  $P < 0,0001$ . Por tanto la influencia de los tratamientos resultó ser diferente, es así que se realizó la prueba LSD Fisher y se encontró que (CMA) y (CMB) fueron los tratamientos con los mejores promedios para la variable cobertura con 83,8% y 82,6%. En cuanto a la longitud de la raíz el análisis de varianza indicó diferencia estadística como lo expresa un  $P = 0,0097$ ; es así que el análisis LSD Fisher indica que (CMB) obtuvo el mejor crecimiento del sistema radicular con 4,68 cm.

**Tabla 2:** Prueba LSD Fisher para las variables morfoagronómicas

Parámetro	Biofertilizante	Medidas	Rango de Significancia
Altura (cm)	CMA	23.16	A
	CMB	21.18	A
	CMC	18.86	B
	TQ	19.32	
Alfa = 0.05			
Cobertura (%)	CMA	82.60	A
	CMB	83.80	A
	CMC	76.00	B
	TQ	76.00	B
Alfa = 0.05			
Longitud de raíz (cm)	CMA	4.32	A
	CMB	4.68	A
	CMC	3.66	A
	TQ	1.22	A
Alfa = 0.05			

El éxito de los tratamientos (CMA) y (CMB) sobre las variables morfoagronómicas del Raygrass se atribuye a los consorcios microbianos con cianobacterias. La capacidad de actuar como biofertilizante está dada, por su contenido de bioantioxidantes y activadores (polifenoles, carotenoides, enzimas), por sus fitohormonas y reguladores de crecimiento

(citoquininas, oligosacáridos y bataínas). [21] Pero sin duda uno de los factores más importantes para el desarrollo de las plantas es la fijación biológica del nitrógeno en la cantidad necesaria. La inoculación de los consorcios en fase exponencial fue indispensable para su adaptación a un nuevo sustrato y que puedan continuar con la duplicación a un ritmo constante. Los mejores resultados observados con el tratamiento (CMA), también se atribuyen a la presencia de cianobacterias con heterocistos; éstas son células especializadas, en las que se localiza exclusivamente la nitrogenasa, y donde no hay liberación de oxígeno, existiendo una separación especial entre la fijación de nitrógeno y la fotosíntesis. [7]

### **Variables Nutricionales**

En cuanto a la materia seca, se observó diferencia estadística significativa entre los tratamientos fertilizantes. Las muestras de Raygrass que mostraron mayor contenido de materia seca fueron las tratadas con el fertilizante químico (TQ). La asimilación de materia seca y su distribución en la planta determinan la productividad de los forrajes. Esta asimilación pudo deberse a que TQ se elaboró con sustancias químicas (sulfato de potasio, ácido bórico, sulfato de magnesio heptahidratado, cloruro de potasio) que son fácilmente asimilables por la planta. Sin embargo, los porcentajes de materia seca obtenidos de las muestras biofertilizadas no se consideran bajos en cuanto a rendimiento de las pasturas. [22]

Referente a los porcentajes de humedad, los resultados obtenidos mediante el análisis de varianza, denotan que existió diferencia estadística. Las muestras con mayores porcentajes de humedad fueron aquellas tratadas con consorcios microbianos con cianobacterias (CMC, CMA y CMB) con valores de 79,73%, 79,26%, 77,67%, respectivamente.

Este alto contenido de humedad se debe a que las cianobacterias poseen ficocoloides que recubren sus paredes celulares. Los ficocoloides tienen la capacidad de formar una red que retiene gran cantidad de agua, lo que les confiere una propiedad reológica única, lo que explica su actuación como hidratantes de suelo y ayuda a aumentar y mantener la capacidad de campo. [16,23]

Los porcentajes más altos de proteína fueron obtenidos de las muestras en las que se aplicó

consorcio microbiano con cianobacterias A (CMA) con 11,74%. Los resultados pueden ser atribuidos a los microorganismos del biofertilizante. El nitrógeno provisto es un constituyente de los más importantes compuestos y complejos órgano minerales de la planta como aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, amidas y aminas. Investigaciones en plantas de tomate detectaron aumentos en el contenido de aminoácidos, proteínas y clorofila, cuando inocularon el cultivo con microorganismos diazotróficos. [9]

Para la variable porcentaje de fibra, el análisis de datos también indican que con el uso de biofertilizantes se obtiene mejores resultados como lo muestra el tratamiento (CMA) con 4,08%, lo que indica que los nutrientes aportados por el biofertilizante son indispensables para que las plantas puedan sintetizar sus hidratos de carbono. [24] Los carbohidratos presentes en las plantas proporcionan energía y fibra. Entre los carbohidratos de bajo peso molecular, como los monosacáridos, se encuentran la Xilosa y Arabinosa que constituyen la cadena principal de la hemicelulosa en los forrajes. [16]

Respecto al contenido de ceniza, las muestras de Raygrass tratadas con el fertilizante químico mostraron los porcentajes más altos con 7,89%. La ceniza es el residuo inorgánico o fracción mineral, que queda después de quemar la materia orgánica. Los resultados obtenidos pudieron deberse a que (TQ) aportó con elementos inorgánicos que fueron absorbidos del suelo por la planta y posteriormente asimilados en el proceso de fotosíntesis.

De forma global, se puede decir que las propiedades de las cianobacterias, entre éstas: la capacidad de captar energía lumínica por medio de sus ficobilisomas, el contar con complejos proteicos, la habilidad para adaptar su metabolismo e interactuar con el ambiente, para poder desarrollarse en casi cualquier sustrato, hacen de las cianobacterias microorganismos útiles en la biofertilización de cultivos. [25]

**Tabla 3:** Prueba LSD Fisher para las variables nutricionales

Parámetro	Biofertilizante	Medidas	Rango de Significancia	
Materia Seca	CMA	27.23	B	
	CMB	23.22	B	
	CMC	21.74		C
	TQ	23.97	A	
Alfa = 0.05				
Humedad	CMA	79.26	B	
	CMB	77.67	B	
	CMC	79.73	A	C
	TQ	76.04		
Alfa = 0.05				
Proteína	CMA	11.74	A	
	CMB	11.07	B	
	CMC	1.73		C
	TQ	1.22		D
Alfa = 0.05				
Grasa	CMA	0.26	B	
	CMB	0.22	B	
	CMC	0.22	B	
	TQ	0.12		C
Alfa = 0.05				
Fibra	CMA	3.45		C
	CMB	3.24		D
	CMC	4.08	B	
	TQ	0.12		D
Alfa = 0.05				
Fibra	CMA	7.76	B	
	CMB	7.88	A	
	CMC	7.59		C
	TQ	7.89	A	
Alfa = 0.05				

#### IV. CONCLUSIONES

Los consorcios microbianos con cianobacterias son cada vez más importantes en el área agrícola debido a su potencial fertilizante. Los tratamientos con consorcios microbianos (CMA y CMB) superaron en las características morforagronómicas del Raygrass (altura, cobertura y longitud radicular) frente a las plantas tratadas con Fertilizante Químico (TQ), diferencia que podría relacionarse con su capacidad de potenciar la producción de metabolitos secundarios y promover la captación de nutrientes indispensables para el desarrollo de las plantas. Las cianobacterias con consorcios microbianos CMA, CMB y CMC, sobrevivieron durante los 30 días que fueron evaluados y se adaptaron bien al nuevo sustrato que fueron transferidas. Respecto al contenido nutricional, las plantas de Raygrass tratadas con CMA y CMB mostraron mejores resultados en contenido de humedad, proteína y fibra, que se atribuye a la capacidad de las cianobacterias para retener agua y la presencia de heterocistos en ciertas cianobacterias que promueven la fijación de nitrógeno. Los resultados obtenidos de las variables en estudio se consideran acordes para un forraje

de calidad y puede ser destinado para alimento de ganado.

#### AGRADECIMIENTOS

Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE. Centro de Investigaciones Científicas CEINCI, y a sus docentes por el apoyo durante este trabajo de investigación y a la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro – AGROCALIDAD por la guía para aportar con la Revista Científica de la Institución.

#### REFERENCIAS

- [1] M. Suquilanda (2008) "El deterioro de los suelos en Ecuador y la producción Agrícola". XI Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo (págs. 1-56).
- [2] A. D. Armenta-Bojórquez, C. García-Gutiérrez, J. R. Camacho-Báez, M. A. Apodaca-Sánchez, L. Gerardo-Montoya, E. Nava-Pérez (2010) "Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México", *Ra Ximhai*, 6(1), 51-56.
- [3] V. Barrera, P. Oyarzun, S. Sherwood, (2000) "Investigación para un manejo más productivo y sostenible de suelos andinos en la ecoregión Centro-Norte del Ecuador" Eco- suelos. CODESAN. Quito, ECUADOR.
- [4] J. Aguirre, M. Irizar, A. Durán, O. Grajeda, M. Peña, C. Loreda, y otros. (2009) "Los Biofertilizantes microbianos: alternativa para la agricultura en México", 1º Edición, Chiapas, México, pp. 10-12.
- [5] S. H. Al - Khiat (2006) "Effect of Cyanobacteria as a Soil Conditioner and Biofertilizer on Growth and Some Biochemical Characteristics of Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) seedlings". Tesis de M. Sc., Dept. Botany and Microbiology, King Saud Univ., Arabia Saudita.
- [6] E. Valiente, A. Ucha, A. Quesada, F. Leganes, R. Carreres (2000) "Contribution of N<sup>2</sup> fixing cyanobacteria to rice production: availability of Nitrogen from 15N-labelled cyanobacteria and ammonium sulphate to rice", *Plant Soil*, 221(1), 107-112.
- [7] F. Garcia-Pichel, O. Pringault (2001) "Cyanobacteria track water in desert soils", *Nature*, 413, 380-381.
- [8] D. G. Capone, J. A. Burns, J. P. Montoya, A. Subramaniam, A. C. Mahaffey, T. Gunderson, A. F. Michaels, E. J. Carpenter (2005) "Nitrogen fixation by *Trichodesmium* spp.: an important source of new nitrogen to the tropical and subtropical North

Atlantic Ocean”, *Global Biogeochem. Cycles* 19, GB2024.

[9] E. T. Alfonso, A. Leyva, A. Hernández (2005) “Microorganismos benéficos como biofertilizantes eficientes para el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill)”, *Rev. Colomb. de Biotecnol.* 7(2), 47-54.

[10] J. Grijalva, F. Espinosa, M. Hidalgo (1995) “Producción y utilización de pastizales en la región interandina del Ecuador”. INIAP Archivo Historico.

[11] C. León, J. Rojas (1996) “Utilización de cianobacterias (algas verde - azules) fijadoras de nitrógeno y el helecho acuático *Azolla*, como biofertilizante en el cultivo de arroz anegado” X Congreso Nacional Agronómico/II Congreso del suelo (pag 1.) Costa Rica. Laboratorio de Biotecnología de microalgas. Escuela de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional.

[12] G. Garrity (2002) “Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology: Volume One: The Archaea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria”, 2° Edición, New York, Springer Science & Business Media, pp. 505 - 577.

[13] M. A. Cruz (2009) “Uso biofertilizante de dos cultivos de cianobacterias, uno axénico y otro en consorcio, a nivel de invernadero para producción parcialmente orgánica de fréjol *Phaseolus vulgaris*”, Tesis de pregrado., Dep. Ciencias de la Vida, Escuela Politécnica del Ejército. Quito, Ecuador.

[14] C. -G. Lee, B. Ø. Palsson (1994) “High- density algal photobioreactors using lighth-emitting diodes”, *Biotechnol. Bioeng.* 44, 1161-1167.

[15] C. Loreto, N. Rosales, J. Bermúdez, E. Morales (2003) “Pigment and protein production of the cyanobacterium *Anabaena* PCC 7120 in relation to nitrogen concentration and irradiance”, *Gayana Bot.* 60(2), 83-89.

[16] R. M. Abed, N. M. D. Safi, J. Köster, D. de Beer, Y. El-Nahhal, J. Rullkötter, F. Garcia-Pichel (2002) “Microbial diversity of a heavily polluted microbial mat and its community changes following degradation of petroleum compounds”, *Appl. Environ. Microbiol.* 68(4), 1674-1683.

[17] S. Monteros, I. R. Iglesias, C. María (2005) “Inoculación de cianobacterias en el cultivo de soja, efectos sobre la infectividad de *Bradyrhizobium japonicum* y la producción de materia seca”. Universidad Nacional del Nordeste, Argentina.

[18] N. Santillana Villanueva (2006) “Producción de biofertilizantes utilizando *Pseudomonas* sp.”,

*Ecología Aplicada*, 5(1-2), 87-91.

[19] H. Gutiérrez, R. De la Vara (2008) “Análisis y diseño de experimentos”, 2° Edición, Mc Graw Hill, México. pp. 80-99

[20] C. W. Mullineaux, V. Mariscal, A. Nenner, H. Khanum, A. Herrero, E. Flores, D. G. Adams (2008) “Mechanism of intercellular molecular exchange in heterocyst-forming cyanobacteria”, *EMBO J.* 27(9), 1299-1308.

[21] A. Z. Hegazi, S. S. M. Mostafa, H. M. I. Ahmed (2010) “Influence of different cyanobacterial application methods on growth and seed production of common bean under various levels of mineral nitrogen fertilization”, *Nature and Science*, 8(11), 183- 193.

[22] T. Tekalign, P. S. Hammes (2005) “Growth and productivity of potato as influenced by cultivar and reproductive growth: II. Growth analysis, tuber yield and quality”, *Sci. Hortic.* 105(1), 29-44.

[23] V. Toledo, A. Florentino (2009) “Las costras microbióticas del Suelo”, *Revista de investigación* 33(68), 199-216.

[24] H. Yu, S. Jia, Y. Dai (2009) “Growth characteristics of the cyanobacterium *Nostoc* flagelliforme in photoautotrophic, mixotrophic and heterotrophic cultivation”, *J. Appl. Phycol.* 21(1), 127-133.

[25] M. F. Chico (2010) “Caracterización a nivel de laboratorio de tres cianobacterias aisladas del área foliar de *Polylepis pauta* del páramo de Papallacta mediante clave microscópica, tiempo de generación y producción de proteína según fuente de nitrógeno, luz y medio de cultivo”, Tesis de pregrado, Dep. Ciencias de la Vida. ESPE, Quito, Ecuador.