



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA
AGRICULTURA**

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

**TRABAJO DE TITULACIÓN, PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE INGENIERO AGROPECUARIO**

**TEMA: "EVALUACIÓN DE UN MÉTODO NO DESTRUCTIVO PARA
DETERMINAR EL CONTENIDO DE NITRÓGENO FOLIAR
EN *Fragaria vesca* VARIEDAD: FESTIVAL"**

AUTOR: YÉPEZ TIRADO, DENNISSE ESTEFANÍA

DIRECTOR: ING. LANDÁZURI ABARCA, PABLO ANIBAL MSg.

SANGOLQUÍ

2018



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, "**EVALUACIÓN DE UN MÉTODO NO DESTRUCTIVO PARA DETERMINAR EL CONTENIDO DE NITRÓGENO FOLLAR EN (*Fragaria vesca*) VARIEDAD: FESTIVAL**" fue realizado por la señorita **Yépez Tirado, Dennisse Estefanía** el mismo que ha sido revisado en su totalidad, analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 7 de septiembre de 2018

Ing. Pablo Landázuri Abarca

C. C: 170826234-8



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD

Yo, *Yépez Tirado, Dennisse Estefanía*, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: *Evaluación de un método no destructivo para determinar el contenido de nitrógeno foliar en (Fragaria vesca) variedad: Festival* es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Consecuentemente el contenido de la investigación mencionada es veraz.

Sangolquí, 7 de septiembre de 2018

A handwritten signature in blue ink that reads 'stephanie' with a stylized flourish.

Dennisse Estefanía Yépez Tirado

C.C. 171913844-6



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

AUTORIZACIÓN

Yo, Yépez Tirado, Dennisse Estefanía autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: Evaluación de un método no destructivo para determinar el contenido de nitrógeno foliar en (Fragaria vesca) variedad: Festival en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 7 de septiembre de 2018

A handwritten signature in blue ink that reads 'Stephanie' followed by a stylized 'A'.

Dennisse Estefanía Yépez Tirado

C.C.: 171913844-6

DEDICATORIA

Llegar hasta este punto es cumplir un sueño, culminar mi carrera que, a lo largo de este tiempo, tan extenso y tan fugaz a la vez, ha sido muy satisfactorio. Y al llegar a la meta quiero dedicar mi trabajo de titulación a:

Mi Papi Fernando Yépez, por el apoyo incondicional para ayudarme a cumplir cada meta y sueños propuestos, impartíendome su ética, honestidad y amor por el mar, además, el cariño por la naturaleza a lo largo de mi vida.

Mi Ponguis (mi mamá) Cruz Tirado, por ser mi amiga y mi fan número uno en cada uno de mis logros, con su amor, su entrega, sus consejos, las largas conversaciones y los valores impartidos desde niña para que sea una mujer y una profesional de bien como lo soy ahora.

A mi hermano Henry, por sus consejos, sus enseñanzas, su experiencia y largas charlas de ética en la vida profesional.

A mi novio David Cevallos, por su tolerancia y su amor; por creer en mí cuando yo dejaba de hacerlo, por amarme, hacerme feliz, además de ayudarme cada día a ser una mejor versión de mí.

Estefanía Yépez Tirado

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer a Dios por permitirme culminar mi carrera y regalarme cada día una oportunidad más para vivir y ser mejor persona.

A mis padres por su apoyo incondicional en cada etapa de mi vida, guiándome, ya que sin su ayuda no hubiera podido llegar hasta donde estoy ahora.

Al ingeniero Pablo Landázuri por su amistad y su apoyo a largo del proyecto de titulación, con sus consejos como maestro y amigo. Muchas gracias por todo.

Al licenciado Marco Taco, por apoyarme en la fase de laboratorio con sus conocimientos y así poder desarrollar y finalizar con éxito esta parte de la investigación.

A mis demás profesores por brindarme sus conocimientos y vivencias a lo largo de mi estadía como estudiante, impartiendo el amor y la entrega por nuestra hermosa carrera.

A la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE y a la carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I, por permitirme ser parte de la mejor universidad del país y ser una profesional de éxito.

A mis amigos, compañeros, conocidos, y miembros del Club de Chacareros IASA, quienes confiaron en mí. Con sus consejos y palabras que de alguna manera indirecta me ayudaron a creer en mí y así poder cumplir los objetivos que me propuse al iniciar mi carrera y me han acompañado a lo largo de mi vida estudiantil.

Estefanía Yépez Tirado

ÍNDICE DE CONTENIDO

CARÁTULA

CERTIFICADO DEL DIRECTOR..... i

AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD..... ii

AUTORIZACIÓN..... iii

DEDICATORIA..... iv

AGRADECIMIENTO..... v

ÍNDICE DE CONTENIDO..... vi

ÍNDICE DE TABLAS..... xii

ÍNDICE DE FIGURAS..... xiv

RESUMEN..... xv

ABSTRACT..... xvi

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes..... 1

1.2 Justificación..... 2

1.3 El Problema..... 3

1.4 Los Efectos..... 3

1.5 Las Causas..... 3

1.6 Objetivos..... 4

1.6.1 Objetivo General..... 4

1.6.2 Objetivos Específicos..... 4

1.7 Hipótesis..... 5

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1	Origen de la “fresa”	6
2.1.1	Morfología de la “fresa”	6
2.1.2	Variedades de la “fresa”	7
2.1.3	Variedades de día corto	7
2.1.4	Variedades de día Neutro	7
2.1.5	Principales Variedades cultivadas	7
2.1.5.1	Festival	7
2.1.5.2	Oso Grande.....	8
2.1.5.3	Diamante	8
2.1.5.4	Albión.....	8
2.2	Clorofila y sus funciones.....	8
2.2.1	Métodos no destructivos para medir clorofila.....	9
2.2.2	Medidor de clorofila Hansatech CL-01	9
2.2.3	Métodos destructivos para obtención de clorofila.....	10
2.2.4	Extractantes para la obtención de la clorofila	10
2.2.4.1	Acetona.....	10
2.2.4.2	Etanol	11
2.2.4.3	Metanol.....	12
2.2.5	Clorofila para medir nitrógeno	12
2.3	El nitrógeno	13
2.3.1	Análisis foliar en nitrógeno como método de diagnóstico en los diferentes cultivos	14

2.3.2	Métodos analíticos para medir nitrógeno foliar	15
2.3.2.1	Método de Kjeldahl	15
2.3.2.2	Método de Dumas	15
2.3.2.3	Métodos radio químicos	16

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1	Ubicación del lugar de investigación	17
3.2	Materiales	18
3.3	Métodos	18
3.3.1	Medición en campo de clorofila en hojas de “fresa” <i>F. vesca</i>	18
3.3.2	Preparación de la muestra para la obtención de clorofila en las hojas de “fresa” <i>F. vesca</i>	19
3.3.3	Extracción de la clorofila de las hojas de “fresa” <i>F. vesca</i>	20
3.3.4	Diseño Experimental	21
3.3.4.1	Factores probados en la primera fase de la investigación	21
3.3.4.2	Tratamientos comparados en la primera fase de la investigación.	21
3.3.4.3	Tipo de Diseño Experimental en la primera fase de la investigación.	22
3.3.4.4	Repeticiones en la primera fase de la investigación.	22
3.3.4.5	Características de U.E en la primera fase de la investigación.	22
3.3.4.6	Croquis Experimental en la primera fase de la investigación.	23
3.3.4.7	Análisis Estadístico	23
3.3.4.8	Esquema de Análisis de Varianza	24
3.3.4.9	Modelo matemático del ensayo	24
3.3.4.10	Coefficiente de variación	24

3.3.4.11	Análisis funcional.....	25
3.3.5	Variables analizadas en la primera fase de la investigación	25
3.3.5.1	Medición de la clorofila con Hansatech CL-01	25
3.3.5.2	Extracción y medición de la clorofila en laboratorio	25
3.3.6	Medición de la clorofila en el campo en hojas de “fresa” <i>F. vesca</i> con el medidor Hansatech CL-01.....	25
3.3.7	Preparación de la muestra de hojas de “fresa” <i>F. vesca</i> para la evaluación de nitrógeno en laboratorio.....	26
3.3.8	Comparación de los resultados en laboratorio y con el equipo de acuerdo al nitrógeno por métodos estadísticos.....	26
3.3.9	Diseño Experimental.....	26
3.3.9.1	Factores probados en la segunda fase de la investigación.	26
3.3.9.2	Tratamientos probados en la segunda fase de la investigación.	26
3.3.9.3	Tipo de diseño en la segunda fase de la investigación.	27
3.3.9.4	Repeticiones en la segunda fase de la investigación.	27
3.3.9.5	Características de las UE en la segunda fase de la investigación.....	27
3.3.9.6	Croquis experimental	27
3.3.9.7	Análisis Estadístico	27
3.3.9.8	Esquema del análisis de varianza.....	28
3.3.9.9	Modelo matemático del ensayo.....	28
3.3.9.10	Coefficiente de variación.....	28
3.3.9.11	Análisis funcional.....	28
3.3.10	Variables analizadas en la segunda fase de la investigación.....	29

3.3.10.1	Determinación del extractante más efectivo para la extracción de clorofila en las plantas de “fresa” <i>F. vesca</i>	29
3.3.10.2	Medición del porcentaje de nitrógeno Total	29
3.3.10.3	Clorofila	29
3.3.11	Métodos específicos de manejo del experimento.....	30
3.3.11.1	Preparación del Sustrato para el trasplante de las “fresas”	30
3.3.11.2	Trasplante de las plantas de “fresa”	31
3.3.11.3	Medición del área foliar y peso de las hojas para la homogenización de la muestra	31
3.3.11.4	Fertilización de las “fresas”	31
3.3.11.5	Solución nutritiva para las “fresas”	32
3.3.11.6	Riego de las “fresas”	34
3.3.11.7	Plagas y Enfermedades en la “fresa”	35

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1	Resultados	36
4.1.1	Medición de clorofila mediante medidor de clorofila.....	36
4.1.2	Medición de clorofila A (Ch-a), clorofila B (Ch-b) y clorofila Total (Ch-t), mediante los métodos de extracción.....	37
4.1.3	Medición de clorofila A (Ch-a), clorofila B (Ch-b) y clorofila Total (Ch-t) mediante los métodos de extracción para los diferentes extractantes	38
4.1.4	Medición de las Variables Agronómicas del Proyecto	40
4.1.5	Medición de Nitrógeno en plantas de “fresa” <i>F. vesca</i>	42
4.2	Discusión.....	43

CAPÍTULO V**CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

5.1	Conclusiones	46
5.2	Recomendaciones.....	47
5.3	Bibliografía.....	48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	<i>Ecuaciones para la obtención de clorofila en laboratorio medidas en $\mu\text{g/ml}$.</i>	21
Tabla 2	<i>Factores probados en el experimento de las hojas de “fresa” <i>F. vesca</i>.</i>	22
Tabla 3	<i>Análisis de varianza para con el mejor extractante para la obtención de clorofila en las hojas de “fresa” <i>Fragaria vesca</i>.</i>	24
Tabla 4	<i>Análisis de varianza con los diferentes niveles de nitrógeno en las hojas de “fresa” <i>Fragaria vesca</i>.</i>	28
Tabla 5	<i>Solución nutritiva al 100% de micro y macro nutrientes para la fertilización de “fresa” <i>F. vesca</i>.</i>	32
Tabla 6	<i>Solución nutritiva al 66,66% de micro y macro nutrientes para la fertilización de “fresa” <i>F. vesca</i>.</i>	33
Tabla 7	<i>Solución nutritiva al 33,33% de micro y macro nutrientes para la fertilización de “fresa” <i>F. vesca</i>.</i>	34
Tabla 8	<i>Plagas y enfermedades comunes en las “fresas” <i>F. vesca</i>.</i>	35
Tabla 9	<i>Medición de clorofila para Frutilla <i>Fragaria vesca</i> var. Festival para las etapas de Floración tipo A, B y C</i>	36
Tabla 10	<i>Medición de clorofila A (Ch-a), clorofila B (Ch-b) y clorofila Total (Ch-t) para Frutilla <i>Fragaria vesca</i> var. Festival para las etapas de Floración tipo A, B y C</i>	37
Tabla 11	<i>Medición de clorofila A (Ch-a), clorofila B (Ch-b) y clorofila Total (Ch-t) para Frutilla (<i>Fragaria vesca</i> var. Festival) para los extractantes: Acetona (Ac), Etanol (Eth) y Metanol (Mth).</i>	39
Tabla 12	<i>Medición de las variables agronómicas para Frutilla <i>Fragaria vesca</i> var. Festival para los diferentes tratamientos: 0, 33, 66 y 100% de nitrógeno.</i>	41

Tabla 13 *Cantidad de nitrógeno y clorofila en los diferentes tratamientos en plantas de**“fresa” F. vesca..... 42*

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Mapa Satelital de la Ubicación Geográfica del IASA I.....	17
Figura 2	Medición de la Clorofila en campo con el Medidor Hansatech CL-01	19
Figura 3	Preparación de la muestra, para extracción de Clorofila con los diferentes Extractantes	20
Figura 4	Croquis experimental de la primera Fase de campo de las hojas de “fresa” <i>F. vesca</i>	23
Figura 5	Croquis Experimental de la segunda fase de campo de los diferentes niveles de Nitrógeno	27
Figura 6	Preparación del Sustrato	30
Figura 7	Trasplante de las plantas de “fresa” <i>F. vesca</i>	31
Figura 8	Riego de las plantas de “fresa” <i>F. vesca</i> , con la Solución Nutritiva	34
Figura 9	Cantidad de clorofila A (Ch-a), clorofila B (Ch-b) y clorofila Total (Ch-t) <i>Fragaria vesca</i> var. Festival para las etapas de Floración tipo A, B y C	38
Figura 10	Cantidad de clorofila A (Ch-a), clorofila B (Ch-b) y clorofila Total (Ch-t) Frutilla (<i>Fragaria vesca</i> var. Festival) para los extractantes: Acetona, Etanol y Metanol.....	39

RESUMEN

La presente investigación fue realizada en la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE en la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I, con la finalidad de determinar la correlación entre la cantidad de clorofila medida por el equipo Hansatech CL-01 y el porcentaje de nitrógeno en plantas de “fresa” *Fragaria vesca*. En la actualidad en Ecuador no existe un método no destructivo para cuantificar la cantidad de clorofila de forma inmediata en el campo. En la investigación se utilizaron métodos destructivos para la extracción de clorofila y su comparación con el medidor Hansatech CL-01 en plantas de “fresa” *Fragaria vesca* variedad Festival a diferentes niveles de nitrógeno. Se estructuró un diseño completamente al azar en parcela dividida para este estudio, los factores estudiados fueron las etapas de floración a las cinco, seis y siete semanas después de trasplante y los solventes: acetona, etanol y metanol a los diferentes niveles de nitrógeno: 0, 33, 66 y 100%. La extracción más alta de clorofila total (Ch-t) se obtuvo con etanol (90,32µg/ml) en la etapa de floración tipo C (a las siete semanas después del trasplante). El análisis determinó que los métodos bioquímicos para la extracción de clorofila no tienen una correlación con los resultados obtenidos a partir del equipo Hansatech CL-01 para plantas de “fresa” *F. vesca*. La cantidad de nitrógeno se puede predecir a partir de la interpolación de datos obtenidos con el medidor de clorofila Hansatech CL-01.

PALABRAS CLAVE:

-) **HANSATECH CL-01**
-) **FRESA**
-) **ETANOL**
-) **INTERPOLACIÓN DE DATOS**

ABSTRACT

The present investigation was conducted at the University of the Armed Forces ESPE in the Agricultural Engineering Degree IASA I, with the purpose of determining the correlation between the amount of chlorophyll measured by the Hansatech CL-01 equipment and the percentage of nitrogen in plants of strawberry *Fragaria vesca*. Currently in Ecuador there is no non-destructive method to quantify the amount of chlorophyll immediately in the field. The research used destructive methods for the extraction of chlorophyll and its comparison with the meter Hansatech CL-01 in strawberry plants *Fragaria vesca* Festival variety at different levels of nitrogen. A completely randomized design was divided into divided plot for this study, the factors studied were the flowering stages at five, six and seven weeks after transplantation and the solvents: acetone, ethanol and methanol at the different nitrogen levels: 0, 33, 66 and 100%. The highest extraction of total chlorophyll (Ch-t) was obtained with ethanol (90.32 $\mu\text{g} / \text{ml}$) in the flowering stage type C (at seven weeks after transplantation). The analysis determined that the biochemical methods for the extraction of chlorophyll do not correlate with the results obtained from the Hansatech CL-01 equipment for strawberry plants *F. vesca*. The amount of nitrogen can be predicted from the interpolation of data obtained with the chlorophyll meter Hansatech CL-01.

KEYWORDS:

-) HANSATECH CL-01
-) STRAWBERRY
-) ETHANOL
-) INTERPOLATION OF DATA

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

La “fresa” *Fragaria vesca* es un cultivo de origen europeo introducido en el continente en el siglo XIX considerado relativamente nuevo, es muy importante en la zona andina ecuatoriana, ya que existen 680 hectáreas cultivadas en la actualidad. El cultivo de “fresa” se concentra en las provincias de la sierra ecuatoriana como son: Pichincha, Imbabura, Tungurahua, parte de Chimborazo y Azuay. Su mayor producción se desarrolla principalmente en la provincia de Pichincha (El Agro, 2016). En Ecuador no existen métodos para estimar los contenidos de los nutrientes en el campo. Una de las técnicas más recientes es el uso de medidores de clorofila (método no destructivo), con la cual se puede estimar la cantidad de nitrógeno en los cultivos; como el trabajo realizado por Novoa & Villagrán (2000) en hojas de maíz.

El uso de los medidores de clorofila utilizados en el campo ha sido de gran ayuda para no descartar plantas por daños físicos por el uso de métodos convencionales, siendo estos equipos de fácil uso y calibración de acuerdo a la fenología de la planta y necesidades del investigador. Al usar método de diagnóstico no destructivos, en uvas de mesa chilenas se alcanzó mayor rendimiento (Callejas, 2013).

La estimación del contenido de clorofila en “fresas” sirve para comparar el rendimiento de los nutrientes en las plantas, utilizando métodos no destructivos en el campo como es el caso del estudio de Sid'ko & Botvich (2015) en granos de trigo, cebada y avena en campo abierto.

En la Universidad Politécnica Salesiana en conjunto con la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, en la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I, se han realizado

investigaciones sobre la concentración de nitrógeno y la cantidad de clorofila en plantas de mora, que fueron medidas a través del medidor de clorofila en las hojas tanto in vitro como en sustrato (Vaca & Landázuri, 2013).

En la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, en la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I, se han realizado investigaciones en cuanto al uso, calibración y medición de clorofila con el medidor CCM-51 en plantas de chocho en relación a varios elementos en las hojas (Gálvez, 2009).

1.2 Justificación

Hasta el momento no se ha desarrollado un método de diagnóstico no destructivo en Ecuador, inmediato y confiable en cuanto a la cantidad de absorción de nitrógeno en “fresa” *Fragaria vesca* presente en el follaje y su eficiencia en la planta.

El diagnóstico rápido a través de un medidor de clorofila favorece a la toma de decisiones en la corrección de nitrógeno tanto a nivel técnico y del agricultor, mejorando sus ingresos al incrementar sus rendimientos.

Al momento existen técnicas de cuantificación de clorofila y su relación con la deficiencia de nitrógeno en otros cultivos. Por esta razón se han realizado diferentes investigaciones, mediante la utilización de métodos no destructivos para medir adecuadamente la cantidad de nitrógeno a aplicarse y aprovechar el máximo de producción (Novoa & Villagrán , 2002). En el mercado se han fabricado equipos especializados para medir clorofila en plantas, facilitando un diagnóstico rápido en las condiciones del agricultor.

Para la utilización de esta técnica es importante tomar en cuenta los estadios fenológicos del cultivo, así como el punto específico en la hoja para tomar los datos con el equipo ya calibrado en

las diferentes muestras y así poder determinar la cantidad de clorofila emitida por la planta (Callejas et al., 2013) de “fresa” *Fragaria vesca*.

Es importante establecer la cantidad óptima aplicada de nitrógeno en las diferentes etapas de un cultivo (Vaca & Landázuri, 2013), para optimizar un plan de fertilización adecuado, comparando el rendimiento en cuanto al nitrógeno foliar con respecto a la cantidad de clorofila en las hojas y la relación en la productividad de los cultivos.

1.3 El Problema

En Ecuador todavía no se han desarrollado estudios e investigaciones para la determinación de métodos no destructivos a nivel del campo para la medir la cantidad de clorofila y compararse con las deficiencias de los diferentes nutrientes en las plantas de “fresa” *Fragaria vesca* como es el caso del nitrógeno.

1.4 Los Efectos

El efecto principal de una deficiencia de nitrógeno es de nivel económico ya que disminuye el rendimiento del cultivo por del desconocimiento de pruebas de diagnóstico rápido en el campo para la medición de clorofila y su comparación con la cantidad de nitrógeno foliar en “fresa” *F. vesca*, obteniendo baja calidad en el producto final por la deficiencia de los nutrientes sobre todo el nitrógeno; lo cual baja los réditos y la producción no es rentable.

1.5 Las Causas

Los agricultores dedicados a la producción de las “fresas” por falta de conocimiento no realizan diagnósticos de nutrientes como es el caso del nitrógeno, por esta razón se tiene pérdidas significativas no cuantificadas en el cultivo, lo que genera una baja producción. En la actualidad tampoco existen investigaciones para desarrollar el uso de métodos no destructivos mediante medidores como Hansatech CL-01 para comparar la cantidad de clorofila en las plantas de

“fresa” *F. vesca* y la deficiencia de los nutrientes. Los agricultores y productores muchas de las veces no se encuentran capacitados para el uso de nuevas tecnologías de diagnóstico en el campo lo cual genera desequilibrio social en quienes se dedican a esta actividad ya que se generan mayores pérdidas en la producción de frutilla.

1.6 Objetivos

1.1.1 Objetivo General

Evaluar el contenido de clorofila mediante el medidor Hansatech CL-001 para determinar por correlación la concentración de nitrógeno foliar en *Fragaria vesca* variedad: festival a través del contraste con los métodos analíticos de Dumas o Kjeldahl en diferentes niveles de nitrógeno utilizados en la fertilización con las diferentes soluciones nutritivas.

1.1.2 Objetivos Específicos

-)] Determinar el extractante más eficiente en laboratorio y su relación con las mediciones de clorofila foliar realizadas con el equipo Hansatech CL-01 en campo.
-)] Determinar la relación entre el contenido de clorofila, con el medidor Hansatech CL-01 y el contenido de nitrógeno foliar de “fresa” *F. vesca* para establecer un sistema de diagnóstico rápido en campo.
-)] Evaluar diferentes niveles de nitrógeno en la fertilización en plantas de “fresa” *F. vesca* con las diferentes soluciones nutritivas y su relación con la medición de clorofila por medio del medidor Hansatech CL-01 en el campo.

1.7 Hipótesis

H₀: Existe una relación entre el contenido de clorofila foliar en “fresa” *F. vesca* con los diferentes niveles de nitrógeno.

H₁: No Existe una relación entre el contenido de clorofila foliar en “fresa” *F. vesca* con los diferentes niveles de nitrógeno.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1 Origen de la “fresa”

La “fresa” (*Fragaria sp.*), se cultivaba originalmente en Europa como es el caso de *Fragaria vesca* y *Fragaria alpina*, que son de tamaño pequeño y con excelente calidad organoléptica; con el descubrimiento de América, y con la llegada de los españoles a Latinoamérica se han desarrollado varias especies para la frutilla; como es el caso de estas dos especies que son de mayor tamaño. Una de ellas se la descubrió en Chile *Fragaria chiloensis* y otra en Estados Unidos *Fragaria virginiana*; estas dos últimas al presentar mayor tamaño tomaron el nombre de fresones, siendo en la actualidad estas plantas muy apetecidas por el mercado tanto nacional como internacional (MAG, 2012).

2.1.1 Morfología de la “fresa”

La “fresa” *Fragaria vesca*, es una planta pequeña no mayor a los 50 centímetros de altura con un gran número de hojas de forma tribuladas y peciolo largos, las cuales se originan en la corona (rizoma) muy corta, estas se encuentran al nivel del suelo constituyendo la base para el crecimiento de la planta, las plantas de “fresa”, tienen en su constitución tres tipos de yemas diferentes, las cuales unas dan origen al tallo que crecen al lado del principal, otras a los estolones (dan origen nuevas plantas) y finalmente las últimas yemas dan origen a los racimos florales. Las flores de la frutilla son hermafroditas y estas se agrupan en forma de racimos; la parte comestible de la “fresa” en realidad es un fruto falso, que se da por el engrosamiento del receptáculo floral y en este se encuentran gran cantidad de semillas muy pequeñas llamadas aqueninos. Las raíces de la “fresa” son fibrosas y de poca profundidad (MAG, 2012).

2.1.2 Variedades de la “fresa”

Las variedades de frutilla se clasifican de acuerdo a sus requerimientos de horas de luz del día, en variedades de día corto y variedades de día neutro.

2.1.3 Variedades de día corto

Grupo de variedades de plantas de “fresa” *Fragaria vesca* que requieren días cortos (menos de 14 h de luz) para desarrollar yemas florales. Presentan generalmente dos períodos de cosecha en la temporada (INIA, 2008).

2.1.4 Variedades de día Neutro

Grupo de variedades de plantas de “fresa” *F. vesca* que sólo requieren temperaturas adecuadas (sobre 12 °C en suelo) para desarrollar yemas florales. Presentan una producción y calibre de fruto más homogéneo a lo largo de la temporada. Son variedades con muy buena aptitud para el mercado fresco, que además representan una excelente alternativa comercial para producción fuera de temporada a través de cultivo forzado (túnel o invernadero) (INIA, 2008).

2.1.5 Principales Variedades cultivadas

2.1.5.1 Festival

Variedad de día corto originaria de México a partir de una planta madre en viveros del mismo país. Con frutos de tamaño similar a Sweet Charlie. Un poco sensible a *Verticillium dahliae* y antracnosis del fruto. El fruto es similar en tamaño y tiene rendimientos iniciales más altos que Camarosa. Fruto de forma cónica, el color externo es rojo oscuro y el interno rojo brillante. En la actualidad es una variedad de mayor adaptabilidad a todos los climas y con un gran número de hectáreas en producción (Sánchez *et al.*, 2010).

2.1.5.2 Oso Grande

Variedad californiana, cuyo inconveniente es la tendencia del fruto al rajado. No obstante, presenta buena resistencia al transporte y es apto para el mercado en fresco, de color rojo anaranjado. Se aconseja una densidad de plantación de 6-7 plantas/m², colocadas en caballones cubiertos de plástico, con riego localizado y líneas pareadas (El Agro, 2016).

2.1.5.3 Diamante

Se caracteriza por su gran calidad de fruto, excelente sabor y tamaño de fruto (entre 30-31 gramos por fruto). La forma de la planta es más compacta, produce menos cantidad de fruta pequeña y por tanto el porcentaje de desecho es menor que en Selva. El color interno del fruto es más claro que otras variedades de día neutro, por lo tanto no es tan indicado para el procesado como lo es para el mercado fresco (El Agro, 2016).

2.1.5.4 Albión

Variedad con excelente sabor, calidad y preferida por comercializadores y consumidores. Frutas grandes cónicas y alargadas con color rojo intenso. Planta mediana de fácil recolección de fruta. Excelente sabor y buen comportamiento en post cosecha. Rendimientos parecidos a Diamante y un poco menos que Aroma Monterrey Es similar a San Andreas, sus principales diferencias son el sabor y el vigor de la planta, el sabor es muy dulce, entendiéndose dulzura por la falta de acidez (El Agro, 2016).

2.2 Clorofila y sus funciones

La clorofila es el pigmento fotorreceptor responsable de la primera etapa en la transformación de la energía de la luz solar en energía química. Se encuentra en orgánulos específicos, los cloroplastos, asociada a lípidos y lipoproteínas, así como también es la responsable del color verde de las plantas y como ya se mencionó de otros organismos vivos; esta transforma la luz

solar en energía natural mediante la fotosíntesis, existen 5 diferentes tipos de clorofila (a, b, c, d & e) pero las plantas contienen a y b principalmente. Por esta razón la función de la clorofila es principalmente la fotosíntesis, el papel de la clorofila en la fotosíntesis es la absorción de fotones de luz con la consiguiente excitación de un electrón el cual cede su energía y así de esta manera vuelve al estado normal y la clorofila completa su acción convirtiéndose en energía lumínica natural (EcuRed, 2017).

2.2.1 Métodos no destructivos para medir clorofila

El contenido en clorofilas juega un papel importante en las plantas cultivadas ya que está positivamente correlacionado con la fotosíntesis (Gummuluru *et al.* 2009), por tanto, la reducción en el contenido en clorofilas puede ser considerada como una respuesta de las plantas al estrés (Tenga *et al.* 2009). Esta reducción de la clorofila puede perjudicar el proceso fotosintético conduciendo a una reducción en la fijación de carbono, de ahí la importancia de conocer el contenido en clorofilas de las plantas cuando las condiciones medioambientales no son óptimas, por esta razón se han creado equipos especializados para la medición de la clorofila en las plantas, evitando la destrucción del follaje y con resultados más exactos (González A. , 2009).

2.2.2 Medidor de clorofila Hansatech CL-01

Se requiere equipo especializado para el análisis de la fluorescencia de clorofila. Un medidor de clorofila está diseñado específicamente para detectar la emisión de fluorescencia de clorofila de una muestra. Hay varios tipos diferentes de fluorímetro de clorofila disponibles. Hansatech Instruments diseña y fabrica medidores de clorofila basados en dos técnicas de medición diferentes; como es el caso de los Fluorímetros de clorofila modulados por pulso, el cual utiliza una metodología electrónica sofisticada para separar la fluorescencia de la clorofila de la luz ambiental. Los sistemas logran esto usando una luz de excitación rápida capaz de inducir una

emisión de luz floreciente correspondiente. El medidor de clorofila utiliza un fotodiodo altamente sensible para detectar y registrar la señal de fluorescencia pulsada e ignorar cualquier señal no pulsada (HANSATECH, 2017).

2.2.3 Métodos destructivos para obtención de clorofila

La medición de clorofila por métodos destructivos muchas de las veces requiere de un proceso lento, laborioso, incómodo y sobre todo de altos costos, por lo cual se dificulta la toma de decisiones inmediatas para la utilización de estos métodos. Muchas de las veces las especies necesitan tratamientos previos para su trasplante y esto limita los usos de este método como herramienta de diagnóstico para obtener el contenido de clorofila en las diferentes especies vegetales (Murillo *et al.*, 2004)

La capacidad para predecir el contenido de la clorofila en la hoja, con base en lecturas de fluorescencia o de reacción instantánea a un haz de luz, ha sido demostrada para diferentes especies vegetales (Larios *et al.*, 2009).

2.2.4 Extractantes para la obtención de la clorofila

2.2.4.1 Acetona

La Acetona es una sustancia química presente en la naturaleza, contenida en plantas (cebollas, tomates, uvas), en alimentos tales como la leche, árboles, en los gases volcánicos, en incendios forestales; en el cuerpo humano, se encuentra como uno de los metabolitos de la sangre y como un producto de la descomposición de la grasa corporal. Está presente en los gases de combustión de los vehículos, el humo del tabaco y rellenos de seguridad. Los procesos industriales aportan una mayor cantidad de acetona al ambiente que los procesos naturales. Es un líquido incoloro con un olor dulce similar al de las frutas y un sabor característico. Se evapora fácilmente, es inflamable y muy soluble tanto en agua como en solventes orgánicos tales como el éter, metanol,

y etanol. La Acetona se usa en la fabricación de plásticos, fibras, drogas y otros químicos. También se usa como solvente (IDEAM, 2009)

2.2.4.2 Etanol

El etanol es un líquido incoloro, volátil, con un olor característico y sabor picante. También se conoce como alcohol etílico. Sus vapores son más pesados que el aire. Se obtiene, principalmente, al tratar etileno con ácido sulfúrico concentrado y posterior hidrólisis. Algunas alternativas de síntesis son: hidratación directa de etileno en presencia de ácido fosfórico a temperaturas y presiones altas y por el método Fischer-Tropsch, el cual consiste en la hidrogenación catalítica de monóxido de carbono, también a temperaturas y presiones altas. De manera natural, se obtiene a través de fermentación, por medio de levaduras a partir de frutas, caña de azúcar, maíz, cebada, sorgo, papas y arroz entre otros, generando las variadas bebidas alcohólicas que existen en el mundo. Después de la fermentación puede llevarse a cabo una destilación para obtener un producto con una mayor cantidad de alcohol. El etanol se utiliza industrialmente para la obtención de acetaldehído, vinagre, butadieno, cloruro de etilo y nitrocelulosa, entre otros. Es muy utilizado como disolvente en síntesis de fármacos, plásticos, lacas, perfumes, cosméticos, etc. También se utiliza en mezclas anticongelantes, como combustible, como antiséptico en cirugía, como materia prima en síntesis y en la preservación de especímenes fisiológicos y patológicos. El llamado alcohol desnaturizado consiste en etanol al que se le agregan sustancias como metanol, isopropanol o, incluso, piridinas y benceno. Estos compuestos desnaturizantes son altamente tóxicos por lo que, este tipo de etanol, no debe de ingerirse (IDEAM, 2009).

2.2.4.3 Metanol

El Metanol es un líquido incoloro, volátil e inflamable con un ligero olor alcohólico en estado puro. Es un líquido altamente venenoso y nocivo para la salud. Es miscible en agua, alcoholes, ésteres, cetonas y muchos otros solventes; además, forma muchas mezclas azeotrópicas binarias. Es poco soluble en grasas y aceites. Hay métodos analíticos, principalmente la cromatografía de gases (CG) con detección por ionización de llama (DIL), para la determinación del Metanol en diversos medios (aire, agua, suelo y sedimentos) y productos alimenticios, así como para la determinación del Metanol y de su principal metabolito, el formiato, en los líquidos y tejidos corporales. Además de la CG-DIL, en la determinación del formiato en la sangre, la orina y los tejidos se utilizan procedimientos enzimáticos con resultados finales colorimétricos (IDEAM, 2009).

2.2.5 Clorofila para medir nitrógeno

Los valores SPAD se basan en el principio de que parte de la luz que llega a la hoja es absorbida por la clorofila y el resto que se refleja entra en contacto con la celda detectora del SPAD-502 y es convertida en una señal eléctrica. La cantidad de luz captada por la celda es inversamente proporcional a la cantidad de luz utilizada por la clorofila, la señal es procesada, y la absorbancia es cuantificada en valores dimensionales que van de 0 a 199, por lo que las unidades SPAD serán siempre las mismas de acuerdo con el tono verde de las hojas (Krugh *et al.*, 2004).

El contenido de clorofila y la absorción de nitrógeno se han correlacionado con las unidades SPAD en diversas condiciones ambientales como la intensidad luminosa, temperatura, humedad relativa, plagas, densidad de población, fuente de nitrógeno, etc. (Hiderman *et al.*, 2002).

Esta estimación de los valores de clorofila y la comparación con el nitrógeno se dieron a través de la utilización de un equipo medidor SPAD-502 que sirve para medir los niveles de clorofila en las plantas, los valores se detallan a partir de la calibración del mismo, es por esta razón que los datos de correlación entre la clorofila y el nitrógeno dependerá del equipo que se vaya a usar (Rodríguez *et al.*, 2002).

2.3 El nitrógeno

Elemento químico, símbolo N, número atómico 7, peso atómico 14.0067; es un gas en condiciones normales. El nitrógeno molecular es el principal constituyente de la atmósfera (78% por volumen de aire seco). Esta concentración es resultado del balance entre la fijación del nitrógeno atmosférico por acción bacteriana, eléctrica (relámpagos) y química (industrial) y su liberación a través de la descomposición de materias orgánicas por bacterias o por combustión. En estado combinado, el nitrógeno se presenta en diversas formas. Es constituyente de todas las proteínas (vegetales y animales), así como también de muchos materiales orgánicos. Su principal fuente mineral es el nitrato de sodio (LENNETCH, 2010).

El uso eficiente de nitrógeno requiere de la detección previa de su deficiencia y del potencial de respuesta económica a la aplicación de los fertilizantes (Attanandana & Yost, 2003). Como la “fresa” *Fragaria vesca* es un cultivo que requiere altas cantidades de nitrógeno para subir su rendimiento y por la falta de información de la cantidad optima en el cultivo los agricultores aplican generalmente fertilizantes nitrogenados con dosis superiores a 600 kg/ha. Por causa de esta actividad se elevan los costos de producción, generando altos niveles de contaminación ambiental por las altas cantidades de nitrógeno lixiviado a la atmosfera (Vasquéz, Cárdenas, & Lobit, 2008).

En California EE. UU, la mayoría de los cultivares son fertilizados con una dosis que varía entre 112 y 170 kg/ha (Voth, 1991). En Florida EE. UU, la mejor respuesta al nitrógeno en los cultivares Seascape, Oso Grande, y Sweet Charlie, se obtiene en el rango de 50 a 100 kg/ha (Hochmuth *et al.*, 1996). En Carolina del Norte en Estados Unidos de América los requerimientos de unidades de nitrógeno que optimizan el rendimiento de “fresa” en el cultivar Chandler se ubican alrededor de 120 kg/ha (Miner *et al.*, 1997). En España las cantidades totales de unidades de nitrógeno aplicadas al cultivo de “fresa” oscila entre 200 y 250 kg/ha (Cadahia, 2005). No obstante, esta información no se puede extrapolar porque es generada bajo otras condiciones de suelo, clima, agua, variedades y con un sistema de cultivo distinto (Vasquéz, Cárdenas, & Lobit, 2008).

Se entiende que el nitrógeno es muy importante para el desarrollo foliar de la “fresa” *Fragaria vesca*, a mayores cantidades de este nutriente mayor rendimiento presentara el cultivo, ya que induce al crecimiento vegetativo, productividad y calidad de la frutilla, sabiendo que el nitrógeno es absorbido por la planta no directamente sino en forma de NO₃. El déficit de este nutriente disminuye los niveles de producción de antocianinas, pero mejora la calidad organoléptica de la fruta (Kirschbaum & Bórquez, 2000).

2.3.1 Análisis foliar en nitrógeno como método de diagnóstico en los diferentes cultivos

Se ha demostrado que en Mauricio, utiliza la técnica de tomar las muestras con sacabocados, tomando los discos resultantes de la perforación hecha en la tercera hoja, a una edad de 4 a 6 meses para los cultivos de “soca” o retoño, a una edad de 5 a 7 meses; después hace la determinación de nitrógeno por digestión de la muestra con ácido sulfúrico y "nesslerización" (Miller, 2000).

Mientras en Jamaica, también utiliza la tercera hoja completa para la determinación del nitrógeno a la edad de 4 a 5 meses, recomendando la fertilización con base en experimentos anteriores sobre los porcentajes críticos del elemento en la hoja (Miller, 2000).

Para realizar el muestreo foliar es necesario tomar de entre 25 a 40 plantas al azar, la hoja madura más joven; es decir no tomar hojas ni muy jóvenes ni muy maduras. Colocarlas en bolsa de papel perforadas para asegurar una adecuada aireación, adjuntarle la hoja de información de datos y enviarla de inmediato al laboratorio (Chirinos, 2010).

2.3.2 Métodos analíticos para medir nitrógeno foliar

2.3.2.1 Método de Kjeldahl

Se caracteriza por el uso de ebullición, ácido sulfúrico concentrado que efectúa la destrucción oxidativa de la materia orgánica de la muestra y la reducción del nitrógeno orgánico a amoníaco el amonio es retenido como bisulfato de amonio y puede ser determinado in situ o por destilación alcalina y titulación. Presentando como ventajas se lo puede usar a gran escala y especialmente para cereales y es desventajoso este método porque es menos efectivo recuperar el nitrógeno (FAO, 2017).

2.3.2.2 Método de Dumas

Se caracteriza por pirolisis completa de la muestra y medición del contenido de nitrógeno de los gases de combustión. El nitrógeno puede ser medido con manómetro después de absorber el dióxido de carbono en una solución alcalina o por conductividad térmica en métodos automatizados. Su mayor ventaja es que muestra equivalencias satisfactorias al compararlo con el método de Kjeldahl en análisis de forrajes y alimentos infantiles, aunque con valores levemente mayores. Mientras que entre sus desventajas tenemos: Incluye nitrógeno inorgánico, requiere pequeñas cantidades de muestra 5-50 mg, finamente dividida y homogénea para minimizar el

error de muestreo y este método no puede aplicarse a material húmedo por lo que debe efectuarse un secado previo (FAO, 2017).

2.3.2.3 Métodos radio químicos

) Activación neutrónica

Se irradia una cantidad pesada de muestra con neutrones lo que produce el paso de ^{14}N a ^{13}N . Este positrón tiene una vida media de 10 minutos y emite radiaciones gamma las que se registran en un contador de centelleo. Las cuentas se relacionan con el contenido de nitrógeno de la muestra. Las ventajas de este método tenemos que es: Simple; rápido, sin problemas de contaminación, los valores encontrados presentan buena correlación con el método de Kjeldahl. Mientras que como desventaja tenemos que el costo de la infraestructura es muy elevado (FAO, 2017).

) Activación protónica

Similar al anterior con la variante de que la muestra se irradia con protones y se efectúa la conversión de ^{14}N a ^{14}O , un isótopo que decae con la emisión de un protón y de radiaciones gamma las que son registradas y relacionadas con el contenido de nitrógeno de la muestra (FAO, 2017).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación del lugar de investigación

3.1.1 Ubicación Política

La presente investigación se desarrollará en la provincia de Pichincha en el cantón Rumiñahui donde pertenece la parroquia de San Fernando, en la Hacienda. El Prado, IASA I.

3.1.2 Ubicación Geográfica

Carrera de Ingeniería Agropecuarias IASA I.



Figura 1 Mapa Satelital de la Ubicación Geográfica del IASA I

Latitud: 0°23'11.16"S

Longitud: 78°25'1.56"O

Altitud: 2748 m.s.n.m

3.1.3 Ubicación Ecológica

La descripción ecológica del IASA I según Albuja *et al.* (1980), Holdridge (1990) y Sierra *et al.* (1999), citado por Arce (2009):

Piso altitudinal: Montano bajo

Región latitudinal: Templada

Zona de vida: Bosque Húmedo

Altitud: 2748 m.s.n.m.

Temperatura promedio: 13.96 ° C

Precipitación: 1332.72 mm

3.1.4 Condiciones de laboratorio

Temperatura Promedio: 14° C

Temperatura Máxima: 21° C

Temperatura Mínima: 7° C

3.2 Materiales

De campo: Sustrato, macetas de plástico, fertilizantes, fundas ziploc, fundas de papel

Biológicos: Plántulas de “fresa” *Fragaria vesca* variedad festival.

De Laboratorio: Medidor de clorofila, equipos de titulación para Kjeldahl, morteros, pipetas, tubos de ensayo, reactivos (Acetona, metanol, etanol, etc.).

3.3 Métodos

) **Primera fase de la investigación.**

Determinación del extractante más eficiente en laboratorio y su correlación con las mediciones realizadas con el equipo Hansatech CL-01 de clorofila foliar en campo.

3.3.1 Medición en campo de clorofila en hojas de “fresa” *F. vesca*.

En el campo, mediante el medidor Hansatech CL-01 se tomaron muestras en las hojas de “fresas” presentes en el estadio tipo A (Flores abiertas o flores primarias), B (Aparecimiento de flores secundarias) y C (Presencia de Flores terciarias), esto se realizó a las cinco semanas que la

planta alcanzó el punto culminante de floración (Meier, 2001). Las mismas hojas de “fresa” medidas por el medidor de clorofila en el campo se las llevó al laboratorio de química y suelos de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I para proceder a la preparación de las muestras de acuerdo a la metodología establecida de análisis foliar de las “fresas” (Cadahia, 2005).



Figura 2 Medición de la Clorofila en campo con el Medidor

Hansatech CL-01

3.3.2 Preparación de la muestra para la obtención de clorofila en las hojas de “fresa” *F. vesca*.

Una vez trasplantadas las “fresas” y posteriormente a las cinco, seis y siete semanas de estar establecidas, se podaron y se tomaron las muestras foliares en las hojas adultas totalmente desarrolladas (Cadahia, 2005); luego se llevó al laboratorio, para la extracción de clorofila se procedió a probar los diferentes solventes extractores como etanol 96%, metanol y acetona 80% (Sumanta *et al.*, 2014).

Las muestras se llevaron al laboratorio en bolsas de papel identificadas con los diferentes tratamientos, en el menor tiempo posible, a bajas temperaturas para evitar pérdidas excesivas de humedad (Cadahia, 2005).



Figura 3 Preparación de la muestra, para extracción de Clorofila con los diferentes Extractantes

3.3.3 Extracción de la clorofila de las hojas de “fresa” *F. vesca*.

Para la extracción de clorofila se pesó 0,25 gramos de material vegetal de *F. vesca*; el mismo que en el laboratorio se llevó al congelador durante 15 minutos, pasado este tiempo se trituró cada muestra en el mortero y se colocó 2,5ml de alcohol etílico, metanol y acetona. El macerado se puso en frascos ámbar de 30ml y se llevó a refrigeración a 4°C. durante 24 horas. Se retiró de la nevera y se terminó de triturar las muestras en el mortero; el macerado se colocó en tubos de y se aforó a 6,5ml con los diferentes extractantes, para centrifugar durante 15 minutos y homogenizar la muestra. Luego se extrajo la parte líquida de la clorofila colocándose en otros tubos de ensayo, tapándolos para evitar pérdida de los extractantes. Las muestras se midieron en

un espectrofotómetro spectroFlex 6600 (Sumanta *et al.*, 2014) (Anexo 1). Se midió en base a las siguientes ecuaciones como se muestra en la tabla 1:

Tabla 1

Ecuaciones para la obtención de clorofila en laboratorio medidas en $\mu\text{g/ml}$.

Solventes	Ecuaciones
80% Acetona	Ch-a=12,25 ^a _{663,2} -279 ^a _{646,8} Ch-b=21,5 ^a _{646,8} -5,1 ^a _{663,2}
95% Etanol	Ch-a=13,36 ^a ₆₆₄ -5,19 ^a ₆₄₉ Ch-b=27,43 ^a ₆₄₉ -8,12 ^a ₆₆₄
Metanol	Ch-a=16,72 ^a _{665,2} -9,16 ^a _{652,4} Ch-b=34,09 ^a _{652,4} -15,28 ^a _{665,2}

a=Absorción, Ch-a=Clorofila a, Ch-b=Clorofila b.

Fuente: (Sumanta *et al.*, 2014).

3.3.4 Diseño Experimental

3.3.4.1 Factores probados en la primera fase de la investigación

Factor 1: Extractantes

Número	Símbolo	Descripción
1	A	Acetona
2	E	Etanol
3	M	Metanol

Factor 2: Etapas de floración

Número	Símbolo	Descripción
1	F1	Floración Tipo A 5 semanas
2	F2	Floración Tipo B 6 semanas
3	F3	Floración Tipo C 7 semanas

3.3.4.2 Tratamientos comparados en la primera fase de la investigación.

Se comparará la interacción de cada uno de los factores como se muestra en la Tabla 2:

Tabla 2

Factores probados en el experimento de las hojas de “fresa” F. vesca.

Número	Tratamiento	Extractantes	Etapas de Floración	Interacción	Descripción
1	T1	A	F1	AF1	Acetona con Etapa de floración tipo A; 5 semanas de trasplante
2	T2	E	F1	EF1	Etanol con Etapa de floración tipo A; 5 semanas de trasplante
3	T3	M	F1	MF1	Metanol con Etapa de floración tipo A; 5 semanas de trasplante
4	T4	A	F2	AF2	Acetona con Etapa de floración tipo B; 6 semanas de trasplante
5	T1	E	F2	EF2	Etanol con Etapa de floración tipo B; 6 semanas de trasplante
6	T2	M	F2	MF2	Metanol con Etapa de floración tipo B; 6 semanas de trasplante
7	T3	A	F3	AF3	Acetona con Etapa de floración tipo C; 7 semanas de trasplante
8	T4	E	F3	EF3	Etanol con Etapa de floración tipo C; 7 semanas de trasplante
9	T1	M	F3	MF3	Metanol con Etapa de floración tipo C; 7 semanas de trasplante

3.3.4.3 Tipo de Diseño Experimental en la primera fase de la investigación.

Se estableció un diseño de parcela dividida con arreglo factorial 3x3 completamente al azar.

3.3.4.4 Repeticiones en la primera fase de la investigación

Se realizaron cinco repeticiones, de acuerdo a cada uno de los diferentes extractantes ya descritos anteriormente.

3.3.4.5 Características de U.E en la primera fase de la investigación.

Las unidades experimentales fueron los folíolos de las hojas compuestas de “fresa” *Fragaria vesca* variedad festival; en las etapas tipo A (Flores primarias), B (Flores secundarias) y C (Flores terciarias) de la floración de la planta, con cada uno de los diferentes extractantes.

3.3.4.6 Croquis Experimental en la primera fase de la investigación.

Repetición I	Repetición II	Repetición III	Repetición IV	Repetición V
T1	T8	T9	T5	T7
T3	T6	T4	T1	T9
T5	T2	T8	T7	T3
T9	T4	T6	T9	T5
T7	T3	T2	T3	T4
T4	T1	T7	T8	T1
T2	T5	T1	T6	T8
T6	T9	T3	T2	T6
T8	T7	T5	T4	T2

Figura 4 Croquis experimental de la primera Fase de campo de las hojas de “fresa” *F. vesca*

En la parcela grande se expresan cada una de las etapas de floración de las hojas de “fresa” *F. vesca* que son A= Flores primarias, B= Flores secundarias y C= Flores terciarias. Las parcelas pequeñas son cada uno de los extractantes: Acetona, Metanol y Etanol.

3.3.4.7 Análisis Estadístico

Las variables medidor Hansatech CL-01, clorofila A (Ch-a), clorofila B (Ch-b) y clorofila total (Ch-t), se analizaron con modelos mixtos. La estructura de las varianzas se modeló con varianzas independientes para la etapa de floración y extractantes, la normalidad se verificó mediante la prueba de Shapiro Wilk.

3.3.4.8 Esquema de Análisis de Varianza

Tabla 3

*Análisis de varianza para con el mejor extractante para la obtención de clorofila en las hojas de “fresa” *Fragaria vesca*.*

F de V*	gl**
Total	45
Etapas fenológicas	2
Error	12
Extractantes	2
Extractante x Foliolo	4
Error	25

*F de V: Fuente de variación **gl: Grados de libertad

3.3.4.9 Modelo matemático del ensayo

$$Y_{ijk} = \mu + F_i + e(f)k(i) + E_j + FE_{ij} + e(e)_{ijk}$$

Y_{ijk} = Cantidad de clorofila extraída

μ = Media general

F_i = Efecto i-ésima Etapa de Floración

$e(f)k(i)$ = Error de las etapas de floración

E_j = Efecto i-ésimo Extractante

FE_{ij} = Efecto interacción Etapa de Floración X Extractante

$e(e)_{ijk}$ = Error experimental de los Extractantes

3.3.4.10 Coeficiente de variación

Se midió el coeficiente de variación, mediante el porcentaje (%) del error del análisis de varianza con respecto a la media.

3.3.4.11 Análisis funcional

Se realizó la prueba de LSD Fisher a un nivel de significancia del 5% para las pruebas de comparación de medias.

3.3.5 Variables analizadas en la primera fase de la investigación

3.3.5.1 Medición de clorofila con Hansatech CL-01

En las hojas de “fresa” *F. vesca*, se midió con el equipo Hansatech CL-01 ya calibrado a las cinco, seis y siete semanas de haber establecido el proyecto. Tomando en cuenta la temperatura (25°C.) y humedad relativa (60%) adecuadas bajo invernadero para la “fresa” *F. vesca*.

3.3.5.2 Extracción y medición de la clorofila en laboratorio

De acuerdo a los diferentes extractantes se tomó las muestras cortando las hojas de “fresa” *F. vesca*, a las cinco, seis y siete semanas de haber establecido el cultivo para proceder en el laboratorio, se trabajó con las mismas hojas medidas en el campo por el equipo Hansatech CL-01.

) Segunda fase de la investigación

Determinación de la relación entre el contenido de clorofila del medidor y el contenido de nitrógeno en las hojas de “fresa” *F. vesca*.

3.3.6 Medición de la clorofila en el campo en hojas de “fresa” *F. vesca* con el medidor Hansatech CL-01.

En el campo, mediante el medidor Hansatech CL-01 se tomó las muestras en las hojas de “fresa” en la etapa de floración ya determinada en el primer objetivo de la investigación.

3.3.7 Preparación de la muestra de hojas de “fresa” *F. vesca* para la evaluación de nitrógeno en laboratorio.

Las muestras de las hojas de “fresa” *F. vesca*, se sumergieron en una bandeja y se procedió a lavarlas con agua de grifo durante 20 segundos, luego de esto se aplicó una gota de jabón desioizado y se las enjuagó con agua destilada durante 20 segundo; se secaron las muestras en la estufa a 70° C. Finalmente se pulverizó la muestra en el molino y se las colocó en envases para proceder a la medición de nitrógeno, la cual se la realizó por el método de Kjeldahl (Cadahia, 2005).

3.3.8 Comparación de los resultados en laboratorio y con el equipo de acuerdo al nitrógeno por métodos estadísticos.

Los resultados obtenidos a partir de la extracción de clorofila, con el medidor Hansatech CL-01 y los de nitrógeno extraído a través del método de Kjeldahl, se los compararon para obtener las correlaciones y regresiones de las variables: porcentaje de nitrógeno en hojas y clorofila.

3.3.9 Diseño Experimental

3.3.9.1 Factores probados en la segunda fase de la investigación.

Se midió la cantidad de nitrógeno en los siguientes niveles: 100%, 66.66%, 33.33% y 0 %, en las hojas de “fresa” *F. vesca* variedad festival.

Número	Símbolo	Descripción
1	T0	Testigo 0% de nitrógeno: agua destilada
2	T1	Tratamiento 33% nitrógeno: S/N
3	T2	Tratamiento 66% nitrógeno: S/N
4	T3	Tratamiento 100% nitrógeno: S/N

3.3.9.2 Tratamientos probados en la segunda fase de la investigación.

Se determinaron los niveles de nitrógeno para las hojas de “fresa” *F. vesca*.

3.3.9.3 Tipo de diseño en la segunda fase de la investigación.

Se realizó un diseño completamente al azar unifactorial con cuatro repeticiones.

3.3.9.4 Repeticiones en la segunda fase de la investigación.

Para la investigación se realizó cuatro repeticiones para la toma de los datos con los diferentes niveles de nitrógeno.

3.3.9.5 Características de las UE en la segunda fase de la investigación.

Las unidades experimentales fueron las hojas compuestas de “fresa” *Fragaria vesca* variedad festival, de las cuales se tomaron las muestras para la extracción de nitrógeno en cada una de los niveles: (0, 33.3, 66.6 y 100%).

3.3.9.6 Croquis experimental

Repetición I	Repetición II	Repetición III	Repetición IV
T0	T1	T2	T2
T2	T3	T1	T0
T1	T2	T3	T3
T3	T0	T0	T1

Figura 5 Croquis Experimental de la segunda fase de campo de los diferentes Niveles de Nitrógeno

3.3.9.7 Análisis Estadístico

Para las variables altura, número de hojas, número de flores, pH y CE, los datos fueron transformados a $\sqrt{X + 1}$ y se analizaron con análisis de varianza mediante modelos mixtos. La estructura de varianzas se modeló mediante varianzas independientes para los niveles de nitrógeno y la normalidad se analizó con la prueba de Shapiro Wilk.

3.3.9.8 Esquema del análisis de varianza

Tabla 4

Análisis de varianza con los diferentes niveles de nitrógeno en las hojas de “fresa” Fragaria vesca.

<i>F de V*</i>	<i>gl**</i>
Total	16
Niveles de N	3
Error	13

F de V*: Fuente de variación **gl: Grados de libertad

3.3.9.9 Modelo matemático del ensayo

$$Y_{ij} = \mu + N_i + H_j + e_{ij}$$

Y_{ij} = Cantidad de clorofila

μ = Media general

N_i = Error i-ésimo nivel de nitrógeno

H_j = Error i-ésima hoja de “fresa”

e_{ij} = Error muestral

3.3.9.10 Coeficiente de variación

Para medir el coeficiente de variación mediante el porcentaje (%) del error del análisis de varianza con respecto a la media.

3.3.9.11 Análisis funcional

Se realizó la prueba de LSD Fisher y DGC a un nivel de significancia del 5% para la comparación de medias

3.3.10 Variables analizadas en la segunda fase de la investigación

3.3.10.1 Determinación del extractante más efectivo para la extracción de clorofila en las plantas de “fresa” *F. vesca*

En la primera fase de la investigación se determinó que el extractante más efectivo fue el etanol, mediante la extracción de clorofila realizado en las hojas de “fresa” *F. vesca* en el laboratorio a las siete semanas de haber sido establecido el cultivo.

3.3.10.2 Medición del porcentaje de nitrógeno Total

Se midió el nitrógeno total en las hojas de “fresa” *F. vesca*, a partir de la aplicación del método de Kjeldahl (Anexo 2). Este procedimiento se lo llevó cabo una vez determinados el extractante y etapa de floración en la planta. La cantidad de nitrógeno se determinó de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\%N = \frac{1,4(V_1 - V_0)N}{m}$$

Dónde:

m= Masa de la muestra en gramos

V₁= VHCl 0,1N

V₀= VHCl blanco

N= Normalidad HCl

Fuente: Laboratorio de suelos y química del IASA I.

3.3.10.3 Clorofila

Se midió la cantidad de clorofila con el medidor Hansatech CL-01 en cada uno de los folíolos de las hojas de “fresa” *F. vesca* a las siete semanas de haber realizado el trasplante

3.3.10.4 Variables agronómicas

Se realizó la medición de las variables agronómicas: altura, número de hojas, número de flores, en la segunda fase de la investigación en las plantas de “fresa” *Fragaria vesca*. De igual forma el pH y CE, como información adicional a la investigación.

Para la altura se utilizó un flexómetro en centímetros en los diferentes tratamientos con los niveles de nitrógeno, se midió desde la base del tallo hasta la hoja adulta más alta en la etapa de floración tipo C (7 semanas después del trasplante).

Se contaron el número de hojas y flores en las plantas de “fresa” *F. vesca* a las siete semanas de haberse establecido el cultivo.

El pH y la CE se midieron con los diferentes niveles de nitrógeno con el equipo HI 991300, tomando una muestra de la lixiviación residual en las macetas de las plantas de “fresa” *F. vesca* regadas con las diferentes soluciones nutritivas a las siete semanas de haberse establecido el cultivo.

3.3.11 Métodos específicos de manejo del experimento

3.3.11.1 Preparación del Sustrato para el trasplante de las “fresas”

El sustrato utilizado en el trasplante de las “fresas” *F. vesca*, tuvo la siguiente relación: 50% Fibra de coco, 25% cascarilla de arroz y 25% pomina blanca.



Figura 6 Preparación del Sustrato

3.3.11.2 Trasplante de las plantas de “fresa”

Las plantas de “fresa” *F. vesca*, se trasladaron en sustrato en macetas plásticas con un volumen de capacidad de 2 litros.



Figura 7 Trasplante de las plantas de “fresa” *F. vesca*

3.3.11.3 Medición del área foliar y peso de las hojas para la homogenización de la muestra

Se tomó una hoja de cada planta de “fresa” *F. vesca*, en las diferentes etapas de floración y se las midió y pesó para homogenizar las muestras.

3.3.11.4 Fertilización de las “fresas”

Se realizó la fertilización de acuerdo a la solución nutritiva de Furlani & Fernández (2004), con una modificación del nitrógeno en 33 y 66% como se muestra en las tablas 5,6 & 7:

3.3.11.5 Solución nutritiva para las “fresas”

Tabla 5

Solución nutritiva al 100% de micro y macro nutrientes para la fertilización de “fresa” F. vesca.

COMPUESTO	mg/L(100%S/N)	mg/L	SOLUCIÓN 100X	
			gramos	10L
NH ₄ NO ₃	64	6400	6,4	64
Ca(NO ₃) ₂	426,4	42640	42,64	426,4
KNO ₃	232,3	23230	23,23	232,3
CaCl ₂	0	0	0	0
KCl	0	0	0	0
KH ₂ SO ₄	217,6	21760	21,76	217,6
MgSO ₄	180	18000	18	180
Fe(SO ₄)	16,58	1658	1,658	16,58
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·7H ₂ O	3,48	348	0,348	3,48
MnSO ₄	4,97	497	0,497	4,97
CuSO ₄	1,36	136	0,136	1,36
ZnSO ₄	4,89	489	0,489	4,89
H ₃ BO ₃	16,02	1602	1,602	16,02

Fuente: Furlani & Fernández 2004; modificado por el autor.

Tabla 6

Solución nutritiva al 66,66% de micro y macro nutrientes para la fertilización de “fresa” F. vesca.

COMPUESTO	mg/L (66,66% S/N)	mg/L	SOLUCIÓN 100X	
			gramos	10L
NH ₄ NO ₃	42,66	4266	4,266	42,66
Ca(NO ₃) ₂	284,24	28424	28,424	284,24
KNO ₃	154,85	15485	15,485	154,85
CaCl ₂	192,59	19259	19,259	192,59
KCl	144,06	14406	14,406	144,06
KH ₂ SO ₄	217,6	21760	21,76	217,6
MgSO ₄	180	18000	18	180
Fe(SO ₄)	11,05	1105	1,105	11,05
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·7H ₂ O	2,31	231	0,231	2,31
MnSO ₄	3,31	331	0,331	3,31
CuSO ₄	0,91	91	0,091	0,91
ZnSO ₄	3,26	326	0,326	3,26
H ₃ BO ₃	10,68	1068	1,068	10,68

Fuente: Furlani & Fernández 2004; modificado por el autor.

Tabla 7

Solución nutritiva al 33,33% de micro y macro nutrientes para la fertilización de “fresa” F. vesca.

COMPUESTO	mg/L (33.33% S/N)	mg/L	SOLUCIÓN 100X gramos	10L
NH ₄ NO ₃	21,33	2133	2,133	21,33
Ca(NO ₃) ₂	142,12	14212	14,212	142,12
KNO ₃	107,76	10776	10,776	107,76
CaCl ₂	96,02	9602	9,602	96,02
KCl	57,4	5740	5,74	57,4
KH ₂ SO ₄	217,6	21760	21,76	217,6
MgSO ₄	180	18000	18	180
Fe(SO ₄)	5,53	553	0,553	5,53
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·7H ₂ O	1,16	116	0,116	1,16
MnSO ₄	1,66	166	0,166	1,66
CuSO ₄	0,45	45	0,045	0,45
ZnSO ₄	1,63	163	0,163	1,63
H ₃ BO ₃	5,34	534	0,534	5,34

Fuente: Furlani & Fernández 2004; modificado por el autor.

3.3.11.6 Riego de las “fresas”

El riego de las plantas de “fresa” se realizó de la siguiente forma: 4,5 litros de solución y 8,4 litros en las 30 plantas pasando un día. Se midió la conductividad eléctrica (CE=1,9 mS/cm) y un pH= 5,7.



Figura 8 Riego de las plantas de “fresa” *F. vesca*, con la Solución Nutritiva

3.3.11.7 Plagas y Enfermedades en la “fresa”

Las siguientes plagas y enfermedades afectan a las plantas de “fresa” *F. vesca*. Se las explica de manera resumida en la tabla 8:

Tabla 8

Plagas y enfermedades comunes en las “fresas” F. vesca.

PLAGAS	DAÑO	CONTROL
Pulgones <i>Mizus persicae</i> y <i>Aphis sp</i>	Provocan amarillamiento de hojas, transmiten virus.	POLIGRHESA (1ml/L)
ENFERMEDADES	DAÑO	CONTROL
Mancha de la hoja <i>Mycosphaerella fragariae</i>	Provoca la presencia de manchas pequeñas redondas de color rojizo a púrpura pudiendo causar destrucción de hojas.	Eliminando las hojas atacadas y/o realizar aplicaciones preventivas con: Score (0,75ml/L) y Previcur (1ml/L)
Podredumbre negra de la raíz <i>Phitoptora sp</i> <i>Rizoctonia sp</i>	Las raíces presentan manchas o lesiones ovaladas de color marrón	Score (0,75ml/L) y Previcur (1ml/L) aplicados en el riego

Fuente: (AGROLIBERTAD, 2007).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados

Determinación del extractante más eficiente en laboratorio y su correlación con las mediciones realizadas con el equipo Hansatech CL-01 de clorofila foliar en campo.

4.1.1 Medición de clorofila mediante medidor de clorofila

Al realizar las mediciones de clorofila, mediante el medidor de clorofila portátil HASATECH CL 01, se realizó un análisis de varianza mediante modelos mixtos, además se realizaron pruebas de comparación de medias LSD Fisher al 5%.

Se modeló mediante estructura de varianzas independientes para la etapa de floración (F_{25} $p=0,0159$) y la normalidad se verificó mediante la prueba Shapiro Wilk.

En la tabla 9, se presenta la prueba de LSD Fisher para la medición de clorofila en Frutilla *Fragaria vesca* variedad Festival mediante el medidor HANSATECH CL-01 para las diferentes etapas de floración.

Tabla 9

Medición de clorofila para Frutilla Fragaria vesca var. Festival para las etapas de Floración tipo A, B y C

Etapa de Floración	\bar{X} de clorofila Medidor Hansatech CL-01	EE	
C***	17,42	$\pm 0,87$	a
A*	14,58	$\pm 0,45$	b
B**	14,08	$\pm 1,10$	b

Prueba LSD Fisher ($p=0,05$) A* =Etapa de floración tipo A 5 semanas después del trasplante, B** =Etapa de floración tipo B 6 semanas después del trasplante, C***=Etapa de floración tipo C 7 semanas después del trasplante,

Se encontró un efecto significativo en la cantidad de clorofila en la etapa de floración tipo C (17,42%, $p > 0,05$), con respecto a las etapas tipo A y B.

4.1.2 Medición de clorofila A (Ch-a), clorofila B (Ch-b) y clorofila Total (Ch-t), mediante los métodos de extracción

Al realizar las mediciones de clorofila, mediante los métodos bioquímicos para la extracción de clorofila, se realizó un análisis de varianza mediante modelos mixtos, además se realizaron pruebas de comparación de medias LSD Fisher al 5%.

Se modeló mediante estructuras de varianzas independientes para la etapa de floración (F_{25} $p = 0,0159$) y la normalidad se verificó mediante la prueba Shapiro Wilk.

En la tabla 10, se presenta la prueba de LSD Fisher para la medición y cantidad de clorofila A (Ch-a), clorofila B (Ch-b) y clorofila Total (Ch-t) en Frutilla *Fragaria vesca* variedad Festival mediante los métodos de extracción para las diferentes etapas de floración.

Tabla 10

Medición de clorofila A (Ch-a), clorofila B (Ch-b) y clorofila Total (Ch-t) para Frutilla Fragaria vesca var. Festival para las etapas de Floración tipo A, B y C

Etapa de Floración	\bar{X} clorofila Ch-a ($\mu\text{g/ml}$)	EE		\bar{X} clorofila Ch-b ($\mu\text{g/ml}$)	EE		\bar{X} clorofila Ch-t ($\mu\text{g/ml}$)	EE	
C***	33,51	$\pm 1,49$	a	68,14	$\pm 2,71$	a	101,64	$\pm 4,2$	a
B**	30,95	$\pm 1,18$	a	61,25	$\pm 2,26$	ab	80,54	$\pm 4,13$	b
A*	26,54	$\pm 1,34$	b	54	$\pm 2,80$	b	62,54	$\pm 2,29$	c

Prueba LSD Fisher ($p = 0,05$) A*=Etapa de floración tipo A 5 semanas después del trasplante, B** =Etapa de floración tipo B 6 semanas después del trasplante, C***=Etapa de floración tipo C 7 semanas después del trasplante.

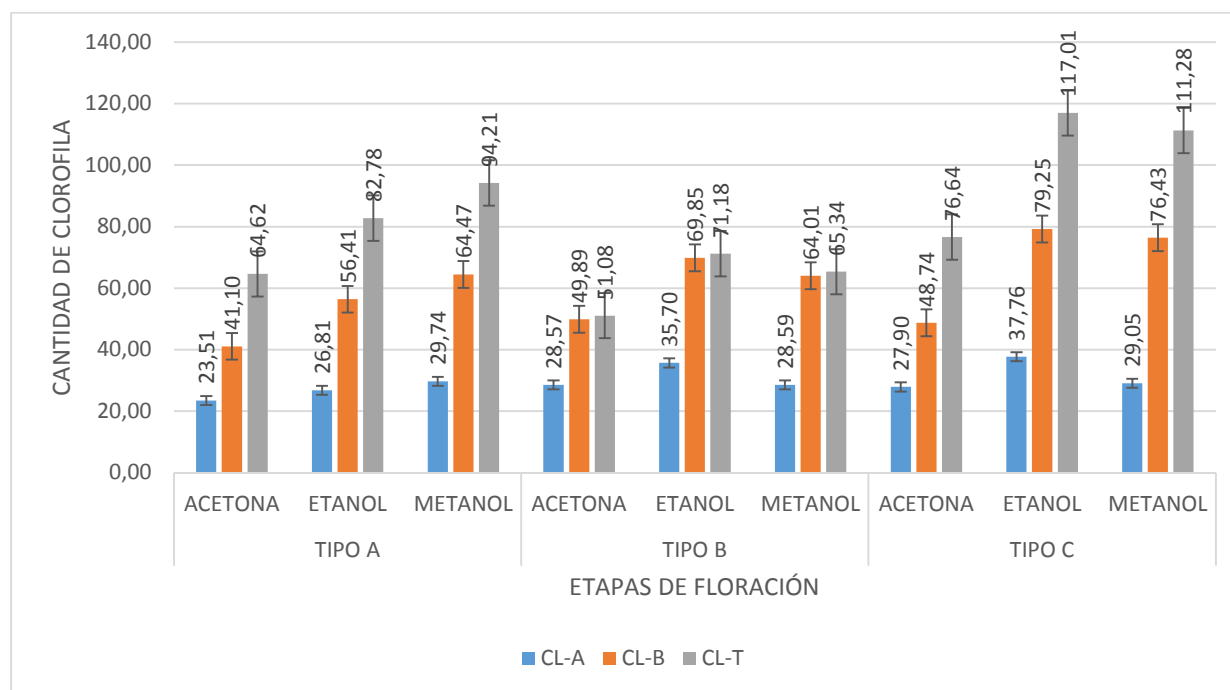


Figura 9 Cantidad de clorofila A (Ch-a), clorofila B (Ch-b) y clorofila Total (Ch-t) para *Frutilla* (*Fragaria vesca* var. *Festival*) para las etapas de Floración tipo A, B y C

Se encontró un efecto significativo en la clorofila A (Ch-a) en el tipo de floración tipo C (33,51µg/ml, $p>0,05$), con respecto a la etapa tipo A (26,54µg/ml, $p>0,05$).

Se encontró un efecto significativo en la clorofila B (Ch-b) fue en el tipo de floración tipo C (68,14µg/ml, $p>0,05$), con respecto a las etapas tipo B y A.

Se encontró un efecto significativo en la clorofila total (Ch-t) fue en el tipo de floración tipo C (101,64µg/ml, $p>0,05$), con respecto a las etapas tipo B y A.

4.1.3 Medición de clorofila A (Ch-a), clorofila B (Ch-b) y clorofila Total (Ch-t), mediante los métodos de extracción para los diferentes extractantes

Al realizar las mediciones de clorofila, mediante los métodos bioquímicos para la extracción de clorofila, se realizó un análisis de varianza mediante modelos mixtos, además se realizaron pruebas de comparación de medias LSD Fisher al 5%.

Se modeló mediante la estructura de varianzas independientes para los extractantes (F_{25} $p=0,9367$) y la normalidad se verificó mediante la prueba Shapiro Wilk.

En la tabla 11, se presenta la prueba de LSD Fisher para la medición y cantidad de clorofila A (Ch-a), clorofila B (Ch-b) y clorofila Total (Ch-t) en Frutilla *Fragaria vesca* variedad Festival mediante los métodos de extracción para los diferentes extractantes.

Tabla 11

Medición de clorofila A (Ch-a), clorofila B (Ch-b) y clorofila Total (Ch-t) para Frutilla (Fragaria vesca var. Festival) para los extractantes: Acetona (Ac), Etanol (Eth) y Metanol (Mth).

Extractante	Clorofila Ch-a (µg/ml)	EE		Clorofila Ch-b (µg/ml)	EE	Clorofila Ch-t (µg/ml)	EE	
Etanol	33,27	±1,34	a	68,5	±2,6	90,32	±3,65	A
Metanol	31,06	±1,34	a	68,3	±2,6	90,28	±3,65	A
Acetona	26,66	±1,34	b	46,58	±2,6	64,11	±3,65	B

Prueba LSD Fisher ($p=0,05$)

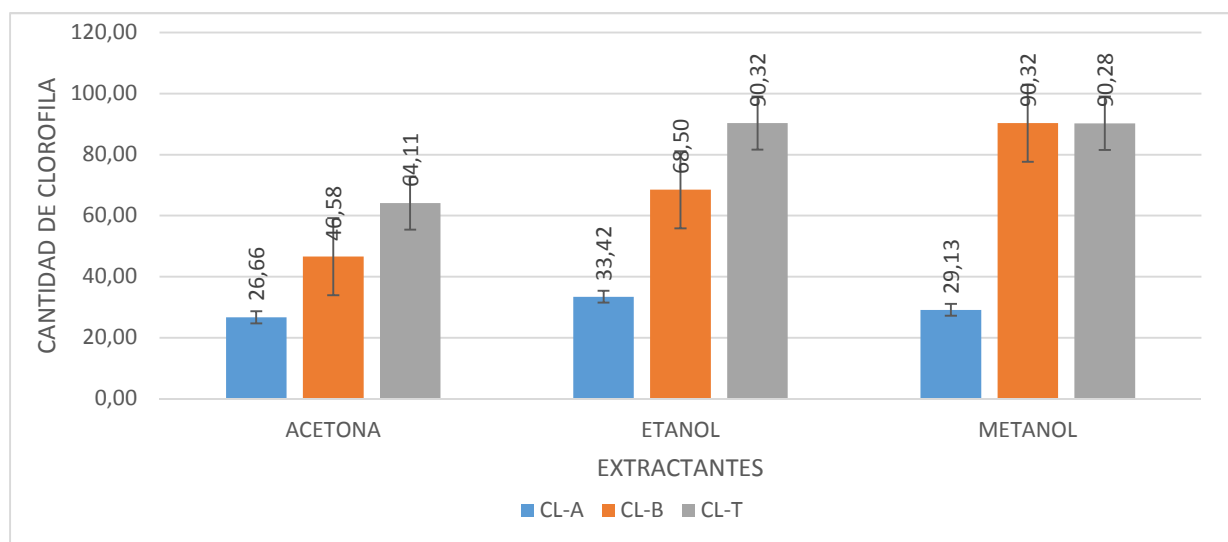


Figura 10 Cantidad de clorofila A (Ch-a), clorofila B (Ch-b) y clorofila Total (Ch-t) para Frutilla *Fragaria vesca* var. Festival para los extractantes: Acetona, Etanol y Metanol.

Se encontró un efecto significativo en la clorofila A (Ch-a) con etanol (Eth) ($33,27\mu\text{g/ml}$, $p>0,05$), con respecto al metanol (Mth) ($29,13\mu\text{g/ml}$) y acetona (Ac) ($26,66\mu\text{g/ml}$).

Se encontró un efecto significativo en la clorofila B (Ch-b) con metanol (Mth) (90,32µg/ml, $p>0,05$), con respecto a la acetona (Ac) (46,58µg/ml, $p>0,05$).

Se encontró un efecto significativo en la clorofila total (Ch-t) con etanol (Eth) (90,32µg/ml, $p>0,05$), con respecto a la acetona (Ac) (64,11µg/ml, $p>0,05$).

Determinación de la relación entre el contenido de clorofila del medidor y el contenido de nitrógeno en las hojas de “fresa” *F. vesca*.

4.1.4 Medición de las Variables Agronómicas del Proyecto

Las variables agronómicas de pH, CE y altura se realizó un análisis de varianza mediante modelos mixtos, además se realizaron pruebas de comparación de medias DGC al 5%.

Para analizar las variables #hojas, #flores se extrajo la raíz cuadrada (X-1). Se modeló mediante la estructura de varianzas independientes para las variables agronómicas y la normalidad se verificó mediante la prueba de Shapiro Wilk.

En la tabla 12, se presenta la prueba de GDC para las variables agronómicas en Frutilla *Fragaria vesca* variedad Festival para los diferentes tratamientos

Tabla 12

*Medición de las variables agronómicas para Frutilla *Fragaria vesca* var. Festival para los diferentes tratamientos: 0, 33, 66 y 100% de nitrógeno.*

TRAT	\bar{X} ALTURA (CM)	EE		\bar{X} NÚMERO HOJAS	EE		\bar{X} NÚMERO FLORES	EE		\bar{X} PH	EE		\bar{X} CE	EE	
0	5,93	±0,60	b	1,79	±0,06	b	1,00	±0,29	b	7,22	±0,04	b	0,66	±0,11	B
33	9,28	±0,67	b	2,06	±0,06	b	1,18	±0,42	b	6,69	±0,18	b	2,56	±0,26	B
66	10,00	±1,31	b	2,11	±0,11	b	1,25	±0,25	b	6,95	±0,17	b	2,69	±0,51	B
100	10,33	±1,44	a	2,18	±0,14	a	1,35	±0,30	a	6,97	±0,18	a	2,97	±0,67	A

Prueba DGC ($p=0,05$) Niveles de nitrógeno: 0, 33, 66 y 100 %

Para la altura el tratamiento 100 % de nitrógeno presentó una altura de 10,33 cm con respecto al tratamiento 0% de nitrógeno (5,93, $p>0,05$).

Para el número hojas el tratamiento 100 % de nitrógeno presentó un promedio de hojas de 2,18 con respecto al tratamiento 0% de nitrógeno (0,06, $p>0,05$).

Para el número flores el tratamiento 100 % de nitrógeno presentó un promedio de hojas de 1,35 con respecto al tratamiento 0% de nitrógeno (1,00, $p>0,05$).

Para la CE el tratamiento 100 % de nitrógeno presentó una CE de 2,97 cm con respecto al tratamiento 0% de nitrógeno (0,66, $p>0,05$).

Para el pH el tratamiento 100 % de nitrógeno presentó un pH de 6,97 cm con respecto al tratamiento 0% de nitrógeno (7,22, $p>0,05$).

4.1.5 Medición de Nitrógeno en plantas de “fresa” *F. vesca*

En la tabla 13, se presenta la cantidad de nitrógeno total extraído mediante el método Kjeldahl, en la cual se presenta los diferentes tratamientos y la cantidad de clorofila obtenida con el medidor de clorofila Hansatech CL-01.

Tabla 13

*Cantidad de nitrógeno y clorofila en los diferentes tratamientos en plantas de “fresa” *F. vesca**

# MUESTRAS	TRATAMIENTOS	CLOROFILA	%N
1	TO	9,82	1,66
2	T1	12,26	2,03
3	T2	14,32	2,78
4	T3	18,02	2,80

TO: Testigo 0% nitrógeno, T1: 33% nitrógeno, T2: 66% nitrógeno y T3: 100% nitrógeno

A medida que se aumenta los niveles de nitrógeno, la cantidad de clorofila tiene una relación directamente proporcional a esta para los diferentes tratamientos.

4.2 Discusión

Para la extracción de clorofila a través de métodos destructivos con la utilización de solventes extractores como: acetona, etanol y metanol los cuales constituyen para la obtención de clorofila en los métodos bioquímicos, teniendo respuestas positivas al realizar la extracción en las hojas. El etanol extrae más clorofila (90,32 μ g/ml) con respecto al metanol (90,28 μ g/ml) y la acetona (64,11 μ g/ml) para las hojas de “fresa” *F. vesca* (Sumanta *et al.*, 2014)

Por esta razón al observar los resultados, la cantidad de clorofila dependerá de las diferentes etapas de floración y de los tres extractantes utilizados para esta investigación, con los cuales se obtuvo respuestas positivas con el etanol para la extracción y obtención de clorofila en las plantas de “fresa” *Fragaria vesca*.

Existen relaciones directas entre el contenido de clorofila tomados con los medidores de clorofila y su extracción por métodos bioquímicos, es decir que la cantidad de clorofila extraída dependerá de los rangos de color y calibración del espectrofotómetro (663nm para clorofila A Ch-a y 647nm para clorofila B Ch-b), la relación entre las variables se da por medio de modelos invertidos los cuales se utilizan para predecir la cantidad de clorofila tomados por los equipos (Gitelson *et al.*, 2002). Existen correlaciones positivas y negativos al momento de estimar la clorofila A (Ch-a) y clorofila B (Ch-b) en las hojas, al obtener niveles bajos de clorofila A (Ch-a), se inhibe la producción de clorofila B (Ch-b) y viceversa. Cuando se toman las muestras con el medidor de clorofila, se obtiene el resultado de la clorofila total (Ch-a + Ch-b) en porcentaje. Al realizar esta comparación se determinó que existe relación entre los datos arrojados por el equipo versus la extracción por métodos bioquímicos para obtención de clorofila (William, Chang, & Rossmann, 1981).

Se realizó un estudio en plantas de albahaca (*Ocimum basilicum L*), para determinar el grado de asociación entre la clorofila tomadas por el medidor SPAD-502 y los datos obtenidos por métodos bioquímicos de extracción, la cual tuvo respuestas positivas de correlación entre las variables. Ajustándose a modelos matemáticos cuadráticos entre los métodos destructivos y no destructivos para la obtención de clorofila (Larios *et al.*, 2009).

En la presente investigación se determinó que dicha correlación no existe ya que al realizar la medición con Hansatech CL-01 se obtiene el resultado en un punto determinado de la hoja, mientras que al realizar la extracción de clorofila en el laboratorio se necesita 1,25 gramos de material vivo, por lo tanto, se debe cortar mayor porción del foliolo para obtener el peso antes mencionado y así obtener la clorofila total en las hojas de “fresa” *Fragaria vesca*.

El nitrógeno y su relación con la clorofila juegan un papel importante al momento de predecir el estado de salud de una planta, por esta razón en Estados Unidos y en otros países se ha propuesto la utilización de un medidor de clorofila portátil, siendo un instrumento de fácil uso, medidas rápidas, precisas, no destructivas para las hojas y con una alta correlación con el contenido de nitrógeno en las plantas (Novoa & Villagrán , 2002).

En la tabla 13, se puede observar que a medida que el porcentaje de Nitrógeno analizado por Kjeldahl incrementa, en las plantas de “fresa” *F. vesca*; la cantidad de clorofila de las hojas, medida por el medidor Hansatech CL-01 también lo hace. La base de datos obtenida en este experimento puede servir para predecir mediante una interpolación entre la cantidad de clorofila y el porcentaje de nitrógeno en las hojas.

La aplicación de nitrógeno para las plantas de “fresa” es muy importante, ya que este macro nutriente es esencial para el desarrollo de la planta, no solo en funciones fisiológicas sino también en la cantidad de clorofila que la planta produce para la etapa de floración y fructificación

respectivamente. Cuando se tiene niveles bajos de nitrógeno en las plantas de “fresa” *F. vesca*, se nota no solo en la coloración, sino que también disminuye el número de hojas y flores por planta, al igual que la altura (Andriolo *et al.*, 2011).

La tabla 12 expresa que a medida que los niveles con menor cantidad de nitrógeno (0 y 33%) a diferencia de los otros tratamientos (66 y 100%) en las plantas de “fresa” *Fragaria vesca*, tienen menor altura (Cantidades) y número de hojas y flores por maceta.

Los niveles óptimos de nitrógeno en plantas de “fresa” *Fragaria vesca* variedad Chandler son de 3-4% (Shaun, 2011), mientras que en la ficha técnica de “Hydroponic data sheet. Strawberry”, los niveles del mismo macro nutriente es de 2,6-3,5% y para los niveles de nitrógeno en la variedad Albión que manejan en la universidad de Florida en USA son: Pre-cosecha 3,0-3,5% y Cosecha 2,8-3,0% (Bolda, Bottoms, & Hartz, 2009).

Los datos presentados en esta investigación realizados en el IASA I, se ajustan a la ficha técnica de “Hydroponic data sheet. Strawberry” de igual manera que los rangos de cosecha desarrollados en la Universidad de Florida. Es decir, los niveles de nitrógeno obtenidos en los tratamientos de 66 y 100 % son adecuados para el cultivo. Así como también la CE y el pH, basados en la ficha técnica antes nombrada son los óptimos para la “fresa”, los cuales deben estar entre 5,5-6,5 para pH y 1,8-1,9 para la CE, como se muestra en la tabla 12 de las variables agronómicas para los tratamientos de 66 y 100% de nitrógeno.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

-) Se relacionó la medición de la clorofila con el medidor Hansatech CL-01 y el contenido de nitrógeno foliar en “fresa” *Fragaria vesca*, por medio del método Kjeldahl, siendo los tratamientos 66 y 100 % de nitrógeno los más efectivos para la fertilización de las plantas.
-) Existieron diferencias significativas entre los diferentes extractes para la obtención de la clorofila en el laboratorio siendo: etanol (90,32µg/ml) y metanol (90,28µg/ml) los que logran mayor recuperación de clorofila seguido de acetona (64,11µg/ml).
-) Existió relación entre la cantidad de clorofila obtenidos por el equipo Hansatech CL-01 y el porcentaje de nitrógeno foliar en “fresa” *F. vesca* como diagnóstico rápido a partir de la interpolación de datos para predecir el porcentaje de nitrógeno en las plantas
-) Existió relación entre el medidor de clorofila Hansatech CL-01 y los niveles de nitrógeno medidos en campos en la fertilización con las soluciones nutritivas preparadas.

5.2 Recomendaciones

- J En las extracciones de clorofila en las plantas de “fresa” *F. vesca*, lo ideal es utilizar el etanol al 96%, por sus resultados y mejor índice de determinación.
- J Desarrollar futuras investigaciones con diferentes nutrientes como el Mg y Fe para el diagnóstico rápido de sus deficiencias y el medidor de clorofila para la producción de plantas de “fresa” *Fragaria vesca*.
- J Usar un medidor de clorofila Hansatech CL-01 o similares, para obtener una respuesta rápida, precisa y de fácil manejo que no dañe el material vegetal.
- J Utilizar el medidor Hansatech CL-01 para obtener porcentajes más precisos de nitrógeno mediante la interpolación de los datos a partir de la medición de clorofila.

5.3 Bibliografía

- Abou, M. (1967). *Effects of light and temperature on growth and flowering of carnation (Dianthus caryophyllus)*. Nederland: H. Veenman & Zonen N.V.
- AEMet. (2012). *www.aemet.es*. Obtenido de http://www.aemet.es/documentos/es/eltiempo/observacion/radiacion/Radiacion_Solar.pdf
- AGROLIBERTAD. (2007). *www.agrolalibertad.gob*. Obtenido de http://www.agrolalibertad.gob.pe/sites/default/files/Ficha%20T%C3%A9cnica%20para%20el%20Cultivo%20de%20la%20Fresa_0.pdf
- Augsburger, N. D., Bohanon, H. R., & Calhoun, J. L. (1978). *The greenhouse climate control handbook*. Muskogee, Okla: Acme Eng. & Mfg. Co.
- Avila, A., & Pereyra, S. (2015). Cultivo de Gypsophila. *Documento de divulgación científica. Gobierno de la Provincia de Córdoba*, 7-46.
- Azcón-Bieto, J., Fleck, I., Aranda, X., & Gómez-Casanovas, N. (2008). Fotosíntesis, factores ambientales y cambio climático. En J. Azcón-Bieto, & M. Talón, *Fundamentos de fisiología vegetal* (págs. 247-263). McGraw-Hill Interamericana.
- Bailey, L. H., & Bailey, E. (1992). *Hortus trird*. Mac Millan Publishing. SfCitapor Engelhard, A. Baby,s Breath (Gypsophila paniculata) Diseases of Floral Crops.
- Barnstead. (1971). *The barnstead basic book on water*. Boston: Barnstead Co.
- Barta, D. J., Tibbitts, T. W., Bula, R. J., & Morrow, R. C. (1992). EVALUATION OF FLIGHT EMITTING DIODE CHARACTERISTICS FOR A SPACE-BASED PLANT IRRADIATION SOURCE. *Adv. Space Res.*, 141-148.
- Bickford, E., & Dunn, S. (1972). Lighting for plant growth. *Kent State Univ. Press, Kent, OH*.
- Bidwell, R. G. (1993). La célula, plastidios. En Bidwell, *Fisiología vegetal* (págs. 58-61). México: A.G.T. Editor, S. A.
- Biran, I., & Halevy, A. (1973). Endogenous levels of growth regulators and their relationship to the rooting of dahlia cuttings. *Phys. Plant* 28, 436-42.
- Blaauw, O., & Blaauw-Jansen, G. (1970). The phototropic responses of Avena coleoptiles. *Acta Botan. Neer*, 755 - 763.
- Bolda, M., Bottoms, T., & Hartz, T. (9 de Marzo de 2009). Niveles de Suficiencia de Nitrogeno en Frutilla, evaluados en la Universidad de Florida. Watsonville-Salinas y Santa María, California, Estados Unidos de América.
- Botanical-Online. (2012). *botanical-online.com*. Obtenido de <https://www.botanical-online.com/clorofila.htm>

- Botanical-online. (2016). *Botanical-online.com*. Obtenido de <https://www.botanical-online.com/plantasdeinteriorluz.htm>
- Cadahía, C. (1998). Normas de muestras y preparación de muestras en análisis foliar. En C. Cadahía, *Fertirrigación cultivos hortícolas y ornamentales* (págs. 214-219). Madrid-España: Ediciones Mundi-Prensa.
- Cadahia, C. (2005). Normas de muestreo y preparación de muestras en análisis foliar. En C. Cadahia, *Fertirrigación cultivos hortícolas y ornamentales* (págs. 214-217). Madrid-España: Ediciones Mundi-Prensa.
- Callejas. (2013). Evaluación de un método no destructivo para estimar las concentraciones de clorofila en hojas de variedades de uva de mesa. *IDESIA*, 19-26.
- Cayón, D. (1999). Notes on the growth and development physiology of the oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq). *PALMAS*, Vol, 20, No 3, 43-54.
- Céspedes, R. (1999). *Evaluación de Cuatro dosis de Bokashi y tres distancias de siembra en dos ciclos de lechuga (Lactucasativa L.) Cumbayá Pichincha*. Tesis de Grado Ing. Agr. Quito Ecuador: Facultad de ciencias agrícolas.
- Chirinos, H. (2010). *FERTILIZACION DE FRESA (Fragaria ananassa)*. Santiago de Chile.
- COPROA. (2012). *coproa.com*. Obtenido de <https://www.coproa.com/inicio/flor-cortada/trachelium/>
- Cormack, R. G., & Lemay, P. L. (1966). A further sstudy of callus tissue development on stem cuttings of balsam poplar. *Can. Jour. Bot*, 47-50.
- CORPEI. (2009). *Perfiles de Sectores. Sector Agrícola*. Superintendencia de Bancos y Seguros.
- Cosgrove, D. J. (1981). Rapid suppression of growth by blue light. *Plant Physiol*, 584 - 590.
- Durán, J., & Quinto, A. (2015). Ahorro de energía en invernaderos mediante el uso de luces LED. *TESIS DE GRADO*, 10-18.
- EcuRed. (03 de Octubre de 2017). *www.ecured.cu*. Obtenido de www.ecured.cu: <https://www.ecured.cu/Clorofila>
- El Agro. (2016). Los agricultores le apuestan al cultivo de fresa. *Revista El Agro*.
- Espinoza, N. (2013). EVALUACIÓN AGRONÓMICA DE TRES VARIEDADES DE TRACHELIUM (*Trachelium caeruleum*) A LA APLICACIÓN DE TRES DOSIS DE FERTILIZACIÓN ORGÁNICA (TÉ DE BOCASHI) EN EL QUINCHE, PROVINCIA DE PICHINCHA. *TESIS DE GRADO*, 10-16.
- EXPOFLORES. (2017). *expoflores .com*. Obtenido de <http://expoflores.com/wp-content/uploads/2017/06/INFORMETRIMESTRAL1.pdf>

- FAO. (2017). *www.fao.org*. Obtenido de *www.fao.org*: <http://www.fao.org/docrep/010/ah833s/ah833s17.htm>
- Fernández, G. (22 de septiembre de 2015). *química física.com*. Obtenido de <http://www.quimicafisica.com/espectro-visible-dispersion-luz-blanca.html>
- Gallegos, H. (2004). Distribución espacial de la Radiación Fotosintéticamente Activa en Argentina. *GERSolar, Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján - Argentina*, Vol. 29: Pp: 27-36.
- Gil, F. (1995). Clorofilas. En F. G. Martínez, *ELEMENTOS DE FISIOLÓGÍA VEGETAL* (págs. 404-410). Sevilla, España: Ediciones Mundi-Prensa.
- Gitelson, A. A., Gritz †, Y., & Merzlyak, M. N. (2002). Relationships between leaf chlorophyll content and spectral reflectance and algorithms for non-destructive chlorophyll assessment in higher plant leaves. *Journal of plant Physiologi*, 271-282.
- González, A. (2009). Aplicación del medidor portátil de clorofila en programas de mejora de trigo y cebada. *Agroecología*, 111-116.
- González, A., Bañoñ, S., & Fernandez, J. (1998). *Cultivos ornamentales para complementos del ramo de flor*. Madrid: Mundi-Prensa.
- Guerrero, A. (1999). *Cultivos Herbáceos Extensivos*. Editorial Mundi prensa, 6ta Edición, p254.
- Guerrero, R. (1993). Fertilización de los cultivos en clima frío. En R. Guerrero, *Los nutrientes de las plantas*. (págs. 9-13). Barranquilla: Vol. 3 Monómeros Colombo Venezolanos S. A (E. M. A).
- Haissing, B. E. (1965). Organ formation in vitro as applicable to forest tree propagation. *Bot. Rev*, 607-26.
- HANSATECH. (2017). *www.hansatech-instruments.com*. Obtenido de *www.hansatech-instruments.com*: <http://www.hansatech-instruments.com/products/introduction-to-chlorophyll-fluorescence/>
- Hartmann, H. T., & Whisler, J. E. (1979). Mobile aerater stream soilpasteurizer unit. *Proc. Inter. Plant. Prop. Soc*, 244.
- Hassan, Y., Chakrabarty, D., Kim, S., Hahn, E., & Paek, K. (2005). Effect of light-Emitting Diode on Growth and Shoot Proliferation of *Euphorbia millii* and *Spathiphyllum cannifolium*. *J. Kor. Soc. Hort. Sci*, 375-379.
- HilseaInvesment. (2008). *parámetros geográficos*. Quito, Ecuador.
- Hoenecke, M., Bula, R., & Tibbitts, T. (1992). Importance of blue photon levels for lettuce seedlings grown under red-light emitting diodes. *HortScience* 27, 427-430.

- Holley, W. D., & Baker, R. (1991). Carnation production. . *Colorado State University. Kendall/Hunt Publishing company. Iowa*, 39-49.
- Huacasi, D. (03 de Julio de 2017). *es.scribd.com*. Obtenido de <https://es.scribd.com/document/352831194/2-Teoria-y-Naturaleza-de-La-Energia-Solar>
- IDEAM. (2009). *www.ideam.gov.co*. Obtenido de <http://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/bvirtual/018903/Links/Guia1.pdf>
- Infoagro. (2012). *infoagro.com*. Obtenido de http://www.infoagro.com/documentos/el_cultivo_gypsophila.asp
- INIA. (2008). *www.portalfruticola.com*. Obtenido de www.portalfruticola.com: <https://www.portalfruticola.com/noticias/2017/02/28/guia-varietal-y-fecha-de-plantacion-de-frutillas/>
- Jiménez, L. (2016). Efecto de la intensidad lumínica de lámparas LED en la producción de lechuga (*Lactuca sativa*). *TESIS DE GRADO*, 25-38.
- Kirschbaum, D., & Bórquez, A. (2000). Nutrición mineral de la frutilla (*Fragaria x ananassa* Dutch.). *Palestras*, 117-127.
- Kusey, W. E., Weiter, T. C., Hammer, P. A., Harbaugh, B. K., & Wilfret, G. J. (1981). Seasonal and chemical influences on the flowering of *Gypsophila paniculata*. Bristol Fairy, selection. . *Journal of the America Society for Horticulture Science*, 84-88.
- L Andriolo, J., Erpen , L., Cardoso, F. L., Cocco, C., Casagrande, G. S., & Janisch, D. I. (2011). Nitrogen levels in the cultivation of strawberries in soilless culture. *Horticultura Brasileira*, 516-519.
- Larcher, W. (1977). *Ecofisiología vegetal*. Barcelona, España: Ediciones Omega.
- Larios, F. L., Troyo Diéguez, E., Trasviña Castro, M., Ruiz Espinosa, F., Beltán Morales, A., Murillo Amador, B., . . . Zamora Salgado, S. (2009). Relación entre un método no destructivo y uno de extracción destructivo, para medir el contenido de clorofila en hojas de plántulas de Albahaca (*Ocimum basilicum* L). *Universidad y Ciencia*, 99-102.
- LEDBOX. (diciembre de 2017). *blog.ledbox.es*. Obtenido de <https://blog.ledbox.es/ledbox-2/productos/cual-es-la-mejor-luz-artificial-para-plantas>
- LENNETCH. (2010). *www.lenntech.es*. Obtenido de www.lenntech.es: <https://www.lenntech.es/periodica/elementos/n.htm>
- López, J. (18 de agosto de 2013). *Universo Botánico*. Obtenido de <http://universobotanico.blogspot.com/2013/08/las-plantas-y-sus-pigmentos.html>
- López, R. (11 de diciembre de 2014). *agriculturers*. Obtenido de <http://agriculturers.com/las-luces-led-tienen-multiples-usos-en-multiples-cultivos/>

- Lutz, J. M., & Hardenberg, R. E. (1968). *The commercial storage of fruits, vegetables and florist and nursery stocks*. Washington, D. C. U. S. A: USDA-ARS Arg. Handbook No. 66 Govt. Printing Office.
- MAG. (2012). *www.mag.go.cr*. Obtenido de *www.mag.go.cr*: http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_ciencia/tec_fresa.pdf
- Malagamba, P. (27 de marzo de 2015). *agriculturers*. Obtenido de <http://agriculturers.com/luca-led-una-alternativa-eficiente-para-optimizar-la-produccion-en-invernaderos/>
- Manrique, E. (2013). *Ecosistemas*. Obtenido de <http://www.aeet.org/ecosistemas/031/informe4.htm>
- Margulis, L., & Sagan, D. (2011). El proceso de nutrición en las plantas. La fotosíntesis. En *Nutrición* (págs. 248-250). España: Mc Graw Hill.
- Massa, G., Hye Kim, H., Wheeter, R., & Mitchell, C. (2008). Plant Productivity in Response to LED Lighting. *HortScience*, 1951-1956.
- McGuire, J. J., Albert, L. S., & Shutak, V. K. (1968). Effect of foliar application of 3-indolebutyric acid on rooting of cuttings of ornamental plants. *Proc. Amer. Hort. Sci.* 93, 699-704.
- Medina, A., & Bolivar, R. (1993). Análisis de crecimiento y acumulación de nutrientes de *Gypsophila paniculata* L. cv perfecta bajo condiciones de invernadero en la sabana de Bogotá. *Tesis de grado. Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá*, 25-68.
- Meier, U. (2001). Codificación BBCH de los estadios fenológicos de la desarrollo de la fresa. En U. Meier, *Estudio de las plantas mono y dicotiledoneas* (págs. 61-149). Alemania.
- Miller, G. G. (2000). Diagnostico foliar de nitrogeno en caña de Azucar. 141-170.
- Mojica, P., Almario, F., Cuéllar, S., Medina, C., & Mejía, C. (2014). *TECNOLOGÍAS RELACIONADAS CON INVERNADEROS PARA FLORES*. Bogotá: SXC.
- Molina, E., Gamboa, J., & González, P. (1991). Fertilización potásica de *Gypsophila paniculata* cv. Perfecta en Paraíso, Cartago. *Agronomía Costarricense*, 26-60.
- Molnar, J. M., & Cumming, W. A. (1968). Effect of carbon dioxide on propagation of softwood, conifer and herbaceous cuttings. *Can. Jour. Plant Sci.*, 595-99.
- Monteith, J. (1973). Principles of Environmental Physics. *London*, 255-265.
- Novoa, R., & Villagrán, N. (2002). Evaluación de un instrumento medidor de clorofila en la determinación de niveles de nitrógeno en maíz. *Agricultura Técnica*.

- Nuñez, L. (21 de noviembre de 2008). *massoagro.com*. Obtenido de nutrientesenlasplantasaea.blogspot.com:
<http://nutrientesenlasplantasaea.blogspot.com/2008/11/macroelementos-y-microelementos.html>
- Osram, O. (2012). *electrical4u.com*. Obtenido de <https://www.electrical4u.com/led-or-light-emitting-diode/>
- Peñañiel, P. (5 de mayo de 2018). Manejo en campo del cultivo de Gypsophila. (M. Pachacama, Entrevistador)
- Philips. (11 de 2016). *images.philips.com*. Obtenido de http://images.philips.com/is/content/PhilipsConsumer/PDFDownloads/Netherlands/ODLI_20161128_001-UPD-nl_NL-PS_LED_flowering_lamp_EN_V2_LR.PDF
- Pinchao, M. (13 de junio de 2018). Parámetros productivos de plántulas de gypsophila. (M. Pachacama, Entrevistador)
- PROECUADOR. (2015). *Análisis sectorial de flores de verano*.
- Red, D. e. (2 de Diciembre de 2013). *Infobiología.net*. Obtenido de <http://www.infobiologia.net/2013/12/importancia-luz-temperatura-plantas.html>
- Rodríguez, M. D., Alcántar, G., Aguilar, A., Etchevers, J., & Santizó, J. (2002). Estimación de la concentración de nitrógeno y clorofila en tomate mediante un medidor portátil de clorofila. *TERRA*, 135-141.
- Rouse, M. (2005). *Whatls.com*. Obtenido de <http://whatis.techtarget.com/definition/light-emitting-diode-LED>
- S.A. (1967). Relationship between seasonal changes in endogenous promoters and inhibitors in pear buds and cutting bases and the rooting of pear hardwood cutting. *Prosc. Amer. Soc. Hort. Sci*, 96-112.
- S.N. (1968). Stimulation of adverticious bud formation in Begonia leaves by abscisic acid. *Nature* 219, 960-61.
- Salisbury, F., & Schiwabe, W. (1969). Fisiología Vegetal. *Plant Physiology*, vol. 5A. Academic Press. NewYork., 79-116.
- Sánchez Gonzales, E., Bernal Valenzo, B., Espindola Barquera, M., Ramírez Gómez, P., & Sánchez Salazar, J. (2010). *www.siproduce.sifupro.org.mx*. Obtenido de [www.siproduce.sifupro.org.mx](http://siproduce.sifupro.org.mx/seguimiento/archivero/15/2013/anuales/anu_555-6-2014-05-4.pdf):
http://siproduce.sifupro.org.mx/seguimiento/archivero/15/2013/anuales/anu_555-6-2014-05-4.pdf

- Santamaría, P. (17 de octubre de 2012). *xatacahome.com*. Obtenido de <https://www.xatacahome.com/iluminacion-y-energia/que-es-la-iluminacion-led-especial-iluminacion-led>
- Schwartz, A., & Zeiger, E. (1984). Metabolic energy for stomatal opening: Roles of photophosphorylation and oxidative phosphorylation. *Planta*, 129-136.
- Shannon, D. C. (2012). DETERMINING EFFECTIVE RATIOS OF RED AND FAR-RED LIGHT FROM LIGHT-EMITTING DIODES THAT CONTROL FLOWERING OF PHOTOPERIODIC ORNAMENTAL CROPS. *Tesis Michigan State University*, 3-16.
- Shannon, D., & Runkle, E. (2012). Using Light-emitting Diodes for Night-interruption Lighting of Short-day Plants. *Department of Horticulture, Michigan State University, East Lansing, MI 48824*, 50-60.
- Shaun, C. (2011). Strawberry fertility and nutrient management. *NCDA&CS Agronomic Division*, 1-7.
- Shenzhen MS Lion Optoelectronic Co., L. (5 de enero de 2018). *mision.en.made-in-china.com*. Obtenido de <https://mision.en.made-in-china.com/product/vBKmfxfhondcL/China-E27-12W-15W-18W-Plant-Bulb-LED-Grow-Light.html>
- Sol-arq. (25 de noviembre de 2013). *iagricola.blogspot.com*. Obtenido de <http://iagricola.blogspot.com/2013/11/espectro-de-la-radiacion-solar.html>
- Sumanta, N., Choudhury, I. H., Jaishe, N., & Roy, S. (2014). Spectrophotometric Analysis of Chlorophylls and Carotenoids from Commonly Grown Fern Species by Using Various Extracting Solvents. *Research Journal of Chemical Sciences*, 63-69.
- SUNMASTER. (2016). *sunmastergrowlamps.com*. Obtenido de <http://sunmastergrowlamps.com/plant-science/>
- Suquilanda, M. (2003). Producción Orgánica de hortalizas en la Sierra. *Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Agrícolas. Ed. Publiasesores*.
- Tan Nhut, D., Takamura, T., Watanabe, H., & Tanaka, M. (2005). Artificial Light Source Using Light-emitting Diodes (LEDs) in the Efficient Micropropagation of *Spathiphyllum* Plantlets. *Biotech. of Trop & Subtrop. Species*, 137-142.
- Urbano, N., & Villalobo, K. (2002). *Radición PAR*. Obtenido de <http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/climatologia-aplicada-a-la-ingenieria-y-medioambiente/contenidos/tema-3/EFFECTO-DE-LA-RADIACION-SOBRE-LAS-PLANTAS.pdf>
- Urrestarazu, M., Kotiranta, S., & Búres, S. (2018). ILUMINACIÓN ARTIFICIAL EN HORTICULTURA. *ARTÍCULO TÉCNICO*, 10 - 17.

- Vaca, I., & Landázuri, P. (2013). Evaluación de tres niveles de nitrógeno en medio de cultivo, en las fases de enraizamiento in vitro y adaptación a sustrato de *Rubus glaucus* (BENTH). *LA GRANJA*, 48-54.
- Vasquéz, G., Cárdenas, R., & Lobit, P. (2008). Efecto del nitrógeno sobre el crecimiento y rendimiento de la fresa regada por goteo y gravedad. *Agricultura Técnica*, 235-241.
- White, J. (1987). Fertilization. In: *Roses a manual of greenhouse rose production*. Published by *Roses Incorporated, Michigan*, 87-142.
- William, Y., Chang, B., & Rossmann, R. (1981). A numerical simulation of trichromatic equations in chlorophyll estimation using the spectrometric technique. *Hydrobiologia*, 265-270.