Universidad Nacional del Nordeste *Facultad de Ciencias Agrarias*

Trabajo Final de Graduación

Modalidad Pasantía

"Evaluación del efecto de la biofertilización en plantines de lechuga (*Lactuca sativa* L.)"

Pasante: Vicentin, Ricardo Ezequiel

Asesora: Ing. Agr. Cossoli, Marcela Rosa

Tribunal Evaluador:

- Cr. González, Jorge Ariel
- Ing. Agr. Dávalos, Claudio Marcos
- Ing. Agr. Perrens, Guillermo Alejo

Año: 2020

Índice

1) Introducción……3
2) Objetivos……4
3) Lugar de trabajo……4
4) Actividades desarrolladas……4
   4.1) Planteo del ensayo……4
   4.2) Tareas previas al ensayo……7
      - Preparación de sustratos……7
      - Siembra……9
      - Inoculación……9
   4.3) Conducción del ensayo……9
   4.4) Extracción de plántulas……10
   4.5) Descripción de parámetros evaluados……11
5) Resultados……12
   5.1) Días promedio a plántula de cuatro hojas……12
   5.2) Biomasa fresca total……14
   5.3) Biomasa fresca de vástago……15
   5.4) Biomasa fresca de raíz……16
   5.5) Área de absorción radical……17
   5.6) Biomasa seca total……18
   5.7) Biomasa seca de vástago……19
   5.8) Biomasa seca de raíz……20
   5.9) Relación biomasa seca de vástago/biomasa seca de raíz……21
   5.10) Costo de la inoculación……22
6) Comentarios finales……23
7) Bibliografía……25
8) Anexo……27

Introducción

La lechuga (*Lactuca sativa* L.), pertenece a la familia de las Asteráceas (Compuestas), ha sido cultivada en la cuenca Mediterránea desde alrededor del año 4500 A.C. Es una planta anual herbácea y autógama, propia de las regiones templadas (SINAVIMO, 2014).

En Argentina, es la principal hortaliza de hoja cultivada y consumida, representando el 49% del volumen total producido en el país con 33.000 tn. (Salusso, et al., 2015). Por ser un alimento altamente perecedero, su producción se centra en cercanías de los centros urbanos, por ello se la denomina "hortaliza de cinturón verde". En el caso del cinturón verde de la ciudad de Corrientes constituye el tercer cultivo hortícola con mayor superficie cultivada, después del zapallo y la cebollita de verdeo, con un total de 7 hectáreas (Mango, 2016).

Para poder iniciar el cultivo se necesitan plantines, los cuales luego son trasplantados. Estos pueden ser producidos en dos tipos de almácigos: almaciguera a raíz desnuda y almaciguera a raíz cubierta. La primera implica hacer la siembra en almácigos construidos directamente en suelo y la segunda en contenedores individuales. Entre estas alternativas, el trasplante de plantines con raíz cubierta presenta la gran ventaja de un menor estrés al momento del trasplante (Saavedra, et al., 2017).

En las almacigueras a raíz cubierta, los contenedores son rellenados con diferentes sustratos, como ser: suelo, turba, fibra de coco entre otros. La desventaja del uso de suelo como sustrato es su alto peso, lo que perjudica su manipulación aunque es un material de bajo costo. Por otro lado la turba es un material rico en materia orgánica, de bajo peso y generalmente se lo mezcla con perlita, que es un material inerte que confiere mejor aireación y drenaje, ya que la turba tiene una gran capacidad de retención de agua (Saavedra, et al., 2017).

Sería de real importancia, hacer uso de diferentes biofertilizantes de origen microbiano en la producción de plantines hortícolas. Con el fin de obtener un plantín de mayor calidad a la hora del trasplante. Una plántula de calidad es aquella que tiene un buen desarrollo radicular, un tallo vigoroso, con ausencia de clorosis, libre de plagas y enfermedades. Para poder superar un estrés de trasplante, debe tener una adecuada capacidad radicular para la absorción de agua y nutrientes, además de la capacidad de generación de nuevas raíces. También sería importante llegar con mayor rapidez al número de hojas adecuadas para realizar el trasplante, ya que se reduce el tiempo de permanencia en la bandeja y con ello se logran reducir múltiples factores que afectan la calidad final de las plántulas, como riesgo de ocurrencia de enfermedades, ataques de plagas, envejecimiento, problemas de restricción radicular, costos de producción, entre otros (Leskovar, 2001).

Un biofertilizante es una sustancia que contiene microorganismos vivos, los cuales, cuando se aplican a semillas, superficies de plantas o suelos, colonizan la rizosfera o el interior de la planta, y promueven el crecimiento al incrementar el suministro o la disponibilidad de nutrientes primarios a la planta huésped. Esta definición separa a los

biofertilizantes de los fertilizantes orgánicos. Estos últimos contienen compuestos orgánicos, los cuales, sea directamente o por descomposición, incrementan la fertilidad del suelo (Vessey, 2003).

Dentro de los microorganismos promotores del crecimiento vegetal o PGPM (por sus siglas en inglés: Plant growth promoting microorganism) más estudiados podemos citar a los géneros: *Azotobacter, Azospirillum, Azorhizobium, Mesorhizobium, Sinorhizobium, Bradyrhizobium, Rhizobium, Pseudomonas, Gluconacetobacter, Burkholderia, Bacillus* y Micorrizas (Puente, et al., 2009).

Objetivos

- Comprender la importancia tanto ambiental y económica, que pueden tener distintos microorganismos usados como bioinsumos en la producción de plantines hortícolas, atendiendo a una producción sustentable.
- Desarrollar habilidades para la toma y análisis de datos.
- Fomentar distintas capacidades para poder desenvolverme correctamente en un equipo de trabajo.
- Aprender a generar información y conclusiones a partir de un gran número de datos.

Lugar de trabajo

Las distintas actividades tanto prácticas como de gabinete del trabajo final fueron realizadas en las instalaciones de la Cátedra de Microbiología Agrícola perteneciente a la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Nordeste.

Actividades desarrolladas

Planteo del ensayo realizado

El ensayo consistió en analizar el efecto de distintos inoculantes de origen microbiano en plantines de lechuga, utilizando vasos plásticos con una capacidad de 110 cm^3 como tubete o maceta de siembra.

Se analizaron además tres sustratos diferentes:

- S1: Suelo más perlita agrícola.
- S2: Suelo más perlita agrícola con una dosis de lombricompuesto.
- S3: Turba más perlita agrícola con una dosis de lombricompuesto.

Tanto para el S1 y S2, se utilizó suelo proveniente de la Escuela Regional de Agricultura, Ganadería e Industria Afines-ERAGIA; clasificado como Udipsament árgico perteneciente a la Serie Ensenada Grande (Escobar, et al., 1994). Como ventaja es un material de bajo costo, pero con la desventaja que posee un alto peso lo que dificulta la manipulación de los tubetes.

El lombricompuesto usado tanto en el S1 y S2, fue realizado anteriormente por personal de la Cátedra de Microbiología Agrícola. Aunque no se contó con una caracterización del mismo, Castillo et al (2000), destacan que estos abonos pueden aportar grandes cantidades de fosforo y generalmente presentan pH cercano a la neutralidad (Gallardo, et al., 2005).

Para el caso del S3, a la turba se le realizó determinaciones colorimétricas de: amonio, nitritos y nitratos. En las cuales resultó que no presentaron contenido de los mismos, o la cantidad que poseían no produjo el viraje de color de los indicadores. Además se determinó su pH, el cual era de 5,4.

Por cada sustrato, se llevaron a cabo cuatro tratamientos y un control sin inocular, habiendo un total de cinco repeticiones por cada uno.

- T0: sin inocular
- T1: *Azospirillum brasilense* AZ39 INTA
- T2: *Pseudomonas fluorescens* Ps6
- T3: *Bacillus subtilis*
- T4: *Trichoderma atroviride*

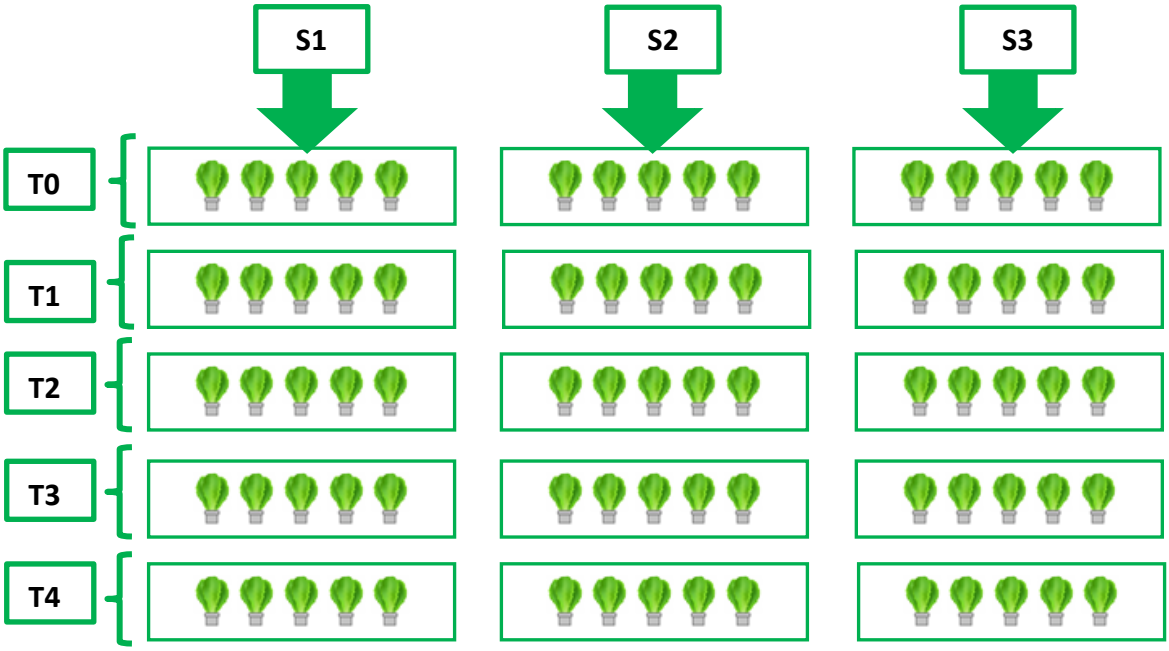

Figura 1. Esquema del ensayo, donde se pueden ver los distintos tratamientos realizados en cada sustrato y el número de repeticiones por tratamiento.

A continuación se presenta una pequeña descripción de los PGPM utilizados, para tener una mejor noción de su importancia y de sus mecanismos de acción.

Azospirillum:

Es uno de los géneros bacterianos con más estudios por su capacidad como promotor del crecimiento vegetal, el cual pertenece a la clase alfa-proteobacteria y ha sido aislada colonizando la rizósfera de gramíneas, particularmente de cultivos de importancia económica tales como el maíz, el trigo y el arroz, desde climas tropicales hasta templados (Gómez, et al., 2014). Entre los mecanismos para explicar su capacidad como promotor se puede citar:

- Fijación biológica de N_2: la capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico puede ser ya sea tanto como bacteria de vida libre como en asociación con plantas. La contribución en la fijación del nitrógeno por *Azospirillum* se ha estimado en no más de 10 kg de N_2 por hectárea por año (Gómez, et al., 2014).
- Producción de fitohormonas: Los cambios morfológicos ocurridos en la planta después de la inoculación con *Azospirillum* se le atribuyen a la producción de sustancias que estimulan el crecimiento vegetal, tales como las auxinas, citoquininas, giberelinas, ácido absísico y etileno.

Pseudomonas:

Se caracterizan por ser bacilos Gram negativos rectos o levemente curvos (Valverde et al., 2009), pertenecientes a la clase Gamma-proteobacteria.

En el caso de *Pseudomonas fluorescens*, es una de las representantes de las llamadas pseudomonas fluorescentes, caracterizadas por la producción de pigmentos hidrosolubles de colores azul-verdosos a la luz UV (Valverde et al., 2009).

Una de las características de *Pseudomonas fluorescens* es su alta capacidad de solubilización de fósforo y la realizan por dos vías: la primera es por la producción de ácidos orgánicos (ácido cítrico, ácido oxálico, ácido glucónico) que actúan sobre el pH del suelo favoreciendo la solubilización del fósforo inorgánico y liberando el fosfato a la solución del suelo. La otra vía de acción es a través de las fosfatasas que son enzimas hidrolasas (Monoesterasas y Diesterasas Fosfóricas) que actúan sobre las uniones ésteres liberando los grupos fosfatos de la materia orgánica a la solución del suelo. Ambas vías generan una mayor cantidad de fosfato para ser absorbido por las raíces de las plantas.

De manera indirecta, por medio de síntesis de antibióticos y fungicidas, competencia por nutrientes, producción de sideróforos o por la inducción de la resistencia sistémica a patógenos (Cano, 2011).

Bacillus:

Son bacterias Gram positivas con la particularidad de formar endosporas. Estas no poseen ninguna actividad metabólica y son muy resistentes a diferentes efectos como calor, desecación, congelación, contacto con productos tóxicos (Benintende, 2010).

Pueden influir indirectamente sintetizando antibióticos u otros compuestos que tienen un efecto inhibitorio sobre organismos fitopatógenos, como así también directamente a través de la síntesis y excreción de sustancias fitoestimuladoras, que pueden incluir diversos tipos de fitohormonas como las auxinas o citocininas, compuestos orgánicos volátiles e incluso activando la producción en la planta de compuestos que refuerzan la inmunidad vegetal como ácido jasmónico, ácido salicílico y fitoalexinas (Rojas Solís, et al., 2013).

Arkhipova et al., (2005), observaron que plantas de lechuga inoculadas con *Bacillus subtilis* después de dos semanas, los tejidos de las raíces y brotes contenían una mayor cantidad de citocininas que las plantas sin inocular. La acumulación de citocininas se asoció con un incremento del 30% en el peso de las plantas. Cabe destacar que se encontraron también elevados niveles de otras hormonas vegetales, tales como el ácido indol-3-acético (AIA) y el ácido abscísico (ABA).

Trichoderma:

Las especies del género *Trichoderma* forman parte de un grupo complejo de hongos filamentosos clasificados como Ascomicetos pertenecientes al orden Hipocreales.

Son comúnmente usados como agente de control de patógenos, incluyendo hongos y nematodos, mediante la producción de diferentes enzimas que degradan la pared celular (celulasas, quitinasas, glucanasas, entre otras) y por la producción de antibióticos. Además algunos autores lo han definido, como ser capaces de colonizar raíces de diferentes vegetales por mecanismos similares al de los hongos micorriticos y por producir compuestos que estimulan el crecimiento como citoquininas, zeatinas y giberelinas; así como promover mecanismos de defensa en plantas (Cano, 2011).

En el caso de *Trichoderma atroviride*, se reportan resultados obtenidos en ensayos en invernadero sobre plantines de lechuga, donde todos los tratamientos con *T. atroviride* se diferenciaron del testigo en cuanto a velocidad de crecimiento y sanidad, los pesos radicular y aéreo llegaron a superar en 46% (Pérez, et al., 2015).

Tareas previas al ensayo

Preparación de sustratos:

- S1 (Suelo + Perlita Agrícola): en cada maceta, se mezclaron 115 gramos del suelo mencionado anteriormente con tres cucharaditas (17 cm^3) de perlita agrícola, obteniendo una mezcla totalmente uniforme.
- S2 (Suelo + Perlita Agrícola + Lombricompuesto): de igual forma al anterior, se mezclaron 115 gramos de suelo, tres cucharaditas (17 cm^3) de perlita agrícola y una dosis de lombricompuesto a razón de 10tn/ha (0,41g por maceta).
- S3 (Turba + Perlita Agrícola + Lombricompuesto): debido a las características hidrofóbicas de la turba, previamente se la humedeció con agua tibia para

favorecer un mayor contacto con la misma. Finalmente una vez logrado el humedecimiento del material, se procedió a mezclar en cada maceta la turba con tres cucharaditas (17 cm^3) de perlita agrícola, más el agregado de una dosis de lombricompuesto a razón de 10tn/ha (0,41g por maceta).

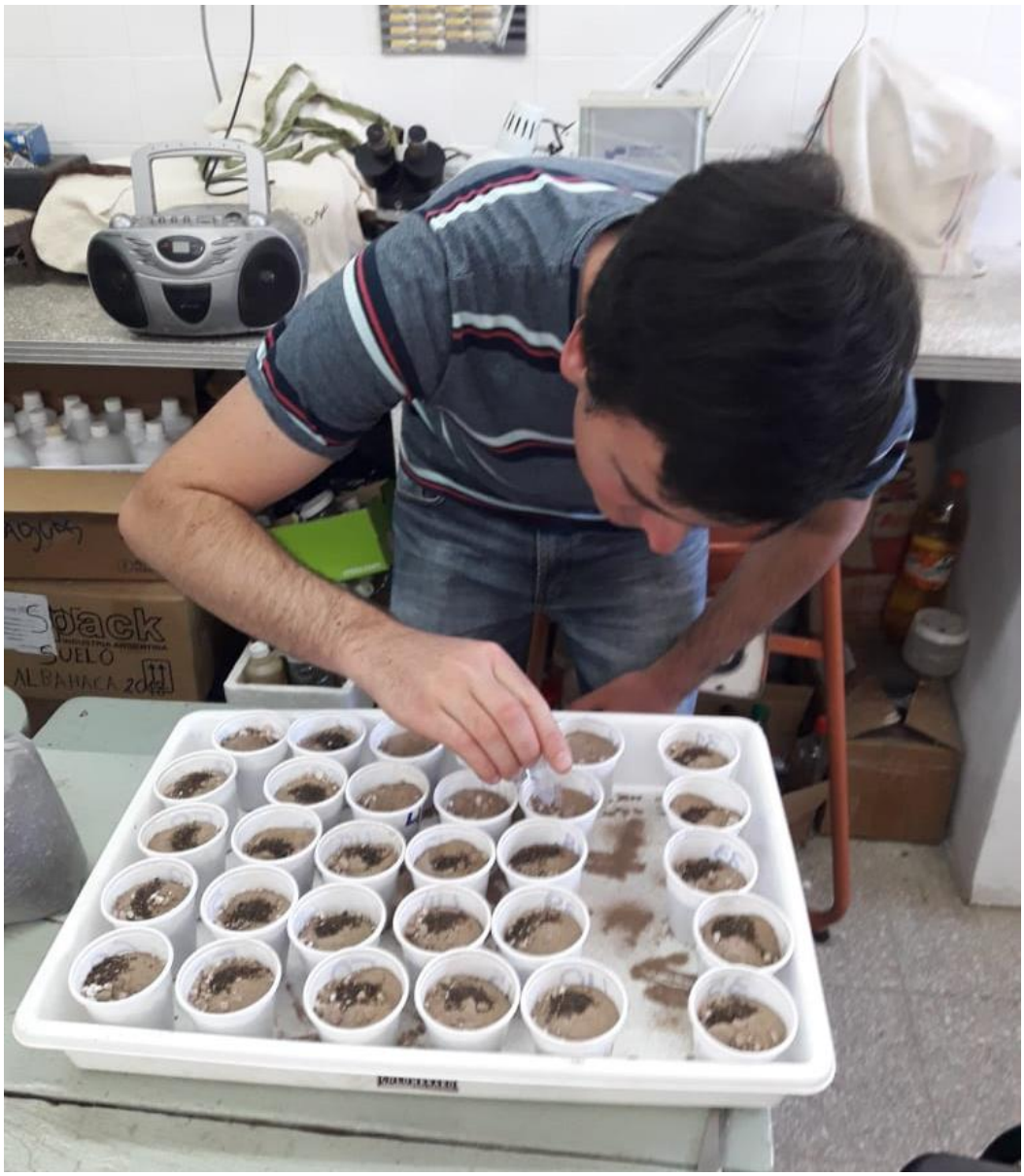

Figura 2. Preparación de sustratos en sus respectivas macetas.

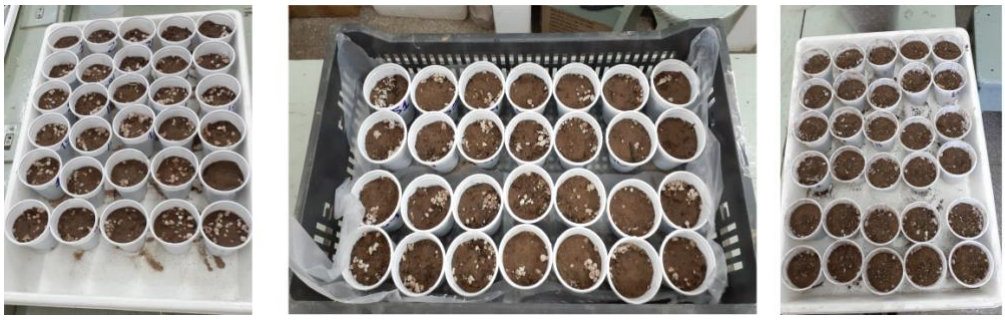

Figura 3. Macetas con sus correspondientes sustratos, para ser luego sembradas e inoculadas.

Siembra:

El material vegetal utilizado fue lechuga crespa (*Lactuca sativa* var. *crispa* L.) cultivar Brisa. Caracterizados por no formar cabezas, presentando hojas anchas con margen muy recortado, sueltas y dispersas (SINAVIMO, 2014).

La siembra se realizó manualmente, controlando la profundidad para que esta sea constante en todos los tratamientos y repeticiones. Se colocaron tres semillas por maceta para asegurar un stand de una planta por recipiente.

Inoculación:

Se usaron inoculantes comerciales los cuales fueron aportados por la empresa Facyt, tres de ellos se encuentran disponibles en el mercado mientras que el de *Bacillus subtilis* está aún en proceso de inscripción.

Inmediatamente después de la siembra, se procedió a realizar las inoculaciones. La cual consistía en colocar en el punto de siembra con ayuda de una micropipeta 0,25 mL de cada inoculante en sus respectivas macetas.

Tabla 1. Concentraciones mínimas (UFC/mL) de los diferentes inoculantes utilizados.

PGPR	Nombre comercial	Concentración mínima (UFC/mL)
Azospirillum brasilense AZ39 INTA	FACYT AZ	$1x10^8$
Pseudomonas fluorescens Ps6	FACYT PSF	$1x10^9$
Bacillus subtilis	-	$5x10^8$
Trichoderma atroviride	FACYT TRICH	$1x10^9$

Conducción del ensayo

Una vez realizada la siembra y las distintas inoculaciones, las macetas fueron llevadas a un invernáculo tipo capilla (techo a dos aguas) con ventilación lateral, ubicado en el Campus Sargento Cabral, donde se las distribuyó aleatoriamente (Figura 4).

En las primeras semanas se tomó registro de las plántulas que iban emergiendo y se procedía a dejar solo una por tubete o maceta.

Otro control que se realizó es el conteo de número de hojas verdaderas desplegadas, aunque al principio con una frecuencia semanal, la cual luego se fue intensificando.

También diariamente se realizaban los riegos necesarios, asegurando que no se manifiesten deficiencias hídricas en las plántulas.

Figura 4. Macetas sembradas e inoculadas, distribuidas totalmente al azar en el invernáculo.

Extracción de plántulas

Para definir el momento de extracción de las plántulas, se tuvo en cuenta el número de hojas adecuadas para realizar el trasplante, el cual era de cuatro hojas verdaderas desplegadas.

Entonces todas aquellas plántulas que presentaban cuatro hojas verdaderas desplegadas, se procedía a separar sus raíces del sustrato con ayuda de agua de canilla en un recipiente plástico, para finalmente realizar las diferentes determinaciones. (Ver Figuras: 15, 16 y 17 del anexo, donde se puede apreciar como quedaban las plántulas después de separar las raíces del sustrato).

Descripción de parámetros evaluados

Días promedio a plántulas de cuatro hojas:

Para su cálculo se contaron los días comprendidos entre la emergencia y el estado fisiológico de cuatro hojas, considerándolo a este último como óptimo para realizar un trasplante.

Esta variable es importante, ya que si se logra llegar con mayor rapidez al número de hojas adecuadas para realizar el trasplante, se reducirían el tiempo de permanencia en los tubetes y con ello se reducen riesgo de ocurrencia de enfermedades, ataques de plagas, envejecimiento, costos de producción, entre otros (Leskovar, 2001).

Área de absorción radical:

Esta variable fue calculada por método indirecto descripto por Carley y Watson (1966), pero a diferencia de ellos solo se usó agua y no una solución de Ca $(NO_3)_2$. El método se basa en determinar por diferencias de pesos la cantidad de sustancia que queda adherida a la superficie de las raíces, luego de ser sumergidas en el líquido. La técnica consiste en colocar en un vaso de precipitado agua y pesarlo (Peso 1), en el mismo después se sumergía las raíces por un tiempo de 10 segundos, luego se sacaban las raíces y se dejaba escurrir sobre el mismo el excedente durante 30 segundos. Por último se pesaba el agua contenida en el recipiente (Peso 2) y se hacía una diferencia entre ambos pesos (Peso 1-Peso 2), obteniendo de manera indirecta el área de absorción radical.

Biomasa fresca de raíz y vástago:

Con balanza analítica inmediatamente después de extraídas las plántulas, se tomaron los pesos frescos de raíz y de vástago expresados en gramos. Luego se sumaron ambos pesos para obtener la biomasa fresca total por planta.

Biomasa seca de raíz y vástago:

Una vez obtenidos los pesos frescos, se llevaron las plántulas a estufa a 80°C para obtener el contenido de materia seca. Una vez llegado a peso constante, se tomaron los pesos secos de raíz y de vástago expresados en miligramos, y luego se sumaron ambos pesos para obtener la biomasa seca total por planta.

Relación biomasa seca de vástago/ biomasa seca de raíz:

La relación parte aérea/radical se considera un buen indicador de la supervivencia del plantín al trasplante, ya que refleja la relación de equilibrio entre fotosíntesis, transpiración y absorción de agua (Tittonell, et al., 1999).

Esta relación nos indica las partes de vástago que presentan las plántulas por cada parte de raíz y nos daría indicio de cuan balanceadas estarían las partes aéreas y subterráneas de nuestras plántulas.

Resultados

Los distintos datos obtenidos en el experimento, en primer lugar fueron analizados realizando comparaciones entre los sustratos. Luego para comprender mejor el desempeño de los diferentes inoculantes en cada sustrato, se sometieron los datos a análisis de la varianza utilizando test de LSD Fisher con un nivel de significación de 0,05 por medio del programa InfoStat versión 2019.

Días promedio a plántulas de cuatro hojas

En esta variable se pudo observar que de todos los sustratos, el S3 fue el que más achico la brecha de tiempo entre la emergencia y las cuatro hojas. En el mismo las plántulas de todos sus tratamientos llegaron entre los 18,2 y 19 días en promedio. Siendo que en el S1 y S2, les llevo un tiempo promedio de 28 a 29,6 y 25,8 a 29,8 días respectivamente (Figura 4).

Analizando ahora el efecto de las inoculaciones, podemos ver una clara tendencia de todas las inoculaciones del S2 produjeron una disminución en los días requeridos en llegar al estado de cuatro hojas, con respecto al testigo, y con diferencia significativa para el T4. En los sustratos S1 y S3, ninguna de las inoculaciones marcaron diferencias respecto a sus testigos, pero si se destacan; el T4 en el S1, y los T1 y T4 en el S3 que llegaron antes a las cuatro hojas respecto de su testigo, con un margen de tan solo un día (Figura 4).

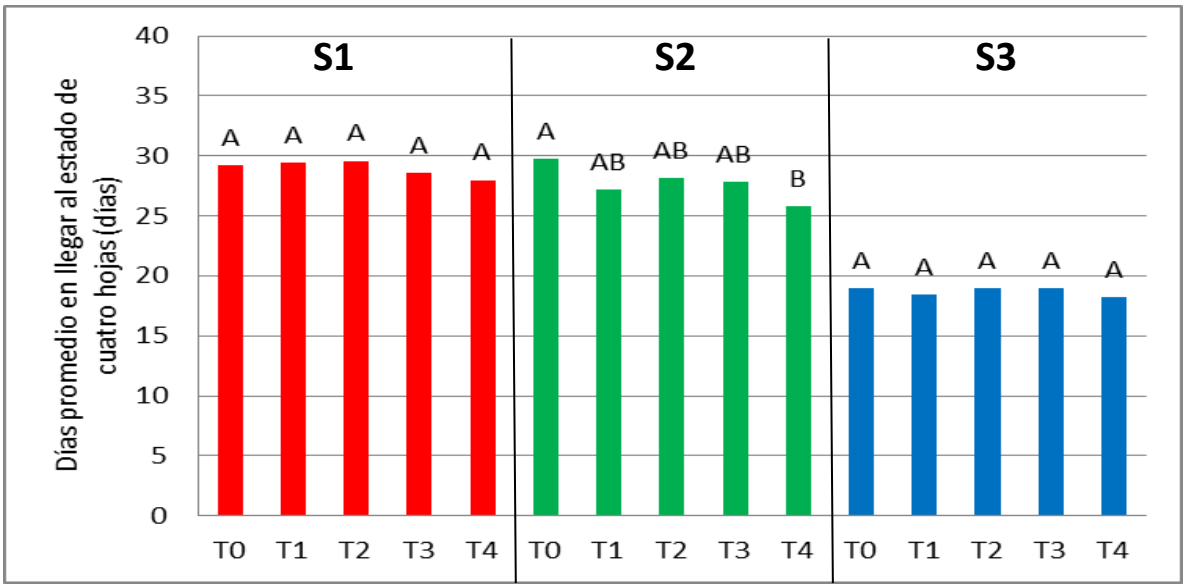

Figura 4. Días promedio en llegar a las cuatro hojas, contados desde la emergencia. Las comparaciones se realizan comparando los tratamientos dentro de cada sustrato. Letras diferentes indican diferencias significativas (p≤0,05).

Otro dato a tener en cuenta, sobre todo si estamos frente a un emprendimiento es la ventana de días que hay entre la primer y ultima plántula de cuatro hojas extraída dentro de cada tratamiento. De todos los sustratos estudiados, el S3 fue el que más achico dicha ventana. Por otro lado solo algunas de las inoculaciones pudieron reducir dicha ventana con respecto de sus tratamientos control: en el S1 solo los T2 y T3 con una ventana de 5 y 4 días respectivamente; en el S2 solo el T1 con 6 días; y por último en el S3 se destaca el T4 con una ventana de tan solo 1 día (Figura 5).

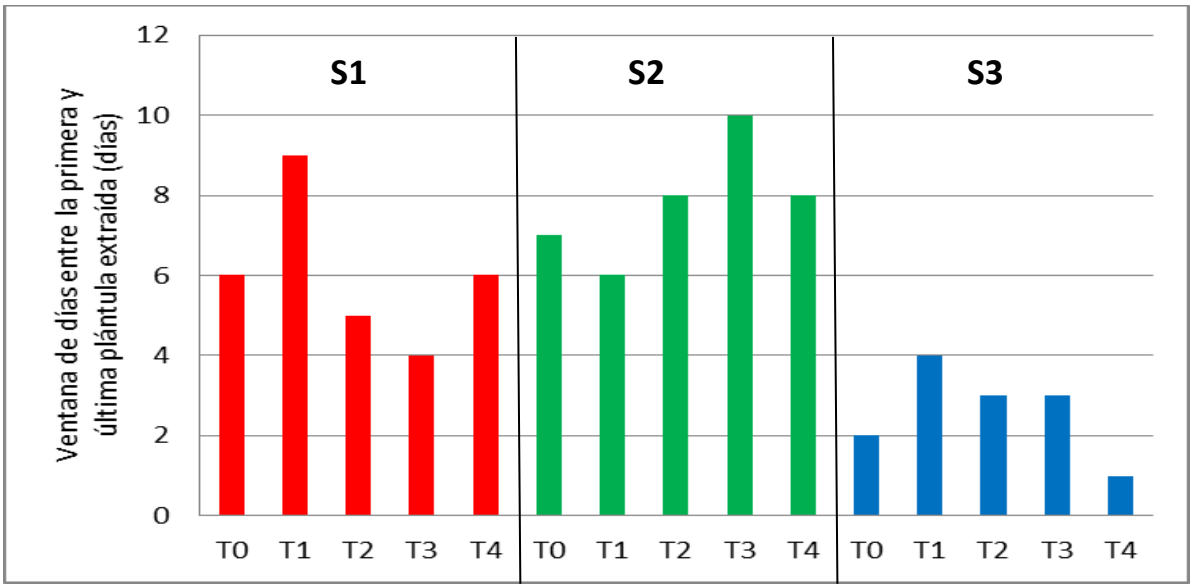

Figura 5. Ventana de días entre la primera y última plántula extraída.

Biomasa fresca total

La biomasa fresca total claramente fue superior en los plantines del S3, en comparación de los otros sustratos, incluso llegando a los 1,5g en el T4. Aunque en términos generales, las inoculaciones no tuvieron efectos positivos en esta variable ya que el T1 fue inferior significativamente al T2 y T4 e incluso al T0 (Figura 5).

En el caso del S1, hubo una cierta tendencia de aumento en los pesos frescos de los T2, T3 y T4 aunque sin observarse alguna diferencia significativa (Figura 5).

Por último en el S2, todos los tratamientos inoculados muestran mayores valores en esta variable a su tratamiento control, habiendo incluso en el caso de los T1 y T2 diferencias estadísticas significativas respecto del testigo, presentando 0,96 y 0,95 g en promedio respectivamente (Figura 5).

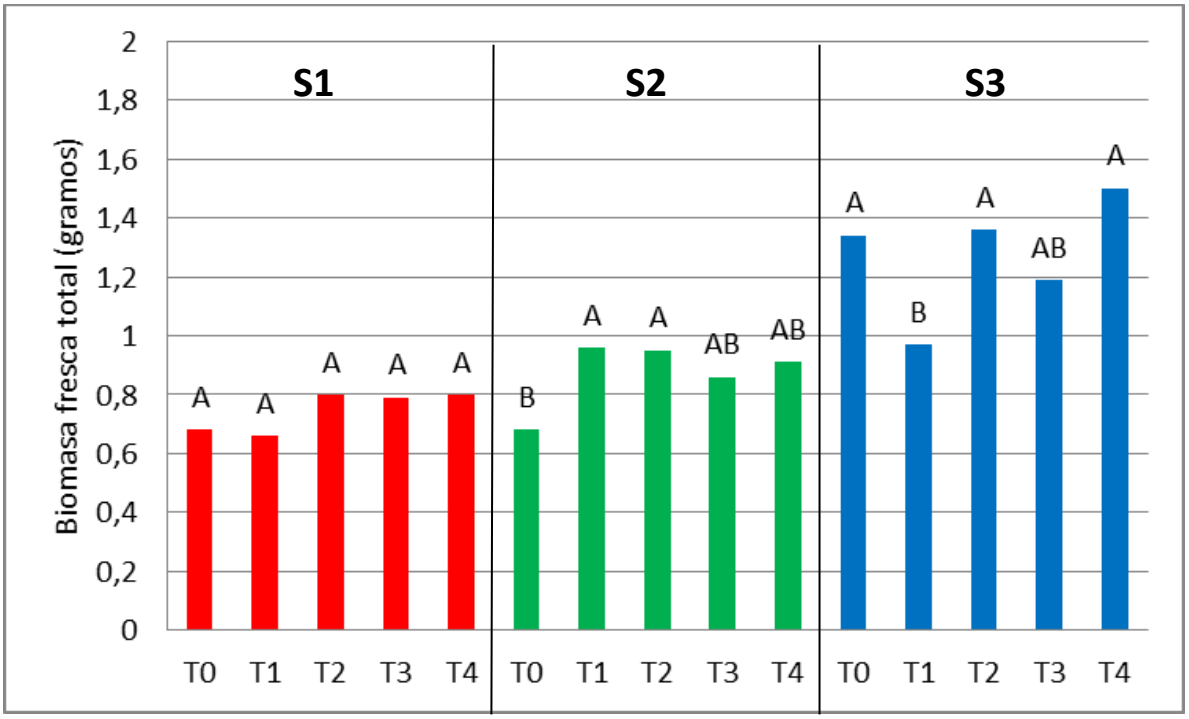

Figura 6. Biomasa fresca total en gramos. Las comparaciones se realizan comparando los tratamientos dentro de cada sustrato. Letras diferentes indican diferencias significativas (p≤0,05).

Biomasa fresca de vástago

Si comparamos los distintos sustratos, vemos que los pesos frescos de vástago son mayores en el S3, siendo en algunos casos superior al gramo y a su vez las plántulas del S2 presentaron una biomasa fresca mayor a las del S1 (Figura 7).

En cuanto a las inoculaciones podemos observar en los S1 y S2, una cierta tendencia de aumento pero con diferencias significativas solo en el S2, del T1 (0,61g) respecto del T0 (0,43g). En el S3, el comportamiento fue totalmente diferente, ya que solo el T4 pudo lograr una diferencia estadística respecto al T1 (Figura 7).

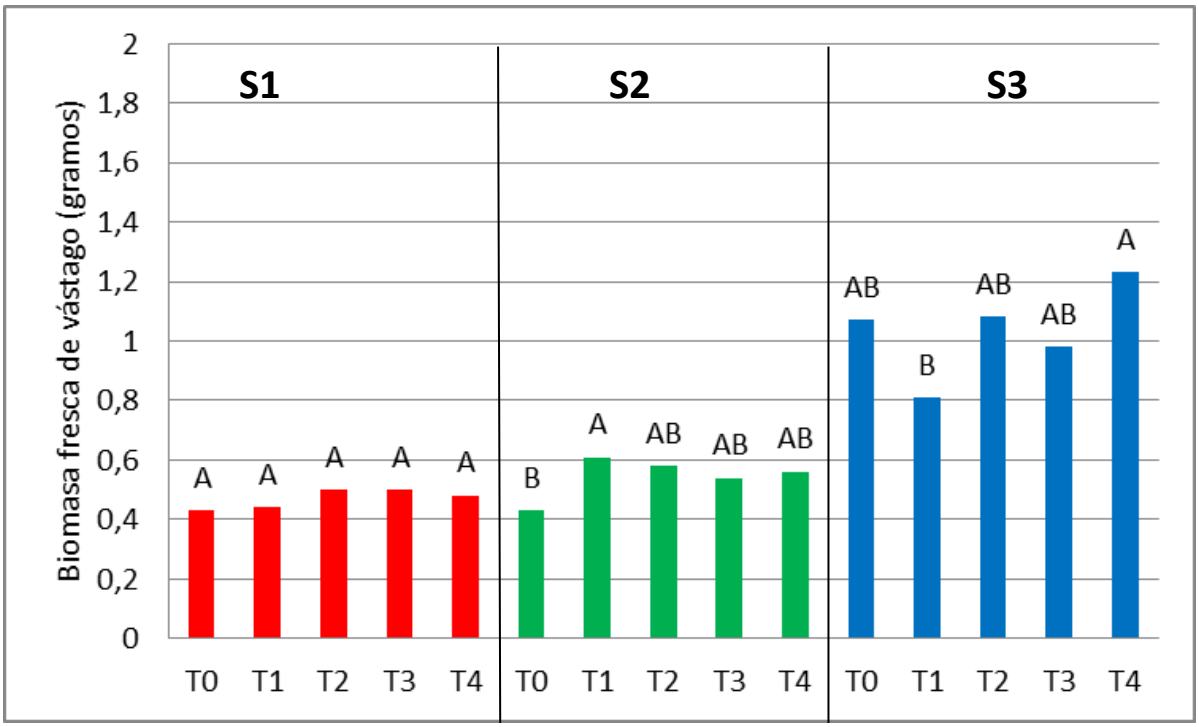

Figura 7. Biomasa fresca de vástago en gramos. Las comparaciones se realizan comparando los tratamientos dentro de cada sustrato. Letras diferentes indican diferencias significativas (p≤0,05).

Biomasa fresca de raíz

A diferencia de lo que sucedió con el peso fresco de vástago, las plántulas del S3 fueron las de menor peso fresco de raíz (Figura 8). Es decir las plántulas de este sustrato tuvieron un mayor desarrollo de la parte aérea y menor de la subterránea.

En el S2, las distintas inoculaciones hicieron que esta variable sea mayor al de los otros sustratos, variando en los mismos de los 0,32 a 0,37g en promedio. También en este sustrato, se observó una tendencia de aumento en los tratamientos inoculados, observándose diferencias estadísticas de los T1, T2 y T4 respecto de su tratamiento control (Figura 8).

En los otros sustratos no todas las inoculaciones tuvieron el mismo comportamiento al S2. Ya que en el S1, mostro diferencia estadística significativa solo el T4 respecto del T1, pero sin lograr diferenciarse de los demás tratamientos incluyendo al tratamiento control (T0). De la misma forma en el S3, los tratamientos: T0, T2 y T4; lograron diferenciarse estadísticamente del T1 (Figura 8).

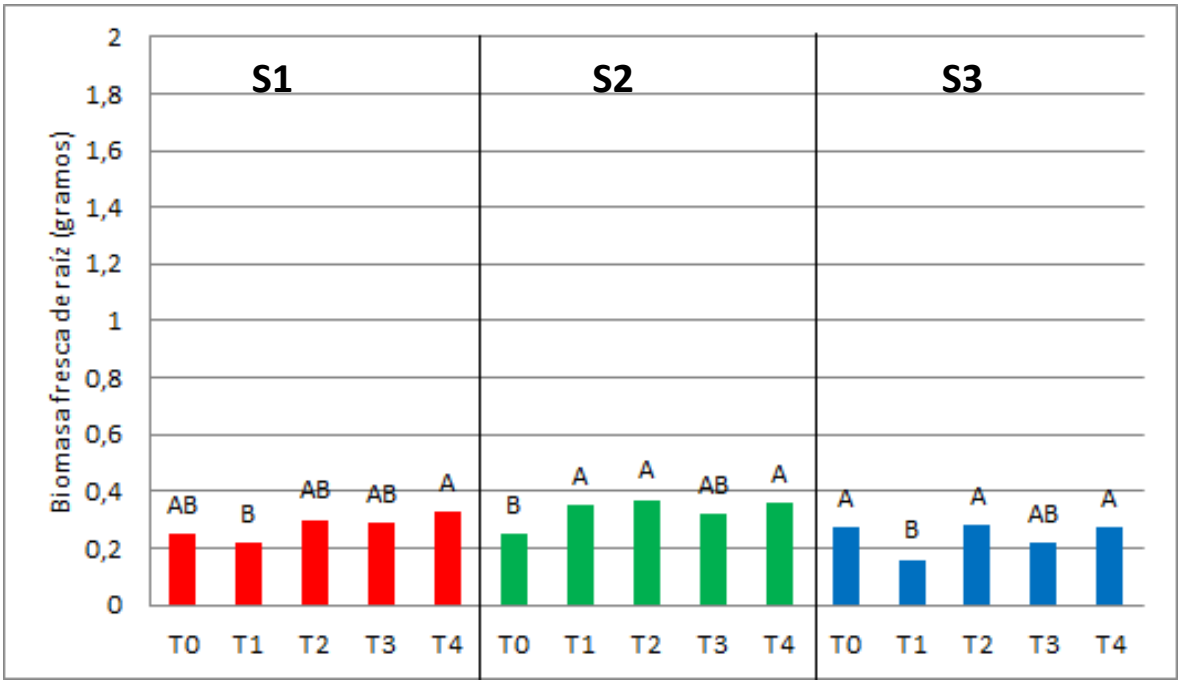

Figura 8. Biomasa fresca de raíz en gramos. Las comparaciones se realizan comparando los tratamientos dentro de cada sustrato. Letras diferentes indican diferencias significativas (p≤0,05).

Área de absorción radical

Claramente cómo se puede observar en el siguiente gráfico, la variable área de absorción radical fue mayor en el S3, teniendo en promedio entre 0,24 y 0,36. Siendo que en los otros sustratos el promedio máximo fue de 0,2.

En cuanto a las inoculaciones podemos observar una tendencia de aumento en los S1 y S2, pero con diferencias significativas solo en el S1, de los T1 y T3 respecto del T0.

Por ultimo en el S3, solo el T4 presento un área de absorción radical mayor respecto de su testigo. Aunque ninguno de las inoculaciones pudo diferenciarse estadísticamente respecto del tratamiento control.

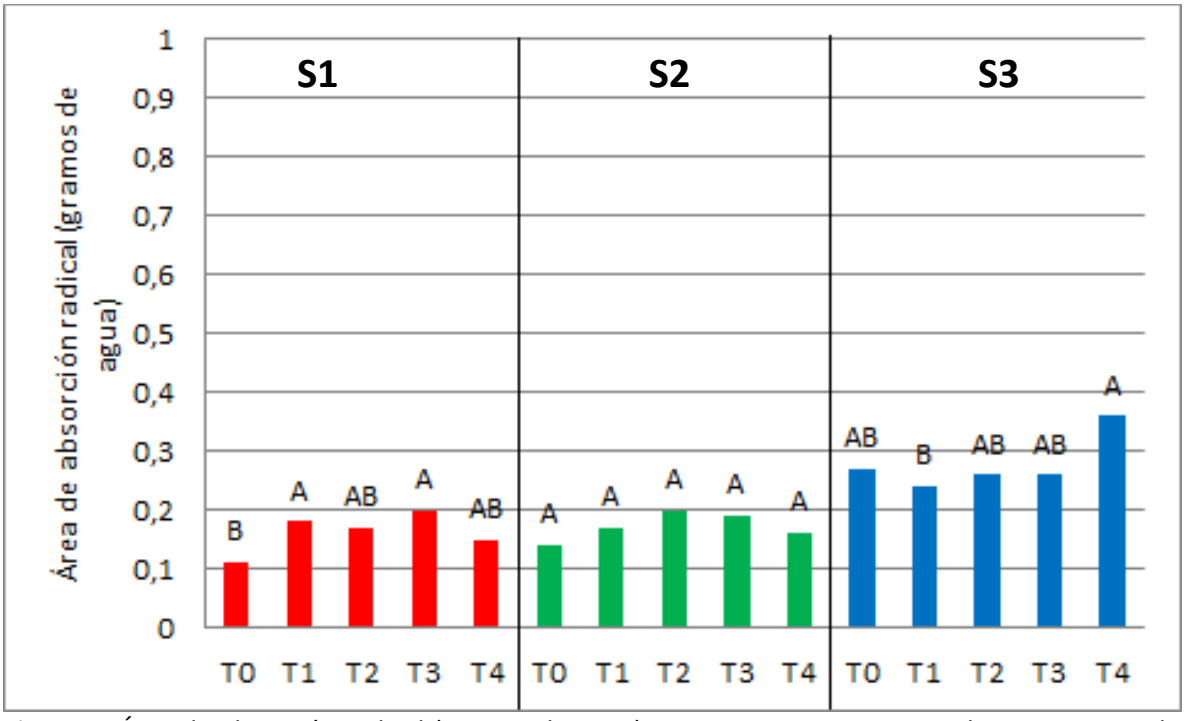

Figura 9. Área de absorción radical (gramos de agua). Las comparaciones se realizan comparando los tratamientos dentro de cada sustrato. Letras diferentes indican diferencias significativas (p≤0,05).

Biomasa seca total

En los S1 y S2, se pudo observar una tendencia de aumento de la biomasa seca total en todos los tratamientos inoculados respecto de sus testigos, aunque sin presentarse alguna diferencia estadística significativa (Figura 10).

En el S3, los tratamientos: T0, T2 y T4 incrementaron significativamente su biomasa seca respecto al T1 (Figura 10). Cabe destacar además que los T2 y T4 fueron los únicos que presentaron mayor biomasa seca que el testigo, pero sin ser significativa las diferencias (Figura 10).

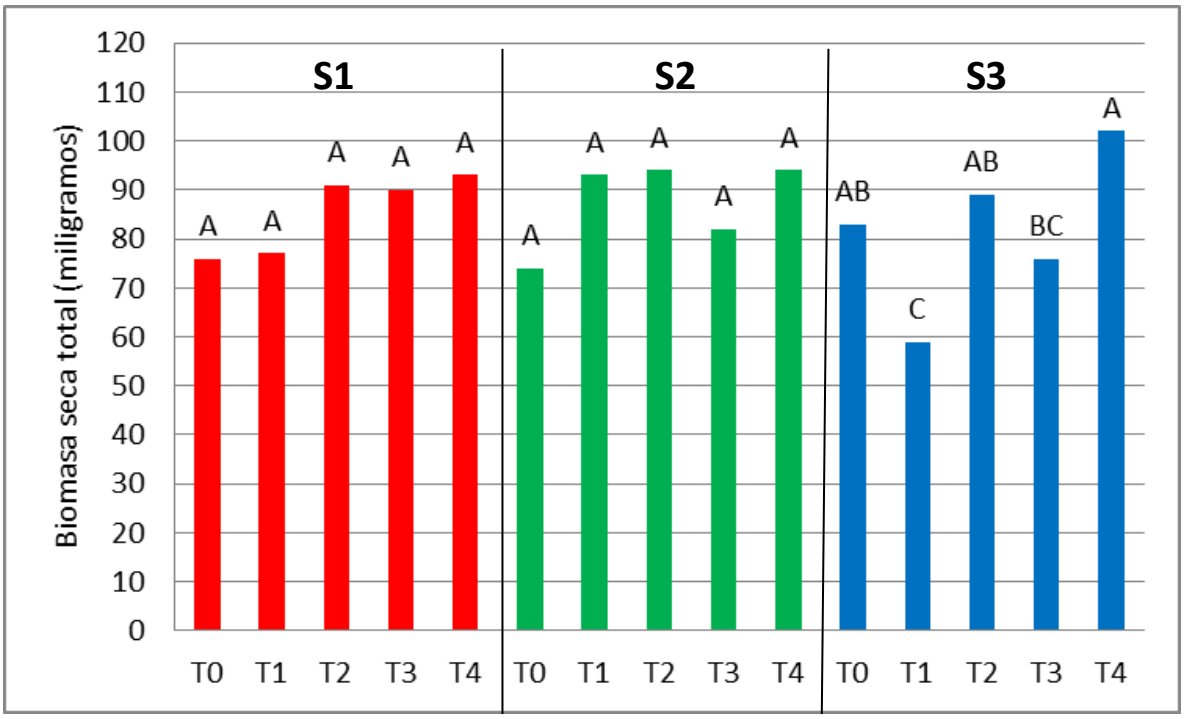

Figura 10. Biomasa seca total en miligramos. Las comparaciones se realizan comparando los tratamientos dentro de cada sustrato. Letras diferentes indican diferencias significativas (p≤0,05).

Biomasa seca de vástago

La biomasa seca de vástago en la mayoría de los tratamientos fue superior en el S3, variando sus pesos promedio entre los 50 y 84mg, siendo que los S1 y S2 prácticamente presentaron los mismos pesos promedios entre los 41 a 55mg (Figura 11).

Tanto en los S1 y S2, se puede observar cierta tendencia de aumento de esta variable en las distintas inoculaciones, aunque sin verse diferencias significativas. Por otro lado esta tendencia, se cumple parcialmente en el S3, ya que solo los T2 y T4, lograron generar mayor biomasa aérea que el T0 (Figura 11).

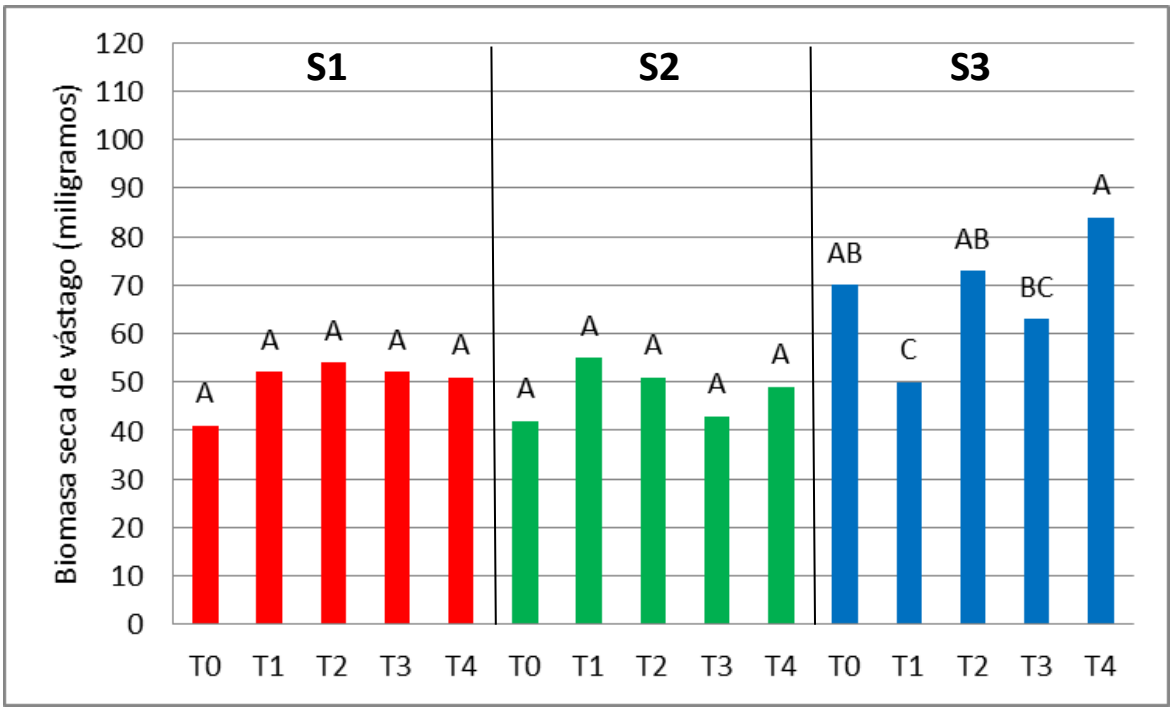

Figura 11. Biomasa seca de vástago en miligramos. Las comparaciones se realizan comparando los tratamientos dentro de cada sustrato. Letras diferentes indican diferencias significativas (p≤0,05).

Biomasa seca de raíz

Claramente las plántulas del S3, fueron las que generaron menor biomasa seca de raíz. La misma en promedio pudo variar entre los 9 y 17mg. Por otra parte, los que presentaron la mayor fue el del S2, variando sus promedios entre 32 y 46mg (Figura 12).

En el S2, se puede ver una tendencia de aumento de esta variable en las distintas inoculaciones realizadas, ya que en el T0 el peso seco promedio por raíz era de 32mg, pasando a tener en los tratamientos inoculados de 39 a 46g. También se presentó esta tendencia en el S1, pero con la diferencia en que el T1 presento una biomasa seca de raíz algo menor respecto del testigo (Figura 12).

Por ultimo en el S3, los T0, T2, T3 y T4 incrementaron significativamente su peso seco de raíz respecto del T1 (Figura 12).

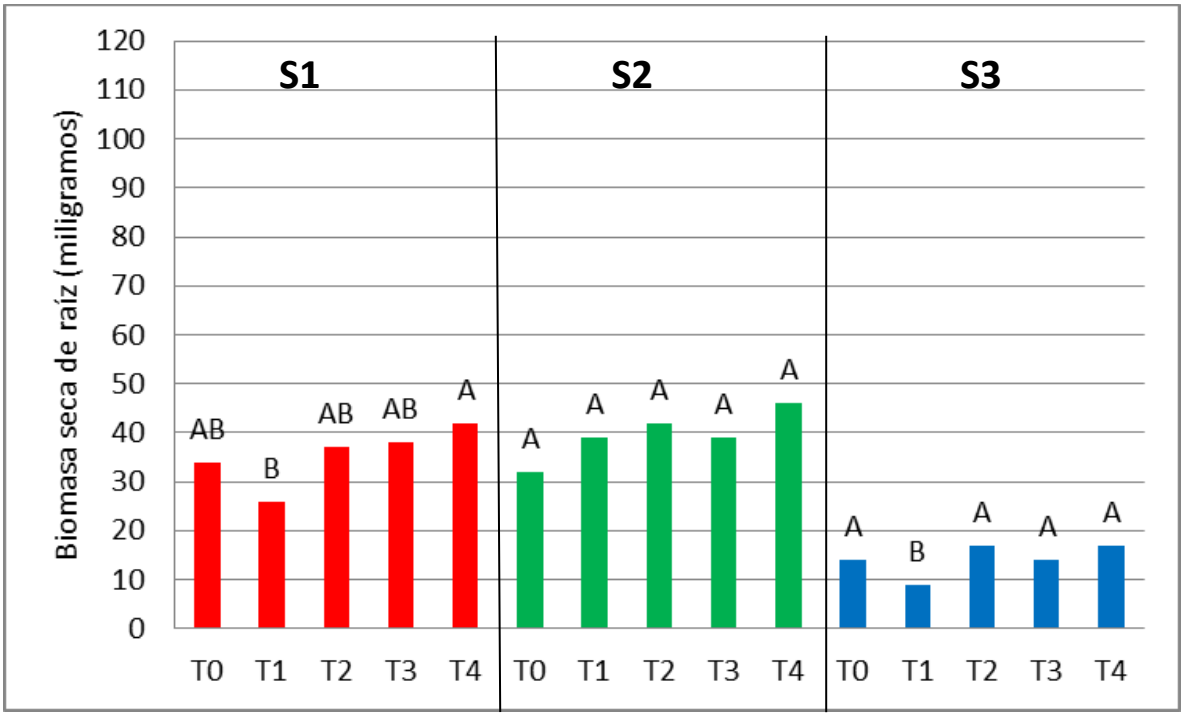

Figura 12. Biomasa seca de raíz en miligramos. Las comparaciones se realizan comparando los tratamientos dentro de cada sustrato. Letras diferentes indican diferencias significativas (p≤0,05).

Relación biomasa seca de vástago/biomasa seca de raíz

De todos los sustratos utilizados, el S3 fue el que más aumento esta relación, teniendo en promedio entre 4,42 a 5,72 partes de vástago por una de raíz, siendo que en los otros sustratos el promedio máximo fue de 2,04 en el caso del S1, y 1,45 en el S2. Con estos valores claramente las plántulas del S3, fueron las que más generaron biomasa aérea en relación a la subterránea (Figura 13).

El T1, logro incrementar significativamente dicha relación respecto de todos los tratamientos en el caso del S1. Por otro lado en el S3, también el T1 puedo diferenciarse estadísticamente respecto del T2 y T3 (Figura 13).

En cambio en el S2, comparando los distintos tratamientos vemos que las relaciones fueron más estables entre ellos, ya que no se pudo ver diferencias estadísticas (Figura 13).

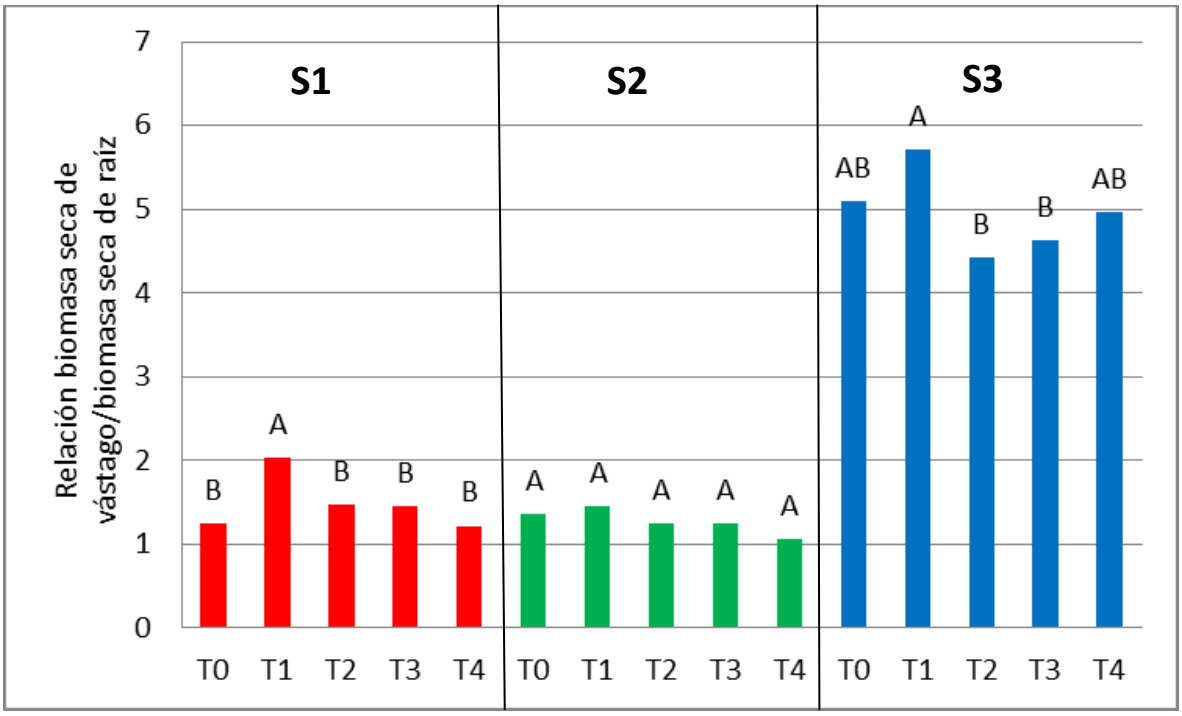

Figura 13. Relación biomasa seca de vastago/biomasa seca de raíz. Las comparaciones se realizan comparando los tratamientos dentro de cada sustrato. Letras diferentes indican diferencias significativas (p≤0,05).

Costo de la inoculación

Teniendo en cuenta una lista de precios aportada por la empresa Facyt, se hallaron los costos de inoculación solo de tres inoculantes usados, ya que del restante no se contó con un precio de referencia. Se calcularon el costo de la dosis usada por plantín y lo que costaría inocular 100000 plantas, ya que dicha cantidad es la requerida para implantar una hectárea de cultivo (SINAVIMO, 2014).

De acuerdo a los costos hallados, la implementación de inoculantes PGPM puede ser una buena alternativa para ser llevada a cabo por productores locales, ya que el costo por planta es bajo, siendo este en promedio de $0,67.

Tabla 2. Costo de inoculación, en base a la lista de precios aportada por la empresa Facyt. Al estar los precios de los productos en dólares, se tuvo en cuenta un tipo de cambio de $80/U$S.

Inoculante	U$S/Caja	U$S/L	U$S/Dosis (0,25mL)	$/Dosis	$/100.000 Dosis
FACYT AZ (*Azospirillum brasilense*)	92	18,4	0,0046	0,368	36.800
FACYT PSF (*Pseudomonas fluorescens*)	120	60	0,015	1,2	120.000
Bacillus subtilis	-	-	-	-	-
FACYT TRICH (*Trichoderma atroviride*)	90	22,5	0,005625	0,45	45.000

Comentarios finales

Los resultados aportados por este trabajo ayudan a incrementar la información acerca de la utilización de distintos PGPM en los sistemas productivos de la región, ya que su incorporación contribuiría a producir alimentos sanos con una mayor sustentabilidad de los sistemas.

De todos los sustratos utilizados solo en el S2, algunas de las inoculaciones realizadas en la siembra pudieron incrementar la biomasa fresca de las plántulas, aunque sin verse reflejado en un incremento en la biomasa seca. Cabe resaltar que este comportamiento también se vieron en plántulas de lechuga mantecosa inoculadas con una formulación compuesta por tres cepas de *Azospirillum brasilense*: Az39, Pl64 y Pl3, donde fue incrementado el peso fresco, pero el peso seco no fue significativamente modificado por la inoculación (Garbi, et al., 2016). La respuesta observada en el peso fresco podría estar relacionada a que el uso de estos microorganismos mejora la tasa de absorción de agua (Iglesias, et al., 2000) por las plantas.

Entre los PGPM que incrementaron la biomasa fresca total en el S2 fueron: *Azospirillum brasilense* y *Pseudomonas fluorescens*. Ahora si vemos la partición de esta biomasa, solo *Azospirillum brasilense* pudo incrementar la biomasa fresca de vástago, mientras que la biomasa fresca de raíz fue incrementada por ambos microorganismos incluyendo al tratamiento de *Trichoderma atroviride*.

El incremento de la biomasa fresca de vástago por parte de *Azospirillum brasilense*, es un dato a tener en cuenta, ya que al realizar alguna inoculación con el mismo en lotes de cultivo de lechuga de productores locales, se esperaría un incremento en sus rendimientos.

Trichoderma atroviride también logro reducir significativamente el tiempo promedio en llegar a las cuatro hojas en las plántulas del S2, y con ello el tiempo de permanencia de los plantines en los tubetes.

En caso del S1, el comportamiento de los inoculantes fue satisfactorio ya que se observaron tendencias favorables en la mayoría de las variables, destacándose las inoculaciones de: *Azospirillum brasilense* y *Bacillus subtilis.* Ambos lograron incrementar el área de absorción radical, y en el caso de *Azospirillum* incluso la relación entre la biomasa seca de vástago y biomasa seca de raíz.

Por otra parte en el S3, prácticamente ningún tratamiento en las distintas variables pudo diferenciarse de su tratamiento control, pero en líneas generales los de mejor desempeño fueron: *Trichoderma atroviride* seguido por *Pseudomonas fluorescens*. A pesar de ello las plántulas de este sustrato se destacaron por llegar más rápido a las cuatro hojas,

presentando la mayor biomasa fresca total y de vástago, como así también la mayor área de absorción radical respecto de los demás sustratos utilizados en esta experiencia.

La mayor generación de biomasa fresca total y biomasa fresca de vástago, como así también la mayor relación entre la biomasa seca de vástago y biomasa seca de raíz en el S3, estuvieron totalmente influenciadas por las características de porosidad de la turba, lo que genera que este material presente una gran acumulación de agua. Teniendo en cuenta que el agua es el principal regulador del crecimiento del plantín, pudiendo un uso excesivo, favorecer un crecimiento desproporcionado de la parte aérea con relación a la raíz (Ullé, et al., 2009).

De acuerdo a los datos obtenidos en esta experiencia, se puede concluir que el desempeño de los diferentes inoculantes estuvo totalmente influenciado por el tipo de sustrato, siendo en los S1 y S2 donde tuvieron mejor comportamiento. Además se deberían promover el uso y elaboración de lombricompuesto, ya que se pueden utilizar distintos residuos orgánicos, aumentando la sustentabilidad de los diferentes sistemas hortícolas de la región.

En términos de cumplimiento de los diferentes objetivos planteados, este trabajo final bajo la modalidad de pasantía me permitió:

- Comprender la importancia tanto económica y ambiental que pueden llegar a tener distintos PGPM en los sistemas productivos de la región. Ya que muchos de ellos poseen la capacidad de solubilizar nutrientes del suelo dejándolo disponible para ser luego absorbido por las plantas; fijar nitrógeno atmosférico ya sea en forma libre o simbiótica, resultando en un menor uso de fertilizantes químicos; otros además pueden ejercer un efecto antagonista hacia otros organismos perjudiciales para las plantas, reduciendo la utilización de fitosanitarios.
- Generar habilidades en el manejo de diferentes herramientas como ser: InfoStat y Excel, que me ayudaron para analizar los datos recolectados en este trabajo y además me acompañaran durante el desempeño de la profesión.
- Fortalecer distintas temáticas vistas a lo largo de la carrera, tanto de microbiología y de horticultura.
- Aprendí además a como trabajar en equipo e incorporar rutinas de trabajo, las cuales me sirvieron para poder lograr estas metas y afrontar las futuras.

Bibliografía

-Arkhipova, T. N., Veselov, S. U., Melentiev, A. I., Martynenko, E. V., & Kudoyarova, G. R. (2005). Ability of bacterium Bacillus subtilis to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. *Plant and Soil*, *272*(1-2), 201-209.

-Benintende, G. B. (2010). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal pertenecientes al género Bacilus y otros muy relacionados.

-Cano, M. A. (2011). Interacción de microorganismos benéficos en plantas: micorrizas, *Trichoderma spp.* y *Pseudomonas spp.* Una revisión. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, *14*(2), 15-31.

-Carley, H. E., & Watson, R. D. (1966). A new gravimetric method for estimating root-surface areas. *Soil Science*, *102*(5), 289-291.

-Castillo, A. E., Quarín, S. H., & Iglesias, M. C. (2000). Caracterización química y física de compost de lombrices elaborados a partir de residuos orgánicos puros y combinados. *Agricultura técnica*, 60(1), 74-79.

-Escobar, E.H.; D Ligier; R. Melgar; H. Matteio; O.Vallejos. 1994. Mapa de Suelo de los Departamentos de Capital, San Cosme e ltatí de la Provincia de Corrientes. Publicación del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA).

-Gallardo, C. V. (2005). Alcances de la investigación Argentina sobre las cualidades y usos agronómicos del lombricompuesto. *Revista Científica Agropecuaria, 9.*

-Garbi, M., Carletti, S., Sillon, C., & Vita, F. (2016). Respuesta de plántulas de lechuga mantecosa (*Lactuca sativa L.*) a la inoculación con una formulación compuesta por tres cepas de *Azospirillum brasilense*. *Horticultura Argentina*, *35*(86), 19-28. Disponible en: http://www.horticulturaar.com.ar/es/publicacion/86/

-Gómez, M. M., Mercado, E. C., & Pineda, E. G. (2014). Azospirillum una rizobacteria con uso potencial en la agricultura. *Biológicas Revista de la DES Ciencias Biológico Agropecuarias*, *16*(1), 11-18.

-IGLESIAS, M. C., et al. Inoculación con *Azospirillum sp* y *Saccharomyces sp* en el cultivo de Rabanito (*Raphanus sativus L.*) Reunión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. *UNNE (CD. ROM). Sección Ciencias Agrarias*, 2000, no 002.

-LESKOVAR, D. I. (2001). Producción y ecofisiología del transplante hortícola. *Texas A y University*.

-Mango, A. (2016). *Línea de base de la cadena frutihortícola del Cinturón Verde de la ciudad de Corrientes* (No. IICA E21 82). IICA, Buenos Aires (Argentina) Ministerio de Producción, Trabajo y Turismo, Corrientes (Argentina).

-PÉREZ, Alejandro Andrés, et al., (2015). Avances en la utilización de *Trichoderma atroviride* como biocontrolador de enfermedades fúngicas y estimulante de crecimiento vegetal. *Revista de Protección Vegetal*, vol. 30, p. 89-89.

-Puente, M. L., García, J. E., & Perticari, A. (2009). *Uso actual y potencial de Microorganismos para mejorar la nutrición y el desarrollo en trigo y maíz: Proyecto Inocular PGPM (Plant Growth Promoting Microorganism)* (No. F03/6). INTA.

-Rojas Solís, D., Contreras Pérez, M., & Santoyo, G. (2013). Mecanismos de estimulación del crecimiento vegetal en bacterias del género Bacillus. Biológicas, 15(2), 36-41.

-Saavedra, G., Corradini, F., & Antúnez, A. (2017). Manual de producción de lechuga.

-Salusso, F., Plevich, J. O., Delgado, A. R. S., Grosso, L., & Ramos, D. (2015). Calidad de plántulas de lechuga en diferentes volúmenes de celdas y su influencia en el rendimiento. REVISTA ENGENHARIA NA AGRICULTURA-REVENG, 23(6), 575-583.

-SINAVIMO. (2014). *Lactuca sativa*. Disponible en: http://www.sinavimo.gov.ar/cultivo/lactuca-sativa

-Tittonell, P. A., De Grazia, J., & Chiesa, A. (1999). Calidad del plantín de pimiento (*Capsicum annum L.*) en función del volumen disponible para la exploración radicular y la porosidad del sustrato. In Actas del XXII Congreso Argentino de Horticultura. San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina (p. 31).

-Ulle, J. A., Ponso, S., Ré, L., & Sordo, M. D. H. (2009). Evaluación de plantines de hortalizas de hojas y repollo, provenientes de dos volúmenes de contenedor y tres mezclas de sustratos, para su transplante a campo. Centro Regional Buenos Aires Norte, INTA.

-Valverde, C., & Ferraris, G. (2009). Las Pseudomonas: un grupo heterogéneo con diversos mecanismos promotores del desarrollo vegetal. *Uso actual y potencial de microorganismos para mejorar la nutrición y el desarrollo en trigo y maíz*, 22-43.

-Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and soil*, *255*(2), 571-586.

Anexo

Las siguientes figuras desde la 1 hasta 14, fueron tomadas todas en un mismo día y reflejan:

- La mayor rapidez en llegar a las cuatro hojas, a favor de las plántulas del S3 (Turba + Perlita agrícola + Lombricompuesto), respecto de los demás sustratos.
- El mayor desarrollo de la parte aérea de las plántulas del S3 (Turba + Perlita agrícola + Lombricompuesto), respecto a la de los otros sustratos.

Figura 1. Plántulas del S1 (Suelo + Perlita Agrícola) sin inocular.

Figura 2. Plántulas del S1 (Suelo + Perlita Agrícola) inoculadas con *Azospirillum brasilense* AZ39 INTA.

Figura 3. Plántulas del S1 (Suelo + Perlita Agrícola) inoculadas con *Pseudomonas fluorescens* Ps6

Figura 4. Plántulas del S1 (Suelo + Perlita Agrícola) inoculadas con *Bacillus subtilis.*

Figura 5. Plántulas del S1 (Suelo + Perlita Agrícola) inoculadas con *Trichoderma atroviride.*

Figura 6. Plántulas del S2 (Suelo + Perlita Agrícola + Lombricompuesto) sin inocular.

Figura 7. Plántulas del S2 (Suelo + Perlita Agrícola + Lombricompuesto) inoculadas con *Pseudomonas fluorescens* Ps6.

Figura 8. Plántulas del S2 (Suelo + Perlita Agrícola + Lombricompuesto) inoculadas con *Bacillus subtilis.*

Figura 9. Plántulas del S2 (Suelo + Perlita Agrícola + Lombricompuesto) inoculadas con *Trichoderma atroviride.*

Figura 10. Plántulas del S3 (Turba + Perlita agrícola + Lombricompuesto) sin inocular.

Figura 11. Plántulas del S3 (Turba + Perlita agrícola + Lombricompuesto) inoculadas con *Azospirillum brasilense* AZ39 INTA.

Figura 12. Plántulas del S3 (Turba + Perlita agrícola + Lombricompuesto) inoculadas con *Pseudomonas fluorescens* Ps6.

Figura 13. Plántulas del S3 (Turba + Perlita agrícola + Lombricompuesto) inoculadas con *Bacillus subtilis.*

Figura 14. Plántulas del S3 (Turba + Perlita agrícola + Lombricompuesto) inoculadas con *Trichoderma atroviride.*

A continuación, se presentan distintas figuras correspondientes a los diferentes sustratos y tratamientos, donde se pueden observar:

- Como quedaban las plántulas luego de ser extraídas.
- La menor biomasa radical generada por las plántulas del S3 (Turba+Perlita agrícola+Lombricompuesto).

Figura 15. Plántulas del S1 (suelo + perlita agrícola). **a)** Plántula sin inocular **b)** Plántula inoculada con *Azospirillum brasilense* AZ39 INTA **c)** Plántula inoculada con *Pseudomonas fluorescens* Ps6 **d)** Plántula inoculada con *Bacillus subtilis* **e)** Plántula inoculada con *Trichoderma atroviride.*

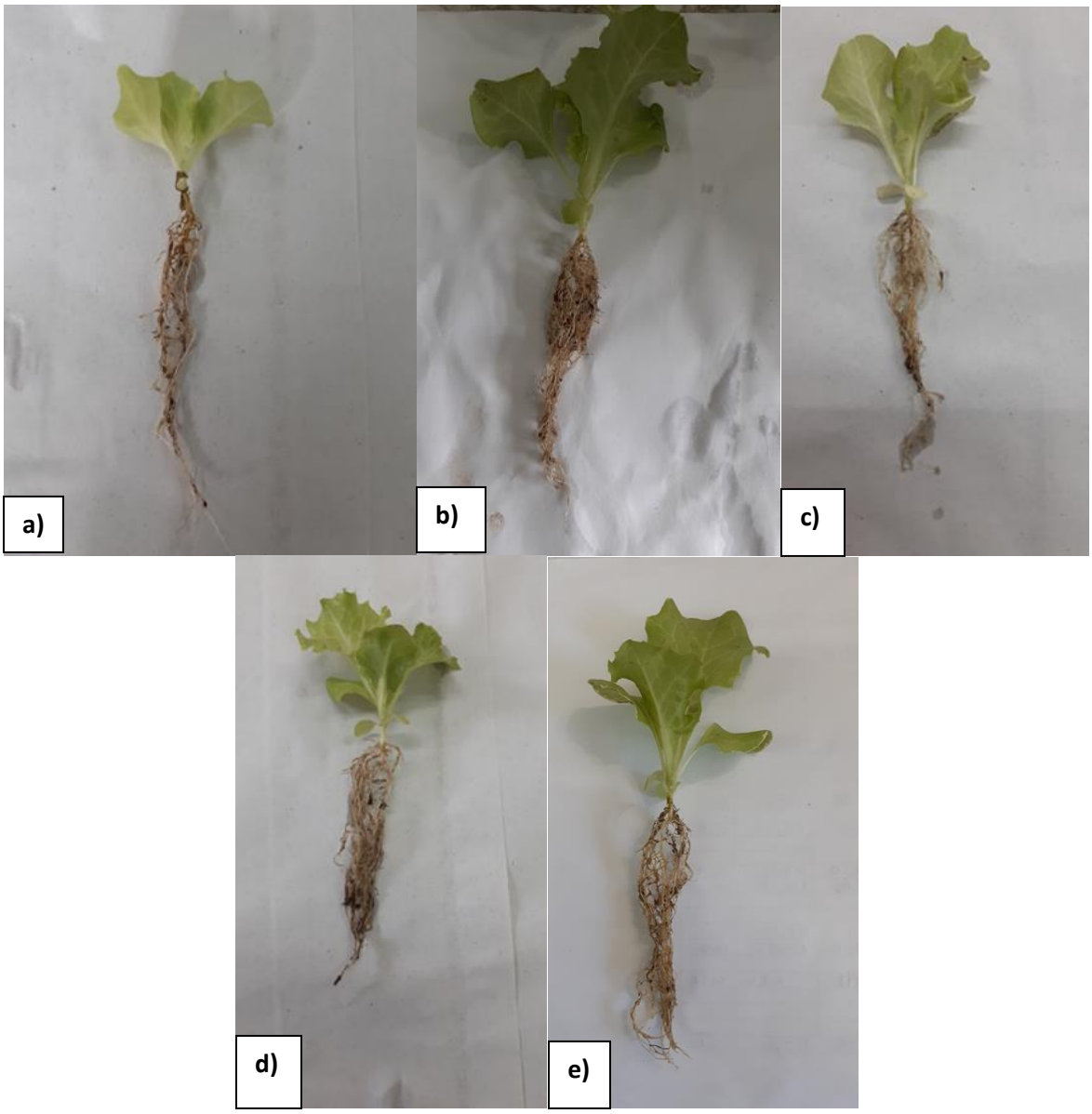

Figura 16. Plántulas del S2 (Suelo + Perlita agrícola + Lombricompuesto). **a)** Plántula sin inocular **b)** Plántula inoculada con *Azospirillum brasilense* AZ39 INTA **c)** Plántula inoculada con *Pseudomonas fluorescens* Ps6 **d)** Plántula inoculada con *Bacillus subtilis* **e)** Plántula inoculada con *Trichoderma atroviride.*

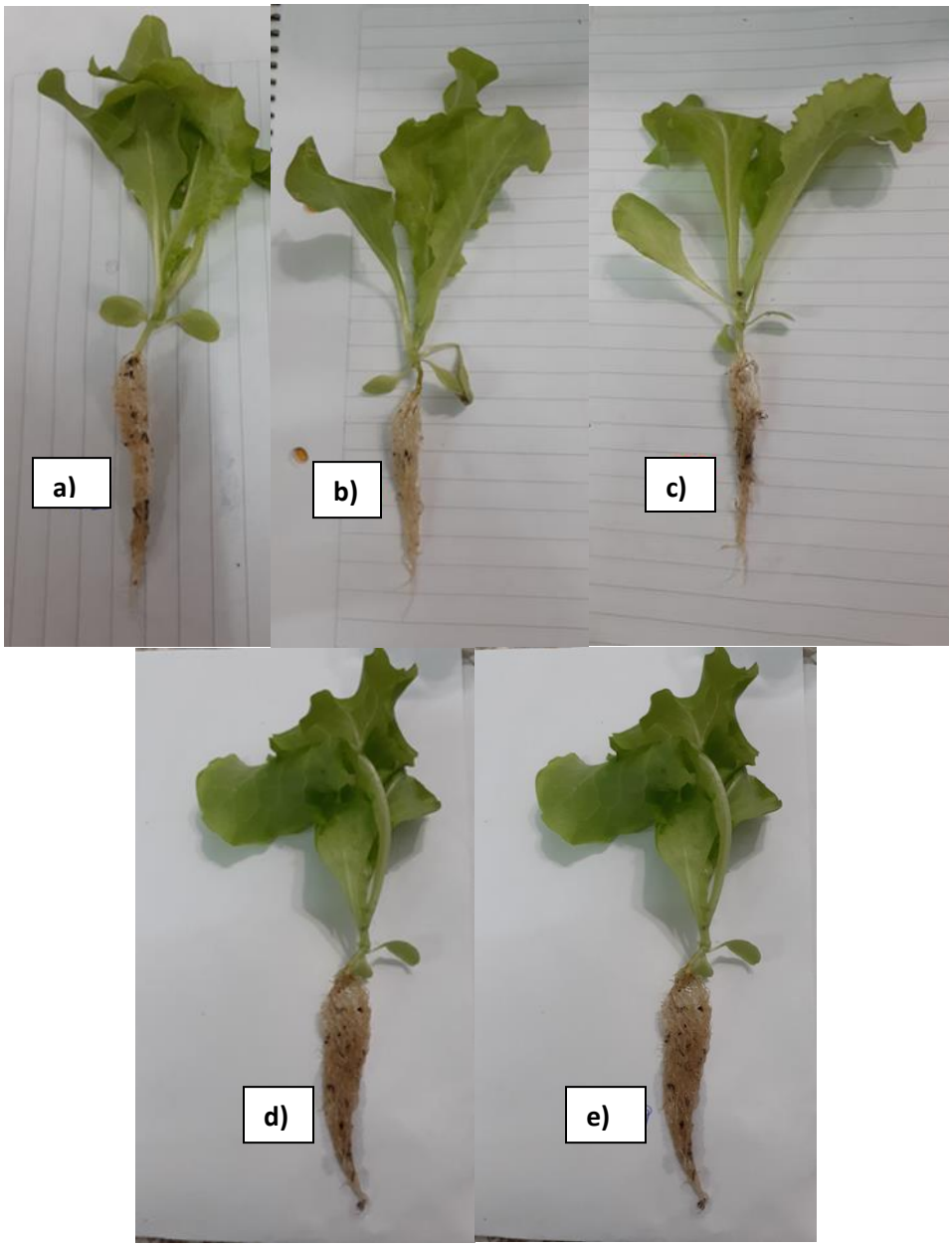

Figura 17. Plántulas del S3 (Turba + Perlita Agrícola + Lombricompuesto). **a)** Plántula sin inocular **b)** Plántula inoculada con *Azospirillum brasilense* AZ39 INTA **c)** Plántula inoculada con *Pseudomonas fluorescens* Ps6 **d)** Plántula inoculada con *Bacillus subtilis* **e)** Plántula inoculada con *Trichoderma atroviride.*