

# Aplicación de rizobacterias para mejorar el rendimiento, calidad y contenido de nitratos en el cultivo de lechuga “baby leaf” en bandejas flotantes.

Virginia Balanza, Diana Niñirola, Juan A. Martínez, Encarna Conesa, Juan A. Fernández.  
Departamento de Producción Vegetal. Universidad Politécnica de Cartagena.  
30203 Cartagena, Murcia

**Resumen.** El objetivo del trabajo fue estudiar el uso de rizobacterias promotoras del crecimiento, *Bacillus subtilis* y *Bacillus velezensis*, en un cultivo de lechuga en bandejas flotantes con el fin de mejorar la calidad y el rendimiento del cultivo, y disminuir la concentración final de nitratos en hojas. Se aplicaron los siguientes tratamientos: dos variedades de lechuga “baby leaf”, Diveria y Ganeria, dos tratamientos bacterianos, *B. subtilis* y *B. velezensis* y dos soluciones nutritivas, 4 y 12 Mmoles de N en dos ciclos de cultivo. En ambas experiencias, el crecimiento de las plantas fue mayor cuando se utilizó *Bacillus subtilis*. El uso de la solución nutritiva de 12 Mmoles de N favoreció el crecimiento de las plantas. Asimismo, se comprobó que la aplicación de bacterias consiguió disminuir el contenido de nitratos en hojas con respecto al control.

## 1 Introducción

El sistema de bandejas flotantes es una técnica sencilla y rentable para el cultivo de hortalizas tipo “baby leaf”. Las hortalizas tipo “baby leaf” se presentan principalmente como hojas enteras, de 8-12 cm de largo, con una única sección muy pequeña expuesta a la oxidación, el pecíolo, aumentando así su vida poscosecha (González y col., 2004). Un tipo de bandeja muy utilizado es el “styrofloat”, donde los alveolos comúnmente utilizados han sido sustituidos por fisuras tronco-cónicas de muy poco volumen, que limitan al máximo la utilización del sustrato.

Aquellas bacterias que ejercen un efecto beneficioso sobre el crecimiento de las plantas son llamadas rizobacterias promotoras del crecimiento (PGPR). Estas poblaciones microbianas rizosféricas son capaces de ejercer efectos específicos sobre el crecimiento vegetal (Vessey, 2003).

El órgano de la planta donde se acumula una mayor cantidad de nitrato es en las hojas, entre las que se encuentra la lechuga. La cantidad de nitrato acumulado depende de factores genéticos, ambientales y de las técnicas agronómicas utilizadas (Gonnella y col., 2002).

El objetivo del trabajo fue estudiar el uso de rizobacterias promotoras del crecimiento, *Bacillus subtilis* y *Bacillus velezensis*, en cultivos hidropónicos en bandejas flotantes de lechuga con el fin de mejorar la calidad y el rendimiento del cultivo, y disminuir la concentración final de nitratos en hojas.

## 2 Materiales y métodos

### 2.1 Condiciones de cultivo

El ensayo de campo se realizó en la Estación Experimental Agraria “Finca Tomás Ferro” de la UPCT ubicada en La Palma (Cartagena). En el experimento se utilizaron semillas de lechuga

(*Lactuca sativa*) tipo “baby leaf”, variedades Ganeria y Diveria.

Se realizaron 2 siembras, una en diciembre de 2009 y otra en febrero de 2010. La duración del ciclo de cultivo fue de 36 y 30 días, respectivamente. La siembra se realizó a mano en bandejas “styrofloat”. El sustrato utilizado fue una mezcla comercial de turba rubia y negra. Tras la siembra, las bandejas se dispusieron en una cámara climática con condiciones de 21 °C, 90% de humedad relativa y en oscuridad durante 3 días. Seguidamente se depositaron las bandejas en las mesas de flotación de dimensiones 3 x 1,5 x 0,15 m, con una altura de solución nutritiva de 5 cm ubicadas en el interior de un invernadero de policarbonato. Transcurrida una semana se realizó un aclareo de plántulas, dejando una densidad de plantación de 1700 plantas/m<sup>2</sup>, seguidamente se suministraron las distintas soluciones nutritivas y los distintos tratamientos bacterianos. A partir de esta fecha y hasta el final del cultivo se mantuvo un pH: 5,8 y una CE: 2,8 dS/m. La solución nutritiva fue oxigenada mediante una bomba de aire conectada a unos tubos perforados situados en la base de las mesas de flotación.

### 2.2 Diseño experimental

El diseño experimental fue de parcelas subdivididas. Se aplicaron los siguientes tratamientos: dos variedades de lechuga “baby leaf”, Diveria y Ganeria, dos tratamientos bacterianos, *B. subtilis* y *B. velezensis* y dos soluciones nutritivas, con 4 y 12 Mmoles de N. Para el diseño experimental se consideró como parcela elemental una bandeja “styrofloat” de dimensiones 60 cm x 41 cm, disponiendo de 3 repeticiones al azar. Los datos tomados se sometieron a un ANOVA mediante el programa StatGraphic 2.1, utilizando el test LSD (95%) para la separación de medias.

### 2.3 Medidas realizadas

En el momento de la recolección se analizaron parámetros de la parte aérea tales como, el número de hojas, altura de la planta, área foliar, contenido relativo de clorofila en unidades SPAD, peso fresco y peso seco, después de permanecer en una estufa a 60°C durante dos días. También se recogieron muestras para poder realizar posteriormente un análisis del contenido de nitratos en hojas.

### 3 Resultados y discusión

En ambas experiencias se produjeron diferencias significativas en el crecimiento entre las plantas tratadas con *B.velezensis* y las tratadas con *B. subtilis*, no existiendo en éstas últimas diferencias de altura con respecto al control. En cuanto al crecimiento, estos resultados se pueden comparar con otros similares observados en un estudio de *B. subtilis* como promotor de crecimiento en el tomate cultivado en hidroponía en condiciones salinas, en el cual se concluyó que en el tratamiento con *B. subtilis* la producción era inferior pero hubo una mejora del crecimiento vegetativo (Woitke y col., 2004). En un estudio realizado sobre lechuga también se observó que *B. subtilis* mejoró el crecimiento vegetativo de lechuga (Liu y col., 2010). Se puede decir que *B. subtilis* tiene una influencia positiva sobre el crecimiento vegetativo de plantas, aunque en nuestro caso no se produce una mejora notable pero sí un crecimiento paralelo al control y superior al de las plantas tratadas con *B. velezensis*. En la primera experiencia no se apreciaron diferencias significativas con respecto al área foliar, contenido en clorofilas, peso fresco y peso seco entre las lechugas tratadas con *B. subtilis*, *B.velezensis* y el control. En la segunda experiencia sí se observaron diferencias significativas entre el área foliar, peso fresco y peso seco de las plantas tratadas con *B.velezensis* con respecto a las tratadas con *B. subtilis* y control, siendo mayor en todos los casos el valor de estas últimas. Referido al contenido de nitratos en hojas, en la primera experiencia se produjeron diferencias significativas entre las lechugas tratadas con *B.velezensis* y las tratadas con *B.subtilis* y el control, produciéndose una reducción del contenido de

nitratos en las plantas tratadas con *B. velezensis*. En la segunda experiencia no se observaron diferencias significativas para el contenido de nitratos entre tratamientos bacterianos.

Se observaron en ambas experiencias que la aplicación de las distintas soluciones nutritivas produjo diferencias significativas en el crecimiento y en el contenido de nitratos. En la primera experiencia el crecimiento fue mayor para las plantas tratadas con 12Mmoles N y en la segunda experiencia se produjo raramente un crecimiento mayor en las plantas tratadas con 4Mmoles N. En un estudio similar realizado para cultivos hidropónicos de tomate también se produjo un mayor crecimiento de la planta al aplicar altas concentraciones de N (Tan y col., 1999). En cuanto al contenido de nitratos en hojas, para las dos experiencias se observaron diferencias significativas entre ambos tratamientos nutritivos, apreciándose una reducción clara en las lechugas tratadas con 4Mmoles N debido a la menor aplicación de nitrógeno en la solución nutritiva. También se realizaron ensayos en hidropónico para espinaca y colleja con distintas soluciones nutritivas en las que se vieron resultados similares (Conesa y col., 2009). Estos resultados coincidirían con un estudio realizado por Li y col., (2007) donde también observó que el contenido de N en el tejido de la espinaca de agua fue significativamente más alto que el de los controles al aplicar NO<sub>3</sub> y NH<sub>4</sub> a la solución nutritiva.

### 4 Conclusión

A modo de conclusión podemos decir que el uso de la solución nutritiva de 12Mmoles de N favoreció el crecimiento de las plantas en la primera experiencia, incrementando también el contenido de nitratos en hojas. Se comprobó también que la aplicación de *B. velezensis* consiguió disminuir el contenido de nitratos en hojas con respecto al control en la primera experiencia. También se produjeron diferencias significativas en la aplicación de *B. velezensis* y *B.subtilis*, pero el crecimiento de las plantas tratadas con ésta última bacteria es similar al de las plantas control.

**Tabla 1. Experiencia 1: Influencia de la variedad, bacterias y solución nutritiva sobre la altura, número de hojas, área foliar, clorofila, contenido en nitratos de hojas, peso fresco y peso seco:**

Tratamientos	Altura (cm)	Nº Hojas	Área foliar (cm <sup>2</sup> )	Clorofila (SPAD)	Nitratos (mg/kg)	P. Fresco (g)	P. Seco (g)
<b>Variedad (V)</b>							
<i>Diveria</i>	14,4 a	3,9 b	348,9	20,6b	1167,08	11,9	0,38
<i>Ganeria</i>	16,3 b	3,7 a	309,4	16,7a	1240,45	11,8	0,45
P-value	***	***	n.s.	***	n.s	n.s.	n.s.
<b>Bacterias (B)</b>							
<i>B.subtilis</i>	15,5 b	3,7a	322,7	19,1	1306,7 b	11,7	0,38

<i>B.velezensis</i>	14,7 a	3,9b	319,2	18,2	925,438 a	11,2	0,42
Control	15,7 b	3,8 ab	345,7	18,7	1379,16 b	12,6	0,44
P-value	**	*	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.
<b>S.nutritiva (SN)</b>							
4 mmol N	14,8a	3,8	319,7	18,8	946,787 a	11,4	0,41
12 mmol N	15,8 b	3,8	338,6	18,5	1460,75 b	12,3	0,42
P-value	***	n.s.	n.s.	n.s.	***	n.s.	n.s.

Tabla 2. Experiencia 2: Influencia de la variedad, bacterias y solución nutritiva sobre la altura, número de hojas, área foliar, clorofila, contenido en nitratos de hojas, peso fresco y peso seco:

Tratamientos	Altura (cm)	Nº Hojas	Área foliar (cm <sup>2</sup> )	Clorofila (SPAD)	Nitratos (mg/kg)	P. Fresco (g)	P. Seco (g)
<b>Variedad (V)</b>							
<i>Diveria</i>	11,4	3,8 b	452,8b	22,0b	1219,3	14,7	0,5
<i>Ganeria</i>	11,3	3,6a	400,2 a	16,5a	1250,08	14,05	0,5
P-value	n.s	**	***	***	n.s	n.s	n.s
<b>Bacterias (B)</b>							
<i>B. subtilis</i>	11,7 b	3,7	437,5 b	19,1	1254,9	14,2 a	0,5 a
<i>B.velezensis</i>	10,7 a	3,8	385,1 a	19,4	1129,6	13,1 a	0,5a
Control	11,6 b	3,6	456,9b	19,2	1319,6	15,6 b	0,6b
P-value	***	n.s	***	n.s	n.s	**	**
<b>S.nutritiva (SN)</b>							
4 mmol N	11,51 b	3,6	422,8	19,1	1074,8 a	14,4	0,5
12 mmol N	11,26a	3,7	430,1	19,4	1394,6 b	14,3	0,5
P-value	*	n.s	n.s	n.s	***	n.s	n.s

n.s, \*, \*\*, \*\*\* no significativo o significativo a  $P \leq 0.05$ ,  $P \leq 0.01$  o  $P \leq 0.001$ , respectivamente.

V=Variedad; B=Bacteria; SN=Solución Nutritiva.

## 5 Referencias

- [1] Conesa, E., Niñirola D., Vicente M.J., Ochoa J., Bañón S., Fernández J.A. 2009. The Influence of Nitrate/Ammonium Ratio on Yield Quality and Nitrate, Oxalate and Vitamin C Content of Baby Leaf Spinach and Bladder Champion Plants Grown in a Floating System. Acta Hort. 843: 269-273.
- [2] Gonnella, M., Charfeddine, M., Conversa, G., Elia, A., Santamaria, P. 2002. Riduzione del contenuto di nitrato in floating system Colture Protette, supp. 12: 38-41.
- [3] González, A., Abellán, M.A., López, J., Fernández, J.A. 2004. Aprovechamiento de especies de hoja pequeña, *baby leaf*, para IV gama, en cultivo en invernadero. Agrícola Vergel 272: 399-408.
- [4] Li, M., Wu, Y., Liang, Z., Guo-Ping, Y., Yu, H., 2007. Nitrogen removal from eutrophic water by floating-bedgrown water spinach (*Ipomoea aquatica* Forsk.) with ion implantation. Water research 41:3152-3158
- [5] Liu W., Chen D. 2010. *Bacillus subtilis* for salt stress relief in vegetable cultivation. Acta Hort. 856: 237-242.
- [6] Pavlou, G.C., Ehaliotis, C.D., Kavvadias, V.A. 2007. Effect of organic and inorganic fertilizers applied during successive crop seasons on growth and nitrate accumulation in lettuce. Scientia Hort 111: 319-325.
- [7] Santamaria, P. 2006. Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation. J. Sci. Food Agric. 86: 10-17.
- [8] Vessey J. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil 255: 571-586.
- [9] Woitke M, Hanafi A, Schnitzler W.H. 2004. Effect of salinity and *Bacillus subtilis* on white fly (*Trialeurodes vaporariorum*, Westwood) in hydroponically grown tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Acta Hort. 659: 323-329.