



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE CARTAGENA

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE
INGENIERÍA AGRONÓMICA**

**INGENIERÍA TÉCNICA AGRÍCOLA
HORTOFRUTICULTURA Y JARDINERÍA**

PROYECTO FIN DE CARRERA:

***INFLUENCIA DE LA APLICACIÓN DE
RIZOBACTERIAS EN EL CULTIVO DE LECHUGA Y DE BERRO
“BABY LEAF” EN BANDEJAS FLOTANTES.***

Autor: Juana Fernández Vera

DIRECTORES: Juan Antonio Fernández Hernández
Encarnación Conesa Gallego

Mis más sinceros agradecimientos a los directores del proyecto, Juan A. Fernández y Encarnación Conesa por haberme ofrecido la oportunidad de realizar este trabajo y por la ayuda prestada.

Agradecer a mis compañeras Diana y Virginia porque siempre han estado ahí cuando he necesitado su ayuda y de las cuales he aprendido mucho.

A mi familia y a mis amigos por haberme apoyado y haber estado ahí en los momentos difíciles, en especial a mi novio, por no dejar nunca que me rinda; ya que sin ellos no hubiese sido posible la realización de la carrera que acabo con la presentación de este trabajo.

ÍNDICE.

1. PALABRAS CLAVE

2. RESUMEN

3. INTRODUCCIÓN

3.1. Antecedentes

3.2. Sistema de cultivo hidropónico en bandejas flotantes

3.2.1 Concepto de hidroponía

3.2.2 Descripción y utilidades del sistema de cultivo en bandeja flotante (floating system)

3.2.3. Especies cultivadas

3.2.3.1 La IV Gama

3.2.3.1.1. La lechuga (*Lactuca sativa*)

3.2.3.1.2. El berro (*Nasturtium officinale*)

3.2.4. Técnicas de producción

3.2.4.1. Preparación de las balsas

3.2.4.2. Elección de la bandeja

3.2.4.3. Elección del sustrato

3.2.4.4. Siembra y emergencia de plántulas

3.2.4.5. El sistema de riego

3.2.4.6. Soluciones nutritivas

3.2.4.7. Tipos de bacterias

3.2.5. Ventajas de cultivar en bandeja flotante

3.2.6. Factores que afectan al cultivo

3.2.6.1. Oxigenación

3.2.6.2. Salinidad

3.2.7. Problemática generada por nitratos y oxalatos en hortalizas de hoja

3.2.8. Presencia de elementos funcionales en hortalizas de hoja

4. OBJETIVOS

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Instalaciones

5.2. Acondicionamiento de las instalaciones

5.3. Semillas utilizadas

5.4. Siembra y manejo del cultivo

5.5. Recolección y toma de datos

5.6. Diseño experimental y tratamiento estadístico de los datos

5.7. Determinación de elementos funcionales: vitamina C

5.8. Determinación de nitratos y oxalatos

5.9. Experiencias

5.9.1. Experiencia 1

5.9.2. Experiencia 2

6. RESULTADOS Y DISCUSION

6.1. Lechuga

6.2. Berro

7. CONCLUSIONES

8. BIBLIOGRAFÍA

1. PALABRAS CLAVE

Lactuca sativa, *Nasturtium officinale*, floating system, Larminar (*Bacillus subtilis*), Botrybel (*Bacillus velezensis*), Nitratos, Vitamina C

2. RESUMEN

La lechuga (*Lactuca sativa*) de consumo doméstico es una planta muy apreciada en las ensaladas por su contenido en vitaminas y elementos beneficiosos para la salud. Y el berro (*Nasturtium officinale*) tiene muchas propiedades medicinales, y la mejor forma de aprovecharlas es mediante su consumo directo en ensalada.

El sistema de bandejas flotantes es una técnica fácil y rentable que permite un desarrollo rápido y limpio de hortalizas de pequeño tamaño. Este tipo de cultivo permite utilizar densidades de plantación muy elevadas en las que se debe tener en cuenta la competencia intraespecífica, elementos biológicos que mejoren la calidad del producto y disminuyan la proliferación de enfermedades, así como distintas soluciones nutritivas para mejorar su crecimiento. El objetivo de este proyecto es utilizar rizobacterias promotoras del crecimiento (PGPR) *Bacillus subtilis* y *Bacillus velezensis*, en sistema de bandejas flotantes de berro y de lechuga de variedades *Ganeria* y *Diveria* con el fin de mejorar la calidad, el rendimiento y resistencia a la enfermedad de marras de nascencia (*damping off*).

Se realizaron 2 experiencias en campo en distintas épocas del año. En todas las experiencias, las dos variedades de lechuga y la de berro se sembraron en bandejas “styrofloat” con un substrato comercial. Las densidades de plantación fueron de 1700 plantas/m² en el caso de la lechuga, y de 2600 plantas/m² en el caso del berro; y los ciclos de plantación variaron dependiendo de la época del año. El diseño experimental que se realizó fue de parcelas subdivididas. Se aplicaron los siguientes tratamientos: berro y lechugas variedad *Diveria* y *Ganeria*, tratamiento bacteriano con *B. subtilis* o *B. velezensis* y solución nutritiva 4 mmoles N o 12 mmoles N.

En las 2 experiencias realizadas, tanto en lechuga como en berro, el crecimiento de las plantas, en general, fue mayor en las que se utilizó como tratamiento bacteriano a *Bacillus subtilis*. El uso de la solución nutritiva de 4 Mmoles N, favoreció en general el crecimiento de las plantas, reduciendo el contenido de nitratos en hojas. Exceptuando la primera experiencia, de berro, donde fue la solución nutritiva de 12 Mmoles N, la que favoreció el crecimiento de las plantas y redujo el contenido de nitrógeno en hojas.

Se comprobó también que la aplicación de *B. velezensis* consiguió disminuir el contenido de nitratos en hojas con respecto al control, en lechugas.

3. INTRODUCCIÓN

3.1. Antecedentes

Los cambios sociales de los últimos años han afectado tanto en aspectos familiares (menor número de individuos por familia, etc.) como en lo laboral (comer fuera de casa, la total incorporación de la mujer al trabajo fuera de casa, etc.) que han tenido repercusiones importantes en la nutrición. Prevalece hoy en día, la necesidad de comidas ligeras, equilibradas y sanas siguiendo el patrón saludable que recomienda el consumo de 5 raciones de fruta y verdura al día (Fig.3.1). En la dieta moderna las verduras tiende a perder el uso característico que se le había dado hasta el momento, para asumir un papel alternativo a la carne y el pescado (Meletti, 2006).



Figura 3.1: Campaña 5 al día

Desde este punto de vista, cabía la idea de sugerir un nuevo concepto del consumo de frutas y hortalizas, pero siempre desde los más rigurosos controles de calidad y seguridad, tanto alimentaria como ambiental, haciendo llegar al consumidor un producto con ciertos valores añadidos muy atractivos para el usuario y por el que merece la pena gastar un poco más.

Para conseguir cumplir con las demandas del consumidor la industria del procesado de frutas y hortalizas, y hasta los mismos agricultores, han tenido que realizar adaptaciones, incluyendo nuevos sistemas de cultivo, maquinaria (Fig.3.2), e incluso, nuevas especies mejor adaptadas a las nuevas gamas alimentarias.



Figura 3.2: Máquina de recolección

En la búsqueda constante de productos con mejores cualidades organolépticas, especies con más efectos beneficiosos para la salud, completamente seguras, e incluso, que no perjudique al medioambiente en ninguna de las fases de producción, se ha tenido que hacer uso de lo último en investigación, ajustando y adaptando abonos, optimizando el uso del agua, caracterizando y seleccionando variedades para su adaptación a nuevos sistemas de cultivo, optimizando la producción para cada línea de producción, etc.

3.2. Sistema de cultivo hidropónico en bandejas flotantes.

3.2.1 Concepto de hidroponía:

La hidroponía es una técnica que permite el cultivo de todo el ciclo de vida de una planta fuera del suelo (Carrasco, 2005). Se usan soluciones minerales en vez de suelo agrícola. Las raíces reciben una solución nutritiva equilibrada disuelta en agua con todos los elementos químicos esenciales para el desarrollo de la planta. Pueden crecer en una solución mineral únicamente o bien en un medio inerte o sustrato como arena lavada, grava o perlita (Izquierdo, 2005).

Los cultivos hidropónicos se dividen en cultivos hidropónicos puros y cultivos sin suelo (Soiless culture). Los cultivos hidropónicos puros abarcan a los cultivos en bandejas flotantes (Ebb and flow, floating system), NFT (Nutrient Film Technique), NGS (New Growing System) y cultivos aeropónicos.

3.2.2 Descripción y utilidades del sistema de cultivo en bandeja flotante (floating system):

Los sistemas de cultivo sin suelo mejoran la calidad de la materia prima en la cosecha, reduciendo la contaminación microbiana y eliminando los residuos químicos (Sambo *et al.*, 2001). Entre los sistemas disponibles, el sistema de bandejas flotantes es una técnica sencilla y rentable para el cultivo de hortalizas tipo *baby leaf*.

El sistema de bandejas flotantes consiste en bandejas flotando continuamente en una mesa de agua o de una solución de nutrientes, promoviendo de esta manera un uso más eficiente del agua y del espacio en el invernadero (Galloway *et al.*, 2000). Las bandejas están rellenas de sustrato y las raíces están en suspensión total o parcial en la disolución nutritiva. Actualmente son alternativas productivas para la producción de hortalizas, principalmente de hoja. Países como Canadá, Estados Unidos, Japón, Italia, Venezuela y algunos países de Sudamérica, entre otros, han adquirido esta técnica con el fin de obtener hortalizas precoces, así es posible obtener un mayor número de cosechas al año que las cultivadas en el suelo, especialmente como opción de cultivo en invernadero (Urrestarazu, 2004).

3.2.3. Especies cultivadas:

Las hortalizas de hoja llamadas "*baby leaf*" son pequeños brotes tiernos, que se recolectan con un tamaño que oscila entre los 8 y los 12 centímetros. Estas verduras son atractivas por su frescura y la diversidad de formas, colores y sabores. Los ciclos de producción son muy rápidos teniendo recolecciones a los 35 días de la siembra. Las producciones se destinan en un 99% a IV gama y el resto para mercados gourmet. También se ha observado que la producción de plántulas de brassicas (repollo, brócoli y coliflor) a través del sistema flotante, permite obtener mejor calidad en postrasplante y arraigamiento al suelo (Urrestarazu, 2004)

Las plántulas de tomate y lechuga se han cultivado exitosamente con diferentes sustratos en sistemas flotantes (Urrestarazu, 2004). Jensen (1985) cultivó con éxito la lechuga de hoja (Waldemann's Green) y tres variedades de tipo europeo (Ostinata, salina y Summer Bibb).

3.2.3.1. La IV Gama

Las gamas alimentarias definen los diferentes formatos en los que se pueden presentar los alimentos dependiendo de su grado de transformación antes de llegar a manos del consumidor y, por consiguiente, el grado de elaboración que necesitan para su consumo final.

Hay cinco gamas alimentarias:

Proyecto fin de carrera

- ✚ 1ª Gama; Son las verduras y frutas frescas, además se incluyen las conservas de tomate.
- ✚ 2ª Gama; incluye las latas de espárragos, alcachofas, judías, etc., aquellas que han sido escaldadas o blanqueadas.
- ✚ 3ª Gama; concentra las hortalizas congeladas que tienen que ser cocinadas.
- ✚ 4ª Gama; son los vegetales conservados listos para comer. Es la gama en la que se encuentran productos mínimamente procesados en fresco y para los que se producen las especies tipo “baby leaf”.
- ✚ 5ª Gama; son las verduras ya cocinadas (platos preparados que sólo hay que calentar), también las salsas y los sofritos.

Se define IV Gama como el conjunto de procesos que sufren las frutas y hortalizas frescas para su consumo en un formato que las ofrece limpias, troceadas y envasadas, manteniendo sus propiedades naturales intactas.

Se caracterizan por embalajes especiales, rigurosos test de calidad y seguridad, y una caducidad de 7 a 10 días.

Los alimentos de la cuarta gama cumplen con los requisitos que en la actualidad demandan los consumidores, son productos con valores añadidos como la alta calidad de sus grasas, como los omega 3 y 6, el aporte de fibra, minerales, vitaminas y otros nutrientes muy beneficiosos para la salud, así como, una presentación atractiva, con los productos listos para consumir.



Figura 3.3: Productos IV gama

Las fases de la Cuarta Gama son:

- ✚ **Producción:** Las materias primas se cultivan en las mejores condiciones.
- ✚ **Recolección:** Las frutas y hortalizas se recolectan en óptimas condiciones higiénicas.

La materia prima se recolecta cuando se alcanzan las condiciones óptimas de su madurez. La recolección y selección de la materia prima es un paso muy importante para obtener un producto atractivo y de alta calidad para su distribución en el mercado.

- ✚ **Selección:** Es un proceso manual que consiste en desechar partes o productos que no cumplan los parámetros de calidad.
- ✚ **Lavado:** Prepara el producto para su consumo directo, se suelen realizar varias fases.

El lavado y desinfección de los productos se realiza con agua fría a una temperatura de 3 a 4°C

- ✚ **Envasado:** Dependiendo del producto se optará por un envase u otro.

Proyecto fin de carrera

Todos los tipos de envases ya sea, bolsas de plástico, bandejas y tarrinas permiten evitar pérdidas de humedad y así evitar también pérdidas de vitaminas y minerales de los productos envasados.

- ✚ **Etiquetado:** El etiquetado viene impreso en bolsas, en recipientes de plástico rígidos o en bandejas. En la etiqueta se anuncia que el producto debe mantenerse en frío También la etiqueta lleva incorporada en ella una pequeña lectura que informa sobre los ingredientes que está compuesto el envase.
- ✚ **Almacenamiento:** El producto se mantiene entre 1 y 4°C tanto en centro de venta como durante el transporte.

Durante el almacenamiento a bajas temperaturas de los productos, se reduce la temperatura con el fin de disminuir la actividad enzimática y el crecimiento microbiano.



Figura 3.4: Estantería con productos de IV gama

En la actualidad el consumo de productos de Cuarta Gama alcanza un 60% de los hogares españoles. La comercialización en España de estos productos supera las 60000 Tn al año dando un volumen de negocio de 200 millones de euros.

Este producto se ha implantado en los países con mayor poder adquisitivo, siendo Reino Unido, Francia e Italia los países de Europa donde hay mayor consumo.

3.2.3.1.1. La Lechuga (*Lactuca sativa* L.)

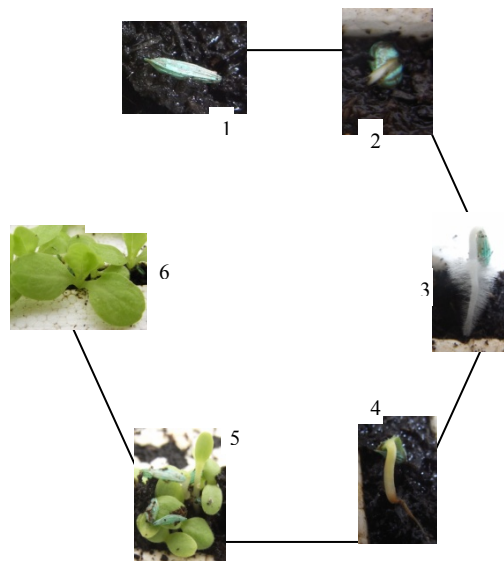


Figura 3.5: Fases de la germinación de la lechuga

Lactuca sativa L., la **lechuga**, es una planta anual propia de las regiones semi-templadas, que se cultiva con fines alimentarios. Debido a las muchas variedades que existen, y a su cultivo cada vez mayor en invernaderos, se puede consumir durante todo el año. Normalmente se toma cruda, como ingrediente de ensaladas y otros platos, pero ciertas variedades, sobre todo las de origen chino, poseen una textura más robusta y por ello se emplean cocidas.



Figura 3.6: Las dos variedades de lechuga sembradas
Ganeria (verde) *Diveria* (roja)

Descripción botánica.

La lechuga, pertenece al reino Plantae, a la división Magnoliophyta, a la clase Magnoliopsida, al orden Asterales, la familia *Asteraceae*, al género *Lactuca* y la especie *L.sativa*, su nombre botánico es *Lactuca sativa* L.

Es una planta anual que forma un cogollo más o menos apretado con hojas de formas y consistencias muy diferentes, según la variedad. Al final de su ciclo, la planta forma un tallo floral en el centro del cogollo, en cuyo extremo se formaran varias flores compuestas (Fig.3.7) formando una inflorescencia con apariencia de una sola flor. La fase de fructificación también se conoce con el nombre de espigado.



Figura 3.7: Flor de la lechuga

Planta con raíz pivotante y ramificada de unos 25 cm. El crecimiento se desarrolla en roseta; las hojas se disponen alrededor de un tallo central, corto y cilíndrico que gradualmente se va alargando para producir las inflorescencias, formadas por capítulos de color amarillo. Según las variedades los bordes de las hojas pueden ser lisos, ondulados o aserrados. Las semillas están provistas de un vilano plumoso(Fig.3.8)



Figura 3.8: Detalle de las hojas y las raíces

Existen muchas variedades de lechuga, pero las más comunes en nuestro país son las siguientes:

- **Lechuga romana**: es la más tradicional aunque en los últimos años ha sido substituida por otras variedades. Como no forma un cogollo muy consistente es necesario atar las hojas dos semanas antes de la cosecha para blanquearlas.
- **Lechuga francesa o trocadero**: de hojas mantecosas y lisas, muy sabrosa.
- **Lechuga iceberg**: forma un cogollo muy apretado, tiene una textura muy consistente y se puede escaldar.
- **Lechuga maravilla**: muy sabrosa.
- **Lechuga hoja de roble**: las hojas son de color rojizo y muy onduladas.

Propiedades y usos de la lechuga.

Las diferentes variedades presentan valores nutritivos algo distintos. Pero en general, son ricas en fibra y con componentes muy saludables.

La lechuga tiene muy poco valor nutritivo, con un alto contenido de agua (90-95%).

Los nutrientes más importantes son: la vitamina A y el potasio.

Las lechugas, exceptuando la variedad "iceberg", pueden ser un buen recurso de vitamina C, calcio, hierro y cobre.

La lechuga, además de ser un buen alimento posee varios usos medicinales y aplicaciones curativas, las cuales se concentran exclusivamente en las hojas. Posee propiedades sedantes, expectorantes, diuréticas, carminativas y ayuda a que mejore la circulación sanguínea. Estas características pueden ser aprovechadas mediante el consumo de la lechuga como ensalada o por la ingesta de una infusión realizada con las hojas de esta planta.

3.2.3.1.2. El berro (*Nasturtium officinale*)

El *Nasturtium officinale*, berro, es una planta perenne, semiacuática que se encuentra en la orilla de riachuelos y arroyos de aguas claras (Fig.3.9). Es originaria de Europa y Asia Central, ha sido usada desde tiempos inmemoriales por la medicina popular para aliviar problemas respiratorios y afecciones cutáneas. Es considerada como uno de los vegetales más antiguos consumidos por el hombre, debido al elevado contenido de vitaminas y minerales.



Figura 3.9: a) Detalle hojas de berro e b) imagen de planta salvaje de berro.

Descripción botánica.

El berro, pertenece al reino Plantae, a la división Magnoliophyta, a la clase Magnoliopsida, al orden Brassicales, la familia *Brassicaceae*, al género *Nasturtium* y la especie *Officinale*, su nombre botánico es *Nasturtium officinale* R. Br..

Es una planta perenne, acuática o semiacuática, rastrera o flotante, glabra y de entre 10 a 60 cm de altura, tiende a agruparse en grandes colonias. Los tallos ascendentes son huecos, ramificados, algo carnosos y con raíces en los entrenudos. Las hojas, de color verde oscuro, son glabras, bipinnadas, de 5 a 15 cm de ancho, con 3 a 11 folíolos de ovados a orbiculares, con los bordes subenteros, siendo el folíolo terminal el más grande.



Figura 3.10: a) Detalle de las raíces en los entrenudos y b) fruto del berro

Las flores, pequeñas, amarillas o blancas, tienen cuatro sépalos verdes de alrededor de 2 mm de largo, con cuatro pétalos de entre 3 a 5 mm de largo, seis estambres y un único pistilo y se reúnen en

inflorescencias en ramilletes o panículas axilares y terminales. Los frutos son silicuas rectas o encorvadas, cilíndricas, de 1 a 2 (3) cm de largo por 2 a 2.5 mm de diámetro, divergentes a algo ascendentes, sobre pedicelos del mismo largo que las silicuas (Fig. 3.10). La raíz es fibrosa.

Propiedades y usos del berro.

Contiene vitaminas A, B1, B2, B3, B5, B6, B17, C, D, E y K. También cuenta con minerales como calcio, fósforo, potasio, hierro, sodio, magnesio, cobre, manganeso, flúor, azufre, cloro, yodo, germanio, silicio y zinc.

A menudo se utiliza como antibiótico, antibacteriano, diurético, expectorante, digestivo, antiséptico, antioxidante y tónico. También se usa popularmente como hierba terapéutica.

El consumo de berro puede disminuir el colesterol, se ha conseguido disminuir los triglicéridos y las lipoproteínas de baja densidad (LDL-C), esta cualidad se le atribuye debido a su gran potencial antioxidante (Yazdanparast et al., 2008)

Además, otro efecto positivo del berro en la salud humana es que, al igual que todas las Brassicas, es rico en glucosinatos. Los glucosinatos son unos glucósidos que contienen azufre y que pueden ser hidrolizados, de forma enzimática o no, dando lugar a isocianatos y/o nitrilos. Los isocianatos son muy importantes ya que son los principales inductores de enzimas de desintoxicación de carcinógenos (Williams et al., 2010). Uno de los dos inductores más potentes podemos encontrarlo en el berro, es el denominado 2-fenetilglucosinolato, PEITC o también conocido como gluconasturtiin.

Por contra, el berro, como planta acuática, es capaz de acumular metales pesados como el zinc y el cobre, pudiendo llegar a acumular elevados niveles de ambos elementos y en una proporción menor al níquel (Kara, 2005). También es capaz de acumular grandes cantidades de arsénico en las hojas, este compuesto inorgánico se utilizaba, en la industria y la agricultura y se podía encontrar en distintos estados de oxidación en el agua (Ozturk et al., 2010), aunque en la actualidad su uso ha desaparecido en beneficio de nuevos compuestos orgánicos.

3.2.4. Técnicas de producción:

Las técnicas de producción son muy variables y dependen del cultivo que se esté utilizando en cada momento.

Los sistemas de bandeja flotante de hortalizas se efectúan dentro de los invernaderos o bajo túnel de polietileno al aire libre, con el fin de obtener mayores temperaturas de la solución nutritiva y favorecer el desarrollo de las plantas de manera precoz.

3.2.4.1. Preparación de las balsas

Sobre suelo nivelado, se constituyen las balsas o piscinas que pueden ser de madera, ladrillo o metal, con un fondo que varía entre 10 y 15 cm. Su longitud dependerá del área de cultivo disponible. El ancho de las piscinas es aquel que facilite el alcance de los operarios. Posteriormente, las piscinas se cubren de polietileno, es recomendable el polietileno de color negro con el fin de evitar la proliferación de algas y la reducción de la concentración de oxígeno en la disolución (Gilda, 2004).

3.2.4.2. Elección de la bandeja

El material de la bandeja utilizado es poliestireno expandido de alta densidad, elemento liviano que permite la flotación en las balsas. Preferentemente las bandejas son de color blanco para evitar el calentamiento de la solución nutritiva.

El número de alvéolos o celdas por bandeja dependerá tanto del cultivo a propagar como del sistema de siembra (Urrestarazu, 2004).(Tabla.3.1)

Tabla 3.1: Algunos tipos de bandejas empleadas en sistema flotante. [Fuente: Adaptado de Pearce y Palmer (2001)]

| Número de alvéolos/bandeja | Volumen (cm ³)/alvéolo | Plantas/ m ² |
|----------------------------|------------------------------------|-------------------------|
| 200 | 27 | 861 |
| 242 | 23.5 | 1044 |
| 253 | 16 | 1087 |
| 288 | 17 | 1238 |
| 338 | 8.6 | 1456 |
| 392 | 13.6 | 1690 |

Un tipo de bandeja muy utilizado es el “styrofloat”, donde los comunes alvéolos han sido sustituidos por fisuras tronco-cónicas de muy poco volumen, que limitan al máximo la utilización del sustrato, únicamente necesario para soportar la semilla.(Fig.3.11)



Figura 3.11: Bandejas styrofloat

3.2.4.3. Elección del sustrato

Los sustratos sólidos se pueden dividir en dos grupos:

1. Materiales orgánicos tales como turba, serrín o corteza de pino, que requieren la adición de fertilizantes sólidos, y algunas veces materiales limosos, antes de la plantación. Estos pueden ser clasificados como sustratos en cultivos sin suelo pero no como hidropónicos.
2. Sustratos inertes como lana de roca, arena y perlita, que actúan como anclaje de raíces y un reservorio de la disolución nutritiva. Todos los nutrientes esenciales deben ser suministrados en la disolución.

- ✚ Conveniencia para el cultivo a producir.
- ✚ Disponibilidad y reproducibilidad del sustrato.
- ✚ Viabilidad económica.
- ✚ Facilidad de manejo.
- ✚ Requerimientos técnicos.

3.2.4.4. Siembra y emergencia de plántulas

En bandejas de alvéolos, para efectuar la siembra se utiliza una plantilla marcadora de orificios, la cual se localiza sobre la superficie del sustrato ubicado en la bandeja, permitiendo así que la profundidad de cada una de las celdas de la bandeja del semillero sea similar. Luego se procede a la siembra, colocando una semilla en cada alveolo, a través de una máquina sembradora o portátil. Para maximizar la emergencia se debe contar con bandejas rellenas con sustrato húmedo (Gilda, 2004).

En bandejas styrofloat la siembra suele ser a mano estimando un número determinado de semillas por fisura.

Para evitar las pérdidas de plántulas se debe realizar una adecuada ventilación para prevenir daños por temperaturas altas, emplear dosis de N requeridas por el cultivo y utilizar bandejas limpias (Gilda, 2004).

3.2.4.5. El sistema de riego en bandejas flotantes (Floating System)

La hidroponía hace referencia a los cultivos realizados en el agua y fue inventada por W.F. Gericke en 1938. En la actualidad el interés por la utilización de esta tecnología se ha expandido por todo el mundo, desde los países más desarrollados para la producción de hortalizas con elevado valor añadido, a países del Tercer Mundo, por su capacidad para adaptarse a las diferentes realidades socioeconómicas. Los sistemas de cultivo sin suelo permiten la producción de hojas limpias, facilitando y acortando el manejo de postcosecha en las industrias de procesado, y controlando los factores de crecimiento (Fontana et al., 2004)



Figura 3.12: Cultivo de bandejas flotantes.

El Floating System es un sistema de riego basado en un conjunto de bandejas que flotan sobre una lámina de agua o solución nutritiva de unos 5 a 10 cm de altura (Fig. 3.12). Utilizado en la horticultura italiana presenta grandes ventajas en cultivos protegidos. Esta técnica de cultivo permite reducir los ciclos de cultivo con respecto al cultivo en suelo, siendo una técnica muy interesante por su bajo coste de instalación y de mano de obra, ausencia de malas hierbas y rapidez en el momento de la recolección. La posibilidad de programar cada una de las fases del cultivo permite obtener una producción continua durante todo el año (Cros et al., 2003).

Los ciclos de cultivo varían su duración en función de la especie y la época del año, pudiendo cosechar, en ciclo de invierno, colleja en 56 días (Conesa et al., 2009) o, en ciclo de verano, verdolaga en 20 días (Fernández et al., 2007)

Las bandejas flotantes permiten un cultivo de gran densidad de plantas y la obtención de una abundante cosecha, así como evitar las pérdidas por evaporación, un uso eficiente de fertilizantes, la rápida corrección de deficiencias nutricionales y el control de parámetros importantes como los

Proyecto fin de carrera

nitratos que tienden a acumularse en algunas especies (Santamaria et al., 1997) y que mediante esta técnica es posible reducirlos con éxito. Esta técnica de cultivo presenta un uso muy eficiente del agua dentro del invernadero (Galloway et al., 1996).

Además, la difusión de enfermedades fúngicas de las hojas son prácticamente nulas por la falta total de humedad de las hojas y el producto terminado (hortalizas de hojas) resulta limpio y listo para el embolsado y la venta.

En la actualidad el uso de este sistema va desde la producción de plántulas para su posterior trasplante hasta la producción de hortalizas de gran tamaño (Fig.3.13).



Figura 3.13: Lechugas iceberg en bandejas flotantes.

Los elementos esenciales de estos sistemas son las bandejas de poliestireno expandido u otro material de bajo peso volumétrico e hidrófugo, así como las bancadas de cultivo cerradas para contener el agua y los fertilizantes, con una profundidad de 10-25 cm.

Un tipo de bandeja muy utilizado es el “styrofloat” (Fig.3.14), donde los comunes alvéolos han sido sustituidos por fisuras tronco-cónicas de muy poco volumen, que limitan al máximo la utilización del sustrato, únicamente el necesario para soportar la semilla.



Figura 3.14: Bandeja Eurofloat adaptada para las distintas experiencias.

3.2.4.6. Soluciones nutritivas

A través de la disolución de fertilizantes altamente solubles en el agua, se entrega los elementos minerales esenciales para el cultivo. Existen numerosas mezclas comerciales ya preparadas, las cuales permiten su utilización directa por el productor. Su elección dependerá de la calidad del agua a emplear en la disolución (Gilda, 2004).

La calidad del agua es fundamental para el éxito de la producción. Se considera agua de buena calidad a aquella que no supera una conductividad eléctrica de 0,75 dS m⁻¹ y con pH entre 6,5 y 7, en

Proyecto fin de carrera

el caso de que el pH sea elevado éste puede disminuirse agregando alguna solución ácida (Gilda, 2004).

Desde las bancadas, la solución nutritiva es recirculada a través de un tanque nutritivo. Se oxigena bombeando aire, se enfría con una unidad refrigeradora y después se impulsa de regreso al punto mas lejano de cada balsa. Durante el retorno a las balsas la solución nutritiva atraviesa un esterilizador de ultravioleta, aunque no siempre se utiliza.

3.2.4.7. Tipos de bacterias

Se añaden al agua de las mesas junto con la solución nutritiva, bacterias PGPR (bacterias promotoras del crecimiento). Estas bacterias se describen a continuación:

- ✚ **Larminar:** fabricado por Agricultura moderna S.A (Madrid), es un producto constituido por esporas de *Bacillus subtilis*, microorganismos que se desarrollan de forma natural en el suelo. *Bacillus subtilis* coloniza el sistema radicular en desarrollo de la planta produciendo una gran variedad de enzimas y compuestos naturales, manteniendo la zona radicular en estado óptimo para el adecuado desarrollo de los cultivos. Posee también capacidad antifúngica que impiden que hongos patógenos penetren a través de ellas. Es una bacteria capaz de vivir sobre sustratos muy diferentes lo que le permite colonizar. Además, estimula el crecimiento de las plantas (produce hormonas vegetales), induce resistencia sistémica en las plantas y contribuye al ciclo de los nutrientes por su alta versatilidad metabólica.



Figura 3.15. Aspecto comercial de Larminar

- ✚ **Botrybel:** fabricado por Probelte S.A (Murcia), es un producto orgánico obtenido mediante fermentación sumergida de un sustrato vegetal por *Bacillus velezensis* cepa AH2, aislada de suelos de la península ibérica y depositada en la colección española de cultivos tipo (CECT-7221). Contiene 10^8 UFC por ml de formulado (UFC/ml). Este producto activa las células y estimula el crecimiento de las plantas, también mejora notablemente la capacidad de resistencia de éstas frente a condiciones adversas.



Figura 3.16. Aspecto comercial de Botrybel.

3.2.5. Ventajas de cultivar en bandejas flotantes

Este sistema reduce el ciclo de cultivo en comparación con el cultivo en suelo y es de gran interés para los productores, ya que tiene bajos costos de instalación y mano de obra, se evitan las malas hierbas y la cosecha es muy sencilla. Las plantas pueden ser cultivadas en altas densidades y los productos resultantes (hortalizas de hoja) son limpios y están listos para ser envasados (Gonnella *et al.*, 2004). Una de las principales ventajas del sistema de bandejas flotantes es la posibilidad de influir rápidamente en el estado nutricional de las plantas. De este modo, variando la composición de la solución nutritiva, modificando la concentración de oxígeno, adicionando compuestos químicos y biológicos, etc., podríamos producir hortalizas con mejoras de la calidad y aumento de los compuestos de requerimiento dietético (Santamaría y Valenzano, 2001).

También permiten obtener cultivos más homogéneos y, de forma especial, favorecen el desarrollo de un sistema radicular más homogéneo. Los cultivos están menos expuestos a problemas fitopatológicos relacionados con enfermedades producidas por los denominados hongos del suelo (damping off), lo que permite reducir el empleo de sustancias desinfectantes. Reducen el consumo de energía empleado en las labores relacionadas con la preparación del terreno para la siembra o plantación. Se obtiene una mayor eficiencia del agua utilizada, lo que representa un menor consumo de agua por kilogramo de producción obtenida. Este sistema también admite la posibilidad de mecanizar y robotizar la producción (Benoit y Ceustemans, 1994).

3.2.6. Factores que afectan al cultivo

3.2.6.1. Oxigenación

Así como en otros sistemas hidropónicos, el cultivo en bandejas flotantes requiere de una adecuada concentración de oxígeno en el entorno de la raíz para garantizar la funcionalidad del sistema radical de las plantas. A pesar de la brevedad de los ciclos de cultivo y del gran volumen de solución nutritiva disponible por planta, las plantas que crecen en bandejas flotantes pueden tener problemas de hipoxia, debido a que las raíces consumen poco a poco el oxígeno disuelto en la solución nutritiva. La falta de oxígeno reduce la absorción de agua y minerales por parte de la planta, con repercusiones en el crecimiento aéreo y radicular y, en consecuencia, en el rendimiento final (Tesi *et al.*, 2003). Sin embargo, existen grandes diferencias de sensibilidad a la deficiencia de oxígeno en la raíz entre las diferentes especies vegetales (Veen, 1988). La cantidad de oxígeno disuelto en la solución nutritiva depende principalmente de la temperatura, disminuyendo al aumentar ésta. Sin duda, el fenómeno es más acusado en verano, ya que con mayores temperaturas la cantidad de oxígeno disuelto en una solución disminuye y la tasa de respiración de la raíz aumenta (Morard y Silvestre, 1996). Algunos investigadores han estudiado el efecto directo de la concentración de oxígeno en el desarrollo de síntomas de enfermedades patológicas así como la relación que se establece entre la oxigenación inadecuada y un empeoramiento de los síntomas de la enfermedad (Eldon Brown y Kennedy, 1966; Kuan y Erwin, 1980). En cualquier caso, a fin de evitar cualquier repercusión negativa en el rendimiento, los agricultores airean la solución nutritiva para enriquecerla con oxígeno. La oxigenación se aplica a los cultivos en agua mediante varios métodos. El método más usado es el burbujeo de aire continuo con un compresor. Su facilidad de construcción así como su flexibilidad para el uso en unidades caseras (Resh, 1992) lo hacen muy recomendable, también se ha utilizado con fines comerciales. En general, por debajo de los 3-4 mg L⁻¹ (Gislerod y Kempton, 1983) de oxígeno disuelto en la disolución, se produce una disminución en el crecimiento radical apareciendo un color pardo de éste, que tal vez sea el síntoma más precoz y fácilmente detectable de los primeros problemas al respecto. Una consecuencia secundaria es la aparición de poblaciones de microorganismos no deseados en el medio, la importancia de éste factor se ve al observar la estrecha correlación exponencial entre la concentración de oxígeno en la solución nutritiva y los pesos secos de la raíz y vástago (Zeroni *et al.*, 1983). En todos los sistemas que

trabajan en disolución recirculante es posible aumentar la oxigenación provocando un salto del drenaje en el tanque de recogida. Según Carrasco e Izquierdo (1996), el salto debe ser de al menos 50 cm tanto en la caída de retorno de drenaje como en el agua de relleno para la preparación de la disolución.

3.2.6.2. Salinidad

Una de las razones que determina el límite de extensión del cultivo sin suelo es la salinidad del agua. Las plantas cultivadas bajo estrés salino se caracterizan por un menor crecimiento y menor contenido de agua. El estrés salino reduce el crecimiento de la hoja en lechuga (Lazof y Bernstein, 1999) y el rendimiento (Tarakcioglu y Inal, 2002). A pesar de ello, Clarkson *et al.*, (2003) observaron un efecto positivo del estrés salino sobre el procesado de hortalizas tipo *baby leaf*, generando una mayor resistencia postcosecha. Scuderi *et al.*, (2009) también observaron una mejora de la vida útil de la lechuga recién cortada, cuando las plantas fueron cultivadas con un nivel de salinidad de 3,8 mS/cm. Dado que la mayoría de verduras de hoja pierden agua rápidamente después de la cosecha, sobre todo si hay un retraso entre la cosecha y la refrigeración, sería interesante hacer crecer hortalizas tipo *baby leaf* en condiciones de salinidad, por lo menos en la parte final del ciclo de cultivo, a fin de no afectar al crecimiento de las mismas y extender así su vida útil después de la cosecha.

3.2.7. Problemática generada por nitratos y oxalatos en hortalizas de hoja

Las verduras constituyen la mayor fuente dietética de nitratos. La presencia de nitratos en las hortalizas es una amenaza grave para la salud del hombre debido a que aproximadamente el 5% de todo el nitrato consumido, se transforma en nitritos una vez ingeridos por el ser humano, dando lugar a unas sustancias cancerígenas llamadas nitrosaminas (Ramachandran *et al.*, 2005) El contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios está regulado en la UE por Reglamento 1881/2006. Este reglamento incluye solo la regulación de lechugas, mientras que para los demás productos vegetales existen límites nacionales (Santamaría *et al.*, 2002). El contenido máximo debe establecerse a un nivel estricto que pueda conseguirse razonablemente si se aplican buenas prácticas agrícolas. Entre las verduras de hoja, rúcula, lechuga, berros y canónigos están clasificadas como de alto contenido de nitratos (Santamaría, 2006). El nivel de nitratos en la planta depende de las diferencias entre la absorción de nutrientes y la asimilación. De esta manera, todos los procesos que pueden afectar a la absorción, a la asimilación y a la translocación en la planta pueden modificar los niveles de nitratos en la misma.

Los oxalatos son otros componentes comunes en las plantas, considerados como antinutricionales, así como toxinas. La ingesta excesiva de oxalato puede conducir a la formación de cálculos renales de calcio (Libert y Franceschi, 1987). Entre las hortalizas de hoja, espinaca, verdolaga y berro son las plantas más acumuladoras de oxalatos (Noonan y Savage, 1999).

En cuanto al contenido de nitratos y oxalatos, se ha demostrado la existencia de diferencias genotípicas; así, algunas accesiones locales de rúcula y verdolaga han mostrado un menor contenido de nitratos y oxalatos en hoja (respectivamente) en comparación con variedades comerciales, por lo que este material vegetal puede ser considerado como prometedor para la mejora (Egea-Gilabert *et al.*, 2009; Kaskar *et al.*, 2009). Además, según las prácticas culturales utilizadas, los niveles de nitratos y oxalatos en plantas pueden ser reducidos. El sistema de bandejas flotantes ofrece la posibilidad de un buen manejo y control de la solución nutritiva, pudiendo ser utilizado para producir hortalizas con bajos contenidos de nitrato y oxalato. Una forma de reducir la concentración de nitrato en las plantas es privar de N la solución nutritiva unos días antes de la cosecha (Santamaría *et al.*, 2001). De esta manera, el nitrato acumulado saldrá de las vacuolas y las plantas generaran los compuestos orgánicos necesarios para compensar la disminución del valor osmótico. Así, en el

sistema de bandejas flotantes, el contenido de nitrato en las plantas se reduce a la mitad mediante la sustitución de la solución nutritiva por agua 48 horas antes de la cosecha (Santamaría *et al.*, 2001). La sustitución del N-nitrato por N-amonio en la solución de nutrientes también causa una reducción del contenido de nitratos en las hojas de rúcula (Santamaría *et al.*, 1999; Kim *et al.*, 2006; Fernández *et al.*, 2007a). Asimismo, la reducción de la concentración de oxígeno en la solución nutritiva en un sistema de bandejas flotantes induce la reducción del contenido de nitratos, mejorando la calidad de rúcula (Ferrante *et al.*, 2003). De hecho, se ha comprobado que en plantas cultivadas con deficiencia de oxígeno se aumenta la actividad nitrato reductasa (García-Novo y Crawford, 1973), enzima clave para la utilización de nitratos en las plantas. Por otro lado, el uso de PGPR en la solución nutritiva también podría reducir la dosis de N sin afectar el crecimiento de las plantas, ya que es conocido el efecto de estas bacterias en la promoción de su crecimiento. De esta manera se podría obtener un producto final con el mismo rendimiento y con un menor contenido de compuestos nocivos. Además, el sistema de bandejas flotantes es ideal para experimentar con la salinidad de la solución nutritiva, cuyos efectos en la reducción del contenido de nitratos en hojas han sido demostrados (Maynard *et al.*, 1976; Gonella *et al.*, 2002). Recientemente, Ríos *et al.*, (2010) han demostrado que la aplicación de PGPR disminuye el contenido de nitratos en hojas de lechuga.

Un aumento de los niveles de amonio en la solución nutritiva provoca una reducción de la concentración de oxalatos en hojas y tallos de verdolaga (Palaniswamy *et al.*, 2004) y en hojas de espinaca (Ota y Kagawa, 1996). Otros estudios también han demostrado que la sustitución del N-NO₃⁻, por la N-NH₄⁺ en la solución nutritiva reduce el contenido de nitratos y oxalatos, tanto en espinacas como en colleja (Conesa *et al.*, 2009). Sin embargo, el nivel de N y el ratio NO₃⁻:NH₄⁺ debería ser ajustado según la especie vegetal en cuestión, ya que cada una es diferente en cuanto a la acumulación de NO₃⁻, la asimilación de N, y la tolerancia a altas concentraciones de NH₄⁺.

3.2.8. Presencia de elementos funcionales en hortalizas de hoja

Está demostrado que las técnicas de cultivo pueden aumentar los elementos funcionales en las hortalizas de hoja. Así, en el caso de rúcula y berros, las prácticas culturales son capaces de influir sus niveles de glucosinolatos (Kim *et al.*, 2006). También se ha demostrado que la fertilización con nitrógeno y azufre en los cultivos de Brassicaceae influye en el contenido de glucosinolatos (Ciska y Kozłowska, 1998; Zhao *et al.*, 1993). Asimismo, estudios han demostrado que el contenido de vitamina C en las hojas de espinaca y colleja también se ve influenciado por el ratio NO₃⁻/NH₄⁺ (Conesa *et al.*, 2009).

La producción de fitoquímicos funcionales también se ve influenciada por factores ambientales que inducen estrés en las plantas. Es bien conocido que diferentes estreses, tales como la luz, la temperatura, la privación de oxígeno y la salinidad mejoran los contenidos de algunos fitoquímicos funcionalmente importantes en diferentes cultivos. Por ejemplo: modificaciones de las características de la solución nutritiva y una moderada salinidad influyen en la acumulación de principios activos de *Echinacea angustifolia* cultivada en hidropónico (Montanari *et al.*, 2008); de la misma forma bajas concentraciones de oxígeno afectan a los fitoquímicos funcionales de lechuga (Rajapakse *et al.*, 2009); la aplicación de factores de estrés en el cultivo hidropónico de brócoli en el momento de la inducción de la cabeza y durante el desarrollo puede servir al propósito de mejorar su calidad nutricional (Moreno *et al.*, 2008); etc. En este sentido, el sistema de bandejas flotantes puede proporcionar un sistema de cultivo adecuado para la producción estandarizada de material de alta calidad para plantas que contienen principios activos, ya que permite la regulación del metabolismo secundario por medio de modificaciones de las técnicas de cultivo.

Proyecto fin de carrera

Tabla 3.2: Contenido en vitaminas y minerales de diferentes vegetales y su cantidad diaria recomendada en 100g.

| Especies | VITAMINAS (CDR) | | | | | MINERALES (CDR) | | |
|----------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|--------------|-----------------|---------------|-----------------|
| | K (330 µg) | A (3000 IU) | B1 (1,5 mg) | B3 (1,6 mg) | C (75 mg) | K (330 mg) | Fe (12 mg) | Ca (1000 mg) |
| BERRO | 541 | 4530 | 0.08 | 0.169 | 65.6 | 330 | 1.8 | 300 |
| Espárrago | 122 | 1000 | 0.16 | 0.17 | 33 | --- | --- | 21 |
| Brócoli | 180 | 1500 | 0.09 | 0.21 | 118 | 325 | 1.3 | 130 |
| Zanahoria | --- | 13000 | 0.07 | 0.06 | 52 | --- | 0.8 | 39 |
| LECHUGA | 35 | 1620 | 0.07 | 0.07 | 8 | 290 | 1.1 | 62 |
| Pepino | --- | 360 | 0.04 | 0.09 | 8 | --- | 0.3 | 10 |

4. OBJETIVO

El objetivo de este proyecto es utilizar rizobacterias promotoras del crecimiento (PGPR) *Bacillus subtilis* y *Bacillus velezensis*, en cultivos hidropónicos en bandejas flotantes de lechuga (*Lactuca sativa*) variedades *Diveria* (lechuga roja) y *Ganeria* (lechuga verde) y berro (*Nasturtium officinale*) con el fin de disminuir la concentración final de nitratos en hojas, mejorar la calidad y el rendimiento de los cultivos.

Para ello se hará:

- ✚ Un estudio del efecto de las PGPR sobre los parámetros agronómicos de crecimiento aéreo: altura de planta, número de hojas, área foliar, peso fresco y seco.
- ✚ Un estudio del efecto de las PGPR sobre los parámetros de crecimiento radical: longitud, volumen, área, diámetro y número de bifurcaciones.
- ✚ Un estudio del efecto de las PGPR sobre el contenido de nitratos, oxalatos y contenido relativo de clorofila (CRC), medido en valores SPAD.

5. MATERIALES Y METODOS

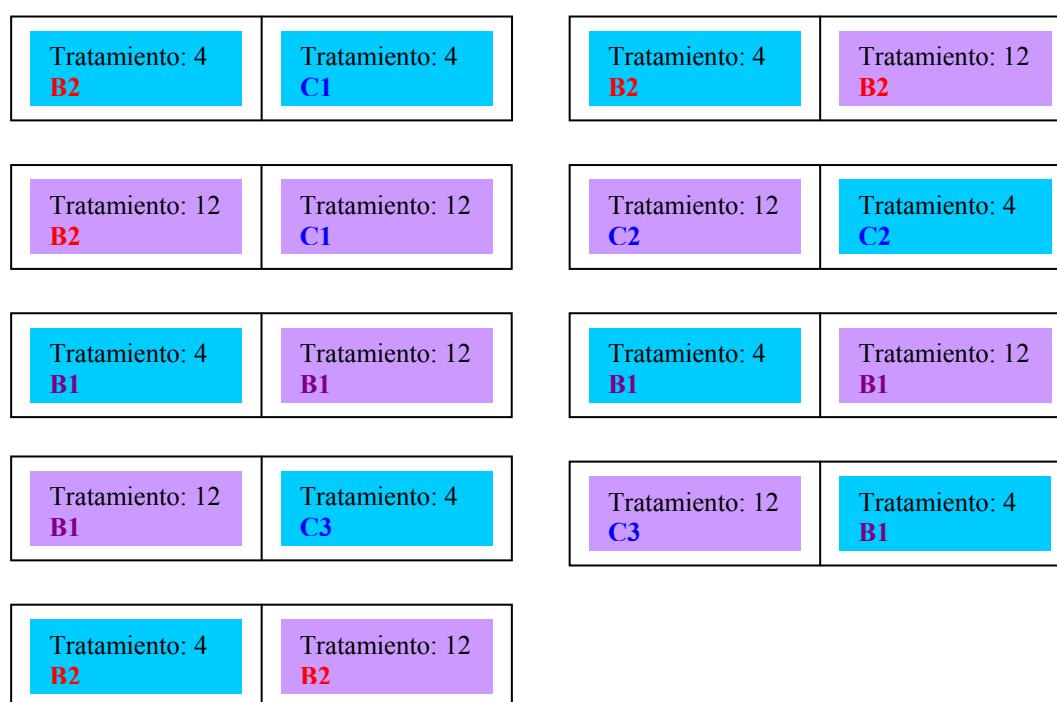
El ensayo se realizó en la Estación Experimental Agroalimentaria “Tomás Ferro” de la UPCT ubicada en La Palma (Cartagena).

5.1. Instalaciones:

Las instalaciones usadas están compuestas por una serie de mesas de flotación llenas de agua, a las que se añadirán posteriormente las soluciones nutritivas y las bacterias. La disposición en el invernadero de las mesas está de acuerdo con una distribución en sub-subparcela, para poder realizar posteriormente un análisis estadístico completo de los datos obtenidos.

Se utilizaron también dispositivos datalogger para el registro de variables ambientales y un sistema de aireación de la solución nutritiva para mantener un nivel adecuado de oxígeno. Se midió la salinidad mediante un conductivímetro y el pH mediante un pHmetro.

DISPOSICIÓN MESAS INVERNADERO



Botrybel (**B2**): 833 gr/100 L; Larminar (**B1**): 166,7 gr/100L; Control:(**C**)

Lechuga roja (R); Lechuga verde (V); Berro (Be)

Figura5.1.-Disposición en el invernadero de las mesas de cultivo

5.2. Acondicionamiento de las instalaciones:

Antes de comenzar con las experiencias se procedió a la limpieza y acondicionamiento de los materiales y las instalaciones utilizadas.

En primer lugar se realizó la desinfección y limpieza de elementos primordiales como son las bandejas styrofloat, las mesas de flotación y los bidones donde se prepararía la solución nutritiva.

Tras esto, se comprobaron todos aquellos mecanismos de bombeo, así como los datalogger utilizados en la adquisición de datos ambientales.

El sistema de aireación de la solución nutritiva se realizó mediante una bomba de agitación y una red de tubos de pvc que llegan a cada una de las mesas, una vez en las mesas unos tubos de pvc perforados permiten que las inyecciones de aire se repartan uniformemente por toda la mesa.



Figura 5.2.-Funcionamiento del sistema de aireación de la solución nutritiva.

Para la preparación de la solución nutritiva se utilizaron bidones de 100 L y bombas Decor 12 (ESPA) para introducirla en las mesas.

Para registrar las variables ambientales se utilizó el datalogger es CR1000 (Campbell Scientific) , con sondas que miden la temperatura del aire, la humedad relativa, la radiación solar, el oxígeno disuelto en agua, la conductividad eléctrica y la temperatura de la solución.



Figura 5.3.- Sondas conductividad eléctrica (izquierda), oxígeno disuelto en agua (derecha)

5.3. Semillas utilizadas:

En el experimento se utilizaron semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) tipo “Baby leaf”, variedades *ganeria* y *diveria* y semillas de berro (*Nasturtium officinale*). Las semillas fueron proporcionadas por la casa de semillas Rijk Zwaan Ibérica, S.A. con sede en Almería (España), en el caso de la lechuga; y de la casa de semillas Tozer Seeds Ltd., en el caso del Berro.

5.4. Siembra y manejo del cultivo.

La siembra de las distintas especies y variedades se realizó a mano, estimando el número de semillas por fisura. Los materiales utilizados fueron:

Bandejas styrofloat: son bandejas de poliestireno expandido fabricadas por Europak s.p.a., que poseen unas fisuras de 17,1x0,25 cm de forma troncocónica con unas dimensiones de 96x60x3,5 cm y el número de fisuras por bandeja es de 34x3 filas, que se adaptan a las mesa de flotación dividiéndolas en dos para dar lugar a dos bandejas de 60x41 cm y un trozo sobrante.

Turba: el sustrato utilizado era una mezcla comercial equilibrada, de turba rubia y negra marca Floragard denominada Substrato comercial tipo S, que se introdujo en las fisuras de forma manual presionando y distribuyéndola bien por toda la superficie. Seguidamente se utilizaron unos utensilios circulares y planos para comprimir la turba.



Figura 5.4.-Colocación del sustrato en bandejas styrofloat.

Tras la siembra las bandejas se acomodaron en una cámara climática (Fitotron de Sanyo) con condiciones ambientales de 21⁰ C, 90% de humedad relativa y en oscuridad durante 3 días para el primer ensayo y 4 para el segundo.

Seguidamente se transportaron, hasta el invernadero donde previamente se había procedido al llenado de las mesas con agua.



Figura 5.5.- Cámara climática donde se sitúan las bandejas tras la siembra

Una vez allí se depositaron las bandejas en las mesas de flotación y se dejaron en esas condiciones varios días hasta que las plantas experimentaron cierto desarrollo.

Proyecto fin de carrera

Cuando las plantas tuvieron entre 6 y 8 hojas se suministró **la solución nutritiva** formada por elementos compuestos comerciales, previamente estudiados y calculados y que se pesaron y añadieron al agua en el mismo invernadero. La solución nutritiva para ambos ensayos estuvo compuesta por agua fresca desde la colocación de las bandejas en las mesas de cultivo. A partir de esta fecha y hasta el final del cultivo se emplearon unas soluciones nutritivas con un pH: 5,8 y una CE: 2,8 dS/m, conteniendo los siguientes elementos en gramos:

12 mmol

Para cada 100 litros de agua, a razón de 12 mmol:

| Compuesto | Cantidad (gramos) |
|---------------------|-------------------|
| Nitrato de magnesio | 38 g |
| Nitrato de calcio | 41 g |
| Sulfato potásico | 54 g |
| Fosfato monoamónico | 23 g |
| Sulfato amónico | 16 g |
| Micronutrientes | 2 g |
| Quelatos de hierro | 2 g |

Tabla 2.-Solución nutritiva 12Mmoles

4 mmol

Para cada 100 litros de agua, a razón de 4 mmol:

| Compuesto | Cantidad (gramos) |
|---------------------|-------------------|
| Nitrato de magnesio | 30 g |
| Sulfato potásico | 54 g |
| Fosfato monoamónico | 19 g |
| Acido fosfórico | 0.56 g |
| Oxido de magnesio | 2 g |
| Micronutrientes | 2 g |
| Quelatos de hierro | 2 g |

Tabla 3.-Solución nutritiva 4Mmoles

Además a la solución nutritiva se le midió la salinidad mediante un conductímetro modelo 524 de la marca CRISON y el pH mediante un pHmetro Ecotester (Oakton). El pH se corrigió con ácido sulfúrico al 95%, que se fue añadiendo a la solución nutritiva a la vez que se removía y se medía el pH para ajustarlo al deseado.

Una vez que la solución nutritiva se adaptó a las necesidades del cultivo se acoplaron los sistemas de bombeo de aire, para la oxigenación de la solución y se cubrieron los huecos con trozos sobrantes de bandejas para evitar el desarrollo de algas. El sistema de aireación insufló aire durante treinta segundos cada cuatro minutos permitiendo la renovación del oxígeno disuelto en la solución nutritiva durante todo el ciclo de cultivo.

5.5. Recolección y toma de datos:

La recolección se realizó cuando las plantas desarrollaron de 6 a 8 hojas y se llevó a cabo sacando a mano las filas necesarias de cada bandeja. Las plantas, con raíz incluida, se separaron por repeticiones y se transportaron al laboratorio donde se separó la parte aérea y la radical para facilitar el manejo.

Los datos que se tomaron en el laboratorio fueron:

- **Peso fresco**; la medida se toma con una balanza con precisión de miligramos.
- **Altura de la planta**.
- **Número de hojas**; se cuentan la cantidad de hojas por planta mayores de 1 cm.
- **Área foliar**; medida tomada con un medidor de área foliar modelo LI-3100C (LI-COR) hoja por hoja de cada repetición.
- **Clorofila (SPAD)**; se toman hojas al azar por muestra y el aparato nos da una media. El aparato utilizado es SPAD-502 (Konica-Minolta).



Figura 5.6.- Medidor de área foliar modelo LI-3100C (LI-COR) (izquierda) y SPAD- 502 (Konoca-Minolta) (derecha)

- **Peso seco**; tras la toma de los demás datos las muestras se introdujeron en una estufa a 60°C durante unos 3 días y tras esto se efectuó, de nuevo, el peso.
- **Análisis parte radical**; de donde se obtuvo información de la longitud, el diámetro medio, el área, el volumen y las distintas longitudes de cada diámetro, gracias al programa WinRhizo y mediante el escaneado de raíces con el escáner Expression de la marca Epson.

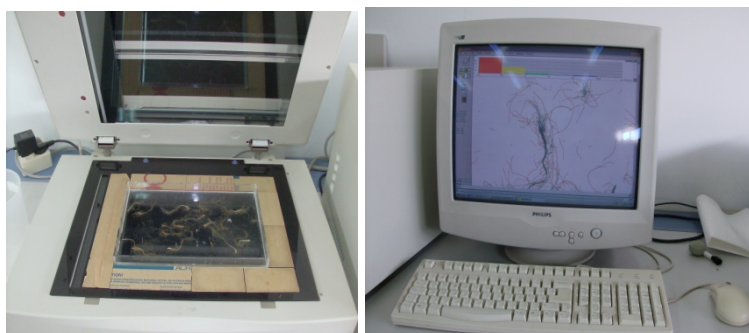


Figura 5.7.- Escáner y software de análisis de raíces

5.6. Diseño experimental y tratamiento estadístico de los datos.

Para el diseño experimental se consideró como parcela elemental una bandeja de styrofloat de dimensiones 60 cm x 41 cm, disponiendo de 3 repeticiones al azar. Los datos anteriormente trasladados a una hoja de cálculo se sometieron a un estudio estadístico mediante el programa StatGraphic 2.1, utilizando un ANOVA con el test LSD (95%) para el cálculo del análisis de la varianza y de separación de medias.

5.7. Determinación de elementos funcionales: vitamina C

Las muestras previamente congeladas, son trasladadas al laboratorio de producción vegetal de la ETSIA.

En primer lugar se trituraron las muestras con nitrógeno líquido en un molino industrial marca IKA, modelo A.11 basic y se almacenaron en tarros de 50mL. En esta primera parte, todos los elementos que se usaron para manejar la muestra estaban fríos con el fin de que no se descongelase la muestra.

Posteriormente, se pesaron 0,5 g de cada una de las muestras en botes de 5mL en una balanza de precisión marca Sartorius, modelo BP 2215 y se añadieron 2,5mL de ácido metafosfórico a cada bote con una Pipeta de precisión (BIOHIT Prolilne Plus). A partir de aquí se mantuvieron las muestras en la máxima oscuridad posible para que no se degradase la vitamina C.

Proyecto fin de carrera

Las muestras se dejaron reposar 1 hora en hielo picado para facilitar la extracción. Transcurrido este tiempo, se pasó parte de cada muestra con una pipeta Pasteur a un tubo Eppendorf hasta llenarlo.

Los Eppendorf se llevaron a la centrífuga marca, modelo 5417 R donde se centrifugaron durante 4 minutos a una temperatura de 0°C y 15000 rpm. Después de retirar los tubos Eppendorf de la centrífuga, se extrajo de éstos la parte sobrenadante de las muestras que se volvieron a pasar a Eppendorf limpios. Estas muestras fueron llevadas al SAIT para ser analizadas (método de análisis) y determinar la vitamina C que contengan.

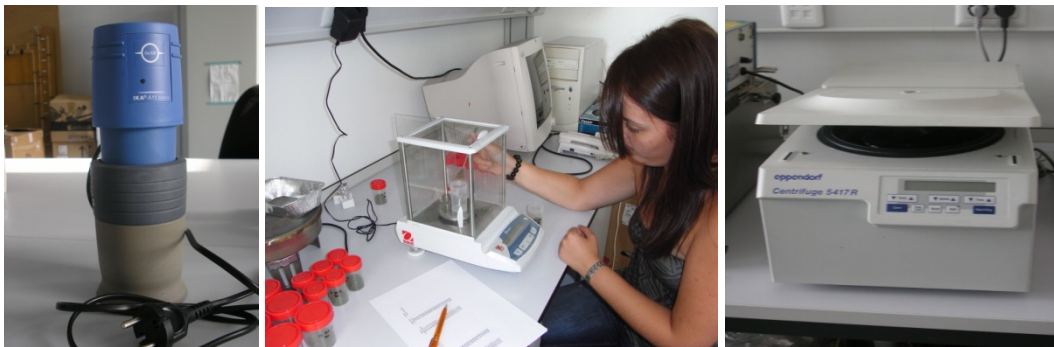


Figura 5.10.-Molino industrial (izquierda), Balanza de precisión (centro) y centrífuga Eppendorf (derecha)

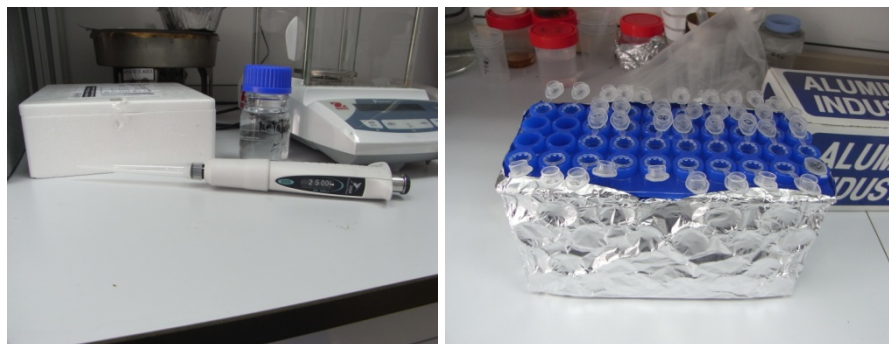


Figura 5.11.- Pipeta de precisión (izquierda). Tubos Eppendorf (derecha)

5.8. Determinación de nitratos y oxalatos:

Las muestras previamente deshidratadas en una estufa marca Sanyo se trasladaron al laboratorio de producción vegetal de la ETSIA.

En primer lugar se trituraron las muestras en un molino industrial marca IKA, modelo A.11 basic y se almacenaron en tarros de 50mL. Se pesaron 0,2 gramos de cada muestra en una balanza de precisión y se añadieron 50 mL de agua destilada a cada una. Se agitaron todas las muestras en un agitador marca Sartorius, modelo BP 2215 durante 30 minutos a 110 rpm y una temperatura de 27°C. Posteriormente se filtró la solución de los botes mediante un filtro situado en un embudo. Las soluciones filtradas se recogieron en botes de 50 mL y se pasaron después a tarros de 5 mL (2 tarros por bote). Uno de los tarros de 5 mL se quedó en el congelador y los otros se llevaron al SAIT método para determinar la cantidad de compuestos no deseables en hortalizas de hoja, como son, nitratos y oxalatos.



Figura 5.12.-Muestras de lechuga molidas en tarros (izquierda) de 50 mL y proceso de filtrado (derecha).



Figura 5.13.-Molino

5.9. Experiencias

5.9.1. Experiencia 1

Esta experiencia se empezó a realizar en primavera. La siembra se realizó en todas las fisuras a chorrillo el 12 de Abril de 2010 para *Lactuca sativa*; y el 14 de Abril de 2010 para *Nasturtium officinale* en bandejas de poliestireno expandido denominadas “styrofloat”.

En esta primera experiencia, el 19 de Abril de 2010 las raíces de lechuga de ambas variedades y las de berro de las bandejas styrofloat se dejaron sumergidas en un caldo con las bacterias (productos Larminar y Botrybel correspondientes a *Bacillus subtilis* y *Bacillus velezensis* relativamente) 24 horas. Tras las 24h, es decir, el 20 de Abril de 2010, se colocaron en las mesas con la solución nutritiva correspondiente y libre de bacterias.

Transcurrida una semana se realizó un aclareo de plántulas, dejando unas densidades de 10 plantas por fisura, lo que supuso unas densidades de plantación de 1700 plantas/m².

No se cambió la solución nutritiva ya que se recolectaron el 4 de Mayo de 2010 en el caso de *Lactuca sativa*, y el 10 de Mayo de 2010, en el caso de *Nasturtium officinale*

Proyecto fin de carrera

| Cultivo | Siembra | Recolección | Duración | Densidad de plantación |
|---|------------|-------------|----------|--------------------------------|
| - <i>Lactuca sativa</i> var. <i>Ganeria</i> y var. <i>Diveria</i> | 12/04/2010 | 04/05/2010 | 22 días | 1700 plantas/m ² |
| - <i>Nasturtium officinale</i> | 14/04/2010 | 10/05/2010 | 26 días | 2600 plantas/m ² |

Tabla 4: Resumen datos Experiencia 1.

La duración del ciclo de cultivo fue de 22 días en *Lactuca sativa* y de 26 días en *Nasturtium officinale*. En el momento de la recolección se analizó por repetición el área foliar, el peso fresco, el peso seco y el contenido relativo en clorofila en unidades SPAD, además, se tomaron 10 plantas de cada repetición para obtener el número de hojas y la altura de las plantas.

Se tomaron muestras de cada tratamiento y repetición para el posterior análisis de vitamina C y nitratos. Las muestras tomadas para el análisis de vitamina C fueron congeladas a -80°C en un congelador marca y las tomadas para análisis de nitratos y oxalatos se llevaron a la estufa donde se dejaron unos días para que se deshidratasen antes de ser trituradas.

5.9.2. Experiencia 2

Esta experiencia se realizó en primavera. La siembra se realizó en todas las fisuras a chorrillo el 18 de Mayo de 2010 para *Lactuca sativa*; y el 19 de Mayo de 2010 para *Nasturtium officinale* en bandejas de poliestireno expandido denominadas “styrofloat”.

En esta segunda experiencia, el 24 de Mayo de 2010 las raíces de lechuga de ambas variedades y las de berro de las bandejas styrofloat se dejaron sumergidas en un caldo con las bacterias (productos Larminar y Botrybel correspondientes a *Bacillus subtilis* y *Bacillus velezensis* relativamente) 24 horas. Tras las 24h, es decir, el 25 de Mayo de 2010, se colocaron en las mesas con la solución nutritiva correspondiente y libre de bacterias.

Transcurrida una semana se realizó un aclareo de plántulas, dejando unas densidades de 10 plantas por fisura, lo que supuso unas densidades de plantación de 1700 plantas/m².

No se cambió la solución nutritiva ya que se recolectaron el 7 de Junio de 2010 en el caso de *Lactuca sativa*, y el 11 de Junio de 2010, en el caso de *Nasturtium officinale*

Proyecto fin de carrera

| Cultivo | Siembra | Recolección | Duración | Densidad de plantación |
|---|------------|-------------|----------|--------------------------------|
| - <i>Lactuca sativa</i> var. <i>Ganeria</i> y var. <i>Diveria</i> | 18/05/2010 | 07/06/2010 | 20 días | 1700 plantas/m ² |
| - <i>Nasturtium officinale</i> | 19/05/2010 | 11/06/2010 | 23 días | 2600 plantas/m ² |

Tabla 5: Resumen datos Experiencia 2.

La duración del ciclo de cultivo fue de 20 días en *Lactuca sativa* y de 23 días en *Nasturtium officinale*. En el momento de la recolección se analizó por repetición el área foliar, el peso fresco, el peso seco y el contenido relativo en clorofila en unidades SPAD, además, se tomaron 10 plantas de cada repetición para obtener el número de hojas y la altura de las plantas.

Se tomaron muestras de cada tratamiento y repetición para el posterior análisis de vitamina C y nitratos. Las muestras tomadas para el análisis de vitamina C fueron congeladas a -80°C en un congelador marca y las tomadas para análisis de nitratos y oxalatos se llevaron a la estufa donde se dejaron unos días para que se deshidratasen antes de ser trituradas.

Datos Ambientales

Experiencia 1:

Durante todo el tiempo que duró el cultivo, el pH de la solución nutritiva osciló entre 5,8 y 6 y se registraron datos ambientales y de la solución nutritiva (Tabla 6.1):

Tabla 5.1. Datos ambientales y de la solución nutritiva

| | Oxigenación (ppm) | T ^a Solución Nutritiva (°C) | C.E. (dS/m) | T ^a Aire (°C) | HR (%) | Radiación (μmol/L) |
|--------------|-------------------|--|--------------|--------------------------|--------------|--------------------|
| Máx | 10.11 | 41.67 | 5.2 | 42.63 | 89.7 | 693.156 |
| Mín | 1.32 | 10.16 | 1.61 | 9.89 | 12.03 | |
| Media | 6.14 | 22.356 | 2.592 | 22.72 | 54.22 | 240.654 |

Experiencia 2:

Durante todo el tiempo que duró el cultivo, el pH de la solución nutritiva osciló entre 5,8 y 6 y se registraron datos ambientales y de la solución nutritiva (Tabla 6.2):

Tabla 5.2. Datos ambientales y de la solución nutritiva

| | Oxigenación (ppm) | T ^a Solución Nutritiva (°C) | C.E. (dS/m) | T ^a Aire (°C) | HR (%) | Radiación (μmol/L) |
|--------------|-------------------|--|--------------|--------------------------|--------------|--------------------|
| Máx | 9.82 | 40.73 | 4.127 | 41.76 | 85.5 | 681.412 |
| Mín | 2.55 | 12.29 | 0.136 | 12.28 | 15.74 | |
| Media | 6.01 | 25.154 | 2.807 | 25.86 | 55.54 | 214.627 |

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Ensayos Lechuga

● Experiencia 1

Variedad *Ganeria*

Los resultados obtenidos en *Lactuca sativa* tipo “baby leaf” variedad *Ganeria* (Lechuga verde), cultivadas en bandejas flotantes con 4 y 12 mmol N y la aplicación de rizobacterias promotoras del crecimiento (*Bacillus subtilis*(B1) y *Bacillus velezensis*(B2), sobre la altura, nº de hojas, área foliar, Contenido relativo de Clorofila (CRF) en valores SPAD, peso fresco, peso seco, nitratos y oxalatos, se muestran en la Tabla 6.3:

Tabla 6.3.-Resultados productivos para la lechuga variedad *ganeria*.

| Tratamientos | Altura (cm) | NºHojas | P.Fresco (g) | Área Foliar (cm ²) | P.Seco (g) | Clorofila (SPAD) | Nitratos (mg/kg) | Oxalatos (mg/kg) |
|------------------------|-------------|---------|--------------|--------------------------------|------------|------------------|------------------|------------------|
| Bacterias (B) | | | | | | | | |
| B1 | 12.67 b | 3.57 | 13.87 | 345.74 | 0.63 | 18.44 | 1848.03 | 58.92 b |
| B2 | 11.23 a | 3.52 | 12.2 | 341.75 | 0.53 | 16.54 | 1739.29 | 28.91 a |
| C | 11.75 a | 3.57 | 12.39 | 324.09 | 0.62 | 17.58 | 1651.84 | 36.11 a |
| p-value | *** | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | * |
| Sol.Nutrit.(SN) | | | | | | | | |
| 4mmol N | 12.49 b | 3.57 | 13.94 | 323.69 | 0.59 | 16.04 a | 1705.05 | 39.24 |
| 12mmol N | 11.28 a | 3.53 | 11.71 | 350.69 | 0.6 | 19.002 b | 1787.73 | 43.38 |
| p-value | *** | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | *** | n.s. | n.s. |

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

B1 (*Bacillus subtilis*), B2 (*Bacillus velezensis*) y C (control)

En la altura se observaron diferencias significativas entre los dos tipos de bacterias, sin embargo, no se obtuvieron diferencias entre las lechugas tratadas con B2 y las del tratamiento control. Existieron diferencias significativas entre la altura de las lechugas, siendo sorprendentemente las lechugas con solución nutritiva 4mmol N las que mayor crecimiento tuvieron. Al igual que ocurrió en el estudio realizado por Balanza et al., 2011. Se produjo, sin embargo interacción entre bacterias y SN (Figura 6.1), donde el tratamiento que mayor valor alcanzó fue el 12B1 disminuyendo en un 17.31%, dicho valor, en 12C y un 20.08% en 12B2. En la aplicación de la solución 4mmol N, alcanzó el mayor valor el 4C, disminuyendo en un 3.09%, dicho valor, en 4B1 y un 5.42% en 4B2, por lo tanto la aplicación de B1 modificó la altura de la planta a mayor concentración de N (12 mmol), que aumentó la altura de planta, frente al control; mientras que a menor concentración de N, su efecto disminuyó.

La diferente concentración de nitrógeno en la solución nutritiva, alteró la altura y el peso seco de la planta. Con 12mmol N, aumentó el peso seco y disminuyó la altura de la planta.

En el número de hojas, no hubo diferencias entre tratamientos ni solución nutritiva pero sí hubo interacción entre bacterias y SN (Figura 6.1). El tratamiento que mayor valor alcanzó fue el 4B1, disminuyendo un 2.7%, dicho valor, en 4C y un 8.11% en 4B2. En la aplicación de la solución 12mmol N, alcanzó el mayor valor el 12B2, disminuyendo un 2.75%, dicho valor, en 12C y un 5.5% en 12B1. La aplicación de B2 interaccionó con SN, provocando un aumento del número de hojas en SN de 12mmol, mientras que la aplicación de la misma bacteria, en SN de menor concentración de N (4 mmol) produjo el efecto contrario, mostrando el menor valor de este parámetro, todo lo contrario a lo que ocurrió con la aplicación de B1, cuyo efecto fue mayor a menor concentración de N. Este

Proyecto fin de carrera

hecho demostraría, que B2 potenció su efecto en la SN de mayor concentración de N y B1 en la de menor concentración.

En el peso fresco, área foliar, CRF y nitratos no se mostraron diferencias entre tratamientos bacterianos ni soluciones nutritivas.

En los oxalatos se observaron diferencias entre los dos tipos de bacterias, mostrando las concentraciones mayores, las plantas tratadas con B1, sin embargo, no se obtuvieron diferencias entre las lechugas tratadas con B2 y las del tratamiento control.

La tabla 6.4 representa el análisis de las interacciones entre los distintos tratamientos. La interacción bacteria-solución nutritiva, sólo se dio en la altura y el número de hojas.

Tabla 6.4.-Interacciones entre los distintos tratamientos.

| Interacciones | Altura (cm) | NºHojas | P.Fresco (g) | Area Foliar (cm ²) | P.Seco (g) | Clorofila (SPAD) | Nitratos (mg/kg) | Oxalatos (mg/kg) |
|---------------|-------------|----------|--------------|--------------------------------|-------------|------------------|------------------|------------------|
| B-SN | *** | * | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |

n.s, *, **, *** no significativo o significativo a $P \leq 0.05$, $P \leq 0.01$ y $P \leq 0.001$, respectivamente
B(Bacteria) y SN(Solución Nutritiva)

En la Figura 6.1 se representan las gráficas en la que se observan la interacción B-SN con la Altura y la interacción B-SN con el Número de Hojas.

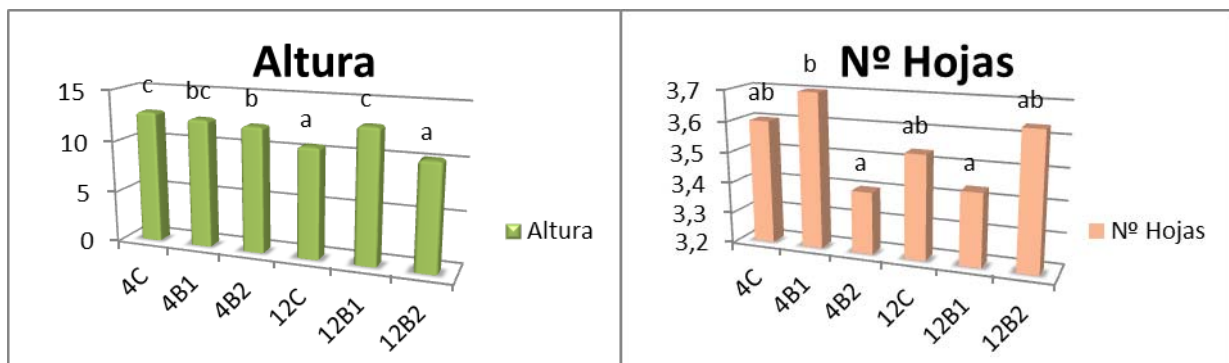


Figura 6.1. Interacciones B-SN con Altura y Numero de Hojas
B(Bacterias) y SN (Solución Nutritiva)

Se analizaron las raíces en función del tipo de tratamiento y de las dos soluciones nutritivas y se obtuvieron los siguientes resultados, en cuanto a longitud, volumen, área, diámetro y diferentes intervalos de longitud, comprendidos entre 0 y 4.5cm (tabla 6.5):

Proyecto fin de carrera

Tabla 6.5.- Resultados obtenidos en los análisis de las raíces de la primera experiencia.

| Tratamientos | Longitud (cm) | Volumen (cm ³) | Área (cm ²) | Diámetro (mm) | 0<L≤0.5 | 0.5<L≤1 | 1<L≤1.5 |
|------------------------|-------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|
| Bacterias (B) | | | | | | | |
| B1 | 955.24 | 2.74 | 57.48 | 0.59 | 628.41 | 226.04 | 55.98 |
| B2 | 727.16 | 2.14 | 45.59 | 0.63 | 462.23 | 177.44 | 47.86 |
| C | 827.63 | 2.18 | 47.65 | 0.58 | 551.47 | 197.83 | 47.29 |
| p-value | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| Sol.Nutrit.(SN) | | | | | | | |
| 4mmol N | 898.54 | 2.84 | 58.81 | 0.62 | 574.73 | 212.62 | 60.62 b |
| 12mmol N | 774.8 | 1.86 | 43.68 | 0.57 | 520.01 | 188.25 | 40.13 a |
| p-value | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | * |
| Tratamientos | 1.5<L≤2 | 2<L≤2.5 | 2.5<L≤3 | 3<L≤3.5 | 3.5<L≤4 | 4<L≤4.5 | L>4.5 |
| Bacterias (B) | | | | | | | |
| B1 | 21.63 | 10.59 | 4.92 | 2.89 | 1.61 | 1.22 | 2.08 |
| B2 | 18.37 | 9.66 | 4.59 | 2.46 | 1.87 | 1.28 | 1.42 |
| C | 15.47 | 6.79 | 3.69 | 2.29 | 1 | 0.51 | 1.27 |
| p-value | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| Sol.Nutrit.(SN) | | | | | | | |
| 4mmol N | 24.07 b | 12.18 b | 5.51 | 3.52 b | 1.88 | 1.19 | 2.23 |
| 12mmol N | 12.92 a | 5.85 a | 3.29 | 1.58 a | 1.1 | 0.81 | 0.96 |
| p-value | * | * | n.s. | * | n.s. | n.s. | n.s. |

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

B1 (*Bacillus subtilis*), B2 (*Bacillus velezensis*) y C (control)

Las diferencias que hubo entre aplicar una u otra bacteria y el control no fueron significativas para las variables estudiadas.

Al aplicar las distintas soluciones nutritivas, se vieron diferencias significativas en las longitudes comprendidas entre $1 < L \leq 1.5$, $1.5 < L \leq 2$, $2 < L \leq 2.5$ y $3 < L \leq 3.5$, siendo en todas ellas, las de 4mmol N las que mayor crecimiento tuvieron.

La tabla 6.6 representa el análisis de las interacciones entre los distintos tratamientos. En el caso de las raíces, no se produjo ninguna interacción entre las variables.

Tabla 6.6.-Interacciones entre los distintos tratamientos.

| Interacciones | Longitud (cm) | Volumen (cm ³) | Área (cm ²) | Diámetro (mm) | 0<L≤0.5 | 0.5<L≤1 | 1<L≤1.5 |
|----------------------|-------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|
| B-SN | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| Interacciones | 1.5<L≤2 | 2<L≤2.5 | 2.5<L≤3 | 3<L≤3.5 | 3.5<L≤4 | 4<L≤4.5 | L>4.5 |
| B-SN | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |

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

B(Bacteria) y SN(Solución Nutritiva)

Variedad *Diveria*

Los resultados obtenidos en *Lactuca sativa* tipo “baby leaf” variedad *Diveria* (Lechuga roja), cultivadas en bandejas flotantes con 4 y 12 mmol N y la aplicación de rizobacterias promotoras del crecimiento (*Bacillus subtilis*(B1) y *Bacillus velezensis*(B2)), sobre la altura, n° de hojas, área foliar, Contenido relativo de Clorofila (CRF) en valores SPAD, peso fresco, peso seco, nitratos y oxalatos, se muestran en la Tabla 6.7:

Proyecto fin de carrera

Tabla 6.7.-Resultados productivos para la lechuga variedad *diveria*.

| Tratamientos | Altura (cm) | NºHojas | P.Fresco (g) | Área Foliar (cm ²) | P.Seco (g) | Clorofila (SPAD) | Nitratos (mg/kg) | Oxalatos (mg/kg) |
|------------------------|-------------|---------|--------------|--------------------------------|------------|------------------|------------------|------------------|
| Bacterias (B) | | | | | | | | |
| B1 | 13.22 b | 3.73 a | 15.35 a | 278.49 | 0.58 ab | 20.24 | 1736.52 | 41.09 |
| B2 | 11.89 a | 3.72 a | 13.24 a | 326.92 | 0.52 a | 20.29 | 1057.67 | 42.31 |
| C | 12.02 a | 4.28 b | 18.42 b | 298.95 | 0.73 b | 20.31 | 1373.09 | 38.08 |
| p-value | *** | *** | ** | n.s. | * | n.s. | n.s. | n.s. |
| Sol.Nutrit.(SN) | | | | | | | | |
| 4mmol N | 12.48 | 3.78 a | 16.04 | 304.34 | 0.56 | 18.88 a | 1321.16 | 38.72 |
| 12mmol N | 12.28 | 4.04 b | 15.3 | 298.57 | 0.67 | 21.68 b | 1457.02 | 42.27 |
| p-value | n.s. | * | n.s. | n.s. | n.s. | *** | n.s. | n.s. |

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

B1 (*Bacillus subtilis*), B2 (*Bacillus velezensis*) y C (control)

En la altura se observaron diferencias significativas entre los dos tipos de bacterias, obteniéndose plantas más altas con B1, que las tratadas con B2 y las control, sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas entre las lechugas tratadas con B2 y las del tratamiento control.

En cuanto al número de hojas y al peso fresco, se observaron diferencias significativas entre las lechugas tratadas con B2 y el control, sin embargo no se obtuvieron diferencias significativas entre los dos tipos de bacterias.

En cuanto al peso seco, se observaron diferencias significativas entre las lechugas tratadas con B2 y las que control, sin embargo no se obtuvieron diferencias significativas entre los dos tipos de bacterias, ni entre las lechugas tratadas con B1 y las control.

En el número de hojas y el CRC, se observaron diferencias significativas entre las soluciones nutritivas, siendo mayor, el número de hojas y el CRC, de las lechugas con solución nutritiva 12 mmol N.

A mayor concentración de nitrógeno, se obtuvieron mayores valores SPAD, posiblemente debido a la relación existente entre el contenido de nitrógeno en hoja y el contenido relativo de clorofila (valores SPAD), Saint et al. (1998), demostraron que en la hojas de maíz existe una estrecha asociación entre el contenido de nitrógeno y de clorofila. En el segundo ensayo, ocurrió lo mismo, pero con la variedad *Ganeria*.

En la altura, peso fresco y peso seco no se observaron diferencias entre las soluciones nutritivas.

En el área foliar, clorofilas, nitratos y oxalatos no se mostraron diferencias significativas entre tratamientos bacterianos ni soluciones nutritivas. Pero en el caso del área foliar y de los nitratos si hubo interacción B-SN (Fig. 6.2). En el área foliar, el mayor valor lo alcanzó el 12B2, disminuyendo un 34.59%, dicho valor, en 12C y un 24.78% en 12B1. En la aplicación de la solución 4mmol N, el mayor valor lo alcanzó el 4C, disminuyendo un 21.84%, dicho valor, en 4B1 y un 20.54% en 4B2. En los nitratos, el mayor valor lo alcanzó el 12C, disminuyendo un 67.2%, dicho valor, en 12B1 y un 23.99% en 12B2. En la aplicación de la solución 4mmol N, el mayor valor lo alcanzó el 4B1, disminuyendo un 3.43%, dicho valor, en 4C y un 19.15% en 4B2. En ambos casos ocurrió lo mismo que con *Ganeria* en el número de hojas, que B1 potenció su efecto a menor concentración de N.

La tabla 6.8 representa el análisis de las interacciones entre los distintos tratamientos. La interacción bacteria-solución nutritiva, sólo se dio en el área foliar y en los nitratos.

Proyecto fin de carrera

Tabla 6.8.-Interacciones entre los distintos tratamientos.

| Interacciones | Altura (cm) | Nº Hojas | P.F resc o (g) | Área Foliar (cm ²) | P.Se co (g) | Clorofila (SP AD) | Nitrat os (mg/k g) | Oxalato s (mg/kg) |
|---------------|-------------|-------------|----------------|--------------------------------|-------------|-------------------|--------------------|-------------------|
| B-SN | n.s. | n.s. | n.s. | * | n.s. | n.s. | * | n.s. |

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

B(Bacteria) y SN(Solución Nutritiva)

En la Figura 6.2 se representan las gráficas en la que se observan la interacción B-SN con el Área Foliar y los Nitratos.

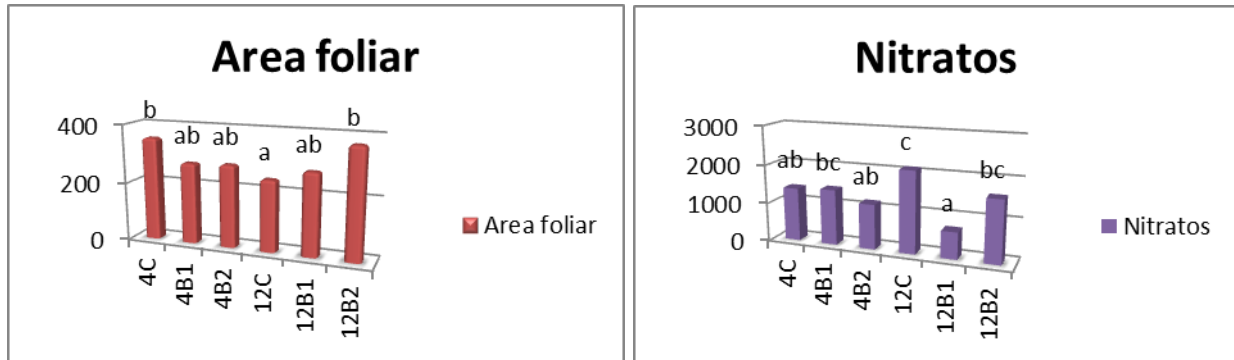


Figura 6.2. Interacciones B-SN con Área Foliar y Nitratos
B(Bacterias) y SN (Solución Nutritiva)

Se analizaron las raíces en función del tipo de tratamiento y de las dos soluciones nutritivas y se obtuvieron los siguientes resultados, en cuanto a longitud, volumen, área, diámetro y diferentes intervalos de longitud, comprendidos entre 0 y 4.5cm (tabla 6.9):

Proyecto fin de carrera

Tabla 6.9.- Resultados obtenidos en los análisis de las raíces de la primera experiencia

| Tratamientos | Longitud (cm) | Volumen (cm ³) | Área (cm ²) | Diámetro (mm) | 0<L≤0.5 | 0.5<L≤1 | 1<L≤1.5 |
|------------------------|-------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|
| Bacterias (B) | | | | | | | |
| B1 | 879.79 ab | 2.29 | 50.49 ab | 0.57 | 575.59 ab | 217.56 | 52.55 |
| B2 | 679.82 a | 1.96 | 40.97 a | 0.59 | 432.23 a | 172.12 | 44.11 |
| C | 1063.04 b | 2.94 | 62.79 b | 0.6 | 687.67 b | 265.58 | 65.88 |
| p-value | * | n.s. | * | n.s. | * | n.s. | n.s. |
| Sol.Nutrit.(SN) | | | | | | | |
| 4mmol N | 1036.3 b | 2.72 | 59.73 b | 0.58 | 674.39 b | 259.71 b | 63.8 b |
| 12mmol N | 712.14 a | 2.07 | 43.11 a | 0.6 | 455.94 a | 177.13 a | 44.56 a |
| p-value | ** | n.s. | * | n.s. | ** | ** | * |
| Tratamientos | 1.5<L≤2 | 2<L≤2.5 | 2.5<L≤3 | 3<L≤3.5 | 3.5<L≤4 | 4<L≤4.5 | L>4.5 |
| Bacterias (B) | | | | | | | |
| B1 | 18.3 | 7.87 | 3.39 | 2.05 | 1.36 | 0.61 | 0.49 |
| B2 | 17 | 7.62 | 2.64 | 1.93 | 0.82 | 0.68 | 0.66 |
| C | 22.85 | 10.05 | 4.49 | 2.47 | 1.85 | 0.65 | 1.56 |
| p-value | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| Sol.Nutrit.(SN) | | | | | | | |
| 4mmol N | 21.33 | 9.28 | 3.33 | 1.89 | 1.4 | 0.58 | 0.58 |
| 12mmol N | 17.44 | 7.75 | 3.68 | 2.41 | 1.29 | 0.71 | 1.23 |
| p-value | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |

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

B1 (*Bacillus subtilis*), B2 (*Bacillus velezensis*) y C (control)

En la longitud, el área y la longitud comprendida entre $0 < L \leq 0.5$, se observaron diferencias significativas entre las lechugas tratadas con B2 y las control, mostrando los mayores valores en los tres parámetros, las plantas control, sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas entre los dos tipos de bacterias, ni entre las tratadas con B1 y las control. Existieron diferencias significativas entre soluciones nutritivas, siendo las lechugas con solución nutritiva 4mmol N los que mayor crecimiento tuvieron.

Obtuvieron mayor área y mayores raíces con una longitud comprendida entre 0 y 0.5cm, las del tratamiento control

Las diferencias que hubo entre aplicar una u otra bacteria y el control, en el resto de variables, no fueron significativas.

Al aplicar las distintas soluciones nutritivas, se vieron diferencias significativas en las longitudes comprendidas entre $0.5 < L \leq 1$ y $1 < L \leq 1.5$, siendo en todas ellas, las de 4mmol N las que mayor crecimiento tuvieron.

La tabla 6.10 representa el análisis de las interacciones entre los distintos tratamientos. La interacción bacteria-solución nutritiva, no se dio en ninguno de los casos.

Tabla 6.10.-Interacciones entre los distintos tratamientos.

| Interacciones | Longitud (cm) | Volumen (cm ³) | Área (cm ²) | Diámetro (mm) | 0<L≤0.5 | 0.5<L≤1 | 1<L≤1.5 |
|----------------------|-------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|
| B-SN | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| Interacciones | 1.5<L≤2 | 2<L≤2.5 | 2.5<L≤3 | 3<L≤3.5 | 3.5<L≤4 | 4<L≤4.5 | L>4.5 |
| B-SN | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |

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

B(Bacteria) y SN(Solución Nutritiva)

● Experiencia 2

Variedad *Ganeria*

Los resultados obtenidos en *Lactuca sativa* tipo “baby leaf” variedad *Ganeria*, cultivadas en bandejas flotantes con 4 y 12 mmol N y la aplicación de rizobacterias promotoras del crecimiento (*Bacillus subtilis*(B1) y *Bacillus velezensis*(B2)), sobre la altura, nº de hojas, área foliar, Contenido relativo de Clorofila (CRC) en valores SPAD, peso fresco, peso seco, nitratos y oxalatos, se muestran en la Tabla 6.11:

Tabla 6.11.-Resultados productivos para la lechuga variedad *ganeria*.

| Tratamientos | Altura (cm) | NºHojas | P.Fresco (g) | Área Foliar (cm ²) | P.Seco (g) | Clorofila (SPAD) | Nitratos (mg/kg) | Oxalatos (mg/kg) |
|------------------------|-------------|---------|--------------|--------------------------------|------------|------------------|------------------|------------------|
| Bacterias (B) | | | | | | | | |
| B1 | 12.86 b | 3.05 | 7.79 a | 205.7 b | 0.32 | 17.37 | 1537.08 | 30.59 |
| B2 | 10.5 a | 2.95 | 6.92 a | 169.13 a | 0.28 | 18.4 | 1169.48 | 32.2 |
| C | 13.58 c | 3.07 | 9.56 b | 241.03 c | 0.35 | 18.44 | 1503.45 | 33.77 |
| p-value | *** | n.s. | ** | *** | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| Sol.Nutrit.(SN) | | | | | | | | |
| 4mmol N | 12.44 | 3.07 | 8.31 | 201.4 | 0.31 | 14.46 a | 1247.26 a | 36.66 b |
| 12mmol N | 12.18 | 2.98 | 7.87 | 209.17 | 0.32 | 21.68 b | 1559.42 b | 27.71 a |
| p-value | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | *** | * | * |

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

B1 (*Bacillus subtilis*), B2 (*Bacillus velezensis*) y C (control)

En la altura y el área foliar se observaron diferencias significativas entre B1, B2 y las control. Las plantas control mostraron la mayor altura y las hojas más grandes.

En el número de hojas y peso seco no se mostraron diferencias significativas entre tratamientos bacterianos ni soluciones nutritivas.

En el peso fresco se observaron diferencias significativas entre las lechugas tratadas con B2 y el control, sin embargo no se obtuvieron diferencias significativas entre los dos tipos de bacterias. Las plantas control mostraron el mayor peso fresco.

En el CRC se observaron diferencias significativas entre las soluciones nutritivas, siendo mayor, en ambas, el de las lechugas con solución nutritiva 12 mmol N.

En cuanto al contenido de nitratos en hojas, se observaron diferencias significativas entre ambos tratamientos nutritivos, apreciándose una reducción clara en las lechugas tratadas con 4 mmol 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 NO₃ y NH₄ a la solución nutritiva.

A mayor concentración de nitrógeno, se obtuvieron mayores valores SPAD, posiblemente debido a la relación existente entre el contenido de nitrógeno en hoja y el contenido relativo de clorofila (valores SPAD), Saint et al. (1998). Al igual que ocurrió con *Diveria* en la Experiencia 1.

En los oxalatos, se observaron diferencias significativas entre las soluciones nutritivas, siendo mayor la de las lechugas con solución nutritiva 4mmol N.

Proyecto fin de carrera

En la altura, el peso fresco y el área foliar, no se observaron diferencias significativas entre soluciones nutritivas.

La tabla 6.12 representa el análisis de las interacciones entre los distintos tratamientos. La interacción bacteria-solución nutritiva no se dio en ninguno de los casos.

Tabla 6.12.-Interacciones entre los distintos tratamientos.

| Interacciones | Altura (cm) | NºHojas | P.Fresco (g) | Área Foliar (cm ²) | P.Seco (g) | Clorofila (SPAD) | Nitratos (mg/kg) | Oxalatos (mg/kg) |
|---------------|-------------|---------|--------------|--------------------------------|------------|------------------|------------------|------------------|
| B-SN | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |

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

B(Bacteria) y SN(Solución Nutritiva)

Se analizaron las raíces en función del tipo de tratamiento y de las dos soluciones nutritivas y se obtuvieron los siguientes resultados, en cuanto a longitud, volumen, área, diámetro y diferentes intervalos de longitud, comprendidos entre 0 y 4.5cm (tabla 6.13):

Tabla 6.13.- Resultados obtenidos en los análisis de las raíces de la primera experiencia.

| Tratamientos | Longitud (cm) | Volumen (cm ³) | Área (cm ²) | Diámetro (mm) | 0<L≤0.5 | 0.5<L≤1 | 1<L≤1.5 |
|------------------------|-------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|
| Bacterias (B) | | | | | | | |
| B1 | 143.12 a | 0.49 a | 9.49 a | 0.65 | 88.06 a | 35.9 a | 10.14 a |
| B2 | 304.93 b | 0.89 b | 18.55 b | 0.62 | 193.97 b | 75.46 b | 22.58 b |
| C | 210.68 ab | 0.59 a | 12.58 a | 0.6 | 134.31 ab | 54.09 ab | 13.4 a |
| p-value | ** | * | * | n.s. | * | ** | ** |
| Sol.Nutrit.(SN) | | | | | | | |
| 4mmol N | 207.43 | 0.63 | 12.83 | 0.63 | 131.75 | 49.84 | 15.44 |
| 12mmol N | 231.71 | 0.69 | 14.25 | 0.62 | 145.81 | 60.46 | 15.31 |
| p-value | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| Tratamientos | 1.5<L≤2 | 2<L≤2.5 | 2.5<L≤3 | 3<L≤3.5 | 3.5<L≤4 | 4<L≤4.5 | L>4.5 |
| Bacterias (B) | | | | | | | |
| B1 | 4.86 | 2.07 | 0.59 | 0.68 | 0.54 | 0.13 | 0.16 |
| B2 | 6.87 | 3.35 | 1.08 | 0.8 | 0.39 | 0.21 | 0.21 |
| C | 4.46 | 2.63 | 0.86 | 0.35 | 0.32 | 0.05 | 0.19 |
| p-value | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| Sol.Nutrit.(SN) | | | | | | | |
| 4mmol N | 5.83 | 2.67 | 0.81 | 0.43 | 0.33 | 0.17 | 0.16 |
| 12mmol N | 4.97 | 2.69 | 0.88 | 0.79 | 0.5 | 0.09 | 0.22 |
| p-value | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |

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

B1 (*Bacillus subtilis*), B2 (*Bacillus velezensis*) y C (control)

En la longitud, la longitud comprendida entre 0<L≤0.5 y la comprendida entre 0.5<L≤1, se observaron diferencias significativas los dos tipos de bacterias, sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas entre las tratadas con B1 y las control, ni entre las lechugas tratadas con B2 y control.

El volumen, el área y las longitudes comprendidas entre 0–0.5, 0.5–1 y 1-1.5cm, las que mayor valor obtuvieron fueron las tratadas con B2

En el volumen, el área y la longitud comprendida entre 1<L≤1.5, se observaron diferencias significativas entre los dos tipos de bacterias, sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas entre las tratadas con B1 y las control.

Proyecto fin de carrera

En el resto de variables, las diferencias que hubo entre aplicar una u otra bacteria y el control son no significativas.

Al aplicar una u otra solución nutritiva, no se vieron diferencias significativas entre variables.

La tabla 6.14 representa el análisis de las interacciones entre los distintos tratamientos. La interacción bacteria-solución nutritiva, no se dio en ninguno de los casos.

Tabla 6.14.-Interacciones entre los distintos tratamientos.

| Interacciones | Longitud (cm) | Volumen (cm ³) | Área (cm ²) | Diámetro (mm) | 0<L≤0.5 | 0.5<L≤1 | 1<L≤1.5 |
|---------------|---------------|----------------------------|-------------------------|---------------|---------|---------|---------|
| B-SN | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| Interacciones | 1.5<L≤2 | 2<L≤2.5 | 2.5<L≤3 | 3<L≤3.5 | 3.5<L≤4 | 4<L≤4.5 | L>4.5 |
| B-SN | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |

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

B(Bacteria) y SN(Solución Nutritiva)

Variedad *Diveria*

Los resultados obtenidos en *Lactuca sativa* tipo “baby leaf” variedad *Diveria*, cultivadas en bandejas flotantes con 4 y 12 mmol N y la aplicación de rizobacterias promotoras del crecimiento (*Bacillus subtilis*(B1) y *Bacillus velezensis*(B2)), sobre la altura, nº de hojas, área foliar, Contenido relativo de Clorofila (CRF) en valores SPAD, peso fresco, peso seco, nitratos y oxalatos, se muestran en la Tabla 6.15:

Tabla 6.15.-Resultados productivos para la lechuga variedad *diveria*.

| Tratamientos | Altura (cm) | NºHojas | P.Fresco (g) | Área Foliar (cm ²) | P.Seco (g) | Clorofila (SPAD) | Nitratos (mg/kg) | Oxalatos (mg/kg) |
|------------------------|-------------|---------|--------------|--------------------------------|------------|------------------|------------------|------------------|
| Bacterias (B) | | | | | | | | |
| B1 | 11.68 b | 3.67 | 8.49 | 271.89 | 0.28 | 17.46 | 1364.03 | 34.03 |
| B2 | 9.66 a | 3.61 | 6.96 | 221.15 | 0.22 | 17.95 | 879.15 | 36.32 |
| C | 11.47 b | 3.69 | 8.86 | 275.65 | 0.33 | 18.83 | 895.35 | 27.75 |
| p-value | *** | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| Sol.Nutrit.(SN) | | | | | | | | |
| 4mmol N | 10.94 | 3.71 | 8.65 | 356.38 | 0.29 | 17.91 | 844.72 | 31.32 |
| 12mmol N | 10.93 | 3.61 | 7.56 | 247.08 | 0.27 | 18.25 | 1247.63 | 34.08 |
| p-value | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |

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

B1 (*Bacillus subtilis*), B2 (*Bacillus velezensis*) y C (control)

Solo se observaron diferencias significativas en la altura entre los dos tipos de bacterias, sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas entre las lechugas tratadas con B1 y las control. B2 disminuyó el tamaño de las plantas de lechuga respecto al control y a las B1. Al igual que ocurre en un ensayo realizado en lechuga en bandeja flotante (Balanza et al., 2011). En la altura también se dio interacción entre B-SN (Fig.6.3) Donde el mayor valor se alcanzó al aplicar B1 en ambas soluciones nutritivas. La aplicación de B2 interaccionó con la SN, mostrando valores de altura de planta sin diferencias con el control en 12 mmol y frente a las plantas más bajas con SN de 4 mmol, es decir, que a menor concentración de N en la SN, menor efectividad mostró la aplicación de B2. La interacción existente entre B-SN demostró que la aplicación de B1 fue más eficaz con 4mmol, ya que promovió el crecimiento en altura de las plantas.

Se puede decir que B1 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 B2.

Proyecto fin de carrera

En el resto de tratamientos no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos bacterianos y las soluciones nutritivas. Pero en el Contenido relativo de Clorofila (CRF) en valores SPAD (Fig. 6.3). Donde el tratamiento que mayor valor alcanzo fue el 12C, disminuyendo un 4.81%, dicho valor, en 12B1 y un 7.12% en 12B2. En la aplicación de la solución 4mmol N, alcanzó el mayor valor el 4C, disminuyendo un 9.76%, dicho valor, en 4B1 y un 2.14% en 4B2.

La tabla 6.16 representa el análisis de las interacciones entre los distintos tratamientos. La interacción bacteria-solución nutritiva, sólo se dio en la altura, la clorofila y los oxalatos.

Tabla 6.16.-Interacciones entre los distintos tratamientos.

| Interacciones | Altura (cm) | NºHojas | P.Fresco (g) | Área Foliar (cm ²) | P.Seco (g) | Clorofila (SPAD) | Nitratos (mg/kg) | Oxalatos (mg/kg) |
|---------------|-------------|-------------|--------------|--------------------------------|-------------|------------------|------------------|------------------|
| B-SN | *** | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | ** | n.s. | * |

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

B(Bacteria) y SN(Solución Nutritiva)

En la Figura 6.3 se representan las gráficas en la que se observan la interacción B-SN con Altura y Contenido relativo de Clorofila (CRF) en valores SPAD.

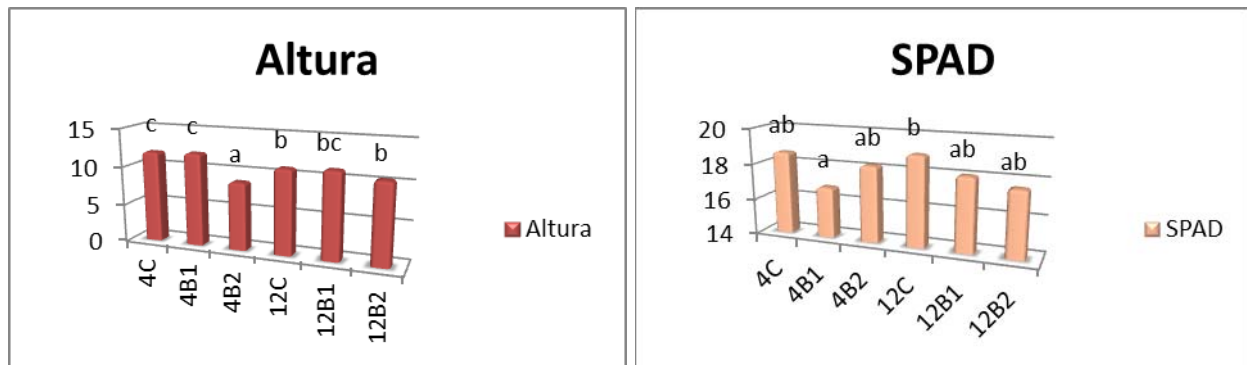


Figura 6.3. Interacciones B-SN con Altura y Contenido relativo de Clorofila (CRF) en valores SPAD B(Bacterias) y SN (Solución Nutritiva)

Se analizaron las raíces en función del tipo de tratamiento y de las dos soluciones nutritivas y se obtuvieron los siguientes resultados, en cuanto a longitud, volumen, área, diámetro y diferentes intervalos de longitud, comprendidos entre 0 y 4.5cm (tabla 6.17):

Proyecto fin de carrera

Tabla 6.17.- Resultados obtenidos en los análisis de las raíces de la primera experiencia.

| Tratamientos | Longitud (cm) | Volumen (cm ³) | Área (cm ²) | Diámetro (mm) | 0<L≤0.5 | 0.5<L≤1 | 1<L≤1.5 |
|------------------------|-------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|
| Bacterias (B) | | | | | | | |
| B1 | 159.92 | 0.5 | 9.76 | 0.64 | 70.23 | 33.37 | 6.83 |
| B2 | 205.15 | 0.66 | 12.94 | 0.65 | 110.23 | 56.72 | 15.81 |
| C | 138.77 | 0.44 | 7.66 | 0.63 | 84.99 | 35.57 | 8.89 |
| p-value | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| Sol.Nutrit.(SN) | | | | | | | |
| 4mmol N | 135.38 | 0.47 | 7.99 | 0.67 | 60.83 | 39.35 | 10.22 |
| 12mmol N | 200.53 | 0.59 | 12.24 | 0.61 | 116.14 | 44.42 | 10.8 |
| p-value | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| Tratamientos | 1.5<L≤2 | 2<L≤2.5 | 2.5<L≤3 | 3<L≤3.5 | 3.5<L≤4 | 4<L≤4.5 | L>4.5 |
| Bacterias (B) | | | | | | | |
| B1 | 4.61 | 2.79 | 0.73 | 0.28 | 0.15 | 0.04 | 0.01 |
| B2 | 4.86 | 2.37 | 0.92 | 0.57 | 0.21 | 0.04 | 0.06 |
| C | 4.18 | 1.65 | 0.28 | 0.34 | 0.28 | 0.04 | 0.09 |
| p-value | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| Sol.Nutrit.(SN) | | | | | | | |
| 4mmol N | 3.58 | 1.89 | 0.62 | 0.38 | 0.21 | 0.03 | 0.05 |
| 12mmol N | 3.52 | 2.64 | 0.66 | 0.41 | 0.22 | 0.05 | 0.06 |
| p-value | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |

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

B1 (*Bacillus subtilis*), B2 (*Bacillus velezensis*) y C (control)

Las diferencias que hubo entre aplicar una u otra bacteria y el control son no significativas para las variables estudiadas.

Al aplicar una u otra solución nutritiva, no se vieron diferencias significativas entre variables.

La tabla 6.18 representa el análisis de las interacciones entre los distintos tratamientos. La interacción bacteria-solución nutritiva, no se dio en ninguno de los casos.

Tabla 6.18.-Interacciones entre los distintos tratamientos.

| Interacciones | Longitud (cm) | Volumen (cm ³) | Área (cm ²) | Diámetro (mm) | 0<L≤0.5 | 0.5<L≤1 | 1<L≤1.5 |
|----------------------|-------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|
| B-SN | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| Interacciones | 1.5<L≤2 | 2<L≤2.5 | 2.5<L≤3 | 3<L≤3.5 | 3.5<L≤4 | 4<L≤4.5 | L>4.5 |
| B-SN | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |

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

B(Bacteria) y SN(Solución Nutritiva)

En cuanto a los caracteres morfológicos de la parte radical de las plantas, la aplicación de bacterias no influyó en nada para el crecimiento de las raíces, ya que las del tratamiento control fueron las que mayor longitud alcanzaron.

La diferente concentración de nitrógeno en la solución nutritiva, alteró las longitudes comprendidas entre 1-1.5, 1.5-2, 2-2.5 y 3-3.5cm en *Ganeria*; y la longitud, el área y las longitudes comprendidas entre 0-0.5, 0.5-1 y 1-1.5cm en *Diveria*, siendo para ambas variedades, todos los parámetros, mayores a menor concentración de nitrógeno.

Discusión ensayo lechugas

En general, los parámetros agronómicos de crecimiento, se vieron afectados con la aplicación de bacterias en la solución nutritiva. Diversos estudios realizados encontraron un efecto positivo en la aplicación de bacterias promotoras del crecimiento sobre plantas cultivadas en bandejas flotantes (Yasufumi and Kaneali, 2003). En ambas variedades, la aplicación de bacterias modificó la altura de la planta, produciendo plantas más altas con B1 (*Bacillus subtilis*); excepto para la variedad *Ganeria* (lechuga verde), en el segundo ensayo (Mayo), donde las plantas que mayor altura alcanzaron fueron las control. La variedad *Diveria* (lechuga roja), se vio afectada, además, en el número de hojas, peso fresco y peso seco, en el primer ensayo (Abril), siendo las plantas control las más pesadas y con mayor número de hojas, frente a las tratadas con bacterias. Por lo tanto, las bacterias disminuyeron el peso de las plantas y el número de hojas, aunque aumentaron la altura de la misma., por lo que, *Bacillus subtilis* podría tener una influencia positiva sobre el crecimiento vegetativo de las plantas.

En un estudio de *Bacillus subtilis* como promotor del crecimiento en tomate cultivado en hidroponía, en condiciones salinas, se concluyó, que en el tratamiento con *Bacillus subtilis*, la producción era inferior, pero hubo una mejora del crecimiento vegetativo (Woitke et col., 2004).

En cuanto a los caracteres morfológicos de la parte radical de las plantas, la aplicación de bacterias no influyó en nada para el crecimiento de las raíces, ya que las del tratamiento control fueron las que mayor longitud alcanzaron.

La diferente concentración de nitrógeno en la solución nutritiva, alteró las longitudes comprendidas entre 1-1.5, 1.5-2, 2-2.5 y 3-3.5cm en *Ganeria*; y la longitud, el área y las longitudes comprendidas entre 0-0.5, 0.5-1 y 1-1.5cm en *Diveria*, siendo para ambas variedades, todos los parámetros, mayores a menor concentración de nitrógeno. .

6.2. Ensayos Berro

Parte aérea

Experiencia 1

Los resultados obtenidos en *Nasturtium officinale* tipo “baby leaf”, cultivado en bandejas flotantes con 4 y 12 mmol N y la aplicación de rizobacterias promotoras del crecimiento (*Bacillus subtilis*(B1) y *Bacillus velezensis*(B2)), sobre la altura, nº de hojas, área foliar, Contenido relativo de Clorofila (CRF) en valores SPAD, peso fresco, peso seco, nitratos y oxalatos, se muestran en la Tabla 6.19:

Proyecto fin de carrera

Tabla 6.19.-Resultados productivos para el berro

| Tratamientos | Altura (cm) | NºHojas | P.Fresco (g) | Área Foliar (cm ²) | P.Seco (g) | Clorofila (SPAD) | Nitratos (mg/kg) | Oxalatos (mg/kg) |
|------------------------|-------------|---------|--------------|--------------------------------|------------|------------------|------------------|------------------|
| Bacterias (B) | | | | | | | | |
| B1 | 19.8 b | 6.42 | 14.58 | 101.03 | 0.6 | 39.14 | 239.43 | 3.01 |
| B2 | 17.36 a | 6.75 | 13.97 | 104.58 | 0.62 | 38.33 | 251.4 | 3.89 |
| C | 17.47 a | 6.63 | 13.28 | 115.93 | 0.65 | 39.05 | 129.86 | 3.52 |
| p-value | ** | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| Sol.Nutrit.(SN) | | | | | | | | |
| 4mmol N | 14.59 a | 6.4 a | 10.07 a | 84.09 a | 0.54 | 35.47 a | 213.83 | 3.42 |
| 12mmol N | 21.92 b | 6.8 b | 17.82 b | 130.28 b | 0.7 | 42.21 b | 199.97 | 3.53 |
| p-value | *** | ** | ** | ** | n.s. | *** | n.s. | n.s. |

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

B1 (*Bacillus subtilis*), B2 (*Bacillus velezensis*) y C (control)

En la altura se observaron diferencias significativas entre los dos tipos de bacterias, obteniéndose la mayor altura con B1, sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas entre las lechugas tratadas con B2 y las control. La aplicación de bacterias modificó la altura de la planta, produciendo plantas más altas con B1. En un estudio sobre el pepino, se vio que *Bacillus subtilis* también mejoró el crecimiento vegetativo de la planta en condiciones de salinidad. Y en un estudio realizado sobre lechuga, también se observó que *Bacillus subtilis* mejoró el crecimiento vegetativo de la planta (Liu et col., 2010). En el caso de la altura se dio interacción B-SN (Fig. 6.4), donde el mayor valor se alcanzó al aplicar B1 en ambas soluciones nutritivas. La aplicación de B2 interaccionó con la SN, mostrando valores de altura de planta sin diferencias con el control en 12 mmol y frente a las plantas más bajas con SN de 4 mmol, es decir, que a menor concentración de N en la SN, menor efectividad mostró la aplicación de B2. La interacción existente entre B-SN demostró que la aplicación de B1 fue más eficaz con 4mmol, ya que promovió el crecimiento en altura de las plantas.

La diferente concentración de nitrógeno en la solución nutritiva, alteró la altura, el número de hojas, el peso fresco, el peso seco y la CRC (valores SPAD). Para el caso de la altura y el número de hojas, cada ambos parámetros fueron mayores a mayor concentración de nitrógeno.

En lo demás, las plantas fueron más pesadas a mayor concentración de nitrógeno, al igual que ocurre con los valores SPAD, en este caso, por la relación existente entre el contenido de nitrógeno y el contenido relativo de clorofila en hoja (Saint et al. 1998).

En el número de hojas, el peso fresco, el área foliar y la clorofila, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos bacterianos. Pero en el número de hojas se dio interacción B-SN (Fig. 6.4), donde el mayor valor lo alcanzó el 12B2, disminuyendo un 11.75%, dicho valor, en 12C y un 17.39% en 12B1. En la aplicación de la solución 4mmol N, el mayor valor lo alcanzó el 4C. La aplicación de B2 interaccionó con SN, provocando un aumento de número de hojas en SN de 12mmol, mientras que la aplicación de la misma bacteria, en SN de menor concentración de N (4 mmol) produjo el efecto contrario, mostrando el menor valor de este parámetro. Este hecho demostraría, que B2 potenció su efecto en la SN de mayor concentración de N.

En peso seco, los nitratos y los oxalatos no se mostraron diferencias significativas entre tratamientos bacterianos ni soluciones nutritivas. Pero en el peso seco se dio interacción B-SN (Fig 6.4), donde el mayor valor lo alcanzo el 12B2, disminuyendo un 19.23%, dicho valor, en 12C y un 38.46% en 12B1. En la aplicación de la solución 4mmol N, el mayor valor lo alcanzó el 4B1, disminuyendo un 10%, dicho valor, en 4C y un 45% en 4B2. La aplicación de B2 interaccionó con SN, provocando un aumento del peso seco en SN de 12mmol, mientras que la aplicación de la misma

Proyecto fin de carrera

bacteria, en SN de menor concentración de N (4 mmol) produjo el efecto contrario, mostrando el menor valor de este parámetro. Este hecho demostraría, que B2 potenció su efecto en la SN de mayor concentración de N. La aplicación de B1 interaccionó con SN, provocando un aumento del peso seco en SN de 4mmol, mientras que la aplicación de la misma bacteria, en SN de mayor concentración de N (12 mmol) produjo el efecto contrario, mostrando el menor valor de este parámetro. Este hecho demostraría, que B1 potenció su efecto en la SN de menor concentración de N, al contrario que ocurrió con B2. Cada bacteria potencia su efecto a diferentes concentraciones de N en la SN.

La tabla 6.20 representa el análisis de las interacciones entre los distintos tratamientos. La interacción bacteria-solución nutritiva, sólo se dio en la altura, el número de hojas y el peso seco.

Tabla 6.20.-Interacciones entre los distintos tratamientos.

| Interacciones | Altura (cm) | NºHojas | P.Fresco (g) | Área Foliar (cm ²) | P.Seco (g) | Clorofila (SPAD) | Nitratos (mg/kg) | Oxalatos (mg/kg) |
|---------------|-------------|---------|--------------|--------------------------------|------------|------------------|------------------|------------------|
| B-SN | *** | *** | n.s. | n.s. | * | n.s. | n.s. | n.s. |

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

B(Bacteria) y SN(Solución Nutritiva)

En la Figura 6.4 se representan las gráficas en la que se observan la interacción B-SN con la Altura, el Número de Hojas y el Peso Seco.

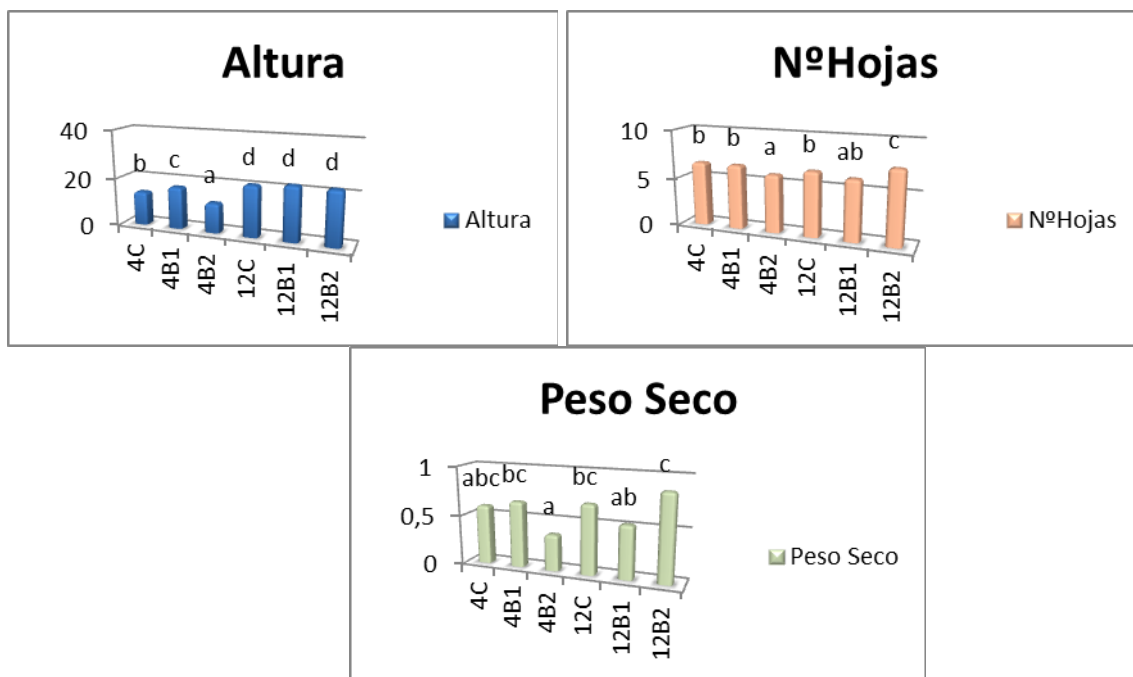


Figura 6.4. Interacciones B-SN con Altura, NºHojas y Peso Seco B(Bacterias) y SN (Solución Nutritiva)

🌱 Experiencia 2

Los resultados obtenidos en *Nasturtium officinale* tipo “baby leaf”, cultivado en bandejas flotantes con 4 y 12 mmol N y la aplicación de rizobacterias promotoras del crecimiento (*Bacillus subtilis*(B1) y *Bacillus velezensis*(B2)), sobre la altura, nº de hojas, área foliar, Contenido relativo de Clorofila (CRF) en valores SPAD, peso fresco, peso seco, nitratos y oxalatos, se muestran en la Tabla 6.21:

Proyecto fin de carrera

Tabla 6.21.-Resultados productivos para el berro

| Tratamientos | Altura (cm) | NºHojas | P.Fresco (g) | Área Foliar (cm ²) | P.Seco (g) | Clorofila (SPAD) | Nitratos (mg/kg) | Oxalatos (mg/kg) |
|------------------------|-------------|---------|--------------|--------------------------------|------------|------------------|------------------|------------------|
| Bacterias (B) | | | | | | | | |
| B1 | 12.18 a | 7.41 a | 5.3 | 45.55 | 0.27 a | 40.22 | 279.61 | 3.76 |
| B2 | 11.43 a | 7.89 b | 6.41 | 60.43 | 0.35 b | 38 | 224.64 | 3.82 |
| C | 13.88 b | 8.01 b | 7.18 | 61.79 | 0.3 ab | 37.33 | 203.16 | 3.85 |
| p-value | *** | * | n.s. | n.s. | * | n.s. | n.s. | n.s. |
| Sol.Nutrit.(SN) | | | | | | | | |
| 4mmol N | 13.18 b | 8.09 b | 6.92 | 59.42 | 0.28 a | 36.2 a | 173.56 a | 3.89 |
| 12mmol N | 11.84 a | 7.44 a | 5.66 | 52.42 | 0.33 b | 40.84 b | 298.05 b | 3.73 |
| p-value | *** | *** | n.s. | n.s. | * | *** | * | n.s. |

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

B1 (*Bacillus subtilis*), B2 (*Bacillus velezensis*) y C (control)

En la altura se observaron diferencias significativas entre los berros tratados con B2 y los control, siendo de mayor altura las plantas control frente a las B1 y B2, sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas entre los dos tipos de bacterias. Existieron diferencias significativas entre soluciones nutritivas, siendo sorprendentemente los berros con solución nutritiva 4mmol N los que mayor crecimiento tuvieron. La aplicación de bacterias no influyó en el crecimiento, ya que las que mayor altura alcanzaron fueron las control; y también las que mayor número de hojas tuvieron.

En el número de hojas se observaron diferencias significativas entre B1 y B2, mostrando más hojas las plantas control, sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas entre los berros tratados con B2 y los control. Existieron diferencias significativas entre soluciones nutritivas, siendo sorprendentemente los berros con solución nutritiva 4mmol N los que mayor numero de hojas tuvieron.

En el peso seco se observaron diferencias significativas entre los dos tipos de bacterias, sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas entre los berros tratados con B1 y los control, ni entre los berros tratados con B2 y los control. Existieron diferencias significativas entre soluciones nutritivas, siendo los berros con solución nutritiva 12mmol N los que mayor peso seco tuvieron. El peso se vio modificado por la aplicación de bacterias, siendo más pesadas las tratadas con B2.

En cuanto al CRC y los nitratos, se observaron diferencias significativas entre soluciones nutritivas, siendo, en ambos casos, los berros con solución nutritiva de 12mmol N, los que mayor valor obtuvieron. Estos resultados coincidirían con un estudio realizado de lechuga en bandeja flotante, donde se observó una reducción clara del contenido de nitratos en hoja, en las lechugas tratadas con 4Mmoles N debido a la menor aplicación de nitrógeno en la solución nutritiva (Balanza et al., 2011).

La diferente concentración de nitrógeno en la solución nutritiva, alteró la altura, el número de hojas, el peso fresco, el peso seco y la CRC (valores SPAD). Para el caso de la altura y el número de hojas, cada ambos parámetros fueron mayores a menor concentración de nitrógeno.

En lo demás, las plantas fueron más pesadas a mayor concentración de nitrógeno, al igual que ocurre con los valores SPAD, en este caso, por la relación existente entre el contenido de nitrógeno y el contenido relativo de clorofila en hoja (Saint et al. 1998).

En el peso seco se dio interacción B-SN (Fig. 6.5) donde el mayor valor lo alcanzo 12B2, disminuyendo un 25%, dicho valor, en 12C y un 25% en 12B1. En la aplicación de la solución

Proyecto fin de carrera

4mmol N, el mayor valor lo alcanzaron 4C y 4B2, disminuyendo un 22.22%, dicho valor, en 4B1. La aplicación de B2 interaccionó con SN, provocando un aumento del peso seco en SN de 12mmol, mientras que la aplicación de la misma bacteria, en SN de menor concentración de N (4 mmol) produjo el efecto contrario, mostrando el menor valor de este parámetro. Este hecho demostraría, que B2 potenció su efecto en la SN de mayor concentración de N, al igual que ocurre en las interacciones anteriores.

En cuanto al peso fresco, el área foliar y los oxalatos, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos bacterianos, ni soluciones nutritivas.

En cuanto a la clorofila y los nitratos, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos bacterianos.

La tabla 6.22 representa el análisis de las interacciones entre los distintos tratamientos. La interacción bacteria-solución nutritiva, sólo se dio en el peso seco.

Tabla 6.22.-Interacciones entre los distintos tratamientos.

| Interacciones | Altura (cm) | NºHojas | P.Fresco (g) | Área Foliar (cm ²) | P.Seco (g) | Clorofila (SPAD) | Nitratos (mg/kg) | Oxalatos (mg/kg) |
|---------------|-------------|---------|--------------|--------------------------------|------------|------------------|------------------|------------------|
| B-SN | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | ** | n.s. | n.s. | n.s. |

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

B(Bacteria) y SN(Solución Nutritiva)

En la Figura 6.5 se representan las gráficas en la que se observan la interacción B-SN con el Peso Seco.

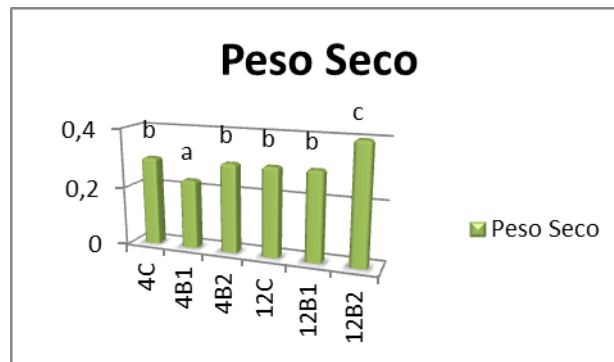


Figura 6.5. Interacciones B-SN con Peso Seco B(Bacterias) y SN (Solución Nutritiva)

🚧 Parte radical

🌱 Experiencia 1

Se analizaron las raíces en función del tipo de tratamiento y de las dos soluciones nutritivas y se obtuvieron los siguientes resultados, en cuanto a longitud, volumen, área, diámetro y diferentes intervalos de longitud, comprendidos entre 0 y 4.5cm (tabla 6.23):

Proyecto fin de carrera

Tabla 6.23.- Resultados obtenidos en los análisis de las raíces de la primera experiencia.

| Tratamientos | Longitud (cm) | Volumen (cm ³) | Área (cm ²) | Diámetro (mm) | 0<L≤0.5 | 0.5<L≤1 | 1<L≤1.5 |
|------------------------|-------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|
| Bacterias (B) | | | | | | | |
| B1 | 1402.42 | 0.67 | 109.2 | 0.74 | 812.69 | 352.25 | 111.36 |
| B2 | 1039.45 | 0.59 | 88.19 | 0.82 | 590.57 | 247.69 | 89.86 |
| C | 1366.96 | 0.71 | 110.43 | 0.77 | 777.69 | 348.19 | 114.37 |
| p-value | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| Sol.Nutrit.(SN) | | | | | | | |
| 4mmol N | 1809.89 b | 1.01 b | 151.63 b | 0.82 b | 1009.19 b | 458.18 b | 157.94 b |
| 12mmol N | 729.32 a | 0.32 a | 53.58 a | 0.73 a | 444.76 a | 173.91 a | 52.45 a |
| p-value | *** | *** | *** | * | *** | *** | *** |
| Tratamientos | 1.5<L≤2 | 2<L≤2.5 | 2.5<L≤3 | 3<L≤3.5 | 3.5<L≤4 | 4<L≤4.5 | L>4.5 |
| Bacterias (B) | | | | | | | |
| B1 | 46.74 | 26.91 | 13.7 | 12.12 | 8.07 | 5.79 | 12.88 |
| B2 | 38.19 | 23.23 | 12.77 | 9.76 | 7.35 | 4.88 | 15.15 |
| C | 45.51 | 26.6 | 13.22 | 11.09 | 7.76 | 5.85 | 16.66 |
| p-value | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| Sol.Nutrit.(SN) | | | | | | | |
| 4mmol N | 64.49 b | 38.69 b | 20.05 b | 17.97 b | 11.97 b | 8.24 b | 24.03 b |
| 12mmol N | 22.47 a | 12.46 a | 6.42 a | 4.88 a | 3.44 a | 2.77 a | 5.75 a |
| p-value | *** | *** | *** | *** | *** | *** | *** |

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

B1 (*Bacillus subtilis*), B2 (*Bacillus velezensis*) y C (control)

En cuanto a los caracteres morfológicos de la parte radical, la aplicación de bacterias no influyo para nada en el crecimiento y desarrollo de las raíces, ya que las que mayor tamaño y longitud alcanzaron fueron las control.

Al aplicar una u otra solución nutritiva, se vieron diferencias significativas en todas las variables estudiadas, siendo en todas ellas, las raíces con solución nutritiva de 4 mmol N, las que mayor valor alcanzaron.

La tabla 6.24 representa el análisis de las interacciones entre los distintos tratamientos. La interacción bacteria-solución nutritiva, no se dio en ninguno de los casos.

Tabla 6.24.-Interacciones entre los distintos tratamientos

| Interacciones | Longitud (cm) | Volumen (cm ³) | Área (cm ²) | Diámetro (mm) | 0<L≤0.5 | 0.5<L≤1 | 1<L≤1.5 |
|----------------------|-------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|
| B-SN | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| Interacciones | 1.5<L≤2 | 2<L≤2.5 | 2.5<L≤3 | 3<L≤3.5 | 3.5<L≤4 | 4<L≤4.5 | L>4.5 |
| B-SN | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |

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

B(Bacteria) y SN(Solución Nutritiva)

Experiencia 2

Se analizaron las raíces en función del tipo de tratamiento y de las dos soluciones nutritivas y se obtuvieron los siguientes resultados, en cuanto a longitud, volumen, área, diámetro y diferentes intervalos de longitud, comprendidos entre 0 y 4.5cm (tabla 6.25):

Proyecto fin de carrera

Tabla 6.25.- Resultados obtenidos en los análisis de las raíces de la primera experiencia.

| Tratamientos | Longitud (cm) | Volumen (cm ³) | Área (cm ²) | Diámetro (mm) | 0<L≤0.5 | 0.5<L≤1 | 1<L≤1.5 |
|------------------------|-------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|
| Bacterias (B) | | | | | | | |
| B1 | 288.59 | 0.41 | 18.8 | 0.68 | 87.15 a | 77.35 | 20.26 |
| B2 | 235.41 | 0.36 | 18.98 | 0.71 | 188.13 b | 67.57 | 22.84 |
| C | 223.98 | 0.49 | 17.99 | 0.63 | 217.69 b | 68.77 | 24.22 |
| p-value | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | * | n.s. | n.s. |
| Sol.Nutrit.(SN) | | | | | | | |
| 4mmol N | 238.27 | 0.21 a | 22.31 | 0.69 | 180.8 | 76.25 | 27.48 b |
| 12mmol N | 260.4 | 0.62 b | 14.87 | 0.66 | 147.85 | 66.21 | 17.4 a |
| p-value | n.s. | * | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | ** |
| Tratamientos | 1.5<L≤2 | 2<L≤2.5 | 2.5<L≤3 | 3<L≤3.5 | 3.5<L≤4 | 4<L≤4.5 | L>4.5 |
| Bacterias (B) | | | | | | | |
| B1 | 8.48 | 6.71 | 2.89 | 1.97 | 1.61 | 0.5 | 0.92 |
| B2 | 8.01 | 5.47 | 2.44 | 1.61 | 1.17 | 0.77 | 0.06 |
| C | 7.51 | 4.36 | 2.29 | 1.56 | 0.49 | 0.43 | 0.49 |
| p-value | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| Sol.Nutrit.(SN) | | | | | | | |
| 4mmol N | 8.89 | 6.4 b | 2.86 | 1.69 | 1.26 | 0.57 | 0.72 |
| 12mmol N | 7.1 | 4.42 a | 2.22 | 1.74 | 0.92 | 0.56 | 0.92 |
| p-value | n.s. | * | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |

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

B1 (*Bacillus subtilis*), B2 (*Bacillus velezensis*) y C (control)

En la longitud se dio interacción B-SN (Fig. 6.6). El mayor valor lo alcanzó el 4B1, disminuyendo un 71.5%, dicho valor, en 4C y un 47.91% en 4B2. En la aplicación de la solución 12mmol N, el mayor valor lo alcanzó el 12C, disminuyendo un 45.87%, dicho valor, en 12B1 y un 21.03% en 12B2. La aplicación de B1 interaccionó con SN, provocando un aumento de la longitud de las raíces en SN de 4mmol, mientras que la aplicación de la misma bacteria, en SN de mayor concentración de N (12 mmol) produjo el efecto contrario, mostrando el menor valor de este parámetro. Este hecho demostraría, que B1 potenció su efecto en la SN de menor concentración de N.

En la longitud comprendida entre $0 < L \leq 0.5$, se observaron diferencias significativas entre los dos tipos de bacterias, sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas entre las tratadas con B2 y las control. La longitud comprendida entre $0 < L \leq 0.5$, fue 53% menor con B1, menos de la mitad de la longitud obtenida con B2.

En el resto de variables, las diferencias que hubo entre aplicar una u otra bacteria y el control son no significativas.

Al aplicar una u otra solución nutritiva, se vieron diferencias significativas en el volumen, en la longitud comprendida entre $1 < L \leq 1.5$ y en la comprendida entre $2 < L \leq 2.5$, siendo en las dos longitudes, las raíces con solución nutritiva de 4 mmol N, las que mayor valor alcanzaron; mientras que, en el caso del volumen, fueron las de 12 mmol N.

En el resto de variables, no se observaron diferencias significativas al aplicar una u otra solución nutritiva.

La tabla 6.26 representa el análisis de las interacciones entre los distintos tratamientos. La interacción bacteria-solución nutritiva, sólo se dio en la longitud.

Proyecto fin de carrera

Tabla 6.26.-Interacciones entre los distintos tratamientos.

| Interacciones | Longitud (cm) | Volumen (cm ³) | Área (cm ²) | Diámetro (mm) | 0<L≤0.5 | 0.5<L≤1 | 1<L≤1.5 |
|----------------------|-------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|
| B-SN | * | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| Interacciones | 1.5<L≤2 | 2<L≤2.5 | 2.5<L≤3 | 3<L≤3.5 | 3.5<L≤4 | 4<L≤4.5 | L>4.5 |
| B-SN | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |

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

B(Bacteria) y SN(Solución Nutritiva)

En la Figura 6.6 se representan las gráficas en la que se observan la interacción B-SN con la Longitud.

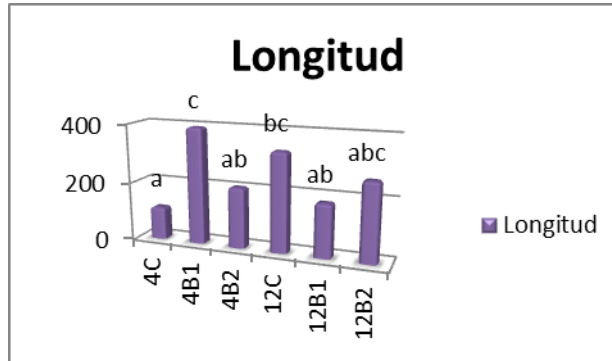


Figura 6.6. Interacciones B-SN con Longitud
B(Bacterias) y SN (Solución Nutritiva)

7. CONCLUSIONES

A la vista de los resultados expuestos anteriormente podemos extraer las siguientes conclusiones del estudio realizado:

- 1.- El crecimiento de la parte aérea de las variedades de lechuga *Ganeria* y *Diveria* se ve afectada por la estación de cultivo; en la primera experiencia, Abril-Mayo, *Diveria* alcanzó mayor longitud que *Ganeria*, mientras que en la segunda experiencia, Mayo-Junio, ocurrió lo contrario. Ocurre lo mismo con la parte radical que con la parte aérea. Por lo que sería más aconsejable utilizar una variedad para cada época del año.
- 2.- El crecimiento de la parte aérea del *Berro* también difiere dependiendo del mes en que se realizó la experiencia, obteniéndose plantas más altas en la primera, pero con menor número de hojas, y en el caso de plantas cuya importancia económica se basa en sus hojas, la disminución del número de éstas puede provocar una pérdida importante de calidad y producción. Pero en la segunda experiencia, se obtuvieron plantas más bajas, pero con mayor número de hojas, por lo que en estas experiencias, se obtuvieron plantas con mejor calidad para la cuarta gama. Esto nos indica, que el berro es mejor cultivarlo a partir de Mayo, de cara al verano, para que de plantas de mejor calidad.
- 3.- La aplicación de *Bacillus subtilis* indujo el crecimiento de la parte aérea de las dos variedades de lechuga (*Ganeria* y *Diveria*) y del berro; por otro lado la aplicación de *Bacillus velezensis* mantuvo un crecimiento igual o menor que las plantas control..
- 4.- La solución nutritiva de 4mmol de N, mostró el mejor comportamiento agronómico, ya que se obtuvieron plantas más altas, mayor rendimiento de cultivo y menor concentración de nitratos; a excepción del berro del primer ensayo.
- 5.- Teniendo en cuenta los dos apartados anteriores, se puede concluir la combinación de que sería más efectivo aplicar *Bacillus subtilis* con la SN de 4mmol para obtener una mejor efectividad en el crecimiento y desarrollo del cultivo., para ambas especies.

8. BIBLIOGRAFÍA

Conesa E., Lara L.J., Niñirola D., Ochoa J., Fernández J.A. (2009). Efecto de la dosis de nitrógeno sobre el desarrollo y el contenido de nitratos y oxalatos en colleja cultivada en bandejas flotantes. Libro de resúmenes de las III Jornadas del Grupo de Fertilización de la SECH.

Cros V., Nicola S., Fernández J.A., Martínez J.J., Carreño S. (2003). Cultivo de hortalizas en bandejas flotantes: Sistema de riego y control de la solución nutritiva. *Agrícola Vergel* 268: (20-26).

Cros, V., Martínez-Sánchez J.J. Franco, J.A. (2007). Good yields of common purslane with a high fatty acid content can be obtained in a peat-based floating system. *HortTechnology*. 17 (1): (14-20)

Cross, V. 2007. El cultivo de la verdolaga (*Portulaca oleracea* L.) en bandejas flotantes. Aspectos de producción y calidad de las plantas. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Cartagena. 292 p.

Fernández, J.A., Navarro, A., Vicente, M.J., Peñapareja, D. y Plana, V. (2007). Effect of seed germination methods on seedling emergence and earliness of - 75 – purslane (*Portulaca oleracea* L.) cultivars in a hydroponic floating system. *Acta Horticulturae*. 747: (571-578).

Fernández, J.A., Niñirola, D., Vicente, M.J., Conesa, E., López, J., González, A. (2007). Efecto de la densidad de plantación y del tipo de sustrato sobre la producción de verdolaga (*Portulaca oleracea* L.) en un cultivo hidropónico de bandejas flotantes. XXXVII Seminario de Técnicos y Especialistas en Horticultura. Almería, Noviembre de 2007.

Fernández, J.A., Peñapareja, D., Conesa, E., Martínez, J.A. (2006). Producción de colleja (*Silene vulgaris* (Moench) Garcke) en bandejas flotantes para su adaptación como producto “baby leaf”. *Actas de Horticultura* 46: (62-65).

Fontana, E., Nicola, S., Hoeberechts, J., Saglietti, D. (2003). Soilless culture systems produce ready-to-eat corn salad (*Valerianella olitoria* L.) of high quality. *Acta Horticulturae*, 604. 505-509.

Fontana E., Nicola S., Hoeberechts J., Saglietti D., Piovano G. (2004). Managing traditional and soilless culture systems to produce corn salad (*Valerianella olitoria*) with low nitrate content and lasting postharvest shelf-life. *ISHS Acta Horticulturae* 659.

Fontana, E. Nicola, S. (2008). Producing garden cress (*Lepidium sativum* L.) for defresh-cut chain using a soilless culture system. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*. 83 (1): (23-32).

Galloway B.A., Monks D.W., Schultheis J.R., (1996). Effect of herbicides on pepper transplants produced using various irrigation systems. Dept. of Horticultural Science. North Carolina University. 323-332.

Gonnella M., Conversa G., Santamaria P., Serio F. (2004). Production and nitrate content in lamb's lettuce grown in floating system. *Acta Hort*. 644. 61-68.

Gonnella M. y Serio D. (2003). Yield and quality of lettuce grown in floating system using different sowing density and plant spatial arrangements. *Acta Hort*. 614. 687-690.

Proyecto fin de carrera

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.

Kara Y. (2006). Bioaccumulation of Cu, Zn and Ni from the wastewater by treated *Nasturtium officinale*. International Journal of Environment Science and Technology. Vol. 2, Num. 1, 2005-2006. 63-67

Li, M., Wu, Y., Liang, Z., Guo-Ping, Y., Yu, H., 2007. Nitrogen removal from eutrophic water by floating-bed grown water spinach (*Ipomoea aquatica* Forsk.) with ion implantation. Water research 41:3152-3158

Liu W., Chen D. 2010. *Bacillus subtilis* for salt stress relief in vegetable cultivation. Acta Hort. 856: 237-242.

Meletti N. (2006). L'innovazione di prodotto in orticoltura: il caso della IV gamma. Tesis doctoral. (www.tesionline.com).

Ozturk F., Duman F., Leblebici Z., Temizgul R. (2010). Arsenic accumulation and biological responses of watercress (*Nasturtium officinale* R. Br.) exposed to arsenite. Environmental and Experimental Botany 69. 167-174.

Resh H.M. (2001). Cultivos hidropónicos, nuevas tecnologías de producción. Editorial Mundi-Prensa, 5ª edición. Madrid.

Santamaria, P., Elia, A., Gonnella, M., Serio, F., Todazo, E. (1997). I fattori che influenzano l'accumulo dei nitrati negli ortaggi. L'Informatore agrario 40. 117-121.

Santamaria, P. 2006. Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation. J. Sci. Food Agric. 86: 10-17.

Urrestarazu M. (2004). Tratado de cultivo sin suelo. Editorial Mundi-Prensa, 3ª edición. Madrid.

Virginia Balanza, Diana Niñirola, Juan A. Martínez, Encarna Conesa, Juan A. Fernández. Aplicación de rizobacterias para mejorar el rendimiento, calidad y contenido de nitratos en el cultivo de lechuga "baby leaf" en bandejas flotantes. Departamento de Producción Vegetal. Universidad Politécnica de Cartagena.

Williams, D.J., Critchley, C., Punb, S., Chalihab, M., O'Harec, T.J. (2009). Differing mechanisms of simple nitrile formation on glucosinolate degradation in *Lepidium sativum* and *Nasturtium officinale* seeds. Phytochemistry. 70. 1401-1409.

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.

Yazdanparast R., Bahramikia S., Ardestani A. (2008). *Nasturtium officinale* reduces oxidative stress and enhances antioxidant capacity in hypercholesterolaemic rats. Chemico-Biological Interactions. 176-184.

Páginas webs consultadas:

www.infoagro.com
www.fraisoro.net/articulos
www.infojardin.com
www.florescomestibles.com
www.joseppamies.wordpress.com
www.gourmetymerlin.blogspot.com
www.fruittoday.com
www.poscosecha.com
www.kernelexport.es
www.sanafood.es
www.guiadeprensa.com
www.fepex.es
www.agrodigital.com
www.fao.org
www.foodsafety.gov
www.tierra.rediris.es
www.icia.es
www.es.wikipedia.org