

75526

DIEZ, OSVALDO JULIAN

Realización y validación de pruebas de carga (tesis en línea), producido por DSI.

2016 **75526**



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA



Tesis para optar por el grado de
Magister en Inocuidad y Calidad de Alimentos

Rendimiento y calidad higiénico sanitaria de lechuga
(*Lactuca sativa* L.), producida con biofertilizantes en una
huerta de la ciudad de Río Cuarto

Med. Vet. Osvaldo Julián Diez

Río Cuarto, 2016

1350

MF
Class:
T- 1062

73526



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

Rendimiento y Calidad Higiénico-Sanitaria de Lechuga (*Lactuca sativa* L.), producida con
biofertilizantes en una huerta de la ciudad de Río Cuarto

.....
Médico Veterinario Osvaldo Julián Díez
Maestrando

.....
Dra. Daniela Mónica Lombardo
Directora

.....
Dra. Susana Beatriz Rosas
Co-Directora

Jurado

.....
Mgter. José Marcellino

.....
Mgter. Teresa Batle

.....
Dra. Marisa Rovera



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA

Dedicatorias

Agradezco a Dios y A Meishu Sama por iluminarme y bendecirme en cada etapa, por brindarme estímulo y conocimiento durante el desarrollo de mi carrera.

A mi Madre ofreciéndome toda la confianza para estudiar siempre y a mi Padre que con su honesto accionar me ayudo a ser perseverante y autónomo, para formarme y educarme. Por ello estaré agradecido eternamente.

A mi esposa e hijos por la comprensión, el Amor y contención generosamente recibida.

A mi Hermana María Julia Diez Vda de Parruccia por el apoyo espiritual de siempre.

A mis hermanos por creer incondicionalmente en mí, por el apoyo silencioso.

A todas las personas que desde niño me concedieron la oportunidad de trabajar para lograr los recursos económicos y proseguir con mis estudios.

A la educación pública y en especial a esta universidad por haberme brindado los cimientos y preparación necesaria para poder desarrollarme como profesional y evolucionar como ser humano.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

Agradecimientos

Al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), al Programa Pro Huerta y a la Universidad Nacional de Río Cuarto (UNRC) por el apoyo a través de las Facultades de Agronomía y Veterinaria y Ciencias Exactas Físico Químicas y Naturales por el uso de sus laboratorios y el suministro de los biofertilizantes producidos y desarrollados a través del proyecto PICT-Start Up N° 01868/07.

A mis compañeros de trabajo de la UNRC MsC. Rubén Alberto Davicino, Mgter. Rosendo Anibal Liboa, Dra. Myrian Chassagnade, M.V Maria Eugenia Ortiz por todos los conocimientos ofrecidos y el incondicional apoyo brindado.

A mis compañeros de trabajo de INTA Ing. Agr. Lucas Segura por gestionar los recursos económicos para desarrollar la tesis, a Ing. Agr. Laura Tamiozzo, Ing. Agr. Alejandro Salomon, por la colaboración y aportes realizados periódicamente.

A mi directora y co-directora de tesis, Dra. Daniela Lombardo y Dra. Susana Beatriz Rosas, por su colaboración, apoyo, guía y contribuir con sus conocimientos.

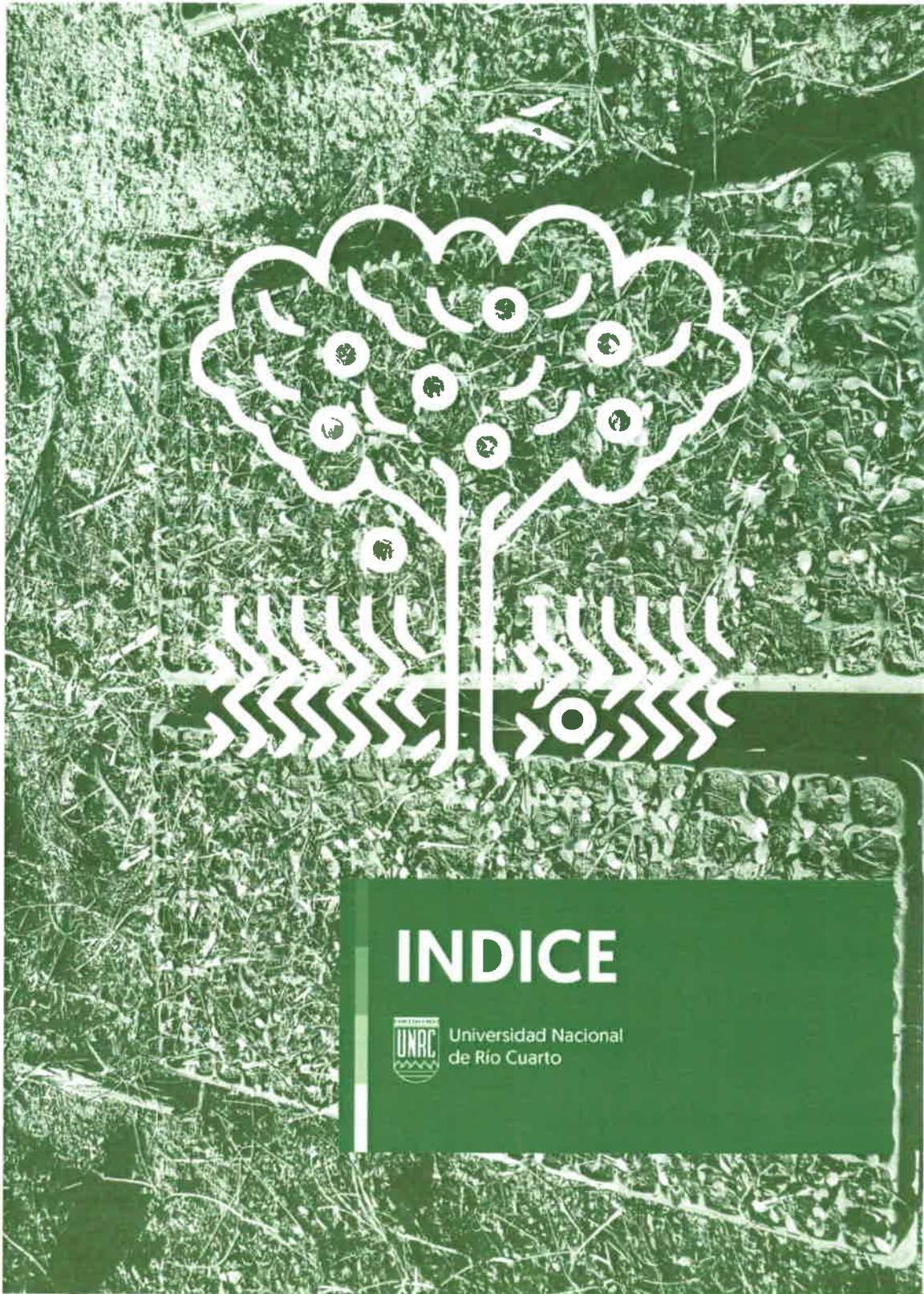
Al Microbiólogo Carlos Bettera que me ayudó a diseñar el experimento.

Al Dr. Eduardo Soler y M. V. Bernardo Sobrecasas por la ayuda para la comprensión de los datos estadísticos.

Al Estudiante de Agronomía Rodrigo Docampo por ayudarme en las tareas de campo.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA



INDICE



Universidad Nacional
de Río Cuarto



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA

INDICE	Pág.
Índice de Tablas	i
Índice de Gráficos	ii
Índice de Figuras	iii
Nomenclaturas	iv
Resumen	v
Summary	vi
CAPITULO 1.- INTRODUCCIÓN	
Introducción	1
1.1.- Agricultura familiar y producción de hortalizas agroecológicas	1
1.2.- Producción agroecológica	3
1.3.- Programa Pro-Huerta	6
1.4.- La lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.)	7
1.4.1.- Consumo y valor nutritivo	8
1.4.2.- Clima y suelo	9
1.4.2.1.- Requerimientos de temperatura (T ^a)	9
1.4.2.2.- Requerimientos nutricionales	10
1.5.- Cultivo	12
1.5.1.- Caracterización de la planta	12
1.5.2.- Siembra	13
1.5.3.- Labores culturales	14
1.5.4.- Principales plagas y enfermedades	14
1.6.- Cosecha	15
1.7.- Producción sustentable y sin riesgo	15
1.8.- Contaminación de vegetales frescos	16



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA

1.9.- Inocuidad alimentaria	17
1.10.- Tecnologías agroecológicas y nuevos desafíos	19
1.10.1.- Enmiendas orgánicas	20
1.10.2.- Biofertilizantes	20
1.10.2.1.- Microorganismos biofertilizantes y sus mecanismos de acción	22
1.10.2.2.- Biofertilizantes en el control de enfermedades y plagas	26
CAPITULO 2.- HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	
Hipótesis y Objetivos	27
2.1.- Hipótesis	27
2.2.- Objetivos generales	27
2.3.- Objetivos específicos	27
CAPITULO 3.- MATERIALES Y MÉTODOS	
Materiales y Métodos	28
3.1.- Referencias, datos climáticos y localización del ensayo	28
3.2.- Antecedentes de la huerta	29
3.3.- Diseño de la investigación	31
3.4.- Manejo del cultivo	33
3.4.1.- Elaboración de almácigos (speedling)	33
3.4.2.- Caracterización de los plantines en almácigos (speedling)	36
3.4.3.- Trasplante de plantines y aplicación de tratamientos	37
3.4.4.- Preparación e incorporación de biofertilizantes en trasplante y labores culturales	38
3.4.5.- Crecimiento y desarrollo	40
3.4.5.1.-Medición longitud de hojas	40
3.5.- Cosecha	41



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA

3.5.1.- Toma de muestras	41
3.6.- Análisis de las muestras	41
3.6.1.- Rendimiento final	41
3.6.1.1.- Determinación de peso fresco	41
3.6.1.2.- Medición de volumen de hojas y raíces	42
3.6.1.3.- Medición de pérdida de peso pos cosecha	43
3.6.2.- Determinaciones químicas	44
3.6.2.1.- Contenido de nutrientes y pH	44
3.6.2.2.- Sólidos solubles	44
3.6.3.- Determinaciones microbiológicas	45
3.6.3.1.- Recuento de aerobios mesófilos viables totales en sustrato de plantines	45
3.6.3.2.- Recuentos microbiológicos en área foliar	45
3.6.3.2.1- Recuentos de: a) microorganismos aerobios y anaerobios facultativos mesófilos, viables y totales b) coliformes totales y presencia/ausencia de <i>Escherichia coli</i> . y c) hongos y levaduras.	45
3.6.3.2.2- Presencia/ausencia de <i>Salmonellas</i> spp.	45
3.6.3.2.3- Presencia/ausencia de endofíticos <i>Azospirillum</i> spp. y <i>Pseudomonas</i> spp.	46
3.7.- Análisis estadístico	47
CAPITULO 4.- RESULTADOS Y DISCUSION	
Resultados y Discusión	48
4.1.- Resultados físico-biométrico	48
4.1.1.- Longitud de hojas y raíces de plantines antes del trasplante	48
4.1.2.- Evolución de longitud de hojas desde el trasplante hasta cosecha	50
4.1.3.- Peso fresco de la planta a cosecha	51



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA

4.1.4.- Volúmenes de plantas, áreas foliares y radicales a cosecha	54
4.1.5.- Evaluación de la pérdida de peso pos cosecha en ambiente natural	59
4.1.6.- Evaluación de la pérdida de peso en refrigerador	60
4.1.7.- Comparativo de pérdidas de peso según ambientes	63
4.2.- Resultados de los estudios químicos	64
4.2.1.- Contenido en nutrientes y pH	64
4.2.2.- Contenido de sólidos solubles	65
4.3.- Resultados microbiológicos.	68
4.3.1.- Recuento de aerobios mesófilos viables totales en sustrato de plantines antes del trasplante	68
4.3.2.- Recuento de aerobios mesófilos viables totales, coliformes totales y <i>Escherichia coli</i> , presencia de <i>Salmonella</i> spp. hongos y levaduras en muestras de lechuga	68
4.3.3.- Recuento de bacterias endofíticas	71
CAPITULO 5.- CONCLUSIONES	
Conclusiones	72
CAPÍTULO 6.- BIBLIOGRAFÍA	
Bibliografía	73



INDICE DE TABLAS

Tabla N° 1 Registro de precipitaciones pluviales y valores promedios de: temperaturas, humedad relativa ambiente y radiación solar (pág. 29).

Tabla N° 2 Valores registrados del análisis de muestras de suelo antes del comienzo del ensayo (pág. 31).

Tabla N° 3 Valores obtenidos del análisis de muestras de humus antes del comienzo del ensayo (pág. 31).

Tabla N° 4 Diferencias de peso promedio en gramos entre los tratamientos T_1 , T_2 , T_3 y T_4 (pág. 52).

Tabla N° 5 diferencias de volumen promedio en cm^3 entre los tratamientos T_1 , T_2 , T_3 y T_4 (pág. 55).

Tabla N° 6 Análisis de la varianza para volumen total de la planta a cosecha. (pag.57).

Tabla N° 7 Test: LSD Fisher para volumen total de la planta a cosecha con Alfa= 0, 05 DMS=69, 77101 Error: 1902, 5438 gl: 9 (pag.57).

Tabla N° 8 Análisis de la varianza para volumen del área foliar a cosecha cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III) (pag.57).

Tabla N° 9 Test: LSD Fisher para Volumen del área foliar a cosecha con Alfa= 0, 05 DMS=68, 96475 Error: 1858,8270 gl: 9 (pag.58).

Tabla N° 10 Análisis de la varianza para Volumen del área radical a cosecha Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III) (pag.58).

Tabla N° 11. Promedios de sólidos solubles expresados en ° Brix (pág. 66).

Tabla N°12 Análisis de la varianza para contenido de sólidos solubles de la planta a cosecha (pág. 67).

Tabla N° 13 Test: LSD Fisher para contenido de solidos solubles de la planta a cosecha con Alfa=0,05 DMS=1,24331 Error: 0,6513 gl: 12 (pág. 67).

Tabla N° 14 Recuento de aerobios mesófilos viables totales en sustrato de plantines, antes del trasplante. (pág. 68).



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA

Tabla N° 15 Recuentos de microorganismos a partir de muestras de lechuga sin lavar (pág. 69).

Tabla N° 16 Recuentos de microorganismos a partir de muestras de lechuga lavada (pag.70).



ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1. Longitudes promedio de hojas y raíces de los plantines en speedling (pág.48).

Gráfico N° 2 Evolución de longitud de hojas desde trasplante hasta cosecha (pág.50).

Gráfico N° 3 Promedios de longitudes de hojas observadas en cosecha a los 92 días (pág.51).

Gráfico N° 4. Pesos promedios de plantas, hojas, y raíces (g) al momento de la cosecha (pág.52).

Gráfico N° 5 Pesos promedios en g de plantas a cosecha (pág.53).

Gráfico N° 6 Pesos promedios en g de hojas a cosecha (pág.53).

Gráfico N° 7 Pesos promedios en g de raíces a cosecha (pág.54).

Gráfico N° 8 Volúmenes promedios en cm³ de plantas, hojas y raíces a cosecha (pág.54).

Gráfico N° 9 Volúmen de planta, área foliar, y de raíz (cc) a cosecha (pág.56).

Gráficos N° 10. A. Evolución de pérdida de peso y B. porcentajes promedios de pérdidas de peso de plantas de lechuga en ambiente natural a los 2 días pos cosecha (pág.59).

Gráficos N° 11. A. Evolución de la pérdida de peso de lechuga en gramos y B. porcentaje de pérdida de peso de las muestras desde la cosecha en refrigerador al día 14 (pág.60).

Gráficos N° 12 A. Evolución de pérdida de peso promedio en gramos y B. porcentajes en frigorífico hasta el noveno día (pág.61).

Gráfico N° 13 Comparativo de pérdidas de peso promedio en g de muestras en ambiente natural al segundo día y en frigorífico a los 9 y 14 días pos cosecha (pág.64).

Gráfico N° 14. Contenido de nutrientes de muestras de lechuga a cosecha (pág.65).

Gráfico N° 15. A. Distribución en los diferentes tratamientos en ° Brix y B. porcentajes de los sólidos solubles (pág.66).



ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura N° 1: Huerta antes comenzar el ensayo (pág.30).
- Figura N° 2.- Esquema del ensayo, orientación y detalle del cantero (pág.33).
- Figura N° 3: Semillas Grand Rapid en su envase original (pág.34).
- Figura N° 4.- Preparación de speedling y nacimiento de plantines de lechuga (pág.35).
- Figura N° 5.-Aplicación de biofertilizantes al momento de trasplante (pág.39).
- Figura N° 6.- Cultivo de lechuga antes de la cosecha (pág.40).
- Figura N° 7.- Medición de longitud de hojas pre y post cosecha (pág.40).
- Figura N° 8: Recipiente para medición de volumen, canasto de escurrido y muestras de lechuga envasadas (pág.43).
- Figura N° 9: Muestras de lechuga observando pérdida de peso en ambiente natural (pág.43).
- Figura N° 10: Muestras de lechuga, observando pérdida de peso en refrigerador (pág.44).
- Figura N° 11: Plantines de lechuga en speedling preparados con distintos sustratos (pág.49).
- Figura N° 12 Muestras del área foliar y radical pertenecientes al T₃ (pág.55).
- Figura N° 13 - Muestras de lechuga en ambiente natural del Bloque I al día 1 y al día 2 (pág. 60).
- Figura N° 14 Muestra del T₁ en refrigerador a días: 1(1), 5 (2), 10 (3) y 14 (4) pos cosecha (pág.62).
- Figura N° 15 Conjunto de muestras en refrigerador de cada tratamiento al inicio de marchitez y caducidad para su consumo (pág.63).
- Figura N° 16 muestras preparadas e identificadas para análisis químico (pág.64).



NOMENCLATURAS

ATP: Adenosin Tri Fosfato.

HACCP: Análisis de Peligros y Control de Puntos Críticos.

BPA: Buenas Prácticas Agrícolas.

BPM: Buenas Prácticas de Manufactura.

°C: Grados Centígrados.

CAA: Código Alimentario Argentino.

CDC: Centers for Disease Control and Prevention.

CFSAN: Center for Food Safety and Applied Nutrition.

Cm: centímetro.

Cm³: centímetro cubico

EM: Microorganismos Efectivos.

ETAs: Enfermedades Transmitidas por Alimentos.

FAO: Food and Agriculture Organization.

FDA: Food and Drug Administration.

G: gramo.

HR: Humedad Relativa Ambiente.

ImyZA: Instituto de Microbiología y Zoología Agropecuaria.

INPPAZ: Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis.

INTA: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.

ISO: International Organization for Standarization.

Kg: Kilogramo.

M: metro.

M²: metro cuadrado.

MIP: Manejo Integrado de Plagas.

Ml: mililitro.

Mm: milímetros.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA

Nm: nanómetros.

NE: Noreste.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

PCC: Punto Crítico de Control.

PGP: Promotores del Crecimiento Vegetal.

PGPR: Plant Growth Promoting Rhizobacteria.

pH: potencial Hidrogeno.

PICT-Start Up: Proyectos de Investigación Científica y Tecnológica.

PRONAO: Programa Nacional de Producción Orgánica.

RAT: Recuento de microorganismos Aerobios y Anaerobios facultativos mesófilos viables Totales.

SENASA: Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria.

SIRVETA: Sistema de Información para la Vigilancia de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos.

SUH: Síndrome Urémico Hemolítico.

T^a: Temperatura.

TSB: caldo tripticasa soya.

UFC/g: Unidad Formadora de Colonias por gramo.

UI: Unidades internacionales.



Resumen

La FAO recomienda que los países produzcan el 75 % de sus alimentos y que lo hagan en sistemas sustentables. En ese marco, el programa Pro Huerta desarrollado por el INTA en Argentina, ha promocionado la producción agroecológica de productos hortícolas en el país, especialmente a nivel familiar. La agricultura familiar sustentable es un modelo mundial, económicamente conveniente y ecológicamente aceptable que considera utilizar los recursos locales existentes para incrementar la producción, empleando biofertilizantes, bioestimulantes y bioplaguicidas para los cultivos. Se plantea producir alimentos agroecológicos que permitan ser consumidos de manera segura e inocua. Para ello, se procedió a sembrar lechuga (*Lactuca sativa* L.) en una huerta de la ciudad de Río Cuarto, aplicando biofertilizantes a base de *Azospirillum* spp. y *Pseudomonas* spp., en diferentes dosis para posteriormente determinar rendimiento y calidad higiénico-sanitaria. Parámetros biométricos físicos, químicos y microbiológicos fueron evaluados durante la cosecha y postcosecha de la lechuga. El rendimiento del peso de la planta, de hojas y de raíces permitió comprobar que en el tratamiento T₃, a la dosis de 10⁵ UFC/ml., se obtuvieron mejores resultados, respecto del tratamiento testigo en un 24,35%; 22,60% y 54,19%, respectivamente. En cuanto al volumen total de las plantas, del área foliar y radical, también se obtuvo respecto al tratamiento testigo una diferencia a favor del tratamiento T₃ de 29,50 %; 28,40 %; 67,61 %. En cuanto a plagas y enfermedades no se pudo comprobar u observar la presencia durante el cultivo. Los estudios microbiológicos, tanto para detectar la presencia de microorganismos indicadores como endofíticos, no se encontró presencia o valores por sobre los establecidos por la normativa. Los biofertilizantes son herramientas tecnológicas de bajo costo, útiles y una alternativa sustentable frente a los fertilizantes de síntesis.

Palabras Claves: Agroecología, programa pro Huerta, lechuga (*Lactuca sativa* L.), biofertilizantes, inocuidad, calidad.



Summary

FAO recommends that countries produce 75% of their own food in sustainable systems. In Argentina, Pro Huerta program was developed by INTA to promote agro-ecological production of horticultural products in the country, especially at the family level. Sustainable family farming is an economically convenient and ecologically acceptable global model that considers use existing resources to increase local production, using biofertilizers, biostimulants and biopesticides for crops. In order to consume safe and innocuous foods, production must be planned. To do this, we proceeded to sow lettuce (*Lactuca sativa* L.) in an specialized orchard in the city of Río Cuarto, using biofertilizers based *Azospirillum* spp. And *Pseudomonas* spp., in different doses, to determine performance and hygienic-sanitary quality.

Parameters such as physical, chemical and microbiological biometric parameters were evaluated during harvest and postharvest lettuce.

The yield of the plant weight, leaf and root, allow to check that the treatment T₃, at the dose of 105 UFC had better results that the ones that were obtained from the control treatment in a 24.35%; 22.60% and 54.19 % respectively

Regarding the total volume of the plants, the foliar and root area, T₃ treatment improved in 29, 50 %; 28.40 %; 67.61 % in respect to the control treatment.

During cultivation, it was not see or observed presence of pests and diseases.

Microbiological studies were held to detect the presence of microorganisms indicators as endophytic but no presence or values established by rules was found. Biofertilizers technological tools are inexpensive, useful as they are a sustainable alternative to synthetic fertilizers.

Keywords: Agroecology, program pro Orchard, lettuce (*Lactuca sativa* L.), biofertilizers, safety, quality.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA



CAPÍTULO



Universidad Nacional
de Río Cuarto

INTRODUCCIÓN



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA

CAPITULO 1.- INTRODUCCIÓN

1.1.- Agricultura familiar y producción de hortalizas agroecológicas

Generar una huerta es reorganizar la naturaleza intentando garantizar la mejor relación entre las plantas y otros seres vivos con el ambiente, siendo cada fracción de tierra un “mundo” que es necesario observar y comprender para que el hombre pueda integrarse como un componente más porque con su accionar va a modificar todo en su conjunto, ya que cualquier cambio por pequeño que sea, alterará la totalidad (Oliveira Leite, 2007).

La comprensión de la fisiología y bioquímica del suelo, la influencia ambiental y la tecnología de producción, permiten obtener nuevos enfoques para mejorar la calidad de las hortalizas, combinar características, propiedades y atributos estudiados para determinar la calidad en función de componentes intrínsecos, higiénico, sanitario, nutricional, organoléptico y tecnológicos considerados en la alimentación humana (Chiesa et al., 2007).

En búsqueda de alternativas amigables con el ambiente, se propone desarrollar producciones agroecológicas hortícolas que permitan ser consumidas de manera segura e inocua. (Tarigo et al., 2004). El enfoque de la agroecología y la producción familiar de alimentos viabilizan la producción de calidad con una perspectiva que apunta a restablecer una relación saludable entre la naturaleza y la sociedad, consolidando el acceso a los alimentos con seguridad alimentaria y nutricional, sustentable a nivel local valorizando además la cultura alimentaria regional (Oliveira Leite, M. 2007).

La cumbre mundial de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) sobre desarrollo sostenible realizada en 2002, para reducir el hambre, estimó que la producción mundial de alimentos deberá incrementarse en un 60% para cubrir las necesidades nutricionales, contemplando los cambios en las dietas para los próximos años. Es por ello, que se requiere fortalecer la inversión en infraestructura y capacidades para las instituciones (FAO, 2002). El 30 – 40 % de las producciones hortícolas cosechadas en países en desarrollo no llega al consumidor final por el deterioro o manipulaciones incorrectas que suceden durante la cosecha, transporte, almacenamiento y



distribución (Oliveira Leite, 2007). En este contexto, la FAO propone sistemas alimentarios locales para lograr una relación estrecha entre producción con los mercados y priorizar la adopción de estrategias para asegurar alimentos inocuos y nutritivos a lo largo de la cadena alimentaria (FAO, 2002).

La agricultura familiar sustentable, es un modelo económicamente conveniente, ecológicamente aceptable, difundido mundialmente que considera los siguientes aspectos:

- a) disminuir de la dependencia de insumos externos.
- b) atender la escala y la resiliencia natural.
- c) copiar e imitar a la naturaleza para convivir con la misma, utilizando los recursos locales existentes para producir los biofertilizantes, bioestimulantes y bioplaguicidas necesarios para los cultivos.
- d) incluir al ser humano como parte del sistema, para contemplar y analizar las relaciones interactivas en el sistema agroecológico (Chirinos et al., 2007).

En los sistemas agrícolas, la sustentabilidad se logra por la complejidad de las interacciones ecológicas y sinergismos entre los componentes biológicos en vista de producir la fertilidad del suelo, conservarla y protegerla juntamente con los cultivos; considerando la producción de bienes y servicios a través de la preservación de los recursos naturales. Y en consecuencia, beneficiar a la sociedad en su conjunto al posibilitar la producción de alimentos sanos y en abundancia (Oberti et al., 2007; Oliveira Leite, M. 2007).

Así mismo, es necesario considerar los siguientes principios a) Producción económica y eficiente de alimentos suficientes, inocuos y nutritivos; b) Cuidar, promover y sostener la base de los recursos naturales; c) Mantener empresas agrícolas viables y contribuir a medios de vida sustentables d) Satisfacer las demandas culturales y sociales de la comunidad (FAO, 2002).

En la Argentina la agricultura familiar juega un rol de importancia en el ámbito productivo, económico, social y cultural, por ello es necesario orientar acciones políticas para el desarrollo regional y nacional, a través del diseño de programas y estrategias (Ramilo et al., 2013).



1.2.- Producción Agroecológica

Existen en el mundo distintas propuestas para la producción agrícola con bases o conceptos definidos como propuesta orgánica. Permite la conservación de los recursos naturales, garantiza la sustentabilidad del suelo, del agua y de la biodiversidad, sin resentir la eficiencia productiva. En Alemania, Rudolf Steiner (1924) proyectó las bases de la agricultura biodinámica buscando la armonía y equilibrio de la unidad productiva; tierra, vegetales, animales y hombre. Acepta y utiliza la influencia del sol y la luna, para establecer los usos de la materia y energía presentes en el ambiente natural, reciclar lo existente considerándolo como organismo indivisible al sistema productivo. El máximo objetivo es obtener alimentos en sistemas agrícolas que se asemejen a las condiciones originales del ecosistema. (Oliveira Leite, M. 2007).

En Japón, Mokichi Okada (1935), definió a la “Agricultura Natural” como método que preconiza la búsqueda de armonía, salud y prosperidad entre los seres vivos como fruto de la conservación del ambiente natural y respeto por sus leyes; modo en que se fusiona medioambiente, alimentación y espiritualidad valorizando al suelo como fuente primordial de vida, utilizando insumos disponibles localmente para nutrirlo y vigorizarlo.

Los consumidores exigen cada día mayores certezas sobre la inocuidad y garantías de no contaminación química con pesticidas de los productos que van a consumir, con lo cual toma relevancia su naturaleza y origen, así como la importancia de los sistemas de producción. Estas consideraciones han permitido que los programas de inocuidad adopten un enfoque “desde la granja a la mesa” contribuyendo a disminuir los peligros en toda la cadena para lograr así alimentos inocuos (Campos, M.S. 2010).

En Argentina las producciones orgánicas están reglamentada por la Ley N° 25.127, aplicada en el país por el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) y el Decreto N° 206/2001 del Poder Ejecutivo donde se crea el “Programa Nacional de Producción Orgánica” (PRONAO) en jurisdicción de la Ex Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación (Román, F. 2007).

Según el Reglamento N° 2092/91 de la Unión Europea (UE). “Uno de los principios



básicos de la agricultura ecológica es el mantenimiento y/o mejora de la fertilidad y la actividad biológica del suelo”, siendo la fertilidad un concepto integrador de las cualidades que determinan la capacidad para proveer nutrientes a los cultivos, mantener la producción elevada y perdurable en el tiempo (Farrús & Vadell, 2000).

La práctica de manejo del suelo-cultivo en agricultura debe considerar a la tierra como un mundo complejo e integrado donde puedan convivir en equilibrio un gran número de microorganismos para garantizar la perfecta fertilidad y sanidad de las plantas (Oliveira Leite, M. 2007). Los elementos minerales presentes en el suelo relacionados con el crecimiento de las plantas como nutrientes o estimulantes, están sujetos al accionar de los microorganismos (Añez & Espinoza, 2003).

La actividad biológica es de vital importancia para comprender las modificaciones que se producen al incorporar residuos orgánicos. A corto plazo, los parámetros biológicos son más sensibles que el contenido de materia orgánica de un determinado suelo, ya que esta última varía lentamente detectándose los cambios a largo plazo.

Económica y ecológicamente, el uso de biopreparados tiene mayor relevancia por las sustancias estimuladoras que poseen, activando el crecimiento y desarrollo al aportar nutrientes rápidamente utilizables en los cultivos (Ruiz et al., 2009).

En numerosos países de Latinoamérica el sector hortofrutícola tiene importancia económica interna y a nivel exportación. Para producir alimentos inocuos con sustentabilidad se hace necesario utilizar abonos verdes, biofertilizantes que aporten el nitrógeno y otros nutrientes a los cultivos como componentes en la implementación de las BPA (Izaguirre-Mayoral et al., 2007).

Reciclar residuos de cosecha o incorporar compost al suelo es una interesante técnica para reducir el uso de insumos químicos, y en el caso de los horticultores que realizaren producción orgánica usando estos insumos es importante que conozcan la capacidad de mineralización del nitrógeno presente en ellos, lo que permitirá inferir rendimientos y calidad de las hortalizas (Añez & Espinoza, 2003).

Dentro de los procedimientos realizados y probados a campo el tratamiento de las enmiendas orgánicas, y el compostaje para reducir microorganismos patógenos son



considerados como un punto crítico de control (PCC) en las BPA. La temperatura y humedad relativa adecuadas, son esenciales para producir la muerte de etiologías diversas, por ello es importante contar con personal calificado para realizar y controlar con seguridad las operaciones a campo en la aplicación de estos compuestos (Gomes da Cruz et al., 2005; Viale et al., 2009).

Manejar adecuadamente la fertilidad, favorecer la actividad biológica, mantener y mejorar los aspectos físicos, químicos y biológicos permitirán un equilibrio dinámico y armónico en el suelo. Es fundamental acompañar la asociación y rotación de los cultivos, la incorporación de leguminosas, abonos verdes, de superficie (mulching) y la labranza mínima. Como así también el uso de herramientas agrícolas que mejoren la conservación del suelo para lograr un sistema de producción Orgánica Sustentable (Izaguirre-Mayoral et al., 2007).

El sistema productivo se sostiene por el aporte constante de materia orgánica, desarrollándose un intercambio en la interfase suelo-materia orgánica de gran relevancia en la rizósfera (Rodas Pinochet, 2008). De allí, la relevancia que tienen las prácticas de aportar restos de cultivos, abonos verdes, lombricomposteo y biofertilizantes a fin de mejorar las propiedades físicas que permita establecer la vida microbiana que activa los ciclos biogeoquímicos quedando los nutrientes a disposición de los cultivos. (Farrús & Vadell, 2000).

Por ello, en los sistemas agrícolas orgánicos, los organismos del suelo forman compuestos húmicos que son una reserva de minerales pasando a ser la población microbiana protectora y preservadora del suelo, asegurando la transformación biológica y por ende un interesante indicador de la fertilidad del mismo (Farrús & Vadell, 2000; Oliveira Leite, M. 2007).

Las categorías generales que componen la materia orgánica del suelo son dos: a) las sustancias no húmicas formadas químicamente por hidratos de carbono, proteínas, péptidos, aminoácidos, grasas, lípidos y ácidos orgánicos de bajo peso molecular que la microflora degrada rápidamente y b) sustancias húmicas (humus) que son compuestos orgánicos heterogéneos con elevado peso molecular cuyas moléculas son altamente polimerizadas, de color amarillo negruzco, amorfos, con propiedades marcadamente coloidales e hidrofílicas;



constituidas químicamente por carbono, hidrógeno, nitrógeno, moléculas alifáticas y aromáticas con capacidad de intercambio catiónico de grupos ácidos (carboxilos y fenólicos) que provienen de la degradación biológica-bioquímica de los residuos vegetales, animales, metabolitos microbianos y enzimas (Caballero et al, 2000; Sáenz, L. 2012).

Categorías que determinan que en la producción hortícola, donde se realiza manejo orgánico del suelo, la dinámica de disponibilidad de nutrientes es distinta, por hallarse un alto contenido de materia orgánica con elevada relación C/N , que incrementa la capacidad de almacenamiento de agua y nutrientes contribuyendo al control de la erosión del suelo (Aruani et al., 2008).

La descomposición de los residuos dependerá de la relación C/N en el compost, donde la liberación de estos elementos será mayor y veloz cuando la relación C/N es menor. Si esa relación es superior a 10, la mineralización de los macronutrientes es baja (Añez & Espinoza, 2003).

La utilización de compost produce menores pérdidas de nitrógeno, liberándose lentamente en suelos turbosos o arenosos siendo insuficiente para producir hortalizas económicamente rentables en este tipo de terrenos (Añez & Espinoza, 2003).

En síntesis, el uso de residuos es una excelente alternativa en agricultura orgánica para proporcionar nutrientes a las plantas, pero es importante tener en cuenta que el proceso de compostaje debe ser realizado correctamente (tiempo y temperatura) para que no proliferen microorganismos patógenos (Maffei et al., 2012). El reciclado de residuos y el uso de productos biológicos es una importante e interesante alternativa para la producción agrícola que emplee procesos y productos que no perjudiquen el ambiente (Castro et al., 2006; Terry et al., 2010).

1.3.- Programa Pro Huerta

Generar una Huerta es reorganizar la naturaleza intentando garantizar la mejor relación entre las plantas y otros seres vivos con el ambiente, siendo cada pedazo de tierra un “mundo” que se necesita observar y comprender para que el hombre pueda integrarse como un componente más porque con su accionar va a modificar todo en su conjunto, ya que cualquier cambio por pequeño que sea alterará la totalidad (Oliveira Leite, M. 2007).



El programa Pro Huerta es una política pública implementada por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) conjuntamente con el Ministerio de Desarrollo Social de la Nación, creado en 1990 por Resolución N° 239/90. Su principal objetivo es optimizar la soberanía alimentaria a través de la autoproducción de alimentos con bases agroecológicas para asumir emprendimientos productivos, fomentar la comercialización de sus excedentes y favorecer la participación y organización de sectores vulnerables de la población. Este programa lleva 25 años de desarrollo con presencia territorial en el 88% de los municipios del país, capacita y asiste técnicamente a familias, instituciones y organizaciones de la comunidad, aportando insumos básicos como semillas, frutales, animales de granja y herramientas.

Promueve la implementación de huertas familiares, escolares y comunitarias, instruye a promotores voluntarios de cada región del país; genera, adapta y aplica tecnologías apropiadas y apropiables (Programa Pro Huerta, 2015).

El INTA cuenta con proyectos Regionales y Nacionales en lo referente a fomentar e investigar sobre las Producciones Orgánicas (Gonella et al., 2005).

1.4.- La lechuga (*Lactuca sativa* L.)

La legislación argentina, denomina con el nombre genérico de hortaliza, a toda planta herbácea producida en la huerta de la que una o más partes pueden utilizarse como alimento.

La lechuga es una hortaliza nativa de las regiones de clima templado de Europa, Asia y América del Norte, domesticada por los egipcios desde el año 4.500 a.C. y cultivada por los griegos (Cerdas Araya, 2004). Otros registros la sitúan como originaria del Asia menor, cercana al mar mediterráneo. Presentando numerosas variedades, es muy utilizada en la alimentación por los griegos y romanos, está ampliamente cultivada y consumida en todo el mundo. Ingresó a América central y del sur por inmigrantes europeos en el año 1.600 d.C. (Cerdas Araya, 2004; Di Benedetto, 2005). La lechuga tiene gran importancia en la alimentación y en la salud humana destacándose principalmente, como fuente de vitaminas y sales minerales y por constituirse en la más popular hortaliza de hojas. Este valor se debe no solo al sabor y calidad nutritiva, sino también la facilidad de adquisición y de



producción durante todo el año a bajo costo (Silva et al, 2011). En el mundo es una de las hortalizas más importantes, consumida cotidianamente en ensaladas y en diversas preparaciones. En Argentina su producción es importante, siendo cultivada durante todo el año en más de 40.000 hectáreas implantadas, principalmente en los cordones hortícolas periurbanos de las grandes ciudades, desde donde son abastecidos los mercados que distribuyen diariamente este alimento constituyéndose en el tercer vegetal más consumido después de la papa y el tomate. En Argentina el consumo per cápita es de 21 kg/hb por año siendo el acompañante del plato más tradicional del país que es el asado (Di Benedetto, 2005; Chiesa et al., 2007).

1.4.1.- Consumo y valor nutritivo La incorporación de la lechuga en la dieta humana cobra relevancia, ya que su consumo crece a medida que el hombre conoce sus propiedades. Dentro de los vegetales de hoja (*Lactuca Sativa L*) ocupa un lugar económicamente importante, justificado por la elevada demanda y exigencia que requieren los consumidores (Rapaccioli et al., 2000).

Es una hortaliza utilizada en cualquier régimen dietético porque posee un valor nutricional rico en fibras y en vitamina C y bajo en calorías y se utiliza principalmente para preparar ensaladas. Debido a la elevada disponibilidad de agua posee poca firmeza de tejido, y si bien el epitelio es una barrera importante, al ser fino y frágil permite el pasaje de diversos microorganismos que pueden reducir la vida útil del vegetal y otros patógenos de origen fecal que la convierten en un alimento peligroso para el consumo (Quintero et al., 2000; Di Benedetto, A. 2005; Rojas Contreras et al., 2006; Chiesa et al., 2007; Oliveira Leite, M.2007). En el suelo donde se cultiva la lechuga, pero fundamentalmente en las hojas pueden sobrevivir patógenos fecales por largos periodos de tiempo, proliferando tras la recolección-trozado, liberándose diferentes nutrientes, enzimas intracelulares y etileno que aceleraran el envejecimiento desmejorando la apariencia (Oliveira Leite, M. 2007).

En cuanto a su composición química el 94% es agua y por cada 100 g de producto fresco posee 1,6 g de proteína, 0,2 g de grasas, 2,1 g de hidratos de carbono, minerales (68 mg de calcio, 1,1 mg de hierro, 6 mg de magnesio, 45 mg de fósforo, 400 mg de potasio, 9 mg de sodio) 2600 Unidades Internacionales (UI) de vitamina A, 0,10 mg de B₁, 0,1 mg de B₂,



0,5 mg de B₃ y 24 mg de C, entre otras (Viale et al., 2009; Gomes Neto et al., 2012), con un aporte de 12 calorías/100 g de hoja (Vigliola, M. 1996). Además contiene elevadas concentraciones de antocianinas y compuestos fenólicos antioxidantes con propiedades para eliminar radicales libres (Allende et al., 2003).

El crecimiento vegetativo de la lechuga está definido como el periodo que va desde la emergencia de la planta hasta el inicio de la floración. Desde la siembra al trasplante el desarrollo de la parte aérea y radicular es lento, superada esta etapa comienza con una intensa producción de hojas e incremento de materia seca relacionada con la intensidad lumínica, el fotoperiodo, la de concentración de CO₂, las fitohormonas (giberelinas), la disponibilidad de agua- nutrientes y la temperatura que influyen sensiblemente en el desarrollo y crecimiento del vegetal (Di Benedetto, A. 2005; Oliveira Leite, M. 2007). El valor de pH de la lechuga es cercano al neutro (Pascual Anderson, M. del R. & Pascual V. 2000).

1.4.2.- Clima y Suelo

1.4.2.1.- Requerimientos de temperatura (T^a)

La lechuga es de clima templado, fresco y húmedo aunque puede adaptarse a climas muy variados. Las temporadas de otoño y primavera son las ideales para su cultivo pero es tolerante a elevadas T^a y sensible al frío (Vigliola, M. 1996; Tarigo et al., 2004; Di Benedetto, A. 2005)

La T^a óptima de desarrollo es de 15 a 20, hasta 25°C, en algunos cultivares con 30°C produce termodormancia (tegumentos impermeables al paso del O₂) que inhiben la germinación. Para la variedad Grand Rapids, la T^a óptima de germinación es de 25°C (Vigliola, M. 1996). Los factores ambientales más importantes son T^a, humedad, disponibilidad de oxígeno y para muchos cultivares fotoblastia positiva, longitud de onda de 600 nm e inhibe con 735 nm factor muy relevante sobre todo en la profundidad de la siembra porque si es excesiva disminuye el porcentaje de germinación (Tarigo et al., 2004). El cultivo es resistente a las bajas T^a, pero las heladas severas pueden provocar daños irreversibles sobre todo si están próximos a la cosecha, mientras que las elevadas T^a permiten la aparición de quemaduras en los bordes (tipburn), floración prematura, sabores



amargos en sus hojas y plantas flojas (Vigliola, M. 1996; Tarigo et al., 2004). En cuanto al desarrollo vegetativo, la Tª para lograr el crecimiento y la calidad ideales debe oscilar entre 15-20°C, cruciales en las etapas de emergencia y formación de roseta, con mínimas de 7 °C y máximas de 25 °C (promedio mensual); siendo esencial que la Tª no sea muy elevada durante el día (17-28 °C) y de noches frescas (3-12 °C). Durante el invierno el frío retarda el crecimiento que según la intensidad puede quemar los cultivos y las Tª por encima de 30 °C interrumpen el crecimiento (Tarigo et al., 2004; Di Benedetto, A. 2005; Oliveira Leite, M. 2007; Goites, E. 2008). Se puede considerar que la Tª ambiente es el factor más importante y, con frecuencia, limitante en la producción de este vegetal (Vigliola, M. 1996).

1.4.2.2.- Requerimientos nutricionales

La absorción de nutrientes por parte de la lechuga (*Lactuca sativa* L) tiene relación directa con el tipo y variedad utilizada, tipo de suelo, estación del año de siembra, sistema de plantación a implementar entre otros aspectos (Tarigo et al., 2004). El suelo posee tres aspectos importantes e influyentes; el físico, químico y biológico, correspondiendo cada uno a un estadio de fertilidad física, química y biológica, respectivamente. La fertilidad física es la base para la fertilidad química y biológica, porque si no hay espacios adecuados para la circulación del aire y agua no es posible que haya reacciones químicas, ni vida.

El aspecto químico hace referencia a los nutrientes en agua y los minerales del suelo que las raíces son capaces de absorber como formas simples de nutrientes disueltos en agua, serán los microorganismos y el tipo de material de que está compuesto el suelo (arena, arcilla, materia orgánica) que harán de intermediarios entre los nutrientes y las raíces. El aspecto biológico representa todas las formas de vida que habitan ese suelo, siendo millares de especies de hongos, bacterias, parásitos y algas responsables de la descomposición de la materia orgánica (Oliveira Leite, M. 2007).

Debido a que el ciclo vegetativo de esta hortaliza es corto con sistema radicular poco desarrollado, es necesario aplicar una fuente de nutrientes para cubrir los requerimientos para alcanzar elevados rendimientos y productos de calidad (Tarigo et al., 2004).

La lechuga puede cultivarse en todo tipo de suelos, aunque los más aptos son los de



consistencia o textura media (francos), fértiles con buena proporción de materia orgánica (adecuado nivel de nutrientes hasta su cosecha), con capacidad de retener agua pero con buen drenaje, con rango óptimo de pH 6,8-7,4, adaptándose a suelos alcalinos y con moderada sensibilidad a la salinidad. El nitrógeno es uno de los principales macronutrientes requerido por el cultivo, representa aproximadamente hasta un 4% del peso total en materia seca como ácido nítrico (Vigliola, M. 1996; Tarigo et al., 2004; Di Benedetto, A. 2005; Chiesa et al., 2007; Goites, E. 2008; Viale et al., 2009).

Los elementos químicos esenciales requeridos por los vegetales superiores son exclusivamente de naturaleza inorgánica. La deficiencia de uno de estos elementos imposibilita al vegetal completar adecuadamente su ciclo biológico y específicamente para un elemento debe estar relacionado directamente a la nutrición del vegetal, constituyéndose en metabolito esencial requerido para la actividad del sistema enzimático (Oliveira Leite, M. 2007).

La lechuga es capaz de absorber el 70% de los nutrientes durante el último tramo de su ciclo (30%), debiendo disponer de elevados niveles de fertilidad cercanos a la cosecha (Tarigo et al., 2004).

En el desarrollo normal de las plantas las mismas necesitan 16 elementos, de los cuales 13 son nutrientes minerales, el fósforo y el zinc presentan fuerte interacción con la matriz del suelo movilizándose principalmente por difusión, aumentando la eficiencia del abonado. En suelos arenosos, se concentran en la región de mayor humedad y densidad de las raíces saturando los sitios de unión, propiciando así una mayor disponibilidad del nutriente para la planta y favoreciendo el movimiento en el suelo.

El Nitrógeno es un constituyente importante de ácidos nucleicos, aminoácidos, proteínas que desempeñan un papel fundamental en el crecimiento y desarrollo de la planta, siendo el elemento de mayor influencia en la producción de los cultivos.

El Potasio cataliza reacciones enzimáticas involucradas en la turgencia de la célula, abertura y cierre de estomas, en el proceso de síntesis, acumulación y transporte de carbohidratos. Cuando hay déficit de este mineral las plantas contienen menores cantidades de sólidos solubles, son productos más ácidos, con una maduración heterogénea y menor



vida pos cosecha.

El Fósforo desempeña un papel fundamental en los procesos energéticos de las plantas siendo parte de los ácidos nucleicos, su carencia disminuye el tamaño de las hojas nuevas que van apareciendo, el exceso afecta la asimilación del nitrógeno tornándose los tejidos duros y quebradizos, afectándose también la absorción de zinc, hierro y cobre.

El Calcio es absorbido en grandes cantidades por la mayoría de las hortalizas siendo el principal responsable del desarrollo radicular y fortalecimiento de la pared celular (Oliveira Leite, M. 2007).

El contenido de nitrato en la lechuga está influenciado por factores ambientales como son; edad de la planta, temperatura ambiente, presencia de la enzima nitrato reductasa, intensidad lumínica, tipo de fertilizante y disponibilidad de agua. Estos factores determinan la acumulación de este compuesto en sus hojas, cuando la absorción excede a la reducción de este elemento en la planta, influye posteriormente sobre la sanidad del producto hortícola, siendo potencialmente tóxico para el consumidor (Tarigo et al., 2004; León et al., 2004; Chiesa et al., 2007).

1.5.- Cultivo: En nuestro país, la lechuga puede producirse con diferentes propuestas:

- a) Tradicional, se utilizan fertilizantes y pesticidas químicos sintéticos
- b) Ecológico, excluye el uso de productos de síntesis química
- c) Hidropónico, realizado en tubos de plástico con nutrientes y fertilizantes químicos disueltos en agua (Gomes Neto et al., 2012).

El ciclo del cultivo consta de las siguientes fases:

- a) germinación – emergencia,
- b) formación de una roseta de hojas
- c) formación de una cabeza con grados de compactación
- d) reproductiva o de emisión del tallo floral.

1.5.1.- Caracterización de la planta La lechuga pertenece a la familia de las compuestas (Asteráceas), abarca más de 1000 géneros y 20.000 especies, de las cuales muy pocas son cultivadas. Esta hortaliza es una planta rústica, herbácea, anual con hojas grandes aserradas o enteras, que en estado vegetativo posee un tallo corto de 2-5 cm y carnosas,



insertándose las hojas con la capacidad o no de formar cabezas, teniendo variadas formas, tamaño, número y colores según la variedad botánica a cultivar.

Posee un sistema radicular muy denso, superficial, regular pivotante que puede alcanzar una profundidad de hasta 60 cm con cantidades importantes de raicillas laterales (adventicias) en los primeros 30 cm, que se desarrollan aún más cuando las plantas son trasplantadas. Una vez que la planta ha superado el estado vegetativo (madurez de consumo comercial) comienza a desarrollarse el tallo floral. Existiendo dentro de la especie cuatro variedades botánicas:

- a) *Lactuca sativa longifolia* Lam., con forma ovalada u oblonga que no forman un verdadero cogollo. Ejemplo, tipo romana y tipo cos,
- b) *Lactuca sativa* var. *Capitata* L., constituyen un cogollo bien apretado de hojas anchas, orbiculares;
- c) *Lactuca sativa inybasea hort.*, con hojas sueltas y dispersas. Variedad Grand rapids,
- d) *Lactuca sativa* var. *augustana irish.*, con tallos alargados, hojas puntiagudas y lanceoladas.

En nuestro país existen otras variedades de lechuga, pero las más conocidas son Grandes Lagos, Climax, Gallega, Crimor, Grand Rapids, Batavia, Brisa, Criolla Blanca entre otras (Goites, E. 2008). La más difundida por el programa Pro Huerta en las diferentes regiones del país es la Grand Rapids (Tarigo et al., 2004), por ser de ciclo corto, producir plantas de tamaño mediano a grande, con hojas sueltas color verde amarillento, de bordes rizados resistentes a la quemadura de los bordes de las hojas (tipburn), forma roseta, con textura y sabor regular y frágil a la manipulación, es el cultivar más importante en la República Argentina (Vigliola, M. 1996; Di Benedetto, A. 2005; Goites, E. 2008).

El peso fresco tiene una tasa de crecimiento que es exponencial en todo el ciclo del cultivo y en los últimos 20 días puede ocurrir el 60 % del crecimiento total de la planta. La evolución del peso seco tanto de la parte aérea como la radicular también presenta un modelo exponencial (Tarigo et al., 2004).

1.5.2.- Siembra La lechuga puede sembrarse de diferentes formas: a) directa a chorrillo, b) al voleo, c) tabloncitos bajo nivel (al voleo), d) tabloncitos sobre nivel (en surcos) y



e) almácigos con posterior trasplante. Esta última es la técnica de siembra que se realiza en la mayoría de las huertas familiares del país.

1.5.3.- Labores culturales Una vez colocados los plantines en surcos, debe realizarse un control de malezas al comienzo con carpidas semanales con sapin o azada (Di Benedetto, A. 2005). Aplicar la técnica del Mulching (uso de coberturas en los canteros) permite un mejor control de malezas, mejor retención de la humedad en el suelo minimizando el riego y los costos de producción, reducción de la lixiviación de nutrientes, cultivos más precoces, por mayor T^a del suelo, menor compactación de los mismos con productos de mayor calidad (Oliveira Leite, M. 2007; Silva et al. 2011)

La lechuga, en relación a la parte aérea, desarrolla escasamente sus raíces por lo que puede incorporarse compost estabilizado por 30 días antes de la siembra o bien humus en diferentes etapas. Es conveniente que la distancia definitiva entre planta y planta sea de 20-25 cm (Goites, E. 2008).

Debido al elevado porcentaje de peso fresco (agua 95%) y sistema radicular poco profundo requiere del aporte de agua constante y uniforme, para mantener su calidad, a lo largo del ciclo de cultivo.

El riego puede ser en surco, por inundación, aspersión o localizado, Realizarse en invierno y verano con y sin media sombra. El agua utilizada debe ser físico- químico y microbiológicamente aceptable, para lo cual se deben realizar los análisis periódicos de rutina, coliformes totales y patógenos en caso de recuentos muy elevados. (Gomes da Cruz et al., 2005).

1.5.4.- Principales plagas y enfermedades Las plagas que se pueden hallar son pulgones (*Aulacorthum solani*, *Myzus persicae*, *Nasonovia ribisnigri*, *Macrosiphum euphorbiae*, y *Pemphigus bursarius*), trips (*Frankliniella occidentalis*) y chinches (*Spodoptera exigua*, *Spodoptera litoralis*, *Helicoverpa 14ematodo*, *Autographa gamma* y *Chrysodeixis chalcites*), y las enfermedades detectadas con mayor frecuencia son Podredumbre blanda (*Sclerotinia sclerotiorum*), mancha de la hoja o septoria (*Septoria lactucae*) (Goites, E. 2008).



1.6.- Cosecha

El proceso de cosecha de la lechuga se realiza cortando la planta al ras del suelo a nivel de las hojas exteriores, retirando las que están en mal estado, enrasando el tronco para lograr que las hojas exteriores queden limpias de tierra. Por ser un producto altamente perecedero, debe cortarse por la mañana temprano y luego refrigerar (Goites, E. 2008).

El lavado de la lechuga con agua es un punto crítico que impacta sobre la calidad del producto, la vida útil y la seguridad. El aspecto general de los vegetales frescos es el atributo más importante que valoran los consumidores y en segundo término la textura crocante y crujiente (Allende et al., 2003).

La lechuga cosechada es una estructura viva que mantiene su sistema fisiológico activo por la respiración, transpiración y maduración. La intensidad de estos procesos se relaciona estrechamente por el ambiente que la circunda como la T^a , humedad relativa ambiente y composición química de la atmósfera (Quintero et al., 2000). Una vez cosechada enfriarla rápidamente para retardar la actividad enzimática y el crecimiento bacteriano (Gomes da Cruz et al., 2005).

La cosecha y especialmente en la variedad Grand Rapids utilizada en el ensayo, se realiza entre los 40 a 110 días según el cultivar, eliminándose las hojas deterioradas. Puede cosecharse desde la mitad de su desarrollo hasta el máximo tamaño logrado (Vigliola, M. 1996; Goites, M. 2008).

1.7.- Producción sustentable y sin riesgo

Las buenas prácticas para la producción de frutas y hortalizas permiten reducir el uso de agroquímicos, gestionar el manejo integrado de los cultivos, y cuidado del ambiente. Son fundamentales para dar seguridad alimentaria a los consumidores de estos alimentos (Gomes da Cruz et al., 2005).

La Food and Drug Administration (FDA) y el Center for Food Safety and Applied Nutrition (CFSAN) de EE.UU. (1997) presentaron lineamientos para elaborar una guía sobre BPA y BPM para frutas y hortalizas. Si bien su implementación implicó un alto costo, hoy se cuenta con un sistema de monitoreo que permite asegurar la calidad microbiológica a la vez que ofrece un real apoyo al sistema productivo. Las frutas y



hortalizas frescas son un componente esencial en la dieta diaria de los habitantes del planeta, acrecentándose su consumo en los últimos años. La tendencia generalizada de incorporarlos por sus características sensoriales y de fácil preparación lleva consigo la idea de que son saludables, nutritivos, seguros y de calidad (López et al., 2003; López Camelo, M. 2003; Luna et al., 2008; Oliveira et al., 2011; Martín, F. 2012).

1.8.- Contaminación de vegetales frescos

En las hortalizas frescas, la masa microbiana persiste en la superficie como consecuencia de un contacto íntimo con el suelo, aire, agua y animales en cualquier fase de la cadena productiva, incrementándose por las condiciones ambientales favorables que pueden ayudar a reproducirse (Jay, J. M. 2003; Gomes da Cruz et al., 2005). Otros factores que favorecen la contaminación son las hojas por su superficie rugosa e irregular que retienen e incorporan microorganismos causales de ETAs. (Vega et al., 2005; Vega González et al., 2006; Oliveira Leite, M. 2007). El consumo crudo, la calidad microbiológica del agua de riego, los abonos orgánicos mal compostados y la falta de programas de buenas prácticas implican un mayor riesgo para el consumidor.

Los abonos orgánicos utilizados en el cultivo de vegetales, juegan un rol importante en la introducción de agentes patógenos en la cadena alimentaria; debido a que estos productos no tienen un proceso de fermentación eficiente a partir del cual distintos microorganismos sobreviven, disminuyendo la calidad con incidencia directa en la salud pública (Rodríguez et al., 2008).

El mecanismo de ingreso de las bacterias a la planta se puede realizar de diferentes formas: por aberturas naturales (estomas e hidatodos), por heridas accidentales provocadas por aves o insectos o por manipulación inadecuada durante las operaciones de cosecha (Rojas Contreras et al., 2006).

Los vegetales contaminados con materia fecal, plaguicidas o fertilizantes pueden causar diferentes enfermedades tales como gastroenteritis, cólera, fiebre tifoidea, shigellosis, amebiasis, hepatitis, giardiasis y salmonelosis entre otras. (Vega et al., 2005; Vega González et al., 2006). *Salmonella typhimurium* y otras subespecies pueden contaminar diferentes partes del tejido de la lechuga formando biofilms o biopelículas que se adhieren,



algunas débil y otras fuertemente, a la superficie de la hoja intacta o trozada (Patel & Sharma, 2010; Kroupitski et al., 2011). Es por ello que para consumirlas no es suficiente lavarlas con agua clorada para evitar el ingreso de patógenos ya que se instalan en el interior del tejido vegetal y este procedimiento no asegura su eliminación, manteniendo latente los riesgos para la salud de los consumidores (Vega et al., 2005; Messaria et al., 2005; Vega González et al., 2006; Bejarano & Carrillo, 2007; Olaimat & Holley, 2012).

Estudios realizado por Olivera Leite (2007), detectaron en muestras de lechuga (*Lactuca sativa* L) obtenidas en supermercados, un 53,3% bacterias del grupo coliformes donde el 33% de las mismas tenían recuentos superiores a 10^3 UFC/g. y 10^2 UFC/g. (13,3%) de coliformes fecales; *Salmonella* spp. (66,6%) y levaduras con recuentos de 10^3 UFC/g. La búsqueda de *Salmonella* spp permite evaluar la calidad microbiológica del abono orgánico utilizado en el cultivo de hortalizas –lechuga- encontrándose con frecuencia en sus hojas o raíces como microorganismo endófito. Su aparición es consecuencia de abono mal compostado (7-49,5 °C) y por la capacidad de adherencia a micropartículas del suelo (Rodríguez et al, 2008). En franjas etarias de ancianos, inmunodeprimidos y mujeres embarazadas la listeriosis es un riesgo significativo en el desarrollo embrionario (Oliveira et al., 2011). Según Allende et al (2003) la población microbiana presente en la superficie de los vegetales refleja el medio ambiente donde han sido cultivados.

1.9.- Inocuidad alimentaria

Un alimento inocuo es aquel libre de peligros físicos, químicos y biológicos y que no causará daño a quien lo consume. (Codex Alimentarius Revisión 4, 2003).

La inocuidad alimentaria tiene relevancia ya que los alimentos con calidad sanitaria son un reclamo de la población, que toma conciencia de lo peligroso que es para la salud, el consumir alimentos contaminados (Chaidez Quiroz, C., 2002; Avendaño Ruiz et al., 2006).

Las ETAs constituyen uno de los problemas de salud más extendidos del mundo contemporáneo, llamadas así porque el alimento actúa como vehículo de transmisión de organismos dañinos y sustancias tóxicas (Panalimentos OPS/ OMS., 2002; Tananta et al., 2004). De acuerdo a la OMS (2013), las enfermedades diarreicas son la segunda mayor causa de muerte de niños menores de cinco años, según sus estadísticas matan a 760.000



niños menores de cinco años por año. En todo el mundo se producen unos 1.700 millones de casos de enfermedades diarreicas anualmente.

Las materias primas de origen vegetal y animal crudas que no han sido tratadas convenientemente para su consumo poseen alto riesgo de contener bacterias patógenas (Koppmann, M. 2007). El CDC también informó que las ETAs provocadas por el consumo de productos frescos eran menores a 1%, con un incremento del 6% a partir de 1990. En el periodo 1995 – 2005 aumentaron los brotes por consumo de frutas y hortalizas en todo el mundo. (Seowa et al., 2011; CDC, 2013).

En estos últimos años se produjo el incremento de casos de enfermedades gastrointestinales ocasionados por el mayor consumo de diferentes alimentos, dietas ricas en fibras, frutas y hortalizas crudas contaminadas por los mismos microorganismos mencionados precedentemente, además en lechuga (*Lactuca sativa* L.) que presenta la microbiota natural proveniente del ambiente e influenciada por la estructura de la planta, la técnica de cultivo, transporte y almacenamiento se encontraron otros agentes como *Aeromona hydrofila* y *caviae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* enterotoxigénica, *Campylobacter jejuni*, *Bacillus cereus*, *Vibrio cholerae*, enterovirus, virus Norwalk *Cryptosporidium* spp, y *Cyclospora cayatanensis*, con recuentos de 10^5 a 10^7 UFC/g, ETAs detectadas por las redes de vigilancia oficiales (Gomes Neto et al., 2012; Martín, F. 2012, Marvasi et al., 2012; Olaimat & Holley, 2012).

En Argentina, los eventos de ETAs propiciaron la adopción de nuevas medidas en la salud pública nacional, necesarias para garantizar la inocuidad de los alimentos en beneficios de la población. (Sistemas de Información y Gestión del Conocimiento en Inocuidad de los Alimentos, 2015). Es por ello, que para prevenir la contaminación biológica se recomienda abordar esta problemática con enfoque sistémico para aplicar programas de manera integrada considerando la cadena productiva para desarrollar BPA, Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) complementarlos con Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP) con el objetivo de disminuir los riesgos, en consecuencia mejorar la seguridad alimentaria (López Camelo A., 2003; Gomes da Cruz et al., 2005; Avendaño Ruiz et al., 2006). Estas herramientas posibilitan el desarrollo de programas que admiten la



incorporación de pequeños productores, tecnologías apropiadas y BPA logrando un mayor grado de seguridad alimentaria (FAO, 2002; Izaguirre-Mayoral et al., 2007). La producción de hortalizas pasa por transformaciones de modernización necesaria para mejorar la eficiencia productiva del sistema, la competitividad de los productos, la disminución de riesgos sanitarios que permiten al productor obtener alimentos con mayor valor agregado, favoreciendo el comercio local de estos alimentos (Oliveira Leite, M. 2007).

1.10.-Tecnologías agroecológicas y nuevos desafíos

La incorporación de tecnologías agroecológicas que vigoricen la asociación vegetal-microorganismos para el sostenimiento de la producción y el cuidado del ambiente representan nuevos desafíos frente a una demanda creciente de producciones sostenibles y alimentos inocuos. Los productores hortícolas pueden adoptar diversas tecnologías para equilibrar sus economías y complementar las necesidades alimentarias en cada región, apostando a una mayor equidad social, la lechuga (*Lactuca sativa L.*) ha sido considerada un cultivo importante en los huertos intensivos para incrementar los rendimientos de los sistemas (Terry et al., 2010).

La obtención de hortalizas que satisfaga la demanda del consumidor desde el punto de vista sensorial, comienza en la pre cosecha, la elección del momento adecuado de la cosecha, el ambiente pos cosecha y la capacidad de conservación del producto por parte del horticultor, estos factores permiten obtener fresca, valor nutricional y calidad (León et al., 2004).

Los sistemas de cultivo y producción hortícola convencional no son sostenibles en el tiempo por utilizar grandes cantidades de fertilizantes químicos, cuestionando la calidad y seguridad de los productos obtenidos (Maffei et al., 2012). Numerosas investigaciones han revelado que el uso abusivo de fertilizantes de síntesis química afecta negativamente el ecosistema del suelo (Gonella et al., 2005). En este marco y como una alternativa sostenible, la producción de biofertilizantes ha crecido aportando variedad de productos que posibilitan hacer un manejo integrado de los cultivos, minimizando los daños económicos causados por plagas y enfermedades (Chirinos et al., 2007; Izaguirre-Mayoral et al., 2007; Ferraris & Faggioli, 2011).



1.10.1.-Enmiendas orgánicas Son productos de origen animal o vegetal que se agregan al suelo para mejorar las propiedades físicas, químicas y biológicas. Pueden ser sólidas o líquidas (estas últimas llamadas también biofertilizantes) y pueden ser producidos en la misma huerta. Poseen todas las sustancias para el desarrollo de las plantas. El nitrógeno contenido, aunque varía en su porcentaje, es una fuente permanente de este mineral. Los nutrientes solo están disponibles después de que han sido mineralizados, pero algunas sustancias como hormonas, enzimas, auxinas, antibióticos, pueden ser absorbidas directamente influenciando en el desarrollo y rendimiento del cultivo; las propiedades físicas del suelo son mejoradas por aumentar la aireación, la capacidad de retención y penetración del agua y favorecen la formación de agregados y con ello la estructura del suelo, germinación y desarrollo radical del cultivo. Químicamente, la capacidad de intercambio catiónico por el agregado de la materia orgánica actúa como buffer, amortiguando los cambios de pH; otro beneficio de las enmiendas, es su capacidad para favorecer la actividad microbiológica y la fauna del suelo (Tarigo et al., 2004).

1.10.2.-Biofertilizantes Los biofertilizantes están constituidos por microorganismos que promueven la nutrición y desarrollo de las plantas. Son bacterias y hongos obtenidos generalmente del suelo, asociados naturalmente a las raíces de las plantas, suministrando de forma directa e indirecta nutrientes disponibles como nitrógeno, fósforo, fitohormonas y agua que promueven la sinergia sobre la comunidad microbiana del suelo produciendo efectos favorables en los cultivos (Tarigo et al., 2004; Chirinos et al., 2007).

Las fuentes pueden ser orgánicas, originados de residuos de origen animal o vegetal o inorgánicas producidos por el hombre.

El empobrecimiento químico y físico del suelo es un hábitat negativo para la vida biológica y si no es considerado, se establece un ciclo de decadencia del mismo. Los microorganismos desempeñan un rol fundamental para los procesos de estructuración, reciclaje y aporte de nutrientes.

La FAO reconoce que la biotecnología puede contribuir a elevar la producción agrícola de alimentos, reduciendo el uso de agroquímicos y utilizando microorganismos benéficos del suelo con técnicas de aplicación de inoculantes biológicos (Jiménez Delgado et al., 2001;



Peña & Reyes, 2007). Los biofertilizantes líquidos provocan beneficios entre los que se encuentran, disminuir enfermedades en las plantas, mayor resistencia contra patógenos, inhibir la formación de esporas, aportar antagonistas como parásitos (bacterias que elaboran antibióticos), incrementan el sistema radicular y la capacidad para captar nutrientes mejorando el estado nutricional y la respiración de la biomasa del suelo. La adición de microorganismos que excretan gomas y resinas actúan conjuntamente con las hifas de los hongos y promueven la formación de agregados (Tarigo et al., 2004).

Los biofertilizantes se pueden producir en cámaras o biodigestores por digestión aeróbica y anaeróbica del estiércol o materiales orgánicos. Obteniéndose una fase sólida usada como abono orgánico y una fase líquida rica en nutrientes, compuestos orgánicos y microorganismos, estas células vivas son eficientes fijadoras de nitrógeno, solubilizan el fósforo, potencian diferentes nutrientes y sustancias bioactivas, todos estos componentes aceleran los procesos microbianos permitiendo que la planta aumente la asimilación de nutrientes que mejoran los procesos fisiológicos influyentes sobre el desarrollo y rendimiento de los cultivos. Estos procesos no contaminan el ambiente, utilizan energía renovable y la rizósfera (vecindad de las raíces) es beneficiada en corto plazo (Tarigo et al., 2004).

Los biofertilizantes líquidos anaerobios producen mayor cantidad de elementos nutritivos, coexistiendo diferentes tipos de microorganismos (bacterias, hongos, protozoarios) en diferentes proporciones, según la fase o etapa de la anaerobiosis:

- a) en la hidrólisis y fermentación la materia orgánica es degradada por la acción de bacterias hidrolíticas transformando grasa, hidratos de carbono y proteínas en compuestos simples como ácidos grasos, azúcares y aminoácidos;
- b) en la acetogénesis y deshidrogenación se degradan los alcoholes, ácidos grasos y compuestos aromáticos en ácido acético, CO₂ e hidrógeno;
- c) en la metanogénesis, (CH₄) y CO₂ favorecen la biodigestión y con ello mejoran la cantidad de nutrientes, temperatura y pH. (Tarigo et al., 2004).

La digestión aeróbica de la materia orgánica en medios líquidos, se produce por extracción pasiva donde se colocan estiércol, residuos de plantas, compost o vermicompost en



recipientes con agua, dejándolo varios días hasta que la mayoría de los nutrientes se solubilicen. En el sistema de extracción activa ingresa oxígeno por la remoción del preparado para la digestión de la materia orgánica con lo que aumenta la actividad microbiana.

La calidad y cantidad de nutrientes y microorganismos de un biofertilizante líquido está dado por la naturaleza de la materia orgánica utilizada, según la relación carbono/nitrógeno del material, las características del digestor o extractor, forma o tamaño, variables ambientales, y temperatura de extracción, calidad del agua, uso de suplementos como azúcar, melaza, roca, entre otros para aumentar la actividad microbiana en el preparado (Tarigo et al., 2004).

1.10.2.1.- Microorganismos biofertilizantes y sus mecanismos de acción

El aporte que pueden realizar los microorganismos con potencial biofertilizante es bioestimular para optimizar el crecimiento vegetal. Los microorganismos utilizados para elaborar biofertilizantes no deben afectar al ser humano ni a los animales, sino que deben fijarse, multiplicarse y cumplir sus actividades en el suelo, con cantidades adecuadas de materia orgánica y humedad. Los microorganismos endófitos están instalados en los vegetales encontrándose en los más diversos hábitats. Las primeras evidencias de su existencia se observó en tejidos y hojas fosilizadas, pudiendo inferirse que la asociación planta-endófito aconteció con las primeras plantas en la tierra. Utilizan una variedad de vías metabólicas por la cual se agrupan en organismos especializados usando compuestos orgánicos e inorgánicos. En general, poseen una estructura dinámica afectada por factores bióticos-abióticos que influyen al suelo y a la planta hospedera. Actúan colonizando tejidos internos epidérmicos vivos sin causar daño aparente o efecto negativo inmediato, pueden ser aislados de la superficie o del interior de los tejidos vegetales, de los espacios intercelulares, intracelulares y vasculares. Pero, pueden tornarse microorganismos patógenos bajo ciertas condiciones y/o en relación al genotipo del hospedero. Las vías de ingreso son, mediante los estomas o heridas producidas en la planta y por las áreas donde emergen las raíces laterales, utilizando enzimas hidrolíticas que degradan la pared celular, como sucede con *Azospirillum irakense* y *Pseudomonas fluorescens*, capaces de producir



enzimas celulolíticas y pectinolíticas y metabolitos secundarios que interactúan con microorganismos patógenos aumentando la resistencia de la planta a enfermedades (Pérez et al., 2009).

Su actividad, según la especie, es promover: a) mayor transformación del azúcar en ácido láctico, descomponer proteínas en aminoácidos en anaerobiosis; solubilizar la lignina y celulosa, eliminar los efectos negativos causados por la materia orgánica no descompuesta; b) utilizar sustancias secretadas por las raíces, azúcares y aminoácidos producidos por bacterias fotosintéticas que a partir de la materia orgánica del suelo producen sustancias bioactivas y hormonas que activan la división celular de las raíces brindando metabolitos que utilizarán posteriormente las bacterias lácticas y actinomicetos; c) controlar el desarrollo de microorganismos patógenos mediante sustancias antimicrobianas que generan un ambiente favorable para el desarrollo de microorganismos útiles potenciando entre otros, el accionar de las azotobacterias y micorrizas; d) prevenir la aparición de larvas y otros insectos perjudiciales en la que participan hongos filamentosos eficaces incrementando los ésteres en el suelo, producir alcohol y ácidos orgánicos (Oliveira Leite, M. 2007).

Los biofertilizantes aplicados en suelo y/o semillas favorecen el aprovechamiento de los nutrientes en asociación con la planta o su rizósfera, destacándose las micorrizas, rizobacterias del género *Rhizobium* así como *Bradyrhizobium*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Frankia* y *Beijerinckia*, *Derrxia*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Metanobacterium*, *Clostridium* y *Desulfovibrio*, entre otros (Núñez Sosa et al., 2005; Izaguirre-Mayoral et al., 2007).

Los microorganismos, pueden dividirse en dos grupos: a) *los llamados microorganismos regenerativos* que producen sustancias orgánicas útiles y productos del metabolismo secundario, hormonas y vitaminas que mejoran las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo y, b) *los microorganismos degenerativos*, que producen en su metabolismo primario amonios (NH_4^+), sulfatos (SO_4H^-), mercaptanos y otros compuestos que perjudican a las plantas y endurecen el suelo que incide en la aparición frecuente de plagas y enfermedades en los cultivos (Oliveira Leite, M. 2007).

A medida que se conoce el rol de la biótica, en la rizósfera como los PGPR, las micorrizas



y también los artrópodos, lombrices, nematodos, actinomicetos, hongos, virus y bacterias, permiten la renovación y mantenimiento de esta cadena y contribuyen a la sostenibilidad de las actividades agrícolas (Rodas Pinochet, A. 2008). Los microorganismos PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), son beneficiosos cuando se utilizan cepas compatibles y específicas a los diferentes cultivares y condiciones ambientales reinantes y cumplan los siguientes requisitos: a) no ser invasivas para los tejidos, b) deben tener una adecuada densidad poblacional en la zona rizosférica posterior a su inoculación que les permita competir con la microbiota nativa del suelo, c) gran poder de colonización de la superficie de la raíz, d) no ser perjudiciales para otros microorganismos útiles y para los consumidores. (Jiménez Delgadillo et al., 2001; Peña & Reyes, 2007). Si bien, los mecanismos de acción de estos microorganismos no están totalmente dilucidados, se conocen sus efectos, a) directos: como asociarse a la zona rizosférica, tomando las secreciones y aumentar la movilidad de nutrientes solubles, mejorar la absorción, producir antibióticos y fitohormonas, auxinas, giberelinas, citocininas, gases, etileno, ácidos orgánicos, aminoácidos y péptidos de bajo peso molecular. B) indirectos: producir enzimas que ejercen influencia positiva o negativa sobre los microorganismos allí existentes, aumentar el número de nódulos presentes en las raíces de algunos cultivos incrementándose la fijación de nitrógeno, con mayor actividad nitrogenasa induciendo resistencia sistémica al cultivo que se evidencia con incremento de emergencia, vigor y peso de plántulas, desarrollo del sistema radicular y aumento de rendimiento en cultivos de papa, rábano y trigo (Díaz Vargas et al., 2001; Jiménez Delgadillo et al., 2001; Oliveira Leite, M. 2007; Dibut Álvarez et al., 2009).

Los géneros *Azotobacter* y *Azospirillum* penetran por la raíz para producir fitohormonas fijadoras de nitrógeno que estimulan las raíces laterales y pelos radicales en cultivos como gramíneas (Díaz Vargas et al., 2001). *Azospirillum* spp. interactúa positivamente con bacterias de la rizósfera principalmente con *Pseudomonas* spp. y poblaciones de *Bacillus* promover la absorción de hierro y fósforo, generar mejores rendimientos en los cultivos. Esto constituye una herramienta valiosa en las producciones orgánicas hortícolas de lechuga, acelga, tomate y papa (Rosas, S. 2007).



El género *Azospirillum*, constituye un grupo de rizobacterias capaces de asociarse a diferentes cultivos y estimular el mayor crecimiento del sistema radicular por la producción de fitohormonas que incrementan la movilización y absorción de nutrientes solubles y de agua; fenómeno que se observó en ensayos de lechuga mayor tamaño y calidad de plantas (Díaz Boffil et al., 2003; Rosas, S. 2007). Estas bacterias, fijan el nitrógeno atmosférico asociadas con *Azotobacter chroococcum*, siendo capaces de sustituir a este compuesto entre un 30-50 % y al fósforo hasta un 70 %, con lo que se logra incrementar los rendimientos en cultivos entre 15-30 % (Chirinos et al., 2007).

También, produce fitohormonas, etileno y antibióticos que actúan contra hongos, virus y bacterias perjudiciales (Díaz Boffil et al., 2003). Las bacterias del género *Pseudomonas* ejercen efecto positivo sobre los diversos cultivos hortícolas controlando los hongos fitopatógenos; secretan fitohormonas como auxinas, giberelinas, citoquininas e indolacético que influyen en la germinación, nutrición mineral (nitrógeno, fósforo y potasio), materia seca, utilización del agua y desarrollo de raíces (Díaz Vargas et al., 2001; Santillana Villanueva, N. 2006; Izaguirre-Mayoral et al., 2007).

Cepas de *Pseudomonas fluorescens* producen sideroforos extracelulares, secuestran óxidos férricos convirtiéndolos en elementos asimilables. Estas *Pseudomonas* frente a las sales insolubles de fósforo, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ parcialmente disponibles para el vegetal, ayudan a solubilizarlo, formando fosfatos di y mono cálcico, que son mejor absorbidos por las raíces iniciando la germinación y crecimiento de lechuga (Díaz Vargas et al., 2001).

La fosforina aplicada en el momento del trasplante, actúa sobre el fósforo insoluble presente en el suelo tornándolo disponible y asimilable en forma inmediata por las raíces, participando en los procesos biológicos de división y crecimiento celular, fotosíntesis, respiración, síntesis de ácidos grasos, fosfolípidos, ácidos nucleicos, proteínas y Adenosin Trifosfato (ATP), para incrementar el rendimiento del cultivo (González Anta, G. 2006; Izaguirre-Mayoral et al., 2007) por formar tejidos, órganos y raíces en el vegetal (Inpofós, 2006).



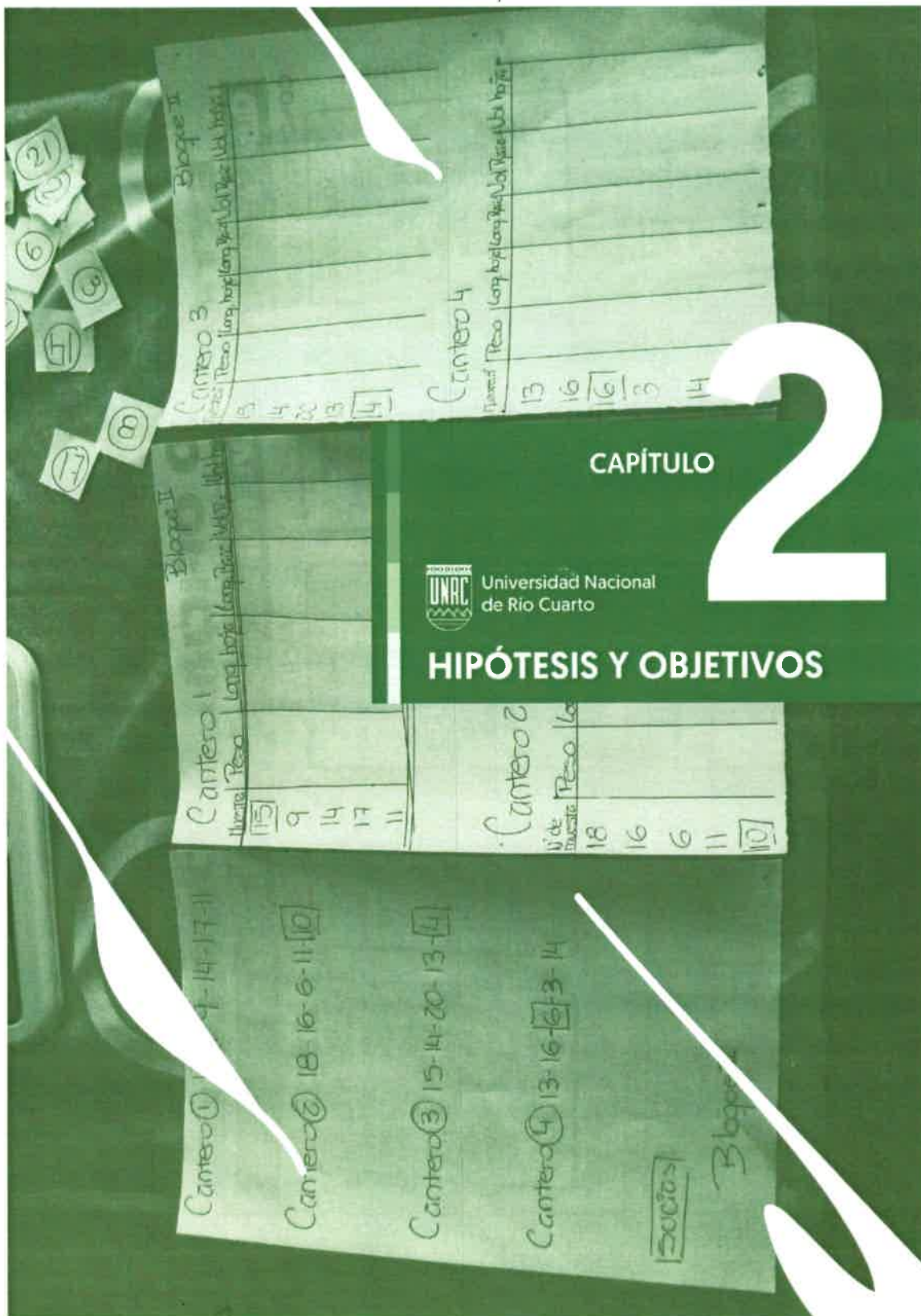
1.10.2.2.- Biofertilizantes en el control de enfermedades y plagas

El control de enfermedades lo realizan gracias a la presencia de metabolitos producidos por los microorganismos que integran el biofertilizante, actuando directamente sobre los patógenos y/o sobre los hospedadores, ya que la comunidad de microorganismos presente es abundante y diversa. Ejercen simultáneamente antibiosis, competencia y parasitismo sobre otros microorganismos como mecanismo de acción antagónica, inducen la defensa del hospedero por la presencia de compuestos orgánicos como son los aminoácidos, las vitaminas y fitohormonas (Tarigo et al., 2004). Son responsables de la descomposición de la materia orgánica liberando metabolitos antibióticos, hormonas y gas. La liberación de sustancias orgánicas es mayor cuando la materia prima es diversificada y activa efectuando un mejor control de las enfermedades cuando los metabolitos son conocidos por los microorganismos de los biofertilizantes y por las plantas. La acción más conocida es la de inhibir el crecimiento de células y hongos que causan enfermedades como por ejemplo *Sclerotinia sclerotiorum* en cultivo de lechuga (Tarigo et al., 2004).

En la producción hortícola, la frecuencia de aplicación de los biofertilizantes es variada, pudiendo aplicarse repetidas veces en distintos momentos del ciclo del cultivo, ya sea incorporándolo en la semilla inmediatamente antes de la siembra, durante el trasplante o en distintos momentos mediante aplicaciones foliares o aún, en el suelo como fertirriego.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO
 FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA



CAPÍTULO

2



Universidad Nacional
de Río Cuarto

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Cantero 1 7-14-17-11
 Cantero 2 18-16-6-11-10
 Cantero 3 15-14-20-13-14
 Cantero 4 13-16-6-3-14
 Bloque I
 Bloque II

Cantero 1	Cantero 2
15	18
9	16
14	6
17	11
11	10

Bloque II
15
9
14
17
11

Cantero 3	Cantero 4
15	13
9	16
14	6
17	11
11	10

6
2
3
4
5
10



CAPITULO 2: HIPOTESIS Y OBJETIVOS

2.1.- Hipótesis

Los biofertilizantes empleados en la producción agroecológica de lechuga (*Lactuca sativa L.*), permiten obtener cultivos con mayor rendimiento, más resistentes a plagas, enfermedades y mejor calidad e inocuidad.

2.2.- Objetivos Generales

Determinar el rendimiento, las cualidades nutritivas y la calidad higiénico-sanitaria de la lechuga (*Lactuca sativa L.*), obtenida en un sistema de producción agroecológico con la adición de biofertilizantes a base de *Azospirillum* spp. y *Pseudomonas* spp.

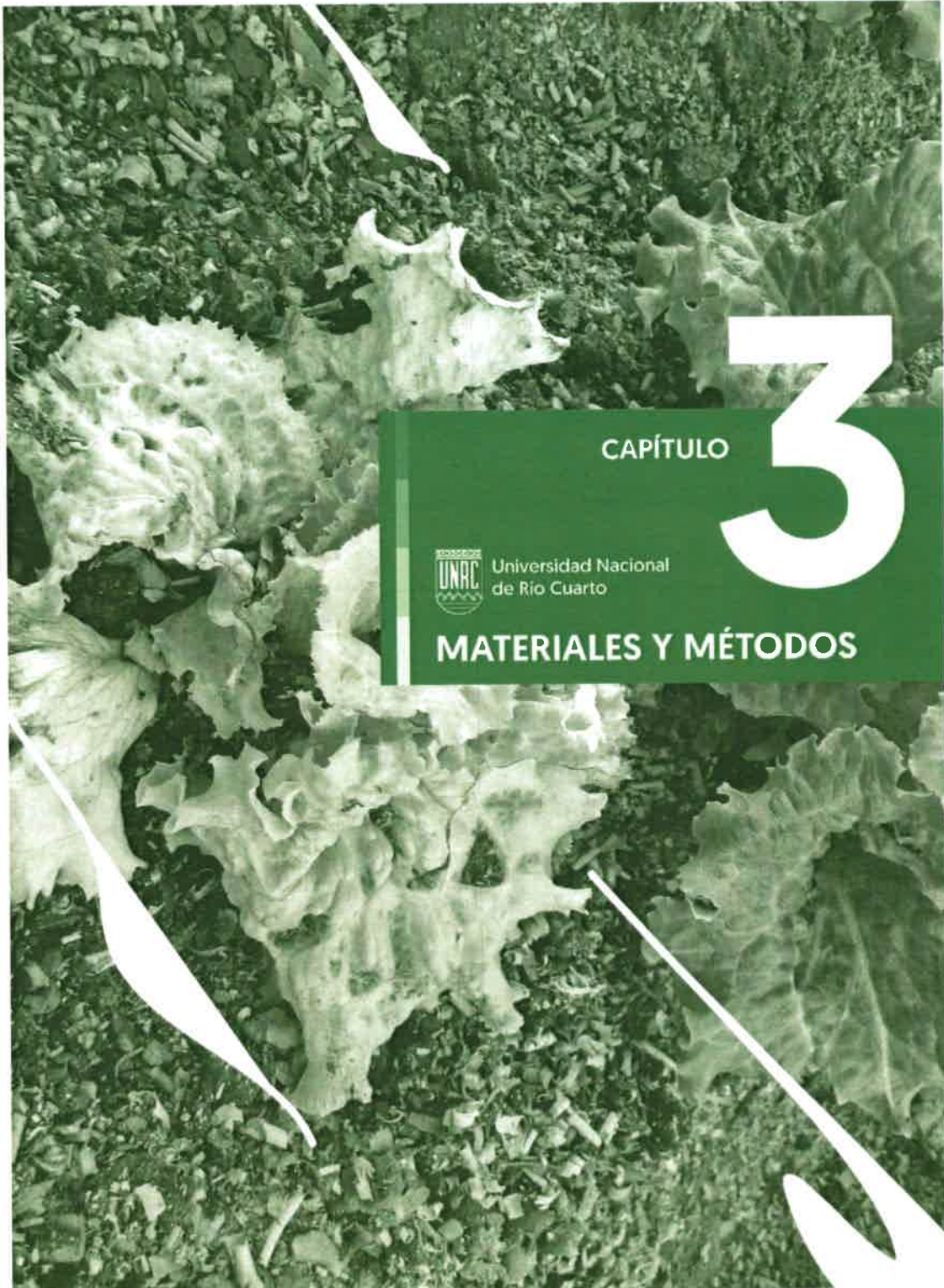
2.3.- Objetivos Específicos

Determinar microorganismos indicadores de inocuidad en muestras de lechuga con y sin la adición de biofertilizantes.

Obtener datos de la productividad de la lechuga cultivada con y sin biofertilizantes.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA



CAPÍTULO

3



Universidad Nacional
de Río Cuarto

MATERIALES Y MÉTODOS



3.- MATERIALES y MÉTODOS

En el estudio se utilizó lechuga (*Latuca sativa L.*) de la variedad Grand Rapids por ser una de las hortalizas más cultivadas en las huertas familiares y porque se adapta favorablemente para ensayos y determinaciones con los biofertilizantes propuestos. Es un cultivo utilizado como indicador por ser de ciclo corto, fácil manejo, de cuantificación sencilla y además, constituir un cultivo hortícola importante en Argentina (Rapaccioli et al, 2000). La variedad seleccionada es de color agradable, textura crocante, no forma cabeza, se puede sembrar en almácigos o al voleo durante todo el año; la cosecha se realiza desde que las plantas han llegado a la mitad de su desarrollo hasta su máximo tamaño (Vigliola, M. 1996; Goites, E. 2008).

3.1.- Referencias, datos climáticos y localización del ensayo

Históricamente, el clima de la región del departamento Río Cuarto, es templado-subhúmedo con régimen de precipitaciones de tipo monzónico concentrado en primavera-verano, el 80% de las lluvias ocurre entre octubre y abril con precipitaciones anuales promedio de 801 milímetros, la T^a máxima media anual es de 23,1°C, la T^a mínima media anual es de 10,2°C. El período libre de heladas es de 256 días extendiéndose desde mediados de septiembre a mediados de mayo. Los vientos predominantes son del NE, con velocidades variables, manifestándose con mayor incidencia en el trimestre agosto-septiembre-octubre (Seiler et al., 1995).

La investigación se realizó durante el otoño – invierno, entre los meses de marzo y agosto de 2013, en una huerta familiar agroecológica perteneciente al programa Pro Huerta del INTA, con ubicación geográfica de latitud 33° 6'23.83" S, Longitud 64°19'07.04" O y una altura sobre el nivel del mar de 438,00 metros, al noreste de la ciudad de Río Cuarto, Provincia de Córdoba, República Argentina (Google Earth, 2015).

Los datos climáticos registrados sobre precipitaciones, temperaturas, humedad relativa ambiente y radiación solar para la zona de cobertura de la experiencia, ocurridos desde la siembra hasta la cosecha (provistos por la estación meteorológica de la UNRC), se muestran en la tabla N° 1



Tabla N° 1 Registro de precipitaciones pluviales y valores promedios de: temperaturas, humedad relativa ambiente y radiación solar.

Año	Mes	Precipitaciones \sum mm	Temperaturas Medias \bar{X} ° C	HR Medias % \bar{X}	Radiación Solar \bar{X} W/m ²
2013	Abril	65	18,15	70,68	19,7
2013	Mayo	14	13,03	70,27	11,8
2013	Junio	0	10,9	60,40	11,26
2013	Julio	0	9,6	62,42	9,9

El análisis de estos parámetros y los valores señalados son adecuados para la producción de lechuga (Vigliola, M. 1996; Tarigo et al., 2004, García Zumel, M. 2013)

El crecimiento de la lechuga tiene relación directa con la radiación solar recibida, que por fotosíntesis influye sobre la velocidad de conversión de nutrientes en productos finales para la planta (Rodas Pinochet, A. 2008).

3.2.- Antecedentes de la huerta

La huerta del ensayo reúne en el espacio características agroecológicas especiales, con vegetales de diferentes ciclos de vida en repuesta a las variables climáticas de cada época que influyen en el perfil de los nutrientes del suelo, diversidad y asociaciones que permiten atraer insectos y alojar una gran variedad de bacterias, virus y hongos. El diseño de la huerta permite mejorar la interacción entre los distintos vegetales cultivados, otros organismos vivos y el ambiente. El espacio soleado, aislado de los animales domésticos y silvestres, protegido de los vientos, con abundante disponibilidad de agua potable y laboreo cotidiano, cuenta con una superficie total de 150 m², de los cuales se utilizaron 100 m², y con cerco perimetral de 2,20 m. de altura. Comenzó a cultivarse en el año 2001, sembrándose ininterrumpidamente hortalizas de hoja, raíz y fruto de todo tipo y variedad, incorporándose gradualmente flores, plantas aromáticas anuales y perennes, frutales como



durazneros, cítricos, etc., con el propósito de mantener e incrementar la biodiversidad del sistema productivo. (Figura N° 1).

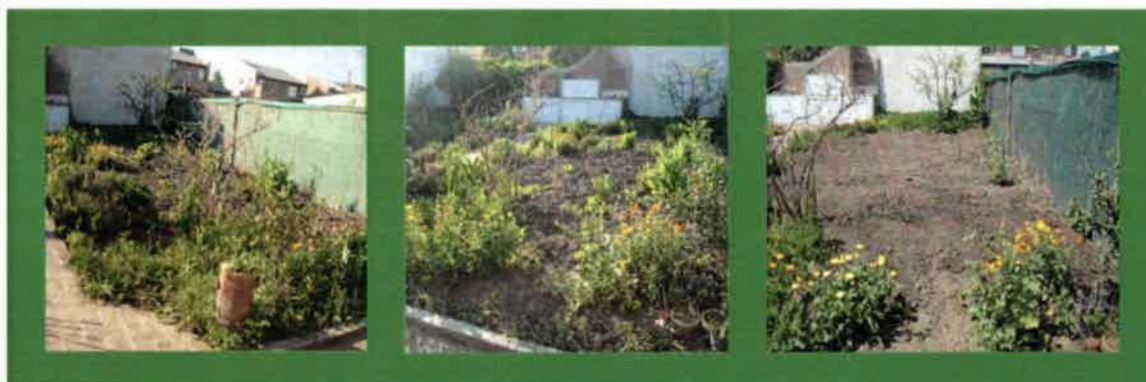


Figura N° 1: Huerta antes comenzar el ensayo.

El suelo de la huerta se caracteriza por ser franco arenoso con partículas menores de limo y arcilla, homogéneo en color y textura, sin pendiente y con buena permeabilidad. Durante los tres primeros años se preparó el terreno zarandeando el suelo con malla metálica hasta una profundidad de 40-50 cm eliminando raíces de gramón (*Cynodon dactylon*), papines de cebollín (*Cyperus rotundus L.*) y rizomas de sorgo de Alepo (*Sorghum halepense*), con desmenuzado adecuado en fracciones pequeñas, mullido, aireado y para favorecer la penetración de raíces de los diferentes cultivos.

Al iniciar la experiencia se tomaron muestras de suelo y humus para estimar fertilidad. El muestreo se realizó sin antecedentes de lluvia, en el primer período decádico del mes marzo, con buena capacidad de campo, ni saturado ni barroso, siendo condiciones óptimas para facilitar la extracción de la muestra, a profundidad adecuada, extrayendo las diferentes submuestras, recolectándolas en baldes plásticos.

Se realizó el recorrido en diagonal a pie y cada 2 pasos se retiró la cobertura vegetal, luego con la pala se extrajo a una profundidad de 18 – 20 cm, 10 submuestras con un peso de 1000 g. cada una, se roturaron obteniendo terrones de 1(un) cm aproximadamente se mezclaron, homogeneizaron y, con la técnica de cuarteo se obtuvieron 500 g para la muestra final, colocada en bolsa plástica correctamente rotulada e identificada.

La muestra fue transportada al laboratorio de la UNRC, para el análisis de materia orgánica, contenido de nitrógeno, fósforo, potasio, pH y recuento de microorganismos



aerobios y anaerobios facultativos mesófilos viables totales (RAT), mediante la metodología analítica oficial de la AOAC. (1990) registrándose los valores que conforman la tabla N° 2.

Tabla N° 2 Valores registrados del análisis de muestras de suelo antes del comienzo del ensayo.

Materia Orgánica	Nitrógeno de Nitratos ppm	Nitratos ppm	Fosforo ppm	Potasio cmol/kg	pH	RAT UFC/ml
3,30 %	7,93	35,1	39,30	1,43	7,71	6 x 10 ⁶

El muestreo del humus se hizo esparciendo 50 kg de humus de caballo sobre un lienzo plástico de 4 m², se extrajeron 10 submuestras de 500 g cada una desmenuzadas finamente, mezcladas y homogeneizadas. Por la técnica de cuarteo, se obtuvo la muestra definitiva de 500 g envasada en bolsa plástica rotulada e identificada y trasladada al laboratorio para el análisis de relación carbono/nitrógeno, pH y recuento de microorganismos aerobios y anaerobios facultativos mesófilos viables totales (RAT) utilizándose la metodología analítica oficial de la AOAC (1990). Cuyos valores que se muestran en la tabla N° 3

Tabla N° 3 Valores obtenidos del análisis de muestras de humus antes del comienzo del ensayo.

Relación C/N	pH	RAT UFC/ml
13:1	7,11	6 x 10 ⁶

El laboreo del terreno se realizó con herramientas manuales, Primero se roturó la tierra con laya doble, luego el rastrillado para emparejar y preparar los canteros. El agua utilizada para el riego es la provista por la red domiciliaria de la ciudad de Río Cuarto.

3.3.- Diseño de la investigación

La investigación se realizó aplicando el diseño estadístico de bloques completos al azar con 4 repeticiones. Donde cada bloque ubicado en sentido este-oeste contuvo 4 canteros para aplicar los diferentes tratamientos; ocupando cada uno de ellos una superficie total de 9,6 m². Se marcaron en total 16 canteros, donde a lateral de cada uno de ellos, se dejó un



surco con plantas de lechuga que no se incluyeron en el muestreo para evitar el efecto borde (Rosselló & Fernández de Gorostiza, 1993).

Las dimensiones de cada cantero fueron de 2 m de largo por 1,20 m de ancho; en su interior se marcaron los surcos a una distancia de 0,30 m, se extrajeron los plantines de lechuga de los speedling y se trasplantaron en surcos a una distancia de 0,20 m entre plantines. Los canteros fueron separados por caminos de 0,40 m de ancho y los bloques por caminos de 0,80 m (Figura N° 2).

La prevención de plagas, insectos y enfermedades se realizó mediante control biológico incorporando la siembra de ajos (*Allium sativum*) variedad blanca, alrededor de cada cantero y a una distancia de 0,10 m y entre los bloques y alrededor de todo el perímetro se sembró plantas de caléndula (*Caléndula officinalis* L.) por su poder repelente (Orecchia & Angeleri, 2011).

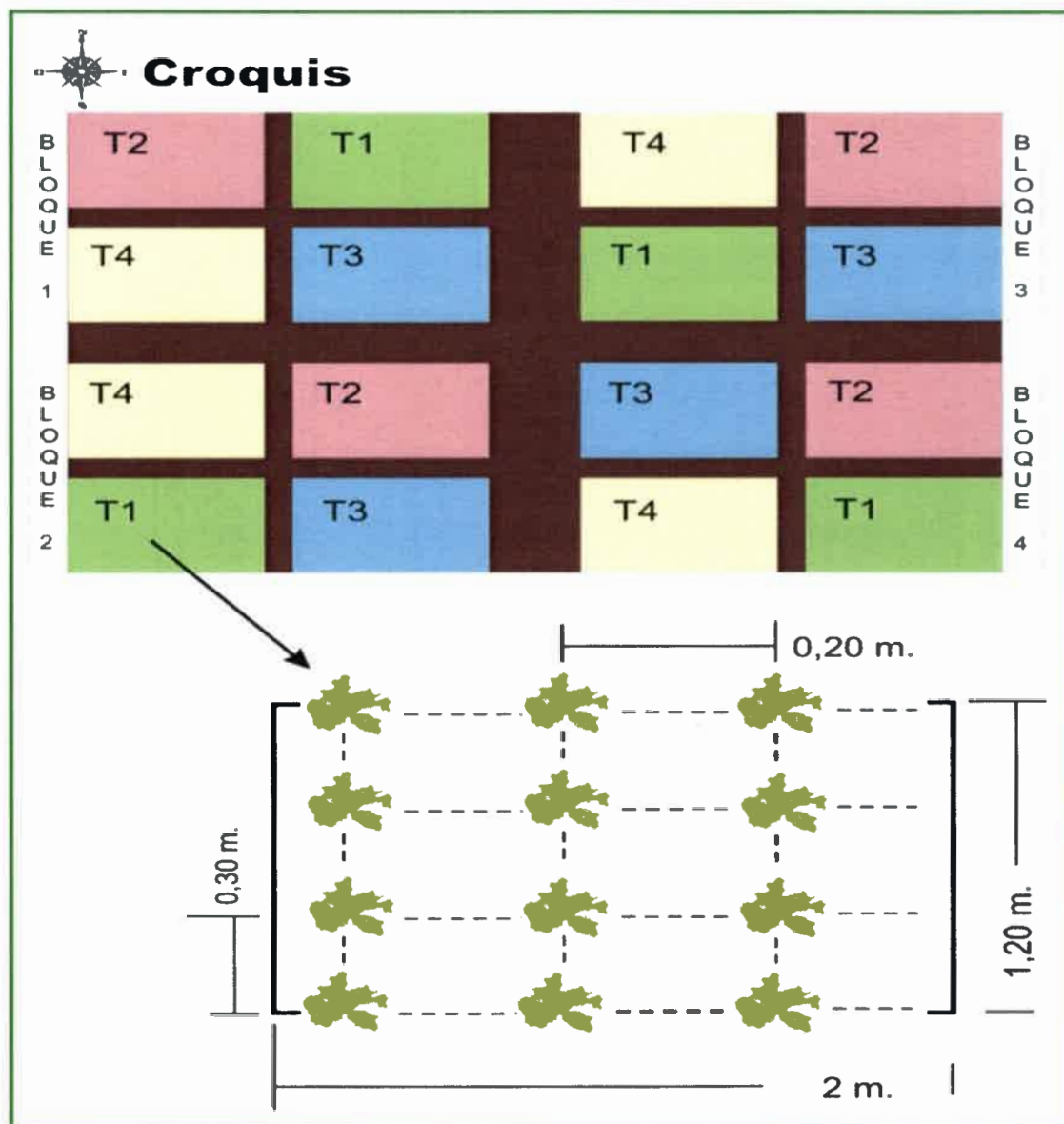


Figura N° 2.- Esquema del ensayo, orientación y detalle del cantero.

3.4.- Manejo del cultivo

3.4.1.- Elaboración de almácigos (speedling) En este trabajo de investigación se utilizaron semillas de lechuga variedad Grand Rapids provistas por el programa Pro Huerta con certificación del poder germinativo del 92 %. (Figura N° 3)



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA



Figura N° 3: Semillas Grand Rapid en su envase original.

La producción de los plantines de lechuga es una etapa considerada importante en la producción del cultivo, por la influencia en el desarrollo final de las plantas. Por ello deben utilizarse semillas de la variedad adecuada para cada región, de calidad y con alto vigor, con buen poder germinativo y homogeneidad en la germinación.

La preparación de los almácigos se hizo por duplicado utilizando humus estabilizado de guano de caballo y suelo de la huerta finamente desmenuzado con los que se elaboraron los distintos sustratos, que se incorporaron en bandejas plásticas de color negro, con 288 celdas de 10 cc cada una. En primera instancia se cargaron 2 bandejas solo con suelo (100 %) como sustrato para la preparación P₁, luego 10 bandejas con sustrato compuesto por una mezcla de suelo (60%) y humus (40%) agregado a las preparaciones P₂, P₃, P₄, P₅ y P₆ logrando la suma total de 12 bandejas, con 2,5 kg de sustrato por cada una (Figura N° 4).



Figura N° 4.- Preparación de speedling y nacimiento de plantines de lechuga.

Una vez dispuestos los almácigos en las bandejas se procedió a la siembra de dos semillas por celda, cubriéndolas con una fina capa de sustrato compuesta por suelo o suelo con humus según tratamientos.

La aplicación del biofertilizante se realizó posteriormente con los materiales descriptos a continuación: pipetas automáticas de 1 ml , probetas de 200 y 1000 ml, respectivamente, agua destilada, agua de lluvia colectada en recipiente plástico de 20 litros, dos envases cerrados con medios líquidos apropiados para mantener la viabilidad de los microorganismos. A) *Pseudomonas* spp. y b) *Azospirillum* spp. A continuación se describen las siguientes fases de dosificación e incorporación.

Fase 1:

Se tomó una probeta de 1000 cc y se colocó con jarra plástica 998 ml agua de lluvia, luego con pipeta automática se tomó 1 ml del medio líquido con *Azospirillum* spp. y 1 ml con *Pseudomonas* spp. hasta completar 1000 ml, obteniéndose el biofertilizante con una concentración de 10^5 UFC/ml aplicándolo finalmente con regadera plástica en forma suave sobre todas las bandejas de las preparaciones P₃..

Fase 2:

Utilizando la probeta de 200 ml se extrajeron 100 ml del medio líquido con *Azospirillum* spp. para verterlos a la probeta de 1000 ml. Seguidamente en otra probeta de 200 ml se tomaron 110 ml del medio con *Pseudomona* spp. para añadirlos a la probeta de 1000 ml,



completándose con agua de lluvia hasta esa capacidad; y con mezclado lento, se obtuvo la concentración de 10^7 UFC/ml del biofertilizante incorporándolo con regadera plástica suavemente sobre las preparaciones P₄.

Fase 3:

Utilizando la probeta de 200 ml se extrajeron 110 ml del medio líquido con *Azospirillum* spp. Para verterlos a la probeta de 1000 ml, que se completó con agua de lluvia, obteniéndose el biofertilizante a la concentración de 10^7 UFC/ml aplicándolo con regadera plástica en forma suave sobre todas las bandejas de las preparaciones P₅

Fase 4:

En esta instancia se procedió con las diluciones de la misma manera que en la fase 3 pero usando aquí *Pseudomonas* spp. Obteniéndose así la dosis de 10^7 UFC/ml del biofertilizante, aplicándolo con regadera plástica en forma suave sobre todas las preparaciones P₆.

Entre una y otra preparación de los biofertilizantes se lavaron los elementos utilizados con agua destilada.

Fase 5:

Se regaron los almácigos, con las preparaciones P₁ y P₂, utilizando solamente agua de lluvia en forma suave con una regadera.

Finalmente todas las bandejas (speedling) se protegieron con fina capa de paja de cebadilla seca picada, se identificaron y dispusieron en piso de un invernadero rectangular de 6 m², de 1,20 m de altura, 2 m de ancho y 3 m de largo; forrado con nylon de 200 micrones, permaneciendo hasta el trasplante.

Según INPOFÓS (2006) cuando se inicia la germinación, en las raíces se produce una gran actividad metabólica donde se evidencia el mayor pasaje de minerales, entre ellos fosforo, presentes en el sustrato al interior de la planta; se desarrolla mayor actividad respiratoria, trascolándose carbohidratos de las hojas para el crecimiento y formación de nuevas raíces.

3.4.2.- Caracterización de los plantines en almácigos (speedling). La emergencia del cultivo se produjo tres días después de la siembra, a la semana se realizó el raleo de los plantines más débiles. Las preparaciones fueron:



- a) Preparación P₁: Suelo (Testigo).
 - b) Preparación P₂: Suelo (60 %) más humus (40%) (*).
 - c) Preparación P₃: Suelo (60 %) con el agregado de humus (40%) (*) y biofertilizante constituido por *Azospirillum* spp. y *Pseudomonas* spp con una concentración de 10⁵ UFC/ml (**)
 - d) Preparación P₄: Suelo (60 %) con el agregado de humus (40%) (*) y biofertilizante constituido por *Azospirillum* spp. y *Pseudomonas* spp con una concentración de 10⁷ UFC/ml (**)
 - e) Preparación P₅: Suelo (60 %) con el agregado de humus (40%) (*) y biofertilizante constituido por *Azospirillum* spp con una concentración de 10⁷ UFC/ml (**)
 - f) Preparación P₆: Suelo (60 %) con el agregado de humus (40%) (*) y biofertilizante constituido por *Pseudomonas* spp con una concentración de 10⁷ UFC/ml (**)
- (**) Biofertilizantes. Producidos en la Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales de la UNRC. (Proyecto PICT-Start Up N° 01868/07).
- (*) Humus de caballo.

Transcurridos 15 días de la siembra, se extrajo una muestra de 3 plantines de cada preparación, que fueron lavados con agua para retirar todo el sustrato, con cinta milimétrica se midieron la longitudes de las raíces y hojas y se observó el color de las mismas.

Para el trasplante, se seleccionaron los plantines más vigorosos y se evaluó el crecimiento y desarrollo, para inferir la influencia que tuvo cada preparación en el desarrollo de las partes.

3.4.3.- Trasplante de plantines y aplicación de tratamientos: Transcurridos 28 días en almácigos se realizó el trasplante de plantines con 3 a 4 hojas desarrolladas de las preparaciones (P₁, P₂, P₃ y P₄), con su respectivo pan de tierra. Se efectuaron los cuatro tratamientos (T₁, T₂, T₃, T₄) en el periodo de tiempo hasta la madurez óptima para cosecha.

Tratamiento T₁: suelo finamente desmenuzado, considerándose como tratamiento testigo.

Tratamiento T₂: suelo finamente desmenuzado al que se le incorporó humus.

Tratamiento T₃: suelo finamente desmenuzado con la incorporación de humus y



biofertilizante con las cepas de *Azospirillum* spp. y *Pseudomonas* spp. con dosis de 10^5 UFC/ml en medio líquido como soporte.

Tratamiento T₄: donde se utilizó suelo finamente desmenuzado con la incorporación de humus y biofertilizante con las cepas de *Azospirillum* spp y *Pseudomonas* spp con dosis de 10^7 UFC/ml en un medio líquido como soporte.

En los surcos, los plantines fueron trasplantados a una distancia de 0,30 m y a una profundidad de 0,05 m y a 0,20 m entre plantines, luego como lo sugieren Añez & Espinoza (2003) se esparció superficialmente una capa fina de humus (2,4 kg) en los canteros de los tratamientos T₂, T₃ y T₄ alrededor de cada plantín. La cantidad utilizada es la que aplican regularmente los huerteros del programa Pro Huerta.

La dosis del biofertilizante utilizado en cada tratamiento fue el recomendado por sus fabricantes: 10^5 UFC/ml para (T₃) y 10^7 UFC/ml para (T₄), incorporándose 2500 ml de agua de lluvia por cada cantero.

3.4.4.- Preparación e incorporación de biofertilizantes al trasplante y labores culturales. Los materiales utilizados fueron los siguientes: pipetas automáticas con capacidad de 1 ml, probetas de 200 ml y 1000 ml respectivamente, agua destilada, agua de lluvia colectada y almacenada en recipiente plástico con tapa y 20 litros de capacidad, 2 envases cerrados con biofertilizantes uno con *Pseudomonas* spp. y el otro con *Azospirillum* spp., en medio líquido apropiado para mantener a los microorganismos viables.

Etapa 1.-

En una probeta de 1000 cc se agregaron 998 ml agua de lluvia contenida en una jarra plástica y con pipetas automáticas se añadieron 1 ml del medio líquido con *Azospirillum* spp. y 1 ml del medio líquido con *Pseudomonas* spp., respectivamente hasta completar los 1000 ml, obteniéndose el biofertilizante a una concentración de 10^5 UFC/ml. La aplicación se realizó con mochila pulverizadora manual como fina llovizna, cercana y en forma circular alrededor de cada plantín, sin mojar las hojas a todos los tratamientos T₃, repitiendo el proceso hasta lograr un buen mojado en el lugar de trasplante.

Etapa 2.-

Con probeta de 200 ml se midieron 100 ml del medio líquido con *Azospirillum* spp., que se



agregaron a la probeta de 1000 ml, seguidamente se adicionaron 110 ml del medio con *Pseudomonas* spp., a la probeta de 1000 ml completándola con agua de lluvia. Por mezclado lento se obtuvo el biofertilizante a una concentración de 10^7 UFC/ml., aplicándose luego con mochila pulverizadora manual vertiéndose como el tratamiento anterior sin mojar las hojas al tratamiento T₄, repitiendo el proceso hasta lograr un buen mojado en el lugar de trasplante (Figura N° 5). Por último, se enjuagaron los recipientes usados con agua de lluvia.



Figura N° 5.-Aplicación de biofertilizantes al momento de trasplante.

Etapa 3.-

Los plantines de los tratamientos T₁ y T₂ fueron regados con agua potable y los tratamientos T₃ y T₄, con agua de lluvia para que no incida en los resultados del ensayo.

Etapa 4.-

A continuación se adicionó a toda la superficie de la unidad demostrativa, dejando libre la parte aérea de cada plantin, una cobertura vegetal seca constituida por viruta de madera y pasto seco de 0,8 a 0,10 m de espesor a fin de proteger el suelo, conservar la humedad y evitar los cambios bruscos de temperatura y la aparición de malezas. Finalmente y hasta la cosecha, se controló la capa superficial del suelo con las yemas de los dedos para determinar necesidades de humedad del cultivo, realizándose el riego con agua potable a manera de llovizna fina, evitando exceso o escasez.

Durante el ciclo del cultivo se desarrollaron tareas de laboreo correspondiente a desmalezado, carpidas, aporques y manejo preventivo e integrado de plagas y



enfermedades. Para prevenir el ingreso de hormigas, se utilizó tierra de diatomea e hilos y as de colores, para controlar el asentamiento de los pájaros (Figura N° 6).



Figura N° 6.- Cultivo de lechuga antes de la cosecha

3.4.5.- Crecimiento y desarrollo

Se evaluó el crecimiento y desarrollo de la planta de lechuga por medición de longitud de hojas durante el periodo de tiempo comprendido desde el trasplante del plantín hasta la cosecha de la planta con grado de madurez óptima para su consumo.

3.4.5.1.- Medición longitud de hojas

Se midieron 20 plantas por bloque correspondientes a los tratamientos T_1 , T_2 , T_3 y T_4 (5 plantas por cada T), haciendo un total de 80 plantas. Las hojas fueron medidas con cinta tomando como base la unión de la raíz y el tallo hasta el extremo superior del ápice de la hoja más larga de la planta. Se realizaron cuatro mediciones a lo largo del período de crecimiento de la planta (92 días) para determinar el grado de evolución del cultivo (Figura N° 7).



Figura N° 7.- Medición de longitud de hojas pre y post cosecha.



3.5.- Cosecha

Las plantas de lechuga se observaron regularmente para detectar presencia de enfermedades, monitorear su evolución y periodo de maduración (presencia de látex) sin sabor amargo. Tal como sugiere Di Benedetto, A. (2005), transcurrido el periodo de 92 días posteriores al trasplante, cuando la planta logró el grado de madurez óptima para consumo y un peso fresco mínimo de 110 g se inició la cosecha. Se recolectaron plantas al azar entre las 07:45 y 08:15 horas, coincidente con el momento más fresco del día. Las muestras se extrajeron de la siguiente manera: plantas enteras rodeadas por su pan de tierra y las destinadas al estudio microbiológico cortadas al ras del suelo, retirando las hojas externas deterioradas.

3.5.1.- Toma de muestras

Las plantas enteras cosechadas fueron inmediatamente acondicionadas para su procesamiento en laboratorio. Cada planta fue lavada con agua potable, en un recipiente por inmersión y colocada en canastos plásticos perforados de 0,50 m de largo por 0,35 m de ancho y 0,24 m de alto sobre una mesada para retirar el exceso de agua a una temperatura ambiente de 15 °C. Posteriormente, las muestras fueron colocadas en bolsas de polietileno y en conservadora de poliestireno con geles refrigerantes y almacenadas en refrigerador a una temperatura de 5 a 7 °C.

3.6.- Análisis de las muestras

A partir de las muestras obtenidas se evaluaron las características en cuanto a crecimiento, rendimiento, pérdida de peso pos cosecha, calidad microbiológica y nutricional.

3.6.1.- Rendimiento final: Al momento de la cosecha se utilizaron 2 muestras por tratamiento con 8 plantas por bloque (Total= 32 plantas) para determinar el peso fresco de hojas y raíces, contenido nutricional y sólidos solubles como parámetros indicadores de rendimiento final.

3.6.1.1.- Determinación de peso fresco: Las muestras fueron lavadas con agua potable en recipientes plásticos de 20 l, repetidas veces hasta obtener hojas y raíces limpias. Se procedió a determinar el peso fresco de raíces y hojas con balanza digital



(Electronic Compact Scale, modelo SF-400) y la medición del peso se realizó, primero de la planta completa, luego la raíz y por último el área foliar de cada muestra.

3.6.1.2.- Medición de volumen de hojas y raíces: Al momento de la cosecha se tomaron 5 plantas por cada tratamiento evitándose el efecto borde, sumando un total de 20 plantas por bloque (80 plantas en total), se extrajeron las plantas seleccionadas con abundante pan de tierra, cuidando de no romper las raíces, luego las plantas fueron lavadas de acuerdo al procedimiento anterior. Utilizando el principio de Arquímedes, se procedió a medir el volumen de la raíz y la hoja de cada planta en cuatro etapas:

Etapas 1: Se tomó un recipiente plástico profundo con capacidad para 6 litros, se colocó agua potable hasta el ras del borde superior, luego se procedió a sumergir totalmente y de manera lenta cada planta de lechuga sin su raíz, produciéndose el desplazamiento del volumen de agua hacia fuera del recipiente, retirándose la planta lentamente hacia arriba dejando escurrir completamente el agua de sus hojas sobre dicho recipiente, agregándose luego la cantidad de agua faltante medida con una probeta graduada para enrasar nuevamente el recipiente y proseguir con la siguiente muestra.

Etapas 2: Para medir el volumen de las raíces se utilizó una probeta graduada de 250 ml de capacidad colocando agua potable hasta el ras del borde superior, se sumergió cada raíz lentamente, se retiró de la misma manera para el escurrimiento del agua y se incorporó con una pipeta graduada el volumen de agua desplazado.

Etapas 3: En una planilla al efecto, se registraron los datos de los volúmenes de agua desplazados por cada hoja y raíz.

Etapas 4: Las plantas pertenecientes a cada tratamiento se colocaron en bolsas de polietileno debidamente rotuladas e identificadas y se las ubicó en conservadoras para su traslado al laboratorio (Figura N°.8).



Figura N° 8: Recipiente para medición de volumen, canasto de escurrido y muestras de lechuga envasadas.

3.6.1.3.- Medición de pérdida de peso pos cosecha: Con el fin de conocer la merma del peso y el tiempo, se estimó la duración del producto en condiciones organolépticas óptimas para su consumo, para ello, se ensayaron diferentes condiciones ambientales desde el momento de cosecha hasta marchitamiento.

Se tomaron 2 muestras por cada tratamiento con un total de 8 plantas por bloque (32 plantas en total). Las plantas fueron pesadas y las muestras se dividieron en dos grupos:

- 16 muestras se conservaron sin refrigerar a temperatura y humedad relativa ambiente (Figura N° 9) y,
- 16 muestras fueron conservadas a una temperatura de 5 a 7 °C en refrigerador colocando las bandejas dentro de bolsas de polietileno (Figura N° 10).



Figura N° 9: Muestras de lechuga observando pérdida de peso en ambiente natural.



Figura N° 10: Muestras de lechuga, observando pérdida de peso en refrigerador.

Para constatar la pérdida de peso de cada planta se realizaron registros diarios y registro de Tª y HR de los dos ambientes ensayados con termómetro digital (Digital Thermometer 4er Set FT0042 LCD Display Hygrometer Temperatur Raumklima) para refrigerador e higrómetro de bulbo húmedo-seco Scheitler para ambiente natural, respectivamente. Las mediciones fueron realizadas hasta observar marchitez de las plantas.

3.6.2.- Determinaciones químicas

3.6.2.1.- Contenido de nutrientes y pH: En las muestras de lechuga sobre base seca, se determinó el porcentajes de: a). materia seca (MS %), b). cenizas (C %), c). proteína bruta (PB %), d). extracto etéreo (EE %), e). fibra detergente neutro (FDN %).

Y sobre base húmeda se determinó el porcentajes de: a- Cenizas (C %), b- proteína bruta (PB %), c- extracto etéreo (EE %), d- fibra detergente neutro (FDN %) y e- potencial de hidrógeno (pH). Las determinaciones de PB, se obtuvieron a partir del contenido del nitrógeno total presente en las muestras de lechuga a través del método de Kjeldahl, la fibra detergente neutro (FDN) se realizó por el método de los Detergentes de Van Soest. El EE, se determinó con la técnica de extractor de Soxhlet completo y por último se realizó la medición del pH con pehachimetro, de acuerdo a métodos oficiales (AOAC, 1990).

3.6.2.2.- Sólidos solubles: Se realizó a través del índice de refractometría registrándose Tª ambiente de 22,5 °C y HR de 35 %. Se tomaron 3 hojas de cada planta y se pesaron muestras de 10 g de cada tratamiento con balanza digital que fueron mezcladas con las del mismo tratamiento de cada bloque. Luego se picaron y procesaron con un triturador



(Mixer Philips modelo HR 1364 de 600 w) para facilitar el proceso manteniendo separados los residuos del jugo vegetal. Se agregaron dos gotas del jugo para determinar el tenor de sólidos solubles que fue medido con un refractómetro manual [Hand Held Refractometer modelo ZGRB-32 (ATC)]. Por lectura directa, se comprobaron y registraron los grados brix de cada muestra según la metodología de Silva et al. (2011).

3.6.3.-Determinaciones microbiológicas.

3.6.3.1.- Recuento de aerobios mesófilos viables totales en sustrato de plantines: Transcurridos 28 días de la siembra se extrajo una muestra de 10 plantines con sus respectivos panes de tierra de cada tratamiento, fueron embolsados e identificados y trasladados en refrigeradora para ser analizados en el laboratorio

3.6.3.2.- Recuentos microbiológicos en área foliar: se seleccionaron 5 plantas por cada tratamiento sumando un total de 20 plantas por bloque (Total = 80). Como en los procedimientos anteriores las plantas extraídas fueron lavadas y escurridas.

Una (1) muestra se colocó en otro recipiente plástico y solo fueron sometidas a proceso de lavado con agua potable las raíces, dejando sucias las hojas. Todas las muestras debidamente identificadas se trasladaron refrigeradas al laboratorio para su análisis.

Se utilizaron 50 g de muestras homogeneizadas en diluyente agua de peptona y se realizaron diluciones decimales seriadas, según la metodología (ICMSF, 1983); realizándose las siguientes determinaciones:

3.6.3.2.1- Recuentos de: a) microorganismos aerobios y anaerobios facultativos mesófilos, viables y totales; b) coliformes totales y presencia/ausencia de *Escherichia coli* y c) hongos y levaduras

Los recuentos para a, b y c fueron realizados en placas 3MTM Petrifilm™, según procedimientos estandarizados.

3.6.3.2.2- Presencia/ausencia de *Salmonella* spp. Se utilizaron 25 g de muestra según la metodología ISO 6579:2002. Para el aislamiento y la identificación del microorganismo se realizaron cinco pasos:

Enriquecimiento no selectivo; se colocaron 25 g de la muestra en 225 ml de agua de Peptona Bufferada (BPW) y se incubó a 37 °C durante 18-24 horas



- Enriquecimiento selectivo: se transfirió 1 ml del cultivo de enriquecimiento no selectivo en un tubo con 10 ml de caldo Tetratonato y 0,1 ml en otro tubo con 10 ml de Caldo Rappaport-Vassilladis. Los tubos se incubaron a 37 °C durante 24 horas.
- Siembra en placas de Petri, con agar selectivo y diferencial: a partir de los cultivos de enriquecimiento selectivo se sembró en estrías por agotamiento para obtener colonias aisladas en los medios:
 - ☞ Agar *Salmonella-Shigella*: colonias entre incoloras y rosa pálido, opacas y traslúcidas. Algunas cepas dan centro negro.
 - ☞ Agar Bismuto-Sulfito: colonias pardas, grises a negro con brillo metálico. El medio que las rodea es, por lo general, oscuro al principio volviéndose negro a medida que aumenta el periodo de incubación.

Las placas fueron incubadas a 37 °C por 24-48 h. Y a partir de colonias típicas se realizaron las pruebas bioquímicas y serológicas correspondientes.

- Identificación por pruebas bioquímicas: a partir de cultivos puros se realizaron las pruebas de Indol, Rojo de Metilo, Voges-Proskauer, utilización de Citrato, TSI (Triple Sugar Iron), Fenilalanina, Urea y Descarboxilación de Lisina.
- Estudio de características serológicas: se realizó con las cepas que dieron pruebas bioquímicas típicas. El análisis antigénico se ejecutó por aglutinación somática empleando antisueros polivalentes OS-A y OS-B.

3.6.4.2.3- Presencia/ausencia de: Endofíticos *Azospirillum* spp y *Pseudomonas* spp.

a) Se cosecharon 5 plantas al azar por cada tratamiento, (Total = 80 muestras) entre todos los bloques. Se siguió el procedimiento de rutina en cuanto ha lavado, escurrimiento, rotulado, refrigerado y traslado al laboratorio de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, UNRC.

b) Se efectuó el procesamiento de las muestras con las diferentes partes de 5 plantas de cada tratamiento, que se lavaron nuevamente con agua de grifo y sumergidas en hipoclorito de sodio al 5% durante 3 minutos, enjuagándose 3 veces con agua destilada estéril.



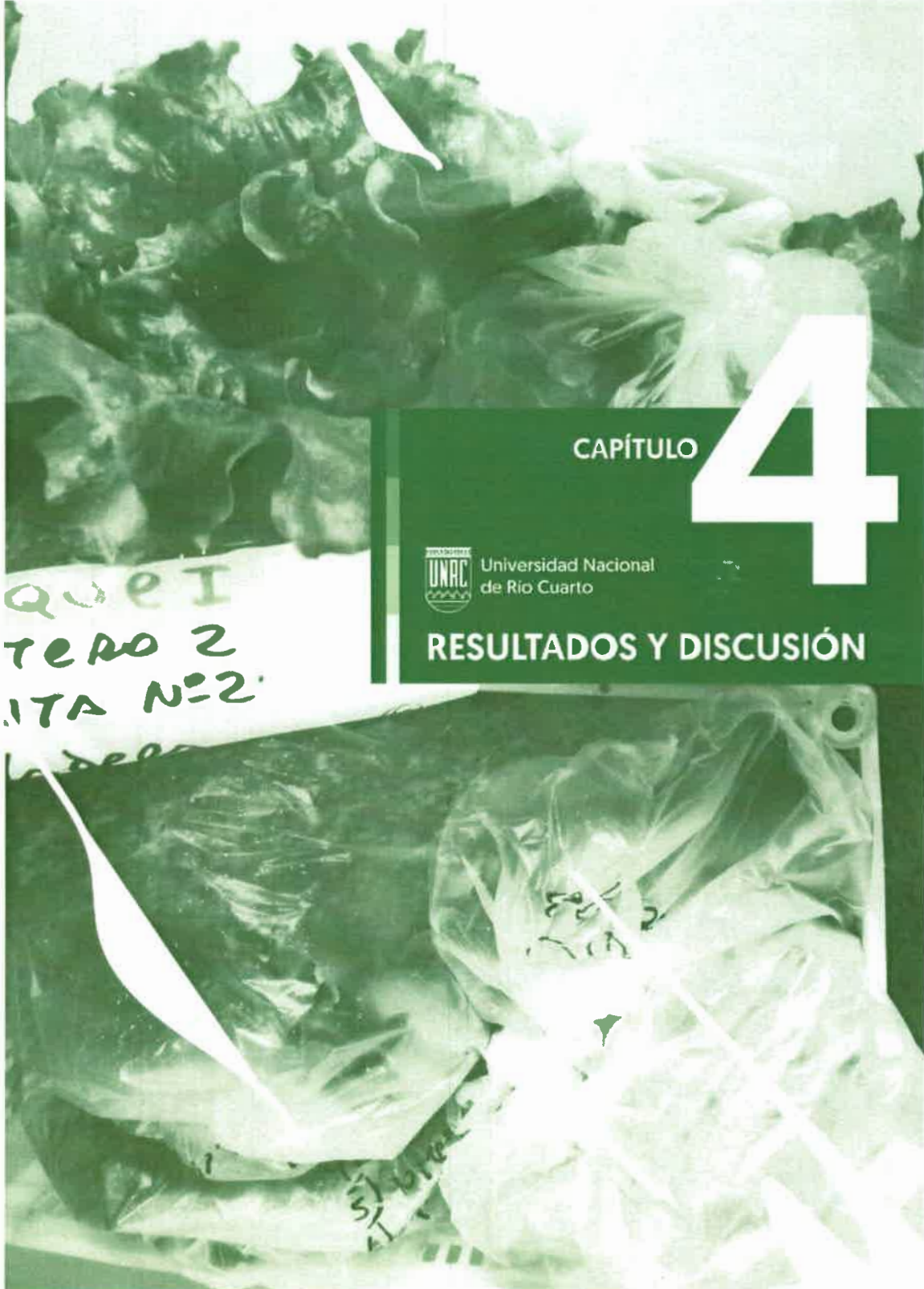
- c) Las muestras de tallos y raíces desinfectadas se pesaron y homogenizaron en una solución estéril de sacarosa al 1%, utilizando un mortero estéril. Se empleó un volumen de diluyente suficiente para obtener una dilución 1/10. Se continuó realizando diluciones seriadas hasta 10^8
- d) Se realizó la siembra en placas en medio sólido de Caldo Trypticasa Soya (TSB) al 25%, con los antibióticos marcadores de las cepas en estudio, utilizando diluciones 10^1 , 10^4 , 10^6 y 10^8 , respectivamente.
- e) Las placas fueron incubadas a 30°C durante 7 días y se determinó la concentración de endófitos cuyo resultado se expresó en UFC/ml.
- f) Se realizó siembra en placas de medio sólido TSB (caldo tripticasa soya) al 25 %, con los antibióticos marcadores de las cepas en estudio, utilizando diluciones 10^1 , 10^4 , 10^6 y 10^8 , respectivamente.
- g) Los medios de cultivo fueron incubados a 30°C durante 7 días y se determinó la concentración de endófitos cuyo resultado se expresó en UFC/ml.

3.7 Análisis estadístico

La investigación se desarrolló con diseño de bloques al azar como lo sugiere Oliveira Leite (2007). Se realizó estadística descriptiva y analítica para observar distribución, medidas de tendencia central y dispersión se consideró ($P < 0,05$) como diferencia estadísticamente significativa. Los datos fueron procesados con los programas estadístico Infostat V. 2008 en español, el programa Excel, y SPSS 15 en español



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA



CAPÍTULO

4



Universidad Nacional
de Río Cuarto

RESULTADOS Y DISCUSIÓN



4.0 RESULTADOS Y DISCUSION

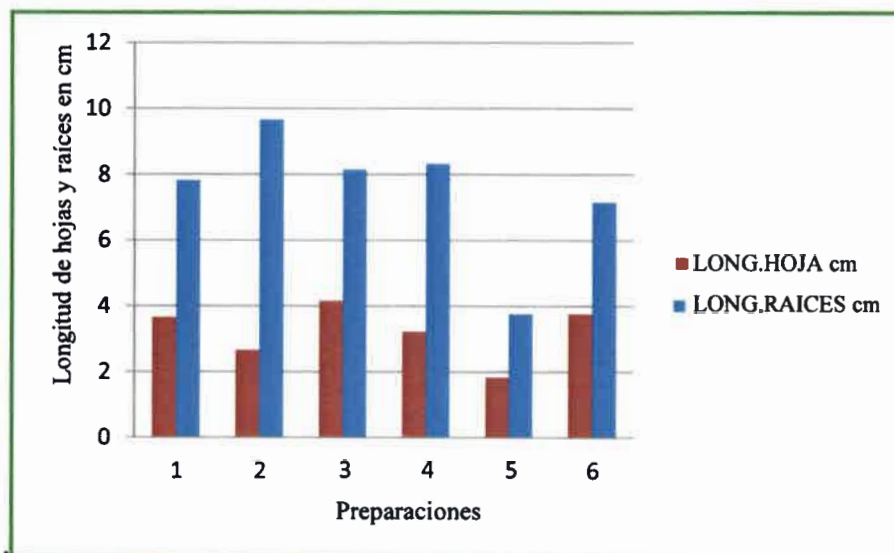
A continuación se presentan los resultados obtenidos de los parámetros evaluados. Los resultados del análisis biométrico que se muestran en las diferentes tablas y gráficos corresponden a valores promedios de los ensayos realizados por cuadruplicado para los diferentes tratamientos: T₁; T₂; T₃ y T₄.

4.1.- Resultados físico-biométrico

4.1.1.- Longitud de hojas y raíces de plantines antes del trasplante en promedio, la longitud y tamaño de las hojas en la muestra P₃, fue mayor respecto de las otras preparaciones. En las raíces, la longitud fue mayor en la preparación P₂.

En cuanto a la preparación P₆ (sólo con *Pseudomonas* spp) se observó mayor longitud de hojas y raíces que en la preparación P₅ solo con *Azospirillum* spp (Gráfico N° 1).

Gráfico N° 1. Longitudes promedio de hojas y raíces de los plantines en speedling.



Referencias: P₁: suelo (Testigo), P₂: suelo (60 %) con humus (40%), P₃: suelo (60 %) con humus (40%) y biofertilizante con *Azospirillum* spp. y *Pseudomonas* spp. (dosis 10⁵ UFC/ml), P₄: suelo (60 %) con humus (40%) y biofertilizante con *Azospirillum* spp. y *Pseudomonas* spp. (dosis 10⁷ UFC/ml), P₅: suelo (60 %) con humus (40%) y biofertilizante *Azospirillum* spp. (dosis 10⁷ UFC/ml), P₆: suelo (60 %) con humus (40%) y biofertilizante *Pseudomonas* spp. (dosis 10⁷ UFC/ml).



En los cultivos con biofertilizantes (en dosis recomendadas), se evidencia desde el nacimiento un incremento en la emergencia de plántulas en los semilleros del 15 al 25 %. En altura y área foliar se determinó un incremento del 20 al 36 % y en cuanto a la precocidad, se acortó el ciclo del cultivo entre 7 – 10 días. Además, se mejoró la eficiencia de rendimiento, lo que permitió utilizar menor cantidad de semillas en cada cultivo, (Mantilla et al. 2011).

La observación de la Figura N° 11 muestra que P₂ tiene longitudes de raíces mayores que en las otras preparaciones, en P₃ se visualiza mayor cantidad de raíces (en cabellera), respecto de las demás. P₆ presenta mayor longitud de hojas y raíces que P₅.

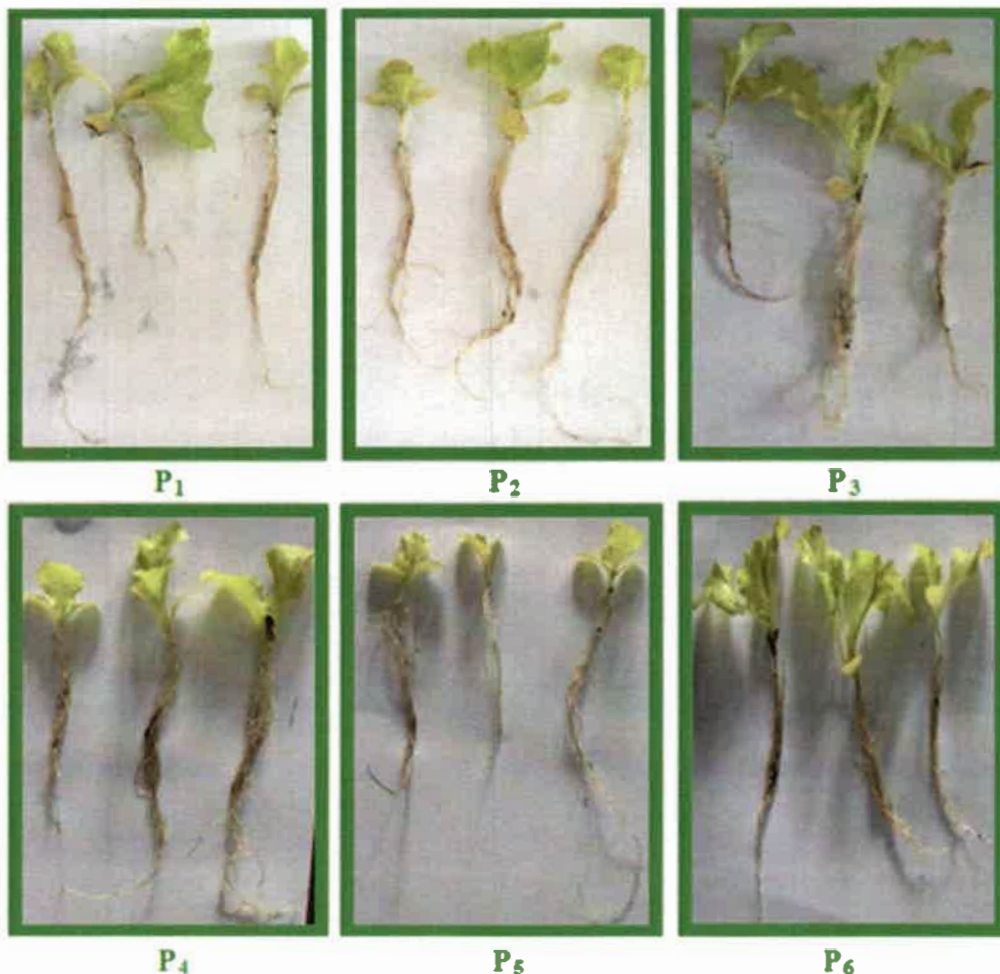


Figura N° 11: Plantines de lechuga en speedling preparados con distintos sustratos.



Referencias: P₁: suelo (Testigo), P₂: suelo (60 %) con humus (40%), P₃: suelo (60 %) con humus (40%) y biofertilizante constituido por *Azospirillum* spp. y *Pseudomonas* spp. (dosis 10⁵ UFC/ml), P₄: suelo (60 %) con humus (40%) y biofertilizante con *Azospirillum* spp. y *Pseudomonas* spp. (dosis 10⁷ UFC/ml), P₅: suelo (60 %) con humus (40%) y biofertilizante *Azospirillum* spp. (dosis 10⁷ UFC/ml), P₆: suelo (60 %) con humus (40%) y biofertilizante *Pseudomonas* spp. (dosis 10⁷ UFC/ml).

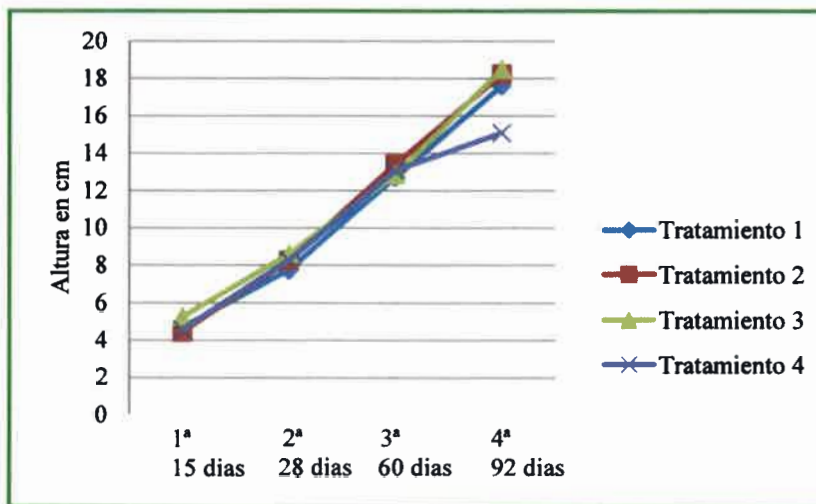
La utilización del género *Pseudomonas* en la producción de lechuga orgánica incrementa la materia fresca total foliar y radical, principalmente en plantines tolerando mejor el stress del trasplante (Gomes et al, 2003). Leskovar (2001) expresa que los plantines de calidad poseen su tallo vigoroso, de 10 a 15 cm de altura, con buen desarrollo radicular, ausencia o mínima clorosis, libre de plagas y enfermedades.

En el ensayo, se observó en P₃ mayor número de raíces y mayor tamaño de hojas utilizando la dosis 10⁵ UFC/ml de *Azospirillum* spp y *Pseudomonas* spp.

4.1.2.- Evolución de longitud de hojas desde el trasplante hasta cosecha: permite determinar el progreso del largo de la hoja, desde el trasplante hasta la cosecha.

La evolución del cultivo de lechuga se puede controlar a través de diferentes parámetros, en este caso se eligió longitud de hoja en diferentes etapas del ciclo de vida (Gráfico N° 2)

Gráfico N° 2 Evolución de longitud de hojas desde trasplante hasta cosecha.



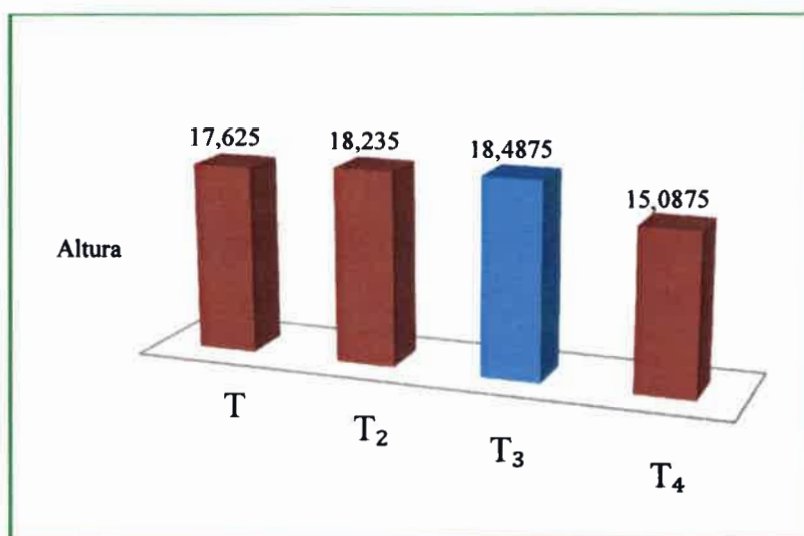
Referencias: Tratamiento 1: control, Tratamiento 2: suelo con humus, Tratamiento 3: suelo con humus y biofertilizante *Azospirillum* spp. y *Pseudomonas* spp.(dosis 10⁵ UFC/ml), Tratamiento 4: suelo con humus y biofertilizante *Azospirillum* spp. y *Pseudomonas* spp.(dosis 10⁷ UFC/ml).



En el gráfico puede observarse la evolución positiva en el crecimiento de las hojas en los tratamientos y etapas de mediciones.

Estadísticamente, no existen diferencias significativas entre los tratamientos, no obstante en el tratamiento T₄ se visualizó menor longitud respecto de los otros tratamientos en la última medición (Gráfico N° 3).

Gráfico N° 3 Promedios de longitudes de hojas observadas en cosecha a los 92 días.



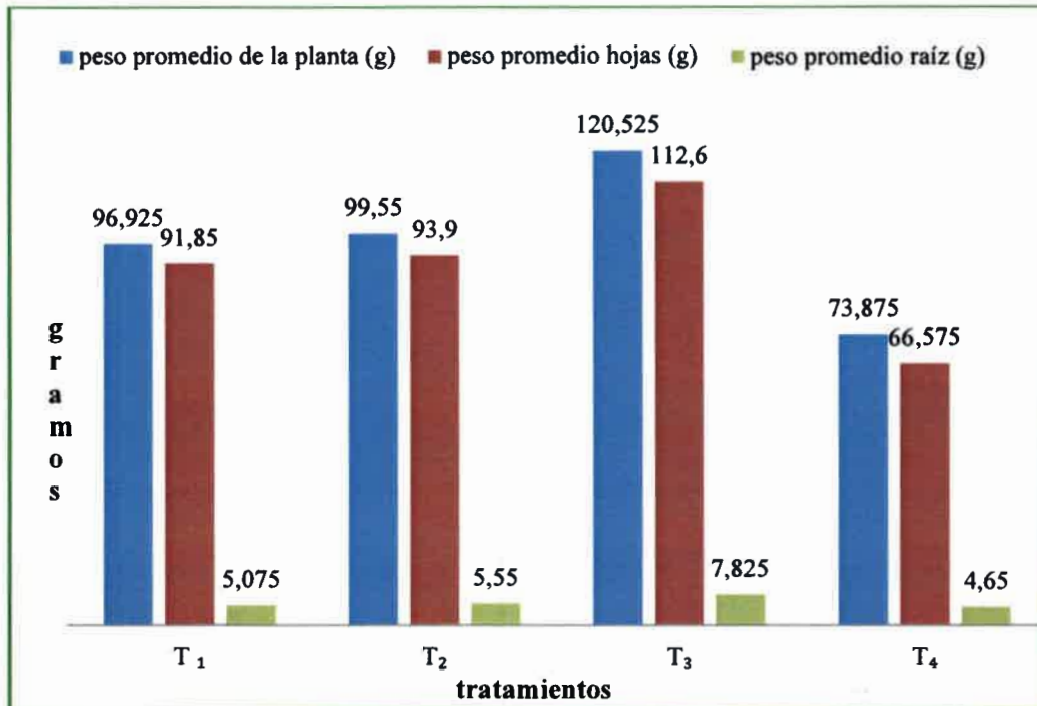
En el tratamiento T₃ se encuentra el valor más elevado en cm, respecto de los demás tratamientos.

4.1.3.- Peso fresco de la planta a cosecha: El peso en g de cada planta, separándose el área foliar de la raíz, para obtener el peso final promedio al momento de cosecha, se encuentra referenciado en los gráficos N° 4, N° 5, N° 6, N° 7 y en tabla N° 4.

Estadísticamente se observaron diferencias significativas al momento de la cosecha en los distintos tratamientos.



Gráfico N° 4. Pesos promedios de plantas, hojas, y raíces (g) al momento de la cosecha.



En el gráfico se muestran los diferentes pesos promedios de la planta, de las hojas y raíces correspondiendo el peso superior al T₃ (10⁵ UFC/ml), respecto de los otros tratamientos. Además de ello una marcada diferencia con el T₄ (10⁷ UFC/ml).

Tabla N° 4 Diferencias de peso promedio en gramos entre los tratamientos T₁, T₂, T₃ y T₄.

Peso promedio (g)	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
Planta	96,925	99,55	120,525	73,875
Hoja	91,85	93,9	112,6	66,575
Raíz	5,075	5,55	7,825	4,65

El rendimiento del peso de la planta, de hojas y de raíces permitió comprobar que el tratamiento T₃, obtuvo porcentajes superiores, respecto de los tratamientos: T₁ con un



24,35%; 22,60%, 54,19%; T₂ 26,14%, 19,92%, 40,10% y con T₄ 63,15%, 69,14%, 68,28% respectivamente.

Gráfico N° 5 Pesos promedios en g de plantas a cosecha.

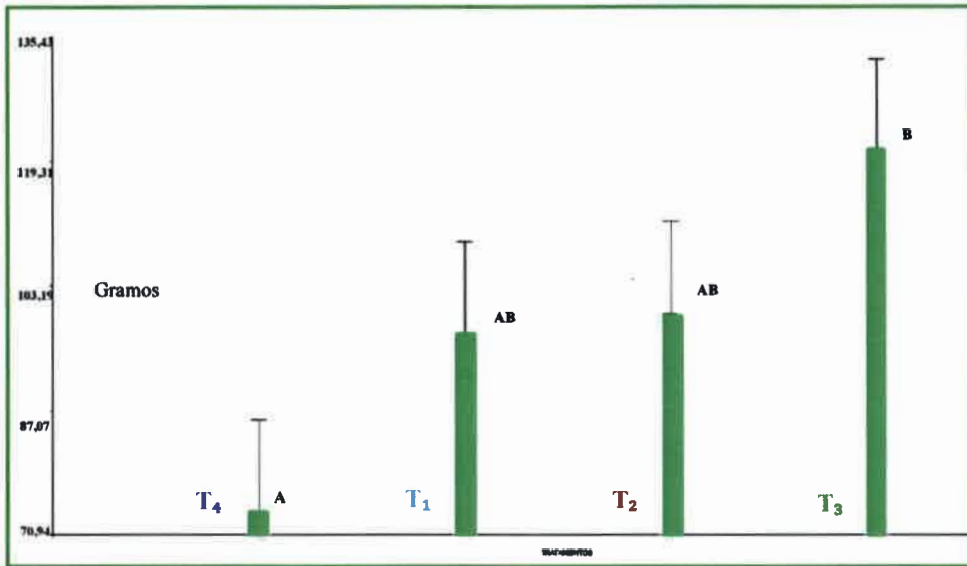


Gráfico N° 6 Pesos promedios en g de hojas a cosecha.

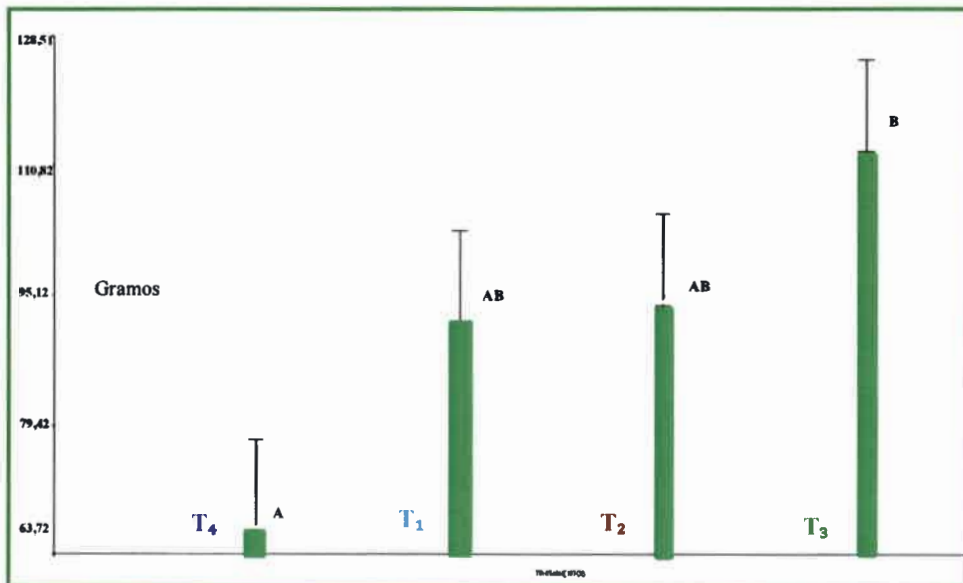
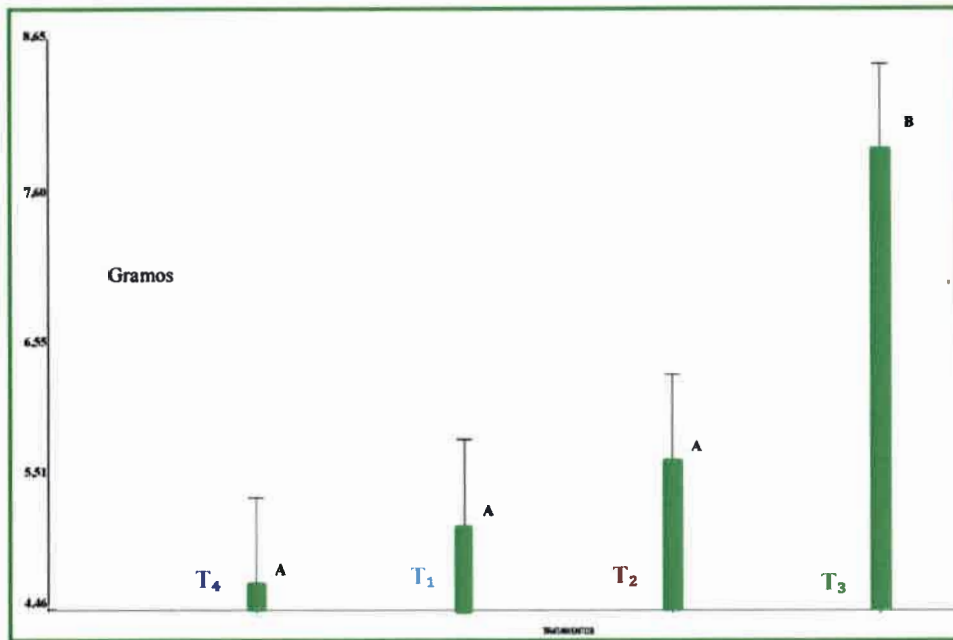


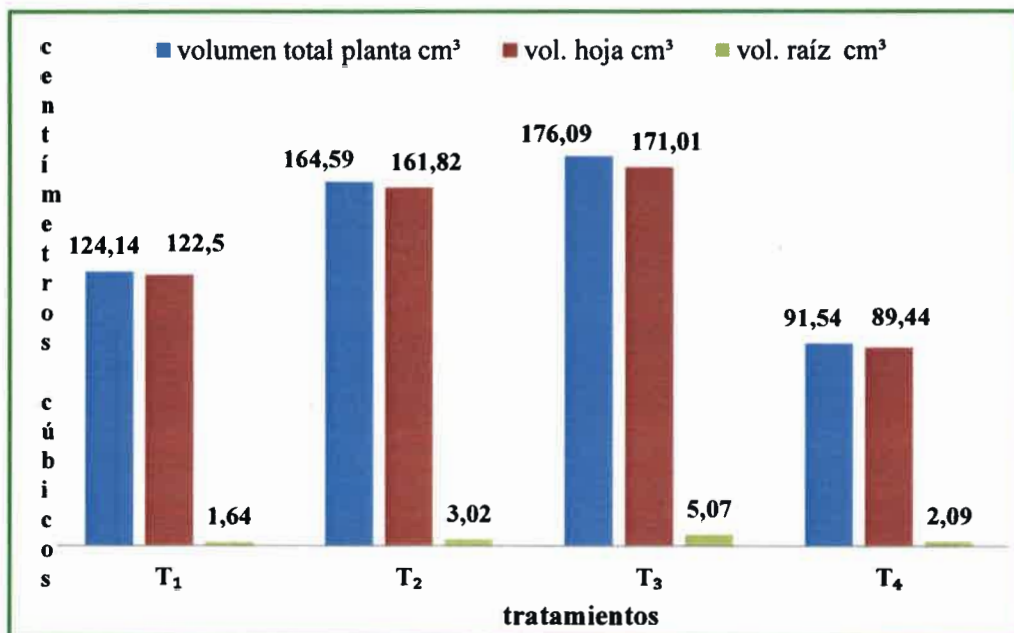


Gráfico N° 7 Pesos promedios en g de raíces a cosecha.



4.1.4.- Volúmenes de plantas, áreas foliares y radicales a cosecha se consideró aquí la influencia de los diferentes tratamientos en los volúmenes alcanzados en la totalidad de la planta y en sus partes (Gráfico N° 8).

Gráfico N° 8 Volúmenes promedios en cm³ de plantas, hojas y raíces a cosecha.





El gráfico se comportó de manera similar a lo observado para el rendimiento en peso, aquí los mayores volúmenes promedios de la planta, de las hojas y raíces correspondieron al T₃ en relación a los otros tratamientos, siendo aún más marcada la diferencia con el T₄ (Tabla N° 5).

Tabla N° 5 diferencias de volumen promedio en cm³ entre los tratamientos T₁, T₂, T₃ y T₄.

volúmen promedio (cc)	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
Planta	124,14	164,59	176,09	91,54
Área foliar	122,5	161,82	171,01	89,44
Área radical	1,64	3,02	5,07	2,09

Estadísticamente existieron diferentes significativas para la variable volumen de planta, de área foliar y radical entre los diferentes tratamientos (Gráfico N° 9 y tablas N° 6, N°7, N°8, N°9, N°10).

El mayor volumen promedio en cm³, para planta, área foliar y área radical fue para el T₃, que porcentualmente fue superior a: T₁ 29,50%, 28,40%, 67,61%; T₂ 6,53%, 5,38%, 40,40%; y por último T₄ con 48,02%, 47,70%, 58,68% respectivamente. A modo de ejemplo se puede visualizar la parte foliar y radical de muestras de lechuga correspondientes al T₃. (Figura N° 12)



Figura N° 12 Muestras del área foliar y radical pertenecientes al T₃.



Gráfico N° 9 Volúmen de planta, área foliar, y de raíz (cc) a cosecha.

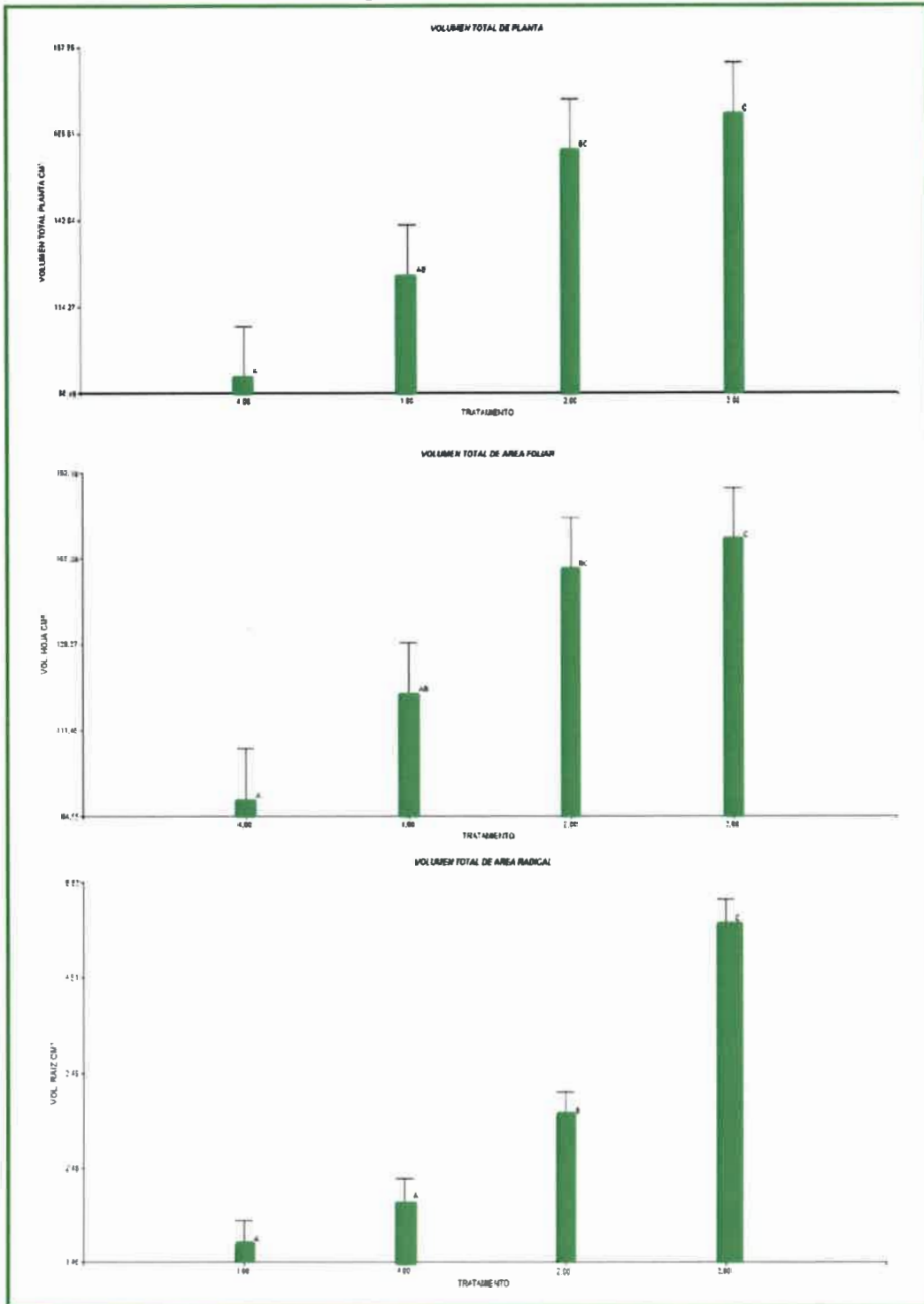




Tabla N° 6 Análisis de la varianza para volumen total de la planta a cosecha.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	17498,00	6	2916,33	1,53	0,2708
Tratamiento	12491,29	3	4163,76	2,19	0,1591
Bloque	5006,70	3	1668,90	0,88	0,4884
Error	17122,89	9	1902,54		
Total	34620,89	15			

Tabla N° 7 Test: LSD Fisher para Volumen total de la planta a cosecha con Alfa= 0, 05
DMS=69, 77101 Error: 1902, 5438 gl: 9.

Tratamiento	Medias	n	E.E.		
4	91,54	4	21,81	A	
1	124,14	4	21,81	A	B
2	151,11	4	21,81	A	B
3	164,59	4	21,81		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla N° 8 Análisis de la varianza para Volumen del área foliar a cosecha cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III).

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	16709,78	6	2784,96	1,50	0,2809
Tratamiento	11882,63	3	3960,88	2,13	0,1664
Bloque	4827,15	3	1609,05	0,87	0,4936
Error	16729,44	9	1858,83		
Total	33439,23	15			



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA

Tabla N° 9 Test: LSD Fisher para Volumen del área foliar a cosecha con Alfa= 0, 05
DMS=68, 96475 Error: 1858,8270 gl: 9.

Tratamiento	Medias	n	E.E.		
4	89,44	4	21,56	A	
1	122,50	4	21,56	A	B
2	146,02	4	21,56	A	B
3	161,83	4	21,56		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla N° 10 Análisis de la varianza para Volumen del área radical a cosecha cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III).

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	29,00	6	4,83	9,92	0,0015
Tratamiento	27,82	3	9,27	19,04	0,0003
Bloque	1,18	3	0,39	0,81	0,5198
Error	4,38	9	0,49		
Total	33,3	15			

Los mayores volúmenes de planta, área foliar y radical correspondieron al tratamiento T₃ con valores de 176,0919 cc; 171,0169 cc y 5,075 cc, respectivamente, observándose diferencias significativas con valor de $p = 0,1591$ (planta); $p = 0,1664$ (área foliar) $p = 0,0003$ (área radical).

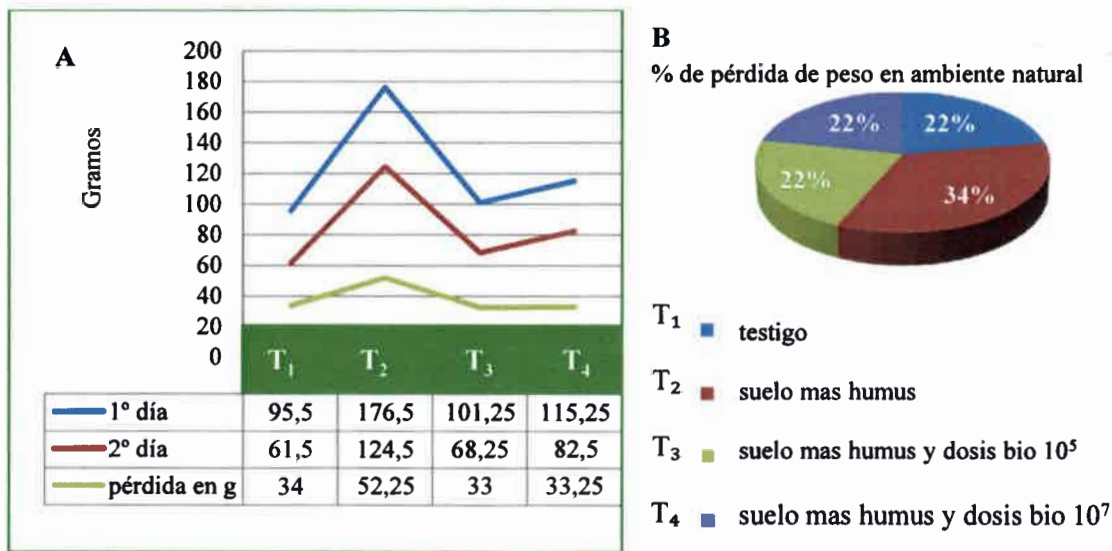
Los resultados encontrados se relacionan con los obtenidos por Gomes et al (2003), utilizando biofertilizantes con *Pseudomonas aeruginosa* logró incrementos de rendimientos en masa foliar de 7 a 70 %, del volumen de hojas del 15%, y con el uso de *Pseudomonas spp* y *Pseudomonas fluorescens* se promovieron aumentos significativos de la biomasa, elevando el contenido de nitrógeno en rangos desde 5 - 9% al 6 - 12 %.



4.1.5.- Evaluación de la pérdida de peso pos cosecha en ambiente natural

Al evaluar la pérdida de peso de la lechuga en el almacenamiento pos cosecha bajo condiciones ambientales naturales, monitoreadas 3 veces al día con Tª promedio de 21,6 °C y HR promedio de 39,11%, pudo observarse una brusca disminución de peso en un lapso de dos (2) días, situación que se produjo en todos los tratamientos aplicados (Gráficos N° 7, A, B y Figura N° 13). El rápido deterioro observado se corresponde a esta crítica condición de almacenaje, ya que la calidad y vida útil de las hortalizas depende de la tecnología pos cosecha aplicada, reconociéndose por parte de otros autores pérdidas de hasta un 35% en este periodo. La lechuga tiene alto contenido de agua, elevada tasa respiratoria y de deshidratación, es frágil, sensible a golpes y marchitamiento, lo que la hace altamente perecedera.

Gráfico N° 10. A. Evolución de pérdida de peso y B. porcentajes promedios de pérdidas de peso de plantas de lechuga en ambiente natural a los 2 días pos cosecha.



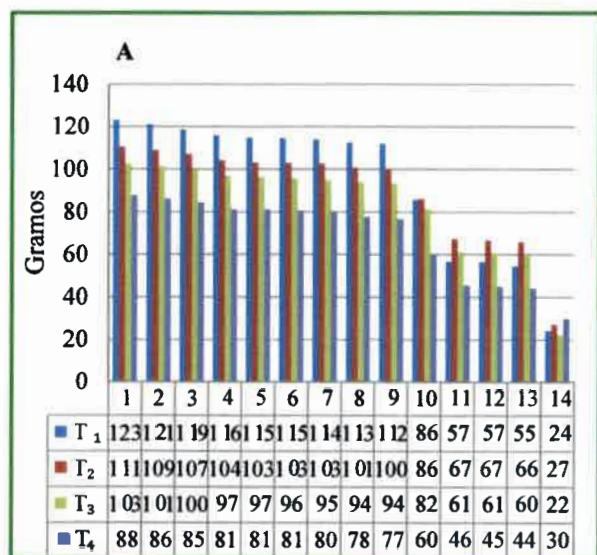
Todas las hortalizas manifiestan una brusca disminución del peso en el ambiente natural para todos los tratamientos, pero como lo muestran los gráficos precedentes es en el tratamiento T₂ donde se visualiza una mayor merma 176,5 g (34% de promedio), en los tratamientos T₁, T₃ y T₄ las pérdidas fueron similares 95,5; 101,25 y 115,25 g (22% de promedio).



Figura N° 13 - Muestras de lechuga en ambiente natural del Bloque I al día 1 y al día 2.

4.1.6.- Evaluación de la pérdida de peso en refrigerador. Por otro lado, el ensayo en refrigerador, con rangos de temperatura entre 4 y 8 °C y humedad relativa ambiente (HR) entre 63 y 72 %, permitió que se prolongara la vida útil de la lechuga para el consumo entre diez y catorce días en todos los tratamientos, observándose una pérdida de peso gradual y la pérdida de aceptación para su consumo a los 11 días para los T₁ y T₄ y a los 13 días para el T₂ y 14 días para el T₃, manteniéndose las condiciones adecuadas de sanidad y calidad del producto (Gráficos N° 11. A y B).

Gráficos N° 11. A. Evolución de la pérdida de peso de lechuga en gramos y B. porcentaje de pérdida de peso de las muestras desde la cosecha en refrigerador al día 14.



B



T₁ ■ testigo

T₂ ■ suelo mas humus

T₃ ■ suelo mas humus y dosis bio 10⁵

T₄ ■ suelo mas humus y dosis bio 10⁷

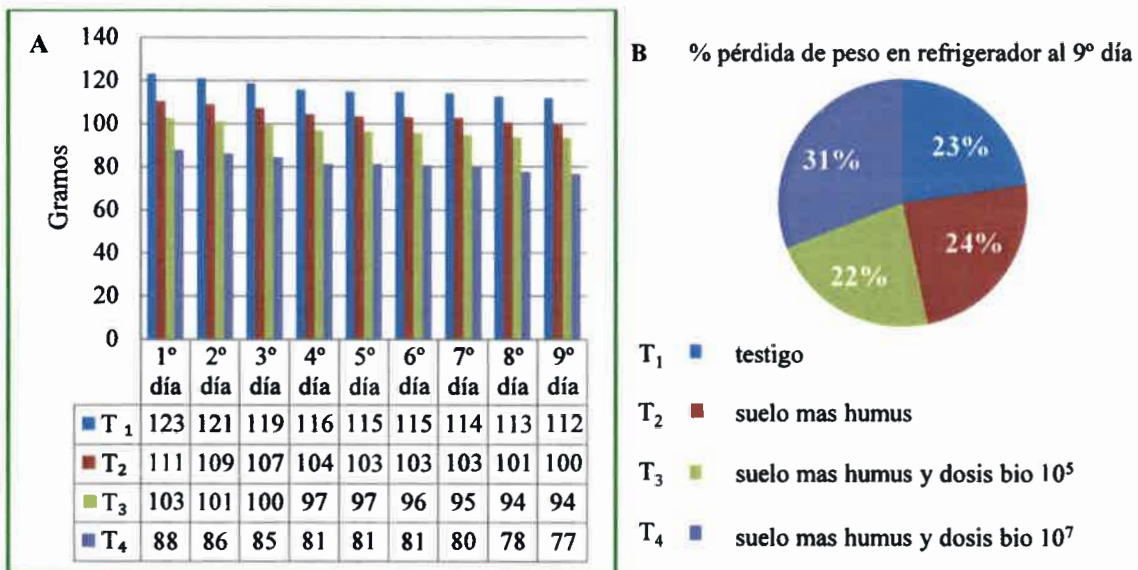


En el gráfico N° 11 A puede observarse la evolución de la pérdida del peso en g y B en porcentaje desde el día 1 hasta el día 14. En orden decreciente, le correspondió al tratamiento T₁ el mayor porcentaje con 80 %, seguido por el tratamiento T₃, con 78,35 %, luego el T₂ con 75,4 % y por último, el tratamiento T₄ con 65,83 % de pérdida de peso.

En el ensayo, todas las muestras de lechugas permanecieron en condiciones aptas para su consumo hasta el noveno día pos cosecha, a partir del día diez, las muestras T₄ perecieron; al día once las del tratamiento T₁ y finalmente al día trece, las del tratamiento T₂.

Los tratamientos T₁, T₂ y T₃ guardaron semejanza en los porcentajes de pérdida de peso, mientras que en el tratamiento T₄, se observó el mayor porcentaje de pérdida. (Gráfico N° 12. Ay B).

Gráficos N° 12 A. Evolución de pérdida de peso promedio en gramos y B. porcentajes en frigorífico hasta el noveno día.



Es necesario que la T^a post recolección de la lechuga descienda rápidamente ya que la vida útil, depende estrechamente de la T^a de refrigeración para mantener las propiedades fisicoquímicas y sensoriales al disminuir los procesos metabólicos (transpiración, respiración) y para conservar el valor nutritivo y comercial por más tiempo. La T^a ideal está en el rango de 0° y 5°C, con una humedad relativa entre de 90 y 95 %, para asegurar de 2



a 3 semanas de vida del producto. Mientras que la T° óptima de refrigeración es de hasta 2°C , en cuanto no exista gas etileno en el ambiente de almacenamiento (FAO, 2014).

La incorrecta refrigeración permite el incremento de microorganismos aerobios mesófilos, más aun si la lechuga se transforma posteriormente en producto mínimamente procesado, pudiendo aislar patógenos como *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocitogenes*, *Clostridium*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, y *Aeromona hydrophyla*. (Oliveira Leite, M. 2007).

En la Figura N° 14 las fotografías correspondientes a muestras del T_3 en refrigeración se observa la reducción de tamaño por pérdida de peso a través de los días.



Figura N° 14 Muestra del T_3 en refrigerador a días: 1(1), 5 (2), 10 (3) y 14 (4) pos cosecha.

La marchitez incipiente de las plantas de lechuga en pos cosecha es un indicador importante para determinar la aptitud para su consumo. Como se observa en la Figura N° 15 cada tratamiento logró el periodo de caducidad diferente en refrigeración.

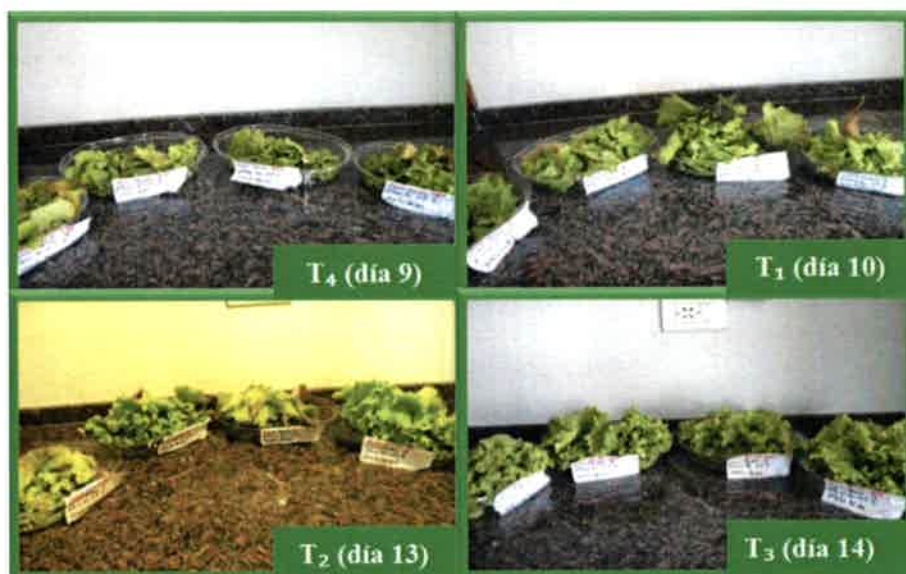
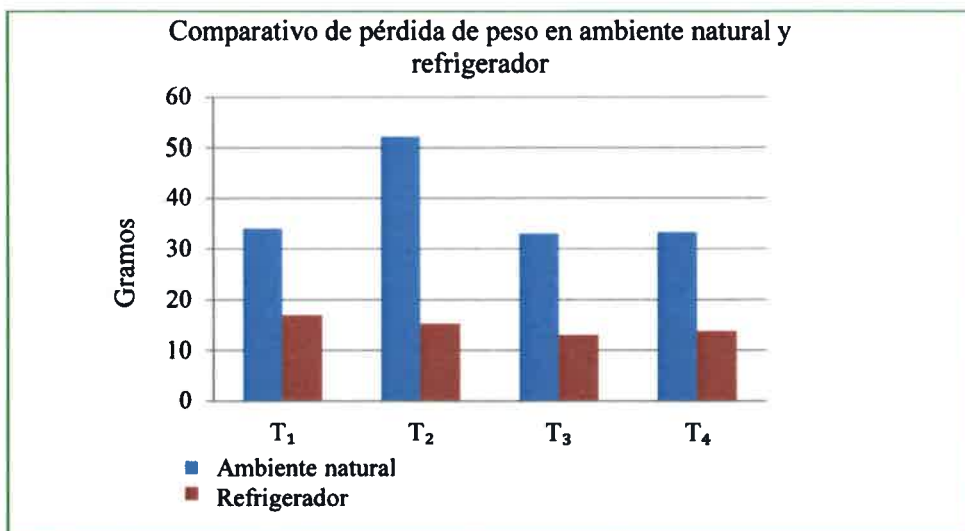


Figura N° 15 Conjunto de muestras en refrigerador de cada tratamiento al inicio de marchitez y caducidad para su consumo.

4.1.7.- Comparativo de pérdidas de peso según ambientes: La evaluación de la vida útil de la lechuga según los ambientes de conservación son parámetros significativos para conocer la calidad organoléptica, como los rendimientos en peso. La pérdida de agua en las hortalizas una vez cosechadas, se manifiesta con disminución de peso, firmeza, turgencia, frescura y calidad por marchitamiento, como consecuencia de la actividad de transpiración, producida fundamentalmente por las hojas ya que son los órganos transpiratorios por excelencia, observándose con mayor intensidad en la lechuga. En el siguiente gráfico se muestra la pérdida de peso en gramos en los diferentes ambientes y tiempo.



Gráfico N° 13 Comparativo de pérdidas de peso promedio en g de muestras en ambiente natural al segundo día y en frigorífico a los 9 y 14 días pos cosecha.



4.2.- Resultados de los estudios químicos.

Muestras de lechuga en postcosecha acondicionadas, refrigeradas y analizadas de las cuales se obtuvieron los resultados químicos (Figura N° 16).



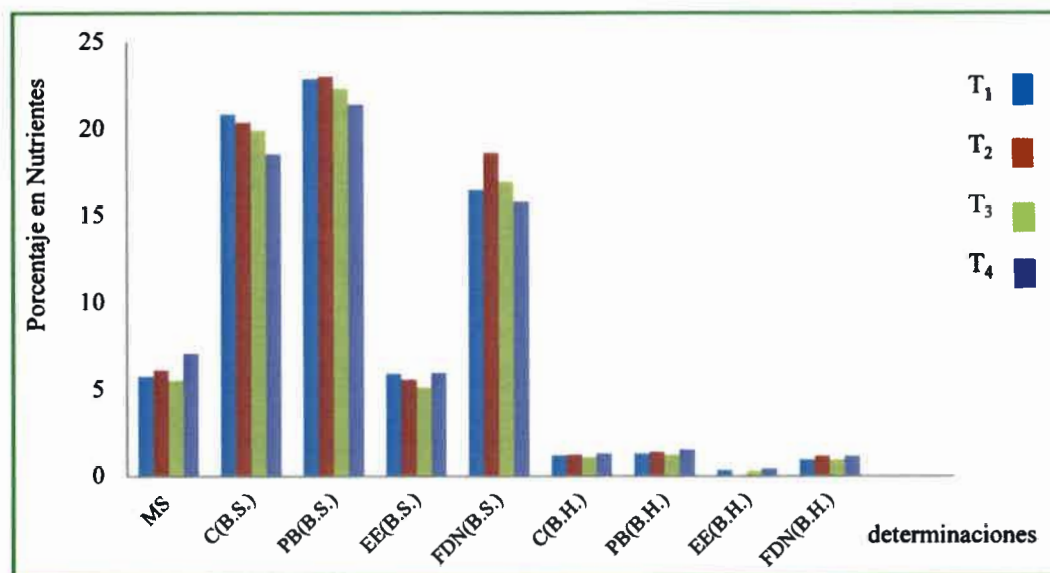
Figura N° 16 muestras preparadas e identificadas para análisis químico.

4.2.1.- Contenido en nutrientes y pH los resultados de los análisis enunciados están basados en base seca (MS) y base húmeda (BH) (Gráfico N° 11), descontando el valor de cenizas. (AOAC, 1990). La cantidad de materia seca presente en lechuga está en



relación directa con el nitrógeno absorbido por la planta (Aruani et al., 2008).

Gráfico N° 14. Contenido de nutrientes de muestras de lechuga a cosecha.



Referencias: Tratamiento 1: control, Tratamiento 2: suelo con humus, Tratamiento 3: suelo con humus y biofertilizante *Azospirillum spp.* y *Pseudomonas spp.* (dosis 10⁵ UFC/ml), Tratamiento 4: suelo con humus y biofertilizante *Azospirillum spp.* y *Pseudomonas spp.* (dosis 10⁷ UFC/ml).

En el gráfico se observa que no existen diferencias significativas en el contenido de nutrientes en las muestras analizadas. En el T₄, el porcentaje de materia seca (MS) es superior a los otros tratamientos.

Para proteína bruta en base seca, el T₁ y T₂ son los que presentan mayor porcentaje. En base húmeda, los distintos tratamientos no presentaron diferencias significativas. Respecto de la fibra detergente ácida en base seca y en base húmeda, los valores fueron similares, correspondiendo el valor más elevado al T₂, luego T₃, T₁ y por último el T₄. Respecto al valor de pH no se observaron diferencias entre los tratamientos.

4.2.2.- Contenido de sólidos solubles: Para la lechuga las fibras representan en general el 21 % de los glúcidos totales, además de fructosa, glucosa, sacarosa y diversidad de ácidos, los atributos relacionados con el sabor y aroma se pueden valorar a través del índice de sólidos solubles que expresa el contenido de ácidos y azúcares, siendo este último los que se presentan en mayor proporción a pesar de que, comparativamente su valor no es

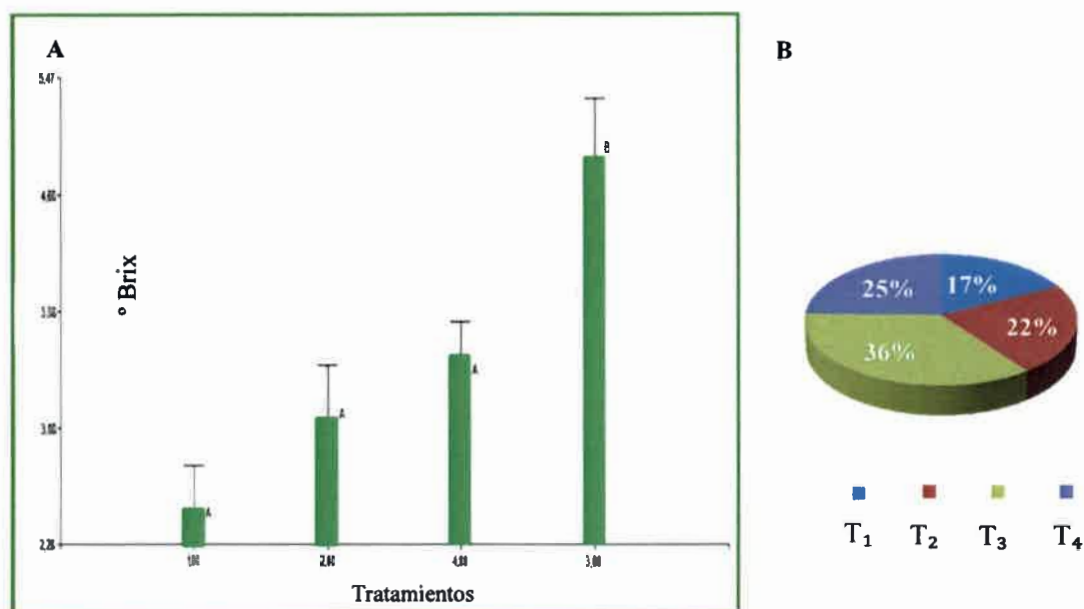


significativo (Tabla N° 6), no obstante en el jugo elaborado a partir de las muestras procesadas, es posible valorarlo junto a otras sustancias que componen los sólidos solubles como los ácidos orgánicos como málico, cítrico, ascórbico, aspártico, glutámico, linoléico, oleico, oxálico, fólico, palmítico y esteárico, aminoácidos, compuestos fenólicos y pectinas solubles.

Tabla N° 11. Promedios de sólidos solubles expresados en ° Brix.

Sólidos solubles en lechuga ° Brix				
Bloques	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
I	1,90	2,50	5,20	3,00
II	1,40	4,20	3,80	4,40
III	3,70	2,90	5,50	3,10
IV	2,70	2,80	5,20	3,10

Gráfico N° 15. A. Distribución en los diferentes tratamientos en ° Brix y B. porcentajes de los sólidos solubles.



Referencia: T₁, control; T₂, suelo con humus; T₃, suelo con humus y biofertilizante *Azospirillum* spp. y *Pseudomonas* spp.(dosis 10⁵ UFC/ml); T₄, suelo con humus y biofertilizante *Azospirillum* spp. y *Pseudomonas* spp.(dosis 10⁷ UFC/ml).



Tabla N°12 Análisis de la varianza para contenido de sólidos solubles de la planta a cosecha.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	13,40	3	4,47	6,86	0,0061
Tratamiento	13,40	3	4,47	6,86	0,0061
Error	7,82	12	0,65		
Total	21,22	15			

Tabla N° 13 Test: LSD Fisher para contenido de solidos solubles de la planta a cosecha con Alfa=0,05 DMS=1,24331 Error: 0,6513 gl: 12.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
1,00	2,43	4	0,40	A
2,00	3,10	4	0,40	A
4,00	3,40	4	0,40	A
3,00	4,93	4	0,40	B

En las tablas N° 6, N° 7, N° 8 y en el gráfico N° 12 A. y B., se observa que el mayor valor y porcentaje de sólidos solubles corresponden al tratamiento T₃, seguido del T₄, luego el T₂ y por último el T₁. Tal como confirman otros autores (Silva et al., 2011), es posible correlacionar los sólidos solubles con la vida útil del vegetal. En el ensayo, se pudo comprobar que la mayor concentración de solidos solubles (T₃), se correlacionó con una vida útil más larga (14 días) y consecuentemente mayor turgencia, color, brillo y aspecto general.



4.3.- Resultados microbiológicos.

4.3.1.- Recuento aerobios de mesófilos viables totales en sustrato de plantines antes del trasplante: Los resultados microbiológicos obtenidos en el sustrato, se expresan en la tabla N° 14.

Tabla N° 14 Recuento de aerobios mesófilos viables totales en sustrato de plantines, antes del trasplante.

Tratamientos	Recuentos (UFC/g)
T ₁	5 x 10 ⁷
T ₂	1,7 x 10 ⁷
T ₃	1,5 x 10 ⁷
T ₄	1,5 x 10 ⁷

Referencia: T₁: suelo; T₂: suelo más humus; T₃: suelo más humus *Azospirillum* spp. y *Pseudomona* spp 10⁵ UFC/g; T₄: suelo más humus *Azospirillum* spp. y *Pseudomonas* spp. 10⁷ UFC/g.

Para que los microorganismos contenidos en biofertilizantes puedan instalarse y multiplicarse, para competir con la microbiota nativa del suelo, para lograrlo es menester disponer de cepas agresivas en elevadas dosis (10⁸ UFC/ml), además considerar el tipo de cultivo, la fertilidad del suelo y la metodología de siembra utilizada. (Izaguirre-Mayoral et al, 2007). En el ensayo se utilizaron la dosis de 10⁵ y 10⁷ UFC/ml.

4.3.2.- Recuento de aerobios mesófilos viables totales, coliformes totales y *Escherichia coli*, presencia de *Salmonella* spp., hongos y levaduras en muestras de lechuga: La calidad microbiológica de la lechuga es considerada importante, al ser un producto perecedero, sus hojas con elevado contenido de agua, crecimiento cercano al suelo y se consume cruda. Pueden aparecer patógenos fecales, bacterias y hongos que deterioran la planta cosechada o bien causar enfermedades al hombre, siendo de interés su detección en salud pública. (Oliveira Leite, M. 2007; Martínez López, J. 2010).

En el ensayo se realizaron recuentos de microorganismos en muestras sin lavar (Tabla N° 15) y lavadas (Tabla N° 16).



Tabla N° 15 Recuentos de microorganismos a partir de muestras de lechuga sin lavar.

Bloques	Tratamientos	RAT (UFC/g)	Coliformes totales (UFC/g)	<i>Escherichia coli</i> (UFC/g)	<i>Salmonella</i> spp. (UFC/g)	Hongos y levaduras (UFC/g)
I	T ₁	1 x 10 ⁶	1,6 x 10 ²	90	S/D	1,5 x 10 ⁶
	T ₂	1 x 10 ⁶	1,2 x 10 ²	S/D	S/D	1,4 x 10 ⁵
	T ₃	7 x 10 ⁶	10	S/D	S/D	2,4 x 10 ⁶
	T ₄	8 x 10 ⁵	S/D	S/D	S/D	9,5 x 10 ⁶
II	T ₁	5,3 x 10 ⁵	S/D	S/D	S/D	1,1 x 10 ⁵
	T ₂	1 x 10 ⁶	1 x 10 ²	S/D	S/D	6 x 10 ⁴
	T ₃	3,6 x 10 ⁵	S/D	S/D	S/D	1,7 x 10 ⁵
	T ₄	1 x 10 ⁶	45	S/D	S/D	9,5 x 10 ⁴
III	T ₁	1,3 x 10 ⁵	3 x 10 ²	2,5 x 10 ²	S/D	4,6 x 10 ⁵
	T ₂	9,2 x 10 ⁵	10	S/D	S/D	1,2 x 10 ⁵
	T ₃	2,4 x 10 ⁵	25	S/D	S/D	1,3 x 10 ⁵
	T ₄	1,1 x 10 ⁶	S/D	S/D	S/D	1,4 x 10 ⁵
IV	T ₁	5,6 x 10 ⁴	S/D	S/D	S/D	1 x 10 ⁵
	T ₂	1,1 x 10 ⁶	S/D	S/D	S/D	8,5 x 10 ⁵
	T ₃	5 x 10 ⁶	S/D	S/D	S/D	1 x 10 ⁶
	T ₄	9 x 10 ⁵	S/D	S/D	S/D	3,5 x 10 ⁵

Referencia bloques I, II, III y IV; Tratamientos T₁: suelo, T₂: suelo más humus, T₃: suelo más humus *Azospirillum* spp. y *Pseudomonas* spp 10⁵ UFC/g, T₄: suelo más humus *Azospirillum* spp. y *Pseudomonas* spp. 10⁷ UFC/g; RAT: Recuento de microorganismos aerobios y anaerobios facultativos mesófilos viables totales, UFC/g; Unidades Formadoras de Colonias por gramo de muestra; S/D: Sin Desarrollo.

Los valores de (UFC/g) en las muestras de lechuga sin lavar de todos los tratamientos aplicados los resultados para RAT, coliformes totales, hongos y levaduras se encontraron dentro de los límites establecidos por la normativa (CAA 2013), observándose además ausencia de recuentos para *Salmonella* spp. Se detectó en el tratamiento T₁ de los bloques I y III *Escherichia coli*. pero en las otras muestras de los otros tratamientos este microorganismo estuvo ausente.

La presencia de hidratos de carbono, proteínas y sales inorgánicas disueltas en el agua exudada o bien condensada en la superficie de las hortalizas, permite que habiten microorganismos por la posible contaminación proveniente del agua, suelo, animales



domésticos y salvajes y por manipulación, tanto en la cosecha y post cosecha (Oliveira et al., 2010), lo que podría explicar el resultado encontrado en el T₁.

En las muestras de lechuga sin lavar hubo ausencia de *Salmonella* spp. y se detectó *Escherichia coli* solamente en los tratamientos T₁ de los bloques I y III.

Tabla N° 16 Recuentos de microorganismos a partir de muestras de lechuga lavada.

Bloques	Tratamientos	RAT (UFC/g)	Coliformes totales (UFC/g)	<i>Escherichia coli</i> (UFC/g)	<i>Salmonella</i> spp. (UFC/g)	Hongos y levaduras (UFC/g)
I	T ₁	6,4x10 ⁴	30	S/D	S/D	4,6 x 10 ⁴
	T ₂	4x10 ⁴	25	S/D	S/D	4 x 10 ⁴
	T ₃	4,5x10 ⁶	65	S/D	S/D	8,5 x 10 ⁵
	T ₄	7x10 ⁴	90	S/D	S/D	1,5 x 10 ⁵
II	T ₁	8,3x10 ⁴	S/D	S/D	S/D	1 x 10 ⁴
	T ₂	7,3x10 ⁴	S/D	S/D	S/D	7,2 x 10 ³
	T ₃	3x10 ⁵	85	S/D	S/D	1,3 x 10 ⁴
	T ₄	3,8x10 ⁵	S/D	S/D	S/D	1,2 x 10 ⁴
III	T ₁	6,2x10 ⁵	2 x 10 ²	S/D	S/D	1,3 x 10 ⁵
	T ₂	3x10 ⁵	30	S/D	S/D	7,3 x 10 ⁴
	T ₃	5x10 ⁵	40	S/D	S/D	7,2 x 10 ⁴
	T ₄	1,8x10 ⁵	65	S/D	S/D	4,5 x 10 ⁴
IV	T ₁	3,8x10 ⁴	S/D	S/D	S/D	3,4 x 10 ⁴
	T ₂	6x10 ⁴	25	S/D	S/D	3,6 x 10 ⁴
	T ₃	1,1x10 ⁵	50	S/D	S/D	5 x 10 ⁴
	T ₄	6,4x10 ⁴	25	S/D	S/D	5,7 x 10 ⁴

Referencia bloques I, II, III y IV; Tratamientos T₁: suelo, T₂: suelo más humus, T₃: suelo más humus *Azospirillum* spp. y *Pseudomonas* spp 10⁵ UFC/g, T₄: suelo más humus *Azospirillum* spp. y *Pseudomonas* spp. 10⁷ UFC/g; RAT: Recuento de microorganismos aerobios y anaerobios facultativos mesófilos viables totales, UFC/g: Unidades Formadoras de Colonias por gramo de muestra; S/D: Sin Desarrollo.

En el caso de las muestras de lechuga lavadas los valores de (UFC/g) obtenidos provenientes de todos los bloques en los tratamientos aplicados, los resultados para *Salmonella* spp. y *Escherichia coli*, fueron de ausencia y los RAT, coliformes totales, hongos y levaduras con valores detectados menores a los recuentos encontrados para



lechuga sin lavar, por consiguiente dentro de los límites establecidos por la normativa (CAA 2013).

El lavado de lechuga reduce significativamente la carga microbiana en 3 log UFC/g para psicótrofos y 2 log UFC/g para coliformes, en relación con la lechuga sin lavar.

Los recuentos hallados de acuerdo a la cantidad de muestras estudiadas y a la metodología utilizada se encuentran dentro de los valores aceptados para vegetales, en el Código Alimentario Argentino.

4.3.3.- Recuento de bacterias endofíticas: en el estudio también se investigó la presencia de microorganismos endofíticos por ser una exigencia legal en la producción de biofertilizantes y por ser una variable relacionada con el estrés y por lo tanto con el deterioro del vegetal. Con los tratamientos y a las dosis empleadas de *Azospirillum* ssp. y *Pseudomonas* ssp., componentes del biofertilizante utilizado, no se detectaron estos microorganismos en ninguna de las muestras de lechuga analizadas (ND).

Tampoco se observó la presencia de *Pseudomona* spp., que también es necesario evaluar ya que puede ser un potencial patógeno si apareciera en el cultivo de lechuga.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA



Universidad Nacional
de Río Cuarto

CONCLUSIONES



5. CONCLUSIONES

El análisis de los resultados obtenidos bajo las condiciones en que se realizó el estudio, permiten concluir:

- Los biofertilizantes formulados con *Azospirillum* spp. Y *Pseudomonas* spp, empleados permitieron obtener mayores rendimientos en el cultivo, al modificar positivamente las variables: más longitud de hojas del cultivo durante todo el ciclo, mayor peso y volumen, incremento en el contenido sólidos solubles totales y menor pérdida de peso de la planta pos cosecha.
- La pérdida de peso pos cosecha, en ambiente natural fue mayor que en refrigerador y la aptitud para su consumo se prolongó en la muestras refrigeradas, particularmente en el tratamiento T₃ constituido por suelo, humus, *Azospirillum* spp. y *Pseudomonas* spp. con dosis de 10⁵ UFC/ml.
- Los biofertilizantes empleados en el ensayo no modificaron los recuentos microbiológicos obtenidos, tanto en las muestras lavadas como sin lavar.
- En el estudio se encontró que la dosis más adecuada de biofertilizante fue la de 10⁵ UFC/ml (T₃), con la cual se obtuvieron mejores resultados en las diferentes variables estudiadas y en el rendimiento del cultivo.
- El cultivo no fue afectado por plagas y enfermedades.

En sentido general, podemos afirmar que la aplicación de los biofertilizantes, a las dosis recomendadas, tuvo un efecto positivo alguno sobre los parámetros físicos, químicos y microbiológicos. Sin embargo, se requieren estudios adicionales relacionados al aislamiento y selección de microorganismos eficaces empleados en su formulación. Los biofertilizantes son un componente vital en los sistemas productivos sustentables ya que constituyen un medio económicamente válido y ecológicamente aceptable al disminuir insumos externos y mejorar la cantidad y calidad de los recursos del sistema productivo incorporando además, una herramienta valiosa en las producciones agroecológicas.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA



Universidad Nacional
de Río Cuarto

BIBLIOGRAFÍA

6



5.0 BIBLIOGRAFIA

Allende, A., Aguayo, E., Arte's, F., 2003. Microbial and sensory quality of commercial fresh processed red lettuce throughout the production chain and shelf life DIALNET. International Journal of Food Microbiology 91 N° 2 (2004) 109-117. Cartagena, Murcia, Spain. ISSN 0168-1605.

Añez, B., & Espinoza, W., 2003. Respuestas de la lechuga y del repollo a la fertilización química y orgánica- Instituto de Investigaciones Agropecuarias (I.I.A.P.) Revista Forest. Venezuela. Vol. 47 N° (2) (2003) pp. 73- 82. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

Aruani, M.C., Gili, P., Fernández, L., González Junyent, R., Reeb, P., Sánchez, E., 2008. Utilización del nitrógeno en diferentes manejos de fertilización en lechuga (*Lactuca sativa* L.) y su efecto sobre algunas variables biológicas del suelo, Neuquén - Argentina. AGRO SUR Vol. 36 N° (3) Pag. 147-157. ISSN 0304-8802.

Disponible en URL: [DOI:10.4206/agrosur.2008.v36n3-04](https://doi.org/10.4206/agrosur.2008.v36n3-04)

Avendaño Ruiz, B.D., Schwentesius Rindermann, R., Lugo Morones, S., 2006. El impacto de la Iniciativa de inocuidad alimentaria de los Estados Unidos en las exportaciones de Hortalizas frescas del noroeste de México. Revista (REDALYG) Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal Sistema de Información Científica Región y sociedad/vol. 18 N° (36). Pag. 7-36 ISSN 1870-3925. Mexico.

Bejarano, N.V., Carrillo, L., 2007. Frutas y Hortalizas capítulo 7 p p 71- 83 en castellano Carrillo, L. y Audisio, M.C., con colaboración de Bejarano, N.d.V., Gómez Molina,



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA

S.E., Edgardo Gustavo Ancasi, E.G. y Benítez Ahrendts, M.R. Editores, Manual de Microbiología de los Alimentos - 1a ed. Impreso por la Asociación Cooperadora de la

Facultad de Ciencias Agrarias, UNJU (Universidad Nacional de Jujuy) San Salvador de Jujuy – R. Argentina, ISBN 978-987-05-3214-9 CDD 616.01

Caballero, R.A., Gandarilla, J.E.B., Pérez, D.G. y Rodríguez, D.A., 2000. Efecto de los abonos orgánicos en la explotación de huertos Intensivos. Centro Agrícola, Vol. 27 N° (4)(2000), pag. 18-22 Estación de Suelos. Instituto de Suelos. Camagüey, Cuba.

Campos, M.S., 2010. Secretario de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos de la Nación Inocuidad Salud y calidad de alimentos- Nota Disponible en URL: http://www.alimentosargentinos.gov.ar/0-3/revistas/r_28/Inocuidad_salud.htm

Castro, R., Rodríguez, M., Álvarez, G.E., Gil, M., Novo, R., Castro, R.I. y Díaz, S., 2006. Efecto del uso de Azolla en los rendimientos de cultivos en condiciones organopónicas. Resúmenes sobre el congreso de Cultivos Tropicales, Vol. 27, No. 1, pp. 5-9. Cuba.

Cerdas Araya, M.del.M., 2004. Guías técnicas del manejo poscosecha de apio y lechuga para el mercado fresco editorial: Ministerio de Agricultura y Ganadería categoría: Cultivos hortícolas (Horticultura). San José, Costa Rica ISBN: 9968-877-10-7

Centro de Control y Prevención de Enfermedades de EEUU (CDC), 2013. Ojo con la lechuga- Disponible en URL: http://www.talcualdigital.com/Nota/visor.aspx?id=81608&tipo=AVA_Salud



Código Alimentario Argentino, 2016. Capítulo XI Alimentos Vegetales - Artículo 819 (Resolución Conjunta SPReI N° 169/2013 y SAGyP N° 230/2013) Artículo 887 (Resolución Conjunta SPReI N° 169/2013 y SAGyP N° 230/2013) Disponible en URL: http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/capitulo_xi.pdf

Chaidez Quiroz, C., 2002. Inocuidad de Frutas y Hortalizas Frescas: Efectos del Agua Contaminada. Rev. Agua Latinoamérica. Volumen 2 N° (3) Pag. 2-4 USA Disponible en URL: <http://www.agualatinoamerica.com/docs/PDF/5-6-2quiroz.pdf>.

Chiesa, Á., Mayorga, I., 2007. Factores de pre cosecha que afectan la calidad post cosecha en lechuga (*Lactuca sativa* L.) Cátedra de Horticultura, Facultad de Agronomía, UBA (Universidad de Buenos Aires) Resúmenes V congreso Iberoamericano de tecnología postcosecha y agro exportaciones pag. 1120- 1131 R. Argentina.

Chirinos, J., Leal, Á. y Montilla, J., 2007. Uso de Insumos Biológicos como Alternativa para la Agricultura Sostenible en la Zona Sur del Estado Anzoátegui. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. El Tigre, estado Anzoátegui. Venezuela. Disponible en URL: <https://www.engormix.com/MA-agricultura/cultivos-tropicales/articulos/uso-insumos-biologicos-como-t1296/078-p0.htm>

Díaz Boffil, C., González Pérez, E.M., Alvarez Márquez, J.L. y Laurencio, S.M., 2003. Estudio preliminar de diferentes técnicas de aplicación de un biofertilizante a base de *Azospirillum* spp. en el cultivo de la lechuga (*Lactuca sativa* L.). Centro Agrícola, Año 30, N° 2. Facultad de Agronomía, Universidad Camilo Cienfuegos de Matanzas. Cuba.

Díaz Vargas, P., Ferrera Cerrato, R., Almaraz Suárez, J.J. y Alcántar González, G., 2001. Inoculación de bacterias promotoras de crecimiento en lechuga. Rev. Terra vol. 19 N° 4 pag. 327-335. Instituto de Recursos Naturales, Montecillo, México. ISSN: 2395-8030



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

Di Benedetto, A., 2005. Manejo de Cultivos hortícolas, bases ecofisiológicas y tecnológicas
Autor 1ª Edición Editorial orientación grafica editora, ISBN 987-9260-30-9 Buenos
Aires. R. Argentina

Dibut Alvarez, B., Ortega García, M., Martínez Viera, R., Saavedra Rodríguez, G.,
Shagarodsky Scull, T. y Fey Gobin, L., 2009. Contribución de los biofertilizantes a una
agricultura sin contaminación Revista Agricultura Orgánica Vol. 1 N° 2 pag. 30, 31 y
32 O.B. ACTAF, INIFAT/ Cuba.

Food and Agriculture Organization (FAO), 2002. Programa: Cómo afecta la agricultura
orgánica a la seguridad alimentaria y la calidad. Vigésimo Segunda Conferencia
Regional de la FAO para Europa. Disponible en URL
<http://www.fao.org/regional/europe/erp/default.htm>

Food and Agriculture Organization (FAO), 2003. Elaboración de un marco para las buenas
prácticas agrícolas Producido por: Departamento de Agricultura COAG/2003/6 17º
período de sesiones Roma, 31 de marzo – 4 de abril de 2003
Disponible en URL <http://www.fao.org/docrep/MEETING/006/Y8704s.htm>

Food and Agriculture Organization (FAO), 2014. Fichas Técnicas PRODAR: Programa de
Desarrollo de la Agroindustria Rural de América Latina y el Caribe, Manual de
instrucción de productos básicos de frutas de tamaño pequeño , frutas subtropicales ,

frutas de clima templado , frutas tropicales , verduras, procesamiento primario de los
productos alimenticios y de procesamiento secundario de alimentos.

Disponible en URL <http://www.fao.org/3/a-ae620s.pdf>



Farrús, E., Vadell, J., 2000. Actividad biológica del suelo en cultivos hortícolas sometidos a distintos tratamientos de fertilización. Departament de Biologia. Universitat de les Illes Balears. Palma de Mallorca. España.

Ferraris, G.N. y Faggioli, V., 2011. Inoculación con microorganismos con efecto promotor de crecimiento. Conocimientos actuales y experiencias realizadas en la Región Pampeana Argentina

García Zumel, M., 2013. El cultivo de la lechuga. Cultivos Herbáceos intensivos Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias (E.T.S.I.I.A.A) de Palencia Universidad de Valladolid- España.

Goites, E.D., 2008. Manual de cultivos para la huerta orgánica familiar Ediciones Pro huerta INTA GOT Salado Norte – EEA Cuenca del Salado. Bs. As. Sur (CERBAS).- 1a ed. – Editorial del INTA Buenos Aires. R. Argentina ISBN 978-987-521-324-1.

Gomes, A.M.A., Mariano, R.L.R., Silveira, E.B., Mesquita, J.C.P., 2003. Isolamento, seleção de bactérias e efeito da utilização de *Bacillus* spp. na produção de mudas orgânicas de alface. Revista Horticultura Brasileira, Vol. 21 N° (4), pag. 699-703, Brasília, Brasil.

Disponible en URL: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362003000400026>

Gomes da Cruz, A., Cenci, S.A., Antun, M.M.C., 2005. Good agricultural practices in a Brazilian produce plant. jornal homepage: Disponible en URL: www.elsevier.com/locate/foodcont doi:10.1016/j.foodcont.2005.05.002 Food Control Vol. 17 N° (10) (2006) Pag. 781–788 Rio de Janeiro—RJ, Brasil. ISSN 0956-7135

Gomes Neto, N. J., Lucena Pessoa, R.M., Barbosa Nunes Queiroga, I.M., Magnani, M., de Sousa Freitas, F.I., de Souza, E.L., Ferreira Maciel, J., 2012. Bacterial counts and the



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA

occurrence of parasites in lettuce (*Lactuca sativa*) from different cropping systems in Brazil. journal homepage: Disponible en URL: www.elsevier.com/locate/foodcont
[doi:10.1016/j.foodcont.2012.04.033](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.04.033) Food Control vol. 28 (2012) Issue (1) Pag. 47 e 51

Gonella, C., Granval, N., Rosso, O., Ramírez, J.C., Ullé, J & Gómez, P., 2007. Estado del Arte de la agricultura orgánica en Argentina. Programa Cooperativo para el Desarrollo Tecnológico, Agroalimentario y Agroindustrial del Cono Sur (PROCISUR). Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) Disponible en URL: <http://infoagro.net/infotec/sur/PERFILES/ARGENTINA.htm>

González Anta, G., 2006. El fósforo y los microorganismos del suelo. Rizobacter Argentina SA. Disponible en URL: www.engormix.com/MA-agricultura/maiz/articulos/fosforo-microorganismos-suelo-t683/417-p0.htm

Google Earth., 2015. Ubicación geográfica de la Huerta

Instituto de la Potasa y el Fósforo (INPOFÓS), 2006. Porqué el Fósforo es importante para el desarrollo de las raíces.

Disponible en URL: <http://www.engormix.com/MA-agricultura/maiz/articulos/porque-fosforo-importante-desarrollo-t1021/417-p0.htm> 13/10/2006

International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF), 1983. Microorganismos de los Alimentos. Técnicas de análisis microbiológicos. Volumen I. Editorial Acribia. Zaragoza, España.

Izaguirre Mayoral, M.L., Labandera, C. y Sanjuán, J., 2007. Biofertilizantes en Latinoamérica: Una visión técnica, científica y empresarial. Programa CYTED. Review. Red Iberoamericana de Biofertilizantes Microbianos para la Agricultura CYTED, BIOFAG, 2007



- Jay, J.M. 2003. Cap. IV Alteración microbiana de los alimentos Pag. 219-230 En español Microbiología Moderna de los Alimentos 3ª edición Editorial ACRIBIA, Ed. Zaragoza, España I.S.B.N 84-200-0746-3.
- Jiménez Delgadillo, R., Gil Calleros, V., Tabares, S.F. y Portugal Olalde, V., 2001. Bacterias promotoras del crecimiento de plantas: Agrobiotecnología, Revista Avance y Perspectiva vol. 20 N° (6) N° Pag. 395- 400 ISSN: 0185-1411 México
- Koppmann, M., 2007. La cara oculta de los alimentos. Nota Portal de Noticias Disponible en URL: <http://www.conicet.gov.ar/noticias/portal/noticia.php?n=2119&t=3>
- Kroupitski, Y., Pinto, R., Belausov, E., Sela, S., 2011. Distribution of Salmonella typhimurium in romaine lettuce leaves a Microbial. journal homepage: Disponible en URL: www.elsevier.com/locate/jfm doi:10.1016/j.fm.2011.01.007 Food Microbiology Vol. 28 N° (5) (2011) Pag. 990 e 997. PMID: 21569943. Israel
- León, A., Frezza, D., Chiesa, A., 2004. Edad a Cosecha y Calidad Post cosecha de Lechuga Mantecosa Mínimamente Procesada Revista FAVE Ciencias Agrarias vol. 3 N° (2) Pag 25-35 Facultad de Agronomía Universidad de Buenos Aires República Argentina.
- Leskovar, D.I., 2001. Producción y Ecofisiología del trasplante hortícola Texas A & University, USA Buenavista, Saltillo, Coahuila, 31 de octubre del 2001
- López Camelo, A.F., 2003. Manual para la preparación y venta de frutas y hortalizas del campo al mercado boletín de servicios agrícolas de la FAO N° (151). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación Roma. ISSN 1020-4334.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA

López, V.; Romero, J. y Duarte, F., 2003. Calidad microbiológica y efecto del lavado y desinfección en vegetales pre-trozados expendidos en Chile. Revista ALAN (Archivos Latinoamericanos de Nutrición), vol. 53 N° (4), pp. 383-388. ISSN 0004-0622. Venezuela. Disponible en URL:
http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222003000400008&lng=es&nrm=iso

Luna, J. Daga, J. y Martínez, P., 2008. Determinación microbiológica de *Listeria* spp. en lechuga y espinaca. memorias red-alfa lagrotech, comunidad Europea, Cartagena 2008. Disponible en URL:
http://educon.javeriana.edu.co/lagrotech/images/jeaneth_daga.pdf

Maffei D.F., Silveira de Arruda N.F. & Catanozi M.d.P.L.M., 2012. Microbiological quality of organic and conventional vegetables sold in Brazil, jornal homepage: Food Control Disponible en URL: www.elsevier.com/locate/foodcont doi:10.1016/j.foodcont.2012.06.013 Vol. 29 (2013), Issue (1), Pag. 226-230. Brasil.

Mantilla, C. L. García, T.L.P. Oviedo Zumaqué, L.E., 2011. Efecto biofertilizante del preparado: residuos vegetales -bacteria nativa diazótrofa, sobre las variables biométricas en plántulas de *Rhapanus sativus*. Rev. colomb. biotecnol Vol.13 N°(1) Bogotá jan./jun. 2011. versão impressa ISSN 0123-3475.

Martin, F., 2012. Patógenos en alimentos frescos de venta regular. Argentina Investiga, Sección: Noticias divulgación y noticias universitarias, Universidad Nacional de Cuyo. Convenio Fac. Ciencias Agrarias - Fac.Cs. Aplicadas a la Industria.

Disponible en URL:

http://argentinainvestiga.edu.ar/noticia.php?titulo=patogenos_en_alimentos_frescos_de_venta_regular&id=1612



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA

Marvasi, M., Teplitzki, M. George, A. y Hochmuth, G., 2012. Salmonella y Escherichia coli enteropatógena en el ambiente de producción de cultivos: fuentes potenciales, supervivencia y gestión. Este documento, SL375-Span, del Departamento de Ciencia de Suelo y Agua, Servicio de Extensión Cooperativa de la Florida, Instituto de Alimentos y Ciencias Agrícolas, Universidad de la Florida, USA. Disponible en URL: <http://edis.ifas.ufl.edu>.

Messaria, G., Rincón, G., Romero, S., Harris, B., Castellano, M., Colina, G., 2005. Especies de Aeromonas en vegetales frescos que se expenden en un mercado popular de Maracaibo Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología, vol. 25 (2005), N° (2), pp. 229-235 ISSN 1317-973X Disponible en URL: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=199416579007>

Núñez Sosa, D.B., González, R.L. y López Ceballos, C., 2005. Evaluación de biofertilizantes (Azospirillum y micorrizas) y diferentes niveles de materia orgánica en bolsa de organopónica en el cultivo de zanahoria (Daucus carota). Revista Centro Agrícola, Vol. 32, N°(2), pag. 5-10. ISSN 0253-5785 Cuba. Disponible en URL: <http://biblioteca.idict.villaclara.cu/UserFiles/File/ciencia/19.pdf>

Oberti Arnaudo, A., Moccia, S., Chiesa, A., 2007. Hacia una Horticultura sustentable: Sistemas de producción e indicadores Revista Brasileña de Agroecología Vol. 2 N° (1) pag 1288- 1292.. Resumen del Congreso Brasileiro de Agroecología. Brasil.

Official Methods of Analysis Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 1990. 15 th. Edition. Washington, DC, USA.



Olaimat, A.N., Holley, R.A., 2012. Factors influencing the microbial safety of fresh produce: A review Journal homepage: Food Microbiol. Disponible en URL: www.elsevier.com/locate/fm doi:10.1016/j.fm.2012.04.016 Food Microbiology Vol. 32 (2012), N° (1) pag. 1 e 19. Winnipeg, Canada.

Oliveira Leite, M., 2007. Caracterizacáo da qualidade nutricional, microbiológica, física e de vida útil pos- colheita de Alface (*Lactuca Sativa* L.) in natura cultivadas por agricultura natural, Hidroponia e Metodo convencional, Higienizadas y acondicionadas en atmosfera natural. Tesis doctoral de la Universidade Federal Rural de Rio de Janeiro Instituto de Tecnología 2007. Brasil.

Oliveira, M.A., de Souza, V.M., Morato Bergamini, A.M., Pereira De Martinis, E.C., 2011. Microbiological quality of ready-to-eat minimally processed vegetables consumed in Brazil Food Control journal homepage: Disponible en URL: www.elsevier.com/locate/foodcont doi:10.1016/j.foodcont.2011.02.020 Food Control Vol. 22, Issue 8 (2011) Pag. 1400-1403 Ribeirão Preto, SP, Brazil.

Organización Panamericana de la Salud (OPS), 2015. Pulse net América Latina y el Caribe Red de subtipificación molecular para vigilancia de enfermedades transmitidas por alimentos. Presentación y Reunión para Latinoamérica. 22/06/2015 Disponible en URL: <http://fos.panalimentos.org/Default.aspx?alias=fos.panalimentos.org/pulsenet>

Organización Mundial de la Salud (OMS), 2013. Nota descriptiva N° 330 Enfermedades diarreicas Abril de 2013 Disponible en URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/es/> 16/06/2015



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA

Orecchia, E. y Angeleri, C.A., 2011. Cartilla de divulgación cultivo de ajo en la huerta familiar. Programa Pro Huerta INTA-AER. Cruz del Eje. Córdoba, Argentina.
Disponible en URL:
www.inta.gov.ar/extension/prohuerta/info/carpetas/horticultura/ajofamiliarcordoba.pdf

Pascual Anderson, M.del R. y Pascual, V., 2000. Microbiología Alimentaria Analítica para Alimentos y Bebidas 2ª edición Ed. Diaz de Santos S. A Madrid España ISBN 84-7978-424-5.

Patel, J., Sharma, M., 2010. A difference in attachment of Salmonella enteric serovars to cabbage and lettuce leaves. International Journal of Food Microbiology journal homepage: Disponible en URL: www.elsevier.com/locate/ijfoodmicro DOI: [10.1016/j.ijfoodmicro.2010.02.005](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.02.005) Food Microbiology Vol. 139 N° (1-2) pag. 41-47 Maryland. USA.

Peña, H.B., Reyes, Isbelia., 2007. Aislamiento y evaluación de bacterias fijadoras de Nitrógeno y disolventes de fosfatos en la promoción Del crecimiento de la lechuga (lactuca sativa l.), Rev. Interciencia Vol. 32 N° (8) (2007) pag. 560-565 ISSN: 0378-1844 Disponible en URL: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33932811>

Pérez, C.A., Rojas, S., Johanna Vale, M.H., 2009. Biología y Perspectiva de Microorganismos Endófitos Asociados a Plantas. Review Rev. Colombiana Cienc. Anim. Vol.1 N° (2) (2009) pag. 286-301. Colombia.

Principios Generales de Higiene de los Alimentos. CAC/RCP 1969, Revisiones 1997 y 2003. Codex Alimentarius Disponible en URL: www.codexalimentarius.net/input/download/standards/23/cxp_001s.pdf



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA

Programa Pro Huerta, 2015. Unidad de Coordinación Nacional. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Disponible en URL: prohuer@correo.inta.gob.ar
<http://www.desarrollosocial.gob.ar/prohuerta/149>

Quintero, I., Zambrano, J., Cabrita, M. y Gil R., 2000. Evaluación en campo y Postcosecha de nueve cultivares de lechuga *Lactuca sativa* L. Rev. Fac. Agron. LUZ Vol.17 (2000) pag. 482-491 Trujillo. Venezuela.

Ramilo, D., Prividera, G., 2013. Compilacion La Agricultura Familiar en la Argentina Diferentes abordajes para su estudio, Ediciones INTA, Buenos Aires, R. Argentina ISBN 978-987-679-198-4.

Rapaccioli, G.L., Fernandez, N.N., Aguirre, C.M., 2000. Efecto de la fertilización nitrogenada y densidad de siembra en lechuga (*Lactuca sativa*) en suelos arenosos de Corrientes. UNNE. (Universidad Nacional del Nordeste) Facultad de Ciencias Agrarias - Cátedra de Horticultura y Floricultura. Corrientes. R. Argentina.

Rodas Pinochet, A., 2008. Manejo eficiente en nutrición vegetal.

Disponible en URL: <http://www.engormix.com/MA-agricultura/cultivos-tropicales/articulos/manejo-eficiente-nutricion-vegetal-t1959/078-p0.htm> 04/04/2008

Rodríguez, D.M., Torres, F.E., Gutiérrez, E.V., López, M.P., Martínez, M.M., Carrascal, A.K., 2008. Determinación de *Salmonella Typhimorium* en compost inoculado artificialmente empleado en un cultivo de lechuga. Revista Acta biológica Colombiana. Vol. 13 N° (3) (2008) pag. 61-72. ISSN 0120-548X Bogotá, Colombia Disponible en URL: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-548X2008000300005&lng=en&nrm=iso



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA

Rojas Contreras, L., Medina, R.A., Paba, R.A., Cobos, H.S., 2006. Caracterización microbiológica de Lactuca Sativa l. Revista @Limentech Ciencia y tecnología alimentaria Vol. 4 N° (2) (2006) pag. 59 - 67 ISSN: 1692-7125 Pamplona Santander Colombia.

Román Florencia., 2007, Estado de la Producción Orgánica en la República Argentina (IICA) Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura Buenos Aires Disponible en URL: iicarg@iica.org.ar www.iica.org.ar

Rosas, S., 2007. Desarrollo de formulados específicos para hortalizas a base de Pseudomonas spp. y Azospirillum spp. Contribución a la sustentabilidad de en la producción hortícola. Directora PICT-STARTUP N° 01868/07. Facultad de Ciencias Exactas, físico química y naturales. UNRC. Río Cuarto. Córdoba. R. Argentina.

Rosselló Elena J M & Fernández de Gorostiza M., 1993. Technical guidelines for field variety trials Series FAO plant production and protection paper, 75. ISSN: 0259-2517 Roma, Italia.

Ruiz, J., Terry, E., Tejeda, T., y Díaz, M.M., 2009. Aplicación de bioproductos a la producción ecológica de tomate. Revista Cultivos Tropicales, vol. 30, N° (3) (2009), pag. 60-64 .ISSN 0258-5936 Disponible en URL: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362009000300004&lng=es&nrm=iso La Habana. Cuba.

Sáenz, L.L., 2012. Los Ácidos Húmicos. 02-03-2012 Disponible en URL: <http://www.engormix.com/MA-agricultura/articulos/acidos-humicos-t3978/p0.htm>



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA

Santillana Villanueva, N., 2006. Producción de biofertilizantes utilizando *Pseudomonas* spp
Revista Ecología Aplicada Vol. 5 N° (1-2) (2006) pag. 87-91 ISSN 1726-2216
Disponible en URL:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-22162006000100012&lng=es&nrm=iso Lima, Perú.

Seiler, R., Fabricius, R., Rotondo, V. y Vinocur, M., 1995. Agroclimatología de Río Cuarto – 1974/1993. Vol 1. Pag. 68 Facultad de Agronomía y Veterinaria. UNRC. R. Argentina

Seowa, J., Ágoston, R., Phua, L., Yuk, Hyun-Gyun., 2011. Microbiological quality of fresh vegetables and fruits sold in Singapore. Journal homepage Disponible en URL:
[doi:10.1016/j.foodcont.2011.10.017](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.10.017) Food control Vol. 25, Issue 1 (2012), pag. 39-44 Singapur.

Silva E.M.N.C.P., Ferreira, R.L.F., Araújo Neto, S.E., Tavella, L.B., Solino, A.J.S., 2011. Qualidade de alface crespa cultivada em sistema orgânico, convencional e hidropônico. Revista Horticultura Brasileira Vol. 29 N° (2) pag. 242-245. Brasília. Brasil. ISSN 0102-0536 Disponible en URL:
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-05362011000200019&lng=en&nrm=iso. Disponible en URL:
<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362011000200019>.

Sistemas de Información y Gestión del Conocimiento en Inocuidad de los Alimentos, 2015. Oficina de Comunicación Social y Educación- Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis (PANALIMENTOS) última revisión 2015.
www.panalimentos.org Disponible en URL:
http://www.revistainterforum.com/espanol/pdfes/sistemas_informacion-me-inppaz.pdf



- Tarigo, A., Repetto, C., Acosta, D., 2004. Evaluación Agronómica de Biofertilizantes en la Producción de Lechuga (*Lactuca sativa*) a campo Tesis de grado de la Facultad de Agronomía, Universidad de la Republica, Montevideo Uruguay 2004.
- Tananta, I., Chávez, A., Casas, E., Suárez, F. y Serrano, E., 2004. Presencia de enteroparásitos en lechuga (*Lactuca sativa*) en establecimientos de consumo público de alimentos en el mercado de Lima. Revista Investigaciones Veterinarias Vol. 15 N° (2) (2004) pag. 157-162. ISSN 1609-9117. Lima, Perú.
- Terry Alfonso, E., Ruiz Padrón, J. y Tejeda Peraza, T., Reynaldo Escobar, I., Díaz de Armas, M.M., 2010. Respuesta del cultivo de la lechuga (*Lactuca sativa* L.) A la aplicación de diferentes productos bioactivos Revista Cultivos tropicales Vol. 32 N° 1 (2011) ISSN 0258-5936. La Habana. Cuba.
- Van Soest, P., Robertson, J. & Lewis, B., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and monstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, Vol.74 Issue (10) pag. 3583-3597. Disponible en URL: [DOI: http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
- Vega González, M., Jiménez, M., Salgado Brito, R. y Pineda Flores, G., 2005. Determinación de bacterias de origen fecal en hortalizas cultivadas en Xochimilco de octubre de 2003 a marzo de 2004, Revista Investigación universitaria multidisciplinaria Simón Bolívar. Vol. 4, N° (4), (2005). Pag. 21-25. ISSN 1665-692X Universidad Simón Bolívar, D. F. México.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA

Vega González, M., Salgado Brito, R. y Pineda Flores, G., 2006. Reducción de bacterias de origen fecal presentes en zanahoria, espinaca, cilantro y lechuga escarola, cultivadas en la zona de chinampas de Xochimilco. Facultad de Ciencia y tecnología Investigación Universitaria Multidisciplinaria- Vol. 5, N° (5), (2006) Pag. 19-26 ISSN 1665-692X Universidad Simón Bolívar, D. F. México.

Viale, S., Guevara, E., Tamiozzo, L., 2013. Evaluación del efecto de estiércoles aviares aplicados al suelo en la calidad e inocuidad de lechuga (*Lactuca sativa* L.) en español Moreno, I., Rodríguez, C., Errecalde, C., Mancini, M y Grassi, E. Editores Publicación VI Jornada Científico- Técnicas Facultad de Agronomía y Veterinaria 1a ed. UniRío Editora, 2013. (UNRC) Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto, Córdoba República Argentina. ISBN 978-987-688-057-2

Vigliola, M.I., 1996. Parte especial Capítulo XII pag. 81-89 en español Vigliola, M.I., editora Manual de horticultura 2ª edición Editorial hemisferio sur- ISBN 9505044577 Buenos Aires, R. Argentina.