



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO

FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA

Trabajo Final para optar al título de Grado de Ingeniero Agrónomo

EFFECTO DE EXTRACTOS DEL ALGA *Macrocystis pyrifera* EN
BIOFERTILIZACIÓN COMBINADA CON BACTERIAS PGPR EN *Lactuca sativa*
(LECHUGA).

Alumno: Agustín Nieto

DNI: 35.134.257

Directora: Dra. Analía Llanes

Co-Directora: Lic. Julia Iparraguirre

Co-Director: Ing. Agr. Diego Ramos

Río Cuarto - Córdoba

Diciembre, 2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

CERTIFICADO DE APROBACIÓN

Título del Trabajo Final: EFECTO DE EXTRACTOS DEL ALGA *Macrocystis pyrifera* EN BIOFERTILIZACIÓN COMBINADA CON BACTERIAS PGPR EN *Lactuca sativa* (LECHUGA).

Autor: Agustin Nieto

DNI: 35.134.257

Director: Dra. Analía Llanes

Co-Director: Lic. Julia Iparraguirre

Co-Director: Ing. Agr. Diego Ramos

Aprobado y corregido de acuerdo con las sugerencias de la Comisión Evaluadora:

Ing. Agr. Jose Omar Plevich _____

Ing. Agr. Cecilia Cerliani _____

Dra. Analía Llanes _____

Fecha de Presentación: ____ / ____ / ____.

Secretario Académico

AGRADECIMIENTOS

- Primero quiero agradecer a Dios que me dio el don de la perseverancia para poder finalizar esta carrera.
- Gracias a mi familia, por su apoyo incondicional, por estar presentes en los buenos y malos momentos, por su paciencia y su gran cariño.
- Gracias a mis tutores, Dra. Analía Llanes, Lic. Julia Iparraguirre y al Ing. Agr. Diego Ramos por su tiempo y su inmensa predisposición dedicado para la finalización del proyecto.
- Gracias a mis amigos, por su compañerismo, amistad y apoyo moral para poder transcurrir todos estos años en la universidad.
- Gracias a la Universidad Nacional de Rio Cuarto por formarme como profesional.

INDICE GENERAL

<i>Introducción</i>	1
1. EL MERCADO HORTÍCOLA Y LA PRODUCCIÓN DE LECHUGA.	1
1.1 La importancia del sector hortícola en el contexto de la producción agropecuaria.	1
2. GENERALIDADES DE LA PLANTA DE LECHUGA	4
2.1 Taxonomía y morfología	4
2.2 Clasificación	4
2.3 Propiedades e información nutricional	6
2.4 El cultivo	6
2.5 La cosecha de la lechuga	8
2.6 La comercialización	9
3. ALTERNATIVAS PARA INCREMENTAR LA PRODUCCIÓN DE HORTÍCOLAS	10
<i>Hipótesis</i>	12
<i>Objetivo general</i>	13
<i>Objetivos específicos</i>	13
<i>Materiales y Métodos</i>	14
1. MATERIAL BIOLÓGICO	14
2. MÉTODOS DE APLICACIÓN Y SEGUIMIENTO DEL CULTIVO	15
2.1 Inoculación o infección sobre semillas	15
2.2 Inmersión de plántulas pre-trasplante en la solución de riego (alga- bacteria)	16
2.3 Determinación de parámetros fisiológicos	16
2.4 Determinación de Energía germinativa (EG) y Poder germinativo (PG)	17
3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	17

RESULTADOS	18
Energía y poder germinativo	18
Longitud radical y aérea en plántulas de lechuga a los 7 días de siembra	19
Peso fresco aéreo y radical, longitud aérea y radical y contenido de clorofila de plántulas de lechuga al momento del trasplante	21
Peso fresco y seco radical y aéreo, contenido de clorofilas en los tratamientos de inoculación e inmersión en plantas a los 45 días post-siembra	26
TRATAMIENTO DE INOCULACIÓN	26
Peso fresco radical y aéreo en plántulas	26
Contenido de clorofilas	28
Peso seco aéreo y radical de plántulas	29
TRATAMIENTOS DE INMERSIÓN	31
Peso fresco aéreo y radical en plántulas	31
Contenido de clorofilas	33
Peso seco de la parte aérea y radical	34
DISCUSION	37
CONCLUSIONES	41
BIBLIOGRAFIA	42

INDICE DE FIGURAS Y TABLAS

I. INTRODUCCION

Figura 1: Distribución de las principales regiones hortícolas de Argentina.	2
Tabla 1: Composición nutricional de lechuga mantecosa	6

II. MATERIALES Y METODOS

III. RESULTADOS

Figura 2: Energía (EG) y poder (PG) germinativo de semillas de lechuga. 19 Tratamientos: Control: semillas sin inocular; T1I: semillas inoculadas solo con AZ39; T2I: semillas inoculadas solo con EA; T3I: semillas inoculadas con Az39 + EA. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).	
Figura 3: Crecimiento radical de plántulas de lechuga a los 10 días de siembra. 20 Tratamientos: Control: semillas sin inocular; T1I: semillas inoculadas solo con AZ39; T2I: semillas inoculadas solo con EA; T3I: semillas inoculadas con Az39 + EA. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).	
Figura 4: Crecimiento aéreo de plántulas de lechuga a los 10 días de siembra. 21 Tratamientos: Control: semillas sin inocular; T1I: semillas inoculadas solo con AZ39; T2I: semillas inoculadas solo con EA; T3I: semillas inoculadas con Az39 + EA. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).	
Figura 5: Peso fresco aéreo de plántulas de lechuga a los 20 días de siembra. 22 Tratamientos: Control: semillas sin inocular; T1: semillas inoculadas solo con AZ39; T2: semillas inoculadas solo con EA; T3: semillas inoculadas con Az39 + EA. El tratamiento I corresponde a la inoculación, y el M corresponde a la inmersión. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).	
Figura 6: Peso fresco radical de plántulas de lechuga a los 20 días de siembra. 23 Tratamientos: Control: semillas sin inocular; T1: semillas inoculadas solo con AZ39; T2: semillas inoculadas solo con EA; T3: semillas inoculadas con Az39 + EA. El tratamiento I corresponde a la inoculación, y el M corresponde a la inmersión. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).	
Figura 7: Longitud aérea de plántulas de lechuga a los 20 días de siembra. 24 Tratamientos: Control: semillas sin inocular; T1: semillas inoculadas solo con AZ39; T2: semillas inoculadas solo con EA; T3: semillas inoculadas con Az39 + EA. El tratamiento I corresponde a la inoculación, y el M corresponde a la	

inmersión. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

Figura 8: Longitud radical de plántulas de lechuga a los 20 días de siembra. 25
Tratamientos: Control: semillas sin inocular; T1: semillas inoculadas solo con AZ39; T2: semillas inoculadas solo con EA; T3: semillas inoculadas con Az39 + EA. El tratamiento I corresponde a la inoculación, y el M corresponde a la inmersión. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

Figura 9: Contenido de clorofilas en plántulas de lechuga a los 20 días de siembra. 26
Tratamientos: Control: semillas sin inocular; T1: semillas inoculadas solo con AZ39; T2: semillas inoculadas solo con EA; T3: semillas inoculadas con Az39 + EA. El tratamiento I corresponde a la inoculación, y el M corresponde a la inmersión. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

Figura 10: Peso fresco aéreo de plántulas de lechuga a los 45 días de post-siembra 27
en los condiciones normales de riego (100%) y frente a un déficit de agua (50%).
Tratamientos: Control: semillas sin inocular; T1I: semillas inoculadas solo con AZ39; T2I: semillas inoculadas solo con EA; T3I: semillas inoculadas con Az39 + EA. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

Figura 11: Peso fresco radical de plántulas de lechuga a los 45 días de post-siembra 28
en los condiciones normales de riego (100%) y frente a un déficit de agua (50%).
Tratamientos: Control: semillas sin inocular; T1I: semillas inoculadas solo con AZ39; T2I: semillas inoculadas solo con EA; T3I: semillas inoculadas con Az39 + EA. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

Figura 12: Contenido de clorofilas (UC) de plántulas de lechuga a los 45 días de 29
post-siembra en los condiciones normales de riego (100%) y frente a un déficit de
agua (50%). Tratamientos: Control: semillas sin inocular; T1I: semillas inoculadas
solo con AZ39; T2I: semillas inoculadas solo con EA; T3I: semillas inoculadas
con Az39 + EA. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las
letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq$
0,05).

Figura 13: Peso seco aéreo de plántulas de lechuga a los 45 días de post-siembra 30
en los condiciones normales de riego (100%) y frente a un déficit de agua (50%).
Tratamientos: Control: semillas sin inocular; T1I: semillas inoculadas solo con
AZ39; T2I: semillas inoculadas solo con EA; T3I: semillas inoculadas con Az39
+ EA. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales
indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

Figura 14 Peso seco radical de plántulas de lechuga a los 45 días de post-siembra 31
en los condiciones normales de riego (100%) y frente a un déficit de agua (50%).
Tratamientos: Control: semillas sin inocular; T1: semillas inoculadas solo con
AZ39; T2: semillas inoculadas solo con EA; T3: semillas inoculadas con Az39 +
EA. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales
indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

Figura 15: Peso fresco aéreo de plántulas de lechuga a los 45 días de post-siembra 32
en los condiciones normales de riego (100%) y frente a un déficit de agua (50%).
A los 20 días de cultivo las plantas fueron inmersión en diferentes soluciones.
Tratamientos: Control: plántulas inmersas en agua destilada; T1I: plántulas
inmersas en solución con AZ39; T2I: plántulas inmersas en solución con EA; T3I:
plántulas inmersas en solución con Az39 + EA. Las barras corresponden a la media
 \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias
significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

Figura 16: Peso fresco radical de plántulas de lechuga a los 45 días de post-siembra 33
en los condiciones normales de riego (100%) y frente a un déficit de agua (50%).
A los 20 días de cultivo las plantas fueron inmersión en diferentes soluciones.
Tratamientos: Control: plántulas inmersas en agua destilada; T1I: plántulas
inmersas en solución con AZ39; T2I: plántulas inmersas en solución con EA; T3I:
plántulas inmersas en solución con Az39 + EA. Las barras corresponden a la media
 \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias
significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

Figura 17: Contenido de clorofilas en plántulas de lechuga a los 45 días de post- 34
siembra en los condiciones normales de riego (100%) y frente a un déficit de agua
(50%). A los 20 días de cultivo las plantas fueron inmersión en diferentes
soluciones. Tratamientos: Control: plántulas inmersas en agua destilada; T1I:
plántulas inmersas en solución con AZ39; T2I: plántulas inmersas en solución con
EA; T3I: plántulas inmersas en solución con Az39 + EA. Las barras corresponden
a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias
significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

Figura 18: Peso seco aéreo de plántulas de lechuga a los 45 días de post-siembra 35
en los condiciones normales de riego (100%) y frente a un déficit de agua (50%).
A los 20 días de cultivo las plantas fueron inmersión en diferentes soluciones.
Tratamientos: Control: plántulas inmersas en agua destilada; T1I: plántulas
inmersas en solución con AZ39; T2I: plántulas inmersas en solución con EA; T3I:
plántulas inmersas en solución con Az39 + EA. Las barras corresponden a la media
 \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias
significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

Figura 19: Peso seco radical de plántulas de lechuga a los 45 días de post-siembra 36
en los condiciones normales de riego (100%) y frente a un déficit de agua (50%).

A los 20 días de cultivo las plantas fueron inmersión en diferentes soluciones. Tratamientos: Control: plántulas inmersas en agua destilada; T1I: plántulas inmersas en solución con AZ39; T2I: plántulas inmersas en solución con EA; T3I: plántulas inmersas en solución con Az39 + EA. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

RESUMEN

La necesidad de aumentar los rendimientos por superficie por falta de nuevas superficies productivas, está generando una alta demanda de incorporación de complementos nutricionales de origen químico/sintético provocando una mayor contaminación ambiental que por otra parte no asegura una mayor eficiencia de los cultivos en la asimilación de estos nutrientes. Frente a este escenario, la adopción y uso eficaz de biofertilizantes en la agricultura, está llamada a ser una de las prácticas claves para asegurar la sustentabilidad y productividad de esta actividad tan importante mundialmente. En el presente trabajo se analizaron las respuestas fisiológicas del cultivo de lechuga, a la aplicación de extractos del alga *Macrocystis pyrifera* de manera individual o en inoculación mixta con *Azospirillum brasilense* y se evaluó si ambos tipos de promotores ejercen una acción sinérgica sobre el crecimiento radical e implantación tanto en situaciones óptimas de riego (100%) como así también en situaciones de estrés (50% de riego). Tanto la aplicación del extracto del alga, la bacteria y la combinación entre ambas se aplicaron como inoculantes y por inmersión. Los resultados mostraron que la energía y poder germinativo de semillas de lechuga incrementa con la inoculación con extracto de algas, aumentando el crecimiento radical y asegurando el establecimiento de las plántulas. Los tratamientos de inoculación e inmersión, tanto con bacterias como algas y/o su mezcla, ejercen un efecto positivo en el crecimiento de plantas. Sin embargo, sólo el tratamiento de inmersión con el extracto de algas favoreció la adaptación a un ambiente desfavorable (déficit hídrico) incrementando la masa radical y protegiendo a las células de los efectos negativos derivados del estrés. De esta manera, la aplicación conjunta de ambos componentes orgánicos, es decir, bacterias promotoras del crecimiento vegetal (*Azospirillum brasilense*) y de extractos de macroalgas (*Macrocystis pyrifera*), como así también, la aplicación *per se* de extractos de algas al momento del transplante de lechuga, produce un efecto positivo favoreciendo la germinación y el establecimiento de las plántulas de lechuga proveyendo, no sólo un aporte exógeno de hormonas y nutrientes, sino también protección frente a situaciones ambientales desfavorables.

SUMMARY

The need to increase the productivity of lands due to the lack of new productive areas is generating a high demand for the incorporation of nutritional supplements of chemical/synthetic origins, leading to a greater environmental pollution and this does not guarantee a greater efficiency of in the assimilation of nutrients by the crops. Therefore, the adoption and effective use of biofertilizers in agriculture is called to be one of the key practices to ensure the sustainability and productivity of this important activity worldwide. In the present study, physiological responses of lettuce culture were analyzed. The application of extracts of the alga *Macrocystis pyrifera* individually or in mixed inoculation with *Azospirillum brasilense* were evaluated to know if both types of promoters exert a synergic action on the radical growth and implantation in the optimal irrigation (100%) and stress situations (50% irrigation). The results showed that the energy and germination of lettuce seeds increased under the inoculation with extract of algae, increasing the root growth and ensuring the establishment of the seedlings. Inoculation and immersion treatments, both with bacteria and algae and/or their mixture, exert a positive effect on plant growth. However, only the immersion treatment with the algae extract favored the adaptation to an unfavorable environment (water deficit) by increasing the radical mass and protecting the cells from the negative effects of stress. Thus, the application of both organic components, plant growth promoting bacteria (*Azospirillum brasilense*) and macroalgae extracts (*Macrocystis pyrifera*), as well as, the application *per se* of algae extracts at the time of transplantation of lettuce culture, produces a positive effect favoring the germination and establishment of seedlings providing, not only an exogenous contribution of hormones and nutrients, but also protection against unfavorable environmental situations.

Introducción

1. EL MERCADO HORTÍCOLA Y LA PRODUCCIÓN DE LECHUGA.

1.1 La importancia del sector hortícola en el contexto de la producción agropecuaria.

Argentina tiene una superficie continental de 2.8 millones de kilómetros cuadrados y cuenta con unas 38 millones de hectáreas destinadas a cultivos agrícolas. La producción de hortalizas (incluyendo papa y legumbres secas) ocupan tan solo el 1.3 % de esta superficie. Sin embargo, la participación de las hortalizas en el Producto Bruto Agropecuario (agricultura y ganadería) es de aproximadamente el 10 % y si se considera sólo el sector de la agricultura, las hortalizas representan el 18 %. El volumen de producción anual de hortalizas es de 8 millones de toneladas y si bien esta cifra es muy inferior a la de cereales y oleaginosas (más de 75 millones de toneladas), las hortalizas se destacan fundamentalmente por su elevado valor económico por unidad de peso y por su alta producción por unidad de superficie (Hang *et al* 1999)

La actividad hortícola se caracteriza por su alto grado de intensidad en cuanto a la utilización de los factores de producción: tierra, trabajo, capital y tecnología. Así, si se compara con el sector agropecuario en su totalidad, demanda 30 veces más mano de obra, 20 veces más uso de insumos y 15 veces más inversión en maquinaria y equipos, por unidad de superficie (Corral *et al* 1993). Por esta razón, esta actividad económica tiene una gran trascendencia social ya que genera una elevada cantidad de puestos de trabajo relacionados con la producción, transporte y distribución, almacenamiento, comercialización e industrialización (Pineda, C. 2004).

En los últimos 15 años se produjo un incremento en los rendimientos de los cultivos hortícolas gracias a la aplicación de innovaciones tecnológicas fundamentalmente dirigidas al proceso de producción, tales como: uso de variedades mejoradas e incorporación de híbridos, incremento del uso de fertilizantes, mejoramiento en la tecnología de riego (riego por goteo), difusión del cultivo bajo invernáculo, entre otras. Sin embargo, no ha sucedido lo mismo en las etapas de manejo post cosecha y transporte, en las cuales aún no ha habido una incorporación importante de nueva tecnología (Teubal y Rodríguez,

2002).

La producción de hortalizas en Argentina se distribuye a lo largo y ancho del país (*Figura 1*), gracias a la diversidad de condiciones agroecológicas que posee.

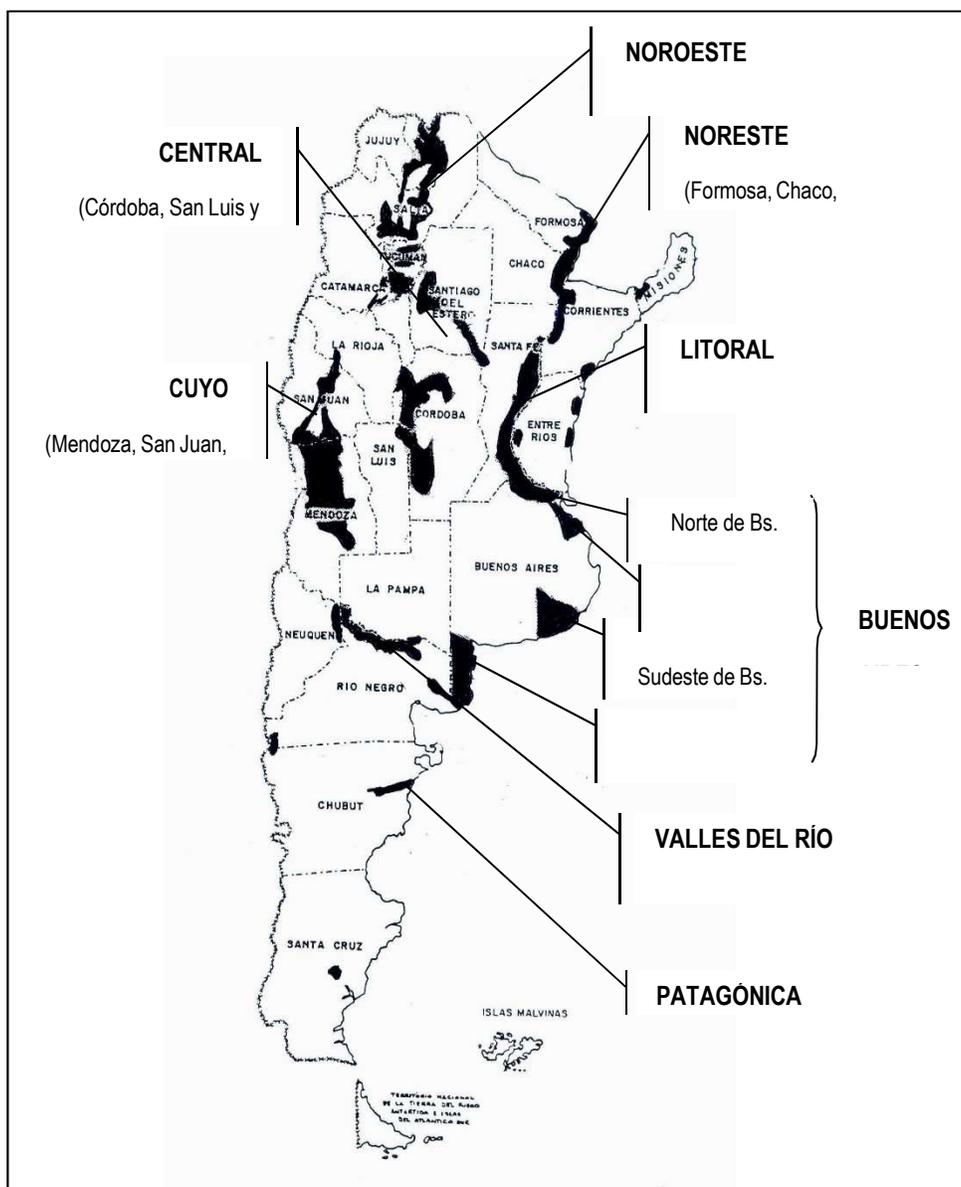


Figura 1. Distribución de las principales regiones hortícolas de Argentina. (Adaptado de Ministerio de Economía, 2010)

Las principales provincias argentinas que se destacan por su producción hortícola son: **Buenos Aires, Mendoza, Córdoba, Santiago del Estero, Misiones, Santa Fe, Corrientes, Tucumán, Formosa, Salta, Chaco, Jujuy, San Juan y Río Negro** (INDEC 2002).

El destino principal de los productos hortícolas es el mercado interno (93-94 %). La oferta de productos hortícolas, en general, es suficiente para abastecer holgadamente los requerimientos de la demanda interna, en su destino tanto para mercado fresco como para industria. El 6-7 % restante se exporta y está concentrado en pocas especies, tales como ajo, papa, cebolla, zanahoria, batata, espárrago, zapallo y otras especies en menor cantidad.

La mayoría de las grandes ciudades cuenta con un área cercana destinada al cultivo de hortalizas, los denominados "**cinturones hortícolas**" compuestos en general por explotaciones pequeñas o medianas (1 a 40 hectáreas). Su principal ventaja competitiva es la cercanía al mercado consumidor, lo que le permite producir muchas especies, aunque agroclimáticamente no sean las zonas más aptas para algunas de ellas. Se destacan los cinturones hortícolas del área metropolitana de Buenos Aires y La Plata, Rosario, Córdoba, Mar del Plata, Mendoza y Tucumán. (Di Nápoli *et al* 2003)

La producción hortícola en Río Cuarto, comprende aproximadamente unas 700ha cultivadas. Los principales cultivos que se realizan incluyen hortalizas de hoja: Lechuga (*Lactuca sativa* L.), Acelga (*Beta vulgaris* var. *cicla*), Espinaca (*Spinacia oleracea*), Apio (*Apium graveolens*), Rúcula (*Eruca vesicaria*) y Achicoria (*Cichorium intybus*), dentro de las Crucíferas las principales son Repollo (*Brassica oleracea* var. *capitata*), Coliflor (*Brassica oleracea* var. *itálica*). Durante la década de los '90 un cambio sustancial fue la incorporación de la tecnología del invernadero en la producción de cultivos¹.

¹Comunicación Personal: Ing. Agr. Ramos, Diego – Docente de Cátedra de Producción Hortícola, Dpto de Producción Vegetal. UNRC

2. GENERALIDADES DE LA PLANTA DE LECHUGA

2.1 Taxonomía y morfología

La lechuga (*Lactuca sativa* L.) es una planta herbácea anual, dicotiledónea y autógama, perteneciente a la familia Compositae (Asteraceae), una de las más grandes y diversas familias de las plantas con flores, comprendiendo una décima parte de todas las especies conocidas de angiospermas (Romani *et al.*, 2002). Su nombre latino (*Lactuca*) deriva de la palabra latina "*lac*" que significa "leche", mientras que el término "sativa" hace referencia a que es una especie vegetal cultivada.

La lechuga se caracteriza por tener una raíz que se desarrolla en la capa superior del suelo y que raramente llega a sobrepasar los 25 cm de profundidad. La raíz es pivotante y con ramificaciones laterales. Su tallo es cilíndrico, muy corto y ramificado. Sus hojas se disponen en forma de roseta, desplegadas al principio. En algunas variedades, las hojas siguen así durante todo su desarrollo (variedades romanas), y en otras se aprietan formando un cogollo (o cabeza) más o menos compacto. Las hojas pueden ser de formas y texturas diversas y con borde liso, ondulado o aserrado, dependiendo de la variedad. En estadios vegetativos avanzados (próximos a la floración), la cabeza o el manojó de hojas central se abre para que avance un tallo cilíndrico y ramificado portador de hojas, así como de capítulos foliares. La inflorescencia está constituida por capítulos florales amarillos dispuestos en racimos. (Di Benedetto, 2005).

2.2 Clasificación

Los cultivares modernos de lechuga pueden ser agrupados de acuerdo a la forma de la planta y su uso predominante (Di Benedetto, 2005; Wien, 1997). Así, los principales grupos botánicos son:

- Romanas (Cos o Romaine lettuce): tiene hojas erectas, elongadas, con bordes enteros y nervadura central ancha. No forman una verdadera cabeza o cogollo de lechuga. Dentro de este grupo se encuentran la lechuga romana, la lechuga "Baby" y la lechuga criolla de invierno.

- Acogolladas (*Lactuca sativa* var. capitata): estas lechugas forman una cabeza o cogollo apretado de hojas. Dentro de este grupo hay dos variedades principales:
 - Lechuga mantecosa o troncadero (Butterhead lettuce): forman una cabeza floja con hojas de textura suave, de aspecto aceitoso.
 - Lechuga Iceberg (Crisphead lettuce): forman una cabeza compacta con hojas apretadas de textura quebradiza que se asemejan al repollo. Muy popular en Estados Unidos.
- De hojas sueltas: (*Lactuca sativa* var. inybasea): Esta variedad se caracteriza por presentar hojas sueltas de color verde amarillento, textura y sabor regular. Son de crecimiento muy rápido. Este grupo incluye a las lechugas Oak, Lollo rosso y al cultivar "Grand Rapids".

2.3 Propiedades e información nutricional

Entre los vegetales, las hortalizas de hoja son reconocidas por ser una excelente fuente de minerales, vitaminas y fibra dietaria (Piagentini *et al.*, 2005). En particular, algunos estudios recientes han mostrado efectos positivos de la lechuga previniendo enfermedades cardiovasculares en ratas y en humanos (Nicolle *et al.*, 2004; Serafini *et al.*, 2002). Las propiedades saludables de la lechuga son atribuidas a un gran número de compuestos antioxidantes, principalmente vitamina C, a los polifenoles y al contenido de fibra dietaria.

La **Tabla 1** presenta la composición nutricional de lechuga mantecosa (Di Benedetto, 2005):

Tabla 1. Composición nutricional de lechuga mantecosa (Di Benedetto, 2005).

Nutriente	Unida	Valo
Agua	%	96
Proteínas	g/100g	1.2
Lípidos Totales	g/100g	0.2
Carbohidratos	g/100g	1.2
Minerales		
Calcio	mg/100	40
Hierro	mg/100	1.1
Magnesio	mg/100	16
Fósforo	mg/100	31
Potasio	mg/100	270
Sodio	mg/100	10
Vitaminas		
A	UI/100	1200
B1	mg/100	0.07
B2	mg/100	0.07
B3	mg/100	0.40
C	mg/100	9

2.4 El cultivo

La lechuga es una planta de cultivo anual con un ciclo de producción que puede oscilar entre 35 y 120 días, según los cultivares, la estación y el sistema de cultivo empleado. El período de crecimiento relativamente corto de la lechuga permite generar más de un turno de cosecha por ciclo anual de producción. Los sistemas empleados para su cultivo son principalmente: a campo, bajo invernadero y en sistemas hidropónicos. A medida que las producciones se realizan en condiciones más controladas, se logra un producto más suave y delicado. La variedad de lechuga mantecosa se realiza prácticamente en invernadero (Romani *et al.*, 2002).

El cultivo de lechuga se desarrolla mejor en climas templados a frescos con temperaturas medias mensuales entre 13 y 18 °C. Los suelos más adecuados, son los arcillo-arenosos con buen contenido en materia orgánica. El pH óptimo del suelo se encuentra en el rango de 6 a 7.5. La lechuga es una planta que resiste los contenidos medios de salinidad. La presencia de las sales en el suelo aumenta la sensibilidad de la planta a las altas temperaturas y reduce el tamaño de las mismas. En cuanto a los requerimientos nutricionales, para producir cogollos de calidad, la lechuga requiere buena disponibilidad de nitrógeno. Si se produce exceso o déficit de este elemento la

planta puede no acogollar (Calbo, 1999).

En el ciclo de la lechuga pueden distinguirse tres fases (Côme y Corbineau, 2002):

a) *Germinación - emergencia*

Las semillas de lechuga presentan un período de latencia que puede prolongarse dos meses después de la cosecha. La temperatura óptima para la germinación se sitúa entre 15 y 20 °C. La semilla de lechuga es muy sensible a altas temperaturas del suelo y no germina cuando en el mismo se registran valores mayores a 30 °C.

La forma de implantación más común es la siembra directa aunque en los últimos años se ha extendido la utilización de almácigo y transplante. La producción de plantines puede realizarse en bandejas con celdas de capacidad variable. Cuando las plantas alcanzan los 8 a 10 cm de altura y poseen entre 5 y 6 hojas se recomienda realizar el transplante. La plantación puede realizarse en hileras distanciadas de 25 a 30 cm y 20 a 30 cm entre plantas. También puede trasplantarse sobre lomos de 0.6 a 0.8 m de ancho, con una hilera de plantas a cada lado del lomo.

b) *Fase vegetativa de desarrollo de roseta de hojas y formación de cabeza*

Una vez establecida la planta en el suelo comienza la fase vegetativa durante la cual se produce el desarrollo y crecimiento de hojas formando una roseta. Durante la primera fase del crecimiento, la temperatura óptima se ubica entre 10 y 15 °C. En la fase de crecimiento rápido, la temperatura óptima diurna oscila entre 14 y 18 °C y la nocturna entre 5 y 8 °C. La incidencia de temperaturas más bajas puede inhibir el crecimiento (detiene el crecimiento con 6 °C).

La capacidad de las lechugas para formar cogollos es una característica genética influida por factores del medio. Uno de estos factores es el equilibrio entre luz y temperatura. Con temperaturas superiores a 20 °C, las lechugas acogollan mal si la iluminación es baja. En general, para lograr un buen acogollado son necesarias temperaturas diurnas comprendidas entre 17 y 28 °C y temperaturas nocturnas entre 3 y 12 °C. Otros efectos de las altas temperaturas son: quemado del borde de las hojas (amarronado), sabor amargo (por acumulación de látex), formación de cabezas poco compactas. Algunos efectos de las bajas temperaturas son: daño de hojas externas e

internas de plantas maduras, coloración rojiza en las hojas (acumulación de antocianinas).

c) *Fase reproductiva (emisión del tallo floral)*

Una planta de lechuga inducida a florecer desarrolla cambios en su morfología, pasando de ser una planta en roseta con un tallo corto a una planta de más de 1 metro de altura, con entrenudos alargados y grandes flores terminales sobre un tallo muy ramificado. La transición desde el estado vegetativo al reproductivo involucra, en cultivares que forman una cabeza compacta, el crecimiento del tallo restringido previamente por las hojas que formaban dicha cabeza.

Cuando el cultivo de lechuga tiene como objetivo la obtención de semillas, la floración es una fase necesaria. Sin embargo, cuando el objetivo del cultivo es la producción de biomasa fotosintetizante para consumo de la hortaliza, entonces la cosecha se realiza antes de alcanzar la fase reproductiva. En estos casos, la floración es indeseable ya que deprecia la calidad comercial del cultivo. Por esta razón se la considera como un accidente fisiológico conocido como "*bolting*" o floración prematura.

2.5 La cosecha de la lechuga

La lechuga debe ser cosechada con un desarrollo vegetativo tal que aún no debe percibirse el sabor amargo que se forma luego del inicio de la floración (Calbo, 1999). Los criterios de cosecha difieren según el tipo de lechuga. Por ejemplo, para lechuga Iceberg, la prioridad está dada por un buen desarrollo de la cabeza. Existe una clasificación por solidez de las cabezas que estima el estado de madurez y la vida post-cosecha potencial de las mismas. Las cabezas se consideran firmes cuando son compactas, pero pueden ceder levemente a una presión moderada. En este momento, el producto presenta la máxima potencialidad de almacenamiento. En el caso de lechuga mantecosa, la determinación del momento de cosecha es más dificultosa debido a que no forma una cabeza compacta que se va endureciendo.

En nuestro país la cosecha se realiza en forma manual y escalonada en el cultivo. La cosecha de lechuga se lleva a cabo cortando las plantas a nivel de la superficie del suelo utilizando un instrumento filoso (navajas o cuchillas). En este proceso, las

hojas exteriores pueden ser eliminadas, mientras que otras son dejadas ya que sirven de protección a las más internas. En esta etapa debe cuidarse la calidad higiénica sanitaria de los instrumentos utilizados, así como también de la mano de obra, ya que la manipulación que se lleva a cabo durante la cosecha puede producir contaminaciones en la materia prima. A su vez, el manejo descuidado de la materia prima puede provocar daños mecánicos que redundarán en vías de penetración de los microorganismos, aumento en la tasa respiratoria y liberación de etileno, reacciones enzimáticas no deseables, con impacto directo en la vida útil del producto.

2.6 La comercialización

Una vez cosechada, la lechuga es colocada en unidades de empaque denominadas "jaulas" para el traslado a mercado. Estos contenedores de campo son cajones comúnmente de madera que pueden contener diferentes cantidades de plantas según sea la variedad y tamaño de las unidades. Así, se da inicio a la rutina de comercialización, que puede incluir las siguientes etapas: pre enfriamiento, almacenamiento en campo, transporte a centros de distribución y almacenamiento en los mismos, transporte hacia puntos de venta minorista, espera a la compra y adquisición del consumidor en punto de venta, almacenamiento final por parte del consumidor, uso final y consumo (Hang, G. 1999).

Actualmente, existe una tendencia a nivel mundial de revisar las prácticas de manejo durante la rutina de comercialización de los productos agroalimentarios (Ahumada y Villalobos, 2009). Este es el resultado de varios factores, tales como la mayor divulgación y trascendencia que le da el consumidor a casos de contaminación de productos frescos (Van der Vorst, 2006), la creciente presencia de un consumidor más consiente que exige productos más saludables y productos cuya producción haya sido cuidadosa desde la siembra misma hasta que llega a la góndola (Ahumada y Villalobos, 2009). A nivel nacional, las buenas prácticas de manejo post- cosecha están escasamente desarrolladas. Tal es así que etapas como el preenfriamiento y el transporte refrigerado, entre otras, raramente son utilizadas.

En el caso particular de la lechuga, el manejo post-cosecha es extremadamente

desfavorable provocando grandes pérdidas económicas para los intermediarios y disminución de la calidad del producto. Sin embargo, la calidad de lechuga lograda por el productor es alta mientras que el producto ofrecido al consumidor en los puntos de venta finales (verdulerías) es de bajísimo nivel de calidad (Ferrato *et al* 2012).

3. ALTERNATIVAS PARA INCREMENTAR LA PRODUCCIÓN DE HORTÍCOLAS

Los sistemas actuales de producción se basan en una elevada provisión de "subsidios de energía" necesarios para mantener funcionando el sistema con altos niveles de rendimiento. Sin embargo, existe el riesgo de que la necesidad de aplicación de energía continúe creciendo y se dé el contrasentido de que para mitigar los efectos negativos de los subsidios de energía haga falta aplicar más subsidios (Coscia, 1998). Esto se traduce en la necesidad de mayor número de labranzas para romper capas de suelo compactadas, para favorecer la infiltración del agua de lluvia en suelos degradados, mayor número de pasadas del escardillo para control de malezas, aumento en el uso de fertilizantes sintéticos, operaciones que deterioran aún más el sistema y generan un mecanismo de "retroalimentación positiva" que incrementa la degradación del suelo (Casas, 2011).

Los aumentos demográficos proyectados y los cambios dietarios esperados, implican que para satisfacer la demanda de hortalizas en el 2050, será necesario aumentar la producción entre 70 y 100 % (Godfray *et al.*, 2010), y duplicar la superficie agrícola (Kastner *et al.*, 2012). Por tal motivo, para mantener los niveles de consumo calórico y proteico alimentarios en niveles adecuados deberá obtener incrementos importantes en la producción agrícola mundial. La necesidad de aumentar los rendimientos por superficie por falta de nuevas superficies productivas, está generando una alta demanda de incorporación de complementos nutricionales de origen químico/sintético altamente concentrados de aplicación al suelo y foliar, provocando una mayor polución ambiental que por otra parte no asegura una mayor eficiencia de los cultivos en la asimilación de estos nutrientes. Frente a este escenario, la adopción y uso eficaz de biofertilizantes en la agricultura, está llamada a ser una de las prácticas claves para asegurar la sustentabilidad y productividad de esta actividad tan importante mundialmente (Alarcón y Cerrato 2012).

Nuestro país, como principal productor agrícola, ha incorporado diversas tecnologías para mejorar la productividad de los cultivos y ha sido modelo para otros países en la implementación de la tecnología de inoculantes bacterianos sobre semillas (Buschmann *et al.*, 2014). Además, el ecosistema terrestre depende en gran medida de la actividad microbiana. Específicamente, la calidad del suelo y la productividad vegetal derivan de múltiples reacciones metabólicas que los microorganismos llevan a cabo en la zona rizosférica y la incorporación de microorganismos PGPR pueden afectar el crecimiento de las plantas. El término PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) se conoce desde 1978 y se acepta para describir a las bacterias que habitan en la rizósfera de las plantas y que ejercen un efecto positivo sobre los cultivos (Hernandez Díaz y Chailloux Laffita, 2001). Dicho efecto radica en los diferentes mecanismos mediante los cuales ellas ejercen su acción, como la fijación biológica de nitrógeno, producción de compuestos tipo fitohormonas que aumentan la energía, el poder germinativo y el enraizamiento, secreción de compuestos que mejoran la estructura del suelo, captación de nutrientes y protección contra patógenos, entre otros. Dentro del grupo PGPR se incluyen varios géneros bacterianos dentro de los cuales se puede mencionar al género *Azospirillum* (Helman *et al.*, 2012).

Una de las desventajas ecológicas de la inoculación es que se utilizan compuestos de origen sintético como soporte. Al respecto, la explotación de las algas marinas en Argentina comenzó a desarrollarse recién a mediados del siglo pasado. Pero desde hace tiempo se comercializan en el mercado mundial productos en forma de extracto natural de algas soluble en polvo (principalmente de origen chino), que contienen nutrientes naturales y sustancias bioactivas que pueden proporcionar múltiples beneficios para mejorar los rendimientos, la calidad y el vigor de plantas de manera significativa, y que son a la vez no tóxicos y respetuosos del medio ambiente (Buschmann *et al.*, 2014). Además, tienen un impacto muy positivo en la resistencia al estrés, las plagas y enfermedades (Hernandez, 2014).

El ácido algínico, el compuesto más abundante en los extractos de algas, estimula la actividad de microorganismos del suelo, mejora la capacidad de retención de agua del suelo, protege a los fertilizantes químicos de lixiviación o inmovilización y ayuda a la conservación de la estructura del suelo (Sanaa *et al.*, 2013). Este ácido, conjuntamente con el manitol

presente en los extractos, actúan como agentes quelantes secuestrando cationes como aluminio y hierro que precipitan los fosfatos, incrementando la disponibilidad de fósforo para las plantas (Eyras *et al.*, 2008). Varios estudios revelan los efectos beneficiosos de estos extractos cuando son aplicados sobre las plantas (Bula-Meyer, 2004; Hernandez, 2014; Zermeño *et al.* 2015).

La breve reseña de antecedentes pone de manifiesto que las algas marinas y sus extractos se proyectan como productos capaces de promover el crecimiento vegetal y de microorganismos beneficiosos para los cultivos.

En este estudio se propone averiguar si las características físico-químicas del alga marina *Macrocystis pyrifera* permitirán que su extracto constituya una matriz óptima para el crecimiento bacteriano, pudiendo actuar no sólo como adherente a semillas sino también como protector por su composición compleja en carbohidratos de origen natural, sustituyendo a los productos químicos que se utilizan actualmente en el mercado para tal fin.

Existen muy escasos antecedentes de este tipo de asociaciones en la literatura. Por todo lo expuesto, se considera de gran importancia evaluar el efecto de la inoculación mixta de bacterias PGPRs con el extracto del alga y de esta forma posibilitar la aplicación de una nueva práctica agronómica sustentable para el medio ambiente en un cultivo de hortalizas que se desarrolla en nuestra región.

Hipótesis

La aplicación conjunta de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (*Azospirillum brasilense*) con extractos de la macroalga *Macrocystis pyrifera* redundará en un efecto positivo sinérgico favoreciendo la germinación y el establecimiento de las plántulas de lechuga (*Lactuca sativa* L. var *capitata*) proveyendo, no sólo un aporte exógeno de hormonas y nutrientes, sino también protección frente a situaciones ambientales desfavorables.

Objetivo general

Analizar las respuestas fisiológicas del cultivo de lechuga, a la aplicación de extractos del alga *Macrocystis pyrifera* de manera individual o en inoculación mixta con *Azospirillum brasilense* y evaluar si ambos tipos de promotores ejercen una acción sinérgica sobre el crecimiento radical e implantación tanto en situaciones óptimas de riego como así también en situaciones de estrés.

Objetivos específicos

- 1- Evaluar el efecto de la aplicación del extracto de alga *Macrocystis pyrifera* y la bacteria promotora del crecimiento vegetal *Azospirillum brasilense*, de manera individual y en combinación, sobre la germinación, implantación y crecimiento de plantas de lechuga mediante dos métodos de aplicación (inoculación o infección sobre semillas e inmersión de plántulas pre-transplante en la solución de riego).
- 2- Estudiar en planta el efecto de dichos tratamientos ante situación de riego (100%) y ante situación de déficit hídrico (50%).

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Material biológico

- Semillas de lechuga mantecosa (*Lactuca sativa* var. capitata) provista por la Cátedra de Horticultura de la UNRC.
- Extracto de Alga (EA): La materia prima es el alga parda *Macrocystis pyrifera*, cosechada en las costas de la Provincia de Santa Cruz (Argentina). La cosecha se realiza en el mar desechando todo material que llega a la costa en forma natural (ya que se pierden muchos principios activos y no puede establecerse el tiempo que estuvieron fuera del agua). Se tiene en cuenta el estado de desarrollo del alga, ya que como otros vegetales su constitución química depende del periodo de desarrollo en que se encuentre. El alga es secada en forma natural y a la sombra hasta una humedad del 18%. Posteriormente es trasladada a Buenos Aires, donde se fabrica el extracto. Primero se hace un intenso lavado con agua desmineralizada para extraer el exceso de sodio, luego se realiza la extracción con solución hidro-alcohólica (80% de agua desmineralizada y 20% de propilenglicol). Más tarde se procede a una maceración natural y a bajas temperaturas (4°C) mediante un molino coloidal para lograr una completa homogenización. Se rotula con fecha de cosecha y lote para su trazabilidad físico-química.
- Bacteria *Azospirillum brasilense* cepa Az39: Se utilizó un inóculo bacteriano fresco con la cepa AZ39 proveniente del instituto IMyZA INTA en medio de cultivo mínimo, NFb -Nitrogen Free Biotin- carente de nitrógeno, que permite el aislamiento y crecimiento de microorganismos que pueden fijar biológicamente N₂. Además, contiene ácido málico, principal fuente de carbono para bacterias del género *Azospirillum*. El inóculo utilizado tuvo una concentración de 1x10⁹ unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/ml).

2. Métodos de aplicación y seguimiento del cultivo

2.1 Inoculación o infección sobre semillas

Las semillas de lechuga utilizadas para la inoculación fueron seleccionadas de acuerdo a su tamaño y luego se eliminaron las impurezas. Posteriormente se procedió a determinar el peso de 100 semillas. En base a esto se determinó la dosis bacteriana que se colocó por gramo de semilla. Para la infección se colocó 30 gr de semillas en bolsas de polipropileno estériles dejando un volumen de aire equivalente al ocupado por la semilla. Se inocularon con las correspondientes alícuotas de bacterias y EA según los tratamientos planteados, y se homogeneizó manualmente cerrando la bolsa y agitando hasta lograr una correcta distribución del inoculante sobre las semillas durante no menos de 1 minuto. Todos los tratamientos se llevaron a un mismo volumen final mediante la adición de agua destilada estéril.

Tratamientos planteados para inoculación de semillas:

IC: Semillas sin inocular (Tratamiento control).

T1: Semillas inoculadas solo con AZ39.

T2: Semillas inoculadas solo con EA.

T3: Semillas inoculadas con Az39 + EA.

Pasados 20 minutos de la inoculación, las semillas se colocaron en bandejas de germinación, una semilla por cada pocillo, y se llevaron a crecer en cámaras de crecimiento (Convicon PR48) con condiciones ambientales controladas como humedad relativa del 80%, fotoperiodo de 16 hs luz/ 8hs oscuridad y temperatura de 20 y 15 °C respectivamente, durante 20 días. Pasado ese tiempo se tomaron 5 plántulas de cada tratamiento y se les determinó los parámetros fisiológicos de crecimiento (ver punto 2.3). El resto de las plántulas se trasplantaron a macetas de 200 cm³ con tierra fértil estéril. Se colocaron nuevamente en cámara de crecimiento con las mismas condiciones ambientales y cada tratamiento se sometió a dos condiciones hídricas: Teniendo en cuenta los requerimientos de agua del

cultivo de lechuga, se aplicaron dos riegos del 100% (riego normal) y 50% (déficit hídrico). Salinas (2010) en su estudio con cultivo de lechuga consideró 50 % como déficit hídrico a 20 mL/plantas durante los primeros 19 días y de 65 mL/plantas a los 40 días. Quedando un total de 6 plántulas de lechuga por tratamiento y condición hídrica. A los 40 días después de la siembra se determinó en todas las plantas los parámetros fisiológicos de crecimiento.

Para el método de infección se realizó también una evaluación de Energía germinativa (EG) y Poder germinativo (PG) (ver punto 2.4).

2.2 Inmersión de plántulas pre-trasplante en la solución de riego (alga- bacteria)

De manera simultánea a la metodología anterior, las semillas de lechuga se colocaron a germinar en bandejas de germinación y se llevaron a la cámara de crecimiento con las mismas condiciones mencionadas anteriormente. Transcurridos 10 días post-siembra las bandejas fueron sumergidas en las soluciones de los tratamientos anteriores durante unos minutos. Luego se dejaron crecer durante 10 días más en las cámaras de crecimiento.

A los 20 días después de la siembra, como en el caso anterior, se tomaron 5 plántulas de cada tratamiento y se les determinó longitud, peso fresco y seco, aéreo y radical, y contenido de clorofila (parámetros de crecimiento). De las restantes un porcentaje de plántulas fueron trasplantadas a macetas y mantenidas como en el caso anterior en las cámaras de crecimiento con las dos condiciones hídricas durante 20 días y luego de ese tiempo se determinaron los parámetros fisiológicos.

2.3 Determinación de parámetros fisiológicos

Se midió: longitud de la biomasa radical y aérea, peso fresco y seco en biomasa radical y aérea. Además se evaluó el contenido de clorofilas totales en hojas de cada cultivo mediante la utilización de un clorofilómetro (Hansatech CL-O1, Hansatech Instruments Ltd) y la conductancia estomática mediante un porómetro de hoja (Decagon Devices), en respuesta a los diferentes tratamientos.

2.4 Determinación de Energía germinativa (EG) y Poder germinativo (PG)

Para determinar estos parámetros se colocó 25 semillas en placa de petri con papel filtro estéril y se llevaron a incubar en estufas de germinación a 20°C. Se realizó por triplicado.

Se determinó según el manual ISTA, la energía germinativa (EG) a los 4 días después de la siembra y se determinó el porcentaje de semillas germinadas, el poder germinativo (PG) a los 7 días después de la siembra y se informó el porcentaje de semillas germinadas normales.

3- Análisis estadístico

Este trabajo fue realizado en un diseño experimental completamente al azar (DCA). Se realizó un ANOVA para cada variable. Como prueba a posteriori se utilizó DGC, las diferencias significativas fueron consideradas por el valor $p < 0,05$. Si las variables analizadas no cumplieron con los supuestos de Normalidad y Análisis de la Varianza, requisitos para realizar un ANOVA, se procedió a realizar una Prueba no paramétrico (Prueba de Kruskal Wallis).

RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados correspondientes al análisis de las pruebas en semillas de *Lactuca sativa* y de las variables de crecimiento antes del trasplante a macetas en las cámaras de crecimiento.

Energía y poder germinativo

En la Figura 2 se observa el poder y energía germinativa de semillas de lechuga en los diferentes tratamientos. Se observa un incremento significativo en estas variables en las semillas tratadas con la inoculación con EA (T2I) y con la mezcla Az39 + EA (T3I) en comparación a los controles (sin tratar).

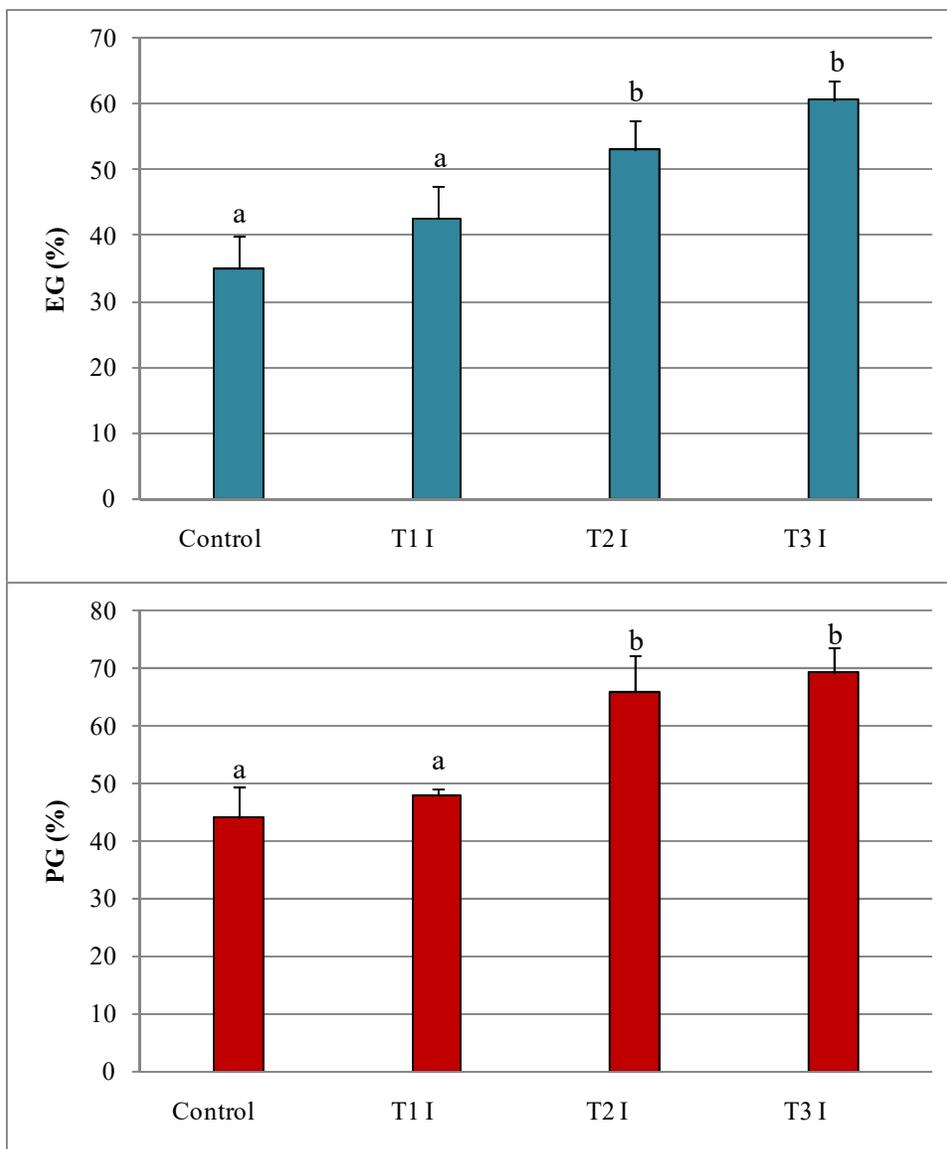


Figura 2: Energía (EG) y poder (PG) germinativo de semillas de lechuga. Tratamientos: Control: semillas sin inocular; T1I: semillas inoculadas solo con AZ39; T2I: semillas inoculadas solo con EA; T3I: semillas inoculadas con Az39 + EA. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

Longitud radical y aérea en plántulas de lechuga a los 7 días de siembra

En la Figura 3 se muestra la longitud radical en plántulas a los 7 días de siembra. Los tratamientos de inoculación ocasionaron diferencias significativas en esta variable al

comparar los valores con las plántulas controles. El tratamiento con inoculación de algas produjo el mayor crecimiento radical.

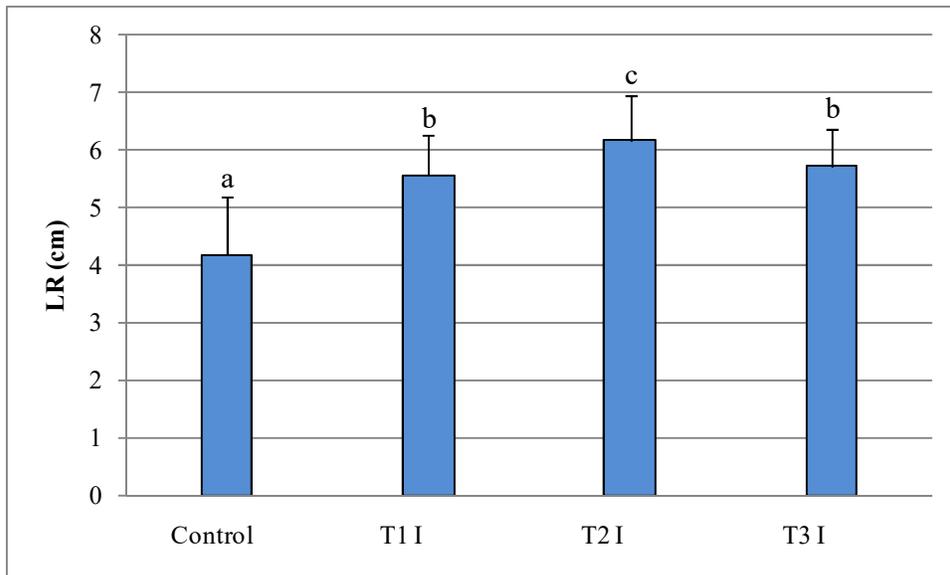


Figura 3: Crecimiento radical de plántulas de lechuga a los 10 días de siembra. Tratamientos: Control: semillas sin inocular; T1I: semillas inoculadas solo con AZ39; T2I: semillas inoculadas solo con EA; T3I: semillas inoculadas con Az39 + EA. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

La longitud aérea no mostró diferencias significativas en las plántulas con los diferentes tratamientos (ver Figura 4).

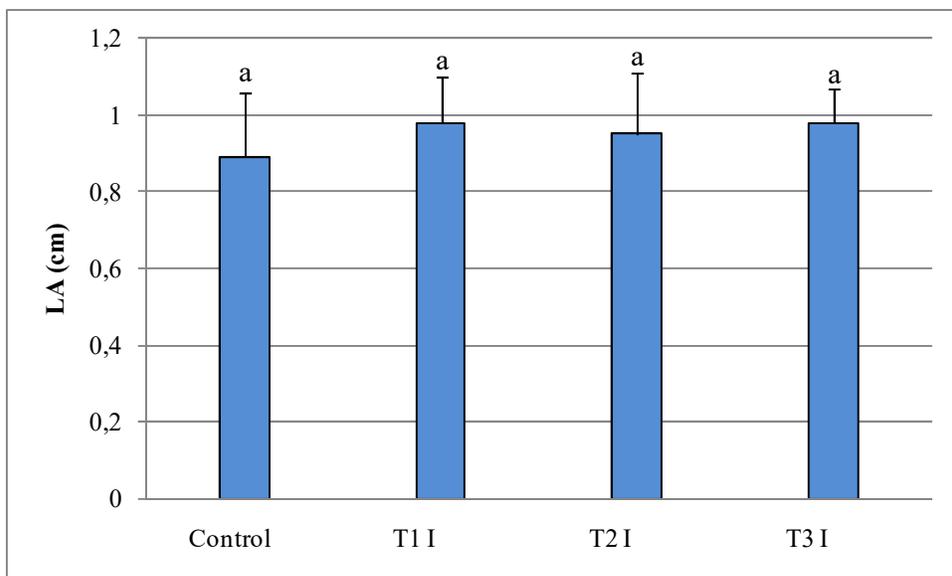


Figura 4: Crecimiento aéreo de plántulas de lechuga a los 10 días de siembra. Tratamientos: Control: semillas sin inocular; T1I: semillas inoculadas solo con AZ39; T2I: semillas inoculadas solo con EA; T3I: semillas inoculadas con Az39 + EA. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

Peso fresco aéreo y radical, longitud aérea y radical y contenido de clorofila de plántulas de lechuga al momento del trasplante

A continuación se presentan los datos correspondientes a los tratamientos de inmersión e inoculación a los 10 días posteriores de su tratamiento (plántulas con 20 días de edad en total).

En la Figura 5 se muestra el peso fresco aéreo de plántulas de lechuga a los 20 días en los tratamientos de inmersión e inoculación. Las plantas que fueron inmersas con la bacteria AZ39 mostraron un peso similar a aquellas inoculadas con el alga y la mezcla y mayor que los controles.

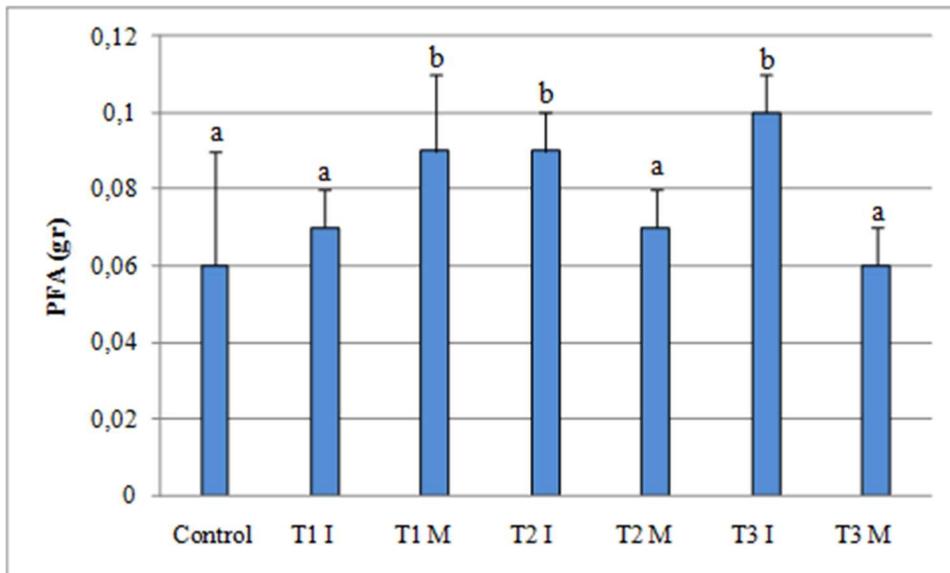


Figura 5: Peso fresco aéreo de plántulas de lechuga a los 20 días de siembra. Tratamientos: Control: semillas sin inocular; T1: semillas inoculadas solo con AZ39; T2: semillas inoculadas solo con EA; T3: semillas inoculadas con Az39 + EA. El tratamiento I corresponde a la inoculación, y el M corresponde a la inmersión. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

Al analizar el peso fresco radical de plántulas en los diferentes tratamientos se observan un incremento significativo en los 3 tratamientos de inoculación (T1I, T2I, T3I) con respecto al control y sólo un aumento en el tratamiento de inmersión con el alga (T2) al comparar con los valores del peso de los controles (ver Figura 6).

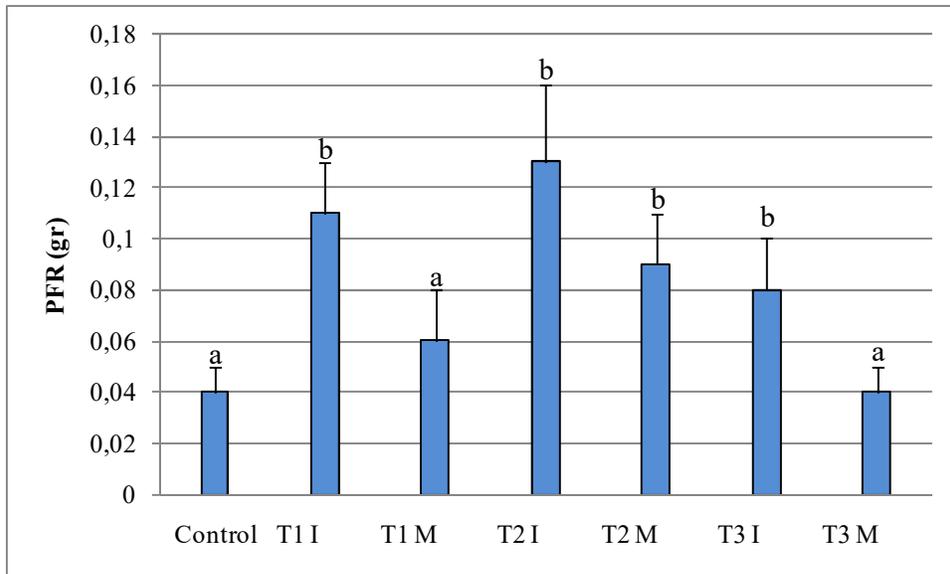


Figura 6: Peso fresco radical de plántulas de lechuga a los 20 días de siembra. Tratamientos: Control: semillas sin inocular; T1: semillas inoculadas solo con AZ39; T2: semillas inoculadas solo con EA; T3: semillas inoculadas con Az39 + EA. El tratamiento I corresponde a la inoculación, y el M corresponde a la inmersión. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

En la Figura 7 se observa un aumento de la longitud aérea de las plántulas inoculadas, independientemente del tratamiento en comparación a los controles. Los tratamientos de inmersión no mostraron diferencias significativas en este parámetro con respecto a los controles.

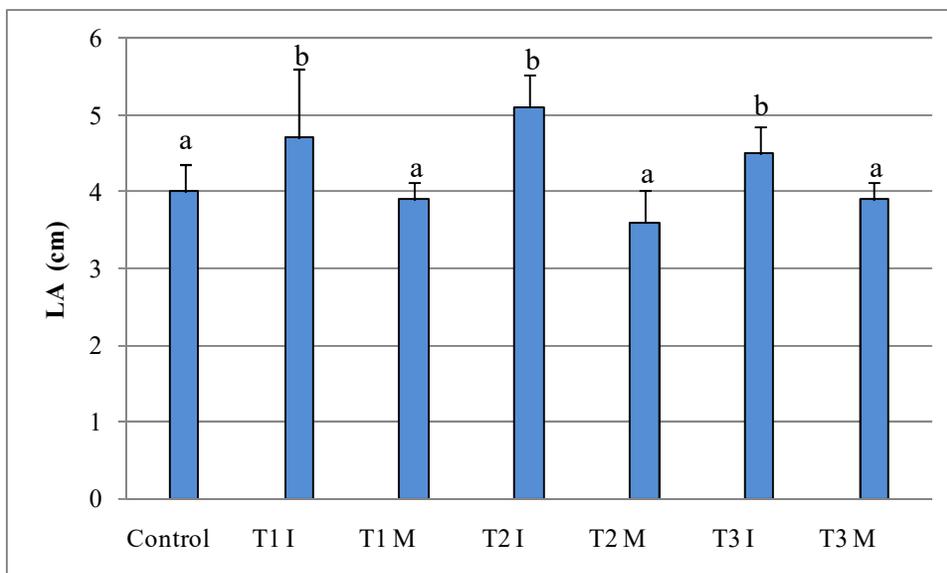


Figura 7: Longitud aérea de plántulas de lechuga a los 20 días de siembra. Tratamientos: Control: semillas sin inocular; T1: semillas inoculadas solo con AZ39; T2: semillas inoculadas solo con EA; T3: semillas inoculadas con Az39 + EA. El tratamiento I corresponde a la inoculación, y el M corresponde a la inmersión. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

En relación a la longitud radical se observa el mayor valor en el tratamiento de inmersión T1; también incrementó en los tratamientos T2 y T3 con inoculación en comparación a los controles (ver Figura 8).

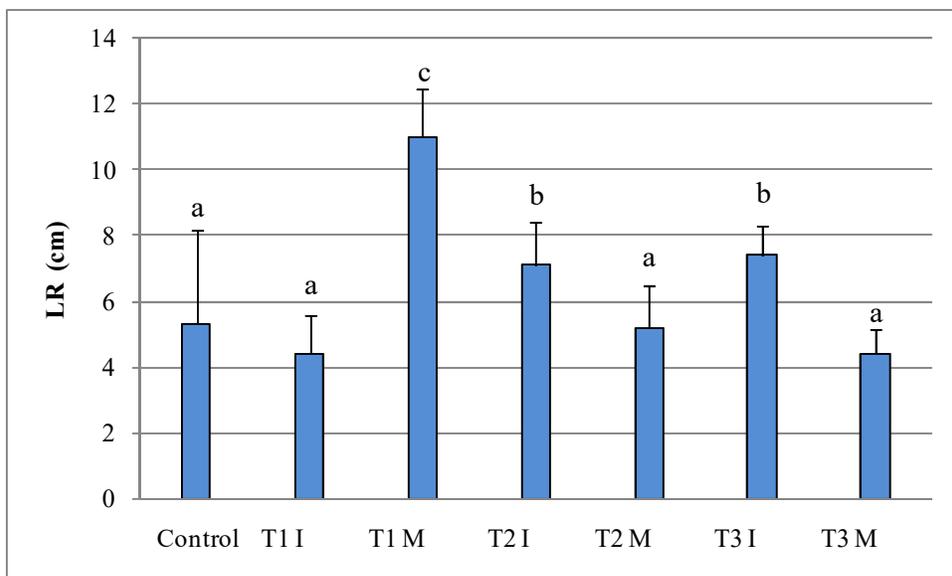


Figura 8: Longitud radical de plántulas de lechuga a los 20 días de siembra. Tratamientos: Control: semillas sin inocular; T1: semillas inoculadas solo con AZ39; T2: semillas inoculadas solo con EA; T3: semillas inoculadas con Az39 + EA. El tratamiento I corresponde a la inoculación, y el M corresponde a la inmersión. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

En la Figura 9 se muestra el contenido de clorofilas en plántulas en los diferentes tratamientos, una disminución significativa en esta variable se observó sólo en las plántulas con inmersión en el extracto de algas y con Az39 + EA.

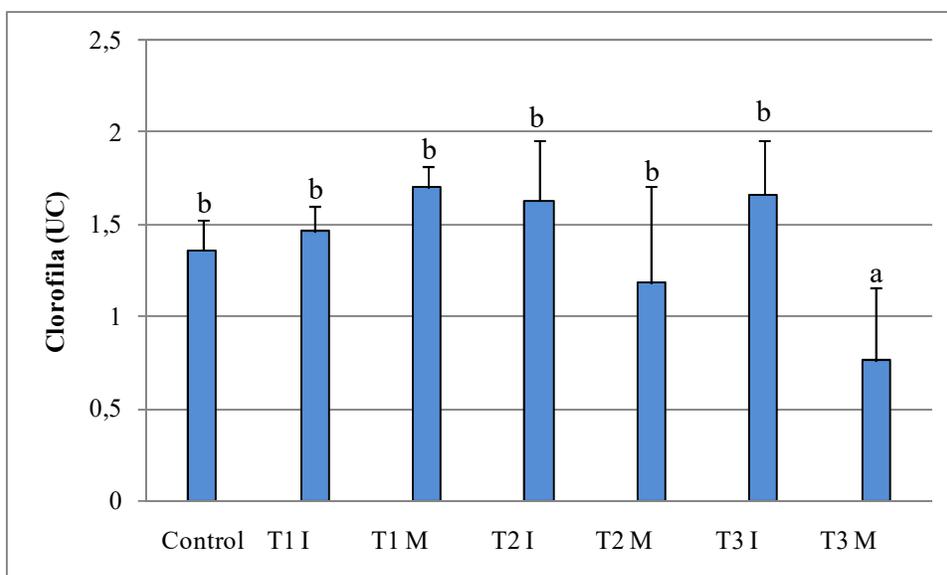


Figura 9: Contenido de clorofilas en plántulas de lechuga a los 20 días de siembra. Tratamientos: Control: semillas sin inocular; T1: semillas inoculadas solo con AZ39; T2: semillas inoculadas solo con EA; T3: semillas inoculadas con Az39 + EA. El tratamiento I corresponde a la inoculación, y el M corresponde a la inmersión. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

Peso fresco y seco radical y aéreo, contenido de clorofilas en los tratamientos de inoculación e inmersión en plantas a los 45 días post-siembra

A los 20 días del cultivo, cada tratamiento se expuso a dos condiciones de riego: (teniendo en cuenta los requerimientos de agua del cultivo de lechuga) una de ellas al 100% (riego normal) y otra al 50% (déficit hídrico). Luego, a los 45 días post-siembra se evaluaron las variables y los resultados para inoculación e inmersión se detallan a continuación.

TRATAMIENTO DE INOCULACIÓN

Peso fresco radical y aéreo en plántulas.

En relación al peso fresco aéreo, sólo las plántulas inoculadas con el extracto de algas mostraron un incremento significativo en este parámetro en las dos condiciones hídricas (ver Figura 10).

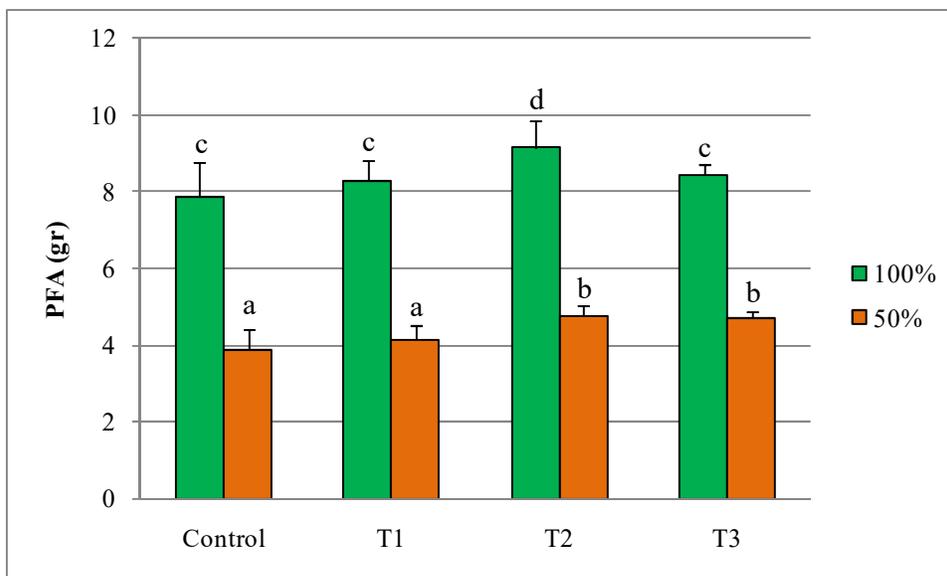


Figura 10: Peso fresco aéreo de plántulas de lechuga a los 45 días de post-siembra en los condiciones normales de riego (100%) y frente a un déficit de agua (50%). Tratamientos: Control: semillas sin inocular; T1I: semillas inoculadas solo con AZ39; T2I: semillas inoculadas solo con EA; T3I: semillas inoculadas con Az39 + EA. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

Similar a lo observado en la parte aérea, el mayor peso fresco radical se observa en el tratamiento de inoculación con algas (T2) para ambas condiciones hídricas evaluadas. Además, en condiciones normales hídricas (100%) todos los tratamientos de inoculación mostraron un incremento en comparación con los controles, mientras que al 50% sólo se observó un aumento en las plantas inoculadas con el extracto de algas y con la mezcla extracto + bacteria (Figura 11).

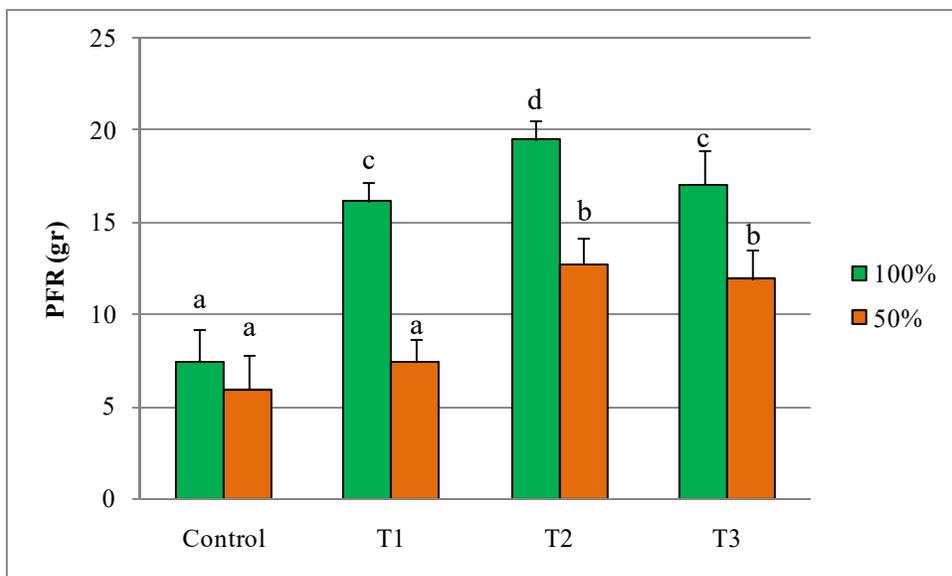


Figura 11: Peso fresco radical de plántulas de lechuga a los 45 días de post-siembra en los condiciones normales de riego (100%) y frente a un déficit de agua (50%). Tratamientos: Control: semillas sin inocular; T1I: semillas inoculadas solo con AZ39; T2I: semillas inoculadas solo con EA; T3I: semillas inoculadas con Az39 + EA. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

Contenido de clorofilas

En la Figura 12, se muestra que los tratamientos no mostraron efecto en el contenido de clorofilas totales en las plántulas inoculadas.

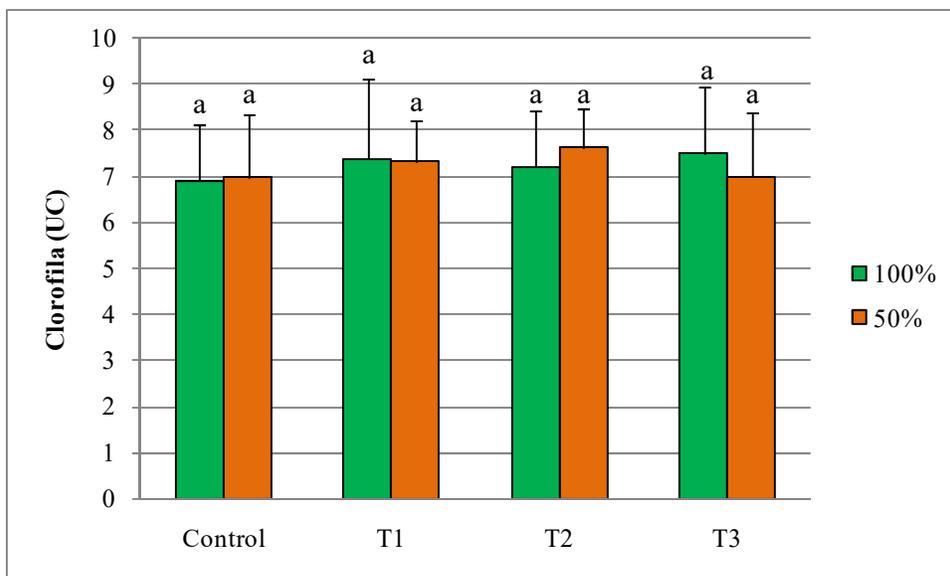


Figura 12: Contenido de clorofilas (UC) de plántulas de lechuga a los 45 días de post-siembra en los condiciones normales de riego (100%) y frente a un déficit de agua (50%). Tratamientos: Control: semillas sin inocular; T1I: semillas inoculadas solo con AZ39; T2I: semillas inoculadas solo con EA; T3I: semillas inoculadas con Az39 + EA. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

Peso seco aéreo y radical de plántulas

En condiciones normales de riego (100%) los 3 tratamientos de inoculación mostraron un aumento significativo en el peso seco aéreo en comparación a los controles, siendo el mayor peso registrado en las plántulas tratadas con el extracto de algas. Al 50% de riego no se observan diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 13).

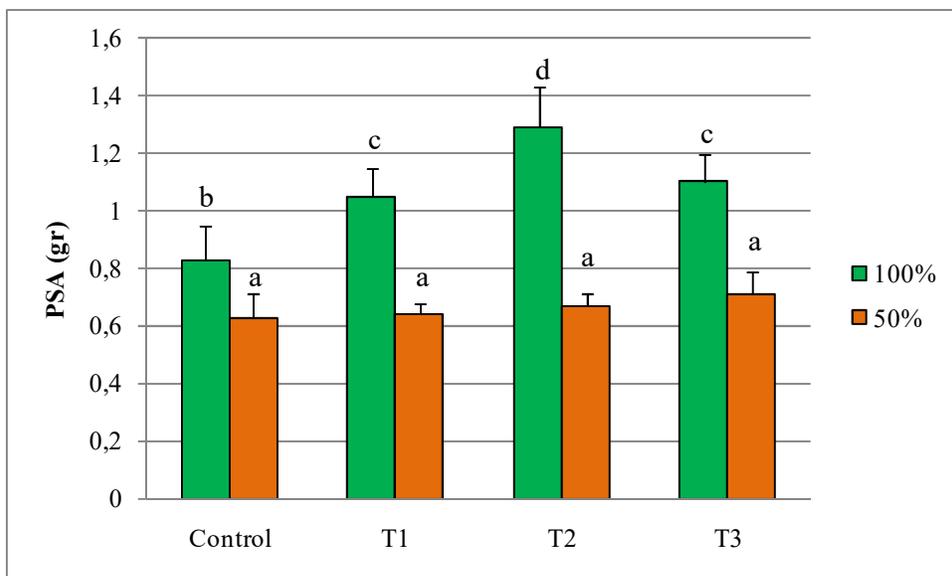


Figura 13: Peso seco aéreo de plántulas de lechuga a los 45 días de post-siembra en los condiciones normales de riego (100%) y frente a un déficit de agua (50%). Tratamientos: Control: semillas sin inocular; T1I: semillas inoculadas solo con AZ39; T2I: semillas inoculadas solo con EA; T3I: semillas inoculadas con Az39 + EA. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

En relación al peso seco radical, las plantas inoculadas mostraron un incremento significativo en esta variable en ambas condiciones hídricas evaluadas, siendo los mayores valores aquellos registrados en las plántulas inoculadas con el extracto de algas (Figura 14).

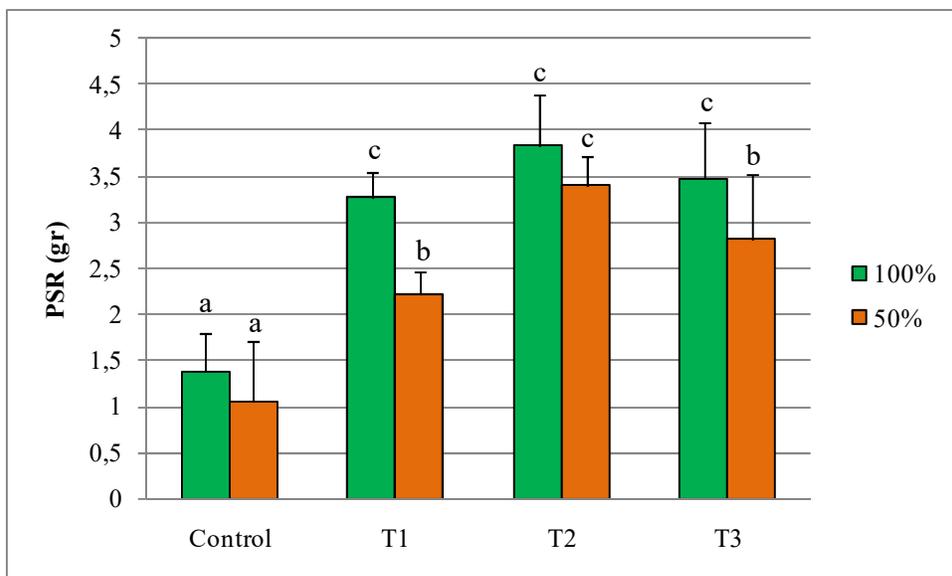


Figura 14: Peso seco radical de plántulas de lechuga a los 45 días de post-siembra en los condiciones normales de riego (100%) y frente a un déficit de agua (50%). Tratamientos: Control: semillas sin inocular; T1: semillas inoculadas solo con AZ39; T2: semillas inoculadas solo con EA; T3: semillas inoculadas con Az39 + EA. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

TRATAMIENTOS DE INMERSIÓN

Peso fresco aéreo y radical en plántulas

El peso fresco de la parte aérea incrementó en las plántulas inmersas con las soluciones de bacterias y con el extracto de algas cuando la condición de riego fue normal (100%).

Cuando las plantas se expusieron a un déficit de agua (50%) no hubo efectos significativos en los tratamientos (Figura 15).

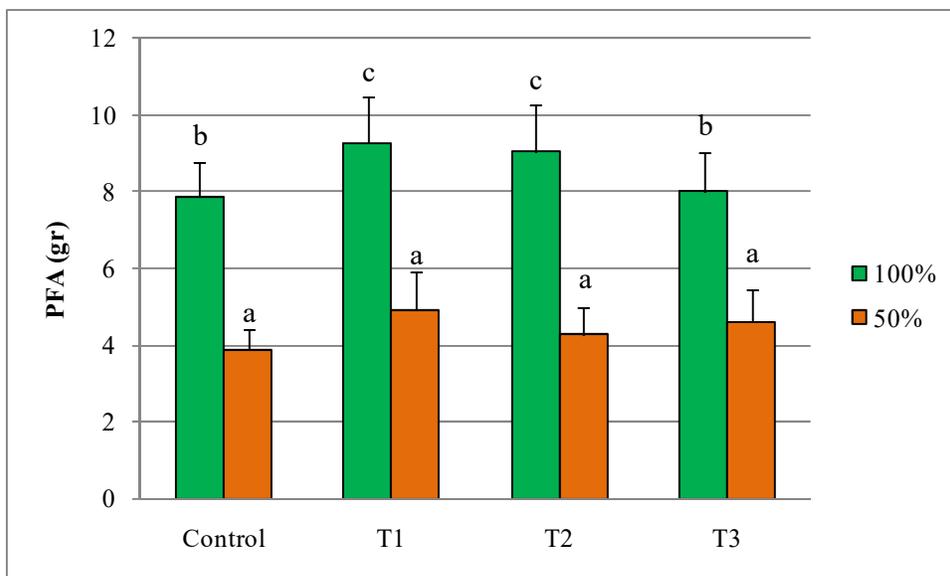


Figura 15: Peso fresco aéreo de plántulas de lechuga a los 45 días de post-siembra en los condiciones normales de riego (100%) y frente a un déficit de agua (50%). A los 20 días de cultivo las plantas fueron inmersión en diferentes soluciones. Tratamientos: Control: plántulas inmersas en agua destilada; T1I: plántulas inmersas en solución con AZ39; T2I: plántulas inmersas en solución con EA; T3I: plántulas inmersas en solución con Az39 + EA. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

El peso radical de las plántulas inmersas en soluciones aumentó significativamente en comparación a los controles en ambas condiciones hídricas evaluadas. Es destacable que los mayores valores se alcanzaron en plantas inmersas con las soluciones de bacterias y extractos de algas para ambas condiciones hídricas (Figura 16).

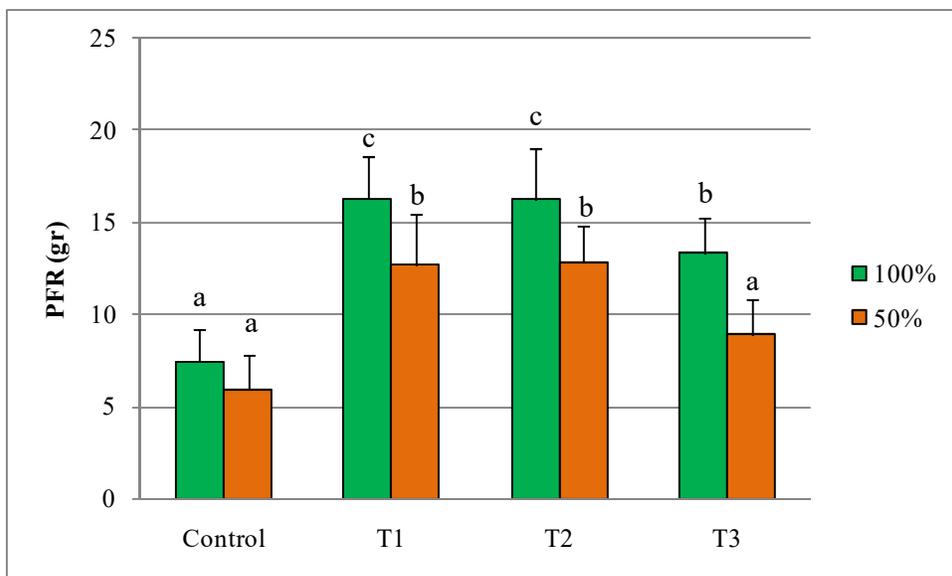


Figura 16: Peso fresco radical de plántulas de lechuga a los 45 días de post-siembra en las condiciones normales de riego (100%) y frente a un déficit de agua (50%). A los 20 días de cultivo las plantas fueron inmersión en diferentes soluciones. Tratamientos: Control: plántulas inmersas en agua destilada; T1I: plántulas inmersas en solución con AZ39; T2I: plántulas inmersas en solución con EA; T3I: plántulas inmersas en solución con Az39 + EA. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

Contenido de clorofilas

En la Figura 17 se observa el contenido de clorofilas, su contenido no se modificó en los diferentes tratamientos.

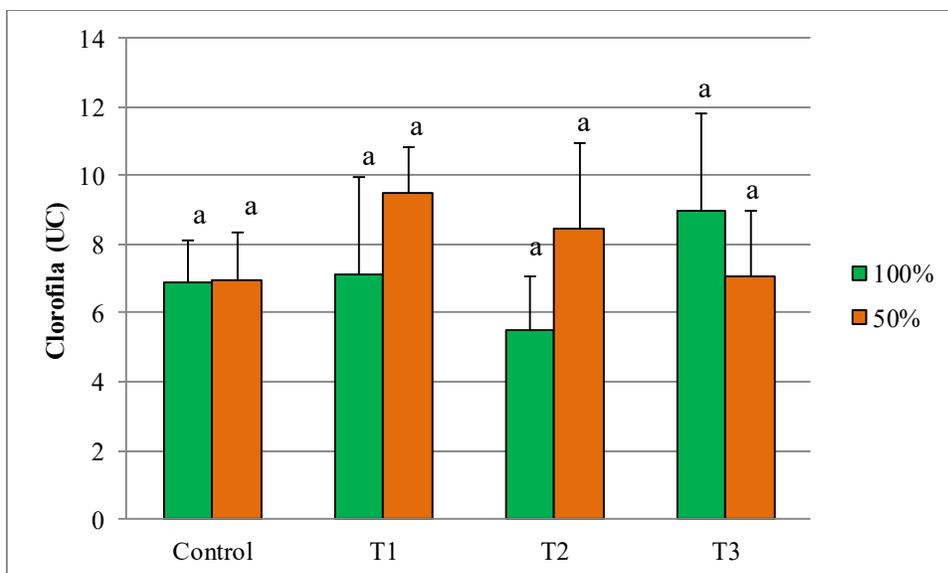


Figura 17: Contenido de clorofilas en plántulas de lechuga a los 45 días de post-siembra en las condiciones normales de riego (100%) y frente a un déficit de agua (50%). A los 20 días de cultivo las plantas fueron inmersión en diferentes soluciones. Tratamientos: Control: plántulas inmersas en agua destilada; T1I: plántulas inmersas en solución con AZ39; T2I: plántulas inmersas en solución con EA; T3I: plántulas inmersas en solución con Az39 + EA. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

Peso seco de la parte aérea y radical

En la Figura 18 se observa el peso seco aéreo de plántulas en los diferentes tratamientos, sólo aquellas plantas inmersas en la solución bacteriana (T1) mostraron un aumento significativo en el peso, en plantas al 50% de riego, al comparar con los controles.

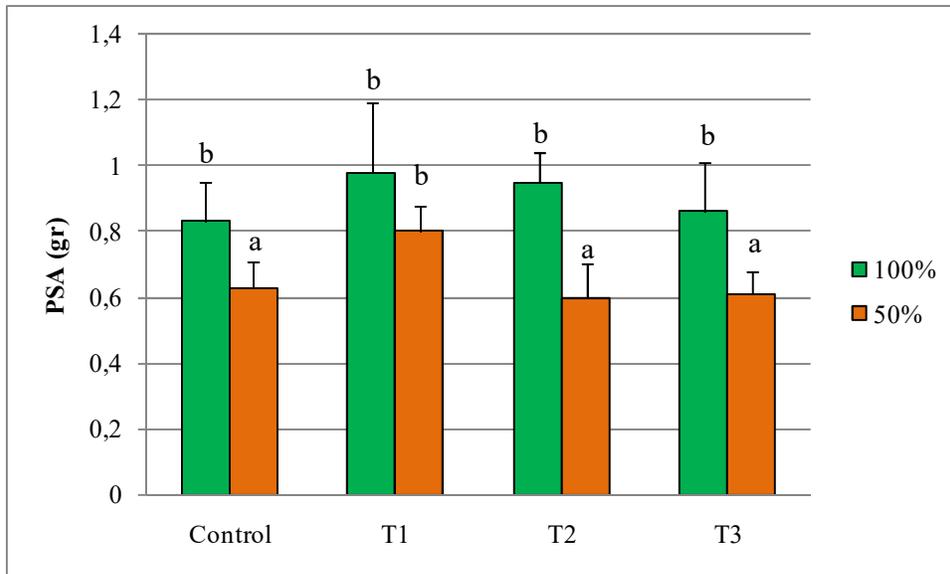


Figura 18: Peso seco aéreo de plántulas de lechuga a los 45 días de post-siembra en los condiciones normales de riego (100%) y frente a un déficit de agua (50%). A los 20 días de cultivo las plantas fueron inmersión en diferentes soluciones. Tratamientos: Control: plántulas inmersas en agua destilada; T1I: plántulas inmersas en solución con AZ39; T2I: plántulas inmersas en solución con EA; T3I: plántulas inmersas en solución con Az39 + EA. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

El peso radical de las plántulas inmersas en soluciones bacterianas, de extracto de algas y su mezcla incrementó significativamente en ambas condiciones hídricas, tanto al 100% como al 50% de riego, sin detectar diferencias entre estos tres tratamientos (Figura 19).

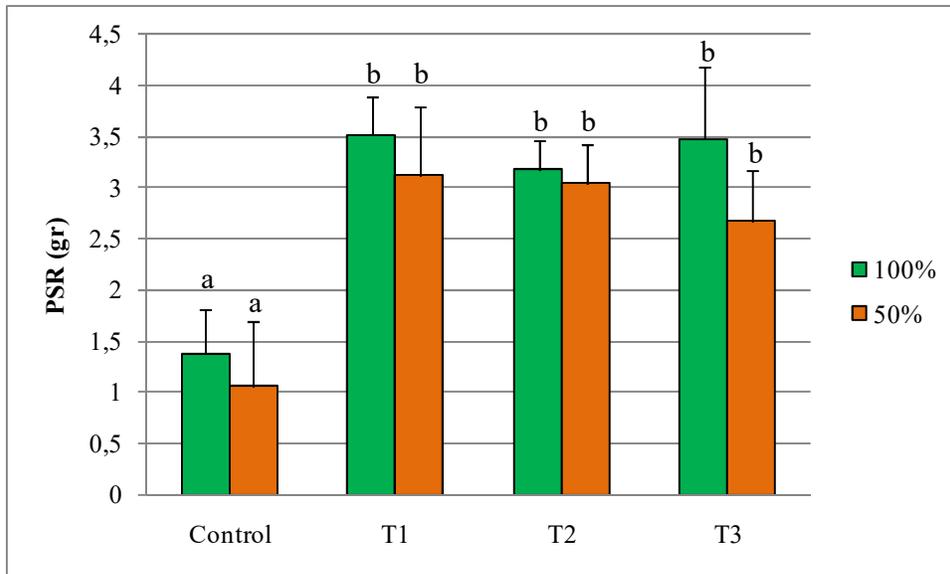


Figura 19: Peso seco radical de plántulas de lechuga a los 45 días de post-siembra en los condiciones normales de riego (100%) y frente a un déficit de agua (50%). A los 20 días de cultivo las plantas fueron inmersión en diferentes soluciones. Tratamientos: Control: plántulas inmersas en agua destilada; T1I: plántulas inmersas en solución con AZ39; T2I: plántulas inmersas en solución con EA; T3I: plántulas inmersas en solución con Az39 + EA. Las barras corresponden a la media \pm el desvío estándar. Las letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0,05$).

DISCUSION

Los resultados de este trabajo con lechuga, una de las principales hortalizas destacada por su elevado valor económico por unidad de peso y por su alta producción por unidad de superficie (Hang et al., 1999), muestran que el tratamiento en semillas con soluciones con algas y bacterias incrementa la energía y poder germinativo de las semillas asegurando el posterior establecimiento de la planta. Además, a los 7 días de siembra, se observó que el tratamiento con inoculación de algas produjo el mayor crecimiento radical. Así, esta respuesta podría deberse a que los extractos de algas contienen gran cantidad de nutrientes y reguladores de crecimiento como hormonas, tales como auxinas, las cuales poseen la función fisiológica de estimular el crecimiento radical (Bula-Meyer, 2004; Hernandez, 2014; Zermeño *et al.* 2015). Si bien se conoce la importancia de estos reguladores o fitohormonas sobre procesos fisiológicos en plantas, la producción de estos compuestos en macroalgas es aún poco conocido, probablemente por la falta de conocimiento del rol fisiológico de estas sustancias en el crecimiento y diferenciación de las algas (Evans y Trewavas, 1991; Yokoya y Handro, 1996). Sin embargo, existen casos en la literatura en los cuales se ha demostrado la producción de fitoreguladores por parte de las algas, tales como auxinas, en concentraciones similares a aquellas registrada en plantas (Reddy y Urban., 2008).

Los resultados de este trabajo, al momento del trasplante, mostraron que las plantas de lechuga tuvieron un mayor peso aéreo y radical en los tratamientos de inoculación tanto con algas como con la bacteria Az39 y con la mezcla de ambos que en los controles. Esto pone de manifiesto que no sólo el alga incrementa el crecimiento en plantas de lechuga sino que la bacteria posee un efecto estimulador del crecimiento. En este sentido, es ampliamente conocido que algunas bacterias promueven el crecimiento vegetal mediante sustancias promotoras, principalmente fitohormonas (Sarabia Ochoa *et al.*, 2010) sugieren que las bacterias promotoras del crecimiento afectan el crecimiento de las plantas ya que proporcionan compuestos ya sintetizados por ella misma, produciendo beneficios para las plantas; el resultado de esto son compuestos importantes como: nitrógeno, fitohormonas y otros nutrientes como el hierro y el fósforo que se originan naturalmente. Siendo el género

Azospirillum productor de fitohormonas como giberelinas, auxinas y citocininas que promueven el crecimiento vegetal (Helman *et al.*, 2012). Particularmente, *Azospirillum brasilense* cepa Az39 fue seleccionado como uno de los PGPR más eficaz, y se recomienda para su uso en la formulación de inoculantes. Numerosos experimentos de campo desde entonces han demostrado la capacidad de Az39 para aumentar la productividad de los cultivos de cereales como el trigo, el maíz y el sorgo (Díaz-Zorita *et al.*, 2004; Díaz-Zorita & Grove, 2006). Cuando se evaluaron los mecanismos putativos promotores del crecimiento de plantas con Az39 cultivadas en medio químicamente definido (Perrig *et al.*, 2007), la producción de fitohormonas fue identificado de nuevo como el factor más importante. Los resultados de este trabajo muestran que podrían ser utilizados en hortalizas, como la lechuga, mostrando nuevamente un rol promotor del crecimiento en este tipo de plantas.

Al analizar las plantas de lechuga durante la cosecha se observaron diferencias entre los tratamientos de inoculación e inmersión, dependiendo del estado hídrico del suelo. De esta manera, en condiciones hídricas normales (riego al 100%) todos los tratamientos de inoculación e inmersión mostraron un incremento en comparación con los controles, con lo cual demuestra que la inoculación con algas, bacterias o su mezcla mejora la productividad del cultivo. Así, estas plantas mostraron mayor peso fresco aéreo y radical y mayor peso seco radical. Al respecto, Sánchez López *et al.* (2014) trabajaron con plántulas de *Lactuca sativa* y encontraron que aquellas inoculadas con bacterias, en este caso, *Pseudomonas sp* presentaron mayor biomasa respecto al testigo que recibió un fertilizante químico. Además, en este trabajo, si bien la inoculación produjo un incremento en el peso de las plántulas de lechuga, el mayor peso seco aéreo fue observado en el tratamiento con algas. Así, el empleo de algas en el proceso de inoculación podrían ejercer un efecto benéfico en la producción de plantas de lechuga en suelos bien irrigados, ya que los extractos de algas poseen una multitud de componentes activos aún no identificados en su totalidad, debido al gran número de moléculas presentes, que ayudarían al crecimiento de plántulas en esta técnica.

Es importante mencionar que la mezcla de algas + bacterias, también produjo un incremento en el crecimiento de las plantas de lechuga, si bien no fue mayor al observado con los extractos puros también produjo efectos benéficos. En este sentido, este resultado, es

interesante ya que la presencia de algas podría servir de soporte para el mantenimiento de estado metabólico y fisiológico de las bacterias. De esta manera, podría servir de estabilización y protección de las células microbianas durante el almacenamiento y transporte. En este sentido, las macroalgas marinas producen alginato (Yabur *et al.* 2007), el cual es un polímero que es empleado como uno de los materiales sintéticos de elección para la mayoría de encapsulaciones de microorganismos.

Por otro lado, frente a un déficit hídrico (50 % de riego) las plantas de lechuga que fueron inoculadas no mostraron diferencias con respecto a los controles. Mientras que el con el tratamiento de inmersión se observaron incrementos en las variables de peso, mostrando que las plantas cuyas raíces fueron inmersas en las soluciones tuvieron mayor crecimiento que aquellas sin tratar. Así, el peso de las plántulas inmersas en soluciones bacterianas, de extracto de algas y su mezcla incrementó significativamente al 50% de riego, sin detectar diferencias entre estos tres tratamientos. Con lo cual, la técnica de inmersión muestra mayores ventajas de uso cuando un cultivo se encuentra en condiciones ambientales desfavorables.

Los resultados de este trabajo demuestran como el extracto de algas puede ser utilizado para incrementar la productividad en hortalizas y más aún cuando las plántulas crecen en un medio desfavorable. En este sentido, el beneficio de la aplicación de los extractos de algas se entiende como un efecto sinérgico de todos los componentes, no pudiendo aislar el efecto por sí sólo de cada uno de los principios activos que poseen. Sin embargo, algunos de sus efectos son comparables a la acción que las hormonas vegetales aplicadas exógenamente tienen sobre los cultivos (Zermeño *et al.* 2015). Por ejemplo, la producción de auxinas podría incrementar la masa radical en plantas y así asegurar la entrada de agua en condiciones de déficit hídrico. Este es uno de los ejemplos que podría ser correlacionable al contenido en sustancias con efecto hormonal que poseen. Además, las algas poseen alginatos estos compuestos confieren flexibilidad y adaptación a los fenómenos de estrés que supone el efecto de las mareas en las algas pero también presentan un excelente efecto bioestimulante en plantas. Por lo tanto, juegan un importante papel en la defensa frente a enfermedades y fenómenos de estrés en plantas, al actuar como elicitores. Pueden estar

implicados en el equilibrio hídrico celular y en situaciones de protección frente a estrés salino (Ayarza León, 2014). De la misma manera, las algas poseen elevadas cantidades de azúcares y alcoholes como el manitol, el cual puede actuar como osmoprotector, protegiendo a las células vegetales de los efectos negativos derivados del estrés hídrico o salino. Está presente en grandes cantidades en extractos del macroalga *Ascophyllum nodosum* (De Liñan Carral, 2015). Junto con otros osmolitos mejora la capacidad de retención de agua celular, mejorando el potencial osmótico y reduciendo los daños por estrés hídrico. Asimismo, el manitol es un potente antioxidante, bloqueando las especies reactivas de oxígeno (ROS) o radicales libres y previniendo los daños metabólicos.

Los efectos beneficiosos de las algas y sus extractos son lógicos y coherentes con los resultados de este trabajo y se muestra un gran potencial por explorar. Si bien, algunos efectos están ampliamente demostrados científicamente, no todas las algas sirven para todas las aplicaciones, ni todas tienen el mismo efecto dependiendo del tipo de cultivo (Bula-Meyer, 2004). Extractos de algas aplicadas en semillas de lechuga mejoraron el sistema radical aumentando las posibilidades de implantación de las plantas (Hernandez, 2014). Además, el extracto sobre las plantas de lechuga, tanto inoculadas como inmersas en ellas, muestra mejoras en el desarrollo de la masa radicular, uniformidad, salud nutricional y tolerancia a diferentes tipos de estrés que incrementa la productividad de esta hortaliza.

CONCLUSIONES

- 1) La energía y poder germinativo de semillas de lechuga aumenta con la inoculación con extracto de algas, incrementando a los 7 días post-siembra el crecimiento radical, lo cual aseguraría el establecimiento de las plantas.
- 2) Los tratamientos de inoculación e inmersión, tanto con bacterias como algas y/o su mezcla, ejercen un efecto positivo en el crecimiento de plantas.
- 3) El tratamiento de inmersión con el extracto de algas favorece a la adaptación a un ambiente desfavorable (déficit hídrico) incrementando la masa radical y protegiendo a las células de los efectos negativos derivados del estrés.
- 4) El extracto de algas puede servir y ser utilizado como agente de soporte para el mantenimiento de estado fisiológico de las bacterias, probablemente por la capacidad de las algas de producir alginatos.

BIBLIOGRAFIA

- AHUMADA, O. y J.R. VILLALOBOS. 2009. Application of planning models in the agri-food supply chain: A review. *European Journal of Operational Research* 195: 1 - 20.
- ALARCÓN, A. y R. F. CERRATO. 2012. Biofertilizantes: importancia y utilización en la agricultura. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 26(2), 191-203.
- AYARZA-LEÓN, J. L. (2014). Alginates: 20000 applications of submarine algae.
- BIFARETTI, A.E. y G.M. HANG. 2000: Mercados hortícolas: *Quemando cosechas o posicionando productos*. Boletín Hortícola, 37-41.
- BULA-MEYER, G. (2004). Las macroalgas marinas en la agronomía y el uso potencial del Sargassum flotante en la producción de fertilizantes en el archipiélago de San Andrés y Providencia, Colombia. *Intropica*, 1, 91.
- BUSCHMANN, A. H., PRESCOTT, S., POTIN, P., FAUGERON, S., VÁSQUEZ, J. A., CAMUS, C. y D.A VARELA. 2014. The status of kelp exploitation and marine agronomy, with emphasis on *Macrocystis pyrifera* in Chile. *Advances Botanical Res.* 71: 161-188.
- CALBO, G.A. 1999. Alface. Disponible en: www.enph.embrapa.br.
- CASAS, R. 2011. Los procesos de degradación y la conservación de suelos. *Materiales* 4: 1-5.
- CÓME, D. Y F. CORBINEAU. 2002. Clasificación y principales características fisiológicas de las hortalizas. (pp. 215 - 225). En: Tecnología de las hortalizas. Tirilly Y., Bourgeois C.M. (Eds.) Editorial Acribia, Zaragoza.
- CORRAL, M., L. GROSSO, G. RITCHER DE MONDINO, C. DAURIA, R. CRESPI, R. FABRICIUS, A.RIVETTI, J. CANTERO, C. NUÑEZ, H. GIL Y J. VILLALBA. 1993. Diagnóstico y evolución del Área Frutihortícola de Río Cuarto. Universidad Nacional de Río Cuarto.

- COSCIA, A. 1998. La agriculturización en la región pampeana. En: Degradación de suelos por intensificación de la agricultura. Informe del Taller organizado por el CONICET. INTA, Estación Experimental Agropecuaria Rafaela. *Miscelánea* 47.
- DE LIÑÁN CARRAL C. 2015. *Vademécum de productos fitosanitarios y nutricionales*. 3^{ra} Ed. ISBN: 978-84-16389-23-0. 524 p.
- DÍAZ-ZORITA, M., DUARTE, G. A., & BARRACO, M. (2004). Effects of Chloride Fertilization on Wheat (L.) Productivity in the Sandy Pampas Region, Argentina. *Agronomy journal*, 96(3), 839-844.
- DIAZ ZORITA, M. y J. GROVE. 2006. Wheat grain response to nitrogen fertilization and field inoculation with a liquid formulation of *Azospirillum brasilense*. In Annual Meetings Abstracts (No. 4898).
- DI BENEDETTO A. 2005. *Manejo de Cultivos Hortícolas: bases ecofisiológicas y tecnológicas*. Primera edición. Buenos Aires, Orientadora gráfica Editora, 384 p.
- DI NAPOLI, M., HAMDAN, V., & IORIO, C. (2003). Estudio evolutivo de la estructura socioproductiva y comercial de las explotaciones hortícolas del cinturón verde de Mar del Plata. *III Jornadas Interdisciplinarias de Estudios Agrarios y Agroindustriales, Facultad de Ciencias Económicas, Bs. As.*
- EVANS, L. V. y A. J. TREWAVAS, 1991. Is algal development controlled by plant growth substances. *Journal of phycology*, 27(3), 322-326.
- EYRAS, B., DEFOSSE, M. y F. DELLATORRE. 2008. Seaweed compost as an amendment for horticulture soils in Patagonia, Argentina. *Compost Sci. Utili.* 16:119-124.
- FERRATO, J.A., GRASO, R., LONGO, A., ORTIZ MACKINSON, M., y M. MONDINO. 2009. Censo 2008 del cinturón hortícola. *INTA Publicaciones*, 15-16.
- FERRATTO, J., FIRPO, I., ORTIZ MACKINSON, M., ROTONDO, R. y C. BELTRAN. 2012. Pérdidas poscosecha de hortalizas en negocios minoristas, con distintos sistemas de manejo, en Rosario, Santa Fe Argentina. *Horticultura Argentina*, 31(75).

- GODFRAY, H. C., BEDDINGTON J. R., CRUTE I.R., HADDAD L., LAWRENCE D. y J.F. MUIR. 2010. Food security: the challenge of feeding 9 billion people. *Science* 327: 812-818.
- HANG, G. M. (1999). Horticultura empresarial en el Gran Buenos Aires: su adaptación a los cambios producidos en el sistema de comercialización. *Realidad Económica*, no. 169 (2000), p. 177-200.
- HELMAN, Y., BURDMAN, S. y Y. OKON. 2012. Plant growth promotion by rhizosphere bacteria through direct effects. En: *Beneficial Microorganisms in Multicellular Life Forms*. Springer-Verlag, Berlin, Germany, p: 89-103.
- HERNÁNDEZ-DÍAZ, M. I., y M. CHAILLOUX-LAFFITA. 2001. La nutrición mineral y la biofertilización en el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Temas de Ciencia y Tecnología* 5: 11-27.
- HERNÁNDEZ, E. R. (2014). Aprovechamiento de las macroalgas como sustrato para la emergencia y crecimiento de plántula de Albahaca (*Ocimum basilicum* L.). *Universidad Autónoma de Baja California Sur. La Paz Baja California Sur*.
- IGLESIAS, I., FOGAR, M. N., y M. CRACOGNA. 2000. Utilización de inoculante mixto en trigo–Ensayo acampo. Reunión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. UNNE (CD ROM). Sección Ciencias Agrarias.
- INDEC. 2002. Censo Nacional Agropecuario 2002. Argentina. Disponible en: http://www.indec.gov.ar/agropecuaria/cna_principal.asp.
- JAQUES, H. C. y M.J. HERNÁNDEZ. 2005. Valoración productiva de lechuga hidropónica con la técnica de película de nutrientes. *Naturaleza y Desarrollo* 3: 11-16.
- KASTNER, T., M.J.I. RIVAS, W. KOCH, W., Y S. NONHEBEL. 2012. Global changes in diets and the consequences for land requirements for food. *PNAS* 109: 6868-6872.
- LÓPEZ, D. B. S., HOYOS, A. M. G., PERDOMO, F. A. R., y R. B. BUITRAGO. 2014. Efecto de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal solubilizadoras de fosfato en *Lactuca sativa* cultivar White Boston. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 16(2), 122.

- LUNA, M. C., MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, A., SELMA, M. V., TUDELA, J. A., BAIXAULI, C., y M.I. GIL. 2013. Influence of nutrient solutions in an open-field soilless system on the quality characteristics and shelf life of fresh-cut red and green lettuces (*Lactuca sativa* L.) in different seasons. *J of the Science of Food and Agriculture* 93(2): 415-421.
- Ministerio de Economía. (2010) “Sector Hortícola, Primer Informe Sectorial). Dirección de Información y Análisis Sectorial, Dirección Nacional de Programación Económica Regional. 32 pp.
- NICOLLE C., T. N. CARDINAUL, E. GUEUX, L. JAFFRELO, E. ROCK, MAZUR A. 2004. Health effect of vegetable-based diet: Lettuce consumption improves cholesterol metabolism and antioxidant status in the rat. *Clinical Nutrition*, 23: 605 - 614.
- OLIVARES, E.O. 2005. Efecto de la sequía sobre la eficiencia fotoquímica de PSII en *N. donbeyi* (Mirb). Tesis de Licenciatura. Universidad Austral de Chile. 3-14 p.
- PERRIG, D., BOIERO, M. L., MASCIARELLI, O. A., PENNA, C., RUIZ, O. A., CASSÁN, F. D., y M. V. LUNA. 2007. Plant-growth-promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and implications for inoculant formulation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 75(5), 1143-1150.
- PIAGENTINI A.M., J.C. M ENDEZ, D.R. GUEMES, PIROVANI M.E. 2005. Modeling changes of sensory attributes for individual and mixed fresh-cut leafy vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 38: 202 - 212.
- PINEDA, C. 2004. Comercialización de hortalizas orgánicas. Feriagro.
- REDDY, P. y S. URBAN. 2008. Linear and cyclic C18 terpenoids from the southern Australian marine brown alga *Cystophora moniliformis*. *Journal of natural products*, 71(8), 1441-1446.
- ROMANI, A. PINELLI, P. GALARDI, C. SANI, G. CIMATO, A. y D. HEIMLER. 2002. Polyphenols in Green house and open-air-grown lettuce. *Food Chemistry*, 79(3), 337-342.

- SALINAS, P. 2010. Efecto del ácido salicílico sobre la tolerancia a estrés hídrico en lechuga (*Lactuca sativa* L.) bajo condiciones de invernadero. Tesis de Especialidad. Querétaro, Mexico, 1-51 p.
- SANAA, A., BOULILA, A., BOUSSAID, M. y N. B. FADHEL. 2013. Alginic acid and derivatives, new polymers from the endangered *Pancreaticum maritimum* L. *Industrial Crops and Products* 44: 290-293.
- SÁNCHEZ LÓPEZ, D. B., ROMERO PERDOMO, F. A., & BONILLA BUITRAGO, R. R. (2014). Respuesta de *Physalis peruviana* L. A la inoculación con bacterias solubilizadoras de fosfato. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 5(5), 901-906.
- SANCHEZ, T.M. 2010. Evaluación de la calidad de lechuga (*Lactuca sativa* L.) respecto a su contenido de nitratos y materia seca. *Rev. Fac. de Agronomía UNLPam* 21: 1-15.
- SARABIA-OCHOA, M. E., AVILA-DÍAZ, I., y C. A. GÓMEZ. 2010. Callus growth and plant regeneration in *Laelia speciosa* (Orchidaceae). *Lankesteriana*, 10(1), 13-18.
- SERAFINI M., R. BUGIANESI, M. SALUCCI, E. AZZINI, A. RAGUZZINI, MAIANI, G. 2002. Effect of acute ingestion of fresh and stored lettuce (*Lactuca sativa*) on plasma total antioxidant capacity and antioxidant levels in human subjects. *British Journal of Nutrition*, 88: 615 - 623.
- TEUBAL, M., RODRÍGUEZ, J., & MIGUEL TEUBAL, J. R. (2002). Agro y alimentos en la globalización: una perspectiva crítica (No. 338.763). La Colmena.
- VALLEJO, H. 1998. Manual de Horticultura. Editorial: Hemisferio Sur. Buenos Aires 254 p.
- VAN DER VORST J.G.A.J., 2006. Product traceability in food-supply chains. *Accreditation and Quality Assurance*, 11: 33 - 37.
- VELÁSQUEZ, S.E. 2007. Estudios de tecnologías de manejo poscosecha de lechuga (*Lactuca sativa*) de hoja producidas por cultivo orgánico. *Escuela Politécnica Nacional Publicaciones*. Quito, Chile. 1-6 p.
- WIEN H.C. 1997. *The Physiology of Vegetable Crops*. CAB INTERNATIONAL, New York. (672 p.).

- YABUR, R., BASHAN, Y., y G. HERNÁNDEZ-CARMONA. 2007. Alginate from the macroalgae *Sargassum sinicola* as a novel source for microbial immobilization material in wastewater treatment and plant growth promotion. *Journal of Applied Phycology*, 19(1), 43-53.
- YOKOYA, N. S., y W. HANDRO. 1996. Effects of auxins and cytokinins on tissue culture of *Grateloupia dichotoma* (Gigartinales, Rhodophyta). *Hydrobiologia*, 326(1), 393-400.
- ZERMEÑO-GONZÁLEZ, A., CÁRDENAS-PALOMO, J. O., RAMÍREZ-RODRÍGUEZ, H., BENAVIDES-MENDOZA, A., CADENA-ZAPATA, M., & CAMPOS-MAGAÑA, S. G. (2015). Fertilización biológica del cultivo de maíz. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, (12).