

EFECTO DE LA ADICIÓN DE TRES BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE NPK EN LECHUGA Y TOMATE

Marsal, J.I.; Cerdá, J.J.; López-Serrano, L.; Calatayud, A.
Centro de Citricultura y Producción Vegetal I.V.I.A., Valencia.

RESUMEN

Los problemas ocasionados por el exceso de tratamientos con fertilizantes en la agricultura y la legislación cada vez más restrictiva sobre su uso y aplicación, ha propiciado el desarrollo de técnicas más sostenibles con el medio ambiente. Actualmente se están llevando a cabo ensayos mediante la aplicación de micorrizas, bacterias o proteínas que faciliten a la planta la nutrición y el desarrollo reduciendo el aporte de abonos químicos.

El objetivo de este estudio es valorar el uso de tres bacterias solubilizadoras de NPK, *Bacillus megaterium* como solubilizador de fósforo (P), *Bacillus mucilaginosus* como solubilizador de potasio (K) y *Azospirillum brasilense* bacteria diazotrófica, como solubilizador de nitrógeno (N) sobre la productividad y asimilación de nutrientes de los cultivos de lechuga y tomate tipo Valenciano.

El diseño del experimento consistió en la aplicación independiente de las tres bacterias al agua de riego con una disminución de la concentración de fertilizantes de la solución nutritiva del 35% de N, P o K según la bacteria añadida. Las bacterias son cedidas por una empresa.

Los resultados obtenidos han demostrado que en las soluciones nutritivas reducidas un 35% de N, P o K con la adición de microorganismos no se observaron efectos negativos ni sobre los parámetros productivos (producción comercial, destrío, peso medio de frutos) en ambos cultivos respecto a las plantas testigo (100% de concentración de fertilizante en la solución nutritiva) ni en la absorción de los macro nutrientes.

Atendiendo a los resultados presentados para el cultivo de la lechuga y el tomate se valora positivamente el empleo de estos microorganismos (*Azospirillum brasilense*, *Bacillus mucilaginosus* y *Bacillus megaterium*) que pueden permitir una posible reducción de los fertilizantes en un 35% sin afectar a los parámetros de producción y calidad.

Palabras clave: fertirrigación, medio ambiente, sostenibilidad, ecológico

INTRODUCCIÓN

Valorar la disminución de un 35% del aporte de las necesidades de nutrientes (N-P-K) mediante la adición de tres bacterias solubilizadoras de N, P y K a través de la evaluación de la productividad y la capacidad de asimilación de los

nutrientes en plantas de tomate tipo valenciano “Del Perelló” (comercial local) y plantas de lechuga Romana comercial. Las bacterias son cedidas por una empresa comercializadora y consisten en biopreparados en medio líquido de las tres bacterias a estudiar (*Bacillus megaterium*), (*Bacillus mucilaginosus*) y la bacteria diazotrofica, *Azospirillum brasilense*.

MATERIAL Y METODOS

Se han utilizado los tres tipos de microorganismos de manera independiente.

Bacillus mucilaginosus como solubilizador de potasio (K) en concentración bacteriana de $1\ 10^7$ UFC.ml⁻¹ (pH=7.5).

Es un tipo de bacilo gramnegativo, puede reproducirse y crecer en el suelo, producir metabolitos como ácidos orgánicos, polisacáridos capsulares, destruir la estructura reticular del aluminato de silicio y los compuestos de fósforo insolubles, descomponer y liberar oligoelementos medios como fósforo soluble, potasio y calcio, azufre, magnesio, hierro, zinc, molibdeno, manganeso que mejoran la fertilidad del suelo. Al mismo tiempo, produce sustancias activas fisiológicas como giberelina, células de cinetina, enzimas microbianas, polisacáridos bacterianos que promueven que el cultivo absorba nutrientes y lleve a cabo el metabolismo.

Como principales efectos; puede promover la formación de la estructura granular del suelo, evitar el endurecimiento, dañar la capilaridad y evitar la evaporación de la humedad.

Tiene un buen efecto sobre la degradación del potasio en el suelo y libera el potasio soluble y los oligoelementos medios.

Resolver el silicio en el suelo para que las plantas lo usen, espesar la capa de cera de las plantas, mejorar la conservación del agua de la planta.

Bacillus megaterium como solubilizador de fósforo (P) concentración bacteriana de $5.3\ 10^7$ UFC.ml⁻¹ (pH= 7).

Pertenece al grupo de bacterias denominadas PSB (Phosphate Solubilizing Bacteria), es decir que es capaz de solubilizar el fósforo mineral haciéndolo accesible a la planta, distintos autores la han descrito como agente de biocontrol capaz de ejercer un papel protector frente a determinados patógenos vegetales.

Es un activador biológico del suelo: Activa rutas fotosintéticas, aumentando el desarrollo vegetativo e interviene en el transporte de azúcares. También mejora la absorción de nutrientes y activa el desarrollo de raíces y tubérculos.

Azospirillum brasilense: bacteria diazotrofica, como solubilizador de nitrógeno (N). Concentración bacteriana de $1.6\ 10^7$ UFC.ml⁻¹ (pH=7).

Pertenece al grupo de microorganismos fijadores de Nitrógeno, productores de fitohormonas y metabolizadores de la materia orgánica de los suelos. Ejerce un efecto sinérgico con los elementos nutricionales aplicados a la planta.

El efecto promotor sobre el desarrollo de la planta se debe a múltiples mecanismos. Alta capacidad para aumentar la producción de fitohormonas, tales como la auxina natural Ácido indol-3-acético (IAA), que actúa sobre la formación de raíces laterales y adventicias, en la estimulación de la división celular y la elongación de raíces y tallo. Favorece la asimilación de nutrientes debido a que aumenta su disponibilidad en el suelo a través de la fijación de nitrógeno y de la solubilización del fósforo, permitiendo, de esta forma, una reducción efectiva del uso de fertilizantes químicos. Origina también el aumento de la resistencia de la planta a estreses abióticos por su acción sobre la regulación osmótica promovida por los microorganismos que lo integran.

Cultivos en los que se realiza el ensayo

- . Lechuga (cultivar. Romana), en cultivo de invierno.
- . Tomate Tipo valenciano “Del Perelló”, como cultivo de primavera-verano.

Descripción del ensayo

Localización: el invernadero utilizado en el ensayo se localiza dentro de los terrenos del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias Moncada- Valencia. La orientación es SurEste-NordOeste.

El invernadero: es un túnel con cubierta de lámina de plástico y sombreado de malla monofilamento con un 30 % de sombra. Dispone de ventilación lateral protegida con malla antipulgón, cultivo en suelo y riego por goteo.

Las características edafológicas del suelo: son franco-arcillo-arenoso con un contenido del 21.2% de arcilla, 11,8% de limo, 67% arena. El contenido en materia orgánica oxidable es del 0.61%; pH (1/2,5 suelo/agua) a 20° C = 8.1 y la conductividad eléctrica del extracto 1/5 a 25°C es 0.289 dS.m⁻¹.

La climatología: El IVIA dispone de una estación climatológica en funcionamiento desde 1999 (<http://riegos.ivia.es/datos-meteorologicos>).

Clima invernadero, durante el periodo de ensayo se tomaron datos con un datalogger y se realizaron graficas de temperatura, humedad relativa y fotoperiodo durante el periodo de cultivo (*Fig. 1*).

Diseño del ensayo

El ensayo consiste en tres replicas (de 60 plantas para lechuga y 10 plantas para tomate), dejando en los laterales del invernadero el borde con plantas de lechuga o tomate según el caso.

En el ensayo en lechuga el marco de plantación es de 1,15 m x 0,30 m con una densidad de plantación de 2,89 plantas.m². La fecha de trasplante de la lechuga, procedente de semillero, en el invernadero se realizó el 23 de Octubre del 2016 y el cultivo finalizó el 16 de Enero del 2017.

En el ensayo de tomate el marco de plantación es de 1,15 m x 0,50 m y la densidad de plantación es de unas 2 plantas.m⁻². La fecha de trasplante en el invernadero se realizó el 23 de Febrero de 2017, el fin de la cosecha fue el 21 de Julio del 2017.

Abonado

A) Lechuga

Las extracciones van a variar dependiendo del tipo de lechuga, variedad, ciclo de cultivo, etc. Para una producción de 35 t.ha⁻¹ la extracción de nutrientes por la lechuga viene a ser de 80-100 kg.ha⁻¹ de N, 30-50 kg.ha⁻¹ de P₂O₅ y 160-210 kg.ha⁻¹ de K₂O (Pomares y Ramos, 2010) (*Tabla 1*).

B) Tomate

Las aportaciones máximas de nutrientes principales por hectárea, de acuerdo con la extracción del cultivo, se fijan en: N: 3 UF.t⁻¹; P₂O₅: 1,3 UF.t⁻¹; K₂O: 5,5 UF.t⁻¹; CaO: 2,5 UF.t⁻¹; MgO: 1 UF.t⁻¹ (UF.t⁻¹: unidades fertilizantes por tonelada de cosecha) (*Tabla 2*).

En ambos casos el control es solución nutritiva estándar para tomate o lechuga con un pH ligeramente ácido mediante la aplicación de ácido cítrico (pH= 5,3) sin aplicación de las bacterias. Se efectuaron 4 riegos con fertilización para lechugas y 8 para el cultivo de tomate.

Modo de aplicación de las bacterias solubilizadoras de N, P, K

La aplicación de los microorganismos se realizó a través de los goteros junto con el riego.

A) Lechuga

Se realizan dos aplicaciones: 28 de octubre de 2016 (4 días después del trasplante) y 7 de diciembre del 2016 (mitad periodo de cultivo). Las bacterias se añaden en la solución nutritiva correspondiente a 0.5 ml de bacterias por m² (5 L.ha⁻¹) según especificaciones.

B) Tomate

Se realizan tres aplicaciones, la primera cuatro días después del trasplante en el invernadero (27 de febrero de 2017), la segunda a mitad del ciclo de cultivo (8 de mayo de 2017), la tercera aplicación el 5 de junio de 2017. Las bacterias se añaden en la solución nutritiva correspondiente a 0.5 ml de bacterias.m⁻² (5 L.ha⁻¹) según especificaciones.

Tratamientos fitosanitarios

Los tratamientos fitosanitarios han sido aplicados por igual en todo el invernadero.

A) Lechuga

Tratamiento contra la Botritis con Procimidona (1g/l) a mitad del periodo del cultivo (03-01-2017).

Tratamiento contra oruga (Rosquilla) con Altacor 0,01% más *Bacillus thuringiensis* 0,2%. (14-12-2016).

B) Tomate

12-04-2017. Tratamiento contra pulgón y la Tuta con Plenum 0,05% más *Bacillus thuringiensis* 0,2%.

27-04-2017: Tratamiento contra oidio “blanqueta” con Ortiva 0,08% + jabón potásico 1%.

10-05-2017: Suelta de *Nesidiocoris tenuis* para el control de la Tuta.

23-05-2017: Tratamiento contra el Vasates (araña del bronceado) con: Oberón 0,05% + mojante 0,025%.

31-05-2017: Tratamiento con azufre líquido al 0,4%.

21-06-17: Tratamiento contra el Vasates con: Oberón 0,05% + mojante 0,025%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A) Lechuga

Los parámetros de peso fresco, SPAD (índice de clorofila), contenido en N, P, K, Ca y Mg se realizaron de manera independiente para las tres réplicas de cada tratamiento. Realizada la comparación de medias entre las réplicas se concluyó que no había diferencias significativas entre ellas. Por lo tanto, los valores agronómicos representados en las gráficas son los valores medios para las tres réplicas (Fig. 3).

Parámetros fisiológicos para el tratamiento con una reducción del 35% de N y tratado con *Azospirillum brasilense*.

1. Peso fresco de la lechuga comercial comparando con los valores del control.

El peso medio de las lechugas fue mayor con diferencias significativas para las lechugas del tratamiento con reducción de 35% N y aplicación de *Azospirillum brasilense*.

2. Valores de SPAD (índice de clorofila) medidos en las hojas maduras de la lechuga para n= 200. No se han encontrado diferencias significativas entre los valores del SPAD en el control y en las hojas con reducción de 35% N y aplicación de *Azospirillum*. Este resultado indica que la reducción de N no parece afectar al color verde de las hojas.

3. Contenido de macronutrientes en las hojas de lechuga para n=4. No se han encontrado diferencias significativas entre el control y las plantas crecidas con reducción de 35% N y aplicación de *Azospirillum* para los niveles de N y K. La

concentración de P, Ca^{2+} y Mg^{2+} son significativamente mayores en las muestras con déficit de N.

Parámetros fisiológicos para el tratamiento con una reducción del 35% de P y tratado con *Bacillus megaterium*.

1. Peso fresco de la lechuga comercial comparando con los valores del control. El peso medio de las lechugas fue mayor significativamente para las crecidas con una reducción del 35% de P y tratadas con *Bacillus megaterium*.
2. Valores de SPAD (índice de clorofila) medidos en las hojas maduras de la lechuga para $n=200$. El déficit de P redujo los niveles de clorofila presentando las plantas hojas de color más amarillento.
3. Contenido de macronutrientes en las hojas de lechuga para $n=4$. No existen diferencias significativas entre las plantas control y las crecidas con una reducción del 35% de P en la solución nutritiva y tratadas con *Bacillus megaterium* para el contenido de N, K, P, Ca^{2+} . El contenido de Mg^{2+} es mayor en las plantas con déficit de P.

Parámetros fisiológicos para el tratamiento con una reducción del 35% de K y tratadas con *Bacillus mucilaginosus*.

1. Peso fresco de la lechuga comercial comparando con los valores del control. No existen diferencias significativas en cuanto al peso fresco de las lechugas.
2. Valores de SPAD (índice de clorofila) medidos en las hojas maduras de la lechuga para $n=200$. El déficit de K y aplicación de *Bacillus mucilaginosus* redujo los niveles de clorofila presentando las plantas hojas de color más amarillento.
3. Contenido de macronutrientes en las hojas de lechuga para $n=4$. Se observó un aumento de los niveles de K en las plantas tratadas con una reducción del 35% de K en la solución nutritiva y aplicación de *Bacillus mucilaginosus*. El resto de macronutrientes analizados no mostraron diferencias significativas.

En ningún caso la disminución de un 35% en la solución nutritiva de N o P o K afectan al rendimiento, siendo siempre mayor que el control. Los mayores rendimientos se obtienen para las lechugas crecidas en una disminución del 35% de P+ *Bacillus mucilaginosus* y reducción del 35% de N+ *Azospirillum* (Tabla 3).

B) Tomate

Los parámetros de producción, peso medio de los frutos, porcentaje de destrío y el contenido en N, P, K, Ca y Mg se realizaron de manera independiente para las tres réplicas de cada tratamiento. Realizada la comparación de medias entre las réplicas se concluyó que no había diferencias significativas entre ellas. Por lo tanto, los valores agronómicos representados en las gráficas son los valores medios para las tres réplicas.

1. Producción total, producción comercial y % de destrío de tomates en las muestras deficitarias de N, P y K comparando con los valores del control (Fig. 5).

Durante 8 semanas se evalúa la producción de tomates para cada tratamiento y replica. Se cuantifica el rendimiento comercial en base a número y peso medio de frutos, y el porcentaje de destrío. La producción esta expresada en gramos por metro cuadrado.

No se observan efectos negativos en la producción comercial del tomate por la reducción del 35% de los nutrientes de N-con *Azospirillum brasilense*, de P-con *Bacillus megaterium* o de K-con *Bacillus mucilaginosus*

No se observan diferencias entre el peso medio de los frutos en el control con solución nutritiva standard y para el tratamiento con una reducción del 35% de N-con *Azospirillum brasilense*, de P-con *Bacillus megaterium* o de K-con *Bacillus mucilaginosus* para n=150 frutos (Tabla 4 y 5).

Parámetros fisiológicos para el tratamiento con una reducción del 35% de N y tratado con *Azospirillum brasilense* (Fig. 4).

1. Contenido de macronutrientes en las hojas de tomate para n=4. El contenido de N y Mg en las muestras con un déficit del 35% de N es significativamente menor que en las muestras control. Los niveles de K y P fueron significativamente mayores en las muestras con reducción de N, pero los niveles de Ca no mostraron diferencias significativas entre ambos tratamientos.

Parámetros fisiológicos para el tratamiento con una reducción del 35% de P y tratado con *Bacillus megaterium*.

1. Contenido de macronutrientes en las hojas de tomate para n=4. Una reducción del 35% de P en la solución nutritiva no se observan diferencias significativas para la concentración de N, P y Ca; sin embargo, los niveles de Mg disminuyeron y los de K aumentaron en las plantas con déficit comparadas con las de la solución control.

Parámetros fisiológicos para el tratamiento con una reducción del 35% de K y tratadas con *Bacillus mucilaginosus*.

1. Contenido de macronutrientes en las hojas de tomate para n=4. Una reducción del 35% de K en la solución nutritiva junto con la adición de *Bacillus mucilaginosus* produce un aumento de los niveles de K, una disminución en la concentración de P y Mg; manteniendo los niveles de N y Ca sin diferencias significativas con las muestras de la solución control.

CONCLUSIONES

A) Lechuga

En una reducción del 35% de N junto con la adición de *Azospirillum brasilense* se observa un aumento del peso fresco de las lechugas en el ciclo de invierno; así como un aumento en la concentración de los niveles de P, Ca y Mg respecto a las plantas control. No se observó amarilleamiento en las hojas como consecuencia de la disminución de N en la solución nutritiva.

El tratamiento con *Bacillus megaterium* en una solución nutritiva reducida el 35% de P se observó un aumento del peso fresco de las lechugas. Si bien se midió un menor SPAD indicando un leve color amarillito en las hojas. Respecto a los nutrientes no hubo diferencias significativas entre los controles si bien se observó un aumento de los niveles de Mg en las plantas crecidas en solución nutritiva reducida.

La reducción de K junto con la adición de *Bacillus mucilaginosus* no tuvo efecto sobre el peso fresco, presentado valores similares al control. Se observó una disminución de los valores del SPAD pero un aumento en los niveles de P.

B) Tomate

En las soluciones nutritivas reducidas un 35% de N, P o K con la adición de microorganismos no se observó efectos negativos sobre los parámetros productivos (producción comercial, destrío, peso medio de frutos) en el cultivo de tomate en un ciclo de verano respecto a las plantas regadas con el 100% de la solución nutritiva.

En una reducción del 35% de N junto con la adición de *Azospirillum brasilense*, los niveles de N y Mg fueron menores pero los de P y K se incrementaron respecto a los valores control.

El tratamiento con *Bacillus megaterium* en una solución nutritiva reducida el 35% de P aumento los niveles de K, disminuyo los de Mg y no modifico la concentración de N.

La reducción del 35% K junto con la adición de *Bacillus mucilaginosus* no alteró los niveles de N y Ca; aumentando el de K pero disminuyendo los de Mg y P.

Valoración de los productos

Atendiendo a los resultados presentados para el cultivo de la lechuga Romana y el tomate tipo Valenciano se valora positivamente el empleo de estos microorganismos (*Azospirillum brasilense*, *Bacillus mucilaginosus* y *Bacillus megaterium*) a la concentración de 0.5 mL de bacterias.m⁻² (5 L.ha⁻¹) según especificaciones de la casa comercial.

Los parámetros fisiológicos y productivos analizados permiten concluir que una reducción independiente del 35% de los niveles de N, P y K en la solución nutritiva junto con la adición de estos microorganismos no afecto a la producción si bien en algunos casos la aumento. Así mismo, no se observaron síntomas de toxicidad o déficit nutricional.

FOTOGRAFÍAS



Fotografía 1. Lechuga. Ensayo Bacterias IVIA



Fotografía 2. Tomate. Ensayo Bacterias IVIA

TABLAS

Tabla 1. **Abonado Lechuga. Se efectuaron 4 riegos con fertilización.**

	Control		35% menos de N		35% menos de K		35% menos de P	
	Dosis total	Dosis por Riego (4)	Dosis total	Dosis por Riego (4)	Dosis total	Dosis por Riego (4)	Dosis total	Dosis por Riego (4)
gr MKP	417	104	417	104	417	104	292	73
gr N Amonico	369	92	130	32	532	133	334	83
gr N Potasico	1137	284	1137	284	704	176	1230	307
gr Epsonita	109	27	109	27	109	27	109	27

Tabla 2. **Abonado Tomate. Se efectuaron 8 riegos con fertilización.**

	Control		35% menos de N		35% menos de K		35% menos de P	
	Dosis total	Dosis por Riego (8)	Dosis total	Dosis por Riego (8)	Dosis total	Dosis por Riego (8)	Dosis total	Dosis por Riego (8)
gr MKP	400	50	400	50	400	50	270	34
gr N Amonico	775	97	300	38	1000	125	740	93
gr N Potasico	1000	125	1000	125	1000	125	1000	125
gr Epsonita	1600	200	1500	188	900	113	1700	213

Tabla 3. **Rendimiento de las lechugas para las líneas control, con déficit de N, P y K. en kg.ha⁻¹.**

TRATAMIENTO	Kg.ha ⁻¹
Control	12239
Déficit de N	15091
Déficit de P	15194
Déficit de K	12633

Tabla 4.

	Producción Total (g.m ⁻²)	Producción Comercial (g.m ⁻²)	Destrío (g.m ⁻²)	% Destrío	Peso medio(g) n=150 frutos
Control	4820,01	3521,83	1298,18	37,19	232,84
DEF N	5001,66	3870,04	1131,62	29,47	235,29
DEF P	4948,86	3525,72	1423,13	41,26	238,13
DEF K	5484,65	4013,31	1471,33	36,99	224,81

Tabla 5. **El rendimiento comercial expresado en kg.ha⁻¹ se resume en esta tabla.**

TRATAMIENTO	Kg.ha ⁻¹
Control	35218
Déficit de N	38700
Déficit de P	35257
Déficit de K	40133

FIGURAS

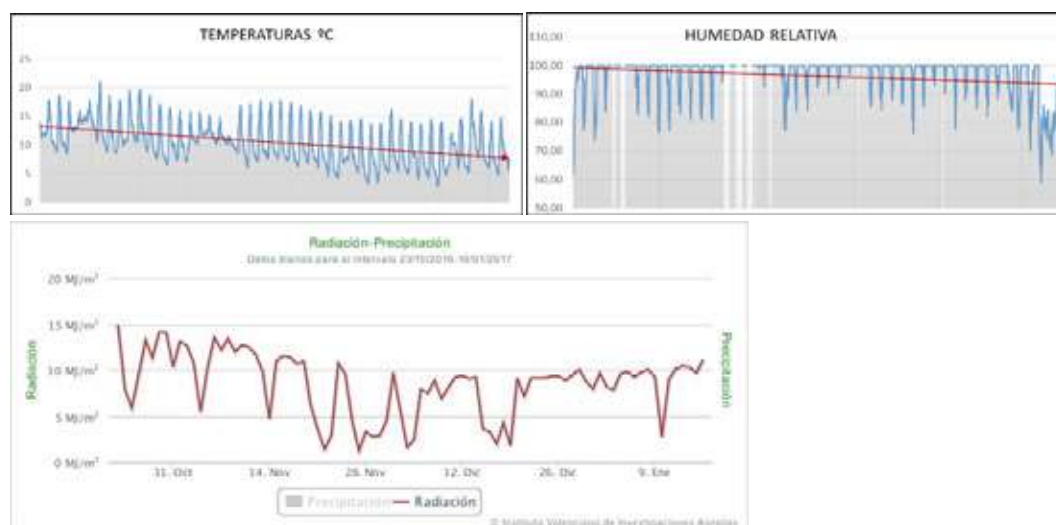


Figura 1. Datos climáticos para Lechuga. Lecturas 3645 mínima 2,8 °C máxima 22,7 °C mínima 58,40% máxima 100,00% *Humedad relativa a la altura del cultivo.

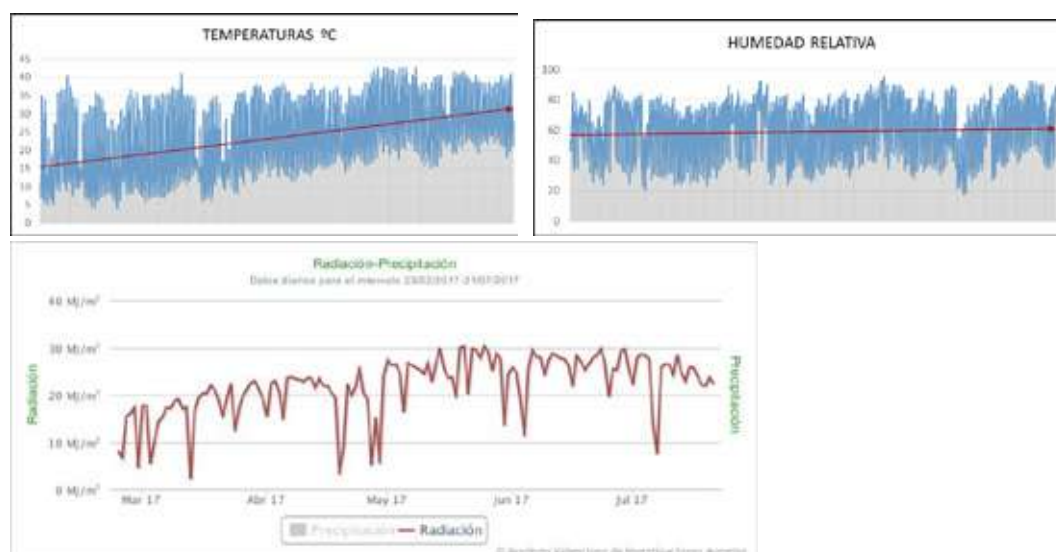


Figura 2. Datos Climaticos para Tomate. Lecturas 8046 mínima 3,9°C máxima 42,6 °C mínima 17,10% máxima 94,70%.

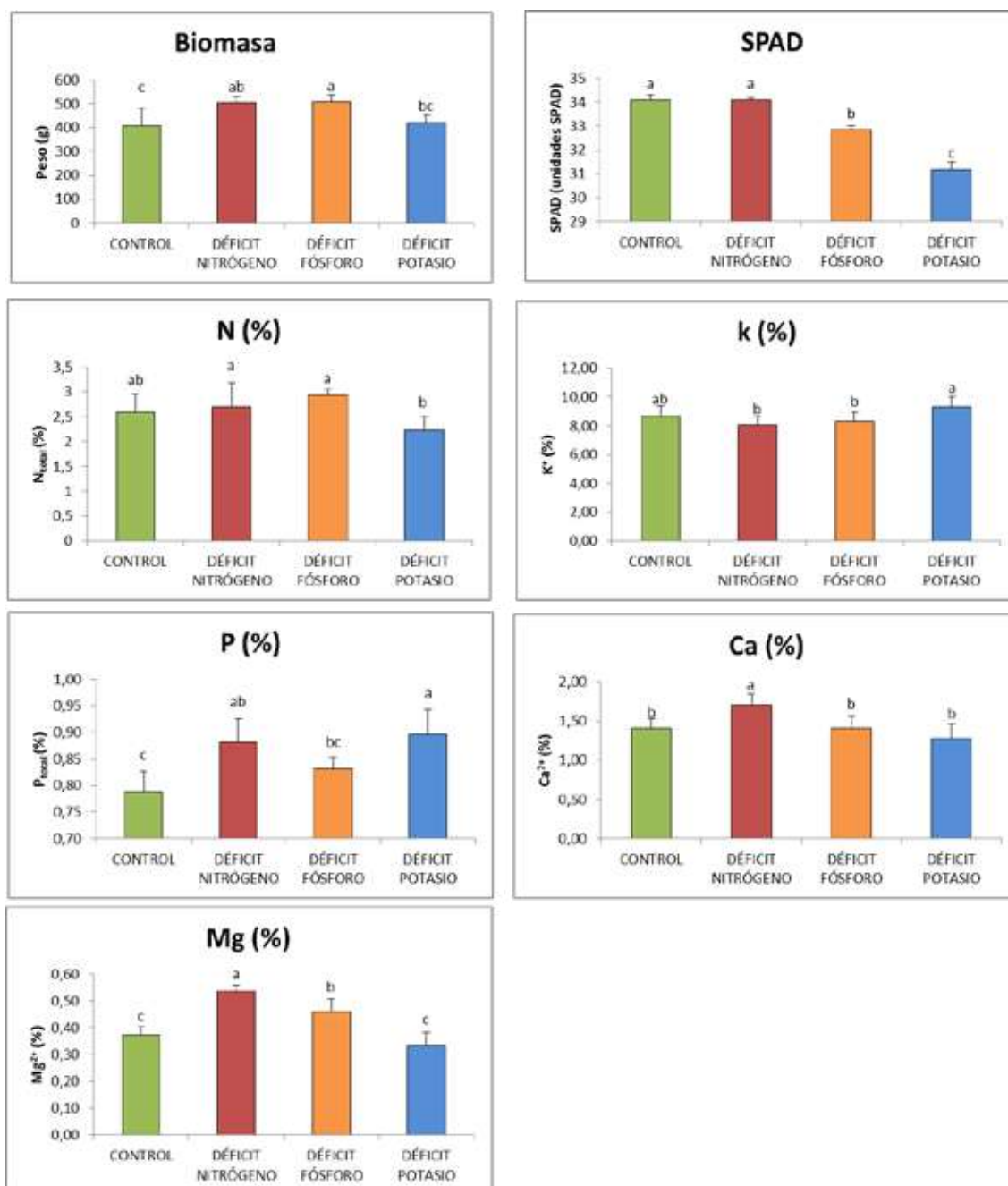


Figura 3. Gráficas Lechuga.

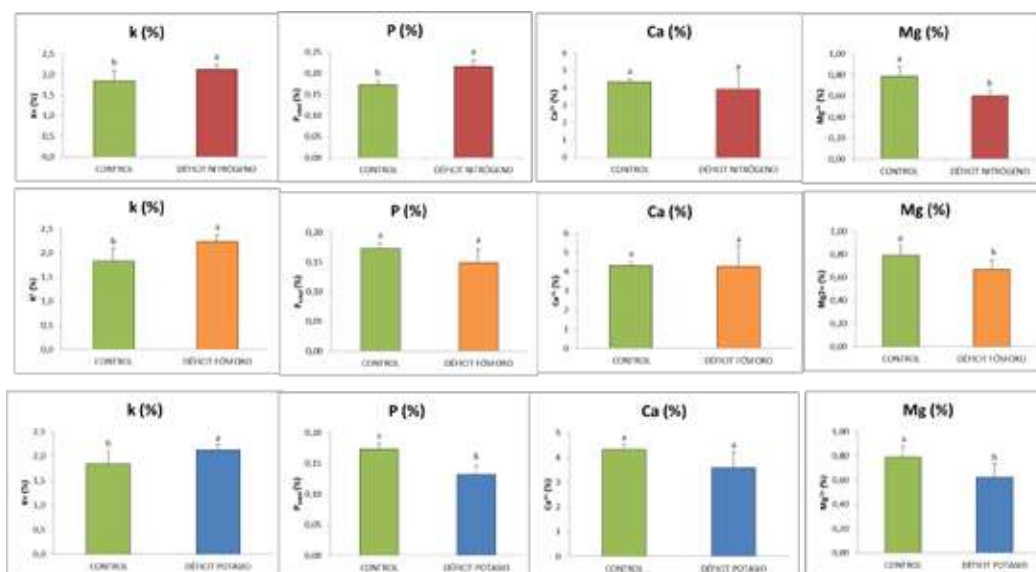


Figura 4. Gráficas Tomate.

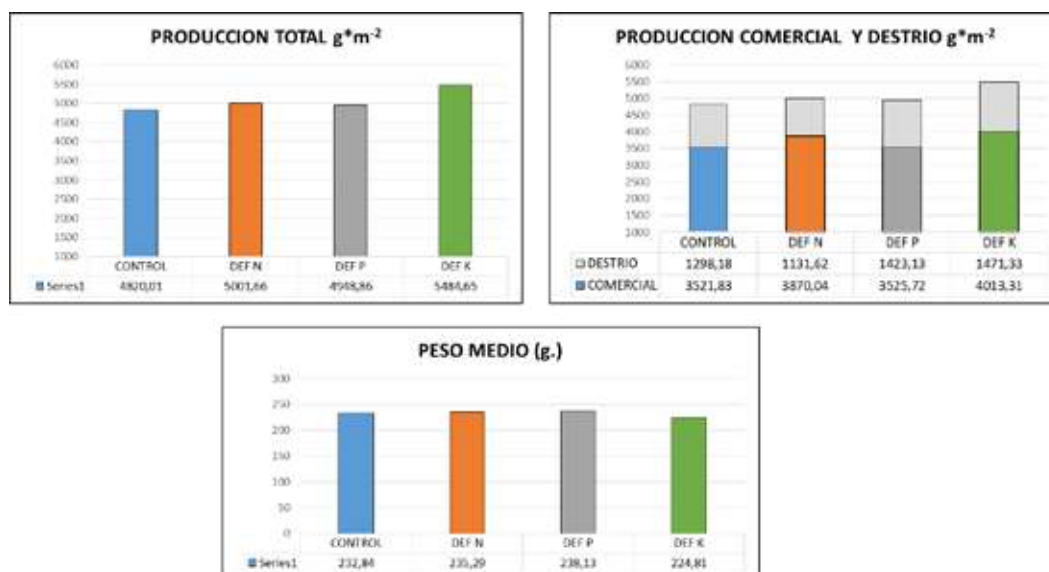


Figura 5. Producción total, producción comercial, % de destrío de tomates y peso medio en tomate