

Evaluación del efecto de un biofertilizante ligado a un soporte orgánico mineral en un cultivo de lechuga en la Sabana de Bogotá bajo condiciones de invernadero

Evaluation of the effect of a biofertilizer linked to a mineral organic substrate on lettuce grown under greenhouse conditions on the Bogota Plateau

DIANA EDITH CASTELLANOS S.¹
JOSÉ MARÍA RINCÓN M.²
HELIODORO ARGUELLO A.^{3, 4}

Cultivo de lechuga en la Sabana de Bogotá.

Foto: J.M. Rincón M.



RESUMEN

Se evaluó el efecto a nivel de invernadero de un biofertilizante integrado en soporte orgánico mineral, en un cultivo de lechuga, var. Batavia, en la Sabana de Bogotá. Se evaluaron cinco tratamientos cada uno con 22 plantas así, compost + biofertilizante (T1), biofertilizante en soporte orgánico mineral (T2), biofertilizante común (T3), fertilizante químico (T4) y testigo absoluto (T5). Se realizaron muestreos de tipo microbiológico (conteo de poblaciones microbianas cultivo dependientes) en tres tiempos diferentes 25, 46 y 68 días. Adicionalmente se realizó un muestreo de tipo agronómico al día 68 de las hojas (longitud, área foliar, peso fresco y seco) y raíces (longitud, peso fresco y seco). Los resultados indicaron, que en los tratamientos compost + biofertilizante y biofertilizante en soporte orgánico mineral, así como en el fertilizante químico se evidenció un efecto importante, en cuanto a los parámetros agronómicos valorados en las plantas, en comparación con los otros tratamientos. Sin embargo, no se observaron variaciones significativas en las poblaciones de microorganismos cultivo dependientes evaluadas.

Palabras clave adicionales: rizosfera, *Lactuca sativa*, consorcio de microorganismos, compost, materia orgánica.

¹ Facultad de Ciencias Agrarias, Programa de Doctorado en Agroecología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá (Colombia).

² Facultad de Ciencias, Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá (Colombia).

³ Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Desarrollo Rural, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá (Colombia)

⁴ Autor para correspondencia. harguelloa@unal.edu.co

ABSTRACT

The effect of a biofertilizer on lettuce crop, var. Batavia, was evaluated in a greenhouse on the Bogota Plateau. Previous studies were consulted for the microorganisms and the biofertilizer quality parameters that were used. Five treatments were evaluated, each with 22 plants: compost + biofertilizer (T1), biofertilizer (T2), common biofertilizer (T3), chemical fertilizer (T4) and absolute control (T5). The treatments were sampled at three different times, 25, 46 and 68 days, to count the microbial populations linked to the lettuce crop. Additionally, the length, area and the fresh and dry weights of the leaves and the length and the fresh and dry weights of the roots were sampled on day 68. The results indicated that the microbial populations did not present significant differences between the treatments, but remained stable in T1. Treatments T1, T2, and T4 showed better results for the measured agronomic parameters. In conclusion, the biofertilizer, prepared with or without compost, responded similarly to the chemical treatment in terms of the agronomic parameters, without presenting a significant difference in the number of microbial populations.

Additional key words: rhizosphere, *Lactuca sativa*, consortium of microorganisms, compost, organic matter.

Fecha de recepción: 16-10-2014

Aprobado para publicación: 28-05-2015

INTRODUCCIÓN

Son múltiples los efectos positivos que aportan los microorganismos del suelo, dentro de los cuales se destacan: la germinación y el enraizamiento de las semillas, la mayor disponibilidad de nutrientes, mejoramiento de la estructura del suelo y protección de la planta frente a tensiones de diversa índole (Jorquera *et al.*, 2010). Dentro de estos microorganismos se encuentran bacterias, actinomicetos (bacterias filamentosas) y hongos, durante todo el ciclo de vida de la planta, esta interactúa con un gran número de estos microorganismos presentes en el suelo y en la rizosfera, con resultados que pueden ser benéficos, neutros o perjudiciales para su desarrollo (Barea *et al.*, 2005; Mäder *et al.*, 2011). En la actualidad el estudio de los microorganismos que están vinculados a las interacciones de carácter benéfico ha incrementado notoriamente el interés de los investigadores (Shennan, 2008; Barassi *et al.*, 2007).

Las bacterias, los actinomicetos y los hongos constituyen los grupos de microorganismos de

mayor interés en el suelo (Richardson y Simpson, 2011). Las bacterias son los habitantes más numerosos del suelo, encontrándose aproximadamente de 10^6 a 10^8 organismos por gramo de suelo. En la biosfera rizosférica su población puede llegar a 10^{12} células por gramo y realizan funciones tan importantes como la fijación de nitrógeno, solubilización de fósforo y otras no menos importantes en relación con los ciclos biogeoquímicos de otros nutrientes importantes para las plantas (Awasthi *et al.*, 2011; Sylvia *et al.*, 2004). Otro grupo importante de microorganismos ubicado en el suelo, con funciones vitales, son los actinomicetos, estos son bacterias filamentosas que poseen alguna similitud con los hongos, mineralizan la materia orgánica, ocupan aproximadamente del 10 al 30% de la microbiota total del suelo (Goudjal *et al.*, 2014; Sylvia *et al.*, 2004).

Los actinomicetos son agentes importantes en la degradación de materiales orgánicos. Muchas cepas tienen la capacidad de sintetizar metabolitos

tóxicos para otros microorganismos y son productores de agentes antimicrobianos, especialmente, antibióticos y antimicóticos; así mismo pueden llegar a ser importantes en los procesos de supresión de agentes fitopatógenos (Thakur *et al.*, 2007; Sylvia *et al.*, 2004).

De otra parte, los hongos, aunque se encuentran en menor proporción en comparación con las bacterias, cumplen funciones valiosas en este ecosistema y aportan un porcentaje significativo de la biomasa debido al gran diámetro de sus filamentos y a la extensa red que forman. Además de cumplir funciones importantes en la degradación de la materia orgánica, ayudan a disponer nutrientes importantes para la planta, ya sea sustancias reguladoras de crecimiento o fósforo asimilable o soluble para esta (Sylvia *et al.*, 2004).

A partir de lo anterior, es clara la importancia de los microorganismos como biofertilizantes dentro del suelo y su estrecha relación con los procesos de agroecológicos. Teniendo en cuenta el alto costo de los fertilizantes sintéticos, rubro con el mayor incremento en el costo en los últimos años, y los riesgos que algunos de ellos, especialmente la urea y la roca fosfórica relacionados respectivamente con contaminación por nitratos y metales pesados; los biofertilizantes emergen como una alternativa muy importante no solo por su capacidad de ayudar en la provisión de nutrientes para los cultivos, sino también por su ayuda en la producción de alimentos más sanos sin efectos negativos sobre el ambiente, además de contribuir a una agricultura más sostenible por sus efectos en la disminución de costos e importaciones.

Esta investigación se desarrolló en dos etapas. En la primera, se desarrolló un biofertilizante dentro de una matriz-soporte orgánica mineral, evaluando la capacidad de los microorganismos seleccionados en estudios previos para fijarse dentro de los diferentes soportes o favorecer la formación de biopelículas (biofilms) sobre los mismos con el fin de lograr dos propósitos. El

primero de ellos fue lograr una mayor viabilidad de las poblaciones microbianas a través del tiempo. Esta primera etapa fue desarrollada en investigaciones previas, donde como resultados sobresaliente se obtuvo el biofertilizante, con características microbiológicas necesarias para promover el crecimiento vegetal y con la calidad óptima.

Adicionalmente, durante esta primera etapa, se realizó la selección del soporte (matriz soporte orgánico-mineral), útil como fuente de nutrientes, tanto para los microorganismos fijados del biofertilizantes (formación de biopelículas o biofilms), como para la poblaciones nativas del suelo, donde se vayan a emplear el bioinsumo desarrollado. Es importante aclarar que para los soportes evaluados, su selección se realizó teniendo en cuenta aspectos importantes como: la disponibilidad en nuestro país, bajos costos económicos y su relación directa con los microorganismos en cuanto a que no sean tóxicos, ambientalmente seguros y el pH esté cercano a la neutralidad.

Teniendo en cuenta lo anterior, se propuso una segunda etapa, la cual planteó como objetivo general, evaluar el efecto del biofertilizante desarrollado, a nivel agronómico en un cultivo de lechuga, bajo condiciones de invernadero en la Sabana de Bogotá y sus posibles interacciones con las poblaciones microbianas nativas cultivo dependientes del suelo y rizosfera, de importancia agronómica, como fijadores asimbiótico de nitrógeno, solubilizadores de fósforo inorgánico, entre otros.

MATERIALES Y METODOS

Fase de laboratorio

Para el desarrollo de esta propuesta, los microorganismos que se utilizaron fueron aislados y caracterizados en investigaciones previas y formaban parte del cepario del Laboratorio de Mi-

crobiología Agrícola y Ambiental de Industrias Tecsol Limitada, Bogotá (empresa productora de fertilizantes orgánicos). Estos microorganismos están caracterizados micro y macroscópicamente, además están clasificados por sus actividades o funciones agrícolas, como fijación biológica asimbiótica de nitrógeno, solubilización de fósforo inorgánico y producción de sustancias reguladoras de crecimiento vegetal. En total, para la elaboración de biofertilizante, se emplearon 13 cepas de microorganismos entre bacterias, actinomicetos (bacterias filamentosas) y hongos filamentosos, adicionalmente algunas de estas cepas se encuentran identificadas molecularmente.

Para determinar la fijación de los microorganismos al soporte (matriz soporte), constituido por una fracción orgánica (fuentes de carbono) y mineral como fuentes de fósforo y potasio. Se realizaron ensayos de manera individual de cada una de las cepas y luego por mezclas para formar poliinóculos o consorcios microbianos. Con el fin de establecer estas mezclas se efectuaron pruebas de inhibición o antagonismos para evaluar compatibilidad dentro del soporte. Dentro de las cepas que presentaba el biofertilizante, estaban diferentes especies de los géneros *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* y *Bacillus*. Para comprobar la fijación de estos microorganismos seleccionados, se hicieron conteos de células viables por gramo de soporte.

Fase de invernadero

Con el objetivo, de evaluar el biofertilizante producido en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.), var. Batavia, se establecieron diferentes ensayos en el invernadero (temperatura y humedad relativa promedio de 15,8°C y 62%, respectivamente) del campus de la Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. Se evaluaron cuatro tratamientos, los cuales se describen así: T1 (compost + biofertilizante, desarrollado en soporte orgánico mineral), T2 (biofertilizante desarrollado en un soporte orgánico mineral), T3 (biofertilizante comercial), T4

(fertilizante químico) y un testigo absoluto, designado como T5.

El seguimiento al cultivo se realizó durante 68 días después del trasplante (ddt) con el fin de determinar cambios significativos como consecuencia de cada uno de los tratamientos. Estos se distribuyeron bajo un diseño completamente al azar con cinco tratamientos y seis repeticiones. En total se evaluaron 660 plantas, correspondiendo 22 plantas por cada tratamiento y sus respectivas repeticiones.

El compost utilizado para el ensayo provenía de estiércol vacuno, proporcionado por empresa productora de este tipo de abono orgánico, el cual fue aplicado en cantidad de 4 g por planta. El biofertilizante utilizado en el tratamiento T1 y T2 corresponde al biofertilizante elaborado por Industrias Tecsol, aplicado en dosis de 2 g por planta. Para el tratamiento T3 se utilizó Eco-terra, producto bioestimulante, la dosis para la aplicación en invernadero fue de 1 g L⁻¹ de agua, aplicando alrededor de la planta 50 cm³ de la mezcla en drench. Para el tratamiento químico T5, se utilizó como fuente comercial el producto N:P:K 13:26:6 fertilizante complejo granulado de Nutrimon, aplicando 4 g después de la siembra a una distancia de 2 cm de cada planta para evitar daños en esta.

Aplicación de tratamientos

Inicialmente las plántulas de lechuga fueron inoculadas, 15 d antes de la siembra, con el biofertilizante desarrollado en presentación líquida (sin el soporte orgánico mineral), sumergiendo sus raíces por 5 min en la mezcla. Una semana después de la siembra, se realizó una primera aplicación de los tratamientos, 15 d después la segunda aplicación y luego a los 15 d la tercera y última aplicación.

Los parámetros que se evaluaron, durante la fase en el invernadero fueron, a nivel microbiológicos: conteos de células viables de bacterias fija-

doras de nitrógeno asimbióticas, microorganismos solubilizadores de fósforo, bacterias totales aerobias, actinomicetos y hongos filamentosos, siguiendo la metodología citada por Madigan *et al.* (2003) de dilución de la muestra y siembra en placas de medio de cultivos específicos (Atlas y Bartha, 2002; Atlas, 2004). En cuanto a parámetros agronómicos, se realizó determinación de longitud de raíz, peso fresco y seco de raíces y hojas y área foliar.

Para el análisis de la información, se realizó un Anova y una prueba de comparación de medias múltiples de Tukey, con un 95% de confianza, para cada factor que presentó diferencias en la prueba de Anova.

RESULTADOS

Análisis de microorganismos cultivo dependientes

Conteo de bacterias presentes en la rizosfera de plantas de lechuga

Como se muestra en la figura 1, el tratamiento T2 (biofertilizante elaborado) fue el único que mostró a través de los tres tiempos un incremento paulatino de la población bacteriana en invernadero entre $4,5 \times 10^7$ a $3,1 \times 10^8$ UFC g^{-1} . Al final del tiempo de evaluación el día 68 se observó una tendencia similar en todos los tratamientos porque aumentaron sus poblaciones, esto exceptuando los tratamientos T1 (compost + biofertilizante) y T3 (biofertilizante comercial). Sin embargo, en la valoración final el tratamiento T2 continuó sobresaliendo con $3,1 \times 10^8$ UFC g^{-1} .

Conteo de hongos presentes en la rizosfera de plantas de lechuga

En la figura 2 se evidencia que todos los tratamientos presentaron un comportamiento fluctuante durante la secuencia de muestreos. En

el tiempo final (día 68) los conteos de todos los tratamientos fueron muy similares y no permitieron establecer diferencias.

Conteo de actinomicetos presentes en la rizosfera de plantas de lechuga

Como se observa en la figura 3, tampoco se presentaron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los tratamientos. En los conteos del tiempo inicial (día 25) todos los tratamientos presentaron una población representativa que osciló entre $8,8 \times 10^4$ UFC g^{-1} y $4,4 \times 10^5$ UFC g^{-1} . Hacia el final (día 68) los conteos en todos los tratamientos disminuyeron considerablemente entre $1,8 \times 10^4$ UFC g^{-1} y $4,0 \times 10^4$ UFC g^{-1} .

Conteo de fijadores de nitrógeno presentes en la rizosfera de plantas de lechuga

Al analizar los conteos microbianos no se presentaron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los tratamientos a través de los tres tiempos (figura 4). El tratamiento T2 presentó un incremento gradual de la población entre $1,4 \times 10^7$ a $2,8 \times 10^8$ UFC g^{-1} bajo condiciones de invernadero, de igual manera sucedió con el tratamiento T4 con incrementos entre $4,6 \times 10^6$ a $2,8 \times 10^7$ UFC g^{-1} . Al final (día 68), T4 y T2 resultaron con mayor número de UFC g^{-1} pero no significativo con respecto a los demás tratamientos.

Conteo de solubilizadores de fósforo presentes en la rizosfera de plantas de lechuga

De acuerdo con la figura 5 no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos ($P > 0,05$). Los conteos microbianos para el día 25 estuvieron bajos y aumentaron gradualmente para el tiempo 46 (días). El tratamiento T2 evidenció un incremento significativo para el día 46 pero decreció levemente para el día 68, de igual forma sucedió con el tratamiento T3. Al final de la evaluación la mayor población fijadora de fósforo estuvo en el tratamiento T2 ($4,1 \times 10^6$ UFC g^{-1}) y T1 ($4,1 \times 10^6$ UFC g^{-1}).

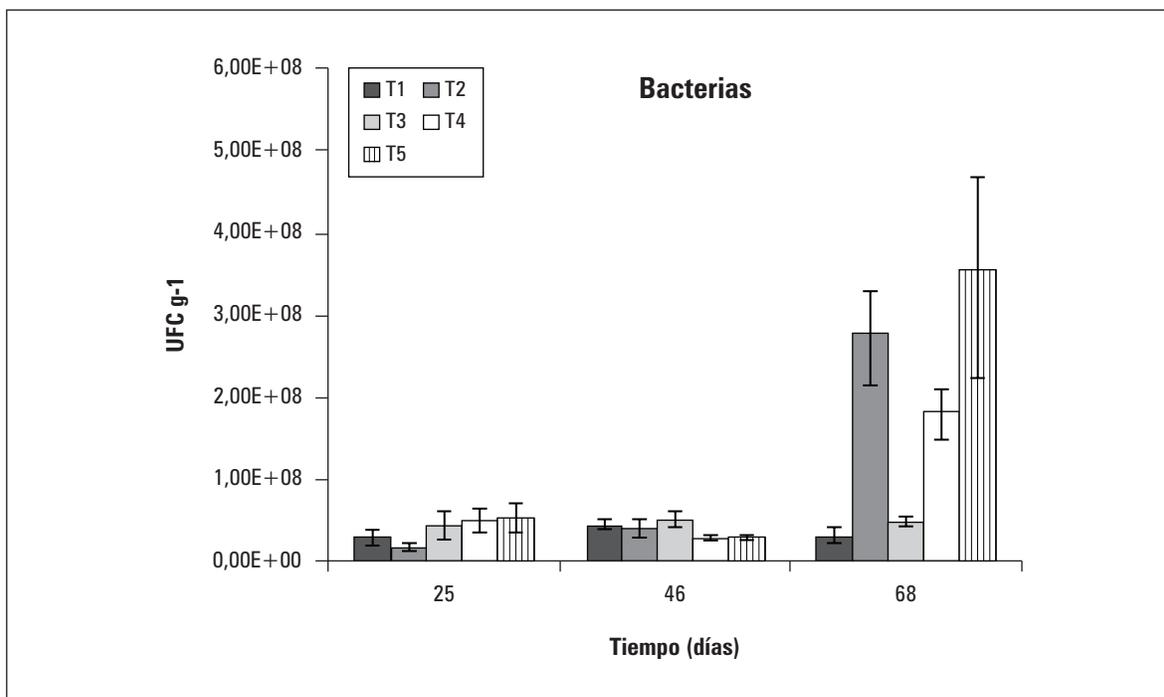


Figura 1. Promedio de las UFC g⁻¹ de los conteos totales de bacterias en la rizosfera de la lechuga 'Batavia' a través del tiempo en invernadero. T1: compost + biofertilizante; T2: biofertilizante elaborado en soporte orgánico mineral; T3: biofertilizante comercial; T4: fertilizante químico y T5: testigo. Las barras sobre las columnas indican error estándar.

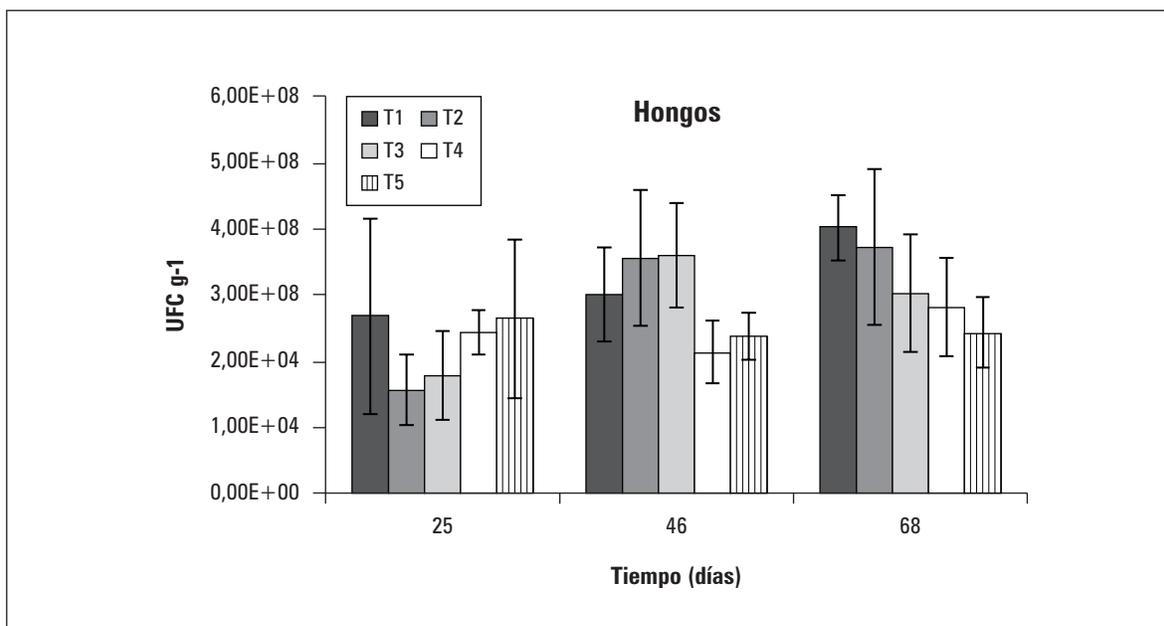


Figura 2. Promedio de las UFC g⁻¹ de los conteos totales de hongos en la rizosfera de la lechuga 'Batavia' a través del tiempo en invernadero. T1: compost + biofertilizante; T2: biofertilizante elaborado en soporte orgánico mineral; T3: biofertilizante comercial; T4: fertilizante químico y T5: testigo. Las barras sobre las columnas indican error estándar.

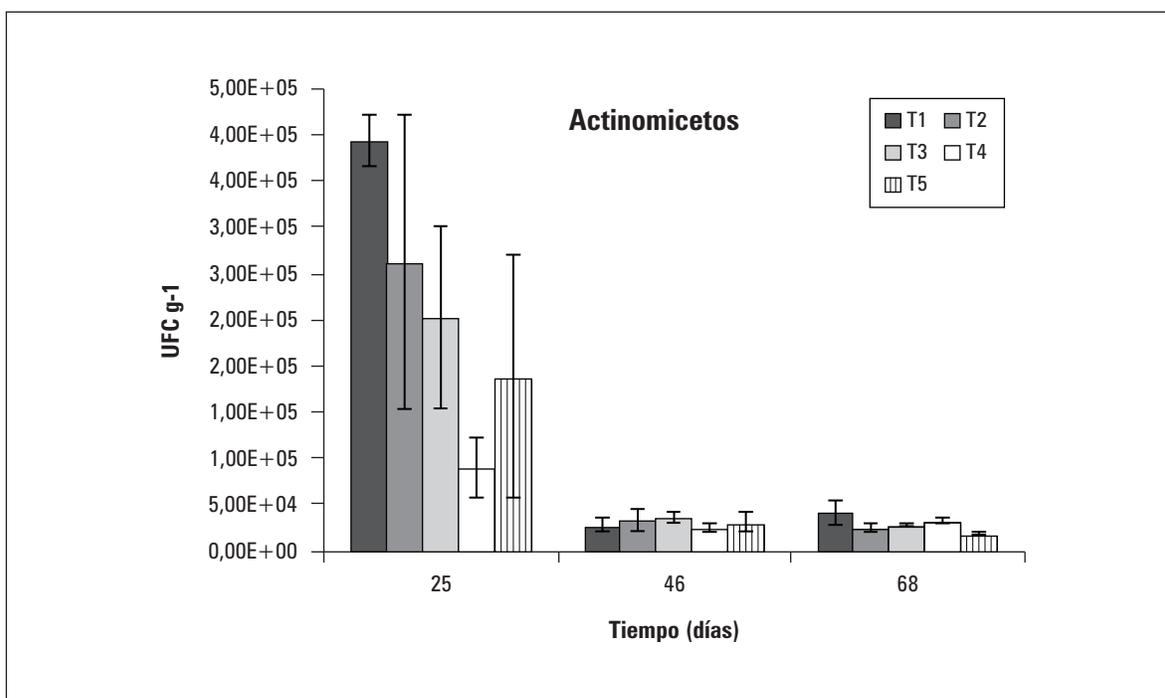


Figura 3. Promedio de las UFC g⁻¹ de los conteos totales de actinomicetos en la rizosfera de la lechuga 'Batavia' a través del tiempo en invernadero. T1: compost + biofertilizante; T2: biofertilizante elaborado en soporte orgánico mineral; T3: biofertilizante comercial; T4: fertilizante químico y T5: testigo. Las barras sobre las columnas indican error estándar.

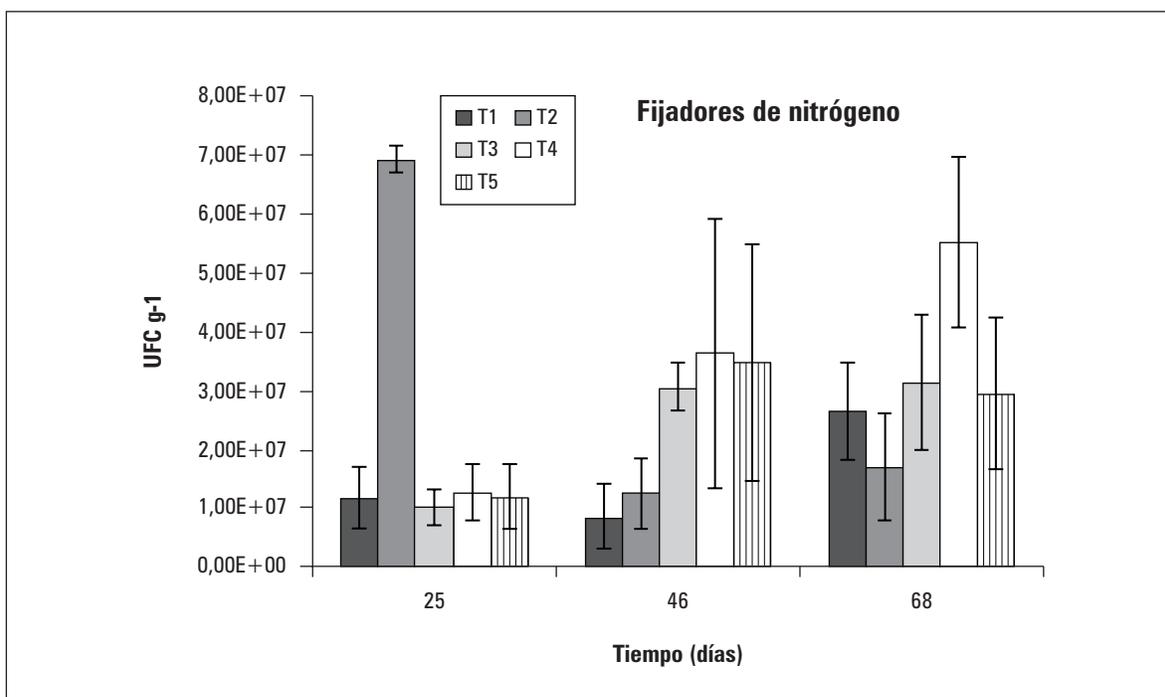


Figura 4. Promedio de las UFC g⁻¹ de los conteos totales de fijadores de nitrógeno en la rizosfera de la lechuga 'Batavia' a través del tiempo en invernadero. T1: compost + biofertilizante; T2: biofertilizante elaborado en soporte orgánico mineral; T3: biofertilizante comercial; T4: fertilizante químico y T5: testigo. Las barras sobre las columnas indican error estándar.

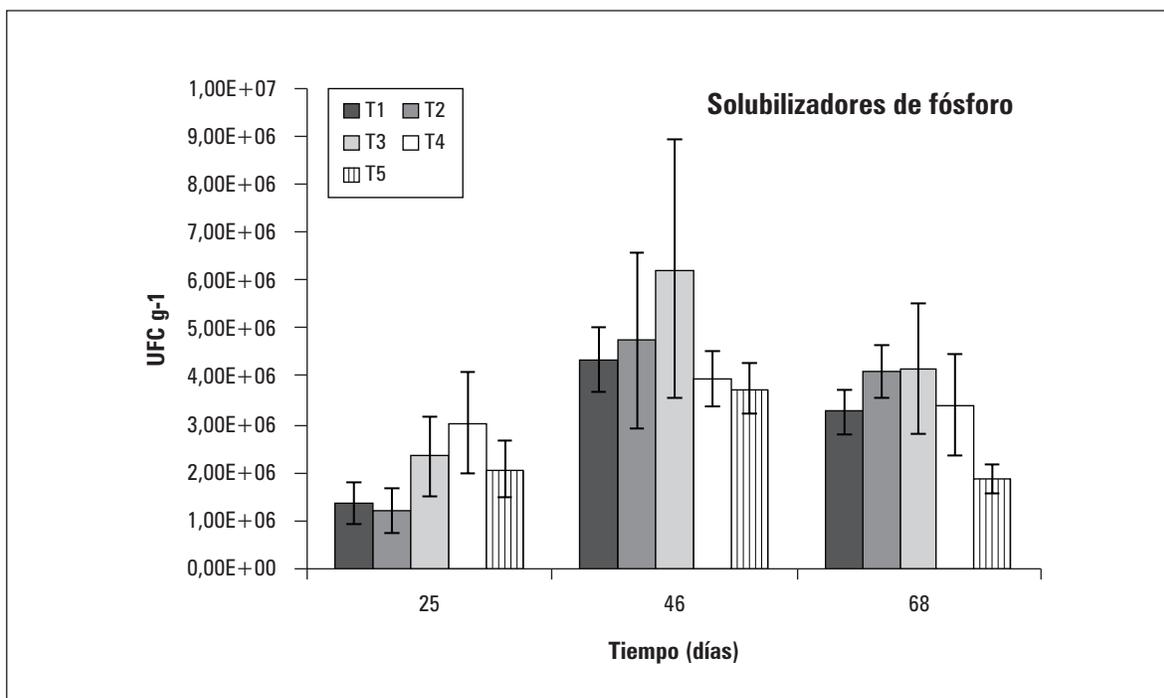


Figura 5. Promedio de las UFC g⁻¹ de los conteos totales de solubilizadores de fósforo en la rizosfera de la lechuga 'Batavia' a través del tiempo en invernadero. T1: compost + biofertilizante; T2: biofertilizante elaborado en soporte orgánico mineral; T3: biofertilizante comercial; T4: fertilizante químico y T5: testigo. Las barras sobre las columnas indican error estándar.

Evaluación de los parámetros de crecimiento foliar de la lechuga en condiciones de invernadero

De acuerdo con los parámetros de evaluados en condiciones de invernadero para el cultivo de la lechuga, se observa que los mejores resultados fueron obtenidos con el biofertilizante elaborado (T2) y con el compost biofertilizante (T1) al igual que el tratamiento fertilizante químico (T3), pues al compararlos con los demás tratamientos se observa un resultado mayor en cada parámetro evaluado.

Observando, los datos obtenidos en longitud de las hojas de lechuga (tabla 1), al finalizar el día 68, los mejores valores se dieron en los tratamientos T4, T1 y T2, lo cual para este experimento es satisfactorio, ya que los tratamiento con microorganismos y materia orgánica, lograron evidenciar lo efectos que pueden tener las plantas con la aplicación del fertilizante

químico bajo las condiciones establecidas en el experimento, convirtiendo a estos tratamientos biológicos como una opción importante para ser empleados en las diferentes prácticas agrícolas, contribuyendo con la disminución de problemas a nivel ambiental y generando productividad en el cultivo.

La medición del área foliar (tabla 1) muestra los mayores resultados en T1, seguido por los T4 y T2. Lo anterior, demuestra que los tratamientos con microorganismos y materia orgánica (T1 y T2), proporcionan un mayor crecimiento del área foliar en la lechuga.

Evaluación de los parámetros de crecimiento radical de la lechuga en condiciones de invernadero

Al analizar el parámetro longitud de raíz en la lechuga, se ilustra cómo el T2 tiene el mayor crecimiento longitudinal de este órgano,

seguido por los T1 y T4 (tabla 2). Sin embargo, los pesos frescos y secos más altos se obtuvieron en T1 y T4.

Referente al peso fresco y seco de las hojas (tabla 1) se confirma la tendencia de los demás parámetros foliares, es decir los mayores peso se registraron en el tratamiento T4, seguido de T1 y T2.

DISCUSIÓN

Fase de laboratorio

Es importante iniciar la discusión de los resultados de esta investigación exponiendo que la dinámica de las poblaciones de la rizosfera es un aspecto muy complejo que involucra numerosos factores que actuando en conjunto benefician el desarrollo de ciertas poblaciones microbianas,

también cumplen un papel importante las características de las plantas y las sustancias o exudados producidos por las raíces que sirven como fuente energética y pueden llegar a inducir incluso cambios de pH, disponibilidad de sustratos, nutrientes y factores de crecimiento microbiano en la rizosfera moldeando de esta manera su dinámica poblacional (Calvo *et al.*, 2008).

Bacterias

Aunque no se haya evidenciado una diferencia significativa en los conteos microbianos de bacterias en invernadero en T2 (biofertilizante elaborado en soporte) y T1 (biofertilizante + compost), sí se evidenció un mayor conteo a través de los tres tiempos y al final de la medición, lo que puede suponer que estos tratamientos muestran una tendencia en favorecer el desarrollo y la actividad de estos microorganismos de impor-

Tabla 1. Longitud, área, peso fresco y seco foliar \pm error estándar de la lechuga 'Batavia' en condiciones de invernadero al día 68.

Tratamientos	Longitud de hoja (cm)	Área foliar (cm ²)	Peso fresco foliar (g)	Peso seco foliar (g)
T1 Compost + biofertilizante	19,00 \pm 1,32	2103,16 \pm 135,68	200,07 \pm 35,80	11,18 \pm 1,85
T2 Biofertilizante elaborado en soporte orgánico mineral	18,67 \pm 0,33	1564,63 \pm 138,70	145,60 \pm 11,92	6,40 \pm 1,29
T3 Biofertilizante comercial	14,67 \pm 0,73	957,49 \pm 216,10	83,60 \pm 13,52	4,37 \pm 0,34
T4 Fertilizante químico	19,43 \pm 2,10	1772,04 \pm 153,32	213,00 \pm 42,15	12,09 \pm 1,15
T5 Testigo	14,30 \pm 1,35	920,89 \pm 187,64	78,33 \pm 11,55	4,10 \pm 0,87

Tabla 2. Longitud, peso fresco y seco de raíz \pm error estándar de la lechuga 'Batavia' en condiciones de invernadero al día 68.

Tratamientos	Longitud de raíz (cm)	Peso fresco de raíz (g)	Peso seco de raíz (g)
T1 Compost + biofertilizante	28,50 \pm 0,87	26,53 \pm 1,64	2,62 \pm 0,30
T2 Biofertilizante elaborado en soporte orgánico mineral	34,17 \pm 0,33	17,60 \pm 1,85	1,44 \pm 0,19
T3 Biofertilizante comercial	24,83 \pm 1,17	13,60 \pm 1,40	1,47 \pm 0,20
T4 Fertilizante químico	27,00 \pm 0,58	22,87 \pm 2,31	2,11 \pm 0,07
T5 Testigo	21,77 \pm 0,96	10,73 \pm 1,79	1,11 \pm 0,17

tancia agrícola, esta tendencia puede indicar que efectivamente hubo influencia positiva en las variables de respuesta de dichos tratamientos corroborado con los resultados agronómicos obtenidos (medición de raíz). Trabajos realizados por Terry *et al.* (2002) establecieron un efecto similar al observado durante este ensayo, empleando un consorcio bacteriano constituido por diferentes cepas de hongos y bacterias fijadoras de nitrógeno asimbióticas como *Azotobacter chroococcum*, esto bajo condiciones de hidropónicas.

Hongos

El incremento moderado de los conteos de los hongos confirma las bondades del compost biofertilizante (T1) y el biofertilizante (T2) y su calidad en diversidad biológica como polinóculo y bioinoculante. La concentración de estos microorganismos es, en gran medida, resultado de la presencia de materia orgánica fácilmente aprovechable (Fundora *et al.*, 2009), esta tendencia puede indicar que efectivamente hubo influencia positiva en las variables de respuesta de dichos tratamientos corroborado con los resultados agronómicos obtenidos (medición de raíz de la lechuga).

Los hongos filamentosos son importantes porque son fuente de alimento para otros organismos, en algunos casos actúan como fitopatógenos, sin embargo, crean relaciones benéficas como la simbiosis con la planta que le permiten, son saprofitos, degradan residuos de las cosechas y son agentes bióticos de mejora de la estructura y aireación del suelo (Sylvia *et al.*, (2004).

Actinomicetos

Al evaluar lo ocurrido en el experimento, la caída abrupta de las población en todos los tratamientos desde el día 24 al día 68 para retomar con un leve incremento en los conteos tanto del biofertilizante (T2) como el compost + biofertilizante (T1) se puede considerar que los actinomicetos por ser heterótrofos su presencia está condicio-

nada por la disponibilidad de sustratos orgánicos. Este comportamiento se puede comparar con los resultados encontrados en el proyecto No. 2008N6376-3569 "Obtención y evaluación de un biofertilizante enriquecido que contribuya con el incremento de la productividad de cultivos de hortalizas" de Tecsol, Ministerio de Agricultura Desarrollo Rural y Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

Estos resultados comparados con las poblaciones totales de bacterias podrían tener un efecto antagónico poblacional pues coinciden los ascensos y descensos de ambos grupos microbiales, de lo que podría inferirse un agotamiento en la reserva nutritiva en la rizosfera por una mayor competencia de parte de bacterias vs. los actinomicetos sin que esto llegue a eliminarlos. Por otro lado, los actinomicetos son de crecimiento lento y no compiten eficientemente por el carbono disponible como la población bacteriana que son de crecimiento más rápido (Desireé *et al.*, 2013).

Este grupo microbiano se destaca por presentar interacciones antagónicas por la producción de sustancias químicas como antibióticos naturales dentro de ellos la estreptomycinina que protege las raíces de las plantas del ataque de varios organismos patógenos (Plaster, 2000). La producción de estos antibióticos puede obligarlos a experimentar un crecimiento estacionario o a iniciar la fase de esporulación, de ahí que sus poblaciones probablemente hayan disminuido drásticamente (Escobar *et al.*, 2011).

Fijadores de nitrógeno

En particular, para esta población en condiciones de invernadero el fertilizante químico (T4) mostró la tendencia de un mayor número de UFC g⁻¹. Calvo *et al.* (2008) exponen en su investigación, que no siempre una mayor población de microorganismos equivale a una mayor diversidad de estos.

Un cambio en la actividad microbiana no necesariamente reflejaba un cambio en el recuento

realizado, lo cual podría indicar que la técnica de recuento en placa no resulta suficientemente sensible a los cambios generados durante el desarrollo de un sistema productivo.

La explicación puede deberse a que la determinación de células viables por conteo en placa generalmente produce valores demasiado bajos. Esto se debe a la selectividad del medio y a la incapacidad de diferentes células de formar colonias. Por otro lado, la adhesión a partículas de suelo causada por exopolisacáridos e incrustaciones en agregados son la principal razón para la retención de microorganismos. Así, la liberación de microorganismos de ciertos tipos de suelo es muy difícil (Ramos y Zúñiga, 2008).

Existen casos donde habrá la predominancia de una especie sobre la otra, lo que ocurre principalmente por la competencia que existe entre géneros y especies por el predominio en un ambiente como la rizosfera. Al evaluar poblaciones, también se debe tener en cuenta la dinámica e interacciones entre los diferentes géneros de bacteria, en el caso de los actinomicetos se ha comprobado que pueden tener un efecto antagónico con las bacterias del género *Azotobacter* sp. (fijador de nitrógeno) asimismo se menciona la acción competitiva entre estos dos grupos por un sustrato común, sin embargo, en la rizosfera observamos la presencia de estos dos géneros, aunque en algunos casos hay más abundancia de fijadores de nitrógeno (Calvo *et al.*, 2008).

Se puede presumir que dada la aplicación de biofertilizante, al mismo tiempo que el fertilizante químico, el biofertilizante no es suficientemente rápido en colocar a disposición del cultivo las altas cantidades de nutrientes como el nitrógeno, indispensables para el crecimiento de la hortaliza. Es posible que la aplicación del biofertilizante deba realizarse con algún tiempo, quizás dos o tres semanas previo a la siembra, a fin de dar tiempo para que los microorganismos fijen o solubilicen cantidades importantes de nutrientes disponibles para el cultivo. Los resultados en el

arriba mencionado proyecto de Tecsol, Ministerio de Agricultura Desarrollo Rural y Universidad Nacional de Colombia muestra que el biofertilizante sí permite reducir las cantidades de fertilizantes sintéticos utilizados).

Solubilizadores de fósforo

El comportamiento microbiano en la población del biofertilizante (T2) y el compost biofertilizante (T1) elaborado con microorganismos del tratamiento T2, muestran un mayor recuento al final del proceso en invernadero que aunque no era tan marcado sí estuvo presente, esta tendencia puede revelar que estos tratamientos favorecen el desarrollo y la actividad de esta microorganismos de importancia agrícola puesto que efectivamente hubo una influencia positiva en las variables de respuesta de dichos tratamientos corroborado con los resultados agronómicos obtenidos (medición de área foliar de la hortaliza).

En la solubilización, los fosfatos insolubles inorgánicos como el fosfato tricálcico, fosfato dicálcico, hidroxiapatita y roca fosfórica que no pueden ser asimilados por las plantas, pueden ser llevados a formas solubles por la acción de ácidos orgánicos como el ácido nítrico, ácido oxálico y carbónico producido por los microorganismos que asimilan directamente los fosfatos insolubles acumulándolos en sus células y liberándolos posteriormente en forma de fosfatos orgánicos. Esta solubilización se favorece si hay un alto contenido de materia orgánica (Da Silva y Nahas, 2002), esto asegura que la presencia de gran cantidad de solubilizadores en los tratamientos antes descritos está aportando sus efectos al poner disponible los fosfatos.

Fase de invernadero

Parámetros de crecimiento foliar y radical en condiciones de invernadero

Las longitudes, áreas foliares, pesos frescos y secos obtenidos en los tratamientos T4, T2 y T1 en

condiciones de invernadero mostraron los valores más altos. Los valores en T2 y T1 se explican debido a que bacterias contenidas en el biofertilizante sólido preparado contenía bacterias del género *Azotobacter* las cuales son capaces de penetrar la corteza de la raíz y producir sustancias reguladoras de crecimiento, como giberelinas, auxinas (ácido indolacético), citocininas, ácido absísico y fijan N_2 , lo que estimula el crecimiento, la producción de raíces laterales y pelos radicales que, a su vez, favorecen la absorción de nutrientes y por ende un mayor desarrollo de la planta en todos los aspectos (Vargas *et al.*, 2001; Peña y Reyes, 2007). Otro género de bacterias contenidas en el biofertilizante son algunas especies de *Pseudomonas*, estas incrementan la absorción de nutrientes, como N, P y K, además de producir fitohormonas en la rizosfera, lo cual promueve mayor crecimiento de las plantas.

Igualmente la respuesta de los tratamientos T1 y T2 también pudo estar influenciada debido que al contener mayor número de especies de bacterias solubilizadoras de fósforo y por ende mayores niveles de fósforo disponible en el suelo estas incrementan el peso seco de la planta y promueven el crecimiento radical debido a las mayores tasas en el crecimiento de raíces centrales y laterales (Cepeda, 2008). Al respecto, Peña y Reyes (2007), mencionan que plántulas de lechuga que fueron inoculadas con un biofertilizante conteniendo bacterias del género *Rhizobium*, presentaron un incremento de 32,3% del peso seco de las plántulas comparado con el testigo no inoculado (Peña y Reyes, 2007).

Como en estudios anteriores se pudo observar que hay correlación entre la longitud radical y el área foliar, pues como es posible interpretar: a mayor superficie radical mayor exploración y abastecimiento de nutrientes por parte de la planta (Cepeda, 2008).

Los mayores niveles de contenido de biomasa microbiana de suelo influyen en el rendimiento del cultivo, como se pudo observar con los trata-

mientos T2 y T1 respectivamente (Costantini *et al.*, 1999).

Antes de realizar la siembra de las lechugas en cada tratamiento estas fueron inoculadas con una mezcla de micorrizas, pero debido a que solo algunos de los tratamientos contenían biofertilizante, como es el caso de T2 y T1, es posible que se haya realizado una interacción sinérgica entre los hongos micorrízicos y algunas bacterias contenidas en el biofertilizante. Sin embargo, la relación espacial entre las hifas de las micorrizas y estas bacterias no ha sido bien establecida, aunque es conocido que los agregados del sustrato formados alrededor de la hifa de las micorrizas presentan una elevada actividad microbiana; esto puede sugerir que algunos de los beneficios sobre el crecimiento de las plantas atribuidos a los hongos micorrízicos, realmente pertenecen a la combinación de estas con las bacterias inoculadas, todo en conjunto conlleva a incrementos importantes del rendimiento agrícola (Terry *et al.*, 2002).

CONCLUSIONES

Los resultados de esta investigación, permiten concluir que el uso del biofertilizante impregnado en el soporte orgánico mineral, solo o combinado con compost, responde de manera similar que la fertilización química y mejor que el biofertilizante comercial, en parámetros como la longitud de hojas, área foliar, número de hojas y el peso fresco y seco de las plantas de lechuga en invernadero, al brindarle a la planta nutrientes y hormonas de más fácil acceso que en las condiciones de un cultivo normal.

Microorganismos como los solubilizadores de fósforo y fijadores de nitrógeno utilizados en este ensayo, favorecen la disponibilidad de nutrientes y fitohormonas por parte de la planta demostrando mejores resultados en los parámetros agronómicos medidos (Vestberg *et al.*, 2004).

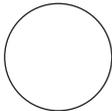
La dinámica de las poblaciones de la rizosfera de una planta se ve influenciada por diversos factores, como el pH, los exudados de la plantas, los nutrientes disponibles entre otros, lo que va a favorecer el incremento o disminución de un grupo especial de microorganismos en su rizosfera (Barrea *et al.*, 2005; Richardson, 2001; Toal *et al.*, 2000).

El soporte utilizado fue el adecuado en cuanto a que posiblemente, permitió el desarrollo microbiano y promovió las interacciones sinérgicas entre planta y los microorganismo de biofertilizante, la movilización y mantenimiento de nutrientes y a su vez el desarrollo de las estructuras de la

planta a un bajo costo. Sin embargo, es necesario continuar realizando ensayos en otros cultivos agrícolas para confirmar este efecto benéfico, que se asocia con el biofertilizante impregnado dentro del soporte orgánico mineral y la materia orgánica (compost).

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto se realizó gracias al apoyo financiero de la Dirección de Investigación (DIB) de la Universidad Nacional de Colombia, Bogotá y de Industrias Tecsol Ltda.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Atlas, R.M. 2004. Handbook of microbiological media. 3rd ed. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Atlas, R.M. y R. Bartha. 2002. Ecología microbiana y microbiología ambiental. Prentice Hall, Madrid.
- Awasthi, R., R. Tewari y H. Nayyar. 2011. Synergy between plants and P-solubilizing microbes in soils: Effects on growth and physiology of crops. *Int. Res. J. Microbiol.* 2(12), 484-503.
- Barassi, C. A., R.J. Sueldo, C.M. Creus, L.E Carrozzi, E.M. Casanovas y M.A. Pereyra. 2007. *Azospirillum* spp., a dynamic soil bacterium favorable to vegetable crop production. *Dynamic Soil Dynamic Plant* 1(2), 68-82.
- Barea, J.-M., M.J Pozo, R. Azcón y C. Azcón-Aguilar. 2005. Microbial co-operation in the rhizosphere. *J. Exp. Bot.* 56(417), 1761-1778.
- Calvo, P., L. Meneses y D. Zúñiga. 2008. Estudio de las poblaciones microbianas de la rizosfera del cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) en zonas alto andinas. *Ecol. Apl.* 7(1,2), 141-148.
- Cepeda, M. 2008. Prueba a nivel de invernadero y determinación de la sobrevivencia de un biofertilizante producido a partir de bacterias solubilizadoras de fósforo utilizando un medio de cultivo alternativo (Ecuador). Escuela Politécnica del Ejército, Santo Domingo de las Tsáchilas, Ecuador.
- Costantini, A., A. Segap, D. Lopes de Almeida y H. Depolli. 1998. Efecto de diferentes fertilizantes sobre el carbono de biomasa microbiana, respiración y rendimiento bajo cultivo de lechuga. *Pesq. Agropec. Bras.* 33, 71-76.
- Da Silva, P. y E. Nahas. 2002. Bacterial diversity in soil in response to different plants, phosphate fertilizers and liming. *Braz. J. Microbiol.* 33, 304-310. Doi: 10.1590/S1517-83822002000400005
- Desireé, M., D. Medina, G.G. Morales, F. Daniel, H. Castillo, Y. María, Y. y O. Fuente. 2013. Actinomicetos antagonicos contra hongos fitopatogénos de importancia agrícola. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 4(8), 1187-1196.
- Escobar, C., Y. Horna, C. Carreño y G. Mendoza. 2011. Caracterización de cepas nativas de *Azotobacter* sp. y su efecto en el desarrollo de *Lycopersicon esculentum* Mill. "tomate" en Lambayeque. *Scientia Agropecuaria* 2, 39-49.
- Fundora, L., J. González y L. Cabrera. 2009. Incrementos en los rendimientos del cultivo de boniato por la utilización combinada del fitoestimulante fitoma S-E y el biofertilizante económico® en condiciones de producción. *Cultivos Tropicales* 30(3), 14-17.
- Goudjal, Y., O. Toumatia, A. Yekkour, N. Sabaou, F. Mathieu y A. Zitouni. 2014. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off and promotion of tomato plant growth by endophytic actinomycetes isolated from native plants of Algerian Sahara. *Microbiological Research* 169(1), 59-65. Doi: 10.1016/j.micres.2013.06.014

- Jorquera, M.A., D. E. Crowley, G. Gajardo y M.L. Mora. 2010. Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 10(3), 293-319. Doi: 10.4067/S0718-95162010000100006
- Mäder, P., F. Kaiser, A. Adholeya, R. Singh, H.S. Upal, A.K. Sharma, R. Srivastava, V. Sahai, M. Aragno, A. Wiemken, B.N. Johri y P.M. Fried. 2011. Inoculation of root microorganisms for sustainable wheat-rice and wheat-black gram rotations in India. *Soil Biol. Biochem.* 43(3), 609-619. Doi: 10.1016/j.soilbio.2010.11.031
- Madigan, M.T., J.M. Martinko, J. Parker T.D. Brock, C. Rodríguez y M. Sánchez. 2004. *Brock biología de los microorganismos*. Pearson Educación, México.
- Peña, H. e. I. Reyes. 2007. Aislamiento y evaluación de bacterias fijadoras de nitrógeno y disolventes de fosfatos en la promoción del crecimiento de la lechuga (*Lactuca sativa* L.). *Rev. Interciencia* 32(8), 560-565.
- Plaster, E. 2000. *La ciencia del suelo y su manejo*. Editorial Paraninfo, Madrid.
- Ramos E. y D. Zúñiga. 2008. Efecto de diferentes inoculantes sobre la actividad microbiana en la rizosfera del cultivo de pallar (*Phaseolus lunatus* var. *sieva*) en condiciones de campo. *Ecol. Apl.* 7, 131-139.
- Richardson, A.E. y R.J. Simpson. 2011. Soil microorganisms mediating phosphorus availability update on microbial phosphorus. *Plant Physiol.* 156(3), 989-996. Doi: 10.1104/pp.111.175448
- Shennan, C. 2008. Biotic interactions, ecological knowledge and agriculture. *Phil. Trans. Royal Soc. London. Ser. B: Biol. Sci.* 363(1492), 717-739. Doi: 10.1098/rstb.2007.2180
- Sylvia, D., J. Fuhrmann, D. Zuberer y P. Hartel. 2004. *Principles and applications of soil microbiology*. 2nd ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, N.J.
- Richardson, E. 2001. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Funct. Plant Biol.* 28(9), 897-906. Doi: 10.1071/PP01093
- Terry, E., Z. Terán, R. Martínez-Viera y M.d.I.A. Pino. 2002. Biofertilizantes, una alternativa promisoriosa para la producción hortícola en organopónicos. *Cultivos Tropicales* 23(3), 43-46.
- Toal, M., C. Yeomans, K. Killham y A.A. Meharg. 2000. A review of rhizosphere carbon flow modelling. *Plant Soil* 222, 263-281. Doi: 10.1023/A:1004736021965
- Thakur, D., A. Yadav, B.K. Gogoi y T.C. Bora. 2007. Isolation and screening of *Streptomyces* in soil of protected forest areas from the states of Assam and Tripura, India, for antimicrobial metabolites. *J. Med. Mycol.* 17(4), 242-249. Doi: 10.1016/j.myc-med.2007.08.001
- Vargas, P., R. Ferrera-Cerrato, J.J. Almaraz-Suárez y G. Alcántar. 2001. Inoculación de bacterias promotoras de crecimiento en lechuga. *Terra* 19(4), 327-335.
- Vestberg, M., S. Kukkonen, K. Saari, P. Parikka, J. Huttunen, L. Tainio, N. Devos, F. Weekers, C. Kevers, P. Thonart, M.-C. Lemoine, C. Cordier, C. Alabouvette y S. Gianinazzi. 2004. Microbial inoculation for improving the growth and health of micro-propagated strawberry. *Appl. Soil Ecol.* 27, 243-258. Doi: 10.1016/j.apsoil.2004.05.006