

USO DE MICROORGANISMOS EFICACES EN UN ARGUJUDOL TÍPICO. EFECTO SOBRE SUS PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS Y RENDIMIENTO DE LECHUGA (*LACTUCA SATIVA*)

Monsalvo, M.A; Eiza, M.J.¹ y Carfagno, P.¹

¹ Facultad de Agronomía y Ciencias Agroalimentarias Universidad de Morón

RESUMEN

El experimento se llevó a cabo en una huerta ubicada en la localidad de La Matanza, Provincia de Buenos Aires, para evaluar los efectos de EMbiotic sobre las propiedades físico-químicas del suelo, y sobre el rendimiento y calidad de un cultivo de lechuga gallega en contraste con una parcela Testigo. Se aplicó EMbiotic 3 veces por semana en concentraciones 1:1000 (D1) y 1:300 (D2). Se determinó que estadísticamente para las condiciones planteadas en este experimento y con un solo ciclo de cultivo, los tratamientos con microorganismos eficaces no mejoran la fertilidad química y las propiedades físicas del suelo. El rendimiento y otros parámetros productivos del cultivo de lechuga no se incrementan por efecto del uso de microorganismos eficaces. No obstante, se observaron importantes cambios en todos los parámetros analizados, detectándose mejoras en las características químicas y físicas del suelo. Se observó un mayor rendimiento en aquellas parcelas tratadas con Dosis 1, aunque estadísticamente no significativo. Se obtuvieron incrementos significativos en el contenido de azúcar en las lechugas tratadas, en contraste con las no tratadas y las convencionales, con más cantidad de carbohidratos en las lechugas tratadas.

Palabras clave: contenido de azúcar, variedades de lechuga

ABSTRACT

The experiment was carried out in an orchard in the location of La Matanza, Province of Buenos Aires, to assess the effects of EMbiotic on the physico-chemical soil, and on yield and quality of a crop of Galicia lettuce in contrast with a control plot. It was applied EMbiotic 3 times a week in concentrations of 1:1000 (D1) and 1:300 (D2). It was determined that statistically for the conditions for this experiment and with a single crop cycle, the treatments with microorganisms effective does not improve fertility chemical and physical properties of the soil. Yield and other productive parameters of the cultivation of lettuce does not increase by effect of the use of effective microorganisms. However, there were significant changes in all parameters analyzed, indentifying improvements in the chemical and physical characteristics of the soil. It was observed increased yield in the plots treated with Dose 1, although no significant statistically. Was obtained significant increase of sugar content in lettuce treated, in contrast of untreated and conventional, with more carbohydrates in the treated lettuces.

Key words: sugar content, varieties of lettuce

INTRODUCCIÓN

La tecnología de la industria química para la producción en serie de sustancias específicas de alta pureza se desarrolló a partir de la Revolución Industrial (Siglo XVIII), permitiendo la utilización de fertilizantes químicos y pesticidas de bajo costo. Después de 1950, se alcanzaron altas producciones de alimentos, lo que tuvo un aspecto positivo ya que se preveía un aumento demográfico logarítmico que debía abastecerse. Aunque también existió un aspecto negativo, si se considera que aquellas altas producciones se obtuvieron por el incremento en el uso de fertilizantes y pesticidas. En este sentido, el incremento en la producción aumentó en forma geométrica, siendo inferior al crecimiento demográfico. Además, el uso desmedido de pesticidas y fertilizantes químicos conducen a una grave contaminación ambiental (Nishio, 1998).

En 1992, durante una conferencia, realizada por la Cumbre de las Naciones Unidas, se trató la problemática de la contaminación ambiental donde el mundo logró un reconocimiento de la importancia de la necesidad de contar con un desarrollo sostenible armonizado con la conservación ambiental. En dicho encuentro se acordó que, en previsión de un crecimiento abrupto de la población mundial, la raza humana deberá conservar los recursos naturales, la energía, el ambiente y la biodiversidad para obtener una producción sostenible de alimentos y desarrollo económico (Nishio, 1998). En este sentido, es de esperar que la producción de alimentos que emplee sustancias químicas que excedan la capacidad del ciclo de la naturaleza

pierda vigencia. Se han realizado rigurosos estudios y desarrollado diversas tecnologías para hacer agro-sustancias químicas amistosas con el ambiente. Los productos ya desarrollados incluyen pesticidas menos tóxicos y eficaces con mínima cantidad de uso, fertilizantes químicos de lenta liberación de sustancias nutritivas y plásticos biodegradables de fácil descomposición, entre otros.

En un esfuerzo para armonizar más la producción agrícola con el ambiente muchos estudios son conducidos para desarrollar técnicas de utilización de microorganismos, desarrollándose los conocidos probióticos (microorganismos vivos que confieren un beneficio cuando son administrados en cantidades adecuadas), ya que la aplicación de microorganismos en tierras de labranza y de otra naturaleza dará efectos menos perjudiciales sobre el ambiente que la utilización de grandes cantidades de sustancias químicas puras (Nishio, 1998). La singularidad de los microorganismos está en la extraordinaria capacidad que tienen para realizar ciertas funciones en forma natural bajo condiciones normales de presión y temperatura que nosotros solo podemos llevar a cabo en laboratorios modificando dichos parámetros (Nishio, 1998). Entre las funciones de los microorganismos más relevantes se mencionan: a) fijación de nitrógeno atmosférico; b) descomposición de desechos orgánicos y residuos; c) supresión de patógenos que se desarrollan en el suelo; d) reciclaje e incremento de la disponibilidad de nutrientes para las plantas; e) degradación de tóxicos incluyendo pesticidas; f) producción

de antibióticos y otros componentes bioactivos; g) producción de moléculas orgánicas simples para el consumo de las plantas; h) formación de complejos de metales pesados para toma limitada por las plantas; i) solubilización de fuentes de nutrientes insolubles; y j) producción de polisacáridos para mejorar la agregación del suelo.

Por todo esto, los microorganismos se han convertido en candidatos para resolver problemas ambientales difíciles. Las diferentes maneras en que los microorganismos han sido utilizados en los pasados 50 años abarcan avances en tecnologías médicas, humanas y salud animal, procesamiento de alimentos, ingeniería genética, protección del medioambiente, biotecnología agrícola y tratamiento efectivo de desechos agrícolas y municipales, muchos de los avances tecnológicos no hubieran sido posibles usando métodos de ingeniería química y física, aún si hubieran sido económicamente factibles (Higa, 1991).

En el grupo de los probióticos están los Microorganismos Eficaces (EM, sigla en inglés de *Effective Microorganisms*). Estos EM fueron desarrollados en forma de cultivo líquido a lo largo de los años por el Profesor Teruo Higa, académico de la escuela de Agricultura de la Universidad de Ryukyus en Okinawa, Japón, quien completó el estudio de esta nueva metodología en 1982, basándose en los fundamentos de la filosofía del precursor de la Agricultura Natural, Mokichi Okada (Higa, 1991). Al principio los EM eran utilizados como una alternativa a los químicos de uso agrícola, pero en la actualidad su uso se extendió

a los campos ambiental, industrial y de la salud. En el ámbito de la agricultura, su uso ha permitido un crecimiento de la productividad, superando ampliamente la capacidad productiva de los métodos de cultivo tradicionales. De esta manera, los sistemas de producción que implementan la tecnología de EM requieren de menos mano de obra y bajo planteos de siembra directa se obtiene una mayor productividad (Otta y Kinjo, 2009).

En la producción frutal se obtiene un nivel de azúcar más elevado, al igual que un mayor rendimiento (Primavesi, 1984). Por otro lado, existen beneficios económicos, ya que se obtienen producciones a un menor costo, pudiéndose alcanzar los mismos volúmenes de producción a una quinta parte del actual costo de producción agrícola (Garzón, 2009).

En la producción ganadera, reduce los malos olores asociados con los animales en producción, baja el nivel de estrés, infección y enfermedades en los animales, promueve mayor fertilidad en la inseminación artificial y reduce el índice de mortalidad en los recién nacidos. Con respecto a la salud del consumidor, mejora la calidad de la carne y de los productos alimenticios de origen agrícola (Kinjo, 2009).

La *EM Research Organization* (EMRO) fundada en el año 1994 en Okinawa es una organización que promueve y divulga la tecnología de los EM por el mundo a través de sus oficinas regionales, sucursales y compañías anexas de alianzas estratégicas, ONG's, fundaciones afiliadas y gobiernos locales. Esta organización cuenta con 100 investigadores alrededor del mundo que conducen las investigaciones del EM

en diferentes campos. Otra organización encargada de investigar y difundir la tecnología de EM (bajo la denominación de EMBiotic) junto con la técnica de Agricultura Natural, es la fundación Mokichi Okada fundada en el año 1971. Estas organizaciones trabajan para descubrir soluciones viables a los problemas ambientales y de salud que se hicieron más frecuentes por la utilización indiscriminada de agroquímicos a partir de la segunda mitad del Siglo XX (Garzón, 1964).

La fórmula del EM desarrollada por el Dr. Teruo Higa se compone por microorganismos beneficiosos de origen natural que contienen organismos de 5 géneros principales cosmopolitas, encontrándose en las plantas, tierra de hojas, pilas de compost, procesos naturales de fermentación de alimentos, etc., los que combinados realizan diversas funciones (Otta y Kinjo, 2009): 1) Bacterias fotosintéticas: son microorganismos autótrofos que tienen como fuente de energía la luz solar y el calor recibido por el suelo. Se alimentan de la secreción que sale por la raíz de la planta, de otras sustancias presentes en el suelo y de sustancias nocivas como el sulfato de hidrógeno. La fijación y la reproducción de estas bacterias aumentan las micorrizas (que contribuyen a la disponibilidad del P para las plantas). También hacen simbiosis con una especie de bacteria fijadora de nitrógeno (*Azotobacter*) activando la capacidad de fijación de nitrógeno; 2) Bacterias productoras de ácido láctico: transforman los azúcares disponibles en ácido láctico. En condiciones anaeróbicas, descomponen la proteína en aminoácidos. Las bacterias lácticas también tienen

una fuerte capacidad en el control de la reproducción de microorganismos considerados nocivos y en el control de la putrefacción de la materia orgánica. Vuelven soluble los materiales orgánicos de difícil descomposición, como la lignina y la celulosa; 3) Levaduras: utilizan como materia prima sustancias secretadas por las raíces de las plantas, de los aminoácidos, de los azúcares producidos por las bacterias fotosintéticas y de la materia orgánica existente dentro del suelo (MOS). Las levaduras sintetizan sustancias útiles a las plantas, en especial sustancias bioactivas que estimulan la división celular y el crecimiento de las raíces. Cuando son aplicados en las hojas, pueden formar una barrera física contra algunos fitopatógenos; 4) Actinomicetes: son microorganismos intermedios entre la bacteria y el hongo. Producen sustancias antimicrobianas que ayudan en el control de microorganismos nocivos, produciendo un ambiente favorable para el desarrollo de la planta. Cuando los actinomicetes coexisten con las bacterias fotosintéticas, su acción purificadora se duplica. Su presencia es más notable en suelo virgen o en tierra de hojas por la presencia de materia orgánica con mayor cantidad de lignina y celulosa. Tiene el típico olor a tierra mojada u "olor a lluvia"; y 5) Hongos filamentosos: cuando se habla de estos inmediatamente se los asocia a procesos de putrefacción, pero son un elemento importante en la coexistencia con otros microorganismos, ayudando en el proceso de producción de ésteres. Por la fuerte capacidad de formación de alcohol y ácidos orgánicos, previenen la aparición de larvas y otros insectos nocivos.

La aplicación de este grupo de microorganismos ha demostrado beneficios en una diversidad de actividades relacionadas con el medioambiente.

En Argentina la producción Hortícola del área correspondiente al Centro Regional Buenos Aires Norte del INTA se encuentra concentrada fundamentalmente en los alrededores de las ciudades de Buenos Aires y La Plata, reconociendo también la existencia de una cantidad importante de pequeños polos productivos ubicados en los alrededores de las principales ciudades del área mencionada. La horticultura de la región está caracterizada por tener un esquema de producción intensivo y altamente diversificado en cuanto a la forma de producción y la cantidad de especies que se cultivan. Esta región, por distintos motivos, es la principal abastecedora de hortalizas de hojas, 85% del total arribado al Mercado Central de Buenos Aires (MCBA) (Amma *et al.*, 2005).

De acuerdo con la información recabada de algunos operadores referentes de mercados se estima que en el MCBA se comercializa alrededor del 60% del total de productos que ingresan en el área metropolitana. Considerando las dos principales hortalizas de fruto se observa una participación importante de la producción regional, 27,9% y 17,9% del total comercializado en tomate y pimiento, respectivamente. En el caso de lechuga la participación es mayor, alcanzando 71,2% del total. Si se toman en consideración las hortalizas de hoja en su conjunto (lechuga, acelga, apio, cebolla de verdeo, espinaca, coles, perejil y radicheta) el porcentaje aumenta al 85% (Amma *et al.*, 2005).

Debido a que la utilización de EM es un método relativamente novedoso en Argentina, la primera cuestión que surge a resolver es la falta de información sobre los efectos de los EM aplicados en suelos Argiudoles de la provincia de Buenos Aires. Por consiguiente, y debido a la importancia productiva del cultivo de hoja, la propuesta se enfoca en evaluar los efectos de este grupo de microorganismos sobre el cultivo de lechuga gallega (*Lactuca sativa* L.).

Se plantearon las hipótesis de que el tratamiento con EM mejora la fertilidad química y las propiedades físicas del suelo y, por otro lado, el rendimiento y otros parámetros productivos del cultivo de lechuga se incrementan por efecto del uso de EM. En este sentido, los objetivos fueron: 1) evaluar el efecto de los microorganismos eficaces sobre algunas propiedades físicas y químicas de un suelo Argiudol típico de una huerta del Gran Buenos Aires y 2) estudiar el efecto de la aplicación de los microorganismos eficaces EM sobre parámetros productivos de un cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.).

MATERIALES Y METODOLOGÍA

El ensayo se llevó a cabo en una huerta, ubicada en la localidad de La Matanza, Provincia de Buenos Aires, perteneciente al Hospital Italiano de San Justo y utilizada por convenio por la Universidad de Morón y el Programa Prohuerta del INTA. El suelo fue clasificado como un Argiudol típico, de textura superficial franca.

Se definió un diseño completamente aleatorizado que consistió en 9 unidades experimentales con parcelas de 1m x 1.33m (Figura 1). Estas parcelas pertenecían a

una huerta donde se realizaban cultivos orgánicos y, por lo tanto, el suelo era regularmente abonado con estiércol y hasta el momento del ensayo se encontraban en desuso y ocupadas únicamente por especies de crecimiento espontáneo. Para la realización del experimento se utilizaron EM que fueron aplicados al suelo bajo la forma del producto “EMbiotic” mediante

dos métodos: 1) aplicado a la superficie con Bokashi; y 2) diluido en los riegos. Se asignaron 3 tratamientos: 1) Testigo (T, sin aplicación de EMbiotic; 2) dosis simple de EMbiotic (D1, 1mL de EMbiotic en 1000 mL de solución=1:1000); y 3) dosis incrementada de EMbiotic (D2, 1mL de EMbiotic en 300 mL de solución=1:300).

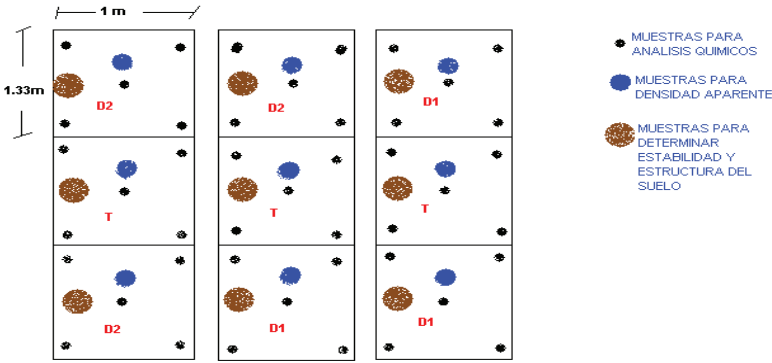


Figura 1. Diseño de las unidades experimentales del ensayo y de la toma de muestras. T: testigo; D1: dosis 1; y D2: dosis 2.

El experimento comprendió 4 etapas: **1ª etapa:** se tomaron muestras de suelo que fueron llevadas al laboratorio para determinar su fertilidad química mediante la cuantificación de C, N, y P y sus propiedades físicas: densidad aparente (Dap, método del cilindro) y el índice de estabilidad estructural (Iest, método de Leenher y Boodt). Asimismo, se determinó el contenido de humedad gravimétrica a 0.10 m de profundidad, en cada momento de muestreo.

2ª etapa: previo al trasplante del

cultivo se aplicó EMbiotic con Bokashi (i.e. mezcla de salvado de trigo con los microorganismos a evaluar) a la superficie del suelo en una dilución de 1:1000 para D1 y de 1:300 para D2 (Fotografía 1). En otoño de 2010 se trasplantó el cultivo de lechuga según la metodología empleada por los productores. Posteriormente se aplicó EMbiotic 3 veces por semana en las parcelas D1 y D2 (Fotografía 1) en las mismas concentraciones que las utilizadas para el trasplante, hasta la cosecha del cultivo, momento en el que se realizaron las determinaciones de rendimiento, y altura

de las plantas. Las parcelas Testigo no recibieron tratamiento con EMBiotic.



Fotografía 1. Izquierda: Aplicación de Bokashi a la superficie del suelo en el momento de trasplante. Derecha: Aplicación de EMBiotic a las plantas de lechuga con los riegos.

3ª etapa: se tomaron las muestras de suelo requeridas para realizar las determinaciones de fertilidad y propiedades físicas luego del tratamiento y finalizada la cosecha de las plantas de lechuga, para evaluar los efectos de EMBiotic sobre las propiedades del suelo. El mismo procedimiento, pero sin aplicación de EMBiotic se realizó en la parcela Testigo para verificar que los resultados obtenidos en la parcela tratada fueron producto de la aplicación de probiótico y no originadas por otros factores.

4ª etapa: se evaluó la calidad organoléptica del producto obtenido en cada tratamiento, incorporando plantas de lechuga producidas de forma convencional. Se determinó el contenido de azúcar con un refractómetro digital Atago (Fotografía 2), colocando una gota de savia en la célula de observación. Este instrumento se basa en el principio de reflexión de la luz, cuando aumenta la densidad de una sustancia (i.e. azúcar en savia) el índice de refracción aumenta proporcionalmente, brindando el resultado en Brix como unidad de medida. Asimismo, se realizó una evaluación sensorial con jueces no entrenados. Es un método que proporciona información integral de la calidad del producto y su relación con las expectativas de aceptabilidad por parte del consumidor. Dicha evaluación se realizó sobre la base de paneles integrados por 15 degustadores que actuaron como jueces para asignar un valor a los parámetros evaluados: sabor, color, olor, textura, apariencia y aceptabilidad.



Fotografía 2. Refractómetro Atago para la determinación del contenido de azúcar.

Los resultados fueron analizados con análisis de varianza con un modelo lineal general a fin de comprobar el efecto de agregado de EMBiotic sobre las variables

respuestas en suelo: C, N y P en suelo; Dap, lest y humedad, y en el cultivo: rendimiento, sanidad, cantidad de plantas y altura de estas, etc. Para la comparación de medias en los casos en lo que se hallaron diferencias significativas, se utilizó el *test* de Tukey. Para el rechazo de las hipótesis nulas se consideró un valor de $P < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis físicos de suelo

a. Humedad

En la Figura 2 se presentan los contenidos

de humedad edáfica promedio para cada tratamiento al inicio y al final de la experiencia. No hubo diferencias significativas entre tratamientos para ninguno de los dos momentos de muestreo. El contenido de humedad al comienzo del experimento fue muy bajo, como consecuencia de las escasas precipitaciones ocurridas en ese momento y la falta de riego por ausencia de cultivos previos. Al finalizar el ensayo el contenido de humedad fue elevado, manteniéndose alrededor de capacidad de campo (Figura 2)

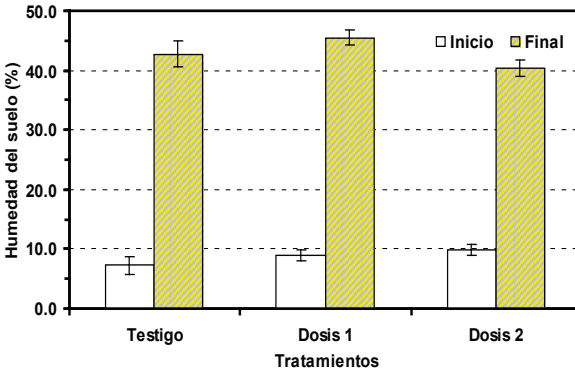


Figura 2. Contenido de humedad promedio para cada tratamiento al inicio y al final del experimento. Las líneas verticales representan el error estándar de las medias.

b. Densidad Aparente

En la Figura 3 se muestran los valores de Dap promedio para cada tratamiento al inicio y al final del experimento. El análisis estadístico no detectó diferencias significativas entre de ellos. Se observó una reducción al final del ensayo en la Dosis 1, mientras que para el resto de los

tratamientos fue invariable entre el inicio y el final de la experiencia (Figura 3). Los factores que afectan a la Dap son la textura del suelo, el estado de agregación, el contenido de MOS y el manejo del suelo (Lamas y Moreno, 2000).

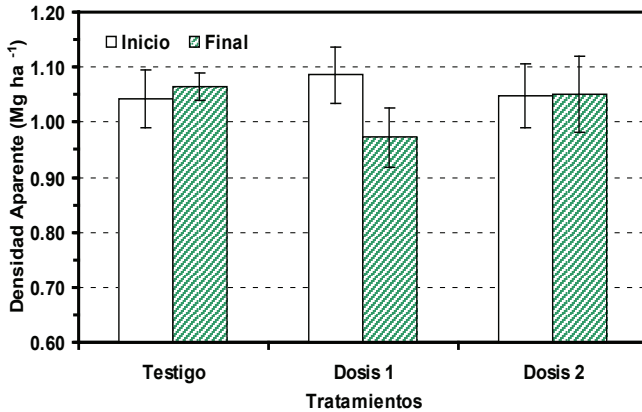


Figura 3. Valores de densidad aparente promedio para cada tratamiento al inicio y al final de la experiencia.

c. Estabilidad estructural de agregados

La Figura 4 muestra el índice de lest promedio para cada tratamiento al inicio y al final de la experiencia. No se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$) entre tratamientos al inicio ni al final del ensayo. Sin embargo, el análisis de la varianza correspondiente al momento inicial arrojó como resultado un valor $P = 0.0422$, explicado por valores más altos en la dosis 1. Ambas dosis mostraron cambios, ya que al final de la experiencia se equilibraron en valores menores a 0.3, mientras que para Testigo fue de 0.37 (Figura 4). El lest está dado por la diferencia que existe entre la distribución de las partículas secas al aire y la distribución de estas luego de ser sometidas a fuerzas disgregantes semejantes a las que afectan a los agregados en condiciones naturales.

Cuanto más pequeño es el lest, mejor es la estabilidad estructural. Es importante porque indica la capacidad que tiene el suelo para tolerar la acción del clima, del laboreo y otros factores, sin alterarse (Palma, 2000).

Una buena estructura evita el sellado del suelo y la posterior formación de costra superficial, facilita la emergencia de las plántulas y la infiltración del agua, permite una buena circulación de aire, agua y nutrientes, favoreciendo el desarrollo de microorganismos y el desarrollo de las plantas (Palma, 2000).

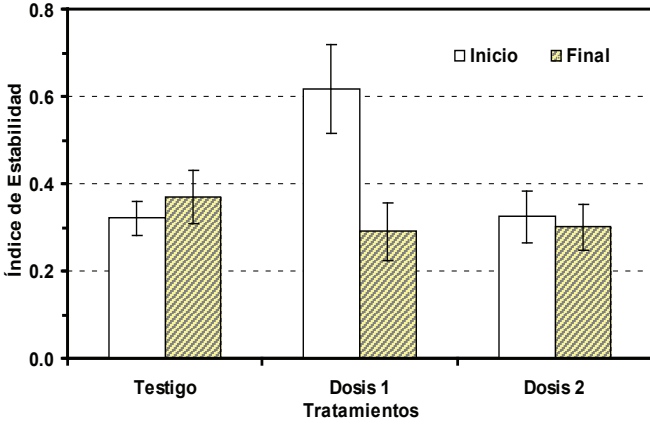


Figura 4. Índice de estabilidad estructural promedio para cada tratamiento al inicio y al final de la experiencia.

Análisis químicos del suelo

a. Contenido de materia orgánica, nitrógeno orgánico total, relación C/N y contenido de fósforo asimilable

Las variables químicas evaluadas no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($P > 0,05$) en ninguno de los casos. Las Figuras 5 a, b, c y d muestran los valores medios de MOS, nitrógeno orgánico, fósforo asimilable y relación C/N promedio, respectivamente, para cada tratamiento al inicio y al final de la experiencia.

Los valores observados de MOS luego de establecidos los tratamientos no difirieron estadísticamente entre sí. No obstante, se detectaron incrementos no significativos por efecto la aplicación de EMBiotic. El cambio observado en las medias para cada nivel de tratamiento fue de 16.6, 50.7 y 24.3%, respectivamente para Testigo, Dosis 1 y Dosis 2 (Figura 5a).

La cuantificación de la MOS es sumamente importante, ya que su contenido es indispensable para el mantenimiento de la micro y mesovida del suelo. Además, la bioestructura y toda la productividad del suelo se basan en la presencia de materia orgánica en descomposición (Primavesi, 1984).

En la Figura 5b se presentan los contenidos de nitrógeno orgánico del suelo (NOS) promedio para cada tratamiento al inicio y al final de la experiencia. Al igual que con las variables anteriores, no se observaron diferencias entre tratamientos. De todas maneras, sí fueron significativos los incrementos promedio observados en cada tratamiento entre el inicio y el final del experimento ($P < 0.05$). En este sentido, en la tabla 1 se presentan los incrementos de NOS en Testigo, D1 y D2, observándose cambios para cada tratamiento de 41.83, 101.22 y 68.62%, respectivamente (Tabla 1, Figura 5b).

Dichos incrementos observados permiten deducir que la actividad desarrollada por los microorganismos aumentó los niveles

de NO en un 60.2 y un 27.9%, para las Dosis 1 y 2, respectivamente (i.e. diferencia de los incrementos con relación al testigo).

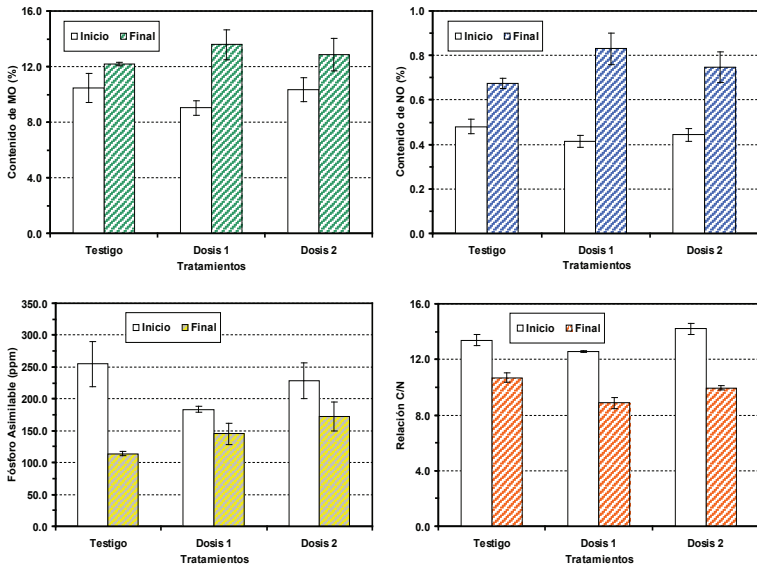


Figura 5. Contenido de materia orgánica, nitrógeno orgánico, fósforo asimilable y relación C/N promedio para cada tratamiento al inicio y al final de la experiencia.

El nitrógeno forma parte de la molécula de proteína sobre la cual se basa la vida, siendo un componente esencial del protoplasma de plantas, animales y microorganismos. En el suelo la mayor parte del nitrógeno se encuentra formando compuestos orgánicos, quedando disponible para las plantas a través del proceso de mineralización, cuando las formas orgánicas son convertidas a formas inorgánicas (amonio y nitratos) en las cuales participan los microorganismos (Palma y Segat, 2000).

Tabla 1. Valores de cambio promedio nitrógeno orgánico del suelo entre inicio y final del ensayo.

Tratamiento	Diferencia promedio (%)	
Dosis 1	101.22	a
Dosis 2	68.62	ab
Testigo	41.83	b

En la Figura 5c se presentan las concentraciones de fósforo asimilable (Pasim) promedio para cada tratamiento

en cada uno de los momentos de muestreo. No hubo diferencias significativas entre tratamientos para ninguno de los momentos. Sin embargo, el cambio observado para cada nivel de tratamiento entre el inicio y el final del ensayo mostró valores totalmente distintos para el Testigo y los dos niveles de agregado de microorganismos. Se observaron reducciones de 55.3, 20.8 y 24.7% para Testigo, Dosis 1 y Dosis 2, respectivamente (Figura 5c). El cambio generado en los niveles de P disponible luego de cosechado el cultivo puede atribuirse a una extracción exportada en el producto cosechado. Las menores caídas en esta variable para ambas dosis de producto podrían explicarse a una mayor actividad en los suelos con agregado de EMbiotic.

Es importante este resultado considerando que este elemento solo es aportado por el suelo, no es reciclado por lluvias ni por agentes atmosféricos, por lo que su continua extracción solo puede ser compensada por fertilización fosfatada y por la dinámica del fósforo orgánico, causando graves problemas medioambientales por contaminación de napas de agua y aguas superficiales (Heredia 2000).

El fósforo es un macro nutriente fundamental para la vida porque interviene en la transferencia metabólica de energía vía ATP, forma parte de los ácidos nucleicos, en los procesos de división celular, en el desarrollo de tejidos meristemáticos y reproductivos en los vegetales afectando al rendimiento de los cultivos. Por esto, puede decirse que sin fósforo es imposible la formación de MOS, controlando su ciclo y acumulación (Heredia, 2000).

En la Figura 5d se muestran los valores promedio de relación C/N, correspondientes a cada nivel de tratamiento, al inicio y al final del experimento. Los valores observados son resultantes de relacionar los contenidos de C y de N orgánicos, mostrados en los resultados anteriores, por lo tanto, las diferencias halladas tanto al inicio como al final de la experiencia son el resultado de los efectos combinados para cada variable. En este sentido, cabe aclarar que no hubo diferencias estadísticas significativas entre tratamientos para ninguno de los momentos estudiados. Para esta variable se observaron cambios de una magnitud de -20.0% para Testigo y de -29.7% promedio para las Dosis 1 y Dosis 2 (Figura 8).

La relación C/N es un buen indicador para determinar la actividad de un suelo. Se puede considerar que un suelo biológicamente activo presenta una baja relación C/N. Por el contrario, en los suelos biológicamente poco activos, la relación C/N permanece alta. Esta relación es característica de la microflora y en general, varía entre 8 y 10 en los suelos de alta actividad biológica (Conti, 2000; Porta Casanellas, 2003). En los suelos existen microorganismos nativos que cumplen sus funciones y, por lo tanto, la aplicación de microorganismos eficaces, que por sí solos son biológicamente activos, podría ser irrelevante en sus propiedades químicas. Sin embargo, las aplicaciones de EMbiotic en este experimento contribuyeron a incrementar los niveles de NOS y de P disponible.

Los valores de referencia para la Región Pampeana Húmeda (Tabla 2), distinguen que las características del suelo donde se

realizó el ensayo representan una fertilidad potencial óptima que se había detectado incluso antes de realizado el mismo.

Tabla 2. Valores de referencia de las principales propiedades químicas de un suelo estimados como valores normales para la Región Pampeana Húmeda

Propiedad	Valor de referencia
Materia Orgánica (%)	3,0 - 5
Carbono Orgánico (%)	1,7 - 2,9
Nitrógeno Orgánico (%)	0,2 - 0,3
Relación C/N	8 - 12
Nitratos (ppm)	> 70
Fósforo asimilable (ppm)	> 15

Fuente: Laboratorio del Instituto de Suelos, INTA Castelar.

Parámetros de Cultivo

a. Tamaño de plantas

En la Figura 6 se muestran el largo y el ancho promedio de hojas de lechuga cosechadas para cada tratamiento. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos para ninguna de las dos variables. El ancho promedio para Testigo, Dosis 1 y Dosis 2 fue de 24.3 cm, mientras que el largo de hoja promedio de los 3 niveles de tratamiento fue de 9.9 cm (Figura 6).

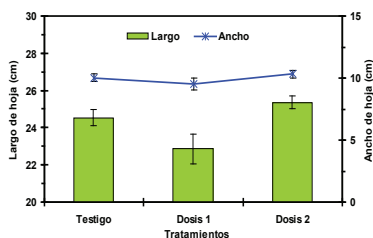


Figura 6. Largo y ancho promedio de hojas de lechuga cosechadas para cada tratamiento al final de la experiencia.

b. Partición aérea y subterránea y rendimientos

En la Figura 7 se muestra el peso promedio de plantas de lechuga cosechadas discriminando entre parte aérea (tallo) y subterránea (raíz) para cada tratamiento. El análisis estadístico no detectó diferencias estadísticamente significativas en estos parámetros ($P > 0.05$). Cabe aclarar que, aunque las dimensiones no mostraron ninguna tendencia, el peso de estas se vio incrementado en D1. Desde un punto de vista práctico esta observación cobra importancia al considerar que la dosis recomendada para la zona de estudio es la correspondiente a la dilución 1:1000 (Sakae Kinjo, comunicación personal).

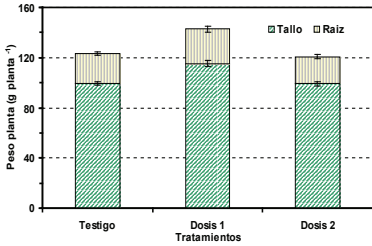


Figura 7. Peso promedio de plantas de lechuga cosechadas discriminado entre parte aérea (tallo) y subterránea (raíz) para cada tratamiento al final de la experiencia.

En la Figura 8 se muestran los rendimientos promedio para cada tratamiento. De acuerdo con la tendencia observada, se deduce que la dosis adecuada para pretender incrementos en el rendimiento de este cultivo sería la Dosis 1. Como se mencionó anteriormente, esta dosis es coincidente con la recomendada como óptima para la zona de 1:1000.

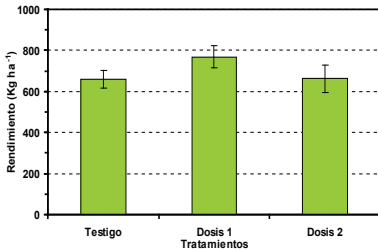


Figura 8. Rendimiento promedio de lechuga cosechada para cada tratamiento.

Comúnmente los efectos de EMbiotic sobre el rendimiento de un cultivo suelen observarse cuando se realizan tratamientos prolongados sobre el suelo donde se implanta el cultivo. Con la dosis adecuada para el cultivo y la región donde este se encuentre se observará un incremento

gradual a través del tiempo (Sangakkara *et al.*, 1999).

Los principales procesos que determinan la mejora en las variables de rendimiento son: aumento de germinación de las semillas, mejora de la formación del sistema radicular, estímulo de la capacidad fotosintética de las plantas (con aumento de clorofila y formación de proteínas) e incremento en la capacidad antioxidante de las plantas (Konoply y Higa, 1999).

c. Contenido de azúcar

En la Figura 9 se muestran los contenidos de azúcar promedio, indicados como índice Brix, en plantas de lechuga, cosechadas para cada tratamiento y contrastadas con plantas producidas de manera convencional. El análisis estadístico de la varianza y de comparación de medias arrojó como resultado diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$) (Figura 9). Los tratamientos con agregado de EMbiotic en ambas dosis no se diferenciaron entre sí y fueron significativamente mayores que los contenidos en Testigo y Convencional. A su vez, estos últimos fueron diferentes entre sí con mayores valores del tratamiento Testigo (Figura 9).

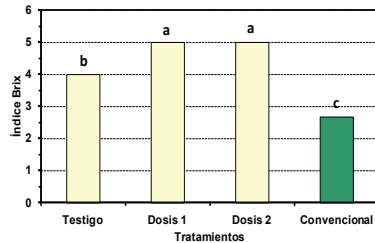


Figura 9. Contenido de azúcar promedio de plantas de lechuga cosechadas para

cada tratamiento al final de la experiencia, indicado como índice Brix.

(Xu *et al.*, 2000).

Pruebas sensoriales

Tal como se mencionó con anterioridad, parte de los componentes principales de EMbiotic lo constituyen las bacterias fotosintéticas, que en la rizósfera sintetizan azúcares aprovechables por las plantas. En principio, los azúcares son resultado de la fotosíntesis, pero también son resultado de la buena nutrición de la planta. De esta manera, las plantas que no reciben ningún tratamiento no producen mucho azúcar por falta de nutrición (Soriano *et al.*, 1998). Por el contrario, con EMbiotic, si el suelo tiene un poco de material orgánico, los microorganismos ponen los azúcares a disposición de la planta y, por este motivo, esta se encuentra mejor nutrida que aquellas que no recibieron tratamiento quedando los nutrientes atrapados en la MOS (Yue *et al.*, 2000). Con el uso de abono químico, como en el caso de las lechugas convencionales, los niveles de sal en la planta hacen que absorba más agua y así la savia se encuentra menos concentrada

Para las pruebas de degustación en las que se evaluó el conjunto de factores organolépticos más relevantes para el consumidor, el análisis estadístico no detectó diferencias significativas entre tratamientos. En la Figura 10 se aprecia que en las variables Apariencia y Aceptabilidad los jueces tendieron a preferir las plantas tratadas con Dosis 2, mientras que en el resto de las variables la tendencia es preferir aquellas plantas que no recibieron tratamiento alguno.

Estos dos parámetros fueron evaluados con una puntuación comprendida entre los valores 1 y 9 (siendo 1 equivalente a “Me disgusta extremadamente”; 2, “Me disgusta mucho”; 3, “Me disgusta moderadamente”; 4, “Me disgusta levemente”; 5, “No me gusta ni me disgusta”; 6, “Me gusta levemente”; 7, “Me gusta moderadamente”; 8, “Me gusta mucho” y 9 “Me gusta extremadamente”).

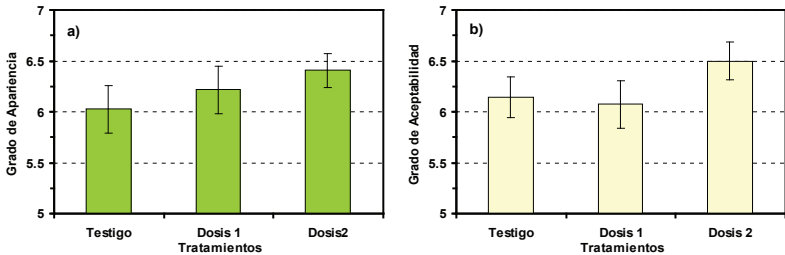


Figura 10. Grado de apariencia y de aceptabilidad promedio de plantas de lechuga para cada tratamiento al final de la experiencia.

En las Figura 14 a, b, c y d se presentan los cuatro parámetros relacionados a color, sabor, olor y textura, respectivamente.

Dichos parámetros fueron evaluados en un rango cuyos límites se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Significado de la intensidad percibida para cada parámetro de evaluación sensorial en una escala de 13 cm. Fuente: Wittig de Penna, 2001.

Propiedad	Límite inferior	Límite superior
Color	Levemente amargo	Intensamente amargo
Sabor	Claro	Oscuro púrpura
Olor	Insípido	Fuerte aroma
Textura	Suave	Áspera

Como se expuso con anterioridad, no se encontraron diferencias entre tratamientos para ninguna de las variables (Figura 11). Cada una de estas características difiere para cada fruta u hortaliza, variando incluso entre variedades de la misma especie, haciendo de la evaluación sensorial una tarea compleja, por lo que suelen realizarse mediante paneles de prueba específicamente entrenados (Wittig de Penna, 2001).

Dependiendo de diferentes factores como el tiempo y las condiciones de conservación o almacenamiento (i.e. temperatura, humedad) las propiedades organolépticas se verán afectadas (Tabla 4), ya que están directamente influenciadas por su tasa de respiración y por la actividad bioquímica asociada a la senescencia, donde bajas tasas respiratorias se asocian a una mayor vida en postcosecha (Ballantyne *et al.*, 1988). Las lechugas se caracterizan por una intensa actividad metabólica durante la vida en postcosecha y las características organolépticas están relacionadas con la temperatura de almacenaje (Namesny, 1993).

Las plantas de lechuga objeto de esta

evaluación fueron conservadas a 4 °C durante 7 días, lo que, de acuerdo con la tabla 4, explicaría el bajo valor promedio para los parámetros "Apariencia y Aceptabilidad", ya que a esa temperatura el tiempo de conservación es de 6 días. Aunque visualmente no se observó deterioro de las plantas, su sabor pudo verse afectado.

Tabla 4. Duración de la vida post-recolección de la lechuga en función de la temperatura de conservación. Fuente: Wacquand Le Bohec (1982); Citado Por Namesny (1993).

Temperatura (°C)	20	16	8	4	2	1	0
Duración del almacenaje (días)	1	2	4	6	8	10	12

Las hortalizas que se comercializan en nuestro país provienen principalmente de cultivos convencionales, afectados por abonos y fertilizantes químicos. Los consumidores, ya acostumbrados a estos productos de huerta, desconocen el sabor real de los vegetales (Okada, 1949). El jurado que evaluó las características en forma subjetiva y comparativa estaba

integrado por jueces no entrenados. Por esta razón, las pequeñas diferencias que ellos pudieron haber detectado en estas plantas

de misma especie y variedad, podrían haber significado relevantes para un panel de jueces especialmente entrenados.

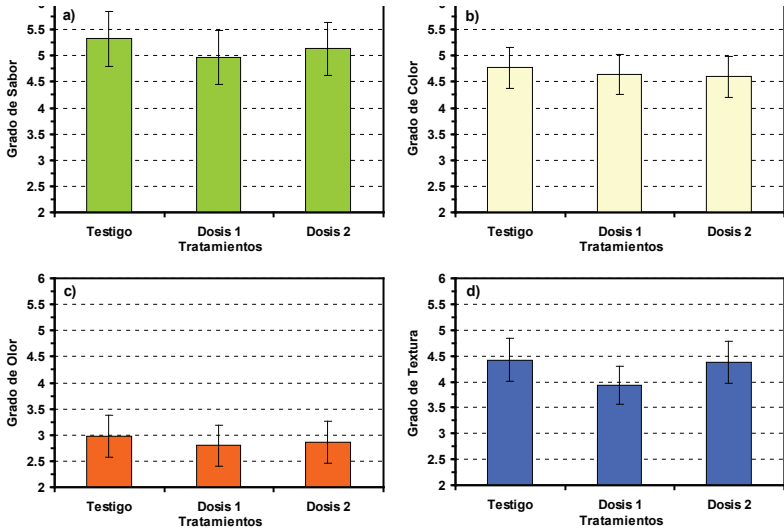


Figura 11. Grado de sabor (a), color (b), olor (c) y textura (d) promedio de plantas de lechuga para cada tratamiento al final de la experiencia. Los valores son expresados de acuerdo con una escala arbitraria asignada por un panel de jueces.

Correlaciones. Contenido de azúcares, grado de apariencia y de aceptabilidad

La figura 12 muestra una alta correlación positiva entre el contenido de azúcares y grado de apariencia y aceptabilidad. En este sentido, el incremento de azúcar aumenta proporcionalmente el grado de aceptabilidad y de apariencia. La aceptabilidad se encuentra afectada por cuestiones socioculturales, y se pone de manifiesto cuando el consumidor prefiere comprar un producto en lugar de otro. En el caso de las lechugas y otras hortalizas de hoja, lo hace a través de la apariencia,

donde influye mucho el color de la planta (Wittig de Penna, 2001). En este sentido, las plantas tratadas con EMBiotic mejoraron su capacidad fotosintética, incrementando la actividad en sus cloroplastos al tener mayor conductancia estomatal y asimilación de dióxido de carbono (Yue *et al.*, 2000). Debido a que los azúcares son el producto de la fotosíntesis, al incrementar la capacidad fotosintética incrementaron también la producción de azúcares (Figura 12) (Soriano *et al.*, 1998).

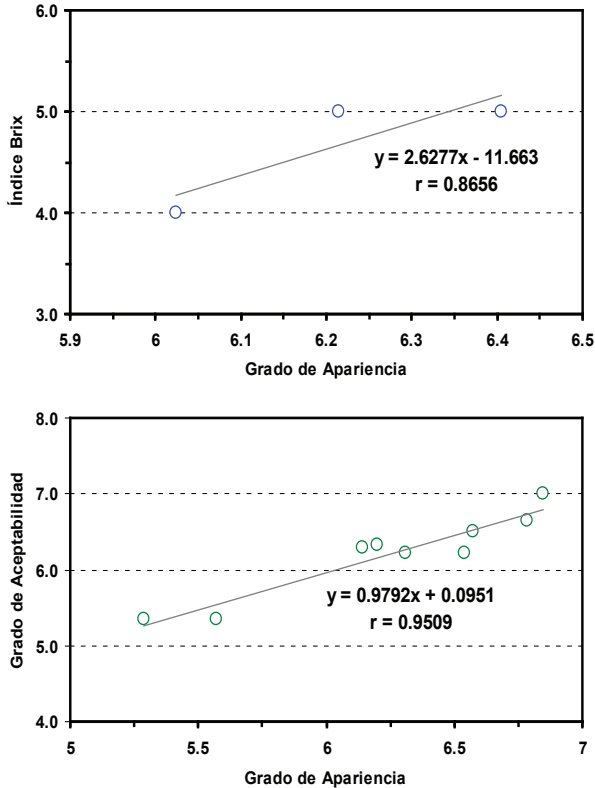


Figura 12. a) Correlación entre el índice Brix y el grado de aceptabilidad. b) Correlación entre el grado de aceptabilidad y el grado de apariencia de plantas de lechuga observado para cada tratamiento.

CONSIDERACIONES FINALES

Aunque los resultados de los análisis estadísticos en los parámetros evaluados de mayor interés (fertilidad química, propiedades físicas del suelo y rendimiento) no detectaron diferencias significativas, se observaron tendencias con valor agronómico, especialmente teniendo en cuenta que hay diferentes formas de aplicación de EMbiotic para obtener cada

uno de los cambios buscados. De esta manera, la densidad aparente disminuyó y la estabilidad estructural mejoró en las parcelas tratadas con Dosis 1 (1:1000) de EMbiotic. Se observaron importantes incrementos en el contenido de materia orgánica y nitrógeno orgánico, y menor extracción de fósforo en esas mismas parcelas y, además, se apreció una

disminución de la relación C/N para las parcelas tratadas con el probiótico.

Aunque el tamaño de las plantas no cambió, se obtuvo mayor rendimiento con Dosis 1, aunque no significativo. En el año 1949, Mokichi Okada hacía referencia al pequeño tamaño de las plantas cultivadas por el método de Agricultura Natural comparadas al tamaño de plantas de lechugas encontradas en los comercios, resultado de Agricultura Convencional. Él explicaba que estas últimas son de mayor tamaño por haber sido fertilizadas químicamente, no obstante, las plantas producidas bajo Agricultura Natural conservan su sabor intrínseco, no disminuyen su tamaño al ser cocidas y son más nutritivas. Esto último pudo corroborarse en el presente experimento al obtener resultados estadísticamente significativos al comparar el contenido de azúcar en lechugas tratadas, no tratadas y convencionales, resultando las lechugas tratadas más nutritivas que las otras. Con respecto a la evaluación sensorial realizada, los resultados del análisis estadístico no detectaron diferencias significativas, de todas maneras, se observó que en las variables Apariencia y Aceptabilidad los jueces tendieron a preferir las plantas tratadas con Dosis 2.

CONCLUSIONES

Para las condiciones planteadas en este experimento, con un solo ciclo de cultivo evaluado, se concluye que el tratamiento con microorganismos eficaces no mejora la fertilidad química y las propiedades físicas del suelo. Sin embargo, se observaron cambios que demuestran que la

aplicación del producto tiende a mejorar las propiedades fisicoquímicas del suelo.

El rendimiento y otros parámetros productivos del cultivo de lechuga no se incrementan por efecto del uso de microorganismos eficaces. De todas maneras, las plantas de lechuga que recibieron tratamiento con EMBiotic acumularon más carbohidratos que plantas no tratadas y que plantas obtenidas por el método de Agricultura Convencional.

BIBLIOGRAFÍA

- Amma, A.; N. Francescangeli; H. Marti; M. Mitidieri; A. Mitidieri *et al.* 2005. Plan Tecnológico Regional 2006-2008. Informe Diagnóstico de Situación. Cadena Hortícola. Ediciones INTA.
- Ballantyne, A. Stark, R. y Selman, J. 1988. Modified Atmosphere Packaging of Shredded Lettuce. *International Journal of Science and Technology*. FRANCIA. 23: 267-274.
- Sakae Kinjo. 2010. Comunicación Personal. Fundación Mokichi Okada.
- Conti, M. 2000. Principios de Edafología. (2ª ed.). Buenos Aires. FACULTAD DE AGRONOMIA. 430 p.
- Garzón C. 2009. La Importancia del Probiótico en una solución de Microorganismos Benéficos y Probióticos. Actas 1º Encuentro latinoamericano de Agricultura Natural. Huachipa, Perú.
- Heredia, O.S. 2000. Principios de Edafología. Fósforo. 2ª Ed. Buenos Aires: FACULTAD DE AGRONOMÍA. Pág. 430.
- Higa, T. 1991. Actas Centro Internacional de Investigación de Agricultura Natural. Meryland, Estados Unidos. Traducido por P. A. Rueda Peña. 13

- p.
- Kinjo, S. 2009. Microbiología y EMBIOTIC. Actas 1º Encuentro Latinoamericano de Agricultura Natural. Huachipa, Perú.
 - Konoplya, E.F. and Higa, T. 1999. Mechanisms of EM-1 Effect on the Growth and Development of Plants and its Application in Agricultural Production. 6th International Kyusei Nature Farming Conference. SOUTH AFRICA.
 - Lamas, M. y Moreno, G. 2000. Principios de Edafología. Densidad del Suelo. 2ª Ed. Buenos Aires: FACULTAD DE AGRONOMÍA. Pág. 430.
 - Mate Jiménez, C. y Hoyos N.O. 1995. Curso general sobre estadísticas, Tomo II. Madrid: UNIVERSIDAD PONTIFICIA DE CANILLAS. 615-1011.
 - Namesny, A. 1993. Post-recolección de Hortalizas. España: EDITORIAL DE HORTICULTURA, S.L. 330 Pág.
 - Nishio, M. 1998. Utilization of Effective Microorganisms for Agriculture and Their Industrial Potential. Farming Japan Vol. 32 – 4, 1998. 62 pág.
 - Okada, M. 1949. La Otra Faz de la Dolencia. Cultivos Sin Fertilizantes. Atami, Japón: SEKAI KYUSEI KYO. 216 pág.
 - Otta, H. y Kinjo, S. 2009. La Tecnología EM biotico y Experiencias del Uso de EMBIOTIC en Brasil. Actas 1º Encuentro Latinoamericano de Agricultura Natural. Huachipa, Perú.
 - Palma, R. M. 2000. Principios de Edafología. Estructura. 2ª Ed. Buenos Aires: FACULTAD DE AGRONOMÍA. Pág. 430.
 - Palma, R.M. y Segat, A.L. 2000. Principios de Edafología. Nitrógeno del Suelo. 2ª Ed. Buenos Aires: FACULTAD DE AGRONOMÍA. Pág. 430.
 - Primavesi, A. 1984. Manejo ecológico del suelo (5ª. ed.). Buenos Aires: EL ATENEO. 500 pág.
 - Porta Casanellas, J. 2003. Capítulo 8: Componentes orgánicos del suelo. En: Edafología para la Agricultura y el medioambiente. (Ed. J. Porta Casanellas, M. López-Acevedo Regerín y C. Roquero de Laburu. 3º Edición. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 929 p.
 - Sangakkara, U.R. Nissanka, S.P. Weerasekera, P. and Higa, T. 1999. Crop Yields and Soil Organic Matter as Affected by Kyusei Nature Farming and EM Technology. 6th International Kyusei Nature Farming Conference. SOUTH AFRICA.
 - Soriano, A. Hall, A.J. Sánchez, R.A. Carceller, Lemcoff. J.H. Trápani, N. y De Miguel, L. 1998. Fisiología Vegetal. Vol. III. Buenos aires: C.E.A.B.A. 123 p.
 - Wittig de Penna, E. 2001. Evaluación Sensorial, Una Metodología Actual para Tecnología de Alimentos. Chile: EDICIÓN DIGITAL. 99 ppág.
 - Xu, H.L. Wang, R. Mridha, M.A.U. Kato, S. Katase, K. and Umemura, H. 2000. Effects of Organic Fertilizers and EM Inoculation on Leaf Photosynthesis, Fruit Yield and Quality of Tomato. International Nature Farming Research Center. Nagano, JAPÓN. 390-1401.
 - Yue, S. S. Wang, C. P. Xu, H.L. and Dai, J.Y. 2000. Effects of Foliar Application with Effective Microorganisms on Leaf Metabolism and Seed Yield in Soybean. International Nature Farming Research Center. Nagano, JAPÓN. 390-1401.