



FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA

Tesina presentada para obtener el grado académico de INGENIERO EN RECURSOS NATURALES Y MEDIO AMBIENTE

"EFECTO DEL AGREGADO DE UN BIODERMA ALGAL CON PREDOMINIO DE Nostoc commune SOBRE LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE Lactuca sativa L."

BOUCHE LAURA ANTONELLA

SANTA ROSA (LA PAMPA)

ARGENTINA

Prefacio:

Esta Tesina es presentada como parte de los requisitos para optar al grado Académico de

Ingeniero en Recursos Naturales y Medio Ambiente, de la Universidad Nacional de La

Pampa y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta

Universidad ni en otra Institución Académica. Se llevó a cabo en la ciudad de Santa Rosa,

durante el período comprendido entre el 30 de Noviembre de 2015 y el 1 de Agosto de

2016, bajo la dirección de la Dra. Bazán, Graciela Inés y bajo la codirección del MSc.

Siliquini, Oscar.

Agosto de 2016

Autor: BOUCHE LAURA ANTONELLA

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA

Agradecimientos:

- A la Universidad Nacional de La Pampa, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Facultad de Agronomía por formarme como profesional.
- A mi directora, Graciela Bazán y a mi codirector, Oscar Siliquini por su apoyo, predisposición y paciencia.
- Al jurado de esta tesis María José Galea y Susana Alvarez por sus correcciones.
- A Abel Parodi, Mirta Castaño y Sofía Larroulet por su ayuda en el laboratorio.
- Al Cata por prestarme elementos necesarios para el desarrollo de esta tesis.
- A mis padres, por apoyarme incondicionalmente, ser mi sostén en todos estos años y por impulsarme a crecer y ser cada día mejor persona.
- A mi hermana, porque a pesar de la distancia siempre estuvimos cerca.
- A mis amigos y compañeros de facultad por hacer ameno este camino y porque sin ellos nada hubiese sido lo mismo.
- A mis amigos de siempre por alentarme, por sus consejos y compañía en la distancia.

RESUMEN

La necesidad de proteger el medio ambiente, disminuir la dependencia de productos químicos artificiales provenientes de energías fósiles y que alteran las propiedades del suelo, ha incrementado el número de agricultores que desean usar abonos orgánicos. Dentro de estos abonos, una opción son las cianobacterias o algas verdeazuladas, microorganismos procariotas fotosintéticos que suelen encontrarse formando biodermas algales.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del agregado de un bioderma algal, con predominio de la cianobacteria fijadora de nitrógeno *Nostoc commune* Vaucher ex Bornet & Flahaut, sobre la germinación de semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L. tipo crispum var. Grand Rapid) y el crecimiento de las plántulas, partiendo de la hipótesis que dicha aplicación resultará beneficiosa para las variables analizadas respecto al control. Se probaron en invernadero cuatro tratamientos: tres agregando al suelo **I**) bioderma algal; **II**) urea (aproximadamente 100kg/ha); **III**) bioderma algal + urea y un cuarto tratamiento como **IV**) control. El agregado del bioderma algal favoreció la germinación de semillas de lechuga y permitió obtener incrementos en la mayoría de las variables medidas en los plantínes de lechuga respecto al control. Se observó un incremento en el contenido de materia orgánica del 81,7% y 69,2% para los tratamientos I y III respectivamente, en función del contenido inicial de materia orgánica del suelo utilizado en el ensayo. En algunas variables medidas en las plántulas de lechuga la aplicación combinada (bioderma algal + urea) fue más efectiva que la aplicación individual del bioderma.

ABSTRACT

The need to protect the environment and reduce the dependence on chemical products from fossil fuels that alters soil properties has increased the number of farmers who want to use organic fertilizers. Within these fertilizers, cyanobacteria or blue-green algae (photosynthetic prokaryotic microorganisms commonly found forming algal bioderma) is an option.

Four treatments were tested in greenhouse in order to check the effect of adding an algal bioderma with predominance of nitrogen fixing cyanobacterium *Nostoc commune* Vaucher ex Bornet & Flahaut, on the germination of lettuce seeds (*Lactuca sativa* L. var. crispa var. Grand Rapid) and seedling growth: three adding to the ground I) bioderma algal; II) urea (about 100kg/ha); III) bioderma algal + urea and a fourth treatment as IV) control. The addition of algal bioderma increased seed germination of lettuce and most of the variables measured in lettuce seedlings compared to control. An increase in the organic matter content of 81.7% and 69.2 % for treatments I and III respectively were also observed compared with the initial content of organic matter in the soil used in the assay. Combined application (bioderma algal + urea) was even more effective than the individual application of bioderma in some variables measured in lettuce seedlings.

<u>ÍNDICE</u>

INTRODUCCION	1
Objetivos e hipótesis	5
MATERIALES Y MÉTODOS	6
Ubicación del área de estudio	6
Descripción del área de estudio	7
Características climáticas	7
Características del suelo	8
Colecta del bioderma algal	8
Identificación de los diferentes taxa	9
Características del ensayo y diseño del muestreo	9
Primer ensayo	10
Segundo ensayo	11
Bandejas de germinación	12
Riego	13
Determinación del poder germinativo	13
Determinaciones en el cultivo	13
Muestreo de suelo y determinaciones de laboratorio	14
Análisis estadístico	15
RESULTADOS Y DISCUSION	16
Identificación de taxa algales	16
Germinación de semillas de Lactuca sativa	17
Primer Ensayo	20
Altura de la planta, longitud de la raíz y longitud total	20
Peso fresco aéreo, peso fresco raíz y peso fresco total	22
Peso seco aéreo, peso seco raíz y peso seco total	24
Materia Orgánica (MO)	25
Área foliar	27
Contenido de N en suelo	28
Relación C/N	29
рН	30
Segundo Ensayo	31
Peso fresco de parte aérea, de raíz y total; altura de la planta,	, longitud de la
raíz y total; peso seco de parte aérea, raíz y total; área foliar .	31

Número de hojas	32
Índice de verdor	33
Bandejas de germinación	34
CONCLUSIONES	35
BIBLIOGRAFÍA	37
ANEXOS	43

INTRODUCCIÓN

La creciente necesidad de abastecimiento de productos agrícolas para la alimentación y transformación en bienes de consumo por parte de la sociedad moderna ha suscitado un inmenso desarrollo de actividades agrícolas en las últimas décadas (Carvajal Muñoz y Mera Benavides, 2010). El uso intensivo del suelo y la ausencia de períodos de descanso en los sistemas productivos condujo a la degradación y pérdida de fertilidad de las tierras. Un ambiente infértil dificulta la producción de nuevos cultivos, debido a que las plantas se vuelven más vulnerables a enfermedades y como consecuencia la producción agrícola disminuye en cantidad y calidad.

Como consecuencia se incrementó el uso de fertilizantes para cubrir las necesidades de nutrientes demandadas por los cultivos. Para el período 2010/2011 el consumo global de fertilizantes fue de 172,2 Megatoneladas (Mt), y las perspectivas agrícolas de mediano plazo proyectan un incremento en la demanda mundial para 2016/2017, alcanzado las 192,8 Mt. Las tasas de crecimiento más altas se encuentran en regiones con agricultura en recuperación como Europa del Este, Asia Central y Oceanía, y en regiones con gran potencial para incrementar la producción agrícola como América Latina y África. Los incrementos en la demanda se proyectan para los tres nutrientes principales, mostrando tasas anuales de crecimiento promedio de 1,3% para el N, 2,1% para P y 2,8% para K (Heffer y Prudhomme, 2012).

Además del incremento en el uso de fertilizantes, es importante tener en cuenta su composición. Se han venido utilizando fuentes de nitrógeno químico como urea, nitrato de amonio y sulfato de amonio, sin tomar en cuenta que el uso continuo e inadecuado de estos fertilizantes inorgánicos se vuelve más perjudicial que beneficioso. La necesidad de los agricultores de utilizar y depender cada vez más de la aplicación de fertilizantes químicos para suplir los nutrientes necesarios para sus cultivos, trajo aparejado el agravante de que estos mismos productos contribuyen aún más al deterioro antes mencionado, acidificando el suelo, disminuyendo la flora microbiana y contaminando las fuentes de agua (Almeida, 2014).

La necesidad de proteger el medio ambiente e incrementar y mantener la fertilidad del suelo, ha aumentado el número de agricultores que desean usar abonos orgánicos (Vega Ronquillo *et al.*, 2009). La búsqueda de alternativas más sostenibles en el tiempo está impulsada por la necesidad de disminuir la dependencia de productos químicos artificiales provenientes de energías fósiles y que alteran las distintas propiedades del suelo. Es por ello que surge la necesidad de poner en evidencia los beneficios generados por el uso de abonos

orgánicos como fertilizantes alternativos y mejoradores de las propiedades de los suelos (Rebollo, 2014).

La fertilización biológica se basa en la utilización de insumos naturales (ej. abonos, restos de descomposición de materia orgánica, excesos de cosechas, aguas residuales domésticas, estiércol animal y microorganismos como hongos, bacterias) para mejorar la fijación de nutrientes en la rizosfera, producir estimulantes de crecimiento para las plantas, mejorar la estabilidad del suelo, facilitar el control biológico, biodegradar sustancias, reciclar nutrientes, favorecer la simbiosis micorrizal, desarrollar procesos de bioremediación en suelos contaminados con sustancias tóxicas, xenobióticas, recalcitrantes (Carvajal Muñoz y Mera Benavides, 2010).

La incorporación de los abonos, modifica favorablemente las características físicas del suelo, como estructura, porosidad, aireación, capacidad de retención de agua, infiltración, conductividad hidráulica, y estabilidad de los agregados. Las propiedades químicas del suelo también varían, entre ellas se pueden mencionar, el incremento en el contenido de materia orgánica, en el porcentaje de nitrógeno total y en la capacidad de intercambio catiónico. Otra característica importante, es el incremento de la actividad biológica, debido a que los abonos orgánicos, aportan compuestos de fácil descomposición que, sumado a una mejora en la aireación y oxigenación del suelo, conducen a una mayor actividad radicular y de los microorganismos aerobios. Estas mejoras en las condiciones físicas, químicas y biológicas del suelo ejercen efectos directos en el crecimiento de las plantas (Cervantes Flores, 2004).

Entre los insumos anteriormente mencionados, factibles de ser utilizados como abonos orgánicos se encuentran las cianobacterias o algas verdeazuladas, que en este trabajo se adhieren al suelo contenidas en biodermas algales. La palabra bioderma fue utilizada por L. Léger (1932) para denominar la capa viva o estrato biológico que recubre como una película resbaladiza las piedras y a veces el fondo de los arroyos, ríos de montaña, y también se encuentra sobre la superficie del suelo y hasta unos pocos milímetros de profundidad. Está formado por una microflora que abarca diversos grupos algales, principalmente algas azules o Cyanophyta (Halperín *et al.*, 1976), y su importancia ecológica ha sido señalada por diversos autores. No sólo consolidan los agregados del suelo y estabilizan la superficie, principalmente mediante la producción de polisacáridos extracelulares (Molope *et al.*, 1985; Burns y Davies, 1986), sino que con su aporte constantemente renovado de materia orgánica contribuyen a acrecentar el monto total de nitrógeno del suelo, más aun si en dichos biodermas intervienen

especies fijadoras de nitrógeno molecular (Halperín, 1969). Además de beneficiar a las plantas superiores mediante la liberación extracelular de compuestos nitrogenados, las cianobacterias pueden hacerlo liberando ciertas sustancias bioestimulantes (Svircev *et al.*, 1997). Ésta característica ha sido señala por varios autores, quienes han detectado la liberación de vitaminas, hormonas, polisacáridos y diversos aminoácidos en distintas especies de cianobacterias (Gupta y Lata, 1964; Venkataraman y Neelakantan, 1967; Dadhich, *et al.* 1969; Gupta y Gupta, 1973; Mehta y Vaidya, 1978).

Las cianobacterias son microorganismos procariotas fotosintéticos, cuya morfología y, en cierta medida, el metabolismo de los diversos géneros varía mucho. Pueden crecer en hábitats muy diversos, desde sitios con temperaturas bajo cero como hielos árticos, hasta manantiales geotérmicos con temperaturas superiores a los 50°C. Muchos géneros pueden crecer en la superficie de los suelos de clima templado, donde a menudo son visibles como una fina corteza verdosa sobre el suelo (Rodgers *et al.*, 1979). Ciertas especies son capaces de fijar nitrógeno atmosférico, como es el caso de la cianobacteria objeto de estudio en el presente trabajo, *Nostoc commune*.

Nostoc es una de las cianobacterias más complejas, presentando formas de crecimiento colonial y multicelular además de células especializadas para la fijación de nitrógeno y para la reproducción. Estas adaptaciones, entre otras, probablemente la conviertan en uno de los géneros de cianobacterias más exitosas. Interacciona simbióticamente con una variedad de plantas, pero además las plantas que crecen en un área con una cantidad significativa de Nostoc de vida libre, se pueden beneficiar del nitrógeno liberado por la cianobacteria (Dodds et al., 1995). Existen numerosas publicaciones en las que se destaca este efecto positivo, no sólo para esta especie, sino también para otras especies de cianobacterias.

Ansín et al. (2002) evaluaron la posible relación positiva entre la presencia de Nostoc commune y la germinación y emergencia de Hordeum pusillum y también los efectos que dicha alga tiene sobre las propiedades físico-químicas del suelo en la Pampa Deprimida. Se concluyó que efectivamente la presencia del alga favorece dichos procesos y que esta acción sobre la vegetación estaría asociada a cambios en las propiedades de los suelos, ya que se detectaron mejoras en las áreas en las predominó Nostoc commune en el contenido de Nitrógeno, Carbono, materia orgánica, entre otros.

Zaccaro de Mulé *et al.*, (1999) compararon el efecto producido por el agregado de *Nostoc muscorum* y *Tolypothrix tenuis* (individualmente o combinados con urea) en un suelo

cultivado con arroz, teniendo en cuenta la condiciones estructurales y nutricionales del suelo luego de la cosecha y el efecto de los distintos tratamientos sobre las plántulas. Los tratamientos no tuvieron efecto sobre el porcentaje de germinación de las semillas de arroz, salvo el tratado con *Nostoc muscorum*, que produjo 47% de inhibición. Además este tratamiento, comparado con el control produjo un incremento en el Carbono oxidable, Carbono soluble y Nitrógeno total.

Dadhich *et al.* (1969) evaluaron el efecto de la inoculación del suelo con *Calothrix anomala* sobre dos cultivos: chilli y lechuga. Se observó un efecto positivo en términos de rendimiento y porcentaje de nitrógeno respecto al control. A su vez, la aplicación combinada de urea (44.84 kg N/ ha) y la cianobacteria fue más efectiva que la aplicación individual de cada uno de ellos.

La lechuga es una hortaliza de hoja de consumo masivo en el mundo. Es un cultivo anual, con un ciclo de producción que oscila de 40 a 120 días, en función de los cultivares y de la estación de cultivo (Baudino *et al.*, 2014). Se encuentra dentro de las más cultivadas por su rentabilidad bajo cubierta, aumentando de esta manera su calidad comercial, ya que se obtienen plantas sanas, limpias, tiernas y grandes y se permite una continuidad de producción durante todo el año, no sólo por el mayor rendimiento sino también por el acortamiento de su ciclo productivo.

El cultivo de lechuga requiere de suelos ligeros, con buenos contenidos de materia orgánica y capacidad de retención de agua. Asimismo con un buen drenaje y adecuada estructura, de modo de permitir el óptimo desarrollo de su sistema radicular. El pH ideal se encuentra en el rango de 6,6 a 7,8 (Balcaza, 2000), y es poco tolerante al exceso de sales, produciendo una disminución en los rendimientos. Sainato *et al.* (2006), sostienen que cuando la conductividad eléctrica (CE) del agua de riego es de 0,9 dS m⁻¹y la CE del suelo en saturación es de 2,7 dS m⁻¹se obtienen rendimientos óptimos. En cambio, cuando los respectivos parámetros ascienden a 2,1 y 6,3 dS m⁻¹ su rendimiento decae un 25 %. En general, la conductividad eléctrica del agua de riego para lechuga debería mantenerse en valores menores a 1,5 dS m⁻¹ya que con una CE de 0,9 dS m⁻¹el rendimiento potencial del cultivo es del 100 % y del 90 % para CE de 1,4 dS m⁻¹.

En la provincia de La Pampa, la producción hortícola representó históricamente una actividad de escasa importancia, pero en los últimos años se ha incrementado el cultivo poco a poco y en forma sostenida, tanto bajo cubierta como al aire libre (Siliquini *et al.*, 2001;

Siliquini y Mendoza, 2008). Según un informe elaborado por la Unión Industrial Argentina (2008), convocada por el Ministerio de Ciencia, Tecnología e innovación productiva de la Nación, en nuestra provincia encontramos una superficie cultivada total de aproximadamente 60 ha a campo y 33.200 m2 bajo cubierta. El 55 % bajo cubierta se utiliza para la producción de lechuga (35%), acelga (19%) y espinaca (2%). En la campaña 2010-2011, resultado del Censo Hortícola Provincial, se observa un incremento respecto del Censo 2007 en la producción total de lechuga (30% del total de hortalizas producidas) y en su producción bajo cubierta (88% de la producción total de lechuga, correspondiendo el restante 12% a producción a campo) (Muguiro *et al.*, 2013).

Por último, es necesario destacar que en nuestra provincia si bien el uso de abonos es una práctica común en los emprendimientos hortícolas, tanto la elección del mismo como su dosis se realizan de acuerdo al propio criterio del productor, en el cual influyen la disponibilidad, costo y tradición de uso de los abonos (Rebollo, 2014).

<u>OBJETIVOS E HIPÓ</u>TESIS

En base a lo expuesto, el **objetivo** de este trabajo es evaluar el efecto del agregado de un bioderma algal, con predominio de la cianobacteria fijadora de nitrógeno *Nostoc commune*, sobre la germinación de semillas de *Lactuca sativa* L. tipo crispum var. Grand Rapid y sobre el crecimiento de las plántulas, partiendo de la **hipótesis** que dicha aplicación resultará en una mejora en las variables analizadas respecto al control.

A partir de los resultados obtenidos, se espera contribuir a mejorar el conocimiento respecto a los beneficios que brindan las cianobacterias fijadoras de nitrógeno, y un aporte al manejo inicial del plantín de lechuga teniendo en cuenta un concepto agroecológico, ya que en nuestro país es poca la bibliografía disponible sobre esta temática.

Se plantean como **objetivos específicos:**

- 1. Identificar las taxa que se encuentran acompañando a *Nostoc commune* en el bioderma algal a utilizar.
- 2. Realizar determinaciones específicas en el cultivo de lechuga: número de hojas, área foliar, índice de verdor, altura del plantín, desarrollo radicular, y pesos frescos y secos de planta entera, parte aérea y radicular.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del área de estudio

El estudio se llevó a cabo en la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de La Pampa (UNLPam), ubicada en el km 334 de la Ruta Nacional Nº 35, a 7 km al norte de la Ciudad de Santa Rosa (Vergara y Casagrande, 2002), en el departamento Capital de la provincia de La Pampa (Figura 1). Éste junto con los departamentos Realicó, Trenel y parte de Conhelo, pertenece a la Región Fisiográfica Oriental, Subregión de las planicies con toscas (Cano *et al.*, 1980).

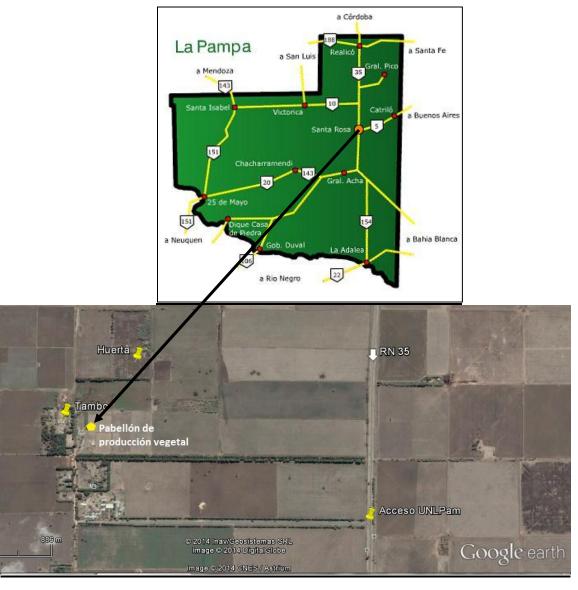


Figura 1. Ubicación del área de estudio.

Descripción del área de estudio

Características climáticas

El área agrícola de la provincia de La Pampa se extiende al Este de la isoyeta de 500 mm de precipitación media anual coincidiendo con la región Región Semiárida Pampeana Central (RSPC), comprendida entre las isoyetas de 850 y 600 mm., donde el régimen de precipitaciones es con tendencia monzónica, concentrándose en el semestre más cálido que va de Octubre a Marzo (Roberto *et al.*, 1994). La distribución estacional de las precipitaciones es de: 36,5 % en verano, 26 % en otoño, 9% en invierno y 28,5 % en primavera (Fernández y Casagrande, 1998).

El área de la provincia de La Pampa que comprende la RSPC se caracteriza por presentar régimen térmico de tipo templado (temperatura media anual entre 14 y 16°C) con gran amplitud térmica anual. Como se observa en el Gráfico 1, el verano está representado por el valor medio del mes más caliente (enero con una temperatura de 24°C) y el invierno por el mes más frío (julio con una temperatura de 8°C) (Casagrande y Vergara, 1996). Los vientos predominantes tienen una dirección Nor-Noreste y Sur-Suroeste.

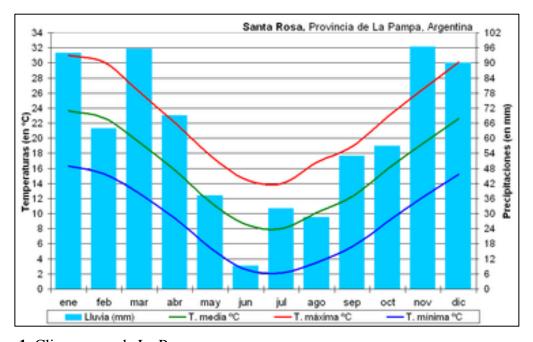


Gráfico 1. Climograma de La Pampa.

Características del suelo

Los suelos, considerados relativamente homogéneos, son predominantemente Haplustoles énticos con fases por pendiente y espesor hasta la tosca (Cano *et al.*, 1980). La zona de producción se caracteriza por tener un suelo franco a franco arenoso con una mediana a baja fertilidad, con un contenido de Materia Orgánica entre 1,0 – 1,5 % (Fernández y Casagrande, 1998). En cuanto al uso actual de la tierra, las mismas se destinan a la explotación agropecuaria con predominio de la agricultura.

El suelo utilizado en el ensayo (Tabla 1) corresponde al horizonte superficial (0-15 cm) de un Haplustol éntico, de escasa a mediana fertilidad. El lote de donde se extrajo anteriormente pertenecía a un monte frutal, pero ha permanecido sin laboreo por más de 15 años. Luego de tomado el total a utilizar, se unificó la muestra y se analizó en laboratorio, obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 1: Características físico-químicas del suelo de 0 a 15 cm antes del inicio el ensayo.

pH en pasta	CE (dS m ⁻¹) a 25°C	N (%)	P (ppm)	M.O (%)	C (%)	C/N
6,5	0,35	0,071	76,4	1,2	0,7	9,9

CE: Conductividad eléctrica; N: Nitrógeno; P: Fósforo; M.O: Materia orgánica; C: Carbono; C/N: Relación Carbono/Nitrógeno.

Colecta del bioderma algal

El bioderma algal se colectó luego de una precipitación en frascos de vidrio transparente con agua del medio, ya que el mismo crece de forma espontánea en el Campus Universitario de la UNLPam (Figura 2). En el caso del primer ensayo, se colectó 24 hs previas a su utilización y fue dejado en frascos abiertos a temperatura ambiente hasta el inicio del mismo. En cuanto al bioderma utilizado en el segundo ensayo y en las bandejas de germinación, se colectó el mismo día en que fue utilizado.



Figura 2. Sitio de colecta del bioderma algal (Facultad de Agronomía, UNLPam)

Identificación de los diferentes taxa

Para la identificación de las distintas especies que se encuentran acompañando a *Nostoc commune* en el bioderma algal se realizaron preparados que fueron observados en microscopio óptico (Kyowa Medilux 12 y Leica dm500 con cámara Leica ICC50 HD).

Características del ensayo y diseño del muestreo

El ensayo se llevó a cabo en un macrotúnel utilizado como plantinero disponible en el pabellón de "Producción Vegetal" en la Facultad de Agronomía de la UNLPam. El mismo tuvo un diseño completamente aleatorizado de 4 tratamientos con 15 repeticiones cada uno. Se utilizaron 60 vasos térmicos de 180 cc a modo de macetas, cada uno de 8,5 cm de alto, 7,4 cm de diámetro superior, 4,4 cm de diámetro basal y un orificio de 4 mm en el centro de la base (Figura 3). Se probaron cuatro tratamientos: tres agregando al suelo I) bioderma algal (N); II) urea (U); III) bioderma algal + urea (N+U) y un cuarto tratamiento como IV) control (C). La dosis de urea utilizada fue de 100 kg/ha aproximadamente, colocándose una perlita a 1 cm de profundidad. En el caso del bioderma, la aplicación fue de 1 cm de espesor sobre la superficie del suelo.

Se realizaron dos ensayos, con características muy similares entre ellos pero con algunas diferencias, como por ejemplo, el sustrato utilizado, la duración y el tiempo en que fueron sembradas las semillas. El motivo fue que en el primer ensayo en un principio, no pudo determinarse de manera progresiva el porcentaje de germinación de las semillas, ya que el contenido de malezas en el suelo era muy elevado y en los primeros estadíos es difícil distinguir las distintas especies de dicotiledóneas por su gran similitud. Además, al tratarse de un suelo bastante empobrecido, la cantidad de semillas que lograron germinar fue escasa. Es por esto que se procedió a la realización de un segundo ensayo, en el cual el sustrato utilizado fue el mismo suelo pero esterilizado y enriquecido con compost para mejorar sus propiedades.

En ambos casos, la cantidad de macetas que se seleccionó para la toma de datos fue en función de la presencia/ausencia de plantas de lechuga ya que en algunas no hubo germinación, por lo que son consideradas como perdidas.

• Primer ensayo

Con una duración de 37 días, tuvo inicio el 11 de agosto del 2015 y finalizó el 16 de septiembre del mismo año, cuando las plantas alcanzaron un tamaño apto para su transplante a tierra. En cada maceta fueron sembradas 3 semillas a 1 cm de profundidad de acuerdo a las condiciones establecidas en cada tratamiento y las mismas fueron colocadas en un arreglo 3x5 y posteriormente regadas. El sustrato utilizado fue sólo suelo.

A los 37 días de iniciado el ensayo, se procedió a ralear los 4 tratamientos dejando sólo una planta de lechuga por maceta, siendo ésta la de mayor desarrollo y sobre la cual se realizó el registro de datos.

Las variables medidas fueron:

-En el cultivo: peso fresco (de parte aérea, de la raíz, y total); peso seco (de parte aérea, de la raíz y total); altura de la planta; longitud (de la raíz y total) y área foliar. En los tratamientos U y C se perdieron algunas macetas, quedando con 6 y 11 repeticiones respectivamente. En los restantes tratamientos, N y N+U, se tomaron las 15 repeticiones.

-En el suelo: Carbono orgánico, materia orgánica, Nitrógeno total, relación C/N y pH. Los datos se tomaron en 7 macetas por tratamiento elegidas al azar. En el caso del pH, al tener tamaños muestreales muy pequeños, para poder determinar estas variables fue necesario juntar las muestras de cada tratamiento, obteniendo así un solo valor por tratamiento.

Segundo ensayo

Con una duración de 49 días, tuvo inicio el 8 de septiembre de 2015 y finalizó el 26 de octubre del mismo año, permitiendo que el cultivo alcance un tamaño mayor al logrado en el primer ensayo. La cantidad de semillas sembradas, las condiciones de siembra y la disposición de las macetas fueron las mismas, pero el sustrato utilizado fue diferente. En este caso se utilizó el mismo suelo del primer ensayo pero fue previamente esterilizado y mezclado con compost en una relación en peso de 70% suelo – 30% compost.

La esterilización previa del suelo utilizado se efectuó para disminuir el poder germinativo de las semillas de malezas presentes. El proceso fue de "esterilización por calor directo o calor seco", que consiste en colocar la muestra de suelo en estufa a 70-80 °C durante 30 minutos. El tiempo comienza a contarse cuando el termómetro colocado en el centro de la muestra marca 70°C (CIP, 2008).

Se utilizó compost orgánico para siembra y repique de la marca comercial Bertinat y asociados en bolsa de 80 dm^3 , con una composición: pH natural sin modificar 5,8-6,2; humedad 45 - 50%; materia orgánica 38-42%; relación C/N 16,5; conductividad eléctrica natural sin modificar $0,45 - 0,52 \text{ dS m}^{-1}$.

A los 38 días de iniciado el ensayo se procedió a ralear los 4 tratamientos dejando sólo, al igual que en el primer ensayo, la lechuga de mayor desarrollo en cada maceta.

Las variables medidas fueron:

-En el cultivo: peso fresco (de parte aérea, de la raíz y total); peso seco (de parte aérea, de la raíz y total); altura de la planta; longitud (de la raíz y total), área foliar, índice de verdor, número de hojas. En los tratamientos N+U, C y U no hubo pérdidas de macetas, por lo que se tomaron las 15 repeticiones. En el tratamiento N se perdió sólo una maceta, por lo que los datos se tomaron en 14.

-En el suelo: No se realizaron determinaciones.



Figura 3. Disposición del ensayo en plantinero.

• Bandejas de germinación

El 8 de Septiembre de 2015 se prepararon 3 bandejas de germinación de 200 celdas cada una. Los tratamientos variaron en cuanto al sustrato utilizado. Los mismos fueron: I) Compost (Co); II) 50% compost y 50% suelo (relación en peso) + agregado de 5 mm de bioderma algal en superficie (Co + S+ N); III) Compost+ agregado de 5 mm de bioderma algal en superficie (Co + N). El objetivo fue determinar la posible precocidad en el tiempo de germinación de las semillas de lechuga en el tratamiento que posee el bioderma algal en superficie planteándolo como una posible alternativa para la mejora de los tiempos de producción de los plantines de lechuga, debido a que de manera comercial la siembra en bandejas de germinación se realiza sólo con sustratos comerciales.

El compost utilizado fue el mismo que se mencionó anteriormente y el bioderma algal fue recolectado el mismo día de la siembra. Fueron sembradas dos semillas por celda y se realizaron conteos de germinación cada uno, dos o tres días durante 27 días (hasta que la germinación permaneció constante).

Riego

El riego se realizó con una frecuencia diaria o cada dos o tres días como máximo. Se utilizó agua de lluvia colectada en un tanque disponible en la huerta de la Facultad de Agronomía. La misma tenía una conductividad eléctrica (CE) de 0,875 dS m⁻¹ y pH 5,75.

Determinación del poder germinativo

Previo a la siembra, se determinó el poder germinativo de las semillas de lechuga obtenidas a través del programa pro-huerta llevado a cabo por el INTA para conocer su calidad. La determinación se realizó de acuerdo a lo establecido en el Boletín de divulgación del INTA "Técnicas de laboratorio utilizadas en los análisis de semillas" (Davidovich Boberi, 1980), con algunas modificaciones. Se utilizaron 4 cajas de Petri y en cada una de ellas se colocaron 30 semillas sobre papel de filtro previamente humedecido con agua destilada. Las mismas fueron colocadas en una cámara de germinación durante 4 días a 28 °C y luego se contabilizó el número de semillas germinadas.

Determinaciones en el cultivo

- Peso (g): peso fresco (de parte aérea, de la raíz, y total); peso seco (de parte aérea, de la raíz y total). Se utilizó una balanza marca Ohaus, con una capacidad de 200 a 6.000 gramos y una sensibilidad de 0,01g. a 1,0g. Para la determinación del peso seco, se colocó cada planta en bolsas de papel identificado y luego en estufa a 60°C hasta peso constante.
- Altura de la planta (cm): desde el nivel del suelo hasta el extremo de la hoja superior.
 Se midió con regla.
- Longitud (cm): de la raíz y total. Previo lavado se determinó con regla.
- <u>Área foliar (cm²):</u> la medición se realizó sobre la hoja más grande de cada planta de lechuga y se utilizó papel milimetrado.
- <u>Número de hojas:</u> mediante conteo.
- <u>Índice de verdor</u>: se determinó la intensidad de verdor en la hoja más grande de cada planta mediante clorofilómetro Minolta SPAD 502. Las lecturas "SPAD" pueden ser utilizadas para evaluar el estado nutricional del cultivo y a su vez pueden ser una guía para dosificar los fertilizantes nitrogenados (Malavolta *et al.*, 2004). En este sentido, Villar y Ortega (2003) señalan que existe una relación directa entre la lectura "SPAD"

y el contenido de nitrógeno en la planta, ya que las plantas adecuadamente fertilizadas con nitrógeno presentan un color más verde en sus hojas, lo cual puede considerarse como una herramienta alternativa para estimar el estatus de nitrógeno en la planta. La absorbancia es cuantificada en valores dimensionales que van de 0 a 199, por lo que las unidades "SPAD" serán siempre las mismas de acuerdo con el tono verde de las hojas (Krugh *et al.*, 1994).

Muestreo de suelo y determinaciones de laboratorio

El suelo utilizado en los ensayos fue colectado de la Huerta Didáctica y Experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de La Pampa. Se tomaron los primeros 15 cm ya que los mayores contenidos de materia orgánica se encuentran cercanos a la superficie. Se unificó el total del suelo colectado y se tomó una muestra para su posterior análisis.

A fin de comparar las características físicas y químicas al inicio y al final de los ciclos analizados, luego de cosechada la lechuga se guardó la muestra total de suelo de cada maceta identificada con su correspondiente tratamiento para su posterior análisis.

Todas las muestras, previamente secadas al aire y tamizadas por malla de 2 mm, se analizaron en el Laboratorio de Suelos y en el Laboratorio de Química, ambos pertenecientes a la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de La Pampa.

A continuación se describen las determinaciones fisicoquímicas realizadas y las técnicas empleadas:

• Materia orgánica total: la MO es el indicador utilizado con más frecuencia, para evaluar la calidad del suelo, y su productividad (Galantini y Suñer, 2008). Posee gran influencia en el pH, debido a que produce compuestos orgánicos que tienden a acidificar el suelo, aporta nutrientes a través de la mineralización y es fuente de energía para los procesos microbianos (Conti, 2000).

La determinación cuantitativa de la materia orgánica se realizó mediante la determinación de carbono orgánico total del suelo (C). La misma involucró la conversión de todas las formas de C a CO₂. En este caso se realizó mediante una técnica de oxidación húmeda. Así el C presente se oxidó con dicromato de potasio agregado en exceso y la cantidad de C se valoró indirectamente por la titulación con sal de Mohr del dicromato de K no reducido (Walkley y Black, 1934).

• <u>Nitrógeno total:</u> mediante Método Kjeldahl modificado siguiendo la norma IRAM-SAGyP 29572 (2011), que describe un método para cuantificar nitrógeno en muestras de todo tipo de suelo de uso agropecuario. Una pequeña proporción de compuestos orgánicos que contienen enlaces N-N y N-O, y otros inorgánicos, como nitritos y nitratos, se determinan parcialmente.

La digestión se realiza por calentamiento de la muestra con ácido sulfúrico y catalizadores que promueven la oxidación de la materia orgánica y la conversión del nitrógeno orgánico a amonio. El digesto se alcaliniza y el amoníaco que se desprende se recoge en ácido bórico y se titula con ácido valorado.

El contenido de Nitrógeno se analizó por duplicado por muestra de suelo y ambos valores fueron promediados.

• <u>pH:</u> la reacción del suelo hace referencia al grado de acidez o basicidad del mismo y generalmente se expresa por medio de un valor de pH (Porta Casanellas *et al.*, 1999). La medida se extiende en una escala de 1 a 14, un pH inferior a 7 es ácido y superior a 7 es alcalino.

La determinación de pH se realizó en pasta saturada.

• Relación C/N: indica la potencialidad del suelo para transformar la materia orgánica en nitrógeno mineral. De manera general se considera que una relación C/N entre 10 y 12 produce una correcta liberación de nitrógeno, mientras que valores por encima o por debajo de esta cifra, provocan liberaciones muy escasas o excesivas. Hughes (1983), plantea que la relación C/N óptima se encuentra entre 12-20/1, con los menores valores estimulando una más rápida mineralización del C.

Análisis estadístico

El ensayo presentó un diseño completamente aleatorizado, como se mencionó anteriormente. Debido a la pérdida de material (ej. por ausencia de germinación), el mismo quedó desbalanceado.

Los datos se analizaron por medio de un análisis de varianza bajo la teoría de modelos lineales generales para modelar la variabilidad existente para algunas variables (Di Rienzo *et al.*, 2011). Se utilizó el programa InfoStat versión 2015 (Di Rienzo *et al.*, 2015) y su vinculación con el R Project (R Core Team, 2015) que permite utilizar la versión "gls" (Generalized Least Squares) del paquete nlme (Pinheiro *et al.*, 2016) con el fin de modelar

dicha variabilidad. Se seleccionó el método de comparaciones múltiples propuesto por Fisher (LSD Fisher) para comparar las medias de a pares, con un nivel de significación fijado en 0,05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación de taxa algales

El análisis del bioderma algal al microscopio dio por resultado la presencia de algas cianofíceas y clorofíceas.

La especie más frecuente fue *Nostoc commune*, cianobacteria heterocistada y fijadora de nitrógeno atmosférico (Figura 4). Como especies menos frecuentes y acompañantes se registraron las cianobacterias *Synechococcus aeruginosus* y *Lyngbya corticicola* y la clorofita unicelular *Bracteacoccus giganteus*. Las mismas ya habían sido previamente descriptas para la provincia de La Pampa (Álvarez y Bazán, 1986; 1994).

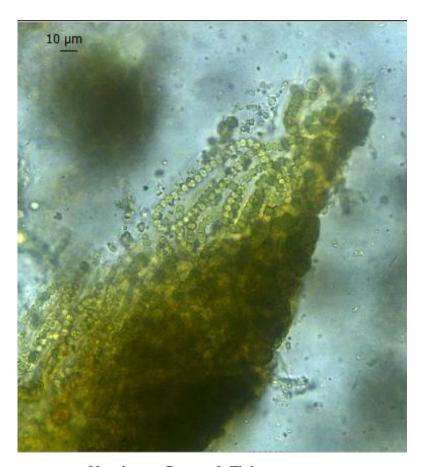


Figura 4. Nostoc commune Vaucher ex Bornet & Flahaut.

Germinación de semillas de Lactuca sativa

Considerando los dos ensayos, la germinación en invernadero en la mayoría de los tratamientos fue menor a la obtenida en germinador. Como se puede observar, las mayores diferencias se presentaron en el primer ensayo, donde la germinación en invernadero fue un 7, 22, 56 y 79% menor para los tratamientos N, N+U, C Y U respectivamente (Gráfico 2). En el segundo ensayo los resultados fueron más altos, sin embargo sólo el tratamiento U superó al valor del germinador en un 9%. Los restantes obtuvieron valores 9, 20 y 22% inferiores, para los tratamientos C, N+U y N respectivamente (Gráfico 3).

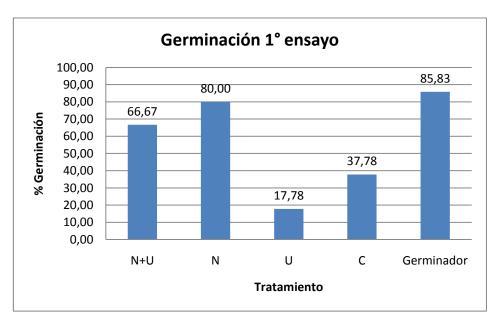


Gráfico 2. Porcentaje de germinación (%) para cada tratamiento y porcentaje de germinación obtenido en germinador, donde U: Urea; C: Control; N: Bioderma algal; N+U: Bioderma algal + Urea.

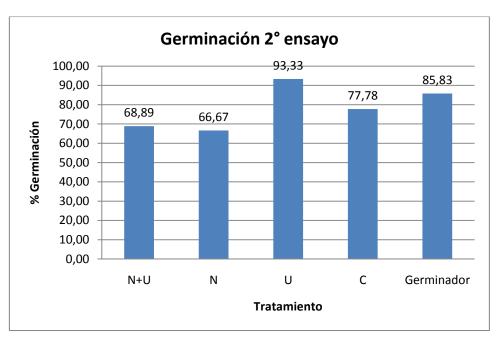


Gráfico 3. Porcentaje de germinación (%) para cada tratamiento y porcentaje de germinación obtenido en germinador, donde U: Urea; C: Control; N: Bioderma algal; N+U: Bioderma algal + Urea.

Los resultados obtenidos en invernadero para los tratamientos N y N+U en el primer ensayo indicarían que el bioderma tiene un efecto positivo y favorece la germinación de semillas de *Lactuca sativa*. Sin embargo, el segundo ensayo indicaría lo contrario. Esto puede deberse a que las condiciones climáticas fueron más inestables, con mayor número de días nublados que sumado a la presencia del bioderma sobre la superficie del suelo evitó la llegada de luz necesaria para que se produzca la germinación. El proceso de germinación comprende la activación biológica por parte de la semilla, por ello es necesaria una serie de condiciones ambientales favorables como: sustrato húmedo, temperatura adecuada y suficiente cantidad de oxígeno; además las semillas pequeñas como las de lechuga, requieren para germinar estar expuestas a la luz, en un suelo suelto y cerca de la superficie para que las plántulas aseguren su emergencia (Raven *et al.*, 1992).

Otro factor que pudo haber afectado la germinación es que al haber trabajado en macetas y en la colecta haber removido el suelo para homogeneizarlo se pierde la estructura y la estabilidad de los agregados y se incrementa la velocidad de mineralización de la materia orgánica ya que expone ciertas partes de la misma previamente inaccesibles (ligadas a agregados) al ataque de microorganismos. Esto también lo vuelve más susceptible al riego e

incrementa la probabilidad de encostramiento (Rogers y Burns, 1994). Además, si consideramos que el cultivo de lechuga requiere de suelos con alta fertilidad (materia orgánica), de buen drenaje, con alta capacidad de retención de humedad y acidez neutra, la diferencia en el total de germinación entre ensayos (51% en el primero y 77% en el segundo) se atribuye principalmente a las mejoras en las características del suelo como consecuencia del agregado de compost en el segundo ensayo.

Por otro lado, la variedad de lechuga utilizada (Grand Rapid) pertenece a una variedad de primavera-verano. El cultivo se desarrolla bien con temperaturas promedio mensuales comprendidas entre 13° y 18 °C, con un rango que puede oscilar entre 7° y 24° (Goites, 2008), si bien la lechuga tolera hasta -6 °C. Fueron varios los días durante el período de ensayos en los que se registraron temperaturas mínimas inferiores a 7°C en algún momento del día, siendo 18, 22 y 13 días para los meses de Agosto, Septiembre y Octubre respectivamente. También existieron días con temperaturas bajo cero, 2 en Agosto y Octubre y 4 en Septiembre (Gráfico 4).

Existen algunos antecedentes de mejoras en el crecimiento y germinación de semillas de ciertos cultivos luego de tratarlas directamente con cianobacterias (fijadoras o no) o con sus extractos. Algunas de las especies son: *Oryza sativa* (Gupta y Lata, 1964); *Panicum miliaceum* (Zulpa de Caire *et al.*, 1976); *Lactuca sativa* var. Saladin (Rogers y Burns, 1994); *Hordeum pusillum* (Ansín *et al.*, 2002). Sin embargo también se han registrado algunos efectos negativos del agregado de cianobacterias en la germinación de *Oryza sativa* var. KN 1H 300 (Pedurand y Reynaud, 1987) y *Oryza sativa* L. var. Fortuna (Zaccaro de Mulé *et al.*, 1999).

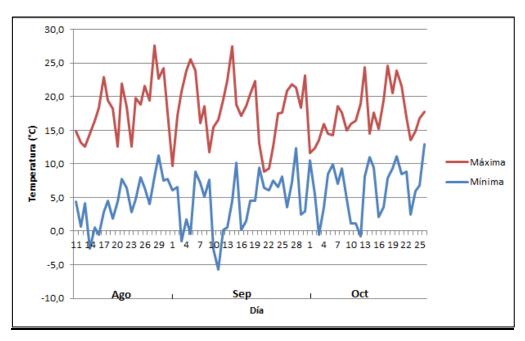


Gráfico 4. Temperatura mínima y máxima diaria para el período en que transcurrieron los ensayos (11 de Agosto-26 de Octubre).

Primer ensayo

Altura de la planta, longitud de la raíz y longitud total

En la tabla 2 se detallan los valores medios para altura de la planta, longitud de la raíz y longitud total obtenidos para el primer ensayo. En los 3 casos se observan efectos significativos de los tratamientos sobre los valores medios de la variable en cuestión (p<0,0001). Para la variable altura de la planta no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (p>0,05) entre los tratamientos C y U, pero sí respecto a N y N+U, presentando éste último los valores más altos superando en un 127% los valores medios obtenidos para el control (Gráfico 5).

Otros autores han encontrado resultados similares a los nuestros para esta variable, pero en menor magnitud. Rodgers *et al.* (1979) utilizaron *Anabaena variabilis* y *Nostoc muscorum* como biofertilizantes en tomate para determinar si esas especies tiene algún efecto en el crecimiento de esos cultivos. Todos los tratamientos incrementaron significativamente la altura de las plantas de tomate respecto al control sin agregado de cianobacterias, siendo estos incrementos de un 26-28% en el caso de *N. muscorum* y entre 22-33% para *A.variabilis*. Yanni y El-Rahman (1993) midieron el efecto de la fertilización fosforada en el cultivo de arroz,

incluyendo fertilización nitrogenada y cianobacterias. También encontraron que los mayores valores en la altura de la planta (sin considerar los tratamientos que contenían fertilización fosforada), se registraron en los tratamientos con inoculación de cianobacterias o con los mayores porcentajes de urea. Los incrementos no fueron significativos en la primer temporada, pero si lo fueron en la segunda. Zaccaro de Mulé *et al.* (1999) registraron incrementos significativos con respecto al control de entre 19-38% en la altura de las plantas de arroz para los tratamientos inoculados con *Nostoc muscorum* y *Tolypothrix tenuis* de manera individual o combinados con urea. Hegazi *et al.* (2010) registraron incrementos significativos de 5-19% en la altura de las plantas de frijol inoculadas con cianobacterias respecto a las que contenían la mayor dosis de nitrógeno mineral apta para ese cultivo.

Los resultados de Svircev *et al.* (1997) coinciden en forma parcial con los nuestros. Co-cultivaron 3 cepas de cianobacterias (2S9B correspondiente a *Nostoc*; LC2 y C5 correspodientes a *Anabaena*) y 6 cultivos de importancia comercial para determinar los efectos de la interacción generada entre ambos grupos. El cultivo se llevó a cabo en medio líquido y en arena con o sin nitrógeno combinado, este último como control. En medio líquido, las cepas 2S9B y LC2 incrementaron significativamente la altura de las plantas de arroz y habas, pero C5 disminuyó significativamente esta variable en trigo y arroz. En cuanto al cultivo en arena, sólo se observaron incrementos significativos en la altura de las plantas en los tratamientos que tenían las cepas 2S9B y LC2 respecto al control.

La variable longitud de la raíz obtuvo los mayores valores medios para los tratamientos N y N+U, sin presentar diferencias estadísticamente significativas (p>0,05) entre ambos, pero si respecto a los tratamientos C y U (Gráfico 5).

Kushwaha y Gupta (1970), evaluaron los efectos de remojar previamente semillas de trigo en extractos de *Phormidium foveolarum* en agua y éter a distintas concentraciones. Luego de pocas horas, en todos los tratamientos las raíces primarias y secundarias demostraron un mayor desarrollo con respecto al control.

Por otro lado, Svircev *et al.* (1997) encontraron que en medio líquido, la longitud de las raíces en habas y maíz no fue significativamente afectada por las cianobacterias. En los cultivos de trigo y de azúcar, todas las cepas causaron disminución a un nivel estadístico significativo en la longitud de las raíces comparado con el control. En cuanto al cultivo de arroz se observó un gran incremento en el tratamiento que poseía la cepa C5 (*Anabaena*), mientras que LC2 (*Anabaena*) disminuyó significativamente la longitud de las raíces en ambas

especies de arroz. Por otro lado, en cuanto a los cultivos realizados en arena, las cianobacterias afectaron esta variable en el cultivo de arroz (disminuyó con LC2 y se incrementó significativamente con L5). En los demás cultivos no se observaron diferencias significativas en los tratamientos que poseían agregado de cianobacterias respecto al control.

En cuanto a la longitud total, no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los valores medios para los tratamientos N y N+U los cuales presentaron los valores más altos para esta variable, peso si difieren significativamente de los valores medios encontrados para C y U (p<0,05) (Gráfico 5).

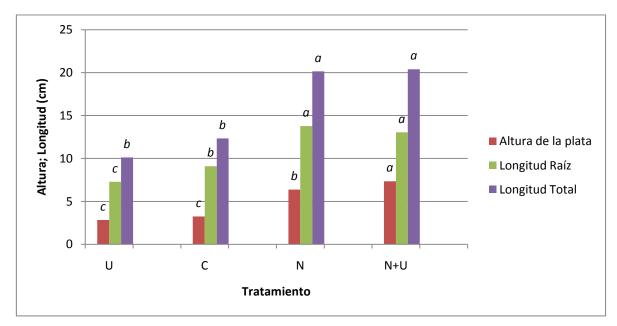


Gráfico 5. Valores medios de altura de la planta, longitud de la raíz y longitud total (cm) para cada tratamiento, donde U: Urea; C: Control; N: Bioderma algal; N+U: Bioderma algal + Urea.

(Medias con letra común no son significativamente diferentes (p>0.05)).

Peso fresco aéreo, peso fresco raíz y peso fresco total

En la variable peso fresco raíz no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (p>0,05) entre los tratamientos N y N+U, que presentaron los valores más altos para esta variable, ni entre los tratamientos C y U, pero si se encontraron diferencias significativas entre éstos y aquellos. En cuanto a las variables peso fresco aéreo y peso fresco total los resultados obtenidos fueron los mismos (Tabla 2). Se encontraron diferencias

significativas (p<0,05) entre los tratamientos N y N+U, registrando éste último los mayores valores, mientras que no existen diferencias significativas entre C y U (Gráfico 6).

Estos resultados coinciden con los de Hegazi *et al.* (2010), quienes midieron la respuesta del frijol común a la inoculación de las semillas y/o agregado de cianobacterias al suelo en presencia de distintos niveles de fertilización en forma de nitrógeno mineral, encontraron que todos los tratamientos que incluyeron el agregado de cianobacterias de una u otra forma, no presentaron diferencias significativas entre sí para el peso fresco, pero obtuvieron un incremento estadísticamente significativo en algunos casos de entre un 13 y 30% comparado con el valor obtenido para el mayor porcentaje de Nitrógeno mineral utilizado en este cultivo (control).

Rodgers *et al.* (1979) también encontraron diferencias significativas en el cultivo de rabanito entre tratamientos con agregado de cianobacterias y el control, detectando incrementos de un 19 y 23% en el peso fresco de la parte aérea y de un 32 y 51% en el peso fresco de la raíz.

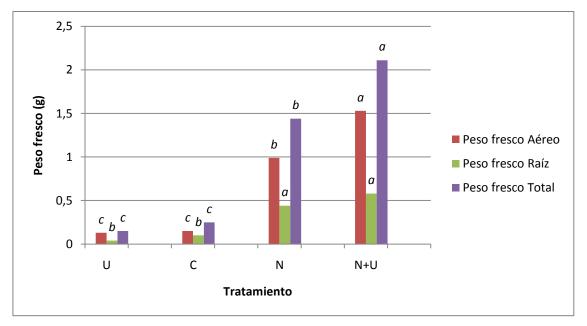


Gráfico 6. Valores medios de peso fresco aéreo, peso seco de la raíz y peso fresco total (g) para cada tratamiento, donde U: Urea; C: Control; N: Bioderma algal; N+U: Bioderma algal + Urea.

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

Peso seco aéreo, peso seco raíz y peso seco total

Existen efectos significativos de los tratamientos sobre las tres variables aquí consideradas (<0,0001) (Tabla 2). Se encontraron diferencias estadísticas significativas (p<0,05) entre tratamientos para las tres variables, salvo entre U y C, siendo N+U quien presenta los valores más altos en todos los casos superando ampliamente a C (Gráfico 7).

Estos resultados coinciden en parte con los hallados por Zaccaro de Mulé *et al.* (1999), quienes evaluaron el efecto de la inoculación con cianobacterias (*Nostoc muscorum* y *Tolypothrix tenuis* añadidas individualmente o combinadas con urea) en plántulas de arroz y en la estructura del suelo luego de la cosecha. Encontraron que todos los tratamientos presentaron un incremento estadísticamente significativo (p>0,05) entre 7-35% en el peso seco respecto al control, pero no se detectaron diferencias entre tratamientos inoculados. Pero, contrariamente a los resultados aquí obtenidos, estos autores si encontraron diferencias significativas entre U y C con un valor medio 7% mayor en U a pesar de haber utilizado una dosis de urea menor (64 kg/há). Además, no encontraron diferencias significativas entre el tratamiento que sólo tenía *Nostoc* y el que tenía ésta cianobacteria+urea. Estas diferencias pueden deberse a que el suelo partía de mejores condiciones en cuanto a nutrientes y contenido de MO (3,17%), la especie de *Nostoc* utilizada es distinta a la del ensayo aquí presentado y a que los cultivos responden de manera diferente a los tratamientos.

Svircev *et al.* (1997) también encontraron resultados similares donde algunos cultivos inoculados con una cepa de *Nostoc* obtuvieron incrementos significativos respecto al control en el peso seco ya sea de la raíz o la parte aérea; por ejemplo el peso de la parte aérea registró en los tratamientos inoculados un incremento de un 11, 53 y 139% para el cultivo de trigo y dos variedades de arroz respectivamente. Sin embargo, en los cultivos de maíz, remolacha azucarera y frijol no se encontraron diferencias significativas para esta variable respecto al control. Kaushik y Venkataraman (1979) evaluaron los efectos de la inoculación con mezcla de cianobacterias (*Tolypothrix tenuis, Aulosira fertilissima, Nostoc* sp. *Anabaena* sp. y *Plectonema boryanum*), combinado o no con nitrógeno mineral, en dos variedades de tomate. Obtuvieron incrementos estadísticos significativos de un 51-128% en los valores medios del peso seco para los tratamientos inoculados con respecto al control.

Gupta y Gupta (1973) evaluaron el efecto de remojar previo a la siembra semillas de frijol en extracto de *P. foveolarum*, en distintas concentraciones, en éter o agua. En todos los casos se encontró un aumento en el peso seco de la parte vegetativa entre 2-185% respecto al

control (semillas remojadas en agua destilada). Si bien el método en que emplearon las cianobacterias en este caso es totalmente diferente al utilizado en este trabajo, los resultados tienen cierta relación.

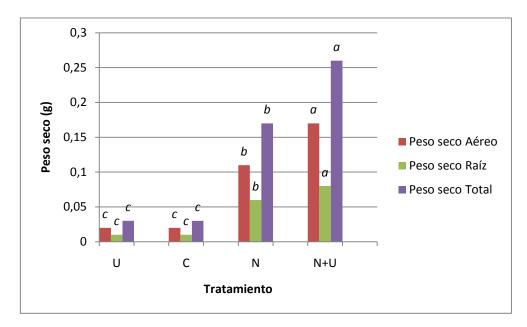


Gráfico 7. Valores medios de peso seco aéreo, peso seco de la raíz y peso seco total (g) para cada tratamiento, donde U: Urea; C: Control; N: Bioderma algal; N+U: Bioderma algal + Urea.

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

Materia Orgánica (MO)

En la tabla 2 se detallan los valores medios obtenidos para el contenido de MO en el suelo en cada uno de los tratamientos. No se encontraron diferencias significativas (p>0,05) entre los tratamientos N y N+U, lo cuales poseen los valores más altos para esta variable, pero éstos si difieren de los valores medios obtenidos para C y U.

En los tratamientos N y N+U se observa un incremento en el contenido de MO de un 81,7% en el primer caso y 69,2% en el segundo respecto al valor inicial del suelo utilizado en el ensayo (1,2%), y de un 103,7% y 89,7% respecto a C (Gráfico 8). El incremento en el contenido de MO en el suelo se atribuye al aporte de este elemento realizado por el agregado del bioderma algal; como se ha reportado anteriormente la inoculación con cianobacterias produce un incremento en el contenido de materia orgánica (Singh, 1961; Mandal *et al.*, 1999; Acea *et al.*, 2003).

Nuestros resultados coinciden con los de Rogers y Burns (1994) quienes estudiaron, en invernadero, la variación en las propiedades físicas, químicas y bilógicas de un suelo agrícola pobremente estructurado luego de su inoculación con *Nostoc muscorum*. También encontraron diferencias significativas entre tratamientos: el contenido de materia orgánica en los suelos inoculados fue un 51- 63% más alto que en los suelos sin inóculo, pero no se encontraron diferencias significativas entre las distintas dosis de inóculo utilizadas (2 y 5 kg/ha peso seco). Concluyeron que probablemente el aumento en el total del C orgánico haya sido resultado del incremento de carbohidratos del suelo (ej. Polisacáridos, que forman parte de los productos extracelulares liberados por las cianobacterias) y biomasa C.

Zaccaro de Mulé *et al.* (1999), también encontraron que los tratamientos inoculados con *Nostoc muscorum* y *Nostoc muscorum*+urea presentaron aumentos significativos (p<0,05) del 49,1% y 41,4% en el contenido de materia orgánica comparado con el control; si bien estos autores encontraron diferencias significativas en los valores medios de materia orgánica entre los tratamientos Control y Urea (a favor de U). Esta diferencia puede deberse a que, como se mencionó anteriormente, si bien utilizaron una dosis menor de urea (64kg/ha), el suelo utilizado partía de mejores condiciones en cuanto al contenido de nutrientes y materia orgánica (3,17%).

Por otro lado, en los tratamientos U y C se observa una disminución en el contenido de materia orgánica de un 2,5% y 10,83% respectivamente en relación con el valor inicial (Gráfico 8). Esto se debe a que el consumo de nutrientes del suelo por parte del cultivo sin tener una fuente adicional de materia orgánica, provocó un balance negativo.

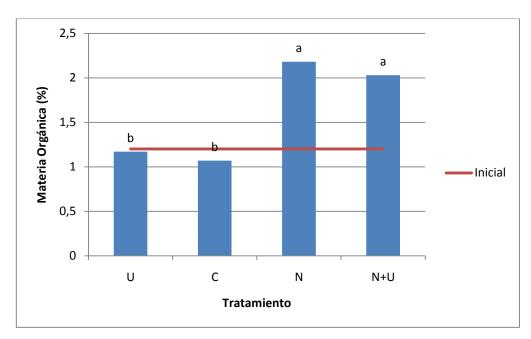


Gráfico 8. Valores medios de materia orgánica (%) para cada tratamiento y valor inicial del suelo antes del inicio del ensayo, donde U: Urea; C: Control; N: Bioderma algal; N+U: Bioderma algal + Urea.

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

Área foliar

Al evaluar los resultados del área foliar (Tabla 2), se encontraron diferencias significativas entre tratamientos con y sin agregado del bioderma algal (p<0,05), siendo N+U el que registró el mayor valor medio. Además se observaron diferencias significativas entre ambos tratamientos con agregado de bioderma (N y N+U), no así entre C y U.

Comparando los valores medios obtenidos para N y N+U, los mismos superan ampliamente al valor medio obtenido para U en un 658 y 944% respectivamente (Gráfico 9). Los resultados obtenidos coinciden, aunque no en la misma magnitud, con los de Hegazi *et al.* (2010), quienes encontraron que todos los tratamientos con agregado de cianobacterias registraron un incremento significativo en el área foliar de 5 a 59% para el cultivo de frijol respecto al tratamiento correspondiente al 100% de Nitrógeno mineral apto para este cultivo.

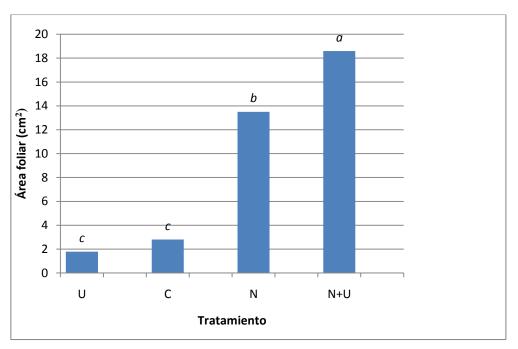


Gráfico 9. Valores medios de área foliar (cm²) para cada tratamiento, donde U: Urea; C: Control; N: Bioderma algal; N+U: Bioderma algal + Urea. (Medias con letra común no son significativamente diferentes (p>0,05)).

Contenido de N en suelo

Se encontraron diferencias significativas en el contenido promedio de nitrógeno entre los tratamientos N+U y N respecto a C (p<0.0158), pero no se detectaron diferencias entre U y C (Tabla 2). Al comparar los valores obtenidos en los distintos tratamientos con el contenido inicial de nitrógeno del suelo utilizado en el ensayo se puede observar que el mismo se incrementó en los tratamientos con agregados, siendo estos incrementos de un 14% en U, 29% en N y 43% en N+U. En los dos últimos casos esto se atribuye a la fijación de nitrógeno y posterior liberación por mineralización realizada por las cianobacterias. En el caso de U, se debe al aporte de nitrógeno realizado por la urea. Por el contrario, la disminución en el contenido de nitrógeno en C se debe a que el consumo del nutriente realizado por parte del cultivo sin tener una fuente adicional de nitrógeno, provocó un balance negativo (Gráfico 10).

Rogers y Burns (1994) también encontraron diferencias significativas entre tratamientos en un suelo con agregado de *Nostoc muscorum*: el contenido de Nitrógeno en los suelos inoculados fue un 111-120% más alto que en los suelos sin inóculo, sin presentar diferencias significativas entre las distintas dosis de inóculo utilizadas (2 y 5 kg/ha peso seco).

Zaccaro de Mulé *et al.* (1999) registraron incrementos del 33% en el contenido de Nitrógeno en los tres tratamientos con agregado de *N. muscorum* y *N muscorum*+urea, y de 67% en el tratamiento con agregado de urea comparado con el control. Ansín *et al.* (2002) registraron valores 35% superiores para el contenido de nitrógeno en suelos colonizados por *Nostoc muscorum* comparado con suelos no colonizados por esta cianobacteria.

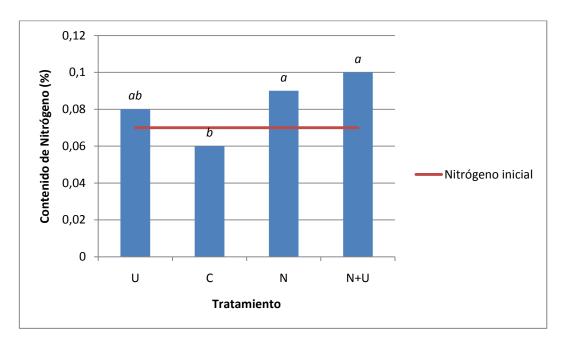


Gráfico 10. Valores medios del contenido de nitrógeno (%) para cada tratamiento y valor inicial del suelo utilizado en el ensayo, donde U: Urea; C: Control; N: Bioderma algal; N+U: Bioderma algal + Urea.

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

Relación C/N

La relación C/N aumentó en los tratamientos C, N y N+U respecto al valor inicial del suelo utilizado en el ensayo (Gráfico 11). En los tratamientos N y N+U esto se debe a que si bien aumentó tanto el contenido de materia orgánica como de nitrógeno, el primero fue mucho mayor. En el caso de C, al no tener agregado de materia orgánica ni urea, tanto el contenido de carbono y de nitrógeno disminuyeron, pero el primero lo hizo en menor proporción.

La relación C/N disminuyó en U porque se redujo el contenido de materia orgánica comparado con el valor inicial del suelo utilizado en el ensayo y se incrementó el contenido de nitrógeno por el agregado de urea.

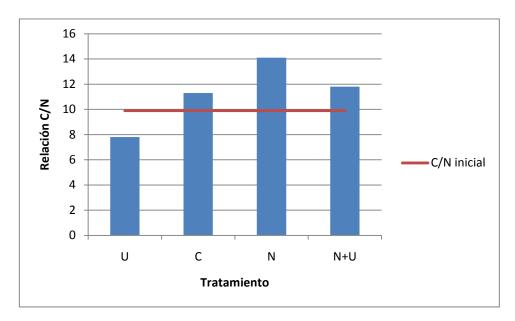


Gráfico 11. Relación C/N para cada tratamiento y valor inicial del suelo utilizado en el ensayo, donde U: Urea; C: Control; N: Bioderma algal; N+U: Bioderma algal + Urea.

pН

Como se mencionó anteriormente, al tener tamaños de muestras muy pequeños, para poder determinar estas variables fue necesario juntar las muestras de cada tratamiento, obteniendo así un solo valor por tratamiento.

En los resultados se puede observar que en todos los tratamientos hubo una disminución en el pH respecto al valor inicial del suelo utilizado en el ensayo (Gráfico 12). Todos los valores obtenidos corresponden a valores de pH "ligeramente ácido", registrándose el mayor valor para el tratamiento C. Estos resultados coinciden con los de Zaccaro de Mulé *et al.* (1999) que encontraron valores menores de pH en todos los tratamientos, ya sea con agregado de *Nostoc muscorum* (6,93), urea (7,00), o *N.muscorum* + urea (6,75), comparado con el valor de pH inicial del suelo utilizado en el ensayo (7,04). Ansín *et al.* (2002) también encontraron un valor de pH 11% menor en suelos alcalinos de la Pampa Deprimida para las áreas colonizadas con *N. muscorum* (7,3) comparado con las áreas no colonizadas por la cianobacteria (8,2).

Esta disminución en el pH en presencia de cianobacterias está directamente relacionada con el aumento en el contenido de materia orgánica. La MO posee gran influencia en el pH, debido a que produce compuestos orgánicos que tienden a acidificar el suelo (Conti, 2000). En el caso de U, la disminución en el pH se debe a que la aplicación de fertilizantes amídicos (urea) induce una acidificación en el proceso de nitrificación del amonio debido a la liberación de hidrógeno, luego de la hidrólisis de urea a amonio.

Además la disminución en el pH del suelo en todos los tratamientos se asocia a que el agua utilizada para riego, agua de lluvia, posee un pH "medianamente ácido" (5,75) lo cual también contribuyó a la acidificación del mismo.

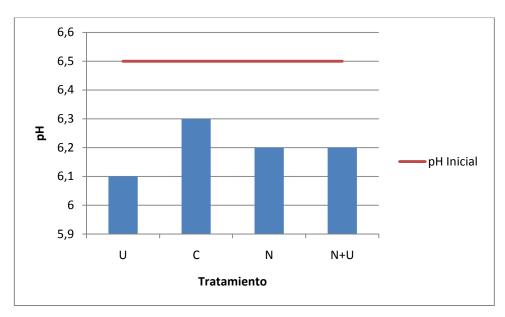


Gráfico 12. Valores de pH en pasta para cada tratamiento y valor inicial de pH del suelo antes del inicio del ensayo, donde U: Urea; C: Control; N: Bioderma algal; N+U: Bioderma algal + Urea.

Segundo ensayo

Peso fresco de parte aérea, de raíz y total; altura de la planta, longitud de la raíz y total; peso seco de parte aérea, raíz y total; área foliar.

En rasgos generales los resultados obtenidos en este segundo ensayo coinciden con los resultados del primero; ambos registraron los mayores valores para los tratamientos con agregado de bioderma algal, N y N+U, en todas las variables consideradas (Tabla 3).

Comparando ambos ensayos, sólo se registraron diferencias entre estos tratamientos en dos de las variables analizadas: "peso fresco de raíz" (sin diferencias significativas en el primer ensayo y con diferencias significativas en el segundo) y "área foliar" (con diferencias significativas en el primer ensayo y sin diferencias significativas en el segundo).

En cuanto a los tratamientos U y C sí se registraron diferencias entre ensayos; en el primero sólo habían registrado diferencias significativas entre sí para la variable "longitud de la raíz" (Tabla 2). En el segundo, salvo "longitud de la raíz" y "peso seco de la raíz", todas las variables presentaron diferencias estadísticas significativas, registrándose los mayores valores para U. Es decir que en el segundo ensayo, a pesar de haber utilizado la misma dosis, los efectos del agregado de urea fueron más notables (Tabla 3). Esto puede deberse a que al presentarse condiciones climáticas más favorables, facilitó la toma de Nitrógeno por parte de la planta.

Número de hojas

Existen efectos significativos de los tratamientos para los valores medios del número de hojas (p<0,0001) (Tabla 3). Se encontraron diferencias significativas (p<0,05) entre C y los dos tratamientos con agregado del bioderma algal, N y N+U, que registraron un incremento en el número de hojas de un 51 y 58% respectivamente comparado con el control (Gráfico 13).

Los tratamientos N y N+U, presentan valores 21 y 27% mayores respectivamente para esta variable respecto a U, (correspondiente a la fertilización nitrogenada). Estos resultados son similares a los obtenidos por Hegazi *et al.* (2010), quienes obtuvieron incrementos estadísticamente significativos de un 14 a 53% en el número de hojas en todos los tratamientos que incluyeron el agregado de cianobacterias, en comparación al tratamiento correspondiente al mayor porcentaje de Nitrógeno mineral utilizado en este cultivo.

Por otro lado, Zaccaro de Mulé *et al.* (1999) no encontraron diferencias estadísticamente significativas (p>0,05) para el número de hojas entre tratamientos con o sin inóculo en el cultivo de arroz, por lo que concluyeron que los tratamientos afectaron la longitud intermodal pero no el meristema apical que es el que controla el número de hojas.

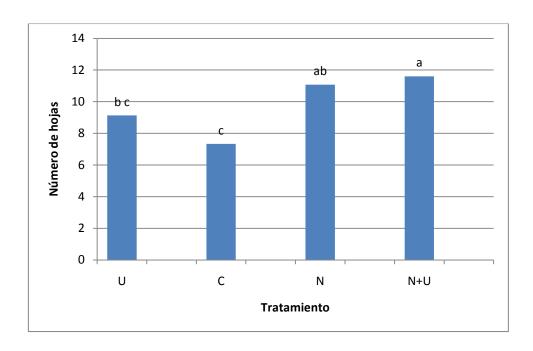


Gráfico 13. Valores medios de número de hojas para cada tratamiento, donde U: Urea; C: Control; N: Bioderma algal; N+U: Bioderma algal + Urea.

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

<u>Índice de verdor</u>

Este parámetro permite cuantificar en forma objetiva diferencias entre tratamientos. En nuestros resultados se puede observar que existen efectos significativos de los tratamientos sobre los valores medios de índice de verdor (p<0,0001) (Tabla 3). No se detectaron diferencias estadísticas significativas (p>0,05) para esta variable entre N+U, N y U, pero si respecto a C, que registró los menores valores. N obtuvo un incremento significativo del valor medio del 62% respecto al valor obtenido para C; en el caso de U y N+U el incremento fue del 67% en ambos casos (Gráfico 14).

Como se mencionó anteriormente, el valor de las lecturas SPAD brinda una idea del contenido de nitrógeno de la planta. En este sentido, en líneas generales podemos comparar los resultados aquí presentados con los de autores que han medido el contenido de nitrógeno por métodos químicos en distintos cultivos tratados con cianobacterias. Gran parte de ellos han registrado un aumento significativo en el contenido de nitrógeno en plantas con agregado de cianobacterias, combinado o no con una fuente mineral de fertilización nitrogenada, respecto

al control (Dadhich *et al.*, 1969; Rodgers *et al.*, 1979; Yanni *et al.*, 1993; Svircev *et al.*, 1997; Zaccaro de Mulé *et al.*, 1999; Hegazi *et al.*, 2010). Kaushink y Venkataraman (1979), encontraron mayor contenido de Nitrógeno en plantas inoculadas con cianobacterias, pero no presentaron diferencias estadísticas significativas respecto al control.

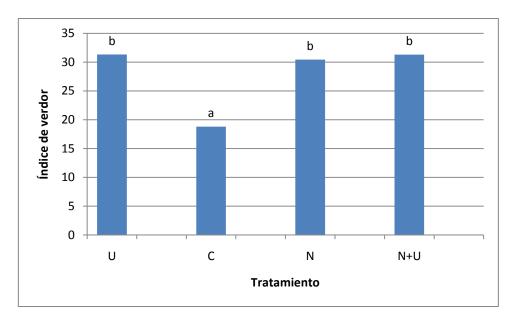


Gráfico 14. Valores medios de índice de verdor para cada tratamiento, donde U: Urea; C: Control; N: Bioderma algal; N+U: Bioderma algal + Urea. (Medias con letra común no son significativamente diferentes (p>0,05)).

Bandejas de germinación

Las primeras semillas que germinaron lo hicieron una semana después de la siembra. Si bien el porcentaje de germinación fue mayor en un principio en los tratamientos con agregado de bioderma algal, Co+N y Co+S+N, en la última etapa el porcentaje de germinación de Co los superó en 5,5% y 7,5% respectivamente. Esto parece indicar que el bioderma algal acelera la germinación en los primeros días posteriores a la siembra. Se observa que el Compost (habitualmente utilizado por los productores) incrementó el % de germinación de semillas a los 12 días del primer registro de germinación (15/09) donde Co+S+N y Co+N siguen la constante por debajo de Co.

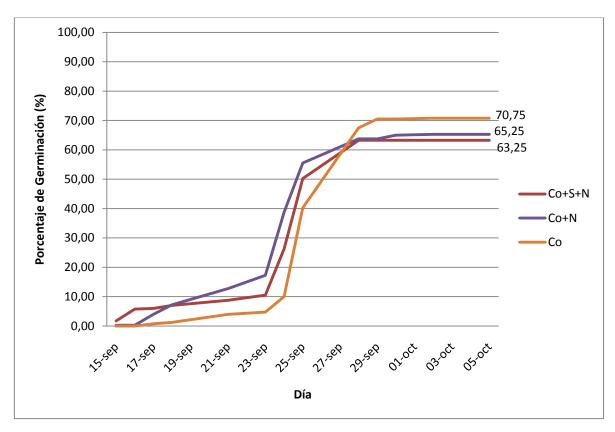


Gráfico 15. Porcentaje de germinación en las bandejas de germinación, donde Co: Compost; Co + S+ N: 50% compost y 50% suelo (relación en peso) + agregado de 5 mm de bioderma algal en superficie; Co + N: Compost+ agregado de 5 mm de bioderma algal en superficie.

CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio permitieron demostrar que:

En el primer ensayo realizado, el agregado del bioderma algal constituido principalmente por *Nostoc commune* Vaucher ex Bornet & Flahault favorecería la germinación de semillas de *Lactuca sativa L.* crispa var. Grand Rapid. Las condiciones climáticas (temperatura y heliofonía) y sustrato utilizado entre el primer y segundo ensayo fueron diferentes y habrían incidido en el resultado final contrapuesto.

El agregado del bioderma algal, para las variables consideradas, fue beneficioso en la primera etapa del cultivo de *L. sativa*. Permitió obtener incrementos en el peso fresco de la raíz, aéreo

y total; altura de la planta, longitud de la raíz y longitud total; peso seco de la raíz, aéreo y total; área foliar; índice de verdor y número de hojas respecto al control. Esto es atribuible no sólo a la fijación de nitrógeno, sino también al aporte de sustancias con actividad biológica inductora que realizan las cianobacterias. En el caso del bioderma utilizado, debería realizarse un estudio bioquímico para determinar las sustancias liberadas por las especies algales.

Se observaron cambios favorables en el suelo con agregado de cianobacterias: se incrementó el contenido de materia orgánica, disminuyó levemente el pH manteniéndose ligeramente ácido (dentro del rango de máxima disponibilidad de nutrientes) y se incrementó el contenido de nitrógeno. Si bien no se efectuó ninguna determinación, pudo observarse durante el raleo, que la compactación de suelo era mucho menor en los tratamientos con agregado de bioderma algal (N y N+U) ya que las plantas presentaban menos resistencia a la extracción que en el resto de los tratamientos (U y C).

Los tratamientos N+U y N fueron más efectivos que los restantes, excepto en la variable "índice de verdor" (en donde no se registraron diferencias entre los tratamientos con agregado del bioderma algal y U, pero si respecto a C). Incluso, en algunas variables medidas la aplicación combinada del bioderma + urea (N+U) fue aún más efectiva que la aplicación individual del bioderma (N), presentando diferencias significativas en la altura de la planta; peso fresco aéreo y total; peso seco de la raíz, aéreo y total y área foliar en el caso del primer ensayo. En el segundo ensayo, las diferencias entre N y N+U se presentaron en las variables altura de la planta; preso fresco de la raíz, aéreo y total y peso seco de la raíz, aéreo y total.

En cuanto a las bandejas de germinación, el agregado del bioderma algal si bien permitió un incremento en el porcentaje de germinación en los primeros días posteriores a la siembra, el total de semillas germinadas fue superior con la utilización de compost como habitualmente es realizado por los productores.

Finalmente, la hipótesis planteada que sostenía que el agregado del bioderma algal resultaría en una mejora en las variables evaluadas tanto en el suelo como en el cultivo, se comprobó para todas las variables en el primer y segundo ensayo.

BIBLIOGRAFÍA

- Acea, M.J., Prieto-Fernández, A. y Diz-Cid, N. (2003). Cyanobacterial inoculation of heated soils: effect on microoganisms of C and N cycles and on chemical composition in soil surface. Soil Biology & Biochemistry 35: 513-524.
- Almeida, M. (2014). Evaluación como acondicionador de suelo y a nivel de laboratorio, de un consorcio previamente seleccionado de microalgas y cianobacterias con predominio de Calothrix sp. Trabajo final para obtener el grado de Ingeniero en Biotecnología. Universidad de las Fuerzas Armadas (ESPE). 196 pp.
- Álvarez, S. y Bazán, G. (1986). *Bracteacoccus giganteus* (Bisch et Bold), nueva cita para La Pampa. En III Jornadas Pampeanas de Ciencias Naturales. 27-31 de Octubre, 1986.
- Álvarez, S. y Bazán, G. (1994). Cianofíceas continentales de la Provincia de La Pampa (Argentina) I. Facultad de Agronomía. UNLPam 7(2): 43-61.
- Ansín, O.E.; Deregibus, A. y Lanfranco, J.W. (2002). Papel del alga *Nostoc commune* y efecto del pastoreo por vacunos sobre la colonización de suelos alcalinos en la Pampa Deprimida. Ecología Austral 12: 135-142.
- Balcaza, L. F. (2000). Importancia de la calidad de agua de riego en los cultivos bajo cubierta.
 - http://anterior.inta.gov.ar/f/?url=http://anterior.inta.gob.ar/sanpedro/info/doc/hor/lb_001.htm, [visitado el 15 de Junio de 2015].
- Baudino, E.; Siliquini, O.; Quiriban, A.; Suárez, H.; García, G.; Martel, G.; Carassay, L.; Sánchez, T.; Vergara, G. y Casagrande G. (2014). Manejo integrado del agroecosistema hortícola para la producción de hortalizas de hoja con bajo impacto ambiental. En: Resultados finales. Proyectos de investigación científica y tecnológica. Orientados al desarrollo productivo provincial. 37-59. Santa Rosa. EdUNLPam. 1ª ed.
- Burns, R.G. y Davies, J.A. (1986). The microbiology of soil structure. Biological Agriculture & Horticulture Impact Factor 3: 95-113.
- Cano, E.; Casagrande, G.; Conti, H.; Salazar Lea Plaza, J.; Peña Zubiate, C.; Maldonado Pinedo, D.; Martínez, H.; Hevia, R.; Scoppa, C.; Fernández, B.; Montes, M.; Musto, J. y Pittaluga, A. (1980). Inventario Integrado de los Recursos Naturales de la provincia de La Pampa. Clima, Geomorfología, Suelo y Vegetación. Buenos Aires, Argentina.

- Universidad Nacional de La Pampa, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. 493 pp.
- Carvajal Muñoz, J.S. y Mera Benavides, A.C. (2010). Fertilización biológica: técnicas de vanguardia para el desarrollo agrícola sostenible. Producción + Limpia. Julio Diciembre 5(2): 77-96.
- Casagrande, G.A. y Vergara, G.T. (1996). Labranzas en la región semiárida argentina.

 Capítulo 2: Características climáticas de la región. Centro Regional La Pampa-San

 Luis EEA. Editorial Extra. Santa Rosa, La Pampa, Argentina pp.: 11-17.
- Centro Internacional de la Papa (CIP). (2008). División de Manejo Integrado de Cultivos. Alternativas al uso del bromuro de metilo en la producción de semilla de papa de calidad. Lima (Perú). CIP. 53 p. Documento de Trabajo 2007-2.
- Cervantes Flores, M. A. (2004). Abonos Orgánicos. Centro de Formación Profesional Agraria. E.F.A. CAMPOMAR. www.infoagro.com, [10 de Junio de 2015].
- Conti, M. (2000). Principios de edafología. Con énfasis en suelos argentinos. Editorial Facultad de Agronomía. Buenos Aires. 430 pp.
- Dadhich, K.S.; Varma, A.K. y Venkataramán, G.S. (1969). The effect of *Calothrix* inoculation on vegetable crops. Plant & Soil 31 (2): 377-379.
- Davidovich Boberi, A. (1980). Técnicas de laboratorio utilizadas en los análisis de semillas. Boletín de divulgación técnica N°48, INTA EERA Pergamino. Argentina.
- Di Rienzo, J. A.; Casanoves, F.; Balzarini, M. G.; Gonzalez, L.; Tablada, M. y Robledo, C. W. (2015). InfoStat versión 2015. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL http://www.infostat.com.ar.
- Di Rienzo, J.A.; Macchiavelli, R.E y Casanoves, F. (2011). Modelos lineales mixtos: aplicaciones en InfoStat. 1° ed. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Dodds, W.K.; Gudder, D.A. y Mollenhauer, D. (1995). The ecology of *Nostoc*. Journal of Phycology 31: 2-18.
- Fernández, J y Casagrande, G. A. (1998). Caracterización agro edáfica del cultivo de trigo en la provincia de La Pampa y caracterización agro climática para el cultivo de trigo en la provincia de La Pampa. En: Actualización técnica del cultivo del trigo en la provincia de La Pampa. Boletín de Divulgación Técnica n°58. INTA, EEA. Anguil, La Pampa. pp. 8-18.

- Galantini, J. A. y Suñer, L. (2008). Las fracciones orgánicas del suelo: análisis en los suelos de la Argentina. Agriscientia 25 (1): 41-55.
- Goites, E. D. (2008). Manual de cultivos para la huerta orgánica familiar. 1° ed. Buenos Aires: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). 136 pp.
- Gupta, A.B. y Gupta, K. K. (1973). Effect of *Phormidium* Extract on Growth and Yield of *Vigna catjang* (Cowpea) T. 5269. Hydrobiologia 41 (1): 127-132.
- Gupta, A.B. y Lata, K. (1964). Effect of Algal Growth Hormones on the Germination of Paddy Seeds. Hydrobiología 24(1-3): 430-434.
- Halperín, D.R. (1969). Biodermas algales y su papel en la consolidación de los agregados del suelo. Physis, XXIX (78): 37-48.
- Halperín, D.R., Mule, M.C.Z y Caire, G.Z. (1976). Biodermas algales como fuente de nitrógeno en suelos sub-húmedos y semi-áridos (Provincia de Chaco y Formosa, Argentina). Darwiniana 20: 341-370.
- Heffer, P. y Prud'homme, M. (2012). Fertilizer outlook 2011-2016. International Fertilizer Industry Association (IFA), Doha (Qatar). http://www.fertilizer.org/imis20/images/Library_Downloads/2012_doha_ifa_summary. pdf, [10 de Junio de 2015].
- Hegazi, A. Z.; Mostafa, S. S. M y Ahmed, H. M. I. (2010). Influence of Different Cyanobacterial Application Methods on Growth and Seed Production of Common Bean Under Various Levels of Mineral Nitrogen Fertilization. Nature and Science 8 (11): 183-193.
- Hughes, A.D. (1983). Soils *En*: Halley RJ (ed) Primrose McConnells The Agricultural Notebook, 17th edn. Butterwoeths, London. Pp 3-50.
- Instituto Argentino de Normalización y Certificación (IRAM). (2011). Esquema 1 de Norma IRAM-SAGyP 29572. Calidad ambiental Calidad del suelo. Determinación de Nitrógeno en suelo por el método Kjeldahl modificado.
- Kaushik, B.D.y Venkataraman, G.S. (1979). Effect of Algal Inoculation on the Yield and Vitamin C Content of Two Varieties of Tomato. Plant and soil 52, 135-137.
- Krugh, B.; Bichham L. y Miles, D. (1994). The solid-state chlorophyll meter, a novel instrument for rapidly and accurately determining the chlorophyll concentrations inseedling leaves. Maize genetics cooperation. News Letter 68:25-27.

- Kushwaha, A.S. y Gupta, A. B. (1970). Effect of Algal Growth Promoting Substances of *Phormidium foveolarum* on Seedlings of Some Varieties of Wheat. Hydrobiologia 35 (2): 324-332.
- Leger, L. (1932). Les premiers aspects de la vie dans eaux de montagne. Les couvertures biologiques. Procés-Verbaux Soc. Dauphinoise d'Ét. Biol. (205): 1-8.
- Malavolta, E.; Nogueira, N.G.L.; Heinrichs, R.; Higashi, E.N.; Rodríguez, V.; Guerra, E.; de Oliveira, S.C y Cabral, C.P. (2004). Evaluation of Nutritional Status of the Cotton Plant with Respect to Nitrogen. Communications in soil science and plant analysis, 35(7-8):1007-1019.
- Mandal, B.; Vlek, P.L.G. y Mandal, L.N. (1999). Beneficial effects of blue-green algae and *Azola*, excluding supplying nitrogen, on wetland rice fields: a review. Biology and Fertility of Soils 28: 329-342.
- Mehta, V.B. y Vaidya, B.S. (1978). Cellular and Extracellular Polysaccharides of the Blue-gree Alga *Nostoc*. Journal of Experimental Botany 29 (113): 1423-1430.
- Molope, M.B.; Page, E.R. y Grieve, I.C. (1985). A comparison of soil aggregate stability tests using soils with contrasting cultivation histories. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 16: 315-322.
- Muguiro, A.; Grasso, R.; Pechin, C.; Olivieri, P. (2013). Resultados del Censo Hortícola de la provincia de La Pampa, campaña 2010-2011. Revista Horticultura Argentina Vol. 32 Nº 79.
- Pedurand, P. y Reynaud, P.A. (1987). Do cyanobacteria enhance germination and growth of rice?. Plant and Soil 101: 235-240.
- Pinheiro, J.; Bates, D.; DebRoy, S.; Sarkar, D y R Core Team (2016). nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-127. URL http://CRAN.R-project.org/package=nlme.
- Porta Casanellas, J.; López Acevedo Reguerín, M. y Roquero De Laburu, C. (1999). Edafología para la agricultura y el medio ambiente. Ediciones Mundi. España. 848 pp.
- Raven, P. H; Evert, R. F. y Eichhorn, S. E. (1992). Biología de las plantas. 2° ed. Editorial Reverte. Capítulo 19, pp: 381 y 501.
- R Core Team. (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. URL http://www.r-project.org/

- Rebollo, M.A. (2014). Efecto acumulado de dos abonos orgánicos sobre el suelo y el rendimiento de lechuga (*Lactuca sativa* L. var Brisa), en un Haplustol éntico, Santa Rosa, La Pampa. Trabajo Final de Graduación para alcanzar el grado de Ingeniero en Recursos Naturales y Medio Ambiente. UNLPam. 75 pp.
- Roberto, Z. E.; Casagrande, G.A. y Viglizzo, E. F. (1994). Lluvias en La Pampa Central, tendencias y variaciones del siglo. Centro Regional La Pampa- San Luis. Publicación Nº 2. Santa Rosa La Pampa.
- Rodgers, G.A.; Bergman, B.; Henriksson, E. y Udris, M. (1979). Utilization of blue-green algae as biofertilisers. Plant and Soil 52, 99-107.
- Rogers, S.L. y Burns, R.G. (1994). Changes in aggregate stability, nutrient status, indigenous microbial populations, and seedling emergence, following inoculation of soil with *Nostoc muscorum*. Biology and Fertility of Soils 18, 209-215.
- Sainato, C. M., Galindo, G. y Heredia, O. (2006). Agua subterránea. Exploración y utilización agropecuaria. Editorial Facultad de Agronomía, UBA. 115 pp.
- Siliquini, O; Gregoire, H y Scarone, J. (2001). Evolución de la producción hortícola en la Provincia de La Pampa. XXIV. Congreso Argentino de Horticultura. Jujuy 2001. Horticultura Argentina. Resúmenes 20 (48).
- Siliquini, O y Mendoza, M.(2008). Diagnóstico sobre las características de la comercialización hortícola en Santa Rosa La Pampa. XXXI Congreso Argentino de Horticultura. Mar del Plata. Resumen 20.
- Singh, R. N. (1961). Role of blue-green algae in nitrogen economy of Indian agiculture. Indian Council of Agricultural Research, New Delhi.
- Svircev, Z.; Tamas, I.; Nenin, P. y Drobac, A. (1997). Co-cultivation of N₂-fixing cianobacteria and some agriculturally important plants in liquid and sand cultures. Applied Soil Ecology 6: 301-308.
- Unión Industrial Argentina. (2008). Debilidades y desafíos tecnológicos del sector productivo. Hortalizas de hojas verdes (acelga, espinaca, lechuga). La Pampa y Santa Cruz. www.cofecyt.mincyt.gob.ar/pcias_pdfs/santa_cruz/UIA_hortalizas_de_hoja_08.pdf, [20 de Junio de 2015].
- Vega Ronquillo, E.; Rodríguez Guzmán, R. y Serrano González, N. (2009). Sustratos orgánicos usados para la producción de ají chay (*Capsicum annuum* L.) en un huerto orgánico intensivo del trópico. UDO Agrícola 9 (3): 522-529.

- Venkataraman, G. S y Neelakantán, S. (1967). Effect of the cellular constituents of the nitrogen fixing blue-green alga *Cylindrosperum muscicola* on the root growth of rice plants. J.Gen. Appl. Microbiology 13: 53-61.
- Vergara, G. y Casagrande, G. (2002). Estadísticas Agroclimáticas de la Facultad de Agronomía, Santa Rosa, La Pampa, Argentina. Rev. Facultad Agronomía. UNLPam. 13: 7-70.
- Villar. D. y Ortega, R. (2003). Medidor de clorofila. Bases teóricas y su aplicación para la fertilización nitrogenada en cultivos. Agronomía y Forestal UC 18:4-8.
- Walkley, S.J. y Black, I.A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science 37: 29-38.
- Yanni, Y.G y El-Rahman, A.A.M. (1993). Assessing phosphorus fertilization of rice in the Nile Delta involving nitrogen and cyanobacteria. Soil Biology and Biochemmistry 25 (2): 289-293.
- Zaccaro de Mulé, M.C.; Zulpa de Caire, G.; Storni de Cano, M.; Palma, R.M. y Colombo Karina. (1999). Effect of cyanobacterial inoculation and fertilizers on rice seedlings and postharvest soil structure. Communications in Soil Science and Plant Analysis 30(1-2): 97-107.
- Zulpa de Caire, G.; Zaccaro de Mulé, M.C.; Doallo, S.; de Halperin, D.R y Halperin, L. (1976). Acción de extractos algales acuosos y etéreos de *Nostoc muscorum* AG. I. Efecto sobre plántulas de Mijo (*Panicum miliaceum* L.) mediante tratamiento de sus semillas. Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica 17 (3-4): 289-300.

ANEXO

Tabla 2: Valores medios y desvío estándar de variables medidas en cultivo y en suelo en el <u>primer ensayo</u>, donde U: Urea; C: Control; N: Bioderma algal; N+U: Bioderma algal +Urea. Entre paréntesis y en cursiva desvío estándar.

	Altura de				Peso		
	la planta	Longitud	Longitud	Peso fresco	fresco	Peso fresco	Peso seco
Tratamiento	(cm)	Raíz (cm)	Total (cm)	Aéreo (g)	Raíz (g)	Total (g)	Aéreo (g)
	2,83 c	7,28 c	10,12 <i>b</i>	0,13 c	0,04 b	0,15 c	0.02 c
U	(1,27)	(1,93)	(3,10)	(0,11)	(0,05)	(0,15)	(0,01)
	3,24 <i>c</i>	9,09 b	12,33 <i>b</i>	0,15 c	0,10 b	0,25 c	0,02 c
C	(0,80)	(1,31)	(2,05)	(0,09)	(0,06)	(0,15)	(0,02)
	6,38 b	13,77 a	20,15 a	0,99 b	0,44 a	1,44 <i>b</i>	0,11 b
N	(0,77)	(2,87)	(2,79)	(0,34)	(0,17)	(0,41)	(0,05)
	7,35 a	13,04 a	20,39 a	1,53 a	0,58 a	2,11 a	0,17 a
N+U	(0,87)	(1,71)	(2,15)	(0,63)	(0,26)	(0,80)	(0,07)

Tratamiento	Peso seco Raíz (g)	Peso seco Total (g)	Área foliar (cm2)	Carbono Orgánico (%)	Materia Orgánica (%)	Nitrógeno (%)	C/N
U	0,01 <i>c</i> (0,02)	0,03 <i>c</i> (0,03)	1,78 <i>c</i> (1,40)	0,62 <i>b</i> (0,04)	1,17 <i>b</i> (0,11)	0,08 ab (0,03)	7,8
С	0,01 <i>c</i> (0,01)	0,03 <i>c</i> (0,02)	2,81 <i>c</i> (1,46)	0,68 <i>b</i> (0,07)	1,07 <i>b</i> (0,07)	0,06 <i>b</i> (0,01)	11,3
N	0,06 <i>b</i> (0,02)	0,17 <i>b</i> (0,07)	13,50 <i>b</i> (3,77)	1,27 <i>a</i> (0,17)	2,18 <i>a</i> (0,30)	0,09 <i>a</i> (0,03)	14,1
N+U	0,08 a (0,03)	0,26 <i>a</i> (0,09)	18,59 <i>a</i> (5,88)	1,18 <i>a</i> (0,24)	2,03 <i>a</i> (0,41)	0,10 <i>a</i> (0,04)	11,8

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

Tabla 3: Valores medios y desvío estándar de variables medidas en cultivo y en suelo en el <u>segundo ensayo</u>, donde U: Urea; C: Control; N: Bioderma algal; N+U: Bioderma algal +Urea. Entre paréntesis y en cursiva desvío estándar.

Tratamiento	Altura de la planta (cm)	Longitud Raíz (cm)	Longitud Total (cm)	Peso fresco Aéreo (g)	Peso fresco Raíz (g)	Peso fresco Total (g)
U	9,53 c (1,44)	12,97 b (2,68)	22,50 b (3,63)	2,70 c (0,63)	1,36 c (0,40)	4,06 c (0,92)
С	4,69 d (0,46)	13,20 b (3,26)	17,89 c (3,25)	0,82 d (0,23)	0,50 d (0,22)	1,32 d (0,41)
N	12,29 b (0,89)	20,64 a (4,01)	32,93 a (4,06)	5,48 b (1,83)	1,81 b (0,64)	7,29 b (2,37)
N+U	13,37 a (1,42)	18,07 a (3,82)	31,44 a (4,46)	7,87 a (2,53)	2,72 a (1,06)	10,59 a (3,38)

Tratamiento	Peso seco Aéreo (g)	Peso seco Raíz (g)	Peso seco Total (g)	Área foliar (cm²)	N° de hojas	Índice de verdor
U	0,28 c (0,07)	0,11 c (0,02)	0,39 c (0,09)	30,31 b (7,28)	9,13 b c (0,74)	31,32 a (3,60)
С	0,14 d (0,04)	0,07 c (0,02)	0,21 d (0,06)	7,75 c (1,78)	7,33 c (0,49)	18,78 b (2,98)
N	0,49 b (0,20)	0,18 b (0,07)	0,67 b (0,27)	56,51 a (8,94)	11,07 a b (1,07)	30,44 a (1,70)
N+U	0,75 a (0,21)	0,25 a (0,08)	1,00 a (0,28)	60,09 a (7,82)	11,6 a (0,83)	31,3 a (2,05)

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