

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA

Solubilización de roca fosfórica Carolina del Norte por cepas de *Aspergillus niger* Van Tieghem y su evaluación en plántulas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) en invernadero

Tesis presentada como parte de los
requisitos para optar al Grado de
Licenciado en Agronomía

Shirley Anouk Schwaner Aguilera

Valdivia-Chile

2006

Profesor patrocinante

Eduardo Valenzuela F
Lic.Cs.,M.Sc.Dr.Cs.

Profesor Copatrocinante

Dante Pinochet T
Ing.Agr., M.Sc., Ph.D.

Profesor Informante

Nancy Andrade S
Ing.Agr., M.Sc.

INDICE DE MATERIAS

Capítulo		Pág
1	INTRODUCCIÓN	1
2	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1	Fósforo en el suelo	4
2.1.1	Formas de fósforo en el suelo	4
2.1.2	Dinámica del fósforo en el suelo	5
2.1.3	Fertilizantes fosforados	6
2.2	Roca fosfórica	8
2.2.1	Características principales de las rocas fosfóricas	9
2.2.1.1	Eficiencia agronómica relativa	9
2.2.1.1.1	Naturaleza química y reactividad	9
2.2.1.1.2	Forma física	12
2.2.1.1.3	Propiedades del suelo	12
2.2.1.1.4	Tipo de cultivo o especie de la pradera	13
2.2.1.1.5	Condiciones climáticas	14
2.2.2	Roca fosfórica Carolina del Norte	14
2.2.2.1	Reactividad de la roca	14
2.2.2.2	Características químicas	14
2.2.2.3	Forma física de la roca	15
2.2.3	Efectividad de la roca fosfórica Carolina del Norte en la agricultura	16
2.3	Solubilización de fósforo por microorganismos del suelo	17
2.3.1	Transformaciones microbiales del fósforo	17
2.3.2	Hongos solubilizadores de fosfatos en el suelo	18
2.3.2.1.	Mecanismos de acción en la solubilización del fósforo	19
2.3.2.2	Promoción en el crecimiento de plantas por hongos solubilizadores de fosfatos	21
2.3.3	<i>Aspergillus niger</i> como solubilizador de fosfatos	21

2.4	Cultivo de la lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.)	22
2.4.1	Características de la especie	23
2.4.2	Diversidad y variedades de lechuga	24
2.4.3	Variedad a utilizar durante el ensayo	24
2.4.4	Requerimientos del cultivo	25
2.4.4.1	Clima	25
2.4.4.2	Temperatura	26
2.4.4.3	Suelo	26
2.4.4.4	Agua	26
2.4.4.5	Nutrientes	27
2.4.5	Cultivo de lechuga bajo invernadero	28
2.4.6	Importancia del cultivo en Chile	29
3	MATERIAL Y METODO	30
3.1	Materiales	30
3.1.1	Material biológico	30
3.1.2	Reactivos	30
3.1.3	Equipos	31
3.1.4	Otros	31
3.2	Método	31
3.2.1	Ubicación del ensayo	32
3.2.2	Suelo a utilizar durante el ensayo	32
3.2.2.1	Colecta del suelo	32
3.2.2.2	Caracterización del suelo	32
3.2.3	Masificación de cepas fúngicas	33
3.2.4	Preparación de los sustratos para el cultivo de plántulas de lechuga	33
3.2.4.1	Suelo	33
3.2.4.2	Esterilización	34
3.2.4.3	Fuentes de fertilización	34
3.2.5	Establecimiento del ensayo	35
3.2.6	Evaluación del material vegetal de plántulas de lechuga	36
3.2.6.1	Evaluación del crecimiento	36

3.2.6.1.1	Emergencia	37
3.2.6.1.2	Sobrevivencia	37
3.2.6.1.3	Largo radical	37
3.2.6.1.4	Largo aéreo	37
3.2.6.1.5	Largo total	37
3.2.6.1.6	Número de hojas	37
3.2.6.1.7	Materia fresca	38
3.2.6.1.8	Materia seca	38
3.2.6.1.9	Determinación de la concentración de fósforo	38
3.2.7	Evaluación del efecto y determinación de solubilización de fósforo de la RFCN por <i>A. niger</i> sobre fósforo disponible y pH del suelo	39
3.3	Diseño experimental y estadístico	39
4	PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	41
4.1	Evaluación del efecto de la adición de las cepas de <i>A. niger</i> a la roca fosfórica Carolina del Norte sobre el fósforo disponible y pH del suelo	41
4.2	Evaluación del efecto de la adición de las cepas fúngicas de <i>A. niger</i> a la roca fosfórica Carolina del Norte sobre la materia seca, fresca y concentración de fósforo en plántulas de lechuga cultivadas bajo distintos tratamientos.	47
4.3	Evaluación del efecto de la adición de las cepas de <i>A. niger</i> a la roca Carolina del Norte sobre el crecimiento de plántulas de lechuga cultivadas bajo distintos tratamientos	51
5	CONCLUSIONES	60
6	RESUMEN	62
	SUMMARY	64
7	BIBLIOGRAFÍA	66
	ANEXOS	73

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Contenido de anhídrido fosfórico y óxido de calcio de fosfatos solubles en agua y de rocas fosfóricas que se comercializan en la X Región.	11
2	Características químicas de roca fosfórica Carolina del Norte.	15
3	Tratamientos para el cultivo de plántulas de lechuga.	40
4	Análisis estadístico del fósforo disponible (ppm P Olsen) y pH del suelo después de un período de 30 días.	42
5	Análisis estadístico del peso de la materia fresca (g) y materia seca (g), concentración de fósforo (%) por macetas de plántulas de lechuga <i>Great lakes</i> después de un período de crecimiento de 30 días	48
6	Análisis estadístico del porcentaje de emergencia y sobrevivencia de plántulas de lechuga var. <i>Great lakes</i> después de un período de crecimiento de 30 días.	52
7	Análisis estadístico del largo radical (cm), largo aéreo (cm), número de hojas y largo total (cm) de plántulas de lechuga <i>Great lakes</i> después de un	

plántulas de lechuga Great lakes después de un 55
período de crecimiento de 30 días.

INDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Variables de crecimiento en plántulas de lechuga medidas a partir de 30 días de cultivo considerando tres repeticiones por tratamiento	74
2	Variables de crecimiento de plántulas de lechuga cultivadas por 30 días considerando tres repeticiones por tratamiento	75
3	Fósforo disponible y pH del suelo medidos al cabo de 30 días considerando tres repeticiones por tratamiento	76
4	Análisis de varianza (ANDEVA) para el promedio de fósforo disponible del suelo	77
5	Análisis de varianza (ANDEVA) para el promedio de pH del suelo	77

6	Análisis de varianza (ANDEVA) para el promedio de materia fresca de plántulas de lechuga cultivadas por 30 días bajo distintos tratamientos	78
7	Análisis de varianza (ANDEVA) para el promedio de materia seca de plántulas de lechuga cultivadas por 30 días bajo distintos tratamientos	78
8	Análisis de varianza (ANDEVA) para el promedio de concentración de fósforo de plántulas de lechuga cultivadas por 30 días bajo distintos tratamientos	79
9	Análisis de varianza (ANDEVA) para el promedio del porcentaje de emergencia de plántulas de lechuga cultivadas por 30 días bajo distintos tratamientos	79
10	Análisis de varianza (ANDEVA) para el promedio del porcentaje de sobrevivencia de plántulas de lechuga cultivadas por 30 días bajo distintos tratamientos	80

Anexo		Página
11	Análisis de varianza (ANDEVA) para el promedio de largo radical de plántulas de lechuga cultivadas por 30 días bajo distintos tratamientos	80
12	Análisis de varianza (ANDEVA) para el promedio de largo aéreo de plántulas de lechuga cultivadas por 30 días bajo distintos tratamientos	81
13	Análisis de varianza (ANDEVA) para el promedio de número de hojas de plántulas de lechuga cultivadas por 30 días bajo distintos tratamientos	81
14	Análisis de varianza (ANDEVA) para el promedio largo total de plántulas de lechuga cultivadas por 30 días bajo distintos tratamientos	82
15	Preparación de la solución nutritiva aplicada al cultivo de plántulas de lechuga durante el ensayo	82

1 INTRODUCCIÓN

Un alto porcentaje de la superficie arable del país está representada por los suelos trumaos (orden Andisol), los que son naturalmente bajos en fosfatos disponibles para el crecimiento de las plantas. De esta forma se entiende que se debe agregar cantidades altas de fertilizantes fosforados para cubrir los requerimientos de las plantas y obtener buenos rendimientos. Usualmente éste es aportado a través de fertilizantes fosfóricos tradicionales como superfosfatos, los cuales en su producción envuelven problemas ambientales, particularmente relacionados al uso de ácidos durante la descomposición de fosfatos naturales. Por otro lado, una gran parte del fósforo soluble introducido como fertilizante reacciona con los componentes del suelo formando complejos insolubles.

Actualmente, el concepto de sustentabilidad envuelve la aplicación de alternativas estratégicas basadas en el uso de fuentes naturales de nutrientes para las plantas que sean de bajo costo como las rocas fosfóricas. Éstas han sido propuestas como una alternativa de uso para suelos ácidos cuya solubilidad depende de los reemplazos de los fosfatos por los carbonatos, fluoruros e hidróxidos presentes en la composición de la roca. Sin embargo, su directa aplicación no siempre es efectiva, especialmente para suelos no ácidos, sin un tratamiento químico preliminar, además de que las rocas fosfatadas poseen una baja solubilidad.

Para aumentar esta disponibilidad se han reportado diversos mecanismos en los cuales la existencia de microorganismos, capaces de transformar los fosfatos insolubles a formas solubles, se han registrado por muchos investigadores. Así bacterias, hongos, levaduras, y especies de

Actinomycetes capaces de solubilizar fósforo escasamente soluble en cultivos puros han sido aislados de suelos y muestras de rizósferas. También, se ha encontrado que éstos estarían en una alta proporción en la rizósfera de las plantas en donde se ha asumido que los hongos filamentosos tienen una mayor actividad solubilizadora que las bacterias y otros microorganismos.

Por otro lado, estudios señalan que existen diversos hongos filamentosos que son capaces de cruzar distancias más fácilmente que las bacterias y así pueden ser más importantes en la solubilización de fósforo en el suelo. Los hongos solubilizadores de fósforo de la rizósfera o volumen de suelo que han sido encontrados predominantemente correspondieron a los géneros *Aspergillus spp* y *Penicillium*, cuya acción estaría dada por la producción de ácidos orgánicos y quelación.

En estudios realizados en la Universidad Austral de Chile, *A. niger* logró ser más eficiente en la solubilización de fosfatos provenientes de la roca Carolina del Norte que otros hongos, superando ampliamente los niveles de fósforo disponible en el medio que lo señalado en literatura, lo que plantea la posibilidad de su potencial uso en condiciones de campo e invernadero en beneficio de la agricultura. Esta razón motiva la inquietud de investigar la acción solubilizadora de *A. niger* sobre la roca fosfórica Carolina del Norte, evaluando su efecto sobre el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa var. crispata*) hortaliza de hoja más consumida a nivel mundial, bajo condiciones de invernadero.

De acuerdo a esto, la hipótesis planteada para esta investigación, consiste en que las cepas de *Aspergillus niger*, al incrementar el contenido de fósforo disponible en el suelo, proveniente de la solubilización de la roca fosfórica Carolina del Norte, permiten un aumento del fósforo Olsen y un mayor crecimiento de plántulas de lechuga.

Los siguientes objetivos se postulan para aceptar o rechazar la hipótesis:

Objetivo general: Evaluar la solubilización de fósforo proveniente de la roca Carolina del Norte por cepas de *Aspergillus niger*, a través del fósforo disponible y el efecto sobre la productividad de plántulas de lechuga para trasplante.

Objetivos específicos:

- Evaluar y determinar el efecto de la adición de las cepas de *A. niger* a la roca Carolina del Norte, sobre el nivel de fósforo disponible y acidez (pH) del suelo después de un período de 30 días.
- Evaluar el efecto de la adición a la roca fosfórica Carolina del Norte de las cepas de *A. niger* sobre las variables de crecimiento y concentración de fósforo de plántulas de lechuga después de 30 días.
- Comparar el efecto solubilizador de fósforo de dos cepas de *A. niger* sobre la roca Carolina del Norte en el fósforo disponible y acidez producida en el suelo, así como también, sobre el crecimiento y concentración de fósforo en plántulas de lechuga.

2 REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

2.1 Fósforo en el suelo

El fósforo es un macroelemento esencial para el crecimiento de las plantas y un constituyente fundamental de los sistemas de captación, almacenamiento y transferencia de energía (Havlin *et al.*, 1999 citados por BARRERA, 2002).

Las plantas pueden absorber el fósforo como ión ortofosfato ($\text{H}_2\text{PO}_4^{-1}$ y HPO_4^{-2}) desde la solución del suelo, siendo el ión $\text{H}_2\text{PO}_4^{-1}$ de más rápida absorción por parte de las plantas. La especie iónica predominante dependerá del pH del suelo. Es así como a pH más bajo (ácido) predomina $\text{H}_2\text{PO}_4^{-1}$ y pH más alto (básico) predomina la forma HPO_4^{-2} (TISDALE *et al.*, 1993).

En cuanto a la concentración de fósforo en la solución del suelo, Ozanne (1980), citado por WHITELAW (2000), señala que esta es pequeña. Con un rango de entre 0,01 a 0,3 mg P/L.

2.1.1 Formas de fósforo en el suelo. Los fosfatos contenidos en el suelo pueden dividirse en orgánicos e inorgánicos. Ambas fuentes pueden llegar a ser fósforo disponible para las plantas (BLACK, 1975). Además, estas formas varían de acuerdo al tipo de suelo y prácticas de fertilización entre otros (BRADY y WEIL, 1999).

En cuanto a los fosfatos orgánicos TISDALE *et al.* (1993) señala que son tres los grupos conocidos: inositol fosfato o ésteres de fosfato, ácidos nucleicos

y fosfolípidos, que se cree son sintetizados por microorganismos, cuya proporción del fósforo total orgánico del suelo es de aproximadamente un 10–50%, 1-5% y 0,2-2,5 % respectivamente.

Se señala también que el fósforo soluble orgánico sería más móvil que el inorgánico, dado que este último es más adsorbido por las arcillas (BRADY y WEIL, 1999).

Por otro lado en relación a los fosfatos inorgánicos BRADY y WEIL (1999) los agrupan de acuerdo a los que poseen calcio, y aquellos que contienen aluminio y hierro, los cuales son más o menos solubles de acuerdo al pH de los suelos.

2.1.2 Dinámica del fósforo en el suelo. BARROW (1980) determinó que el fósforo funcionalmente se encuentra en el suelo bajo tres compartimentos: en solución, en la fracción lábil y en la fracción no lábil. El fósforo en solución corresponde a la forma inmediatamente aprovechable por el cultivo, la segunda a la forma en equilibrio directo con la solución y disponible durante la temporada de cultivo, y por último la no lábil que es aquella aprovechable en un largo plazo y que no se encuentra en equilibrio directo con la solución del suelo. Todas estas son divisiones sólo de carácter funcional y no implican formas reales en las cuales se encuentre el fósforo en el suelo (PINOCHET,1990).

Por su parte RODRÍGUEZ (1993) señala que el fósforo lábil formaría enlaces compartiendo el oxígeno con el aluminio estructural de las arcillas. Esta reacción sería la que ocurre especialmente con las arcillas alofánicas.

Este autor también indica en cuanto al fósforo no lábil que correspondería a anión fosfato adsorbido dentro de las arcillas o de los óxidos de hierro, vía mecanismo de difusión intrapartículas.

De este modo los procesos de transferencia y disponibilidad de fósforo ocurren mediante tres mecanismos:

- a) Adsorción–desorción, a través de la reacción del fosfato con las arcillas
- b) Precipitación–disolución, a través de la formación de compuestos fosforados dependiendo del pH
- c) Mineralización–inmovilización, del fósforo de la materia orgánica

De acuerdo a esto al fertilizar con una fuente fosforada soluble se produciría un flujo de concentración hacia la fracción lábil y luego al aumentar ésta a la fracción no lábil, lo que lleva a una lenta difusión intrapartículas vinculada a la adsorción.

Por otro lado, aquellos fertilizantes que no llegan a la solución, estarían bajo compuestos precipitados en dichos compartimentos. Por último, las fuentes no solubles serían adsorbidos en los “pool” lábil y no lábil (RODRÍGUEZ, 1993).

2.1.3 Fertilizantes fosforados. En un principio la fertilización fosforada fue realizada a través del uso de harina de huesos, cuyo contenido de ácido fosfórico era del orden de 20,5 a 29%. Sin embargo, esta fuente fue agotada y reemplazada posteriormente por el uso de rocas fosfatadas de origen ígneo o marino, esta última de mayor valor dado que posee 80% de apatita, mineral fosforado (TISDALE *et al.*, 1993).

Es así como a partir de este mineral se fabrican actualmente los fertilizantes fosforados, los cuales difieren en su composición química y solubilidad.

Según AOAC, (Oficial Methods of Análisis) usado en Chile, la clasificación de estos fertilizantes, de acuerdo a su solubilidad es la siguiente:

aquellos en que la mayor parte del fósforo es soluble en agua, aquellos no fácilmente solubles en agua, pero sí en citrato de amonio (1N pH 7) y aquellos insolubles en citrato de amonio.

De acuerdo a lo señalado por TISDALE *et al.* (1993), en los suelos ácidos el contenido de fósforo soluble en agua y citrato es disponible para vegetales, en cambio en suelos básicos sólo el fósforo soluble en citrato es el disponible.

Por otra parte SIERRA (1990), clasifica los fertilizantes fosfatados de acuerdo al contenido de calcio, así por ejemplo:

- a) Fosfatos tricálcicos como rocas fosfóricas: Bifox, Sechura, Carolina del Norte, Tribono.
- b) Fosfatos bicálcicos. Bifox, fosfato de magnesio fundido, Rhenanaia, escorias Thomas, etc.
- c) Fosfatos monocálcicos: superfosfato triple, superfosfato normal.

Respecto a la solubilidad de cada uno de estos compuestos fosforados, este mismo autor indica que los primeros son insolubles en agua y citrato, sin embargo en ácido cítrico presentan una mayor solubilidad.

Los fosfatos bicálcicos son solubles en citrato. Estos fueron usados en los suelos de la zona sur en la década del 1970. Corresponden a fosfatos térmicos, subproducto de la siderurgia o minerales fosfatados tratados con calor.

En cuanto a los fosfatos monocálcicos son minerales solubles en agua y de bajo contenido de calcio. Por otro lado, el superfosfato triple 17 a 23% fósforo (44 a 52% P_2O_5 usualmente 46%) resulta del tratamiento de la roca

fosfatada con ácido fosfórico, con lo que se obtiene un fertilizante de mayor contenido de fósforo, bajo en calcio y casi sin azufre, sin efecto sobre la acidez del suelo (SIERRA, 1990).

2.2 Roca fosfórica

Las rocas fosfóricas son minerales ricos en fósforo que generalmente presentan un alto contenido de calcio. Químicamente corresponden a fosfatos tricálcicos o apatitas, cuya principal característica es su escasa solubilidad en agua (SIERRA, 1990).

En la actualidad el uso de las rocas fosfóricas se visualizan como productos naturales de lenta entrega de fósforo, con características potenciales apropiadas para estimular el rendimiento y productividad de cultivos y praderas, especialmente en suelos de origen volcánico (Andisoles y Ultisoles) los que representan un 50-60% del total de los suelos arables del país, que son altamente fijadores de fósforo, con características ácidas y con una baja disponibilidad de fósforo (ROJAS *et al.*, 1993).

Por otro lado, para Chile es interesante el estudio de validación agrícola de las rocas fosfóricas, por lo anteriormente señalado y por el hecho de existir en el país yacimientos fosfóricos de cierta importancia (SEPÚLVEDA *et al.*, 1997).

La propiedad de las rocas fosfóricas de ser insolubles en agua producen que la reacción con el suelo sea mínima, se libera inicialmente una cantidad menor de fósforo y no se desprende a la vez una solución ácida. Por tal motivo se reduce la formación de precipitados, lo cual es una ventaja (PINILLA, 1994).

Este comportamiento es distinto de lo que ocurre con los fertilizantes que son solubles, que al inducir una reacción de adsorción del fosfato casi instantáneamente en los componentes del suelo, restringen el aprovechamiento del fósforo por las plantas (Hingston *et al.*, 1967 citados por SEPÚLVEDA *et al.*, 1997).

La entrega pequeña, pero sostenida de fósforo que aportan las rocas fosfóricas durante las distintas etapas de crecimiento de las plantas, especialmente cuando existe una rizósfera desarrollada, facilita la competencia de ellas por el fósforo (SEPÚLVEDA *et al.*, 1997). Sin embargo, esta baja entrega inicial no satisface a veces la demanda en la primera etapa de vida de las plantas (PINILLA, 1994); razón por la cual la roca fosfórica ha sido recomendada para cultivos de ciclos largos o praderas permanentes (CAMPILLO, 1990). Esto permite postular que el mejor fertilizante es aquel que puede entregar equilibradamente su fósforo en función de la demanda en el ciclo de crecimiento de los cultivos y del rendimiento esperado (ROJAS *et al.*, 1993).

2.2.1 Características principales de las rocas fosfóricas. Las características más importantes presentes en las rocas fosfatadas son las siguientes:

2.2.1.1 Eficiencia agronómica relativa (EAR). La efectividad relativa de cualquier roca fosfórica en particular puede variar notoriamente dependiendo de la naturaleza química y reactividad, forma física, propiedades del suelo, tipo de cultivo o especies de la pradera, condiciones climáticas.

2.2.1.1.1 Naturaleza química y reactividad. Las rocas fosfóricas son heterogéneas en su composición y propiedades (Besoain *et al.*, 1991 citados por SEPÚLVEDA *et al.*, 1997).

En términos generales las rocas fosfóricas, además de poseer fósforo y calcio, presentan elementos tales como magnesio y potasio que están en relativas bajas concentraciones, así mismo como ocurre con el azufre cuyo contenido es aún menor. Respecto al cloro, que está presente en muchas de ellas, presenta cantidades bajas no consideradas nocivas.

Por otro lado los contenidos de óxidos de hierro y aluminio son considerados como indeseados para estos minerales.

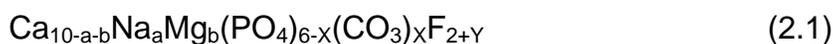
Sin embargo, un elemento que neutraliza su actividad es el óxido de silicio que sí se desea en la roca, en el sentido de incorporar al suelo este elemento para mejorar la relación silicio-aluminio, la que es baja en los suelos de la zona sur (SIERRA, 1990). En el Cuadro 1 se indican los porcentajes de fósforo y calcio de los principales fertilizantes comercializados en la X Región.

CUADRO 1 Contenido de anhídrido fosfórico y óxido de calcio de fosfatos solubles en agua y de rocas fosfóricas que se comercializan en la X Región.

Fosfatos solubles en agua	P ₂ O ₅ (%)	CaO (%)	
Fosfato monoamónico	50	02,4	
Fosfato diamónico	45	01	
Superfosfato triple	45	20	
Superfosfato normal	23	32	
Rocas fosfóricas insolubles en agua			Origen
Bifox	18	33	Caldera-Chile
Sechura	30	48	Sechura-Perú
Tribono	20	27	La Serena-Chile

FUENTE: SIERRA 1990.

La formula química general para las rocas fosfóricas es la siguiente:



Lo que corresponde al mineral conocido como apatita, en este caso la existencia del radical F lleva a la denominación fluorapatita, que es la más común. El radical F puede ser reemplazado por OH⁻ o Cl⁻ denominándose hidroxiapatita o cloroapatita. Los elementos Na, Mg y CO₃ son impurezas en reemplazo de Ca²⁺ o PO₄⁻. El fósforo contenido en la roca fosfórica es asimilado por la planta de acuerdo al origen de ésta y es mayor según el grado de sustitución isomórfica de la apatita (CO₃ por PO₄) lo que reduce el tamaño de los cristales y aumenta la superficie específica de los agregados (TISDALE *et al.*, 1993).

La reactividad de las rocas fosfóricas está determinada por su composición química y puede ser evaluada experimentalmente por su solubilidad en extractantes ácidos diluídos (CAMPILLO, 1991).

Dichos ácidos son citrato de amonio a pH 7, ácido cítrico al 2%, y ácido fórmico. La determinación con citrato de amonio a pH 7 es un índice de solubilidad en el mediano plazo. La solubilidad en ácido cítrico al 2% es un indicador del comportamiento de la roca fosfórica en un medio más ácido. Para el caso del ácido fórmico este posee una mayor actividad (SIERRA, 1990).

La cantidad de fósforo solubilizado por una determinada solución, no tiene el mismo significado para una roca fosfórica que para un fertilizante manufacturado. La solubilidad del fósforo o la reactividad de una roca fosfatada solamente indica un índice relacionado con la velocidad a la cual la roca se disuelve y se hace disponible para las plantas (PINILLA, 1994).

2.2.1.1.2 Forma física. En cuanto a la forma física de la roca, se recomienda que sean finamente molida, con características de polvo fino o arena muy fina esto debido a su baja solubilidad lo que permite una mayor reactividad de la roca por la mayor superficie de contacto con el suelo y con las raíces de las plantas (SIERRA, 1990).

2.2.1.1.3 Propiedades del suelo. Dentro de los factores de suelo que afectan la efectividad de las rocas fosfóricas se encuentran el pH, calcio, aluminio intercambiable, contenido de fósforo, mineralogía de las arcillas y porcentaje de materia orgánica (TISDALE *et al.*, 1993).

Para un efecto favorable en la aplicación de la roca fosfórica el pH debe ser bajo (ácido) menor a 6,5 dado que se ha estimado que el efecto de este material fertilizante a un pH mayor pierde efectividad.

Respecto al calcio para un mejor resultado se estima que éste debe existir en una menor concentración en la solución del suelo, al igual que el contenido de fósforo en la solución (SIERRA, 1990).

2.2.1.1.4 Tipo de cultivo o especies de la pradera. Según estudios realizados en Chile donde se ha probado el efecto de rocas fosfóricas sobre cultivos y praderas, se ha destacado el eficiente comportamiento de las rocas fosfóricas de alta reactividad, como la de Bahía Inglesa, Bayovar y Carolina del Norte en la aplicación directa a raps, lo que ha resultado en un aumento en el rendimiento de grano y aceite de este cultivo, comparándose a la aplicación de fertilizantes fosforados solubles (ROJAS *et al.*, 1993).

Por otro lado ensayos en trigo, citados por el mismo autor indican que el rendimiento en grano de esta especie ha sido menor al ser comparada con fertilizantes fosforados solubles, que con la adición de roca en forma directa. Sin embargo, cuando se ha aplicado un pequeño porcentaje de fertilizante fosforado soluble ("*starter*") los rendimientos fueron mayores.

En las praderas, la aplicación de roca fosfórica se ha postulado como una alternativa verdadera para su fertilización de mantención, especialmente en suelos ácidos (pH menor a 6,0). Esto ha sido demostrado en estudios en Nueva Zelanda, cuyas características climáticas, de suelo y especies pratenses es similar a los lugares donde experimentalmente se han adicionado al suelo rocas fosfórica Sechura y Carolina del Norte, comparando su efecto con fertilizantes monocálcicos, obteniéndose un resultado que indica que los mayores efectos positivos se han logrado en praderas permanentes versus cultivos de cereales y praderas anuales (CAMPILLO, 1990). Esto se explica por la entrega lenta de fósforo que muchas veces no sustenta la demanda inicial de las plantas (ROJAS *et al.*, 1993).

Por otra parte, se ha establecido que las raíces de algunas plantas como el lupino pueden secretar ácidos orgánicos que permiten solubilizar el fosfato de las partículas de roca fosfórica (SIERRA, 1990).

2.2.1.1.5 Condiciones climáticas. Respecto a las condiciones climáticas los factores que influyen sobre la efectividad de las rocas fosfóricas son: temperatura, humedad y viento causante de deriva en estos materiales (SIERRA, 1990).

2.2.2 Roca fosfórica Carolina del Norte. La roca fosfórica Carolina del Norte de propiedad de Texasgulf, tiene aspecto de una arena gruesa, consistente en gránulos semiredondeados o esféricos, de color gris oscuro o gris-negro.

De acuerdo a lo señalado en literatura ésta roca debe ser finamente molida para ser agronómicamente efectiva. Sin embargo, debido a la porosidad natural de ella, posee un área superficial superior a cualquier otra roca, y aunque la molienda mejora el área superficial, ello no es necesario para lograr efectos positivos (CAMPILLO, 1991).

2.2.2.1 Reactividad de la roca. Esta es determinada por su respuesta a extractantes ácidos, a partir de los cuales se ha establecido que la roca Carolina del Norte es considerada una de las más reactivas del mundo (CAMPILLO, 1991).

2.2.2.2 Características químicas. Las propiedades químicas más importantes de la roca Carolina del Norte, son resumidas en el Cuadro 2.

CUADRO 2 Características químicas de la roca fosfórica Carolina del Norte.

Característica química	Carolina del Norte (%)
Citrato de Amonio 2° extracción	2,9
Ácido Cítrico 2%	6,7
Ácido Fórmico 2%	8,5
P ₂ O ₅	30,0
CaO	48,2
MgO	00,5
K ₂ O	00,1
Na ₂ O	01,2
S	01,0
Cl ⁻	00,0073
Fe ₂ O ₃	00,6
Al ₂ O ₃	00,4
SiO ₂	02,1
F	s/i

FUENTE: SIERRA (1990).

s/i : sin información

2.2.2.3 Forma física de la roca. Como fue expuesto, la roca fosfórica Carolina del Norte posee forma de arena gruesa-fina de color gris oscuro, propiedad que favorece su reactividad, en comparación a otras rocas, además presenta una superficie de contacto mayor, por lo que no requiere ser molida (CAMPILLO, 1991).

2.2.3 Efectividad de la roca fosfórica Carolina del Norte en agricultura.

Diversos han sido los estudios que se han realizado utilizando como fuente fosforada la roca Carolina del Norte, uno de estos ensayos corresponde al realizado en la localidad de Cunco, durante dos temporadas en praderas naturalizadas, utilizando esta roca, además de roca Bahía Inglesa (aplicadas directamente) y superfosfato triple. El resultado de este ensayo indicó, que para el segundo año (temporada) se expresa la potencialidad de las rocas fosfóricas en el sentido de obtenerse un mayor rendimiento y contenido de fósforo que en un principio. Sin embargo, los potenciales son menores que al adicionar superfosfato triple. Esto hace concluir que las rocas fosfóricas, en especial Carolina del Norte, satisface los requerimientos de la pradera a largo plazo, no en un principio dada su lenta entrega de fósforo (CAMPILLO, 1991).

Por otro lado CAMPILLO (1991) señala también que la roca fosfórica Carolina del Norte es altamente reactiva, y por lo tanto adecuada para su uso directo como fertilizante en suelos ácidos bajo praderas naturales. Otro ensayo similar al anteriormente expuesto por este autor, fue realizado en la localidad de Hualpín, agrosistema de mayor potencial. En él se obtuvo la misma tendencia respecto al experimento de la localidad Cunco, por lo cual se reafirma lo señalado por CAMPILLO (1991).

SIERRA (1990) señala el buen resultado de la roca fosfórica Carolina del Norte aplicada directamente, en praderas naturalizadas de la X Región, apoyado en un ensayo realizado entre 1989 a 1991 en la serie Osorno, en comparación a las rocas Bahía Inglesa y superfosfato triple. En este caso, también en la primera temporada fue mejor la aplicación del fertilizante monocálcico, pero para las temporadas siguientes resultó mejor la roca Carolina del Norte, dado que el fósforo se hace disponible lentamente, pero de manera sostenida en el tiempo. Además, se indica el aumento de contenido de calcio en el suelo por acción de esta roca.

Respecto a la aplicación de la roca Carolina del Norte sobre cultivos se puede señalar la aplicación directa de ella para la fertilización de raps, (en Gorbea), en la cual se obtuvo un alto rendimiento de grano y aceite en comparación a fertilizantes fosforados solubles (ROJAS *et al.*, 1993).

2.3 Solubilización de fósforo por microorganismos del suelo

La población microbial del suelo está compuesta por cinco grupos principales: bacterias, actinomicetos, hongos, algas y protozoos (ALEXANDER, 1961). La importancia de la actividad de los microorganismos en el ciclo del fósforo se manifiesta por el alto contenido de este elemento en estructuras y organelos microbianos; que en el caso de los hongos, el micelio contiene entre 0,5 y 1,0% y en las bacterias se encuentra entre un 1,5 y 2,5% de fósforo por peso seco (Kaila, 1949; Mulder *et al.*, 1966 citados por REYES, 1991).

Los microorganismos del suelo y las raíces de las plantas participan en la solubilización del fósforo del suelo. Referente a los últimos, diversas investigaciones han comprobado que algunos pueden solubilizar formas no disponibles de fósforo y convertirlas en asimilables por la plantas (NAHAS *et al.*, 1994; REYES, 1991).

Alexander (1977), citado por REYES (1991) señala que bacterias, actinomicetos y hongos pueden solubilizar *in vitro* fosfatos insolubles en cantidades superiores a sus demandas.

2.3.1 Transformaciones microbiales del fósforo. Los factores que afectan la concentración del fósforo en la solución del suelo son de gran trascendencia en el crecimiento de las plantas siendo, en este sentido, de fundamental importancia la actividad de los microorganismos, ya que éstos desarrollan una

serie de acciones mediante las cuales es posible movilizar fósforo en el medio suelo-planta (BORIE *et al.*, 1983).

Estas acciones se condensan principalmente en reacciones de: mineralización de componentes orgánicos con liberación de ortofosfato, inmovilización y solubilización de compuestos de fósforo (TATE, 2000). Géneros de hongos y bacterias como; *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Penicillium*, *Sclerotium* y *Aspergillus*, son efectivos en esta conversión (ALEXANDER, 1961).

2.3.2 Hongos solubilizadores de fosfatos en el suelo. Diversas investigaciones han reportado la utilización de microorganismos solubilizadores de fósforo como fosfatos, para incrementar la disponibilidad de éste para las plantas. Es así como ya en la década del 80 se informó de cepas de hongos capaces de solubilizar fósforo de las rocas fosfatadas (TISDALE *et al.*, 1993).

La habilidad de hongos solubilizadores de fósforo para solubilizar indican que la inoculación de tales hongos podría aumentar la utilización para las plantas de fosfatos del suelo (WHITELAW, 2000).

Por otro lado, de acuerdo al tipo de suelo, el número de microorganismos solubilizadores para el caso de los hongos varía de un 8,1 a un 57,9 % del total de la población fúngica, en contraste con el 7,1 a 55,6% para las bacterias (NAHAS *et al.*, 1994).

En relación a los hongos solubilizadores de fósforo del suelo y rocas fosfatadas, estudios indican principalmente a los siguientes Géneros: *Aspergillus* y *Penicillium* (WHITELAW, 2000). Por otro lado se citan, adicionalmente los Géneros *Trichoderma* (Altomare *et al.*, 1999, citados por

REYES 1991), *Mucor* y *Rhizopus* (Beer y Burns, 1980, citados por REYES, 1991).

2.3.2.1 Mecanismos de acción en la solubilización de fósforo. En relación a los mecanismos por los cuales se realiza la solubilización del fósforo, el más importante estaría dado por la producción de ácidos orgánicos por parte de los microorganismos o por las raíces de los vegetales (Gadd, 1999; Stevenson y Cole, 1999, citados por WHITELAW, 2000).

Esta producción de ácidos orgánicos por parte de hongos u otros microorganismos y de plantas, lograría una disminución del pH del medio o bien se formarían quelatos, con lo cual sería liberado el fósforo de sus fuentes no disponibles (Albert y Serjeant, 1984, citados por WHITELAW, 2000).

Respecto a los quelatos, este mismo autor señala que la quelación de cationes ha mostrado ser un mecanismo importante para la solubilización de fósforo cuando la estructura del ácido orgánico es favorable. Es así como ésta tendría mayor relevancia en aquellos casos en que la estructura de los ácidos orgánicos permita generar quelatos complejos estables con iones metálicos (Fox, 1995; Gadd, 1999; Stevenson y Cole, 1999; Whitelaw, 2000, citados por BARRERA, 2002).

La extensión a la cual un ácido orgánico es capaz de formar una quelación de cationes metales es influenciada mayormente por su estructura molecular (Struthers y Sieling, 1950 citados por WHITELAW, 2000). Así por ejemplo, el calcio forma quelatos fuertes con ácido cítrico, menos fuertes con ácido málico y tartárico y ligeramente con ácido láctico (Florez, 1997, citado por BARRERA, 2002).

Muchas investigaciones señalan que los ácidos orgánicos fueron capaces de solubilizar más fósforo que ácidos inorgánicos al mismo pH con la diferencia presumida principalmente debido a la quelación (WHITELAW, 2000).

Algunos estudios realizados en medios líquidos compararon los cambios de pH en el medio y la solubilización de fósforo por diferentes hongos; en muchos de los cuales, la acidificación (es decir, la disminución del pH) fue un mayor mecanismo de solubilización de fósforo. Así por ejemplo una alta solubilización estuvo a menudo asociada con un bajo pH en la solución final del cultivo y recíprocamente, baja solubilización estuvo a menudo asociada con un alto pH del medio (WHITELAW, 2000).

En algunos casos la solubilización de fósforo inorgánico se ha reportado en ausencia de ácidos orgánicos, principalmente como resultado de la acidificación del medio (Asea *et al.*, 1988, citados por BARRERA, 2002; ILLMER y SCHINNER, 1995), lo cual sería explicado por la excreción de protones desde el citoplasma de la superficie externa de la célula (ILLMER y SCHINNER, 1995).

Las fuentes de nitrógeno en los medios de cultivo también han tenido una clara influencia, según estudios, en la solubilización de fosfatos en el caso de los hongos. Es así como una fuente de amonio produce una mayor producción de ácidos orgánicos y por consiguiente una baja del pH, en comparación a una fuente de nitrato en donde se producen menos ácidos y pH más alto, lo que no favorecería la solubilización (Whitelaw *et al.*, 1999, citados por WHITELAW, 2000).

La habilidad de los hongos solubilizadores de fósforo, para solubilizar componentes de fósforo del suelo "*in vitro*" indican que la inoculación con tales hongos, podría aumentar la utilización para las plantas de fosfatos del suelo

moderadamente solubles. Aunque, es poco probable que los ácidos orgánicos, producidos en la rizósfera permanezcan intactos por bastante tiempo para afectar la mayor parte de fósforo liberado desde el suelo. Es posible que la reducción de pH de la rizósfera y la complejación de cationes pudieran producir una efectiva solubilización de fósforo microambientalmente, resultando en un aumento de este nutriente tomado por las raíces de las plantas (Kucey *et al.*, 1989, citados por WHITELAW, 2000).

2.3.2.2 Promoción en el crecimiento de plantas por hongos solubilizadores de fosfatos. La promoción del crecimiento y el incremento del fósforo por las plantas inoculadas con hongos solubilizadores de fósforo ha sido informado por muchos investigadores, quienes han investigado la habilidad de los hongos solubilizadores, para promover la captación de fósforo y el crecimiento de plantas en suelos bajo condiciones de invernadero. Bajo estas condiciones, los volúmenes arraigados son usualmente restringidos para que sí la solubilización microbiana de fósforo toma lugar, la respuesta de la planta pueda ser superior a los ensayos del campo (Kucey *et al.*, 1989, citados por WHITELAW, 2000).

2.3.3 *Aspergillus niger* como solubilizador de fosfatos. *A. niger* es clasificado como un hongo imperfecto, perteneciente a la Familia *Trichocomaceae*. Posee una gran diversidad biológica reflejada por el número de cepas. Una de sus características principales es su presencia cosmopolita en distintos ecosistemas, marinos, en el suelo, alimentos, entre otros (SAMSON y PITT, 2000).

Estudios han identificado la producción de ácidos orgánicos por *A. niger*, entre los cuales destaca el detectado por Illmer *et al.* (1995), citados por BARRERA (2002) los cuales corresponden a ácido oxálico y cítrico, lo que también concuerda con otros autores (Rose, 1957; Sperber, 1958b; Venkateswarlu *et al.*, 1984; Illmer y Schinner, 1995a y Vassilev *et al.*, 1996,

citados por WHITELAW, 2000). Además de ácido láctico y glucónico los cuales fueron producidos en cantidades mayores (Berry, 1975, citado por WHITELAW, 2000).

Las fluctuaciones en el modelo de solubilización de fósforo en el tiempo por *A. niger* consistieron en lograr un “*peacks*” y luego descender al cabo de un tiempo (Nahas *et al.*, 1990, citados por NAHAS, 1994). Esto sería explicado por la formación y solubilización secundaria de complejos de fósforo orgánico que podrían ser usados como energía o fuente de nutrientes que son requeridas por los hongos (Illmer y Schinner, 1992, citados por WHITELAW, 2000).

Existen estudios en invernadero en los cuales se usaron soluciones de arena y nutrientes, inoculando olmo americano con *A. niger* quien fue capaz de incrementar el rendimiento y el fósforo captado por 600 y 900%, respectivamente, en las cuales las plantas inoculadas fueron comparadas con plantas en medios estériles (WHITELAW, 2000).

2.4 Cultivo de la lechuga (*Lactuca sativa* L.)

En la actualidad a nivel mundial, la lechuga, es la hortaliza de hoja más cultivada y consumida en estado fresco, existiendo variedades para diferentes condiciones y épocas de cultivo (GIACONI, 1990). Su producción es relativamente fácil, siendo posible mejorar la calidad del producto y ampliar los períodos de la disponibilidad de los mejores tipos (CASSERES, 1971).

El centro de origen de la lechuga se encuentra ubicado en la cuenca del Mediterráneo, en cuya zona existen otras tres especies del género ligadas al origen de este cultivo (*L.serriola*, *L.saligna*, *L.virosa*), genéticamente cercanas a *L.sativa*, lo que ha llevado a que se postule que existen relaciones interespecíficas, especialmente con *L.serriola*, con lo que algunos autores

sugerirían que la lechuga cultivada de hoy provendría de esta especie (KRARUP y MOREIRA, 2003).

Desde el Mediterráneo este cultivo se expandió rápidamente por Europa y traída por los conquistadores a América, en donde se ha convertido en una de las hortalizas más populares y de mayor importancia económica, especialmente en los Estados Unidos, donde es la principal hortaliza. En la actualidad se debe considerar una especie de distribución universal (KRARUP y MOREIRA, 2003).

2.4.1 Características de la especie. La lechuga (*L.sativa*) tiene como clasificación taxonómica la Subdivisión *Angiospermae*, Clase *Dicotyledoneae* y Familia *Asteraceae* (*Compositae*).

Según Hayward (1953), citado por GAJARDO (1990), la lechuga ($2n = 18$ cromosomas), es una planta anual de día largo, formando flor y fruto si es sometida a este régimen. Sin embargo, las variedades modernas son de fotoperíodo neutro, y no requieren vernalización (KRARUP y MOREIRA, 1982).

El sistema caulinar de la lechuga se desarrolla en dos fases: una inicial o vegetativa y otra reproductiva.

La fase vegetativa se caracteriza por presentar la planta un tallo comprimido en el cual se ubican las hojas muy próximas entre sí, lo cual genera el hábito de roseta típico de la familia a la cual pertenece la lechuga (KRARUP y MOREIRA, 1982).

Según García (1959), citado por GAJARDO (1990), la fase reproductiva se manifiesta con la aparición de un grumo central compacto con hojas envainadoras, más estrechas a medida que están insertas más altas.

La lechuga es una planta autógama, que forma un fruto que es un pequeño aquenio, blanco, amarillento, pardusco o gris, que encierra la semilla (GARCÍA, 1959).

Según KRARUP y MOREIRA (2003) y GIACONI (1990) clasifican al cultivo de lechuga como de raíz pivotante de profundidad de arraigamiento menor a 60 cm.

2.4.2 Diversidad y variedades de lechuga. La lechuga presenta una gran diversidad dada principalmente por los distintos tipos de hoja y hábitos de crecimiento de estas plantas. Esto ha llevado a diversos autores a distinguir variedades botánicas en la especie, existiendo varias que son importantes como cultivo hortícola en distintas regiones del mundo (KRARUP y MOREIRA, 2003).

De acuerdo con CASSERES (1971) existen tres tipos de lechuga: de cabeza, de hojas sueltas y de tipo cos. Sin embargo, para Thompson (1949), citado por GAJARDO (1990) existen cinco clases de lechuga: arrepolladas crespas, arrepolladas oleosas, cos o romanas, de hoja y lechugas de tallo. Para RYDER (1979) existen estas anteriores variedades, sin embargo agrega un tipo adicional llamada de tipo latina, intermedia entre las de tipo cos y oleosas.

En Chile, de acuerdo a lo citado por KRARUP y MOREIRA (2003), existe una clasificación distinta, en las cuales se distinguen tres variedades importantes y dos de cultivo ocasional, nombradas a continuación: *L. sativa var. capitata* (L.) Janchen; *L. sativa var. crispa* L; *L. sativa var. longifolia* (Lam.) Janchen; *L. sativa var. acephala* Dill y *L. sativa var. augustuana* All.

2.4.3 Variedad a utilizar durante el ensayo. La variedad que será utilizada en la fase experimental corresponde a Great Lakes (*L. sativa var. crispa* L), la cual

se caracteriza por poseer numerosas hojas de borde irregularmente recortado (crespo), las hojas externas están dispuestas abiertamente, mientras que las internas forman un cogollo o grumo central compacto, llamado cabeza. El tamaño de éstas puede considerar incluso un peso de más de 1 kg y un período entre siembra y cosecha de más de 100 días (KRARUP y MOREIRA, 2003).

Great Lakes es resistente al tizón pardo y a la necrosis marginal. Está representada por muchas líneas que se identifican por números y difieren entre sí por características como tamaño, uniformidad y tiempo necesario para la cosecha. Además es apropiada para el empaque y despachos, sin embargo un defecto es que sus pecíolos y codos son demasiado grandes (CASSERES, 1971). Los cultivares más representativos son Climax, Empire, Great lakes 659 y 118, entre otras (KRARUP y MOREIRA, 2003).

2.4.4 Requerimientos del cultivo. Los principales requerimientos para el cultivo de lechuga son los siguientes:

2.4.4.1 Clima. A pesar de la amplia gama de variedades que se adaptan a diversos climas, se puede decir que la lechuga, en términos generales, se adapta mejor a condiciones de climas frescos y húmedos, dado que estas condiciones favorecen su desarrollo (GIACONI, 1990).

Respecto a la humedad relativa del ambiente en el cual se cultive la lechuga, es conveniente que esta se mantenga entre un 60 a un 80 % de humedad relativa, aunque en determinados momentos sería preferible que no suba del 60 %, pues favorece el desarrollo de enfermedades, y se transforma en un problema cuando se la cultiva en invernadero (Serrano, 1979, citado por VILLARROEL, 1998). En cuanto a la tolerancia a heladas de este cultivo, se señala que es sensible a éstas durante el período cercano a la cosecha (GIACONI, 1990).

2.4.4.2 Temperatura. La lechuga se clasifica térmicamente en hortaliza de estación fría dado que requiere para su óptimo desarrollo temperaturas entre 15 y 18°C, y no superior a los 21 y 24°C, pues presenta problemas sobre estos rangos (KRARUP y MOREIRA, 2003).

Respecto a las condiciones térmicas del cultivo bajo invernadero Manrique (1993), citado por GAJARDO (1990), indica que la lechuga tiene una temperatura base de crecimiento durante la noche de 4,5°C y que durante el día debiera alcanzar un mínimo de 14,5°C. Además, señala el autor que el óptimo crecimiento se obtiene con temperaturas cercanas a 12°C en la noche y 24°C en el día.

2.4.4.3 Suelo. Dado que la temperatura es el factor determinante en el crecimiento del cultivo de lechuga, casi cualquier suelo es bueno, si el clima es apropiado, prefiriéndose los suelos con alto contenido de materia orgánica. Sin embargo, de acuerdo al sistema radical, que no es muy extenso, es preferible que los suelos retengan bien la humedad y sean bien drenados (CASSERES, 1971).

Work y Carew (1955), citados por CASSERES (1971), señalan que el pH más apropiado es de 5,2 a 5,8 en suelos orgánicos y de 6,7 para suelos de origen mineral. Sin embargo para ANGLES (1977) el pH de 6,8 a 7 es lo óptimo.

2.4.4.4 Agua. En cuanto a las necesidades hídricas del cultivo, éste requiere de un abundante y constante suministro de agua, puesto que si existe una baja disponibilidad de humedad ésta puede ser dañina, sobre todo en los primeros estados en donde se restringe el desarrollo y la madurez se retarda (Bascuñan, 1993, citado por VILLARROEL, 1998)

Sin embargo, para ANGLES (1977) en la práctica es preferible un exceso que un déficit de agua, excepto el caso de suelos muy compactados, con riesgo de enfermedades fungosas u otros.

Para Nunhems y Harris (1990), citados por VILLARROEL (1998), la lechuga requiere de 12 a 20 cm de precipitación o su equivalente en agua de riego.

2.4.4.5 Nutrientes. De acuerdo con los requerimientos nutricionales la lechuga, tiene características similares a los demás cultivos hortícolas. La absorción de elementos guarda relación con la formación de materia seca, en la cual el 70-80% ocurre, para el caso de lechuga durante el último mes de cultivo (DOMÍNGUEZ, 1997).

Para el caso del nitrógeno de acuerdo a lo señalado por KRARUP (1982), éste es el elemento que se absorbe más rápidamente y el que tiene efectos más pronunciados. Se absorbe en casi un 80% en las cuatro últimas semanas antes de la cosecha (Gardner y Pew, 1980, citados por SOTO, 1986).

Para el caso del fósforo este es considerado un nutriente esencial en el metabolismo vegetal, así como también en el desarrollo y crecimiento de la planta, especialmente de las raíces (KRARUP, 1982).

DOMÍNGUEZ (1997) plantea que el cultivo de lechuga dado su corto ciclo y menor acumulación de materia seca, tendría una respuesta probable y elevada a niveles de fósforo que oscilan entre 15 y 25 ppm (Olsen).

Otro de los elementos importantes para la adecuada nutrición de lechuga lo constituye el potasio, siendo la función más conocida el de jugar un rol

esencial en la economía del agua en la planta y en la turgencia de las células (Penny y Bowling, 1974, citados por DOMÍNGUEZ, 1997).

KRARUP (1982) concuerda con lo señalado por DOMÍNGUEZ (1997) en lo referente a que la lechuga extrae más potasio que los otros nutrientes. Bajo lo cual, DOMÍNGUEZ (1997), postula que los niveles de respuesta probable y elevada para lechuga al potasio varían entre los 50 y 80 ppm (acetato amónico).

2.4.5 Cultivo de lechuga bajo invernadero. Para la producción durante el invierno y principios de la primavera de lechuga de alta calidad es esencial, aún en regiones de clima benigno, proteger el cultivo mediante alguna forma de estructura o invernadero. La luz representa un importante factor en el desarrollo de la lechuga de invierno (TOOVEY, 1966).

Thompson y Kelly (1957), citados por CASSERES (1971) señalan que en regiones donde la estación de crecimiento es corta, las semillas de lechuga son sembradas bajo invernadero o en cama caliente por algunas semanas antes de la época en que serán trasplantadas al campo, cuyo fin es el de adelantar el cultivo. Además, señalan que antes de ser llevadas definitivamente al campo, las plantas deben recibir un tratamiento denominado "acostumbramiento" por un período que oscila entre una semana a diez días.

GIACONI (1990) recomienda para el cultivo de lechuga dosis de 2,5 g/m² de semilla en almaciguero para un rendimiento de 800 a 1000 plantas.

En cuanto al momento del trasplante diversos autores entre otros: DOMÍNGUEZ (1997); además de Maroto, 1983, citado por GAJARDO (1990) señalan que éste se realiza a los 30-40 días, cuando tiene cinco a siete hojas.

2.4.6 Importancia del cultivo en Chile. En Chile el cultivo de lechuga posee gran importancia, se encuentra en tercer lugar de los cultivos de invernadero, después de tomate y pepino, con el 31,6 % (CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICAS, INE 2004).

La superficie de lechuga es variable entre 4.000 a 5.000 ha/año, produciéndose durante todo el año en todas las regiones del país. Las regiones que concentran las mayores producciones son la Metropolitana, V y VII. Además, se cultiva una superficie significativa para la producción de semillas que se exportan a varios países (KRARUP y MOREIRA, 2003).

3 MATERIAL Y MÉTODO

3.1 Materiales

Los materiales utilizados para la presente investigación son los siguientes:

3.1.1 Material biológico. Para el ensayo se usaron los siguientes organismos: semillas de lechuga (*L. sativa* var. *crispa*), variedad Great lakes a partir de la cual se obtuvieron plántulas de esta especie. Dos cepas de *Aspergillus. niger* (I y II) y una cepa control del mismo hongo del Central Burean voor Schimmelcultures CBS, de Baarn, Holanda).

3.1.2 Reactivos. Los reactivos que se usaron durante el ensayo son presentados a continuación en orden alfabético, en paréntesis se escribe la nomenclatura que será utilizada en el texto. Agar extracto malta (AEM) al 2%, acetato de amonio ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 1N pH 7), ácido ascórbico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$), ácido bórico (H_3BO_3) al 2%, ácido clorhídrico (HCl 1N y 2 mol/L, ácido nítrico (HNO_3 69%, $d = 1,41$ kg/L, ácido nítrico (HNO_3 1,5 mol/L), ácido sulfúrico estandarizado (H_2SO_4 0,005 N y a 0,05 N), agua destilada, aleación devarda en polvo, bicarbonato de potasio (KHCO_3), bicarbonato de sodio (NaHCO_3 0,5M a pH 8,5), carbonato de calcio (CaCO_3), carbón activado libre de P, citrato de hierro ($\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe} \cdot \text{H}_2\text{O} \times 2-3 \text{ H}_2\text{O}$), cloruro de calcio (CaCl_2), cloruro de cobalto hexahidratado ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), cloruro de cobre dihidratado ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), cloruro de estroncio (SrCl_2), cloruro de magnesio hexahidratado ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), cloruro de manganeso tetrahidratado ($\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{ H}_2\text{O}$), cloruro de potasio (KCl 1M y 2N), cloruro de zinc (ZnCl_2), dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 1N), etanol, fosfato dihidrógeno de potasio (KH_2PO_4), indicador ortofenantrolina, molibdato de amonio ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{21}$), molibdato de amonio hidratado

$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), heptamolibdato de amonio tetrahidratado $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), nitrato de amonio (NH_4NO_3), óxido de magnesio (MgO), solución indicadora verde bromocrisol más rojo de metilo, sulfato ferroso (FeSO_4 0,5N), sulfato de potasio (KSO_4), solución Olsen A ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_2 + \text{C}_4\text{H}_4\text{KO}_7 \text{ Sb } \cdot \frac{1}{2} \text{ y } \text{H}_2\text{O}$), solución Olsen B ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6 + \text{Olsen A}$), sulfato de sodio (Na_2SO_4), tartrato de antimonio y potasio ($\text{C}_4\text{H}_4\text{KO}_7 \text{ Sb } \cdot \frac{1}{2} \text{ y } \text{H}_2\text{O}$) y vanadato de amonio (NH_4VO_3).

3.1.3 Equipos. Agitador Thermolyne Nuova Stir plate, agitador orbital Karl Kolb, autoclave (Orsa), balanza (Mettler Toledo PB 1502-S), balanza analítica (Precisa 100A-300M), cámara de cultivo, destilador (Labconco Rapidstill II), espectrofotómetro de absorción atómica (GBS UV/VIS 916 y GBC 909AA), estufa con aire forzado (Heraeus), mufla (Lindberg/blue), plancha calefactora (Thermolyne type 2200 Hot plate), pH-metro. (Model 05669-20 Cole Parmer).

3.1.4 Otros. Asa de siembra, bolsas de papel y polietileno, crisoles de porcelana (30 mL), embudos, filtros lentos, frascos plásticos, frascos de vidrio ámbar, lápices marcadores, matraces aforados (25, 50, 100 y 1000 mL), matraces Erlenmeyer (125 y 250 mL), matraces Kjeldahl (100 mL), maceteros plásticos (6Kg de capacidad), mecheros, pala jardinera, papel filtro Wathmann n°4 y n°5, pipetas automáticas, pipetas volumétricas de 1, 2, 5, 10 y 50 mL, placas Petri, porta embudo, portaobjetos, probetas, tamices (2mm), toalla de papel, vasos precipitados. Además, serán utilizados los fertilizantes fosforados roca fosfórica (Carolina del Norte), solución nutritiva, superfosfato triple (SFT) y también sustrato (suelo Serie Valdivia)

3.2 Método

La metodología bajo la cual se llevó a cabo el ensayo fue la siguiente:

3.2.1 Ubicación del ensayo. El ensayo se realizó, bajo invernadero perteneciente al Instituto de Botánica de la Facultad Ciencias, en donde fueron dispuestas las plántulas de lechuga una vez sembradas, por un período de 30 días entre los meses de enero y febrero 2004. Durante el cual fue manejada la ventilación del lugar a través de la apertura en forma oportuna de las ventanas.

3.2.2 Suelo a utilizar durante el ensayo. El suelo utilizado en el ensayo fue tratado en dos etapas que corresponden a lo siguiente:

3.2.2.1 Colecta del suelo. La base de los sustratos utilizados en el ensayo fue un suelo trumao de la Serie Valdivia, colectado dentro del radio urbano de la ciudad de Valdivia; el cual corresponde a un sitio sin actividad agrícola actual, por lo cual posee un bajo nivel de fertilidad, especialmente baja disponibilidad de fósforo, que es lo que se busca para evaluar el ensayo. La cantidad a coleccionar fue de 96 kg. Posteriormente, el suelo se llevó al fundo Santa Rosa para ser tamizado, además de eliminar restos vegetales para luego ser secado durante dos días a 30 °C.

3.2.2.2 Caracterización del suelo. Para determinar el nivel inicial de fósforo y pH se tomaron muestras del suelo a 20 cm de profundidad para posteriormente realizar un análisis de laboratorio en el Instituto de Suelos de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile, con lo cual se obtuvo la caracterización del suelo respecto a éstas variables, a través de la metodología descrita a continuación:

- Determinación de acidez del suelo (pH) medición potenciométrica. Se realizó la medición de pH en agua, para lo cual se calibró el equipo con solución de pH 4, 5 y 7. Luego se pesaron 10 g de suelo, se le agregaron 25 mL de agua destilada. La mezcla se agitó manualmente cada 15 min por tres veces durante

30 min. Luego se dejó decantar por una hora para ser medido en pHmetro (SADZAWKA, 2000).

- Determinación del fósforo disponible (P Olsen). Se pesaron 2,5 g de suelo seco tamizado a 2 mm, se agregaron 0,3 g de carbón activado y 50 mL de bicarbonato de sodio. Se agitaron las muestras por 30 minutos y a continuación se filtraron. Del filtrado se tomaron 5 mL de alícuota y se depositaron en matraces aforados de 50 mL, agregando 20 mL de solución Olsen B, para luego aforar con agua destilada, luego se agitaron manualmente. Transcurrida una hora se procedió a leer en el espectrofotómetro (GBC UV/VIS 916 a longitud de onda de 880 nm (SADZAWKA, 2000).

- Determinación contenido de humedad (método gravimétrico). Se tomó una muestra de suelo húmedo tamizado a 2 mm de peso conocido (10 g) para después ser llevado a estufa a 105°C por 48 horas de donde se obtuvo el peso seco (7,6%), para determinar con ello el porcentaje de humedad base suelo seco (31,6% bss).

3.2.3 Masificación de cepas fúngicas. Las cepas fueron sembradas por triplicado y cultivadas independientemente en placa Petri que contenía AEM 2%. Las placas sembradas fueron incubadas a 23°C durante un período de 5 días a partir del cual se obtuvieron los propágulos. Este procedimiento fue realizado en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias.

3.2.4 Preparación de los sustratos para el cultivo de plántulas de lechuga. La preparación del sustrato-suelo para la siembra de semillas de lechuga siguió la siguiente metodología:

3.2.4.1 Suelo. La cantidad de suelo empleada fue de 4 kg (suelo húmedo) o su equivalente en suelo seco (2,73 kg), lo que fue utilizado en cada una de ocho

macetas, (cada una correspondió a un tratamiento). Las medidas promedio de los recipientes usados fueron: diámetro 20 cm, área 314,16 cm², altura 21 cm, y volumen 6.597,36 cm³.

De acuerdo a la cantidad de suelo seco se calcularon las dosis de fertilizante superfosfato triple, además de la roca fosfórica Carolina del Norte y cepa fúngica utilizada en los distintos tratamientos.

3.2.4.2 Esterilización. El suelo recibió una esterilización en autoclave (121°C durante 45 minutos, Ciclo Opicci a llave cerrada), para lo cual fueron puestas seis dosis de 2,73 kg de suelo en triples bolsas plásticas, los que correspondieron a los tratamientos estériles.

3.2.4.3 Fuentes de fertilización. Las fuentes de fertilización utilizadas en el ensayo corresponden a las siguientes:

- Fertilizante superfosfato triple. A cada uno de seis maceteros se le agregaron 2,73 kg suelo seco (4 kg suelo húmedo) más 0,684 g del fertilizante superfosfato triple (que posee un 46% de fósforo en forma de P₂O₅ cuya cantidad adicionada fue de 50 ppm de fósforo). Este fertilizante fue utilizado en dos tratamientos (por triplicado) y su aplicación fue previo al momento de la siembra.

- Fertilizante roca fosfórica Carolina del Norte. Se adicionaron a los 4 kg de suelo (2,73 kg suelo seco) 1,068 g de roca fosfórica Carolina del Norte, cuyas fracciones de P₂O₅ (total y soluble en agua), son de un 29,2% y 0,03% respectivamente. Cumpliendo con una dosis de 50 ppm de fósforo, aplicado a tres macetas correspondientes a tres tratamientos (por triplicado). Esta mezcla se hizo previo al momento de la siembra.

- Fertilizante roca fosfórica Carolina del Norte inoculado con cepas de *A. niger*. Se preparó un sustrato-suelo consistente en 4 kg de suelo mezclado con roca fosfórica Carolina del Norte inoculada con cepas fúngicas de *A. niger*, (previamente masificadas las cuales fueron denominadas cepa I y II, además de una cepa control (CBS)), en tres tratamientos y por triplicado. La cantidad a utilizar de este hongo fue de 10^2 propágulos por cada gramo de la roca fosfórica. Esta mezcla fertilizante (roca y hongo) se hizo previo a la siembra, para luego ser incorporada al suelo.

3.2.5 Establecimiento del ensayo. Una vez preparados los diferentes sustratos, se realizó la siembra de lechuga (*L. sativa* L. Var. *Crispa* L.) cuya semilla corresponde al cultivar Great Lakes. Para lo cual se realizó previamente una prueba de germinación de 100 semillas, en el Laboratorio de Semillas de la Facultad de Ciencias Agrarias, lo que arrojó un 91%.

- Siembra. Esta fue hecha en tres oportunidades; 22, 24 y 26 de enero 2004, distanciadas por dos días para facilitar la cosecha. Esta se realizó en un total de 24 maceteros.

Previo a la siembra, se realizó una desinfección de las semillas con solución de hipoclorito de sodio al 10% producto comercial por un tiempo de cinco minutos.

En relación a la dosis de semillas, fue calculada en base al porcentaje de germinación de la variedad. Sin embargo, se estimó un número de 25 semillas por macetero para cada repetición y cada tratamiento, para cumplir con una cantidad de 600-800 plántulas por m^2 de almácigo, cifra recomendada por GIACONI (1990). La profundidad de siembra fue de 1,5 cm para todos los tratamientos.

- Riego. Durante el período de crecimiento del cultivo se realizaron riegos sucesivos de 110 mL aproximadamente, alternando éste con la solución nutritiva con una frecuencia de dos días. Se usó una probeta para la aplicación de agua, para con ello controlar la cantidad entregada a las plántulas.

- Fertilización base. Además de la aplicación de fertilizantes superfosfato y roca fosfórica Carolina del Norte, presentes en sólo algunos tratamientos, se utilizó una fertilización base (sin fósforo), la cual fue compuesta de los elementos necesarios para una nutrición en la cual no exista restricción en el crecimiento, desarrollo y principalmente sobrevivencia del cultivo. Sin embargo no se buscó el óptimo. Según lo recomendado por el Plant Nutrition Group, citado por ANWANDTER (2003) las aplicaciones semanales en estaciones calurosas son de dos veces, lo que para efectos de este ensayo fue de 273,6 mL en cada aplicación y por un período de cinco semanas en que duró el ensayo. Sin embargo, se dosificó en cifras menores las cantidades a aplicar con el fin de cumplir con el mismo requerimiento, pero en frecuencias de aplicación mayores, lo que equivale a 110 mL aproximadamente cada dos días.

- Otros. También se realizó una inspección semanal visual para evitar daños de plagas y malezas.

3.2.6 Evaluación del material vegetal de plántulas de lechuga. La evaluación del material vegetal se realizó a través de las variables de crecimiento de las plántulas lo que se detalla a continuación:

3.2.6.1 Evaluación del crecimiento. Durante el ensayo en invernadero se realizaron mediciones de las variables de crecimiento en dos períodos de tiempo: 8 días y 30 días después de hecha la siembra. Esta última correspondió a la cosecha del cultivo para efectos de este ensayo.

3.2.6.1.1 Emergencia. Transcurridos ocho días de realizada la siembra de 600 semillas se midió el porcentaje de emergencia en cada una de las macetas de todos los tratamientos, para lo cual se contaron el número de plántulas emergidas del total sembrado, cuyas oportunidades correspondieron a los días 2, 4 y 6 de febrero 2004 dado el distanciamiento de la siembra.

3.2.6.1.2 Sobrevivencia. A los 30 días de realizada la siembra se midió el porcentaje de sobrevivencia del cultivo, para lo cual se contaron las plantas vivas y viables de un universo de 18 plántulas dejadas después del raleo en concordancia a las plantas emergidas, lo que se llevó a cabo los días 22, 24 y 26 de febrero 2004.

3.2.6.1.3 Largo radical. Transcurridos 30 días se midió el largo radical (cm), para lo cual se tomaron al azar 12 plántulas provenientes de un universo potencial de 18 plantas dejadas después del raleo.

3.2.6.1.4 Largo aéreo. Transcurridos 30 días se midió el largo aéreo (cm), para lo cual se tomaron al azar 12 plántulas provenientes de un universo potencial de 18 plantas dejadas después del raleo.

3.2.6.1.5 Largo total. Transcurridos 30 días se midió el largo total (cm), para lo cual se tomaron al azar 12 plántulas provenientes de un universo potencial de 18 plantas dejadas después del raleo.

3.2.6.1.6 Número hojas. Transcurridos 30 días se contabilizó el número de hojas, para lo cual se tomaron al azar 12 plántulas provenientes de un universo potencial de 18 plantas dejadas después del raleo.

3.2.6.1.7 Materia fresca. Una vez que las plántulas fueron cosechadas y medidas, éstas se lavaron y secaron con papel absorbente, para ser pesadas en balanza analítica con lo cual se determinó la materia fresca (g).

3.2.6.1.8 Materia seca. Luego de determinar el peso fresco las muestras fueron molidas en un crisol y dejadas en bolsas de papel para ser llevadas posteriormente a estufa de secado a 60°C por 48 h, después de lo cual se pesó en crisoles y se obtuvo el peso de la materia seca (g).

3.2.6.1.9 Determinación de la concentración de fósforo. A partir de la materia seca (g) se procedió a determinar la concentración de fósforo por las plántulas de lechuga, lo cual siguió la siguiente metodología:

- Método de calcinación y determinación por colorimetría del fosfo-vanado-molibdico. Después de obtener el peso seco de las muestras éstas fueron puestas en mufla, la cual subió la temperatura gradualmente de manera de alcanzar los 500°C en dos horas. La calcinación fue hecha por 4 horas a 500°C. Una vez calcinadas se dejaron enfriar a temperatura ambiente para agregar 1-2 mL de agua y luego 10 mL de HCl 2 mol/L, posteriormente se calentaron las muestras en una plancha calefactora y después enfriadas. El contenido del crisol se filtró en papel filtro recibiendo en un matraz de aforo de 25 mL. Del filtrado se tomó una alícuota de 1 mL y de la serie de soluciones estándares. Se agregó además 4 mL de la solución de nitro-vanado-molibdato y mezclado. Se dejó reposar una hora para leer posteriormente en espectrofotómetro de luz ultravioleta (GBC UV/VIS 916), cuya longitud de onda fue de 420 y 880 nm para la determinación de curvas en amarillo y azul, respectivamente (SADZAWKA *et al.*, 2001).

Con ello finalmente se obtuvo la concentración de fósforo (%) en la planta después de realizado el ensayo

3.2.7 Evaluación del efecto y determinación de solubilización de fósforo de la RFCN por *A .niger* sobre fósforo disponible y pH del suelo. Para determinar el efecto de solubilización de fósforo de la roca Carolina del Norte por *A .niger* sobre el suelo transcurridos los 30 días de realizada la siembra, se realizaron pruebas para la determinación de fósforo disponible por el método Olsen y determinación de acidez (pHmetro), cuya metodología fue descrita en el punto 3.2.2

3.3 Diseño experimental y estadístico

En el Cuadro 3 se presenta el diseño experimental que corresponde a bloques completos al azar con 8 tratamientos y 3 repeticiones (por tratamiento), el cual consideró un período de 30 días.

CUADRO 3 Tratamientos para el cultivo de plántulas de lechuga.

Sigla	Tratamientos	Días de Evaluación	
		8	30
T1	Suelo no estéril + cultivo de lechuga	**	***
T2	Suelo estéril + cultivo de lechuga	**	***
T3	Suelo estéril + RFCN+ cultivo de lechuga	**	***
T4	Suelo estéril + RFCN+ <i>A. níger</i> control+ cultivo de lechuga	**	***
T5	Suelo no estéril + SFT+ cultivo de lechuga	**	***
T6	Suelo estéril + SFT+ cultivo de lechuga	**	***
T7	Suelo estéril + RFCN+ <i>A.niger</i> I + cultivo de lechuga	**	***
T8	Suelo estéril + RFCN + <i>A níger</i> II + cultivo de lechuga	**	***

** Evaluación de emergencia de plántulas *** Evaluación de largo radicular, largo del tallo, largo aéreo de la planta, número de hojas por plántula, porcentaje de sobrevivencia, extracción de fósforo por las plántulas, fósforo disponible y pH del suelo.

El análisis estadístico al cual se sometieron los resultados obtenidos evaluados en las plántulas y en el suelo correspondió a un análisis de varianza (ANDEVA) y comparación entre promedios de los tratamientos se realizó a través de la prueba de diferencia de medias de Tukey, considerando un 5% de significancia para ver si existieron diferencias estadísticamente significativas entre los promedios de los tratamientos.

Todos los valores obtenidos de los parámetros evaluados se analizaron estadísticamente por medio del programa estadístico computacional Statgraphics Plus versión 2.0.

4 PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Para evaluar el efecto de la solubilización de la roca fosfórica Carolina del Norte por cepas de *A. niger* se realizó un balance considerando el fósforo disponible y pH del suelo al inicio y al final con el cultivo de *Lactuca sativa* var. Great lakes, en la cual fue considerada la respuesta en variables de crecimiento y establecimiento, así como también los efectos en concentración de fósforo en los tejidos vegetales y producción de materia seca y fresca al cabo de un período de 30 días en almácigo, bajo condiciones controladas.

4.1 Evaluación del efecto de la adición de las cepas de *A. niger* a la roca fosfórica Carolina del Norte sobre el fósforo disponible y pH del suelo.

El Cuadro 4 muestra el nivel promedio de fósforo disponible (ppm P Olsen) y pH en los distintos tratamientos al cabo de 30 días, además del nivel inicial.

CUADRO 4 Análisis estadístico del fósforo disponible (ppm P Olsen) y pH del suelo después de un período de 30 días.

Tratamiento	Promedio P Olsen (ppm)	Promedio pH
Suelo solo (nivel inicial)	3.13 cd	5.20 a
Suelo no estéril + lechuga *	1.63 d	4.81 c
Suelo estéril + *	1.70 d	4.96 b
Suelo estéril + RFCN** + *	4.10 bc	4.97 b
Suelo estéril+RFCN**+ control <i>A. niger</i> + *	4.29 abc	5.01 b
Suelo no estéril + SFT***+ *	5.26 ab	4.80 c
Suelo estéril + SFT**+ *	5.94 a	4.99 b
Suelo estéril + RFCN** + I <i>A. niger</i> + *	3.26 cd	5.02 b
Suelo estéril + RFCN** + II <i>A. niger</i> + *	3.27 cd	5.01 b

* : Lechuga

** RFCN: Roca fosfórica Carolina del Norte

*** SFT: Superfosfato triple

Promedios con letras distintas en cada columna denotan diferencia estadísticamente significativa según la prueba de Tukey ($\alpha= 0.05$).

Se determinó diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) en el fósforo disponible del suelo, al cabo de 30 días desde el establecimiento del ensayo. Los tratamientos controles de suelo estéril y no estéril sin la adición de fuentes fosforadas presentaron los valores más bajos de P-Olsen, lo que indica una disminución del fósforo al final del ensayo con respecto al muestreo inicial. Esta disminución se debe en parte a la absorción del cultivo, así como también al transcurso del tiempo, ya que el P adicionado decae en el tiempo debido a las reacciones que ocurren con el suelo. El Cuadro 4 muestra que no se determinó diferencia estadísticamente significativa entre estos tratamientos con

el valor de P-Olsen inicial. Esta falta de diferencia significativa a pesar de existir diferencias numéricas por delta de fósforo (1.5 ppm), pueden no haber sido detectadas por la metodología de análisis utilizada, ya que las mediciones de P-Olsen entre muestras, usualmente, tienen un error estándar de ± 1 ppm, lo cual queda en el rango de esta diferencia (SADZAWKA, 2000).

La adición de fuentes fosforadas (RFCN o SFT) con respecto a la no aplicación de fertilizantes produjo diferencias estadísticamente significativas. Esto indica que en todos los tratamientos en donde se aplicó una fuente fosforada el nivel de fósforo Olsen aumentó. Este resultado es posible atribuirlo a que existe una mayor disponibilidad de fósforo en el tiempo cuando se ha fertilizado, especialmente cuando la fuente es soluble (PINOCHET, 1990). Con la adición de RFCN se aumentó al final del experimento en promedio 2.5 ppm P-Olsen con respecto al control sin adición, en tanto que con la adición de SFT se aumentó, en promedio, 3.9 ppm P-Olsen. Ello implica que la relación entre lo aumentado en P-Olsen desde RFCN fue de 64% de lo aumentado por SFT. Esta relación entre los solubilizado desde la RFCN con respecto a SFT es mucho más alta que reportes realizados en otros estudios (PINOCHET *et al.*, 1996) donde se obtuvo que en praderas esta relación fue de solo aproximadamente 30% entre la solubilización de RFCN con relación a SFT.

La esterilización del suelo, no afectó significativamente la disponibilidad del fósforo, dado que los tratamientos con suelo sin fertilización (estéril versus no estéril) ya sea con el cultivo de lechuga sin fertilización o con fertilización de SFT no mostraron diferencias estadísticamente significativas. De ello se desprende que la esterilización no fue la causa de la solubilización de la RFCN en las cantidades reportadas en este estudio.

La adición de las cepas de *A. niger* como bioestimulantes de la solubilización de la roca fosfórica, bajo las condiciones del ensayo, no mostró

un aumento significativo en el fósforo Olsen residual y fue numéricamente menor al tratamiento con la roca fosfórica sin las cepas en estudio. Además, la adición de la cepa control logró un valor numérico ligeramente mayor de fósforo residual que el tratamiento con roca fosfórica y con adición de las cepas nativas I y II, sin embargo todos fueron estadísticamente similares. Ello significa que bajo las condiciones de este experimento no hubo un incremento en la solubilización de la RFCN debido a los efectos producidos por los hongos adicionados. Los resultados de experimentos similares han mostrado efectos erráticos de los relativos beneficios de la inoculación con hongos solubilizadores de fósforo. Así Downey y Van Kesseel, 1990, citados por WHITELAW, (2000) han observado que el nivel de fósforo disponible del suelo puede aumentar o disminuir con la adición de roca fosfórica e inoculación de hongos. Las explicaciones a este fenómeno se deben a la complejidad introducida por otros factores que parecen determinar el grado de solubilización realizado por los hongos bajo condiciones de suelo. Así, NAHAS *et al.* (1994) utilizando distintas fuentes fosforadas entre ellas fosfatos solubilizados por *A. niger*, roca inoculada y superfosfato triple, todas comparadas con la adición de materia orgánica, obtuvo que los tratamientos controles, así como aquellos con fosfatos ya solubilizados por *A. niger* fueron bajos.

Dado que al adicionar superfostato triple se aumentó el nivel de fósforo Olsen residual y se diferenció de los tratamientos en que las fuentes fosforadas fueron roca fosfórica con y sin la adición de bioestimulantes (*A. niger*), bajo condiciones similares, se deduce que las cepas en estudio de *A. niger* no solubilizaron adicionalmente a la acción del suelo solo, otras porciones de fósforo contenidas en la roca. Ello significa que el suelo fue capaz en este estudio de solubilizar una gran proporción de la roca, quedando las fracciones de la roca más insolubles para ser solubilizadas por los hongos y que éstos no serían capaces de solubilizar. Esto podría confirmarse con estudios cristalográficos, que no se realizaron en este trabajo.

Además, debe considerarse el tiempo como factor de la tasa de solubilización desde la roca fosfórica adicionada y valores iniciales de P para el estímulo de los hongos solubilizadores. De esta forma, BOJINOVA *et al.* (1997) en su estudio en que inocularon una roca fosfórica con *A. niger* en medios de cultivo, observaron que aquellos a los que se adicionó fósforo soluble presentaron una mayor solubilización del P contenido en la roca, lo que se reflejó en un tiempo requerido menor para el proceso y mayor nivel final de fósforo solubilizado. Ello induce a especular que el nivel de fósforo inicial también es un factor que influiría en la solubilización, el que podría haber sido insuficiente para la presente investigación. Además, según lo determinado por Narsian *et al.* (1995) y Whitelaw *et al.* (1999) citados por WHITELAW (2000), también el monitoreo de la solubilización a tiempos e intervalos específicos y no a lo largo de todo el período de incubación pueden no indicar la correcta cantidad máxima del fósforo solubilizado, lo que podría haber sido limitante para el estudio.

Uno de los factores más importantes en la solubilización de la RFCN en suelos es el valor de pH del suelo durante el período de solubilización. Los resultados de pH del suelo medido en agua (1:2,5) después de 30 días y la medición inicial, son mostrados en el Cuadro 4.

El valor de pH del suelo al final del experimento varió significativamente con respecto al valor inicial, mostrando una disminución promedio de 0.3 unidades después de los 30 días del experimento, sin la adición de materiales fertilizantes. Estos valores de pH son clasificados como extremadamente ácidos y sugieren que la solubilización de la roca (64% comparada al SFT) se debería a la acción de un pH muy ácido durante el experimento. Con la adición de la roca con la presencia de hongos solubilizadores los valores disminuyeron significativamente, aunque solo en 0.2 unidades de pH, pero manteniendo la condición de extremadamente ácido. Estos resultados han sido observados en

otros estudios con *A. niger*, donde al transcurrir el tiempo del ensayo (o incubación) el pH del medio fue haciéndose más ácido (BOJINOVA *et al.*, 1997).

La esterilización del suelo influyó en el pH del suelo, lo que se observó en los tratamientos de suelo estéril y no estéril sin fuentes fosforadas como aquellos con superfosfato triple, que arrojaron diferencias entre sí. Los tratamientos de suelo no estéril fueron estadísticamente más ácidos que los estériles, lo que podría indicar una mayor actividad microbiana en el suelo no estéril, lo que conllevaría a una mayor nitrificación del nitrógeno en el suelo reflejado en una mayor disminución del pH. De acuerdo a lo señalado por BORIE *et al.* (1983), en los suelos trumao existe una mayor biomasa microbiana especialmente fúngica de la que se espera una mayor actividad biológica, lo que podría haber inducido a una mayor acidez.

Según lo señalado por WHITELAW (1999) niveles altos de acidez a menudo se asocian a una alta solubilización, así como pH alcalinos a una baja solubilización. Sin embargo, existe una gran controversia al respecto, ya que estudios señalaron una correlación negativa, entre ambas variables usando por ejemplo hongos del género *Aspergillus* (Cerezine *et al.*, 1988; Ortuno *et al.*, 1979, citados por WHITELAW, 1999). Aunque por otro lado esta correlación también ha sido positiva. Esto indica que la solubilización fúngica no depende solo del pH del medio sino también de otros factores, como por ejemplo el tipo de ácido excretado (WHITELAW, 1999). KPOMBLEKOU y TABATAI (1994) establecieron que los ácidos alifáticos o aromáticos con grupos β hidroxil y α carboxil fueron más efectivos que otros ácidos en liberar fósforo a partir de la roca fosfórica. Además, investigaciones señalan que los ácidos orgánicos son capaces de solubilizar más fósforo que ácidos inorgánicos (ILLMER y SCHINNER, 1992). Para el caso de *A. niger* los principales ácidos excretados

son ácido oxálico, cítrico, láctico y glucónico (Illmer y Schinner, 1992 citados por WHITELAW, 1999).

Los valores de pH de este estudio sugieren que la RFCN fue solubilizada por la acción del pH del suelo, quedando solo fracciones de RFCN más duras y difíciles de solubilizar en 30 días, las cuales no pudieron ser solubilizadas por la acción de los hongos usados como bioestimulantes en este estudio.

4.2 Evaluación del efecto de la adición de las cepas fúngicas de *A. niger* a la roca fosfórica Carolina del Norte sobre la materia seca, fresca y concentración de fósforo en plántulas de lechuga cultivadas bajo distintos tratamientos.

De acuerdo a los objetivos planteados, a los 30 días se determinó para su evaluación, el efecto de la acción solubilizadora de las cepas de *A. niger* sobre los pesos seco y fresco por macetero (correspondiente a 12 plántulas), además de la concentración de fósforo en los tejidos de plántulas de lechuga, cuyos resultados se resumen en el Cuadro 5.

CUADRO 5 Análisis estadístico del peso de la materia fresca (g) ,seca (g) y concentración de fósforo (%) por macetas de plántulas de lechuga *Great lakes* después de un período de crecimiento de 30 días.

Tratamiento	Peso fresco (g)/maceta	Peso seco (g)/maceta	Concentración (% P)
Suelo no estéril + lechuga *	1.0766 a	0.0367 a	0.272 a
Suelo estéril + *	0.8533 a	0.0458 a	0.245 a
Suelo estéril + RFCN** + *	1.0667 a	0.0601 a	0.180 a
Suelo estéril + ** + control <i>A. niger</i> + *	1.0166 a	0.0482 a	0.198 a
Suelo no estéril + SFT+ *	1.1966 a	0.0412 a	0.281 a
Suelo estéril + SFT+ *	0.8914 a	0.0375 a	0.202 a
Suelo estéril + RFCN** + I <i>A. niger</i> + *	0.5166 a	0.0282 a	0.311 a
Suelo estéril + RFCN** + II <i>A. niger</i> + *	0.4433 a	0.0242 a	0.363 a

* Lechuga

** RFCN: Roca fosfórica Carolina del Norte

** SFT: Superfosfato triple

Promedios con letras distintas en cada columna denotan diferencia estadísticamente significativa según la prueba de Tukey ($\alpha= 0.05$).

De acuerdo al análisis de varianza (Andeva) y prueba de Tukey, no existió diferencia estadísticamente significativa ($p>0,05$) entre los distintos tratamientos con respecto al peso de la materia seca de las plántulas (Cuadro 5). Esto indica que incluso los tratamientos sin la adición de fósforo presentaron similitud a los que consideraron fertilización, tendencia que también se encontró al tomar los valores del peso en fresco.

La materia seca presentó bajos valores de peso, lo que es normal y se explica por el corto período en que fue evaluada y que correspondió a la época de almácigo, la que representa sólo un tercio del total de su ciclo de crecimiento, el cual es breve y no produce gran acumulación de materia seca (DOMÍNGUEZ, 1997).

Estudios señalan que la acumulación de materia seca para esta especie, así como para otras hortalizas, ocurre significativamente después de 30 días de crecimiento, para los órganos tallos, hojas y raíces, por lo que esta baja acumulación corresponde a lo señalado en literatura (KRARUP, 1982). Además, la habilidad para absorber nutrientes minerales y agua está relacionada con la capacidad de desarrollar un extenso sistema radical (TAIZ y ZEIGER, 1991), lo que para lechuga es bajo dado que ésta es clasificada como de baja densidad radicular y efectos rizosféricos de acuerdo a lo señalado por RODRÍGUEZ *et al.* (2001), lo que sería una respuesta a la baja acumulación de materia seca en esta especie señalando que su desarrollo en etapas jóvenes aún es escaso.

También el Cuadro 5 presenta información acerca de la concentración de fósforo (%) de la materia seca de plántulas de lechuga, para evaluar el efecto de la adición de las cepas de *A .niger* sobre la variable medida y compararla con otras fuentes fosforadas.

Al analizar la concentración de fósforo medida en los tejidos, se observa que no hubo diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$) entre los distintos tratamientos. Los valores estuvieron en alrededor del 0.2%, lo que concuerda con lo señalado por TAIZ y ZEIGER (1991) quienes establecen que la concentración de fósforo en materia seca de los tejidos vegetales es del 0.2%. Por otro lado, la absorción de fósforo y de nutrientes en etapas tempranas de un cultivo es menor porque éste se incrementa en la medida en que se acumule materia seca lo que sucede en un 70-80% en el último mes de su crecimiento en el caso de lechuga (DOMÍNGUEZ, 1997). También TISDALE *et al.* (1999) señalan que en la mayoría de las plantas la concentración de fósforo es considerablemente más baja (0,1 a 0,4 %) que otros nutrientes como nitrógeno y potasio.

A pesar del bajo nivel de disponibilidad inicial de fósforo y de la disminución producto de las reacciones con el suelo en el tiempo, la disponibilidad de este nutriente fue la suficiente para producir una óptima absorción de las plántulas de lechuga, incluso para los tratamientos sin la aplicación de fertilización. Así el tratamiento del cultivo en suelo no fertilizado tuvo una mayor concentración en sus tejidos. Ello implica que en este experimento el tiempo no fue el suficiente para que los tratamientos se hubiesen expresado completamente, o que bajo las condiciones de este ensayo de maceteros, las deficiencias de fósforo no se expresarían en forma similar a las que se presentan en condiciones de campo.

4.3 Evaluación del efecto de la adición de las cepas de *A. niger* a la roca Carolina del Norte sobre el crecimiento de plántulas de lechuga cultivadas bajo distintos tratamientos.

En esta investigación se realizaron mediciones a los 8 y 30 días después de la siembra de *L. sativa* var. *Great lakes* con el objetivo de determinar el efecto de la acción de cepas de *A. niger* sobre las variables de crecimiento dadas por la emergencia (%), sobrevivencia(%), largo radical (cm), largo aéreo (cm), número de hojas y largo total (cm), para con ello evaluar su posibilidad de fertilización en el cultivo de lechuga en comparación a otras fuentes fosforadas así como también establecer si las plántulas fueron aptas para el trasplante de acuerdo a las condiciones del ensayo.

El Cuadro 6 presenta el porcentaje promedio de emergencia de plántulas de lechuga var. *Great lakes*, medido al cabo de 8 días después de la siembra, proveniente de tres repeticiones por tratamiento de un total de 25 semillas sembradas en cada una de ellas (ver Anexos).

CUADRO 6 Análisis estadístico del porcentaje de emergencia y sobrevivencia de plántulas de lechuga var. *Great lakes* después de un período de crecimiento de 30 días.

Tratamiento	Promedio Emergencia (%)	Promedio Sobrevivencia (%)
Suelo no estéril + lechuga*	98.66 a	95.33 a
Suelo estéril +*	94.66 a	94.17 a
Suelo estéril + RFCN** + *	89.33 a	86.27 a
Suelo estéril + RFCN** + control <i>A. niger</i> + *	82.67 a	90.20 a
Suelo no estéril + SFT*** + *	92.00 a	95.50 a
Suelo estéril + SFT*** + *	96.00 a	72.55 a
Suelo estéril + RFCN** + I <i>A. niger</i> + *	89.33 a	76.47 a
Suelo estéril + RFCN** + II <i>A. niger</i> + *	82.67 a	74.51 a

* lechuga

** RFCN: Roca fosfórica Carolina del Norte

*** SFT: Superfosfato triple

Promedios con letras distintas en cada columna denotan diferencia estadísticamente significativa según la prueba de Tukey ($\alpha= 0.05$).

El análisis estadístico realizado denotó que no existieron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en el porcentaje de emergencia para plántulas de lechuga var. *Great lakes* cultivadas bajo distintos sustratos. Esto podría ser explicado por la calidad de la semilla, la cual no habría sido deteriorada. Esto sugiere que serían otros los factores que podrían influir en esta variable, que de acuerdo a KRARUP, (1982) son: temperatura, humedad, edad de la semilla, profundidad de siembra, luz, además de sanidad y calidad del embrión entre otros y que no dice relación con los niveles de fósforo en el suelo.

Estos resultados también se observaron en un estudio realizado por MAYA (1995) quien preparó diversos sustratos para el cultivo de plántulas de lechuga y observó que los distintos niveles de fósforo no mostraron un efecto significativo en la germinación de las semillas, lo que hace suponer que para la emergencia ocurriría la misma situación. Por lo cual tomando en cuenta que no existieron diferencias significativas de porcentaje de emergencia para lechuga *Great lakes* cuyos valores superaron el 82%, donde se usaron sustratos con distintas fuentes fosforadas con las mismas dosis (considerando controles), se puede establecer en base a los resultados que cualquiera de los sustratos sería adecuado para la emergencia de éstas plántulas.

También se presentan en el Cuadro 6 los resultados promedios del porcentaje de sobrevivencia para plántulas de lechuga var. *Great lakes* medido en un período de crecimiento en invernadero de 30 días.

Según el análisis estadístico, se encontró que el porcentaje de sobrevivencia no tuvo diferencias significativas ($p > 0.05$), entre los distintos tratamientos lo que quiere decir, que los sustratos preparados fueron adecuados para el establecimiento de las plántulas en un periodo de 30 días. Se pudo apreciar que las pérdidas fueron mínimas, ya que los resultados fueron por sobre el 72%. Esto sugiere que las cepas de *A. niger* no habrían causado daño a las plántulas ya que no se diferenciaron de aquellos tratamientos sin su adición. Además sugiere que fueron manejados adecuadamente otros factores que intervienen en el buen establecimiento del cultivo. Así por ejemplo se contó con semillas de buena calidad con embriones normales y control sanitario (desinfección de semilla con hipoclorito de sodio), temperaturas adecuadas para su germinación y crecimiento, profundidad de siembra (1,5 cm) entre otros, lo que en resumen fue favorable para el cultivo según lo citado por KRARUP (1982) para las hortalizas (lechuga).

Finalmente se puede decir, en base a los resultados que cualquiera de los sustratos usados fueron aptos para una buena sobrevivencia del cultivo ya que no se vieron afectadas negativamente por ellos. Tomando en cuenta que todas las plántulas fueron fertilizadas con una solución nutritiva base sin fósforo con macro y micronutrientes para que no se presenten síntomas de deficiencia de elementos a lo largo del ciclo, lo que influyó también en que las pérdidas de plántulas hayan sido menores. Por otro lado, evaluando el uso de los sustratos fertilizados con roca Carolina del Norte inoculados con *A. niger* se lograrían estadísticamente los mismos resultados que al usar otras fuentes como superfosfato triple ya que no arrojó diferencias con respecto a ellos.

Respecto a los resultados sobre variables promedio de crecimiento (largo radical, aéreo, total y número de hojas), éstos se presentan en el Cuadro 7, los cuales fueron obtenidos de tres repeticiones por tratamiento tomando 12 plantas al azar en cada una de ellas (ver en Anexos).

CUADRO 7 Análisis estadístico del largo radical (cm), largo aéreo (cm), número de hojas y largo total (cm) de plántulas de lechuga *Great lakes* después de un período de crecimiento de 30 días.

Tratamiento	Largo radical (cm)	Largo aéreo (cm)	Número hojas	Largo total (cm)
Suelo no estéril + lechuga*	10.83 ab	9.80 a	4.30 a	20.63 a
Suelo estéril + *	8.77 ab	6.57 ab	4.03 a	15.33 ab
Suelo estéril + RFCN** + *	9.00 ab	7.43 ab	4.40 a	16.43 ab
Suelo estéril + RFCN** + control <i>A. niger</i> + *	9.07 ab	5.70 ab	4.47 a	14.77 ab
Suelo no estéril + SFT*** + *	11.17 a	9.77 a	4.23 a	20.60 a
Suelo estéril + SFT*** + *	10.53 ab	7.60 ab	4.07 a	18.13 ab
Suelo estéril + RFCN** + I <i>A. niger</i> + *	8.13 b	3.93 b	3.63 a	12.06 b
Suelo estéril + RFCN** + II <i>A. niger</i> + *	8.03 b	4.20 b	4.03 a	12.23 b

* Lechuga **RFCN: Roca fosfórica Carolina del Norte *** SFT: Superfosfato triple

Promedios con letras distintas en cada columna denotan diferencia estadísticamente significativa según la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

Según el análisis estadístico realizado, (análisis de varianza y prueba de diferencia de medias de Tukey) existió diferencia significativa ($p<0,05$) entre los tratamientos respecto al largo radical de plántulas de *L. sativa*.

Los tratamientos cuyas fuentes de fertilización fueron roca fosfórica o superfosfato triple no se diferenciaron de aquellos sin la adición de fósforo. Sin embargo al comparar el tratamiento no estéril con superfosfato triple en relación a aquellos con la adición de las cepas I y II de *A. niger* si mostró diferencia

estadística. Esto sugiere que el superfosfato triple en condiciones no estériles fue más favorable en lograr un mayor largo de raíz, esto podría explicarse porque la adición de fosfatos solubles al suelo constituye una fuente que puede aprovecharse por las plantas. Por otro lado, diversos autores señalan que la adición de superfosfato triple logra los mejores resultados en las plantas en crecimiento, además de acuerdo a lo señalado por WILCOX (1967) las raíces de las plántulas recién emergidas de este tratamiento pudieron inmediatamente contactar los iones fosfatos.

Por otro lado cuando existe una alta disponibilidad de fósforo y de otros nutrientes el crecimiento de las raíces se ve favorecido de acuerdo con el estudio citado por TISDALE *et al.* (1993), lo que explicaría el mayor largo radical

De acuerdo al estudio realizado por MAYA (1995) determinó que el largo de raíz bajo distintos sustratos después de 39 días arrojó valores entre 0,1 y 7,3 cm los cuales fueron superados en este estudio e indican que éstas plántulas alcanzaron un buen desarrollo a pesar de que los sustratos en los que fueron cultivadas arrojaron diferencias. Sin embargo, la adición de las cepas I y II de *A. niger* no causaron un efecto favorable en largo radical lo que sugiere que la asociación entre las cepas en estudio y el cultivo de lechuga no logró los mejores resultados, por lo que no es posible recomendarla para el trasplante.

El Cuadro 7 también indica los resultados de largo aéreo para el cultivo de lechuga.

Se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los distintos tratamientos respecto al largo aéreo de las plántulas. Los tratamientos sin aplicación de fuentes fosforadas no se diferenciaron estadísticamente de aquellos en que sí se utilizó una fuente de fertilización. Sin embargo los tratamientos de suelo no estéril solo y con superfosfato triple

fueron los mayores numéricamente. Esto podría ser explicado por la mayor disponibilidad de fósforo en el caso del tratamiento con superfosfato triple. Por otro lado la explicación para el tratamiento no estéril sin fertilización, podría estar dada en la aseveración hecha por ILLMER y SCHINNER (1992) quienes establecen que casi todos los microorganismos de la rizósfera, no sólo los solubilizadores de fósforo, aumentan el suministro de nutrientes a las plantas, por lo cual al usar suelo no estéril podría haber beneficiado esta acción asegurando una buena nutrición a estas plantas.

La adición de las cepas de *A. niger* como solubilizadores de fosfatos, no tuvo un efecto estadísticamente favorable sobre la variable largo aéreo, dado que no se diferenció de otras fuentes fosforadas. Esto podría atribuirse a que las cepas de *A. niger* no fueron capaces de entregar el fósforo suficiente a las plantas en el período en que duró el ensayo, lo que se afirma con el nivel de fósforo residual encontrado al final del experimento.

Según el estudio realizado por MAYA (1995) en que midió el largo aéreo de las plántulas de lechuga en distintos sustratos observó que al día 39 éstas presentaron rangos entre 0,5 y 6,8 cm, valores que en el presente estudio fueron superados, lo que indica que éstas plántulas tuvieron un buen desarrollo. También el estudio citado indicó que hubo un efecto positivo de la presencia de fósforo, en cualquiera de sus dosis, lo que demuestra que este nutriente es esencial para el desarrollo también de la parte aérea de este cultivo.

Acerca de los resultados promedios obtenidos del número de hojas de plántulas de lechuga después de 30 días en los sustratos con distintas fuentes de fertilización fosforada, éstos se presentan en el Cuadro 7.

El análisis estadístico (Andeva y prueba de Tukey) realizado concluyó que no existieron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) del número de hojas en los tratamientos.

Según lo recomendado por KRARUP (1982) el número ideal de hojas para plántulas de lechuga para el trasplante oscila entre 3-4 hojas verdaderas que involucran un período de almácigo de 30-45 días dependiendo de la variedad. De acuerdo, a esto en el ensayo se habría obtenido el adecuado número de hojas que es recomendado en literatura. Estos resultados sugieren que el número de hojas estaría dado por la información genética de las plantas y no por la fertilización de ésta.

Respecto al largo total, los tratamientos con valores mayores fueron aquellos en que se cultivo lechuga en suelo no estéril con superfosfato triple y suelo sin éste. Sin embargo, estadísticamente fueron iguales a los controles.

Para el caso de la incorporación del fertilizante, podría explicarse de acuerdo a su rápida acción que se refleja por la mayor disponibilidad de éste después de 30 días, lo que concuerda con el estudio señalado por BONOMELLI *et al.* (2003).

Para el tratamiento de suelo no estéril, se podría explicar un mayor largo total en que el nivel de fósforo disponible habría sido suficiente para su crecimiento, además de una asociación favorable con otros microorganismos, razón por la cual este nutriente disminuyó al termino del ensayo.

La adición de las cepas de *A. niger* I y II no logró diferenciarse con respecto a los demás tratamientos, lo que podría atribuirse a que la disponibilidad de fósforo para las plantas no fue suficiente, tendencia que se obtuvo en todas las variables de crecimiento que fueron medidas y que arrojaron diferencias estadísticamente significativas. Por lo cual no es posible

recomendar su posibilidad de uso para trasplante ya que no fue estadísticamente mayor que los restantes tratamientos, lo que indica que la asociación de plántulas de lechuga y cepas I y II de *A. niger* no logró un efecto benéfico en cuanto a las variables de crecimiento.

5 CONCLUSIONES

El fósforo Olsen residual aumentó en los tratamientos con aplicación de SFT con respecto al nivel inicial y se diferenció de aquellos en que se usó roca fosfórica con y sin la adición de *A. niger*.

La adición de las cepas de *A. niger* a la roca Carolina del Norte, no mostró un aumento significativo en el P Olsen, lo que sugiere que bajo las condiciones de este experimento no hubo un aumento en la solubilización de la roca por efecto de los hongos.

El pH del suelo disminuyó en todos los tratamientos con respecto al nivel inicial, lo que fue más significativo para aquellos cuya condición fue de no estériles. Esto indica que la solubilización de la roca se debió principalmente a la acidez del suelo y no a la acción fúngica.

Los pesos de la materia fresca y seca no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tratamientos, así como también en el número de hojas, emergencia, sobrevivencia y la concentración de fósforo en los tejidos, por lo cual no fue posible atribuir un claro efecto de la inoculación por las cepas de *A. niger* sobre estas variables.

Respecto a las variables de crecimiento como: largo radical, largo aéreo y largo total, las plántulas de lechuga que lograron una mayor longitud de estas variables fueron aquellas cultivadas bajo condiciones de suelo no estéril solo y con superfosfato triple.

La inoculación con las cepas en estudio (I y II) de *A. niger* no presentó diferencias estadísticas con respecto a los controles, en las variables de crecimiento, por lo que no se puede atribuir, bajo las condiciones del ensayo, un efecto favorable sobre estas variables. Sin embargo, se lograron plántulas con un buen desarrollo y con un crecimiento igual o mayor a lo señalado en otros estudios.

Respecto a la acción de ambas cepas en estudio, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ellas en ninguna de las variables medidas.

6 RESUMEN

Se realizó un estudio con las cepas I y II de *A. niger*, las que fueron previamente masificadas, para evaluar el efecto de su acción solubilizadora de fosfatos insolubles sobre la disponibilidad de fósforo y pH, así como también sobre las variables de crecimiento y establecimiento de plántulas de lechuga, lo cual fue realizado en dos períodos de tiempo (8 y 30 días). Como controles fueron incluidos el fertilizante soluble al agua superfosfato triple, también roca fosfórica Carolina del Norte sin inóculo de este hongo, cepa control de *A. niger* inoculada a la roca fosfórica y testigos sin la adición de fertilización fosforada. Todos los tratamientos fueron realizados en triplicado y mantenidos en macetas que contenían suelo trumao (serie Valdivia) además del tratamiento a evaluar, durante 30 días en invernadero. Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza y prueba de Tukey.

A los 8 días fue medido el porcentaje de emergencia del cultivo variable que no presentó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. También fueron medidos P-Olsen, pH y las variables de crecimiento en las plántulas a los 30 días de establecido el ensayo. Se determinó que la sobrevivencia del cultivo (%), el peso de la materia fresca y seca, así como la concentración de fósforo en los tejidos vegetales y el número de hojas no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en el tiempo evaluado, por lo cual no se pudo establecer claramente un efecto de la acción de las cepas (I y II) de *A. niger* sobre estas variables.

El fósforo disponible del suelo (P-Olsen) en los tratamientos inoculados con las cepas I y II de *A. niger*, no presentó diferencias estadísticamente significativas con respecto al nivel inicial, lo que indica que el fósforo disponible no aumentó en estos tratamientos, mientras que en aquellos con superfosfato triple sí aumentó. El pH del suelo disminuyó al final del período en todos los tratamientos, siendo más significativo para los sustratos en condiciones no estériles, lo que indica la acidificación del suelo al final del ensayo. Las variables de crecimiento evaluadas en las plántulas de lechuga como largo de raíz, largo aéreo y largo total que presentaron las mejores respuestas fueron aquellas cultivadas bajo condiciones de suelo no estéril solo y con superfosfato triple, mientras que la inoculación con las cepas de *A. niger* no logró mayores mediciones, lo que indica la influencia de factores que afectaron su mecanismo de solubilización.

SUMMARY

A study with strains *A. niger* I and II was made to test those that previously were amassed, to evaluate the effect of its solubilizer insoluble phosphate action on the phosphorus availability and pH as well as on the variables of the growth of seedling of lettuce, what it was made in two periods of time (8 and 30 days). As controls were including the soluble fertilizer to the water triplesuperphosphate, also phosphoric rock Carolina of the North without inoculate of this fungus, strains control of *A. niger* inoculated to the phosphoric rock and witnesses without the addition of phosphates fertilization. All the treatments were made in triplicate and maintained in flowerpots that contained soil trumao (Valdivia series) in addition to the treatment to evaluate, during 30 days in greenhouse. The collected data were put under an analysis of variance and test of Tukey.

To the 8 days the percentage of emergency of the culture, variable was measured that did not present statistically significant differences between the treatments. On the other hand P-Olsen, pH and the variables of growth were measured in seedling to the 30 days of settled down the test. Was determined that sobreexperience of the culture (%), the weight of the fresh and dry matter, as well as the phosphorus concentration in vegetal weaves and number of leaves did not present statistically significant differences between the treatments in the evaluated time, by as could not be established clearly an effect of the action of the strains (I and II) of *A. niger* on these variables.

The phosphorus available of the soil (P-Olsen) in the treatments inoculated with strains I and II of *A. niger*, did not present statistically significant

differences with respect to the initial level, which indicates that the phosphorus available did not increase in the treatments, whereas in those with triple superphosphate it increased. The pH of the soil decreased at the end of the period in all the treatments, being more significant for the substrates in nonsterile conditions. The variables of growth evaluated in seedling of lettuce like root length, aerial length and length overall that presented the best answers were those cultivated under conditions of soil nonsterile single and with triple superphosphate, whereas the inoculation with the strains of *A. niger* did not obtain favorable effects what indicates the influence of factors that affected their mechanism of solubilization.

7 BIBLIOGRAFÍA

- ANWANDTER, V. 2003. Presencia de ecotipos de *Holcus lanatus* L. en suelos con niveles contrastantes de fósforo. Tesis Lic. Agr. Valdivia Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 130p.
- ALEXANDER, M. 1961. Introduction to soil microbiology. New York., USA. Wiley 472 p.
- ANGLES, J. 1977. Cultivo de la lechuga. Guía práctica. Lérida, España. Larrosa. 43p.
- BARRERA, S. 2002. Solubilización de roca fosfórica Carolina del Norte por hongos nativos aislados de un suelo trumao de la X Región. Tesis Tec. Med., Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Medicina. 57p.
- BARROW, N.J. 1980. Evaluation and utilization of residual phosphorus in soils. In: The role of phosphorus in agriculture. F.E. Khasawneh, E.C. Sample and E.J. Kamprath eds. ASA-CSSA-SSA, Madison, USA. pp:333-359.
- BLACK, C.A. 1975. Relaciones suelo plantas. Buenos Aires, Argentina. Hemisferio Sur. 886p.
- BOJINOVA, D., VELKOVA, R., GRANCHAROV, I. y ZHELEV, S. 1997. The bioconversion of tunisian phosphorite using *Aspergillus niger*. Nutr.Cycl.Agroecosyst.47:227-232.

- BONOMELLI, C; HENRIQUEZ, L; GIRAL, L; y BESCANSÁ, P. 2003. Disponibilidad de fósforo en un Andisol, con distintas fuentes y dosis de fósforo, en condiciones controladas. Ciencia e Investigación Agraria. (Chile), 30 (3): 187-195.
- BORIE, F; QUINTEROS, J. y AGUILERA, M. 1983. Bioquímica de suelos derivados de cenizas volcánicas. IV. Solubilización de fosfatos por hongos del suelo. Agricultura Técnica(Chile) 43(4):371-376.
- BRADY, N.C y WEIL, R.R.1999. The nature and properties of soils. 12th ed.New Yérsey, USA. Pretince Hall.881p.
- CAMPILLO, R. 1990. Roca Fosfórica. Nueva alternativa para la fertilización de praderas. Investigación y progreso agropecuario Carillanca, (Chile). 9(3):31-34.
- 1991. Utilización de roca fosfórica Carolina del Norte en fertilización de praderas. Investigación y progreso agropecuario. Carillanca (Chile) 10 (4): 9-12.
- CASSERES, E. 1971. Producción de hortalizas.2^a ed. México. Herrero. 309 p.
- CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICAS (INE) 2004. Censo agropecuario. (on line). <<http://www.ine.cl/backup/34censo/701.htm>> (6 ener 2004).
- DOMÍNGUEZ, A. 1997. Tratado de fertilización.3^a .ed. Madrid, España. Mundi Prensa. 613 p.

- GAJARDO, J. 1990. Evaluación de 16 cultivares de lechuga (*Lactuca sativa* L.) para la producción de semillas en Valdivia. Tesis Lic. Agr, Valdivia Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 69p.
- GARCÍA, R.1959. Horticultura especial. 2^a ed. Barcelona, España. Salvat. 456p.
- GIACONI, M. 1990. Cultivo de hortalizas. Universitaria. 7^a. ed. Santiago, Chile. 308 p.
- HAVLIN, J., BEATON, J., TISDALE, S y WARNER, N. 1999. Soil fertility and fertilizers. An introduction to nutrient management. 6^a ed. New Jersey, USA. Prentice Hall. 499 p.
- ILLMER, P y SCHINNER, F.1992. Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soil. *Soil Biology & Biochemistry*. (24): 389-395.
- ILLMER, P y SCHINNER, F.1995. Solubilization of inorganic calcium phosphates-solubilization mechanisms. *Soil Biology & Biochemistry*. 27:257-263.
- KPOMBLEKOU, K. y TABATAI, M.A 1994. Effect of organic acids on release of phosphorus from phosphate rocks. *Soil Science*. 158(6): 442-453.
- KRARUP, A. 1982. Curso general de hortalizas. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Instituto de Producción y Sanidad Vegetal. 57 p.
- KRARUP, C. y MOREIRA, I. 2003. Hortalizas de estación fría (on line)

<<http://www.puc.cl/Sw.edu/hor0498>>(12 dic 2003).

NAHAS, E., FORNASIERI, D y ASSIS. 1994. Resposta a inoculacao de fungo solubilizador de fósforo em milho. Science Agricultura. Piracicaba (Brasil) 51(3):463-469.

MAYA, C. 1995. Evaluación a través de ensayos de germinación de una mezcla de corteza de especies nativas sometidas a diferentes procesos de fermentación. Tesis Lic. Ing. Forestal, Valdivia Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Forestales. 80p.

PINILLA, H. 1994. Uso de roca fosfórica parcialmente acidulada en suelos de la zona sur. Frontera Agrícola, Chile. 2(1): 51-60.

PINOCHET, D. 1990. Fertilización de praderas permanentes en la zona sur. In: Avances en Producción Animal. Luis Latrille (ed). Instituto de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. 177-198.

PINOCHET, D. 1996. Estrategia de fertilización fosforada en praderas. In: Avances en Producción Animal. Luis Latrille (ed). Instituto de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. 181-209.

REYES, I.1991. Cuantificación de microorganismos solubilizadores de fosfatos en suelos del yacimiento de roca fosfórica de Monte Fresco. Revista Facultad Agronomía Maracay (on line) 17: 373-379 <http://www.redpav-polar.info.ve/fagro/v17_14/v171a280.html> (26 mar 2004).

- RODRÍGUEZ, J. 1993. La fertilización de los cultivos, un método racional. Colección en Agricultura. Facultad de Agronomía, Pontificia Universidad Católica de Chile. 290 p.
- ROJAS, C; CAMPILLO, R., y BESOAIN, E. 1993. Uso de rocas fosfóricas en agricultura. Investigación y progreso agropecuario La Platina (Chile). (79):30-33.
- RYDER, E. 1979. Leafy salad vegetables. Avi.Westport, Conneticut. USA. 266 p.
- SADZAWKA, A; GREZ, R; MOTA, M; SAAVEDRA, R; CARRASCO, M; ROJAS, C. 2000. Métodos de análisis recomendados para suelos chilenos. Sociedad chilena de la Ciencia del Suelo. (Chile).62p.
- 2001. Métodos de análisis de tejidos vegetales. Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo. Comisión de Normalización y Acreditación. pp:1-24.
- SAMSON, R y PITT, J. 2000. Integration of modern taxonomic methods for *Penicillium* and *Aspergillus*. Classification. Ámsterdam. Harwood Academic. 510 p.
- SEPÚLVEDA, G., BEOAIN, E y MOLINA, R. 1997. Rocas fosfóricas chilenas. II. Eficiencia agronómica y su uso como fertilizantes fosfatados en suelos volcánicos. Agricultura Técnica (Chile) 57: 225-241.
- SIERRA, C. 1990. Rocas Fosfóricas: Nueva fuente de fósforo para praderas y cultivos. Boletín Técnico INIA, Remehue, Chile. N°159. 9p.

- SOTO, S. 1986. Ensayo factorial de fertilización en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.). Tesis Lic. Agr, Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 64p.
- TAIZ, L y ZEIGER, E. 1991. Plant physiology. Redwood City : The Benjamin Cummings. USA. 591 p.
- TATE, R. 2000. Soil microbiology. 2^a ed. New York, USA. Wiley. 508 p.
- TISDALE, S., WARNER, N., HAVLIN, J y BEATON, J.1993. Soil fertility and fertilizers 5^oed. New York, USA. MacMillan. 634 p.
- TOOVEY, F. 1966. Producción comercial de hortalizas en invernadero. Zaragoza. Acribia. 158 p.
- VASSILEVA.M., AZCON, R., BAREA, J y VASSILEV, N. 2000. Rock phosphate solubilization by free and encapsulated cells of *Yarrowia lipolytica*. Process Biochem. 35:693-697
- VILLARROEL, G. 1998. Aproximación a la determinación del coeficiente de cultivo (Kc) para lechuga (*Lactuca sativa* L.) bajo un sistema de riego combinado. Tesis Lic. Agr, Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 77p.
- WHITELAW, M., HARDEN, T y HELYAR, K. 1999. Phosphate solubilization in solution culture by the soil fungus *Penicillium radicum*. Soil Biology and Biochemistry. (31): 655-665.
- WHITELAW, M. 2000. Growth promotion of plants inoculated with phosphate-solubilizing fungi. Advances in Agronomy. (Australia) 69: 99-152p.

WILCOX, G. 1967. Effect of P fertilization on tomato seedling growth rate. Proc. American Society Horticulture Science. (90): 330-334.

ANEXOS

ANEXO 1 Variables de crecimiento en plántulas de lechuga medidas a partir de 30 días de cultivo considerando tres repeticiones por tratamiento.

Tratamiento	Repeticón	Largo raíz	Numero hojas	Largo aéreo	Largo total
1	1	10,9	4,2	10,0	20,9
1	2	10,8	4,3	9,3	20,1
1	3	10,8	4,4	10,1	20,9
2	1	8,0	3,6	4,5	12,5
2	2	9,5	4,4	8,5	18,0
2	3	8,8	4,1	6,7	15,5
3	1	7,4	3,9	5,4	12,8
3	2	10,5	4,3	9,4	19,9
3	3	9,1	5,0	7,5	16,6
4	1	8,0	3,9	3,8	11,8
4	2	9,5	4,7	5,5	15,0
4	3	9,7	4,8	7,8	17,5
5	1	10,0	4,3	9,1	19,1
5	2	11,5	4,1	9,2	20,7
5	3	12,0	4,3	11,0	23,0
6	1	11,0	3,8	8,6	19,6
6	2	10,1	4,4	8,4	18,5
6	3	10,1	3,8	5,5	15,6
7	1	8,4	3,8	3,8	12,2
7	2	8,8	4,3	4,7	13,5
7	3	7,2	2,8	3,3	10,5
8	1	7,6	3,6	3,3	10,9
8	2	6,9	3,7	2,8	9,7
8	3	9,6	4,8	6,5	16,1

ANEXO 2 Variables de crecimiento de plántulas de lechuga cultivadas por 30 días considerando tres repeticiones por tratamiento.

Tratamiento	Repeticón	Concentracón de fósforo Emergencia (%)	Sobrevivencia (%)
1	1	0,254	100,00
1	2	0,237	96,00
1	3	0,324	100,00
2	1	0,457	100,00
2	2	0,115	92,00
2	3	0,168	92,00
3	1	0,296	92,00
3	2	0,098	88,00
3	3	0,148	88,00
4	1	0,331	80,00
4	2	0,133	92,00
4	3	0,130	76,00
5	1	0,233	100,00
5	2	0,298	100,00
5	3	0,312	76,00
6	1		100,00
6	2	0,195	88,00
6	3	0,212	100,00
7	1	0,227	92,00
7	2	0,249	92,00
7	3	0,456	84,00
8	1	0,353	72,00
8	2	0,529	88,00
8	3	0,207	88,00

ANEXO 3 Fósforo disponible y pH del suelo medidos al cabo de 30 días considerando tres repeticiones por tratamiento.

Tratamiento	Repetición	P Olsen	pH
1	1	1,6041	4,77
1	2	1,9781	4,75
1	3	1,2950	4,90
2	1	1,7367	5,01
2	2	2,0456	4,91
2	3	1,3242	4,96
3	1	4,4174	5,02
3	2	3,4457	4,83
3	3	4,4507	5,02
4	1	3,8330	4,97
4	2	5,0735	5,02
4	3	3,9512	5,03
5	1	5,7932	4,79
5	2	4,6002	4,79
5	3	5,3921	4,83
6	1	7,2086	5,02
6	2	5,9576	4,96
6	3	4,6462	5,01
7	1	3,0214	5,00
7	2	3,4607	5,03
7	3	3,2898	5,02
8	1	2,7291	4,98
8	2	3,5659	5,02
8	3	3,5211	5,02

ANEXO 4 Análisis de varianza (ANDEVA) para el promedio de fósforo disponible del suelo.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	Valor de F calculado	Valor P
A:Tratamiento	49.87	7	7.12	16.14	0.000**
B:Repetición	0.47	2	0.23	0.53	0.599 ns
Residuo	6.18	14	0.44		
Total	56.51	23			

** Indica diferencias estadísticas altamente significativas

n.s Indica que no existen diferencias estadísticamente significativas.

ANEXO 5 Análisis de varianza (ANDEVA) para el promedio de pH del suelo.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	Valor de F calculado	Valor P
A:Tratamiento	0.16	7	0.02	9.52	0.00**
B:Repetición	0.01	2	0.01	2.91	0.09 ns
Residuo	0.03	14	0.00		
Total	0.21	23			

** Indica diferencias estadísticas altamente significativas

n.s Indica que no existen diferencias estadísticamente significativas.

ANEXO 6 Análisis de varianza (ANDEVA) para el promedio de materia fresca de plántulas de lechuga cultivadas por 30 días bajo distintos tratamientos.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	Valor de F calculado	Valor P
A:Tratamiento	1.55	7	0.28	1.37	0.29 ns
B:Repetición	0.49	2	0.24	1.51	0.26 ns
Residuo	2.09	13	0.16		
Total	4.15	22			

n.s Indica que no existen diferencias estadísticamente significativas

ANEXO 7 Análisis de varianza (ANDEVA) para el promedio de materia seca de plántulas de lechuga cultivadas por 30 días bajo distintos tratamientos.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	Valor de F calculado	Valor P
A:Tratamiento	0.00	7	0.00	1.10	0.42 ns
B:Repetición	0.00	2	0.00	1.75	0.21 ns
Residuo	0.00	13	0.00		
Total	0.01	22			

n.s Indica que no existen diferencias estadísticamente significativas

ANEXO 8 Análisis de varianza (ANDEVA) para el promedio de concentración de fósforo de plántulas de lechuga cultivadas por 30 días bajo distintos tratamientos.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	Valor de F calculado	Valor P
A:Tratamiento	0.08	7	0.01	0.86	0.56 ns
B:Repetición	0.02	2	0.01	0.64	0.54 ns
Residuo	0.19	14	0.01		
Total	0.29	23			

n.s Indica que no existen diferencias estadísticamente significativas

ANEXO 9 Análisis de varianza (ANDEVA) para el promedio del porcentaje de emergencia de plántulas de lechuga cultivadas por 30 días bajo distintos tratamientos.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	Valor de F calculado	Valor P
A:Tratamiento	725.33	7	103.62	1.79	0.17 ns
B:Repetición	85.33	2	42.67	0.74	0.49 ns
Residuo	810.67	14	57.90		
Total	1621.33	23			

n.s Indica que no existen diferencias estadísticamente significativas

ANEXO 10 Análisis de varianza (ANDEVA) para el promedio del porcentaje de sobrevivencia de plántulas de lechuga cultivadas por 30 días bajo distintos tratamientos.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	Valor de F calculado	Valor P
A:Tratamiento	2623.70	7	374.81	2.03	0.12 ns
B:Repetición	968.91	2	484.45	2.62	0.11 ns
Residuo	2583.75	14	184.55		
Total	6176.35	23			

n.s Indica que no existen diferencias estadísticamente significativas

ANEXO 11 Análisis de varianza (ANDEVA) para el promedio de largo radical de plántulas de lechuga cultivadas por 30 días bajo distintos tratamientos.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	Valor de F calculado	Valor P
A:Tratamiento	31.77	7	4.54	4.70	0.01 ns
B:Repetición	2.76	2	1.38	1.43	0.27 ns
Residuo	13.53	14	0.97		
Total	48.06	23			

n.s Indica que no existen diferencias estadísticamente significativas

ANEXO 12 Análisis de varianza (ANDEVA) para el promedio de largo aéreo de plántulas de lechuga cultivadas por 30 días bajo distintos tratamientos.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	Valor de F calculado	Valor P
A:Tratamiento	105.12	7	15.02	5.95	0.00 **
B:Repetición	7.23	2	3.62	1.43	0.27 ns
Residuo	35.34	14	2.52		
Total	147.69	23			

** Indica diferencias estadísticas altamente significativas

n.s Indica que no existen diferencias estadísticamente significativas

ANEXO 13 Análisis de varianza (ANDEVA) para el promedio de número de hojas de plántulas de lechuga cultivadas por 30 días bajo distintos tratamientos.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	Valor de F calculado	Valor P
A:Tratamiento	1.48	7	0.21	1.01	0.46 ns
B:Repetición	0.80	2	0.40	1.92	0.18 ns
Residuo	2.92	14	0.21		
Total	5.20	23			

n.s Indica que no existen diferencias estadísticamente significativas

ANEXO 14 Análisis de varianza (ANDEVA) para el promedio de largo total de plántulas de lechuga cultivadas por 30 días bajo distintos tratamientos.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	Valor de F calculado	Valor P
A:Tratamiento	235.16	7	33.59	5.40	0.00**
B:Repetición	17.75	2	8.87	1.43	0.27 ns
Residuo	87.16	14	6.23		
Total	340.07	23			

** Indica diferencias estadísticas altamente significativas

n.s Indica que no existen diferencias estadísticamente significativas

ANEXO 15 Preparación de la solución nutritiva aplicada al cultivo de plántulas de lechuga durante el ensayo.

Las cantidades de cada una de las soluciones fueron: 4 L de las soluciones A de macroelementos, B de macroelementos y de la de nitrógeno. 1L de las soluciones de microelementos y de citrato de amonio. A continuación se explica la preparación de la solución nutritiva:

Solución A de macroelementos sin P: 8,8 g/4 L de K_2SO_4 y 24 g/4 L de $KHCO_3$. Solución B de macroelementos: 8,08 g/4 L de $MgCl_2 \times 6H_2O$, 2,04 g/4 L de $CaCO_3$, 6,22 g/4 L de $Na_2 SO_4$ y 40 mL/2L de HCl (1N). Solución de microelementos: 0,03 g/L de $H_3 BO_3$, 0,004 g/L de $CoCl_2 \times 6H_2O$, 0,01g/L de $CuCl_2 \times 2H_2O$, 0,2 g/L de $MnCl_2 \times 4H_2O$, 0,004 g/L de $(NH_4)_6Mo_7O_2 \times H_2O$ y 0,015 g/L de $ZnCl_2$. Solución de nitrógeno: 106,66 g de NH_4NO_3 por 4 L de agua. Solución de citrato de hierro: 0,0585 g de citrato de hierro por 1 L de agua.

