TRABAJO FIN DE GRADO

Grado en Ingeniería Agrícola

UNIVERSIDAD DE ALMERIA

ESCUELA SUPERIOR DE INGENIERÍA

Uso de biofertilizantes como una herramienta para mejorar la productividad y la calidad de un cultivo intensivo de tomate

Mención: Hortofruticultura y Jardinería

Modalidad: Trabajo

Curso 2020/2021

Alumno/a: Luis Teruelo García

Director/es:
Raúl Ortega Pérez
Isabel Miralles Mellado

UNIVERSIDAD DE ALMERÍA

ESCUELA SUPERIOR DE INGENIERÍA

DEPARTAMENTO DE AGRONOMÍA

TRABAJO TÉCNICO-EXPERIMENTAL

Uso de biofertilizantes como una herramienta para mejorar la productividad y la calidad de un cultivo intensivo de tomate

Titulación: Grado en Ingeniería Agrícola

Especialidad: Hortofruticultura y Jardinería

Autor: Luis Teruelo García

Director: Raúl Ortega Pérez

Codirectora: Isabel Miralles Mellado

Año: 2020/2021

ALMERÍA, ESPAÑA, julio del 2021

AGRADECIMIENTOS

Dedico estas líneas finales de una etapa que recordaré siempre, a toda la gente que ha creído en mí en algún momento y no dejó que abandonase este camino.

A mi tutor Raúl por su fiel disposición y constante ayuda en la realización de este trabajo, así como a José Carlos y Víctor por haber compartido conmigo este proyecto durante estos últimos meses. El mejor de los deseos para ellos de aquí en adelante. A mis profesores durante mi periodo en la Universidad de Almería. Gracias por la inspiración.

A mis amigos, Yoyo, Noha, Javier, Antonio, Fau, Marina, que siempre han estado ahí durante la realización de este proyecto para animarme y escucharme cuando lo necesitaba.

Un emotivo recuerdo a toda la gente que conocí en Budapest gracias al programa Erasmus. Demasiados para nombrar en estas líneas, pero que cambiaron mi vida en el momento en que más lo necesitaba, y que sin darse cuenta ellos, hicieron por mí mucho más de lo que yo pude hacer por ellos.

A mi hermana Cristina, mi padre Agustín y mi madre Carmen, que, junto con el resto de mi familia, moldearon la persona que soy hoy, de la cual me siento orgulloso y afortunado. Gracias por sus ánimos y su ayuda despreocupada. Soy un privilegiado por tenerlos en mi vida.

Un agradecido recuerdo final a todos aquellos que en algún momento estuvieron en mi vida y hoy día no lo están. En especial a mis abuelos Agustín, Paco y Carmen. La mejor compañía y el mejor ejemplo que jamás nadie pudo haber pedido. Os pienso cada día.

Muchísimas gracias por todo.

"Esperando, el nudo se deshace y la fruta madura." — Federico García Lorca

ÍNDICE GENERAL

1. MEMORIA DESCRIPTIVA 1

1.1. Interés del tema 1

1.2. Invernaderos de plástico 2

1.2.1. Concepto 2

1.2.2. Tipos de invernadero presentes en Almería 3

1.2.3. Problemática en los suelos de invernadero y exceso de uso de fertilizantes sintéticos 3

1.3. Cultivo del tomate 5

1.3.1. Descripción morfológica de la planta 5

1.3.2. Fertirriego 7

1.3.3. Caracterización del calibre del fruto como medida de productividad 7

1.3.4. Parámetros de calidad 7

1.3.4.1. Parámetros externos de calidad 8

1.3.4.1.1. Firmeza 8

1.3.4.2. Parámetros internos de calidad 9

1.3.4.2.1. Contenido total de sólidos solubles 9

1.3.4.2.2. Acidez activa - pH 9

1.3.4.2.3. % Ácido cítrico 10

1.3.4.2.4. Índice de madurez 10

1.3.4.3. Efecto del nitrógeno, fósforo y potasio en el desarrollo de la planta y sus procesos celulares. 10

1.4. Bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCP) 11

1.4.1. Concepto 11

1.4.2. Bacterias fijadoras de N 12

1.4.2.1. Fijación de nitrógeno de vida libre – género Rhizobium 12

1.4.3. Bacterias solubilizadoras de P 12

1.4.4. Bacterias solubilizadoras de K 13

1.5. Objetivos 14

1.6. Fases de realización del TFG y cronograma asociado 15

2. COMPETENCIAS ASOCIADAS DEL PROYECTO 15

3. ESPECIFICACIONES Y REQUERIMIENTOS TÉCNICOS DEL PROYECTO 16

3.1. Localización del ensayo 16

3.2. Características del invernadero 17

3.3. Material vegetal utilizado 18

3.4. Sistema de fertilización química y biofertilización 19

3.5. Diseño del ensayo 20

3.5.1. Descripción y disposición de los tratamientos 20

3.6. Análisis microbiológicos 21

3.7. Realización de medidas morfológicas 23

3.8. Análisis de fertilidad en suelos y planta 23

3.9. Parámetros de calidad en frutos. 24

3.10. Medidas de productividad de cosecha 25

3.11. Análisis estadístico 25

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 26

4.1. Efecto de los diferentes tratamientos sobre parámetros morfométricos 26

4.2. Fertilidad en hojas 29

4.3. Fertilidad en frutos 30

4.4. Fertilidad en suelos 31

4.5. Efecto de los diferentes tratamientos sobre el suelo durante el cultivo 32

4.6. Caracterización de las comunidades microbianas 34

4.7. Rendimiento total acumulado del cultivo 39

4.8. Rendimiento acumulado por categoría 42

4.8.1. Categoría GGG (> 102 mm diámetro transversal) 42

4.8.2. Calibre GG (82-102 mm diámetro transversal) 43

4.8.3. Calibre G (67-82 mm diámetro transversal) 44

4.8.4. Categorías inferiores (< 67 mm diámetro transversal) 45

4.9. Proporción y peso de frutos por categoría 45

4.10. Rendimiento económico 47

4.11. Parámetros de calidad 48

4.12. Extracción de macronutrientes. 49

5. CONCLUSIÓN..... 51

6. BIBLIOGRAFÍA..... 52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Poniente almeriense. Fuente: Google Earth. 1

Figura 2: Instauración de un cultivo en un invernadero almeriense. 4

Figura 3: Determinación de la firmeza de un fruto de tomate. 8

Figura 4: Detalle de la medición de grados Brix del refractómetro Master Agri 0-53% marca ATAGO. 9

Figura 5: Localización de instalaciones de riego (1) y del invernadero del ensayo (2). Fuente: Google Earth. 16

Figura 6: Detalle de una entrada a un invernadero tipo parral. 16

Figura 7: Laboratorio del Departamento de Agronomía de la Universidad de Almería. 17

Figura 8: Marco de plantación entre plantas y calles o líneas en el invernadero del proyecto. 17

Figura 9: Fruto de tomate de la variedad Rebellion. 18

Figura 10: Productos comerciales de Nostoc Biotechnologies S.L. utilizados en el proyecto. 19

Figura 11: Disposición de los tratamientos en la superficie del invernadero. Sistema de riego de los sectores representado por líneas. 20

Figura 12: Detalle del sector correspondiente al tratamiento T2 dentro del invernadero. 21

Figura 13: Calicata realizada en el invernadero para la toma de muestras de suelo. 21

Figura 14: Esquema de muestreo de las muestras microbiológicas por tratamiento. 22

Figura 15: Toma de parámetros morfométricos de la planta del tomate. 23

Figura 16: Réplicas de hoja tras ser lavadas para su posterior análisis. 24

Figura 17: Determinación del calibre del fruto para su posterior pesaje. 25

Figura 18: Variable diámetro de la primera bifurcación en la planta. 27

Figura 19: Variable número de entrenudos en la planta 28

Figura 20: Variable fósforo (P) en hojas de la planta en época de crecimiento vegetativo. .. 29

Figura 21: Contenido de nitrógeno (N) en frutos. 31

Figura 22: Contenido de potasio (K) en frutos. 31

Figura 23: Cantidad de nitrógeno total en los suelos a lo largo del cultivo. *32*

Figura 24: Cantidad de fósforo asimilable en el suelo a lo largo del cultivo. *33*

Figura 25: Cantidad de potasio en el suelo a lo largo del cultivo. *34*

Figura 26: Abundancias relativas de los filos bacterianos en suelos del tratamiento 0. ..... *35*

Figura 27: Abundancias relativas de los filos bacterianos en suelos del tratamiento 1. ..... *35*

Figura 28: Abundancias relativas de los filos bacterianos en suelos del tratamiento 2. ..... *36*

Figura 30: Evolución acumulada de la producción comercial (kg m^{-2} $cosecha^{-1}$) de los distintos tratamientos a lo largo del ciclo del cultivo. *40*

Figura 31: Producción total comercial (kg m^{-2} $cosecha^{-1}$) de los distintos tratamientos. *40*

Figura 32: Evolución de la producción comercial (kg m^{-2} $cosecha^{-1}$) de los distintos tratamientos a lo largo del ciclo de cultivo de tomate larga vida de la categoría GGG. *42*

Figura 33: Evolución de la producción comercial (kg m^{-2} $cosecha^{-1}$) de los distintos tratamientos a lo largo del ciclo de cultivo de tomate larga vida de la categoría GG. *43*

Figura 34: Evolución de la producción comercial (kg m^{-2} $cosecha^{-1}$) de los distintos tratamientos a lo largo del ciclo de cultivo de tomate larga vida de la categoría G. *44*

Figura 35: Evolución de la producción comercial (kg m^{-2} $cosecha^{-1}$) de los distintos tratamientos a lo largo del ciclo de cultivo de tomate larga vida de categorías inferiores. ... *45*

Figura 36: Distribución porcentual de la producción de frutos de distintos calibres para cada tratamiento. *46*

Figura 37: Peso medio de frutos por categorías para los distintos tratamientos. *46*

Figura 38: Peso de frutos por categorías para los distintos tratamientos. *48*

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Clasificación por calibre para el fruto de tomate. *7*

Tabla 2: Cronograma por meses del desarrollo de las fases del trabajo fin de grado desde el inicio hasta el final del cultivo. *15*

Tabla 3: Distribución de porcentajes de uso de los tanques de riego según la fase del cultivo. *19*

Tabla 4: Análisis morfométrico de plantas en época de crecimiento vegetativo. *27*

Tabla 5: Análisis foliar de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) en época de crecimiento vegetativo. *29*

Tabla 6: Análisis de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) en frutos. *30*

Tabla 7: Valores en suelo antes de la plantación. *32*

Tabla 8: Análisis microbiológico Gheom. *38*

Tabla 9: Incremento en porcentaje de beneficio económico de los distintos tratamientos respecto al resto. *47*

Tabla 10: Análisis de parámetros de calidad del fruto del tomate. *49*

Tabla 11: Extracción de macronutrientes por los frutos por m^2. ..... *50*

Tabla 12: Porcentaje de extracción de N, P y K en los frutos de tomate del cultivo de T1 y T2 respecto a T0. ..... *50*

RESUMEN

El crecimiento exponencial de la población mundial en las últimas décadas ha ido acompañado de la mano con un uso excesivo de fertilizantes sintéticos destinado a satisfacer las cada vez más exigentes demandas del mercado. Esta práctica, insostenible en el tiempo, parece haber encontrado en el uso en conjunto de biofertilizantes una solución a corto plazo. A lo largo de un ciclo de cultivo del tomate larga vida *Rebellion* aplicamos periódicamente unos biofertilizantes basados en bacterias de la casa comercial Nostoc Biotechnologies S.L. en conjunto con la fertilización habitual para un cultivo de tomate. Estas bacterias tenían el objetivo de fijar N atmosférico y solubilizar P y K que se encuentra en el suelo de forma no disponible para las plantas. Se estudiaron parámetros morfométricos, producción, rendimiento económico, fertilidad en hojas, frutos y suelo, parámetros de calidad del fruto y caracterización de las comunidades microbianas del suelo. La aplicación de biofertilizantes dieron mejores resultados en cuanto a la fertilidad del fruto y a la producción del cultivo, obteniéndose hasta un 30% más de rendimiento económico respecto a las plantas sin inoculaciones bacterianas gracias a la mayor obtención de frutos de un calibre más cotizado en el mercado. Además, su utilización mejoró considerablemente la disponibilidad de fósforo asimilable para la planta en el suelo. La inoculación de BPCP como un extra al fertirriego normal de un cultivo puede darnos así una mejor producción y un mejor rendimiento económico sin aumentar la superficie de cultivo.

ABSTRACT

The exponential growth of the world population in recent decades has gone hand in hand with an excessive use of synthetic fertilizers to meet the ever-increasing demands of the market. This practice, unsustainable over time, seems to have found in the combined use of biofertilizers a short-term solution. Throughout a crop cycle of Rebellion long-life tomato, we periodically applied biofertilizers based on bacteria from Nostoc Biotechnologies S.L. in conjunction with the usual fertilization for a tomato crop. These bacteria were intended to fix atmospheric N and solubilize P and K that are not available to plants in the soil. Morphometric parameters, production, economic yield, leaf, fruit and soil fertility, fruit quality parameters and characterization of soil microbial communities were studied. The application of biofertilizers gave better results in terms of fruit fertility and crop production, obtaining up to 30% higher economic yields compared to plants without bacterial inoculation, thanks to the higher yield of fruits of a more valuable size in the market. In addition, its use considerably improved the availability of assimilable phosphorus for the plant in the soil. The inoculation of BPCP as an extra to the normal fertigation of a crop can thus give us a better production and a better economic yield without increasing the cultivating area.

1. MEMORIA DESCRIPTIVA

1.1. Interés del tema

La provincia de Almería cuenta con 8.653 ha de invernaderos dedicadas al cultivo del tomate (25% de la superficie bajo plástico de Almería) (MAPA, 2020), representando el 15% de la superficie de España y un 41% de la superficie de Andalucía para este cultivo. El cultivo del tomate es por tanto uno de los cultivos más importantes de la provincia. La producción de éste se concentra mayoritariamente en el levante almeriense, en las zonas que comprenden entre La Cañada y el Campo de Nijar. En zonas de poniente (figura 1) existen cultivos de tomate, pero en menor cantidad.

Figura 1: Poniente almeriense. Fuente: Google Earth.

En las últimas décadas la población mundial ha sufrido un crecimiento de manera exponencial, habiendo sido necesario el empleo intensivo de fertilizantes químicos en pos de aumentar la producción de alimentos. Esto ha provocado una serie de problemas derivados a nivel ambiental como la, traduciéndose a la larga en menores rendimientos en las cosechas y frutos de menos calidad para el agricultor (FAO, 1996). A esto se suma el hecho de que prácticamente toda la totalidad superficie agrícolas más idóneas ya están ocupadas a día de hoy

(Toresano, 2008), de ahí que la importancia de mejorar la calidad y rendimientos de los cultivos sea un problema cuya respuesta necesita una urgente formulación.

Todo esto impulsa al mercado internacional a trazar estrategias cuyo objetivo es la obtención de un producto de mayor calidad, a menor coste, y cuya producción mejore progresivamente, además de ser más respetuosos para el medio ambiente. Es aquí donde biofertilizantes se están revelando como una herramienta útil para la consecución de estos objetivos.

La agricultura intensiva en la provincia de Almería es una práctica que se viene realizando desde hace décadas. Debido a esto, el suelo de los invernaderos almerienses ha sufrido una pérdida de fertilidad preocupante, debido al reiterado uso de fertilizantes sintéticos y productos fitosanitarios (Garrido, 2008). Utilizando bacterias promotoras de crecimiento vegetal junto al fertirriego habitual, buscaremos no solo obtener un mejor rendimiento del cultivo y de mayor calidad, sino un incremento en la fertilidad del suelo.

1.2. Invernaderos de plástico

1.2.1. Concepto

El objetivo final del cultivo protegido es el de optimizar al máximo la productividad de un cultivo, haciendo de éste una inversión rentable. Esto se puede conseguir mediante (Castilla, 2007):

- Reducción de las necesidades de agua: se utilizan lo que conocemos como capas de acolchado, compuestas principalmente por arena, cuya función es la de limitar las pérdidas por evaporación del agua en el suelo. Además, en una etapa posterior a la plantación, se pueden utilizar túneles y otras protecciones que limiten la radiación solar y así conseguir una menor necesidad hídrica demandada por el cultivo.
- Reducir la velocidad del viento: una superficie cultivada cuyos límites están delimitados por bandas de plástico pertenecientes a la estructura del invernadero, obtendrá una protección frente al viento.
- Reducir el impacto de climas áridos o bajas temperaturas: pese a que se utilizan técnicas diferentes para proteger al cultivo, el objetivo es el mismo: el aislamiento del cultivo de

las condiciones atmosféricas presentes en la zona, creando así un microclima cuyos parámetros se puedan controlar dependiendo de las necesidades del cultivo en cada momento.

- Proteger frente a plagas, enfermedades, nematodos y predadores: gracias al aislamiento que se crea del cultivo, nos permite que el control de plagas o enfermedades sea mucho más eficiente. Mediante el uso de mallas en las bandas del invernadero se puede proteger al cultivo de plagas que puedan entrar en el mismo. De estar presente la plaga dentro del invernadero, se puede recurrir a la lucha biológica con la garantía de que funcione al limitar el movimiento de los insectos que la llevan a cabo. Si el problema existe en el suelo, se pueden utilizar técnicas de solarización para desinfectarlo entre ciclos de cultivo.
- Optimizar la producción y calidad: mediante el control de parámetros dentro del invernadero como el de temperatura, humedad, CO_2, utilización de mallas de sombreado limitando la radiación solar, y otros factores, seremos capaces de obtener una producción mayor y de mejor calidad.

1.2.2. Tipos de invernadero presentes en Almería

En la provincia de Almería podemos encontrar varios tipos de invernaderos, siendo los más importantes (Castilla, 2007):

- Invernadero unimodular: se caracteriza por ser un invernadero aislado de otras estructuras.
- Invernadero multimodular: puede entenderse como un conjunto de invernaderos unidos, paralelamente asociados. Éstos aprovechan mejor el suelo disponible, siendo muy baratos de construir. La cubierta de estos invernaderos tiene diferentes formas geométricas, pudiendo ser semicircular, asimétrica o semielíptica.

1.2.3. Problemática en los suelos de invernadero y exceso de uso de fertilizantes sintéticos

La provincia de Almería se caracteriza por tener una superficie de más de 30.000 ha dedicadas al cultivo en invernadero. Pese a que nos encontramos en el momento en que mayor superficie cultivada bajo plástico hay registrada en la provincia, la presencia de éstos en el paisaje almeriense es una realidad en las últimas décadas. Esta práctica, prolongada en el

tiempo, ha provocado problemas medioambientales a día de hoy como son la sobreexplotación de acuíferos, la proliferación y establecimiento de plagas debido a la cercana localización de unos invernaderos respecto a otros, y por último la generación masiva de residuos de origen químico presentes a día de hoy en los suelos de invernaderos (Flores, 2000).

Los suelos en los invernaderos almerienses (figura 2) se caracterizan por su baja fertilidad de un tiempo a esta parte como consecuencia también de la utilización y el excesivo uso de fertilizantes sintéticos. (Flores, 2000). La tierra no solo presenta síntomas de evidente fatiga, sino que además encontramos establecidas en ella numerosas plagas y enfermedades que propician una caída en la productividad de los cultivos, haciendo que el agricultor en cuestión actúe abonando de nuevo, en exceso, los cultivos. Se crea así un círculo vicioso cuyo final no acaba solo en tener miles de hectáreas de suelo inerte e irrecuperable, sino que también propiciará la eutrofización de aguas subterráneas debido a la lixiviación de nitratos.

Figura 2: Instauración de un cultivo en un invernadero almeriense.

La situación actual de España es preocupante. Se consumen 2.027.000 kg/ha al año de fertilizantes, siendo 1.125.000 fertilizantes nitrogenados, 535.000 fertilizantes fosfóricos y 367.000 fertilizantes potásicos (Ramos *et al.*, 2002).

En la provincia de Almería, en cultivos bajo plástico el consumo ronda una media de 2.000 kg/ha al año, aunque en algunos casos se alcanza un consumo de 3.400 kg/ha (Ramos *et al.*, 2002).

Un estudio realizado en 2002 por José Joaquín Ramos Miras, Carlos Gil de Carrasco y Rafael Boluda sobre las características de los antrosoles cumílicos de un total de 160 invernaderos de la provincia de Almería, concretamente del poniente almeriense, dio unos resultados que describían las características del estado de los suelos en los invernaderos de Almería como las siguientes:

- Los suelos presentaban en general, una textura franca hacia franca-arcillosa, siendo esta la causante principal de la baja capacidad de retención de agua disponible de los suelos (9.8%).
- Suelos saturados en bases (100%) debido a la alta cantidad de carbonato cálcico (27,2%).
- Contenido medio de carbono orgánico de 0,6% y de nitrógeno total de 0,09%. Datos explicables por el uso intensivo del suelo y el abandono de técnicas como el "retranqueo".
- En consonancia con los bajos valores de carbono orgánico, los suelos presentan una baja capacidad de intercambio catiónico (8,2 $cmol_c/kg$).
- Ca^{2+} y Mg^{2+} son las bases de cambio que presentan mayor dominancia en los suelos, valores adecuados para cultivos hortícolas, mientras que la cantidad de K^+ y Na^+ es elevada para estas prácticas.
- Pese al excesivo uso de fertilizantes minerales, los suelos presentan una baja salinidad, aunque el PSI resulta elevado (11%).

El conjunto de estas características describe suelos cuyas propiedades físicas y físico-químicas se alejan de un estado adecuado desde el punto de vista tanto ambiental como agronómico.

1.3. Cultivo del tomate

1.3.1. Descripción morfológica de la planta

La planta del tomate es una especie de planta herbácea perteneciente a la familia de las solanáceas, dentro del género *lycopersicum*. Pese a que su procedencia a día de hoy varía según los autores, sabemos que el momento exacto en que el tomate entró en España fue en el año 1503, aunque no se le dio un uso como alimento hasta el siglo XIX (Reche, 2009).

Está constituida por un tallo principal que se ramifica, y que además posee yemas axilares en las hojas que se van desarrollando en este, las cuales dan lugar a brotes secundarias que poseerán también estas yemas, dándose pues brotes sucesivos. De carácter herbáceo, pese a que es capaz de lignificarse de manera tardía, no le confiere la capacidad de mantenerse erguida por lo que cuando crece, debido al peso de sus frutos y hojas es necesario entutorar la planta. Posee tallos huecos y débiles, de no más de 2-4 cm de grosor. El tallo pubescente domina sobre el tallo lampiño. Puede llegar a alcanzar 3 m de altura.

Si la planta procede de cepellón, las raíces secundarias son más dominantes que la principal, extendiéndose lateralmente mediante ramificaciones horizontales, de manera que no profundizan demasiado en el terreno, pero cubren más superficie al tener un desarrollo horizontal.

Sus hojas son pecioladas, lobuladas, imparipinadas y nacen de forma alterna en el tallo insertándose en nudos. Poseen foliolos laterales (8-18 según la variedad), de pequeño tamaño, también peciolados. Puede alcanzar 40 cm de largo y 25 cm de ancho. Están recubiertas por pelos glandulares.

Sus flores son pendulares de corola tubulosa, poseen pedúnculo, pétalos, sépalos, estambres y pistilo. Son flores actinomorfas con 5-8 sépalos de forma lanceolada. Corola de 6 pétalos en variedades productivas. Suelen presentarse en racimos de inflorescencias situados en la parte superior de la planta. Tienen un tamaño aproximado de 1-2 cm de diámetro. De color amarillo con pedúnculo caulino si nacen en el tallo principal, o multifloro si forman parte de un racimo. Posee flores hermafroditas al tener androceo y gineceo. El cultivo del tomate además posee una fecundación autógama al estar el estigma por debajo de los estambres, aunque puede no ser así dependiendo de cómo actúen en el cultivo factores como la humedad en el suelo o la temperatura. Transcurren aproximadamente 25-35 días desde la plantación hasta el inicio de la floración.

El fruto del tomate se puede describir como una baya bilocular o pluricular (5-9 lóculos), normalmente de color rojo debido a su mayor contenido en licopeno respecto al de caroteno. Su maduración no suele ser uniforme debido a la diferente incidencia del Sol en los frutos de la planta. El pedúnculo suele medir unos 3 cm y alrededor de 0,5 cm de grosor. La corteza del fruto, aunque gruesa antes de madurar, disminuye con el tiempo según madura. Pesan entre 200 y 300 gr con unos 10-15 cm de diámetro. En su interior, el mesocarpio, de textura gelatinosa, está separado en lóculos que contienen numerosas semillas (Reche, 2009).

1.3.2. Fertirriego

Un cultivo de tomate tiene un consumo de agua aproximado de entre 7.000 y 8.000 m^3/ha, mediante goteros que no sobrepasen un caudal de 2 g/L. Ateniendo a las necesidades nutritivas del cultivo encontramos los valores de los siguientes elementos en kilos por toneladas de cosecha (Camacho, 2003):

- Nitrógeno (N): 2,1-3,8 kg/t
- Fósforo (P): 0,3-0,7 kg/t
- Potasio (K): 4,4-7.0 kg/t
- Calcio (Ca): 1,2-3,2 kg/t
- Magnesio (Mg): 0,3-1,1 kg/t

La cantidad y frecuencia del riego se determinan por factores como el tipo de suelo (su capacidad de campo y porcentaje de saturación) o la evapotranspiración del cultivo (Cadenas, 2003).

1.3.3. Caracterización del calibre del fruto como medida de productividad

El tamaño de fruto nos sirve para distinguirlos en diferentes categorías siendo las mayores las más valoradas por el consumidor. Para los tomates se suele aplicar la siguiente tabla (tabla 1) para la clasificación del calibre (Domene y Segura, 2014):

Tabla 1: Clasificación por calibre para el fruto de tomate.

CALIBRE	**GGG**	**GG**	**G**	**Otros inferiores**
TOMATE	> 102 mm	82 - 102 mm	82 - 67 mm	< 67 mm

1.3.4. Parámetros de calidad

Existen unos criterios normalizados destinados a establecer estándares de calidad respecto a frutos del tomate. Estos criterios no son permanentes en el tiempo, pues se basan en la percepción subjetiva del consumidor, el cual es el último eslabón en la cadena que supone la producción agrícola. La calidad del producto determina en mayor medida respecto a otras variables, la decisión del consumidor de comprar o no ese producto. Los criterios varían según

el uso final que se le vaya a dar al producto, no siendo igual un tomate para consumo en fresco como otro destinado a purés (Domene y Segura, 2014).

1.3.4.1. Parámetros externos de calidad

1.3.4.1.1. Firmeza

El parámetro de la firmeza está ligado a la estructura de la pared celular y al estado de maduración del fruto. Depende de la turgencia, cohesión, forma y tamaño de las células que forman la pared celular, así como la presencia de tejidos de soporte. Con el paso del tiempo, la firmeza de los frutos disminuye, por lo que es imprescindible establecer en base a los datos obtenidos de las pruebas de firmeza (figura 3), un periodo óptimo de almacenamiento de los frutos (teniendo en cuenta también la Tª) y definir el momento óptimo de venta del producto (Domene y Segura, 2014).

Figura 3: Determinación de la firmeza de un fruto de tomate.

1.3.4.2. Parámetros internos de calidad

1.3.4.2.1. Contenido total de sólidos solubles

El control del contenido de sólidos solubles en el fruto está ligado con el estado de maduración del fruto en el cultivo. Se asimila al contenido de azúcares y ácidos orgánicos pues estos son los componentes más abundantes dentro del fruto. Ya que la formación de estos empieza de dentro hacia afuera en el fruto, es recomendable licuar los frutos primero y después realizar los análisis del zumo con un refractómetro (figura 4) (Domene y Segura, 2014).

Figura 4: Detalle de la medición de grados Brix del refractómetro Master Agri 0-53% marca ATAGO.

1.3.4.2.2. Acidez activa - pH

Sirve para cuantificar la concentración de H_3O^+ existente en el fruto, lo cual puede considerarse también como la acidez activa de este. Podemos relacionarlo con el contenido de ácidos presentes en el fruto, y una mayor acidez evita la proliferación microbiana en conservación (Domene y Segura, 2014).

1.3.4.2.3. % Ácido cítrico

La importancia del ácido cítrico radica principalmente en la influencia que tiene en el sabor del tomate. También actúa en el color, en la estabilidad microbiana y en la calidad de conservación (Domene y Segura, 2014). En el caso del tomate se estudia el cálculo en acidez valorable para el ácido cítrico.

1.3.4.2.4. Índice de madurez

Se obtiene a partir de la determinación de la cuantificación del contenido total de sólidos solubles en el fruto, y de la acidez valorable. Pese a ser un parámetro indirecto es de gran importancia ya que indica de manera bastante precisa la calidad organoléptica del fruto. Juega un papel también destacado en la evaluación de la calidad de los frutos en postcosecha (Domene y Segura, 2014).

1.3.4.3. Efecto del nitrógeno, fósforo y potasio en el desarrollo de la planta y sus procesos celulares.

El nitrógeno interviene directamente en el desarrollo del tallo, el crecimiento del follaje y contribuye en la formación de los frutos del tomate, por lo que entendemos que es un elemento que promueve el incremento de masa seca de la planta (Rodríguez, 2004)

El fósforo participa de manera importante en procesos metabólicos de la planta, como la división celular, respiración y fotosíntesis, síntesis de azúcares, grasas y proteínas, acumulación de ATP y regulación del pH de las células (Juárez, 1996).

El potasio es de gran importancia en procesos metabólicos de la planta, en concreto en el metabolismo de carbohidratos y proteínas, aumentando también la velocidad de reacción de ciertas enzimas, siendo una de ella la piruvato quinasa. Regula además la apertura estomatal, los cuales intervienen en la absorción de CO_2 y en el control de la transpiración (Rodríguez, 2004).

La importancia de esos tres elementos en la nutrición de la planta hace que solucionar las pérdidas por lixiviación del nitrógeno, y por precipitación de P y K en los suelos de los invernaderos almerienses sea de gran importancia.

1.4. Bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCP)

Precisamente por lo comentado en el anterior apartado, la inoculación de BPCP en conjunción con fertilizantes sintéticos puede ser la solución a la pérdida de N, P y K disponible para la planta en cada ciclo de cultivo.

1.4.1. Concepto

La utilización de los biofertilizantes en agricultura y su efecto, compone un área de estudio en auge desde las dos últimas décadas a esta parte, radicando en el uso de microorganismos como bacterias y ayudando en la fertilización y nutrición de ciertos cultivos. Dentro de los biofertilizantes, encontramos los que utilizan un grupo de bacterias promotoras del crecimiento de la planta, conocidas como BPCP (Barron *et al*., 2009).

Pese a que en un principio el término utilizado comúnmente era el de rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas (RPCP) en inglés PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) (Kloepper *et al*., 1980), finalmente se acuña el término de BPCP (PGPB; Plant Growth-Promoting Bacteria) incluyendo a otras bacterias que no se desarrollan en la rizosfera y viven libres en el suelo. (Bashan y Holguin, 1998). Junto a esta actualización, se destaca también la necesidad de distinguir mediante dos términos el propósito de la utilización de estas bacterias: una se entendería por BPCP y la otra por biocontrol-BPCP (Bashan y Holguin, 1998).

Cabe destacar la existencia de los dos mecanismos por los cuales las BPCP son capaces de conseguir un efecto beneficioso en el crecimiento vegetal (Hoyos *et al*., 2009):

- Mecanismos indirectos: metabolitos de las bacterias pueden actuar de manera antagonista con otros microorganismos de carácter perjudicial para el desarrollo de la planta.
- Mecanismos directos: metabolitos que tienen el papel de regulador el crecimiento de la planta.

Estos mecanismos tienen como consecuencia que las bacterias tengan un papel importante en el desarrollo de la planta. Dependiendo del grupo de bacterias utilizadas, un mecanismo será más recurrente que el otro y viceversa. Lo interesante es obtener beneficios de ambos.

1.4.2. Bacterias fijadoras de N

Existen distintos tipos de bacterias encargadas de la fijación del nitrógeno en la planta, podemos distinguir 3 importantes:

- Fijación en nódulos radiculares.
- Fijación asociativa de nitrógeno.
- Fijación de nitrógeno de vida libre.

Los géneros más destacados en la fijación del nitrógeno son las del género *Azotobacter*, *Rhizobium* y *Azospirillum*. Las bacterias del género *Rhizobium* son las bacterias encontradas en los productos de Nostoc Biotech S.L.

1.4.2.1. Fijación de nitrógeno de vida libre – género *Rhizobium*

Intervienen en la nutrición de nitrógeno de la planta, transformando el nitrógeno atmosférico (N_2) en amoniaco (NH_3), asimilable para ésta. (Hansen *et* al., 2017). El papel de estas bacterias consiste en facilitar la fijación del nitrógeno en la planta, interviniendo directamente en la estimulación del sistema transportador del compuesto e indirectamente por la estimulación del crecimiento del sistema radical. Para realizar la fijación de nitrógeno utilizan como fuente de energía un amplio abanico de distintos ácidos orgánicos, azúcares o derivados alcohólicos. (Flores, 2014).

Numerosos estudios hasta la época dejan en evidencia el alto potencial biofertilizante que tienen productos compuestos por estas bacterias diazótrofas en los cuales en su mayoría su uso se ha traducido en una mejor producción y en un uso del suelo menos nocivo que si por el contrario tan solo se usasen fertilizantes sintéticos en exceso (Flores, 2014), incrementando la fertilidad de los suelos y sostenibilidad, mejorando la resistencia de los cultivos a estreses abióticos, y disminuyendo la polución ambiental haciendo que la práctica agrícola tenga un menor impacto en el calentamiento global y el cambio climático.

1.4.3. Bacterias solubilizadoras de P

El fósforo es de vital importancia para el desarrollo de la planta, pues participa tanto en el desarrollo de la raíz como en el crecimiento y la floración (Corrales *et al*., 2014), y aunque existen grandes cantidades de fósforo en los suelos, éste se encuentra de manera no asimilable

para la planta. En suelos alcalinos como el de los invernaderos de la provincia de Almería, el fósforo presente en los suelos precipita en formas insolubles como fosfatos cálcicos, por lo que la eficacia de los fertilizantes con fósforo soluble se ve reducida considerablemente (Rodríguez y Fraga, 1999). Determinadas bacterias actúan sobre éstos, transformándolos en formas asimilables para que la planta mediante la producción de ácidos orgánicos. (Corrales *et al*., 2014).

Pese a que durante un tiempo se puso en duda la acción beneficiosa para los cultivos que conlleva la presencia de estas bacterias, a día de hoy se ha determinado que la capacidad de éstas para estimular el crecimiento de la planta mediante la solubilización tanto de fósforo mineral como orgánico es un hecho contrastado (Rodríguez y Fraga, 1999). Para intensificar la acción de estas bacterias se ha utilizado el uso conjunto con otros microorganismos. La inoculación combinada con bacterias fijadoras de nitrógeno hizo posible conseguir mejores resultados en materia seca en ciertos cultivos frente a resultados obtenidos en el mismo cultivo siendo inoculadas de manera independiente (Rodríguez y Fraga, 1999). La capacidad para solubilizar fosfatos presentes en la rizosfera por las bacterias del grupo *Burkholderia cepacia* la convierte en una bacteria con un potencial biofertilizante (Mora *et al*, 2007).

1.4.4. Bacterias solubilizadoras de K

Podemos encontrar potasio en el suelo en cuatro fracciones dependiendo de su disponibilidad para el cultivo (Samaniego, 2018):

- En solución suelo en forma de K^+ presentándose así directamente disponible para la planta. Representa el 0,15% aproximadamente del potasio en el suelo.
- De forma intercambiable, unido a superficie de arcillas y materia orgánica del suelo (en el caso de los invernaderos almerienses, poca). La planta puede acceder a él de manera rápida, pero representa el 1,5% aproximado del potasio en el suelo.
- De forma no intercambiable. Presente en superficies de arcillas también, se considera una reserva a largo plazo, aunque también es asimilable por la planta. 1-10% del total de potasio en el suelo.
- Potasio estructural. La forma de mayor abundancia del potasio en el suelo (90-98% del total). Es el potasio que compone minerales primarios presentes en el suelo como biotita o feldespato entre otros. Tan solo son liberados cuando la estructura de estos minerales cambia.

El potasio es rápidamente asimilado por las plantas mientras que el resto se pierde por percolación en el suelo (Samaniego, 2018).

Las bacterias solubilizadoras de K actúan principalmente mediante mecanismos sobre el K estructural presente en el suelo. Éstas producen ácidos orgánicos capaces de solubilizar estos minerales permitiendo así un aporte al medio de potasio asimilable por la planta (Samaniego, 2018).

1.5. Objetivos

El objetivo principal del ensayo es estudiar el poder biofertilizante de unas fórmulas comerciales basadas en BPCP en un cultivo intensivo de tomate bajo plástico, con el fin de incrementar la producción y la calidad de los frutos respecto a un sistema de fertirriego convencional. Los objetivos parciales son:

- Estudiar la implantación de bacterias promotoras del crecimiento de las plantas (BPCP) en un cultivo comercial intensivo de tomate en invernadero.
- Estudiar el efecto fertilizante en plantas y suelos de bacterias fijadores de N y solubilizadores de P y K.
- Estudio de la posible mejora en producción y calidad de los frutos debido a las BPCP.
- Analizar económicamente costes y beneficios del uso de las BPCP

1.6. Fases de realización del TFG y cronograma asociado

	2020				2021					
	Septiembre	**Octubre**	**Noviembre**	**Diciembre**	**Enero**	**Febrero**	**Marzo**	**Abril**	**Mayo**	**Junio**
Plantación del cultivo										
Inoculación de bacterias										
Muestreo de microorganismos en el suelo										
Análisis NPK en suelos										
Análisis NPK en hojas										
Análisis NPK en frutos										
Estudio morfométrico de plantas										
Estudio de parámetros de calidad en frutos										
Estudio económico y de productividad										
Analisis de datos										

Tabla 2: Cronograma por meses del desarrollo de las fases del trabajo fin de grado desde el inicio hasta el final del cultivo.

2. COMPETENCIAS ASOCIADAS DEL PROYECTO

- **CB03** Conocimientos básicos sobre el uso y programación de los ordenadores, sistemas operativos, bases de datos y programas informáticos con aplicación en ingeniería.
- **CA01** Capacidad para conocer, comprender y utilizar los principios de: Identificación y caracterización de especies vegetales.
- **CA02** Capacidad para conocer, comprender y utilizar los principios de: Las bases de la producción vegetal, los sistemas de producción, de protección y de explotación.
- **CTH01** Capacidad para conocer, comprender y utilizar los principios de: Tecnología de la Producción Hortofrutícola: Bases y tecnología de la propagación y producción hortícola, frutícola y ornamental. Control de calidad de productos hortofrutícolas. Comercialización. Genética y mejora vegetal.
- **CTH05** Capacidad para conocer, comprender y utilizar los principios de: Material vegetal: producción, uso y mantenimiento

3. ESPECIFICACIONES Y REQUERIMIENTOS TÉCNICOS DEL PROYECTO

3.1. Localización del ensayo

El invernadero perteneciente a la cooperativa CASI donde se ha realizado el ensayo se encuentra en Venta Gaspar, en el término municipal de Almería, polígono 46, parcela 12 (figuras 5 y 6). La extensión total de este es de 13.700m^2.

Figura 5: Localización de instalaciones de riego (1) y del invernadero del ensayo (2). Fuente: Google Earth.

Figura 6: Detalle de una entrada a un invernadero tipo parral.

Los análisis se realizaron en los laboratorios del departamento de Agronomía de la Universidad de Almería (figura 7) y de la estación experimental de las Palmerillas (Fundación Cajamar).

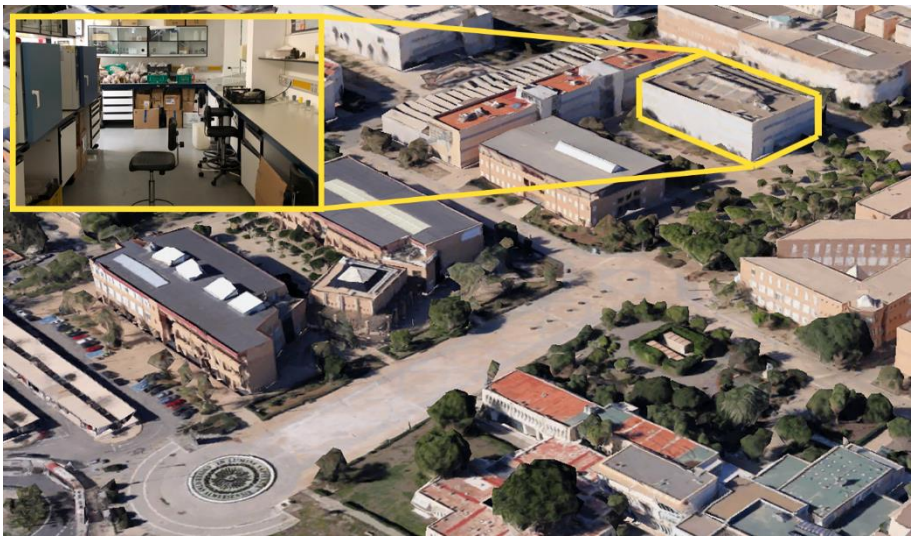


Figura 7: Laboratorio del Departamento de Agronomía de la Universidad de Almería.

3.2. Características del invernadero

Es un invernadero tipo parral, el cual se incluye por su forma dentro de los invernaderos multimodulares (Castilla, 2007). Posee un sistema de riego para un marco de plantación de 0,50 m entre plantas y 1,8 m entre calles (figura 8).

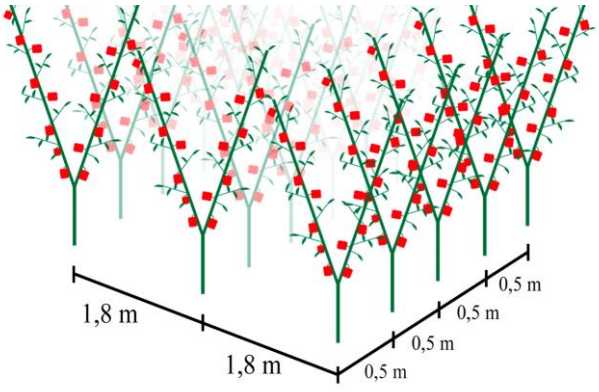


Figura 8: Marco de plantación entre plantas y calles o líneas en el invernadero del proyecto.

Posee una antesala antes de entrar a la superficie cultivada. La orientación predominante es de norte-sur. Existe una pequeña angulación en su cubierta, con el punto más alto en 5,5m, y el punto más bajo en 3,75m con laterales ligeramente inclinados. El invernadero se sitúa separado de las instalaciones de riego por una rambla (figura 5).

3.3. Material vegetal utilizado

Para el ensayo la especie vegetal utilizada fue el tomate (*Solanum lycopersicum*), variedad Rebelión, de la casa de semillas Vilmorín (figura 9). Esta variedad se caracteriza por su capacidad de adaptación a diferentes ciclos de cultivo (precoz en ciclos de otoño-primavera y ciclos largos), alta productividad, buen cuaje, larga vida y buen nivel de aguante postcosecha.

Figura 2: Fruto de tomate de la variedad Rebellion.

Los frutos que esta variedad presenta son de color rojo brillante en su estado de madurez, con un calibre predominante G y GG, peso medio entre 120-180 gramos y buena firmeza. Otras características destacables de Rebelión son su resistencia a Blotchy, microfisuras, virus del Mosaico del Tomate (ToMV), Verticilium y Fol: 0 y su alto contenido en azucares (ºBrix entre 6 y 9). La información se puede encontrar en la página web creada por la Cooperativa Agrícola San Isidro CASI para el cultivo (https://tomaterebel.com/).

3.4. Sistema de fertilización química y biofertilización

Se utilizan goteros autocompensantes de 16ml (1,5L/h), 1 gotero por planta a 50cm. El riego se suministra mediante 4 tanques:

Tanque 1: 100 kg de nitrato cálcico por 1000 L

Tanque 2: 100 kg de nitrato potásico por 1000L.

Tanque 3: 25 L de ácido fosfórico y 25 kg de sulfato de Magnesio

Tanque 4: 50 kg de nitrato amónico (33.5%) y 50 kg de sulfato amónico (21%).

Los riegos fuero de 30 minutos con la siguiente proporción de abonado (tabla 3):

Tabla 3: Distribución de porcentajes de uso de los tanques de riego según la fase del cultivo.

FASE	Tanque 1	Tanque 2	Tanque 3	Tanque 4
Crecimiento	17	33	33	17
Cuaje	33	33	20	13
Recolección	33	33	11	22

Respecto a los productos biofertilizantes estos correspondieron a los productos comerciales de Nostoc Biotechnologies S.L (figura 10). Dichos productos contenían bacterias fijadoras de N (*Rhizobium pusense*) y solubilizadores de P y K (diferentes cepas de *Burkholderia cepacia*). En cada aplicación se utilizó una botella de 1 L por hectárea.

Figura 3: Productos comerciales de Nostoc Biotechnologies S.L. utilizados en el proyecto.

3.5. Diseño del ensayo

3.5.1. Descripción y disposición de los tratamientos

El ensayo se realizó en un invernadero comercial de la cooperativa CASI de 13.700m^2 con una densidad aproximada de 1.68 plantas/m^2. La superficie del invernadero se dividió en parcelas según los sectores de riego presentes en el invernadero (figura 11):

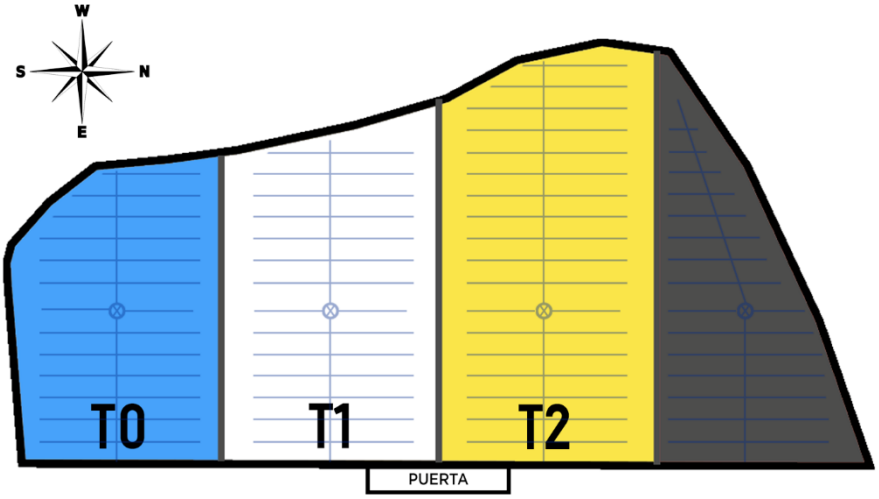


Figura 11: Disposición de los tratamientos en la superficie del invernadero. Sistema de riego de los sectores representado por líneas.

En los sectores indicados en la figura anterior se aplicaron tres tratamientos:

- **Tratamiento 0 (AZUL)**: tratamiento testigo, sin inoculación de bacterias.
- **Tratamiento 1 (BLANCO)**: una única aplicación de bacterias al inicio del cultivo. El fundamento de este tratamiento radica en la demostración de la necesidad de realizar aplicaciones periódicas de microorganismos para obtener efecto constante en el cultivo.
- **Tratamiento 2 (AMARILLO)**: aplicación de bacterias con una periodicidad aproximada de 40 días durante el ciclo de cultivo (figura 12). Con este tratamiento se busca obtener el máximo rendimiento de las BPCP en el cultivo.

Figura 12: Detalle del sector correspondiente al tratamiento T2 dentro del invernadero.

3.6. Análisis microbiológicos

La toma de muestras se llevó a cabo mediante la apertura de una calicata en la zona activa de las raíces, aproximadamente a unos 10 cm de la entrada del tallo en el suelo (figura 13). Se retiró previamente una capa de arena presente en todo el invernadero. La muestra se tomó en la zanja realizada a unos 20 cm de profundidad. Se hicieron 5 calicatas dentro de cada sector (figura 14) y se cogió en un pequeño tubo de 20 ml unos 25 g de suelo.

Figura 4: Calicata realizada en el invernadero para la toma de muestras de suelo.

Este muestreo se repitió en 4 fechas correspondientes a los momentos de:

- 1. Antes de trasplante **(20/09/20)**.
- 2. Después de trasplante y tras la primera inoculación bacteriana **(20/10/20)**.
- 3. Durante época de crecimiento vegetativo **(28/12/20)**.
- 4. Durante época de recolección de frutos **(10/03/21)**.

Las muestras fueron inmediatamente enviadas para los análisis moleculares a la compañía Biome Makers Inc. La extracción de ADN fue realizada con un kit DNeasy PowerLyzer PowerSoil de Qiagen. Para caracterizar las comunidades microbianas se estudió la región de codificación del 16S rRNA V4 región usando un secuenciador Illumina MiSeq instrument. Las lecturas de secuenciación se agruparon en OTUs con un 97% de similitud. La clasificación taxonómica de las secuencias se realizó usando la base de datos SILVA versión 132.

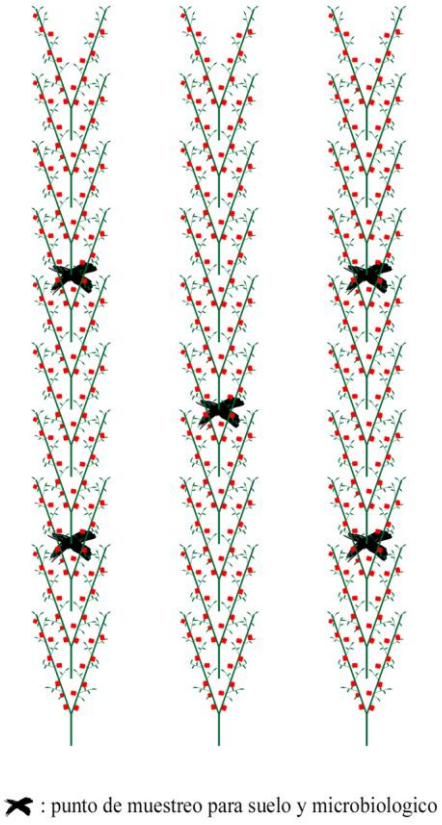


Figura 5: Esquema de muestreo de las muestras microbiológicas por tratamiento.

3.7. Realización de medidas morfológicas

Durante la época de crecimiento vegetativo de las plantas se tomaron una serie de medidas morfométricas en 15 plantas por tratamiento elegidas aleatoriamente (figura 15). Se midió el diámetro en el tallo y la primera bifurcación de los dos tallos. También se midieron el número de entrenudos, de racimos y de frutos, así como la altura total de la planta.

Figura 6: Toma de parámetros morfométricos de la planta del tomate.

3.8. Análisis de fertilidad en suelos y planta

Antes de empezar el experimento se muestrearon varios puntos del invernadero para conocer los niveles de fertilidad de partida, y posteriormente en el tercer y cuatro muestreos microbiológicos (20/09/20, 28/12/20 y 10/03/21) y en los mismos puntos se tomaron 3 réplicas de 500 g de suelo para medir los contenidos de N, P y K.

Las hojas se recolectaron en dos fechas durante la época de crecimiento vegetativo (24/02/21 y 10/03/21) y en cada muestreo se tomaron 3 muestras formada cada una de ellas por 5 hojas. La recolección se realizó de forma aleatoria por toda la superficie de cada tratamiento de manera homogénea. Así se muestrearon 15 hojas por tratamiento (figura 16), 45 en total por muestreo y 180 en el experimento.

Figura 7: Réplicas de hoja tras ser lavadas para su posterior análisis.

Los frutos se cogieron (24/2/21) de una selección de 10 plantas seleccionadas al principio del ensayo. Se cogían entre 5 y 6 frutos, para después ser divididos en tres porciones de 250 gr.

Tanto las hojas como los frutos se secaron en una estufa durante 3 días a unos 60º para deshidratarlas y posteriormente con un molino de café se molieron una vez dando lugar a un polvo con el que se realizarían los análisis de N (Kejdhal, 1883), P (Olsen, 1954) y K (Absorción atómica).

3.9. Parámetros de calidad en frutos.

Se realizó un segundo muestreo de frutos (10/3/21) a los que se les midió diversos parámetros de calidad. En primer lugar, externos, como la firmeza, y en segundo lugar internos, tras ser los frutos licuados, obteniéndose datos de pH, contenido en solidos solubles y % de ácido cítrico con las siguientes y respectivos instrumentos de medida y técnicas: penetrómetro digital modelo PCE-PTR 200N, refractómetro Master Agri 0-53% marca ATAGO, pH-metro marca LAQUA modelo pH 1100-S, y volumetría ácido-base.

Para la obtención del % de ácido cítrico, el procedimiento de volumetría ácido-base consiste en añadir 10 mL de zumo de tomate a 50 mL de agua destilada. La disolución que se obtiene es valorada con NaOH 0,1 N. El % de ácido cítrico se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Ác. Cítrico} = \frac{0{,}1\ \frac{eq}{L} * V\ titulación\ (mL) * \frac{1\ L}{1000\ mL} * \frac{192{,}124}{3}\ \frac{g}{eq}}{10\ mL\ zumo} * 100 = V_{\text{titulación}} * 0{,}064$$

3.10. Medidas de productividad de cosecha

Se seleccionaron 10 plantas consecutivas en un lineo de cada tratamiento para hacer el seguimiento de la cosecha. En cada corte de frutos se pesó con una balanza industrial marca ADAM, modelo BCKT-48K-001, la producción total y por calibres GGG, GG, G e inferiores según plantilla normativizada de la cooperativa CASI para las plantas seleccionadas (figura 17), además de contar el número de frutos por calibre. Los datos de producción finalmente se extrapolaron a kg/m^2

Figura 8: Determinación del calibre del fruto para su posterior pesaje.

3.11. Análisis estadístico

Para comparar diferencias entre las medias de las variables analizadas se realizaron análisis de varianza (ANOVA), siendo el factor utilizado los diferentes tratamientos de aplicación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal. En el caso de que el p-value fuera significativo, se empleó el test de las mínimas diferencias significativas de Fisher al 95% de confianza para concluir entre que variedades había diferencias significativas. El paquete estadístico utilizado fue Statgraphics Centurion 18 para Windows.

Para analizar el efecto de los biofertilizantes sobre las comunidades microbiológicas a lo largo de las diferentes fechas de muestreo y tratamientos se realizó un análisis Gheom patentado por Biome makers (EFS42339603, EFS41990852). En este análisis se realiza un cálculo del cambio "fold" de cada OTU en cada tratamiento desde cada fecha de muestreo respecto a la fecha inicial vs el cambio en el tratamiento control (T0) en el mismo intervalo de tiempo estudiado en cada caso. Posteriormente los OTUs son agrupados según su funcionalidad y pueden estudiarse su influencia en la producción de fitohormonas y en el consumo y liberación de nutrientes para las plantas.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Efecto de los diferentes tratamientos sobre parámetros morfométricos

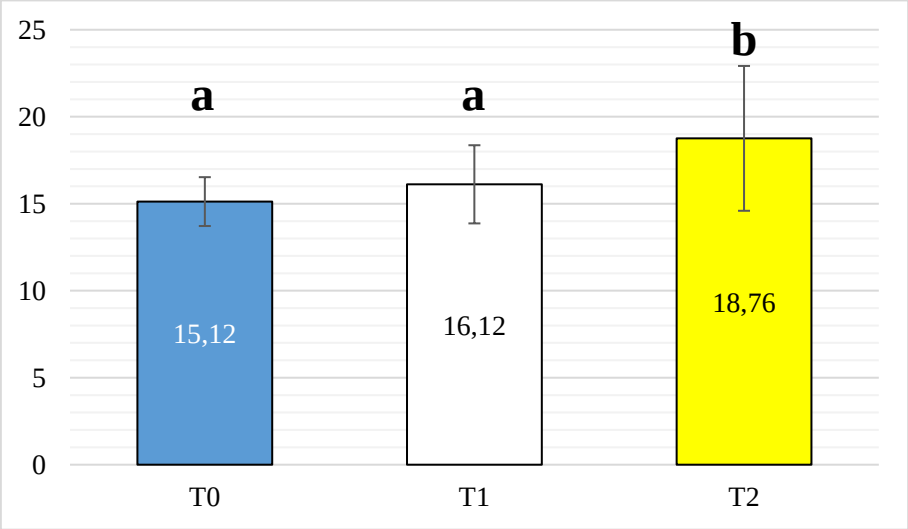
Uno de los parámetros donde encontramos diferencias significativas fue en el diámetro de la primera bifurcación donde el tratamiento con aplicaciones bacterianas recurrentes (T2) fue significativamente más alto con 18,76 mm (tabla 4 y figura 18). En el número de entrenudos los tratamientos con una inoculación bacteriana (T1) e inoculaciones recurrentes (T2) fueron significativamente superiores a al tratamiento sin inoculaciones (T0) (tabla 3 y figura 19). En la relación altura/Ø de la planta también se encontraron diferencias significativas (tabla 3). El tratamiento con inoculaciones de bacterias recurrentes (T2) produjo valores significativamente más bajos, lo que indica que las plantas eran más pequeñas, pero más robustas.

Tabla 4: Análisis morfométrico de plantas en época de crecimiento vegetativo.

VARIABLE	TRATAMIENTO			ANOVA	
	T0	T1	T2	*Razón-F*	*Valor-P*
Ø 1er bifurcación (mm)	15,12±1,40(a)	16,12±2,25(a)	18,76±4,16(b)	6,52	0,0034**
Ø Media Tallos (mm)	12,62±1,33(a)	12,50±2,04(a)	11,92±1,50(a)	0,78	0,4668
Nº E Medio Tallos	22,13±2,05(a)	25,03±1,68(b)	24,53±3,06(b)	6,61	0,0032**
Nº R Medio Tallos	7,33±0,7(a)	6,97±0,69(a)	7,03±0,44(a)	1,47	0,2405
Nº F Medio Tallos	30,70±5,63(a)	32,37±4,16(a)	30,87±5,16(a)	0,5	0,6094
Altura (cm)	262,77±17,50(a)	260,93±8,84(a)	259,17±19,49(a)	0,19	0,8272
Altura/Ø	17,51±2,02(b)	16,48±2,31(b)	14,42±3,06(a)	5,93	0,0054**

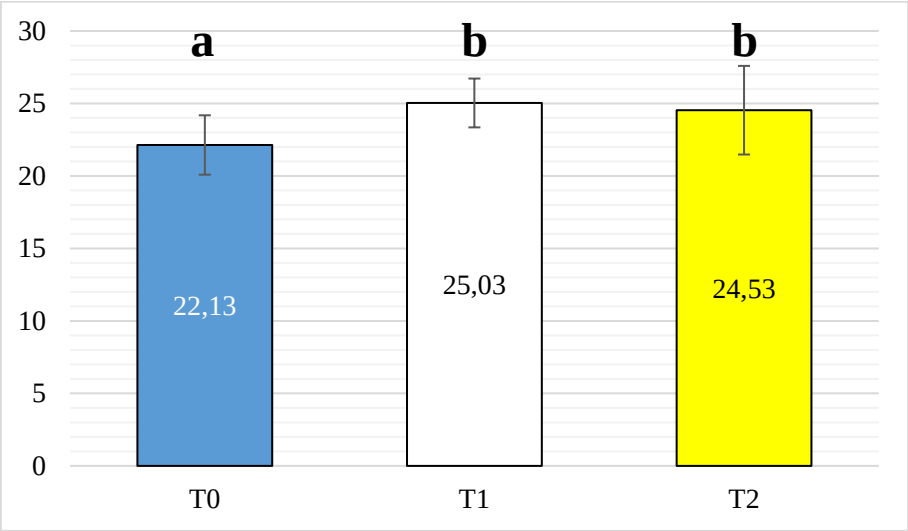
*T0: no inoculaciones bacterianas; T1: una inoculación inicial; T2: inoculaciones periódicas cada 40 días; Nº E: número de entrenudos; Nº R: número de racimos; Nº F: número de frutos; Valores promedio ± desviación estándar, n = 15; Diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos para cada variable: * p-value < 0,1; ** p-value < 0,05; *** p-value < 0,001.*

Figura 9: Variable diámetro de la primera bifurcación en la planta.



T0: no inoculaciones bacterianas; T1: una inoculación inicial; T2: inoculaciones periódicas cada 40 días. Barras de error representan valores de desviación estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas.

Figura 10: Variable número de entrenudos en la planta.



T0: no inoculaciones bacterianas; T1: una inoculación inicial; T2: inoculaciones periódicas cada 40 días. Barras de error representan valores de desviación estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas.

Así, el tratamiento con bacterias periódicas dio lugar a plantas con tallos más gruesos y a un mayor número de entrenudos. Estos resultados se asemejan a los del estudio realizado por Turan et al. (2021). En dicho estudio utilizaron BPCP en conjunto con ácido fúlvico en plantas de tomate cultivadas en macetas en un invernadero. Las BPCP fueron inoculadas en semilla mientras que la fertilización sintética se mantuvo es valores habituales, favoreciéndose de esta forma distintos parámetros morfológicos estudiados. García de Salamone *et al*. (2001) concluyeron que la mejora en los parámetros morfológicos fue debido a la producción de una fitohormona de la familia de las citoquininas (cytokinindihydrozeatin riboside). También resulta de interés el trabajo de Sánchez et al. (2012), donde aplicaron las BPCP directamente en las plantas sumergiendo las raíces de las plántulas de tomate en suspensiones bacterianas cuyas cepas habían sido reactivadas previamente en medios de cultivo. Además, variaron el porcentaje de fertilización sintética en conjunción con la aplicación de BPCP. Los resultados se tradujeron en la estimulación de manera significativa de la biomasa y del desarrollo de la planta, incluido el peso seco de las raíces con diferencias estadísticamente significativas respecto al testigo con tan solo fertilización sintética.

4.2. Fertilidad en hojas

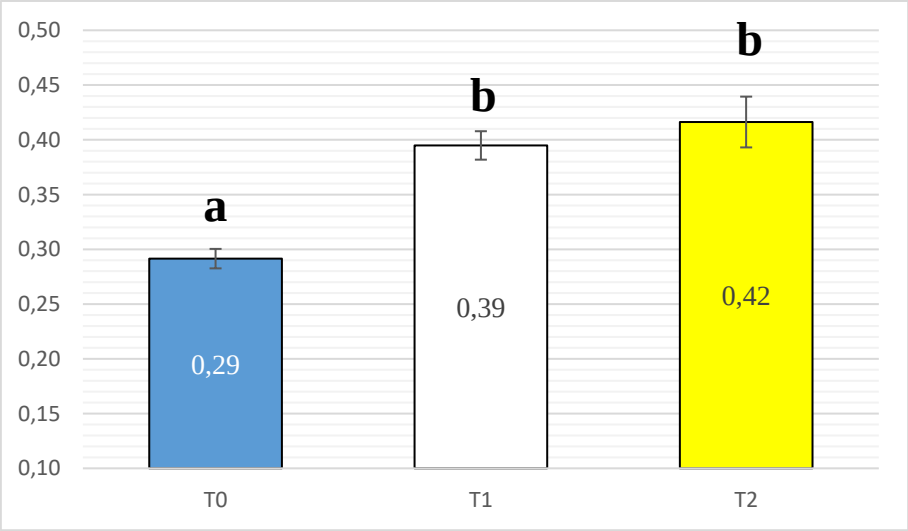
Los valores indicados en la tabla 5 indican los valores medios de las dos fechas de muestreo de hojas en el periodo de recolección de frutos (24/2/21 y 10/3/21). Se encuentran diferencias significativas para el macronutriente fósforo, siendo los tratamientos con bacterias (T1 y T2) los que han mostrado valores sensiblemente superiores respecto al tratamiento control T0 (tabla 5 y figura 20).

Tabla 5: Análisis foliar de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) en época de crecimiento vegetativo.

VARIABLE	TRATAMIENTO			ANOVA	
	T0	T1	T2	*Razón-F*	*Valor-P*
N	3,54±0,10(a)	3,61±0,14(a)	3,47±0,10(a)	1,47	0,2622
P	0,29±0,01(a)	0,39±0,01(b)	0,42±0,02(b)	6,81	0,0079**
K	3,45±0,15(a)	3,12±0,20(a)	3,38±0,17(a)	1,3	0,3023

*Datos expresados en porcentaje en peso seco. T0: no inoculaciones bacterianas; T1: una inoculación inicial; T2: inoculaciones periódicas cada 40 días; Valores promedio ± desviación estándar, n = 15; Diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos para cada variable: * p-value < 0,1; ** p-value < 0,05; *** p-value < 0,001.*

Figura 11: Variable fósforo (P) en hojas de la planta en época de crecimiento vegetativo.



T0: no inoculaciones bacterianas; T1: una inoculación inicial; T2: inoculaciones periódicas cada 40 días. Barras de error representan valores de desviación estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas.

En el estudio realizado por Turan *et al*. (2021) utilizaron BPCP inoculadas en semillas de tomate en conjunto con ácido fúlvico y se cultivaron en macetas en un invernadero mientras

que la fertilización sintética se mantuvo es valores habituales. Se encontró que las hojas de las plantas que seguían un tratamiento con BPCP dieron valores de fósforo superiores a los obtenidos en las plantas del tratamiento control. En el estudio de Kalozoumis *et al*. (2021) en un cultivo hidropónico con perlita en invernadero, donde previo al trasplante se sumergieron las raíces de cada planta en una suspensión bacteriana se observó también que los tratamientos con inoculación de BPCP mantenían niveles aceptables de nitrógeno en hoja.

4.3. Fertilidad en frutos

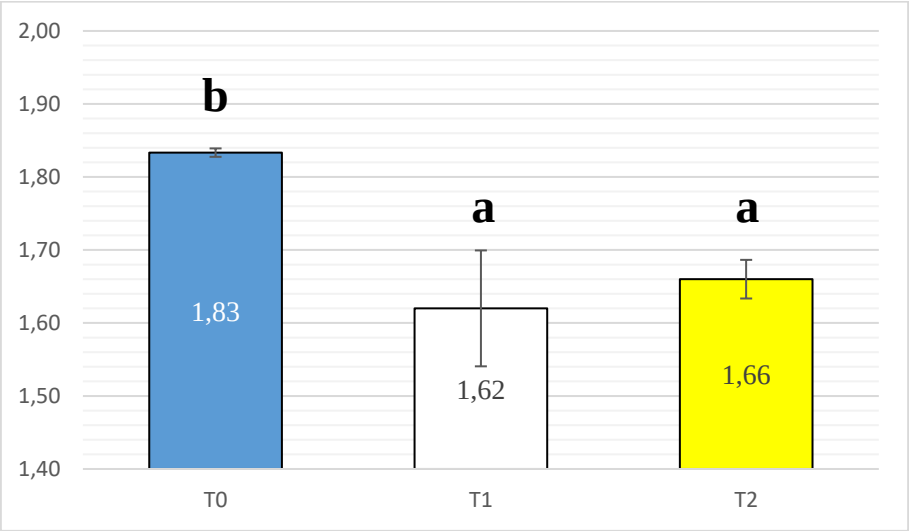
En este caso las diferencias significativas se obtuvieron para los macronutrientes N y K, presentando en este caso el tratamiento con aplicaciones bacterianas recurrentes (T2) valores inferiores al tratamiento control (T0) (tabla 6 y figuras 21 y 22), aunque en ningún caso los frutos presentaron deficiencias de estos compuestos (Casas, 1999).

Tabla 6: Análisis de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) en frutos.

VARIABLE	TRATAMIENTO			ANOVA	
	T0	T1	T2	*Razón-F*	*Valor-P*
N	1,83±0,01(b)	1,62±0,08(a)	1,66±0,03(a)	16,45	0,0037**
P	0,32±0,02(a)	0,33±0,03(a)	0,35±0,02(a)	1,14	0,3805
K	3,17±0,11(a)	3,34±0,07(b)	3,06±0,09(a)	8,02	0,0201*

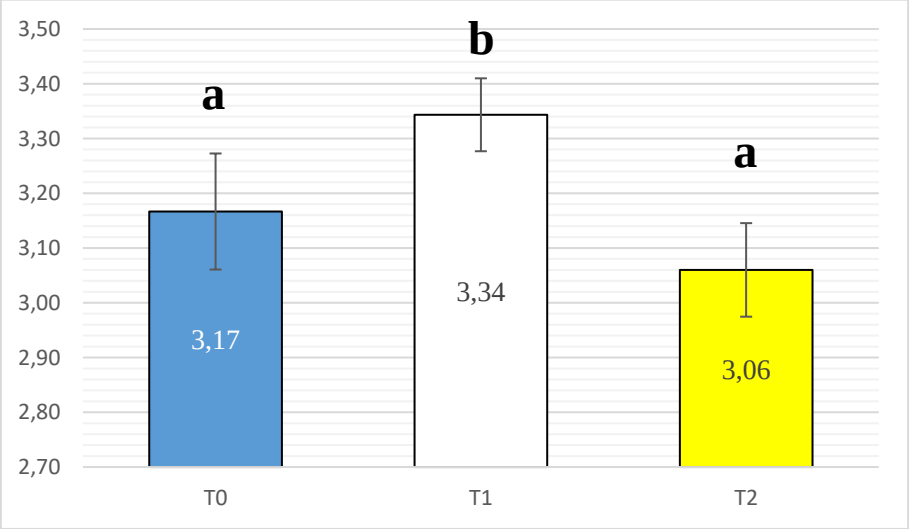
*Datos expresados en porcentaje en peso seco. T0: no inoculaciones bacterianas; T1: una inoculación inicial; T2: inoculaciones periódicas cada 40 días; Valores promedio ± desviación estándar, n = 15; Diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos para cada variable: * p-value < 0,1; ** p-value < 0,05; *** p-value < 0,001.*

Figura 12: Contenido de nitrógeno (N) en frutos.



T0: no inoculaciones bacterianas; T1: una inoculación inicial; T2: inoculaciones periódicas cada 40 días. Barras de error representan valores de desviación estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas.

Figura 13: Contenido de potasio (K) en frutos.



T0: no inoculaciones bacterianas; T1: una inoculación inicial; T2: inoculaciones periódicas cada 40 días. Barras de error representan valores de desviación estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas.

4.4. Fertilidad en suelos

En la tabla 7 se indican los valores medios de los macronutrientes NPK en los suelos del invernadero antes de comenzar el experimento.

Tabla 7: Valores en suelo antes de la plantación.

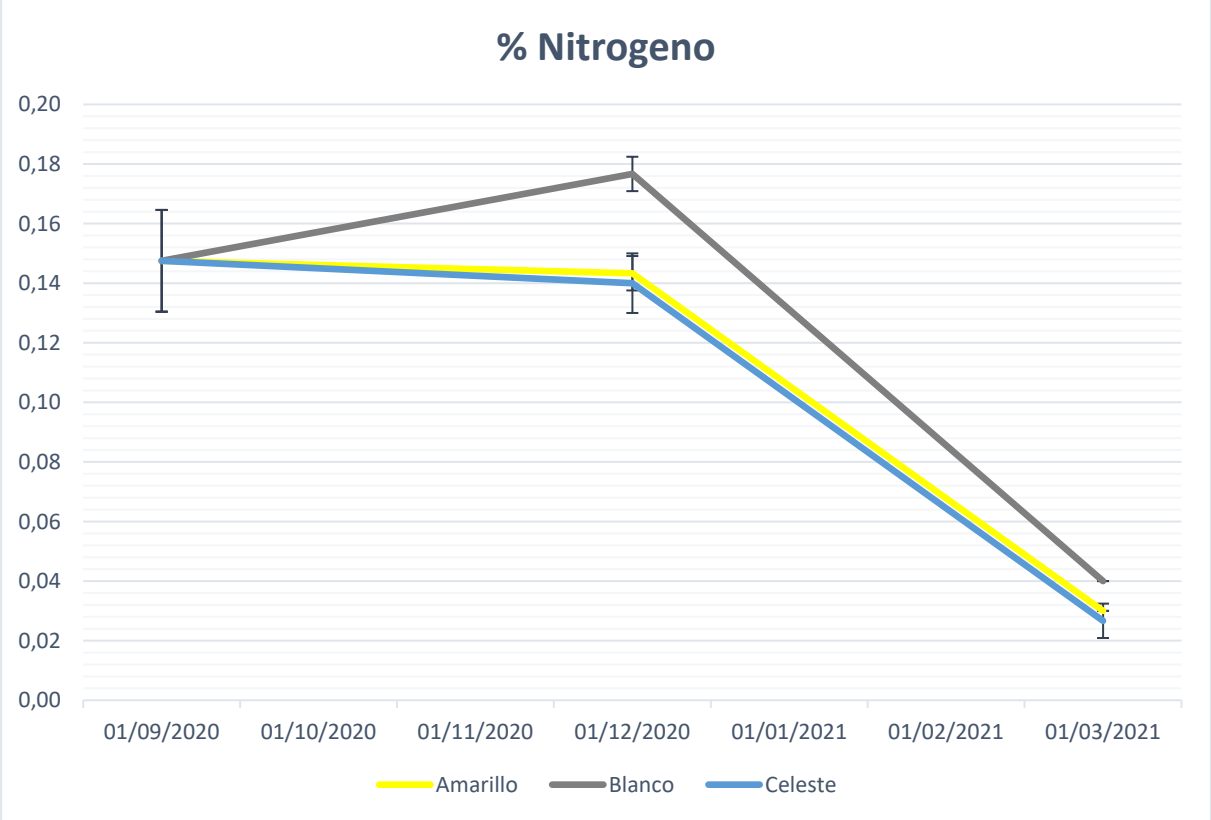
	N (%)	P (ppm)	K (ppm)
Antes de plantación	0,15±0,02	260,43±37,79	316,25±70,16

De acuerdo con Fernández *et al*. (2014) los niveles de nitrógeno en suelo se encuentran en una proporción normal mientras que para el fósforo y potasio son bastante altos. Como explicamos en el apartado 1.2.3. la excesiva fertilización de los suelos de invernaderos explica estos valores.

4.5. Efecto de los diferentes tratamientos sobre el suelo durante el cultivo

Como podemos observar en la figura 23, las cantidades de N siguieron la misma tendencia en todos los tratamientos. El hecho de que los valores finales sean bajos respecto al resto del ciclo del cultivo se explica debido a la reducción del aporte del nitrógeno con el fertirriego, mientras que la planta sigue tomando dicho nutriente.

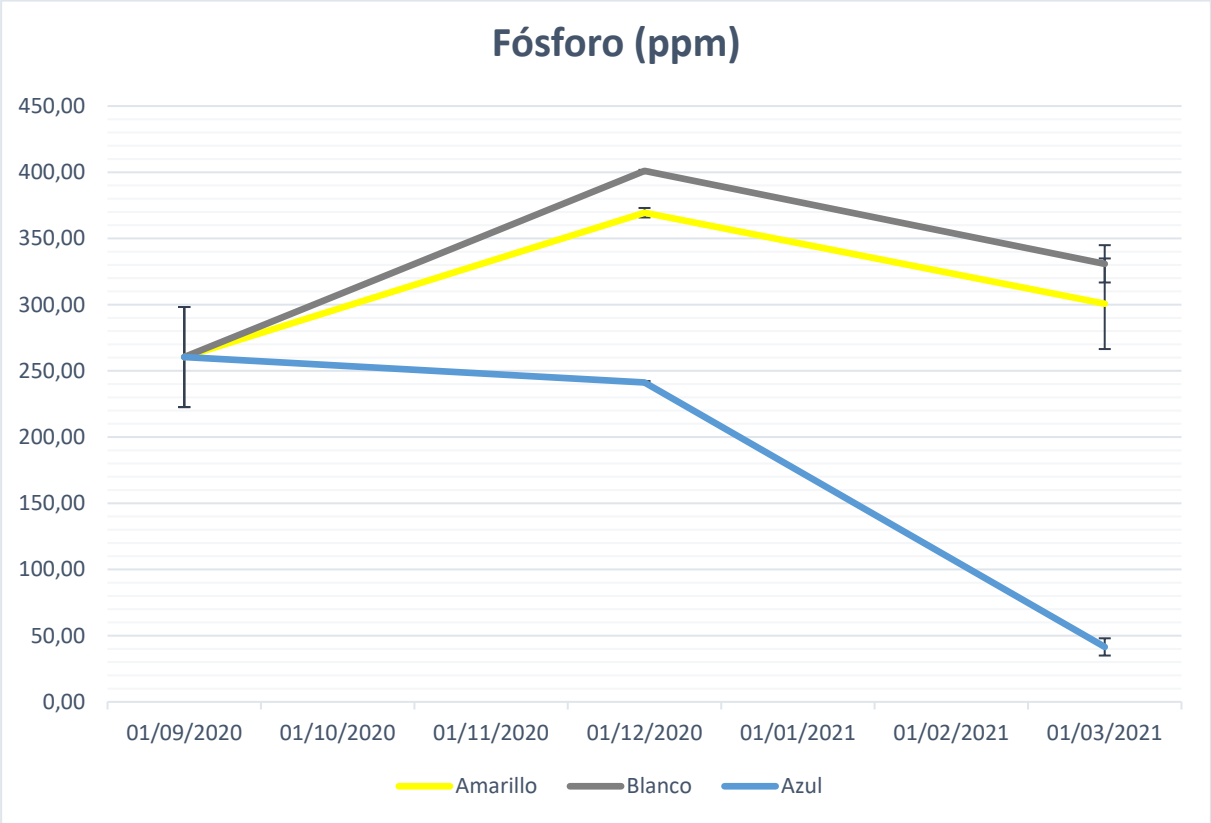
Figura 23: Cantidad de nitrógeno total en los suelos a lo largo del cultivo.



Amarillo: tratamiento 2 con inoculaciones periódicas cada 40 días; Blanco: tratamiento 1 con una inoculación inicial; Celeste: tratamiento 0 control sin inoculaciones bacterianas. Barras de error hacen referencia a la desviación estándar.

En cambio, para el fósforo asimilable observamos como los tratamientos con bacterias mantuvieron en el suelo valores más constantes de fósforo asimilable y no se redujeron al final del cultivo debido a la reducción de fertirriego como sí ocurrió en el tratamiento control (figura 24). Esto nos indica que los biofertilizantes empleados fueron especialmente útiles para mantener niveles de P asimilable en suelo, evitando la precipitación del mismo.

Figura 24: Cantidad de fósforo asimilable en el suelo a lo largo del cultivo.

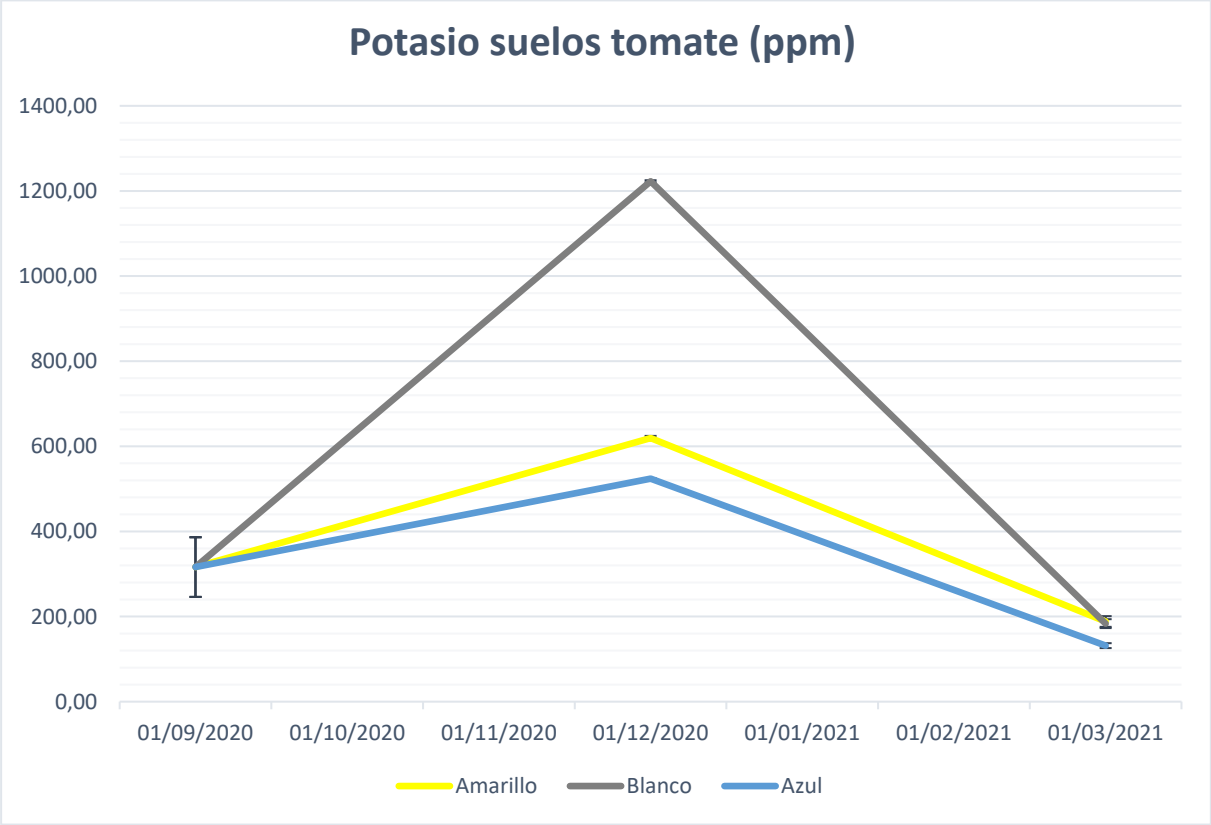


Amarillo: tratamiento 2 con inoculaciones periódicas cada 40 días; Blanco: tratamiento 1 con una inoculación inicial; Azul: tratamiento 0 control sin inoculaciones bacterianas. Barras de error hacen referencia a la desviación estándar.

En lo referente al potasio, los contenidos del tratamiento T2 en suelos fueron sensiblemente superiores al tratamiento control T0 (alrededor de 100 y 50 ppm más en las fases de crecimiento vegetativo y de recolección de frutos) (figura 25). Sin embargo, esta diferencia no destaca demasiado en el gráfico dados los valores especialmente altos medidos en la segunda fecha de muestreo para el tratamiento T1. Pensamos que en este sector posiblemente haya un sobre fertilización en este elemento y que de hecho los valores iniciales fueran superiores a los

que hemos indicado en la primera fecha y que resultaban de la media de varios puntos de muestreo a lo largo del invernadero.

Figura 25: Cantidad de potasio en el suelo a lo largo del cultivo.

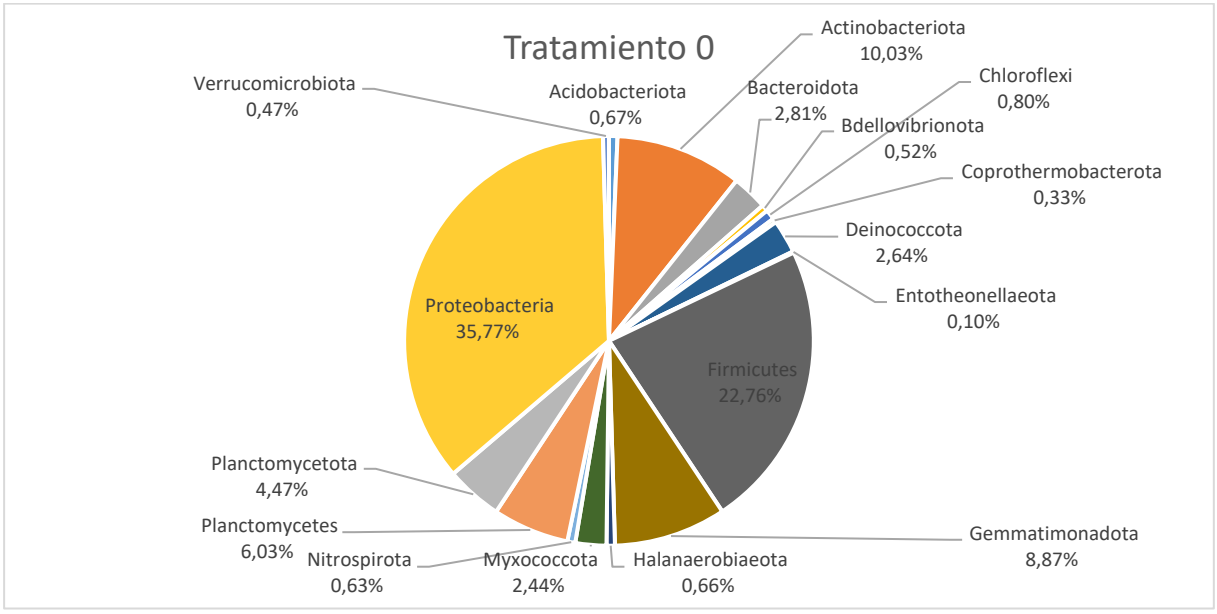


Amarillo: tratamiento 2 con inoculaciones periódicas cada 40 días; Blanco: tratamiento 1 con una inoculación inicial; Azul: tratamiento 0 control sin inoculaciones bacterianas. Barras de error hacen referencia a la desviación estándar.

4.6. Caracterización de las comunidades microbianas

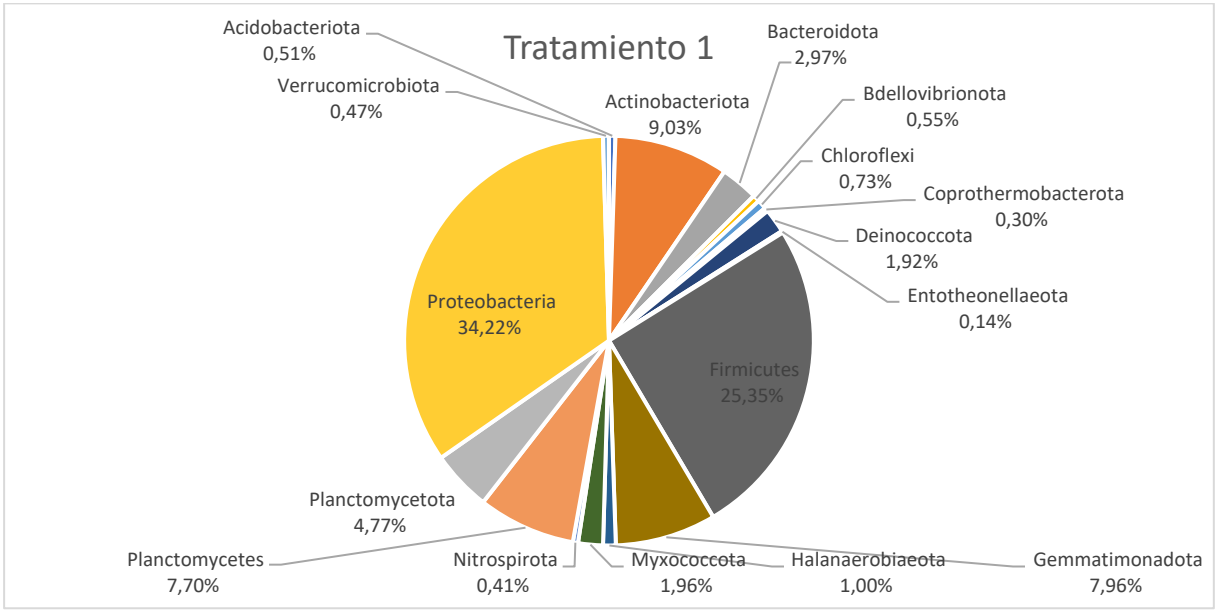
En las figuras 26, 27 y 28 se muestran las abundancias relativas de los filos bacterianos en los suelos para los tratamientos T0, T1 y T2 respectivamente. En general en todos los tratamientos los filos mayoritarios fueron Proteobacterias, Firmicutes y Actinobacterias, con pocas diferencias entre tratamientos (> 3%) por lo que podemos indicar que los biofertilizantes aplicados no produjeron importantes cambios en las comunidades bacterianas de los suelos

Figura 26: Abundancias relativas de los filos bacterianos en suelos del tratamiento 0.



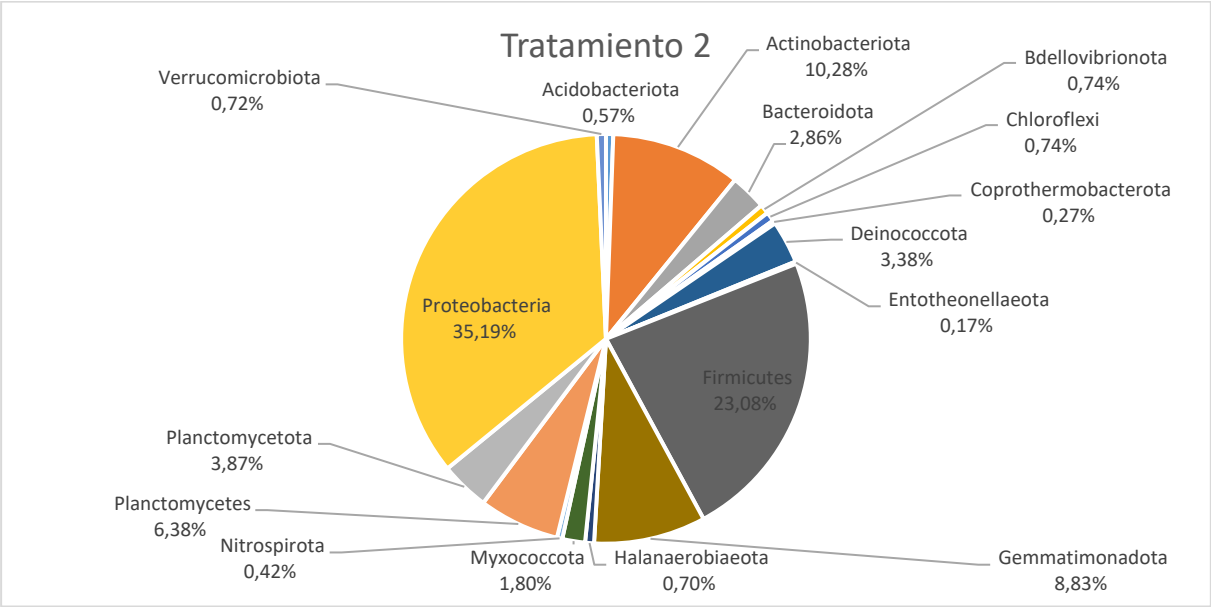
Tratamiento 0 control: sin inoculaciones bacterianas.

Figura 27: Abundancias relativas de los filos bacterianos en suelos del tratamiento 1.



Tratamiento 1: una inoculación inicial bacteriana.

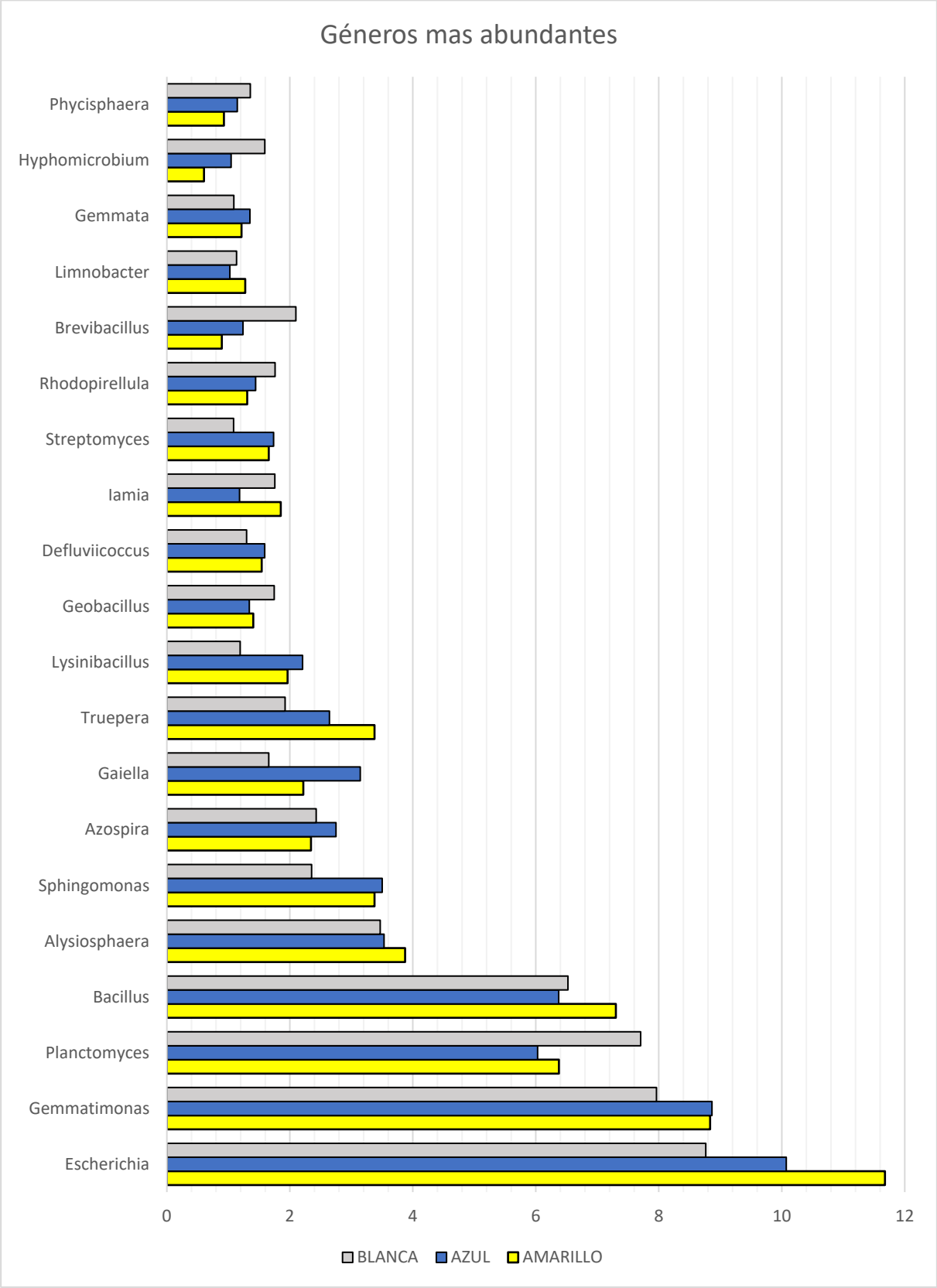
Figura 28: Abundancias relativas de los filos bacterianos en suelos del tratamiento 2.



Tratamiento 2: inoculaciones bacterianas cada 40 días.

En la figura 29 se muestran las proporciones de los géneros bacterianos más abundantes detectados en los suelos de los diferentes tratamientos, pero no hemos realizado un análisis detallado de los mismos ya que los análisis microbiológicos realizados no nos permitían detectar las bacterias de los productos biofertilizantes respecto a otras bacterias del mismo género. Sin embargo, si resulta de mayor interés el análisis Gheom (tabla 8).

Figura 29: Abundancias relativas por géneros en los suelos del ensayo.



Blanca: tratamiento 1 con una inoculación inicial; Azul: tratamiento 0 control sin inoculaciones bacterianas; Amarillo: tratamiento 2 con inoculaciones periódicas cada 40 días.

Tabla 8: Análisis microbiológico Gheom.

	t_1-t_0		t_2-t_0		t_3-t_0	
Hormones	FC	*p-value*	FC	*p-value*	FC	*p-value*
Hormone Production	-51,83	0,26	-27,76	0,53	-5,61	NA
Auxin Production (IAA)	-51,77	0,26	-27,90	0,54	61,84	0,38
Cytokinin Production (CK)	-50,10	0,26	9,11	NA	31,34	0,57
Gibberellin Production (GA)	-60,01	0,27	-46,85	0,38	-68,06	0,21
Abscisic acid (ABA)	-82,53	0,28	-70,13	0,41	-76,29	0,37
Nutrition						
Nitrogen Pathways	-3,29	NA	6,28	0,63	-4,84	0,63
Inorganic nitrogen release	3,89	NA	14,60	0,64	-4,17	NA
Inorganic nitrogen consumption	6,29	0,67	7,76	0,67	0,28	NA
Inorganic Nitrogen cycle health	-3,31	NA	6,54	0,67	-0,71	NA
Phosphorous Pathways	2,75	NA	21,14	0,41	23,78	0,41
Inorganic P solubilization	8,10	0,67	18,71	0,64	33,49	0,42
Inorganic P consumption	-0,43	NA	-2,29	0,67	-1,29	0,67
Organic P assimilation	0,80	NA	-3,69	0,67	2,59	0,67
Potassium Pathways	3,85	NA	16,83	0,41	15,84	0,41
Potassium solubilization	8,10	0,67	18,71	0,64	33,49	0,42
Potassium consumption	-1,45	NA	1,33	NA	5,14	0,64

t0, t1, t2 y t3 indican las fechas de muestreo microbiológico. FC: Folder Change, una magnitud de cuanto se incrementa o inhibe la variable estudiada en el espacio de tiempo de esas fechas. Un valor de 100 equivale al doble del efecto que en el tratamiento control.

Dicho análisis nos ha permitido conocer la presencia y variación en el tiempo de bacterias con influencia en los ciclos de los macronutrientes N, P y K y en la producción de fitohormonas responsables del crecimiento de las plantas y desarrollo de los frutos. En este análisis se realizan comparaciones con el propio tratamiento y el control en el tiempo t0, así que las diferencias en el "folder change" pueden ser atribuidas a los productos biofertilizantes aplicados. Aunque tenemos datos de los diferentes muestreos nos vamos a centrar en el estudio de la fecha t3, época de recolección de frutos, que es la más interesante desde el punto de vista de la producción del cultivo. Como se ve en la tabla 8 los resultados en el incremento de las fitohormonas auxinas y citoquininas ha sido destacado (FC = 61.84 y 31.34 respectivamente), lo que puede explicar claramente como este tratamiento T2 ha conseguido una mayor fracción de frutos de mayor calibre comparados con el tratamiento control T0. La producción de estas

fitohormonas por BPCP ha quedado claro en otros trabajos como el de García de Salamone *et al*. (2001).

En lo referente a los macronutrientes podemos indicar que los parámetros que mide este análisis no se ajustan bien a las bacterias aplicadas en el producto Bio N, ya que el análisis Gheom se centra en la búsqueda de bacterias que mineralizan el N orgánico y aquellas que consumen N, pero en nuestro caso nuestras bacterias fijan N de la atmósfera, por lo que los resultados negativos o bajos de FC en la tabla 8 para los Nitrogen pathways no son relevantes.

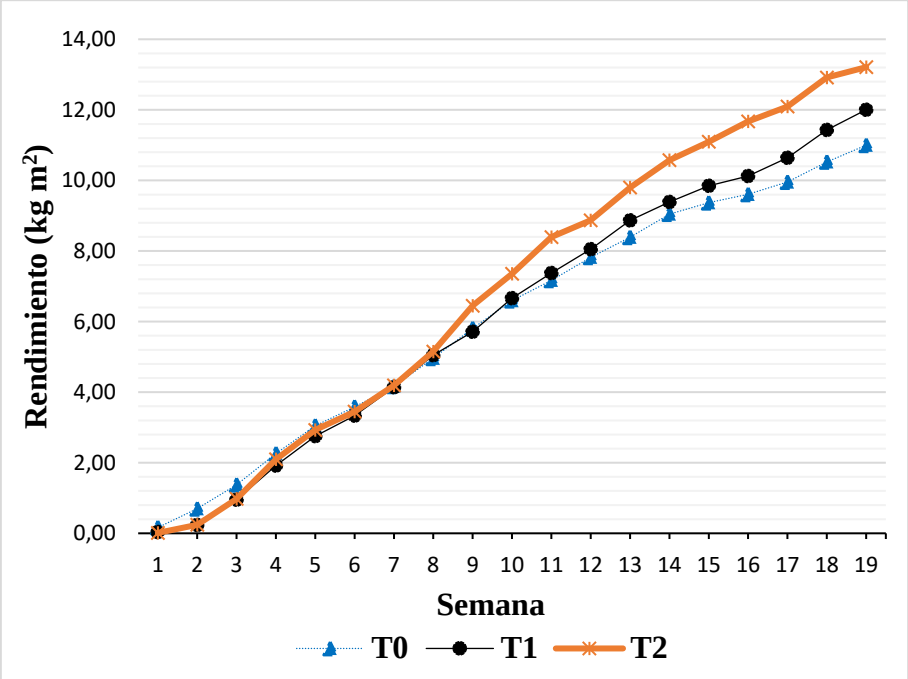
Sin embargo, si encontramos valores positivos y con una cierta relevancia en el FC (33.49) para los parámetros de solubilización de P y K. Precisamente, las bacterias aplicadas en los productos biofertilizantes Bio P y Bio K tienen como mecanismo de acción la solubilización de estos nutrientes.

Así hemos comprobado a partir de los análisis microbiológicos la acción de las bacterias aplicadas en el ensayo, en especial para el P y el K. Pero además hemos descubierto que también tienen una importante acción en la producción de fitohormonas, por lo que pensamos que su efecto promotor del crecimiento en el cultivo no solo es debido a su efecto en la mejora de la disponibilidad de nutrientes para las plantas, sino también por su acción productora de hormonas implicadas en el crecimiento de las plantas como también comprobaron García de Salamone *et al*. 2001. Aunque todavía no son muy frecuentes, si podemos encontrar ya algunos trabajos donde ponen de manifiesto el efecto productor de fitohormonas por parte de BPCP en cultivos como por ejemplo el Gupta *et al*. 2021, donde estudiaron los efectos de las BPCP en el cultivo hidropónico de la cebolla en condiciones de invernadero en combinación con un extracto de alga marina, y el de Ilyas *et al*. 2020, donde eligieron 4 cepas de BPCP las cuales inocularon en etapa de semilla a una variedad de trigo para llevarse a cabo un cultivo hidropónico en condiciones de invernadero. En ambos se comprobó una mayor producción de fitohormonas.

4.7. Rendimiento total acumulado del cultivo

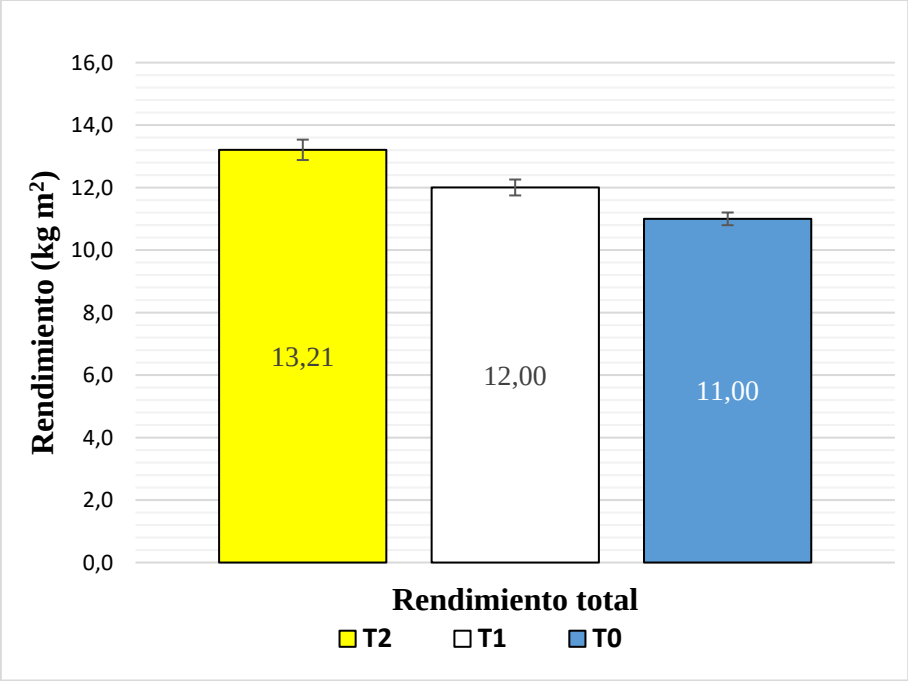
En la figura 30 se observa el rendimiento total acumulado a lo largo de los sucesivos cortes realizado. Es destacable cómo a partir del corte 9, que marca el ecuador del periodo productivo del cultivo, se obtuvo un rendimiento mayor en T2 respecto a los otros tratamientos, y ya se mantuvo a lo largo de los restantes cortes.

Figura 30: Evolución acumulada de la producción comercial (kg m^{-2} $cosecha^{-1}$) de los distintos tratamientos a lo largo del ciclo del cultivo.



T0: no inoculaciones bacterianas; T1: una inoculación inicial; T2: inoculaciones periódicas cada 40 días.

Figura 31: Producción total comercial (kg m^{-2} $cosecha^{-1}$) de los distintos tratamientos.



T0: no inoculaciones bacterianas; T1: una inoculación inicial; T2: inoculaciones periódicas cada 40 días.

Los resultados finales indicaron una producción de un 20% superior para el tratamiento con inoculaciones periódicas (T2) y de un 9% superior para el tratamiento con una única inoculación respecto al tratamiento control. Estos valores son similares a los obtenidos por Yagmur (2021), en cuyo estudio se inocularon 4 cepas diferentes de BPCP (una de ellas *Burkholderia cepacia*) de 3 regiones diferentes de la planta del cultivo de tomate (hojas, raíces y de suelo). Igualmente, en el estudio realizado por Turan *et al*. (2021) donde se inocularon BPCP en semillas de cultivo de tomate y con fertilización sintética se obtuvieron mayores producciones en las plantas que seguían un tratamiento con la inoculación de BPCP respecto de las plantas del tratamiento control.

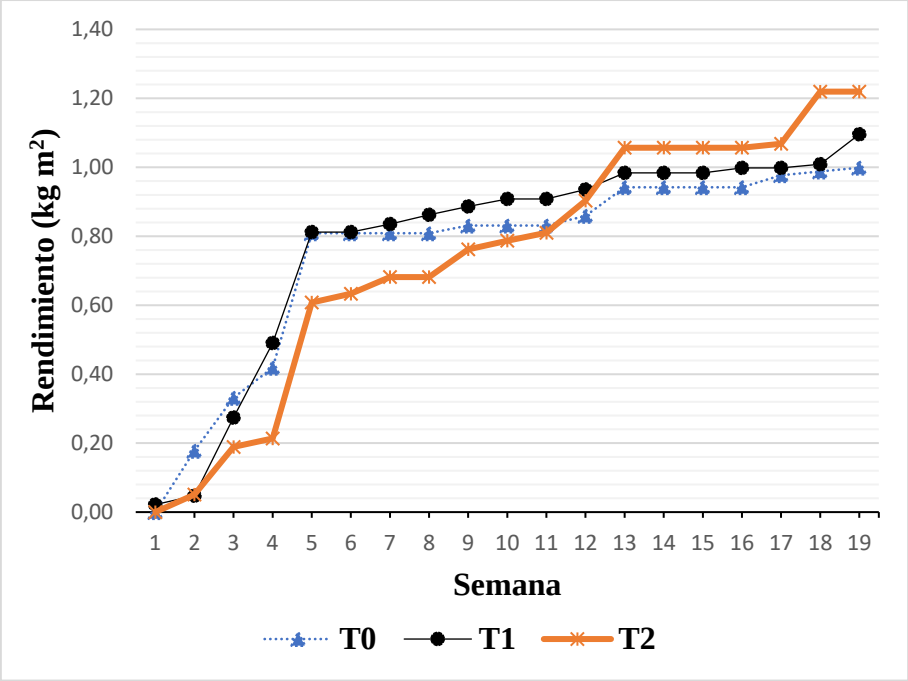
Respecto a los rendimientos obtenidos, aunque dependen de las variedades y el tipo del ciclo del cultivo, Reche (2008) estimó que en un cultivo protegido se encuentran entre los 75.000 y 150.000 kg/ha. En el tratamiento T2 la producción para 13.700 m^2 (superficie total del invernadero) se traduciría en 181.000 kg/ha por los 150.700 kg/ha del tratamiento control, lo que indica unos valores muy superiores a los estimados por Reche, poniendo de manifiesto el gran valor que pueden tener las bacterias para mejorar las producciones sin necesidad de aumentar las superficies de cultivo.

4.8. Rendimiento acumulado por categoría

4.8.1. Categoría GGG (> 102 mm diámetro transversal)

Aunque la producción de tomates dentro de esta categoría no fue muy superior a la de los otros tratamientos (0.22 kg/m2 más respecto a la T0) (figura 32), para el conjunto del invernadero esto podría suponer unas 3 toneladas más de producción dentro de este calibre, que por otro lado es el mejor valorado económicamente.

Figura 32: Evolución de la producción comercial (kg m^{-2} $cosecha^{-1}$) de los distintos tratamientos a lo largo del ciclo de cultivo de tomate larga vida de la categoría GGG.

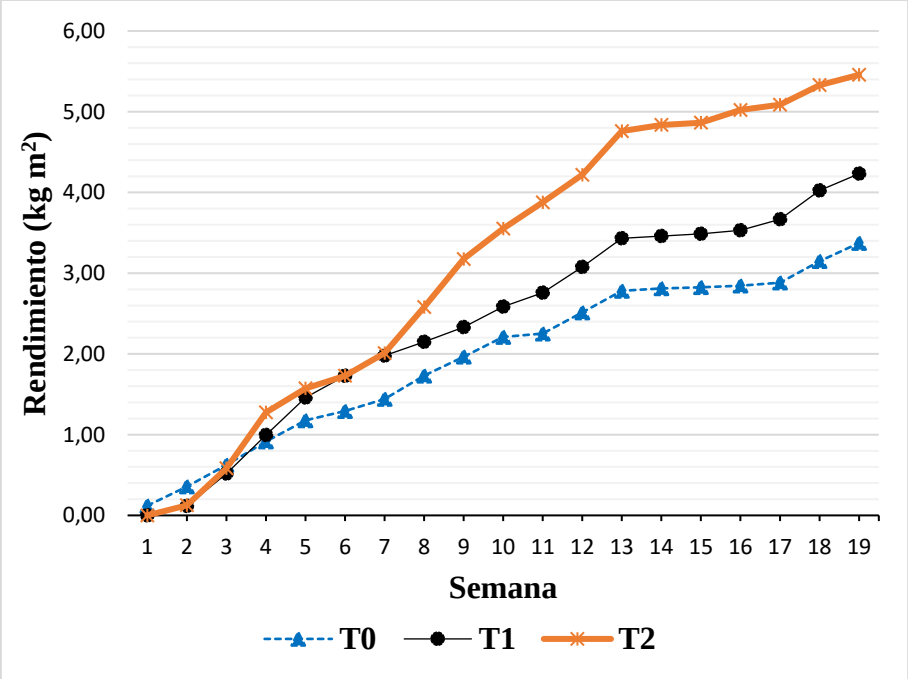


T0: no inoculaciones bacterianas; T1: una inoculación inicial; T2: inoculaciones periódicas cada 40 días.

4.8.2. Calibre GG (82-102 mm diámetro transversal)

En esta categoría de calibres es donde se han encontrado el mayor efecto del tratamiento del T2 con el resto, llegando a obtenerse una diferencia final de más de 2 kg m^2 con respecto el T0 (figura 33). Esto es un resultado bastante destacable ya que esta categoría suele tener mejores cotizaciones que las otras inferiores.

Figura 33: Evolución de la producción comercial (kg m^{-2} $cosecha^{-1}$) de los distintos tratamientos a lo largo del ciclo de cultivo de tomate larga vida de la categoría GG.

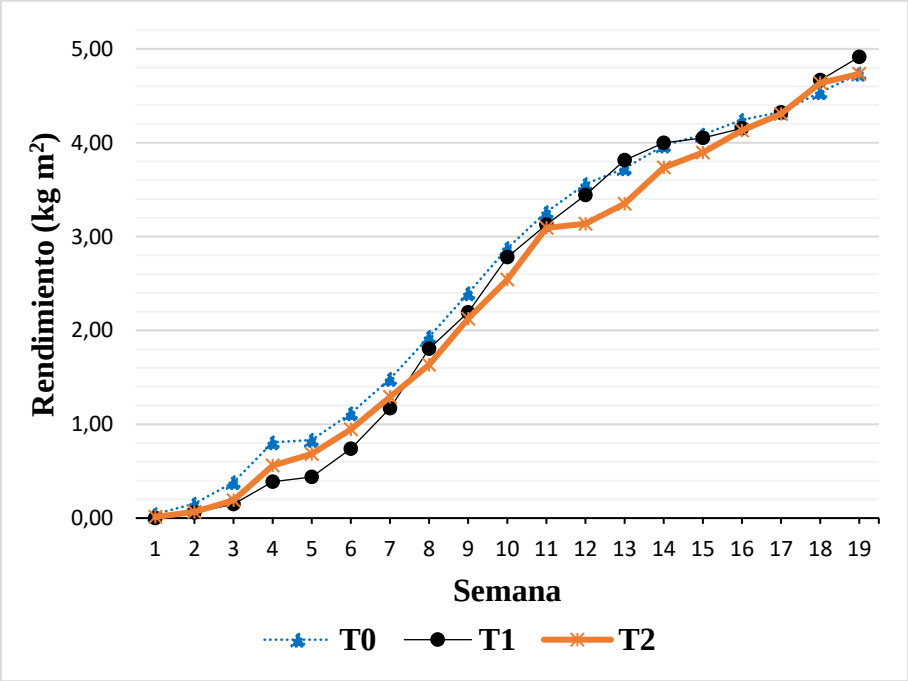


T0: no inoculaciones bacterianas; T1: una inoculación inicial; T2: inoculaciones periódicas cada 40 días.

4.8.3. Calibre G (67-82 mm diámetro transversal)

En esta categoría no se aprecia un impacto beneficioso en el tratamiento con biofertilizantes respecto con el resto (figura 34). En los tres tratamientos se obtienen una producción similar (4.75-5 kg/m2).

Figura 34: Evolución de la producción comercial (kg m^{-2} $cosecha^{-1}$) de los distintos tratamientos a lo largo del ciclo de cultivo de tomate larga vida de la categoría G.

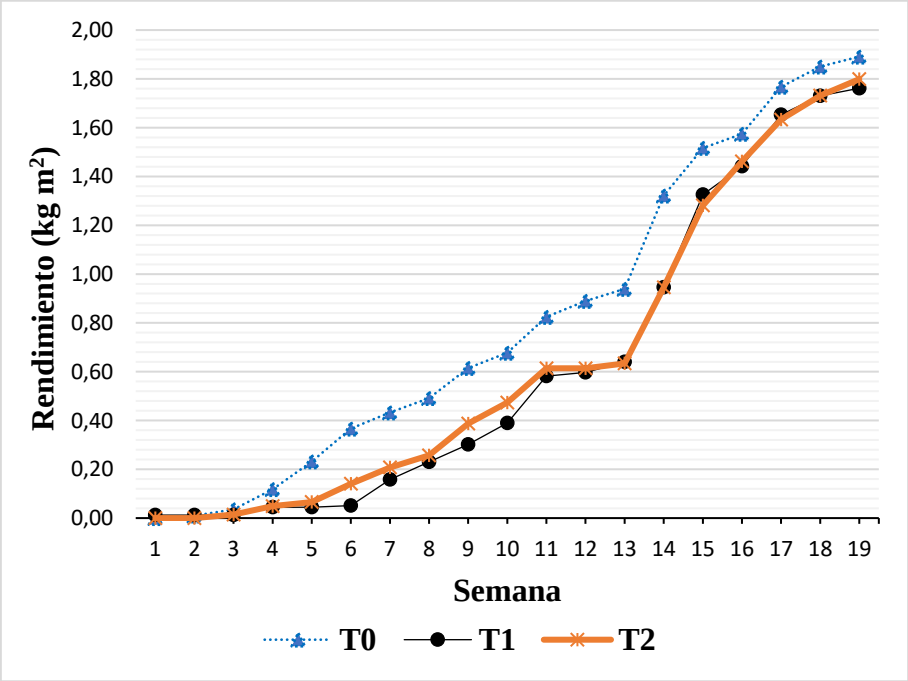


T0: no inoculaciones bacterianas; T1: una inoculación inicial; T2: inoculaciones periódicas cada 40 días.

4.8.4. Categorías inferiores (< 67 mm diámetro transversal)

Aunque las diferencias finales no fueron importantes, en esta categoría fue el tratamiento control T0, el que obtuvo una mayor producción (figura 35), lo cual resultó de gran interés ya que es la categoría con menor valor económico.

Figura 35: Evolución de la producción comercial (kg m^{-2} $cosecha^{-1}$) de los distintos tratamientos a lo largo del ciclo de cultivo de tomate larga vida de categorías inferiores.

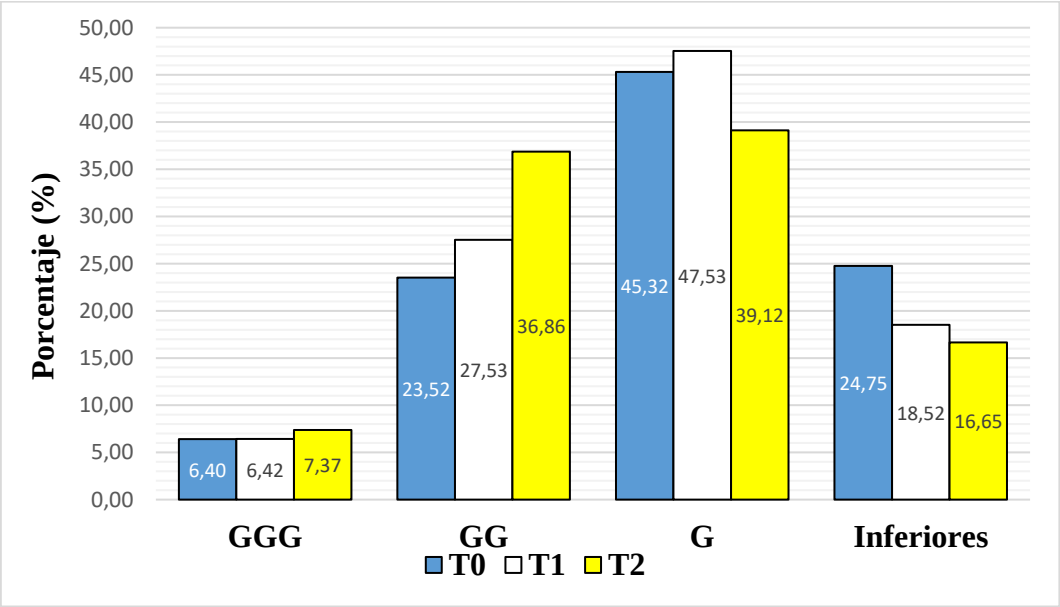


T0: no inoculaciones bacterianas; T1: una inoculación inicial; T2: inoculaciones periódicas cada 40 días.

4.9. Proporción y peso de frutos por categoría

A modo de resumen de lo anterior, en la figura 36 observamos que el tratamiento T2 con inoculaciones periódicas obtuvo unos mejores porcentajes que los otros tratamientos en cuanto a categoría GGG y especialmente en la categoría GG, siendo la distribución un 13% superior que en el tratamiento control T0. En las categorías más pequeñas, G e inferiores, el tratamiento T2 mostró una distribución inferior respecto a los otros tratamientos Esta distribución de tamaño de frutos en el tratamiento T2 resulta óptima para obtener un rendimiento económico superior.

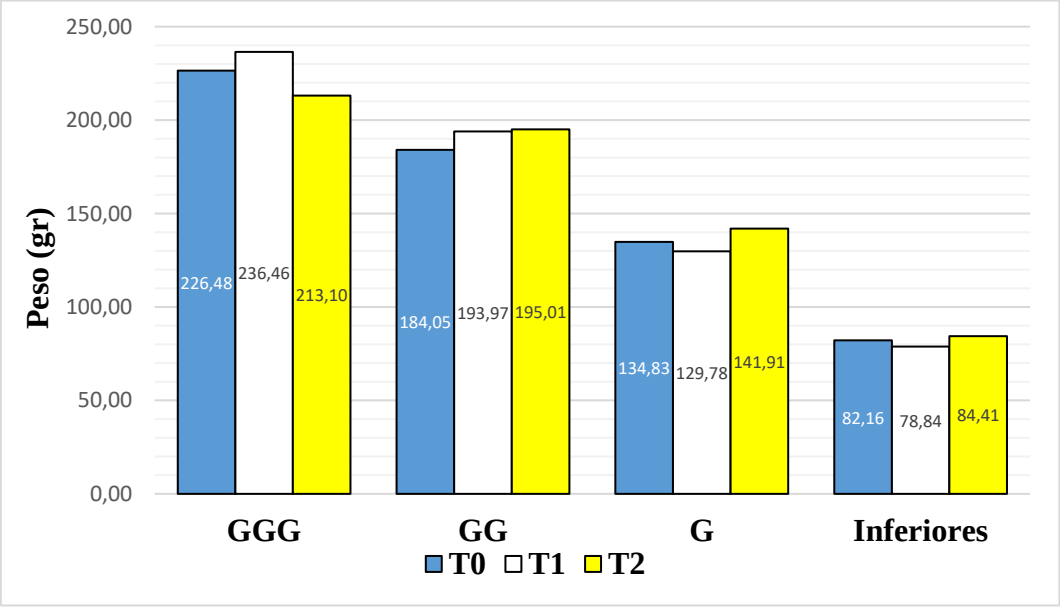
Figura 36: Distribución porcentual de la producción de frutos de distintos calibres para cada tratamiento.



T0: no inoculaciones bacterianas; T1: una inoculación inicial; T2: inoculaciones periódicas cada 40 días.

En lo referente al peso medio de los frutos por categorías encontramos que en general para todas las categorías se obtuvieron unos pesos similares (figura 37), no habiendo diferencias de más de 13 g entre el tratamiento con bacterias recurrentes (T2) frente al tratamiento control (T0).

Figura 37: Peso medio de frutos por categorías para los distintos tratamientos.



T0: no inoculaciones bacterianas; T1: una inoculación inicial; T2: inoculaciones periódicas cada 40 días.

Si bien es cierto que el peso se mantuvo similar entre tratamientos, el porcentaje de frutos GG fue superior en el tratamiento 2. Una explicación a este fenómeno podría ser la propuesta por Andryei *et al.* (2021), donde expone un efecto (no estudiado en nuestro ensayo) de las BPCP sobre disminución de la fosforescencia de la clorofila, aumentando así la temperatura de la cubierta vegetal. Esto influyó en la fotosíntesis del cultivo del tomate aumentando la producción del mismo. Podría ser este uno de los motivos por el cual las plantas pertenecientes al tratamiento con inoculaciones bacterianas dieran mayor producción en frutos de ese tamaño. El estudio de Costa-Santos *et al*., (2021) menciona también el efecto de las BPCP sobre la fosforescencia de la clorofila y el efecto negativo que éstas pueden tener en ella.

4.10. Rendimiento económico

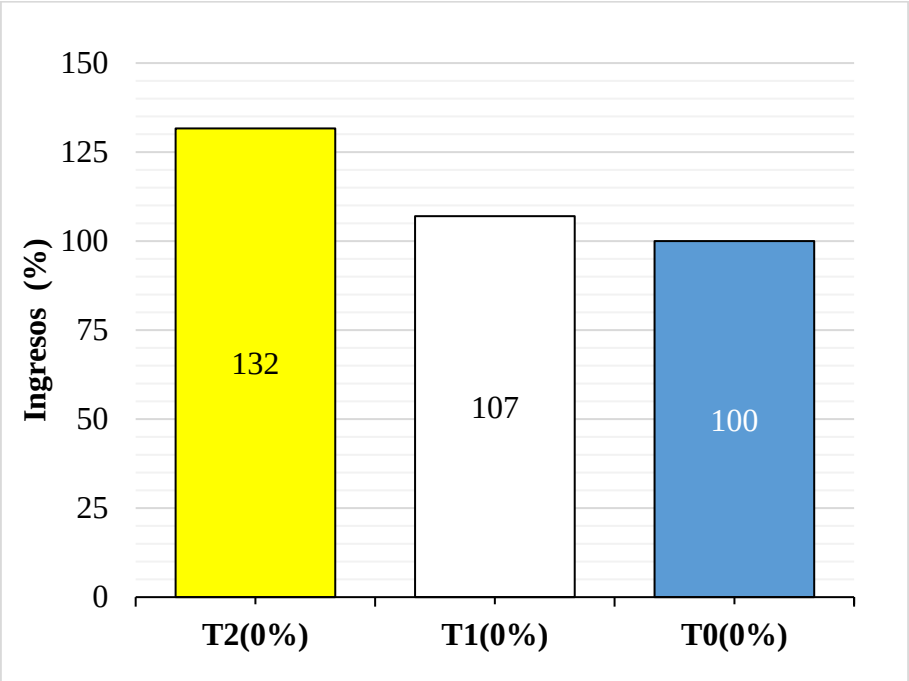
Respecto al rendimiento económico podemos observar en la tabla 9 y en la figura 38 como el Tratamiento 2 obtuvo un mejor resultado respecto al resto de tratamientos, llegando a facturar más de un 30% de lo que hizo el tratamiento control sin inoculación de bacterias y un 23% más respecto del tratamiento con una sola inoculación.

Tabla 7: Incremento en porcentaje de beneficio económico de los distintos tratamientos respecto al resto.

Incremento en porcentaje	**T2**	**T1**	**T0**
T2		23,03	31,64
T1			7,00

T0: no inoculaciones bacterianas; T1: una inoculación inicial; T2: inoculaciones periódicas cada 40 días.

Figura 38: Peso de frutos por categorías para los distintos tratamientos.



T0: no inoculaciones bacterianas; T1: una inoculación inicial; T2: inoculaciones periódicas cada 40 días.

El precio por kilo siempre ha sido estable, rondando los 0,40 €/kg (Reche, 2014), mientras que, en nuestro caso, llegamos a obtener rendimientos aproximado de 1 €/kg. Aunque debemos tener ciertos factores variables asociados al mercado agrícola, es más que evidente el positivo resultado en el rendimiento económico del cultivo, de la aplicación de biofertilización junto con el fertirriego habitual.

4.11. Parámetros de calidad

Podemos observar como en la totalidad de parámetros de calidad estudiados no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos (tabla 10).

Tabla 8: Análisis de parámetros de calidad del fruto del tomate.

VARIABLE	TRATAMIENTO			ANOVA	
	T0	T1	T2	*Razón-F*	*Valor-P*
Firmeza (N)	34,91±4,12(a)	38,78±8,92(a)	33,20±5,88(a)	1,68	0,2075
pH	4,52±0,03(a)	4,43±0,09(a)	4,42±0,09(a)	1,77	0,2481
ºBrix	6,10±1,01(a)	6,00±1,00(a)	6,33±0,58(a)	0,11	0,8964
% Ácido cítrico	0,59±0,05(a)	0,58±0,02(a)	0,59±0,03(a)	0,22	0,8075
Índice de madurez	10,27±1,10(a)	10,39±1,43(a)	10,65±0,42(a)	0,1	0,9106

*T0: no inoculaciones bacterianas; T1: una inoculación inicial; T2: inoculaciones periódicas cada 40 días; Valores promedio ± desviación estándar, n = 9; Diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos para cada variable: * p-value < 0,1; ** p-value < 0,05; *** p-value < 0,001.*

No pareció existir una influencia clara de las BPCP en los parámetros de calidad estudiados en este ensayo. Por ejemplo, la cantidad de grados Brix no varío más de 0.3 uds entre los tres tratamientos. Y parece que es una tendencia que se repite en otros estudios. Por ejemplo, Neményi *et al*. (2018) estudiaron el efecto de las BPCP en cultivos de tomate al aire libre donde inocularon también una solución comercial de BPCP mediante riego en la etapa de plántula. Igualmente, los resultados en la cantidad de solidos solubles del tomate fueron similares en todos los tratamientos estudiados frente al tratamiento control.

Aunque en los parámetros de calidad medidos en este ensayo no hemos encontrado diferencias, existen muchos otros en los que las BPCP han demostrado tener influencia. Por ejemplo, en un estudio similar al nuestro, Ochoa-Velasco *et al*. (2016) encontraron mayores cantidades de agentes antioxidantes en el fruto, muy valorados por su efecto de antienvejecimiento, tras la aplicación de *Bacillus licheniformis* y reducciones en la fertilización sintética de hasta un 75% de la dosis habitual.

4.12. Extracción de macronutrientes.

Aunque en el apartado 4.3. indicábamos que en el tratamiento T2 obteníamos valores inferiores de N y K en el fruto respecto al tratamiento control T0, estos valores pueden considerarse como valores de concentración de estos elementos, ya que son referidos a valores de peso seco de los frutos. Sin embargo, como conocemos los datos de producción (kg/m^2) por tratamiento, junto con los datos de contenido en agua de los frutos y las concentraciones de

macronutrientes mencionados podemos calcular los valores de estos macronutrientes extraídos por los frutos por m^2 (tabla 11).

Tabla 11: Extracción de macronutrientes por los frutos por m^2.

VARIABLE	TRATAMIENTO		
	T0	T1	T2
N (g/m^2)	9,26	8,63	8,93
P (g/m^2)	1,62	1,76	1,88
K (g/m^2)	16,01	17,78	16,47

Para comparar los datos, en la tabla siguiente (tabla 12) se han tomado como referencia los datos del tratamiento control T0 y los otros valores se han expresado en % respecto a estos.

Tabla 12: Porcentaje de extracción de N, P y K en los frutos de tomate del cultivo de T1 y T2 respecto a T0.

VARIABLE	TRATAMIENTO	
	T1	T2
N	-6,8	-3,5
P	8,7	16,5
K	11,1	2,9

Según estos datos vemos que los tratamientos con inoculantes bacterianos han sido más eficientes en la extracción de K y P, especialmente destacado una extracción de un 16.5% superior de P en el tratamiento T2. En el caso del N, los valores de extracción no han sido mejores que los del tratamiento control, pero en un estudio con las mismas características a excepción de una reducción en las cantidades de fertirriego (Nieto, 2021, no publicado), los valores de extracción de N fueron un 16% superiores a las del control y también fueron mayores que en este estudio para los otros macronutrientes (33.7% para el P y 22.8% para el K). Esto nos induce a pensar que ante los valores de fertilización sintética que se utilizaron en este experimento los requerimientos de la planta estaban satisfechos y no usaron las bacterias inoculadas en su máximo potencial. Es decir, la fertilización sintética puede reducir el efecto positivo de los biofertilizantes.

En el estudio de Maldonado *et al*., (2020) aunque no estudiaron parámetros de fertilidad en frutos u hojas, en un experimento con similitudes realizado en lechuga (*Lactuca sativa*) se obtuvieron producciones similares en tratamientos con el 50% y 100% de la fertilización

recomendada para el cultivo. Además, en el mismo estudio remarcan efectos similares encontrados en otros estudios con otros cultivos.

5. CONCLUSIÓN

- La aplicación de los productos biofertilizantes basados en BPCP resultó en plantas más robustas durante la fase de crecimiento vegetativo, lo que a su vez redundó en mayores producciones de frutos (20% más de producción en el tratamiento T2 respecto al T0).
- En suelos, las cantidades de fósforo asimilable para la planta se vio considerablemente mejorada gracias a las BPCP. Para nitrógeno y potasio también se obtuvieron mejores valores en suelos del tratamiento con inoculaciones periódicas, que en los suelos del tratamiento control.
- Aunque los niveles de N, P y K en hojas y frutos no mostraron resultados especialmente concluyentes debido a la acción de las BPCP, al considerar los datos de producción se observa que la efectividad en la extracción de P respecto al tratamiento control fue especialmente importante (16.5% más del tratamiento T2 frente al T0). Un estudio similar, pero con reducción del fertirriego en un 20%, mostró una mayor efectividad en la extracción de los nutrientes NPK, lo que nos puede indicar que la efectividad de las BPCP puede estar inhibida en cierto grado por los fertirriegos que se aplican en los cultivos intensivos, ya que estos proporcionan a las plantas los nutrientes en suficientes cantidades y las plantas no necesitan la colaboración de las bacterias para obtener los mismos.
- Las BPCP no tuvieron un efecto positivo o negativo en los parámetros de calidad internos o externos del fruto.
- Los análisis microbiológicos demostraron que los mecanismos de solubilización de P y K se vieron mejorados en los suelos del tratamiento T2 en la fase de la época de recolección de frutos frente al T0 y a si mismo respecto a la fase de inicio del experimento. Además, los resultados indicaron que los productos biofertilizantes han podido influenciar el desarrollo de fitohormonas relacionadas con el crecimiento vegetal.
- Además de una mayor producción total, la producción de frutos del calibre GG fue especialmente mayor que la que se obtuvo en las plantas del tratamiento control T0 sin

inoculaciones bacterianas. Todo lo anterior resultó en una mayor cotización en el mercado (30% superior) de los frutos del tratamiento T2 frente al T0

- Una sola aplicación de BPCP en el suelo del cultivo, no fue suficiente para que estas fuesen capaces de instalarse y establecerse como población mayoritaria, lo cual lo vemos reflejado en la diferencia de resultados obtenidos de los tratamientos T2 frente a T1. El efecto de las bacterias del tratamiento T1 se pierde a lo largo del tiempo, por lo que es necesaria la inoculación periódica de estas.

6. BIBLIOGRAFÍA

Andryei, B., Horváth, K. Z., Agyemang Duah, S., Takács, S., Égei, M., Szuvandzsiev, P., & Neményi, A. (2021). *Use of plant growth promoting rhizobacteria (pgprs) in the mitigation of water deficiency of tomato plants (solanum lycopersicum l.). [Növekedést serkentő rhizobaktériumok használata paradicsom növények vízhiányának mérséklésére]*. Journal of Central European Agriculture, vol. 22, no. 1, pp. 167-177

Barrón Hoyos, J. M., Hallmann, J. & Rueda Puente, E. O. (2009). *Bacterias promotoras del crecimiento vegetal*, México D.F., Plaza y Valdés, S.A. de C.V.

Bashan, Y. & Holguin, G. (1998). *Proposal for the division of plant growth-promoting rhizobacteria into two classifications: Biocontrol-PGPB (plant growth-promoting bacteria) and PGPB.* Soil Biology and Biochemistry, vol. 30, no. 8-9, pp. 1225-1228.

Burriel, F. & Hernando, V., (1974). *Nuevo método para determinar el fosforo asimilable en los suelos*. Anal Edaf. Fisiol. Veg., vol. 9, pp. 611–622.

Camacho Ferre, C. *et al.* (2003). *Técnicas de producción en cultivos protegidos.* Caja Rural Intermediterránea, Cajamar. ISBN 84-95531-17-8.

Casas Castro, A. & Casas Barba, E. (1999). *El análisis de suelo-agua-planta y su aplicación en la nutrición de los cultivos hortícolas en la zona del sureste peninsular*. 2ª ed. Almería: Caja Rural de Almería.

Castilla, N. (2007). *Invernaderos de plástico: tecnología y manejo*, 2ª ed. Madrid: Mundi-Prensa.

Corrales Ramírez, L. C., Arévalo Galvez, Z. Y. & Moreno Burbano, V. E. (2014). *Solubilización de fosfatos: una función microbiana importante en el desarrollo vegetal*. Nova, vol. 12, no. 21, pp. 67-79.

Costa-Santos, M., Mariz-Ponte, N., Dias, M. C., Moura, L., Marques, G., & Santos, C. (2021). *Effect of bacillus spp. and brevibacillus sp. on the photosynthesis and redox status of solanum lycopersicum*. Horticulturae, vol. 7, no. 2, pp. 1-14.

Domene Ruiz, M. A. & Segura Rodríguez, M (2014). *Parámetros de calidad externa en la Industria Agroalimentaria*. Ficha de transferencia 3. Cajamar 12.

Domene Ruiz, M. A. & Segura Rodríguez, M (2014). *Parámetros de calidad interna de hortalizas y frutas en la Industria Agroalimentaria*. Ficha de Transferencia 5. Cajamar 18.

FAO. (1996). *Declaración de Roma sobre la seguridad alimentaria mundial y plan de acción de la cumbre mundial sobre la alimentación*. Recuperado de http://www.fao.org/docrep/003/w3613s/w3613s00.htm.

Fernández Fernández, M. M. *et al*. (2014). *Suelo y medio ambiente en invernaderos.* Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural, Sevilla.

Flores Céspedes, F. *et al.* (2000). *Dinámica de plaguicidas y fertilizantes en suelos de invernadero*. (Tesis doctoral), Universidad de Almería.

Flores, C. & Rodríguez, R. (2014). *Azotobacter: una bacteria con potencial como biofertilizante eco-amigable*. En A. C. Flores Gallegos, V. González, C. N. Aguilar, R. Rodríguez Herrera (Eds.), *Biofertilizantes microbianos* (pp.21), Madrid: Plaza y Valdés.

García de Salamone, I., Hynes, R. & Nelson, L. (2001). *Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants*. Canadian journal of microbiology, vol. 47.

Garrido Frenich, A. (2008). *Estudio de la contaminación por plaguicidas en suelos de agricultura intensiva en la provincia de Almería*. (Trabajo Fin de Master), Universidad de Almería.

Gupta, S., Stirk, W. A., Plačková, L., Kulkarni, M. G., Doležal, K., & Van Staden, J. (2021). *Interactive effects of plant growth-promoting rhizobacteria and a seaweed extract on the growth and physiology of allium cepa L. (onion).* Journal of Plant Physiology, vol. 262.

Hansen, A. P., Choudhary, D. K., Agrawal, P. K., & Varma, A. (2017). *Rhizobium Biology and Biotechnology*. Springer International Publishing.

Ilyas, N., Mazhar, R., Yasmin, H., Khan, W., Iqba, S., El Enshasy, H., & Dailin, D. J. (2020). *Rhizobacteria isolated from saline soil induce systemic tolerance in wheat (triticum aestivum L.) against salinity stress*. Agronomy, vol. 10, no. 7.

Juárez Sanz, M., & Sánchez Andreu, J. (1996). *Fósforo en agricultura.* Universidad de Alicante, Secretariado de Publicaciones.

Kalozoumis, P., Savvas, D., Aliferis, K., Ntatsi, G., Marakis, G., Simou, E., & Karapanos, I. (2021). *Impact of plant growth-promoting rhizobacteria inoculation and grafting on tolerance of tomato to combined water and nutrient stress assessed via metabolomics analysis*. Frontiers in Plant Science, vol. 12.

Kjeldahl, J. (1883). *Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern. [New Method for the Determination of Nitrogen in Organic Substances]*. Zeitschrift für analytische Chemie, 22, 366-383.

Kloepper, J.W. *et al*. (1980). *Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria*, Nature, vol. 286, no. 5776, pp. 885-886.

Maldonado, S., Rodríguez, A., Ávila, B., Morales, P., González, M. P., Araya Angel, J. P. A., & Stoll, A. (2020). *Enhanced crop productivity and sustainability by using native phosphate solubilizing rhizobacteria in the agriculture of arid zones*. Frontiers in Sustainable Food Systems, vol. 4.

Mora, E., & Toro, M. (2007). *Estimulación del crecimiento vegetal por Burkholderia cepacia, una cepa nativa de suelos ácidos de sabanas venezolanas*. Agronomía Tropical, vol. 57, no. 2, pp. 123-128.

Neményi, A., Le, A. T., Pék, Z., Takács, S., & Helyes, L. (2018). *The effect of plant growth-promoting rhizobacteria on yield, water use efficiency and brix degree of processing tomato*. Plant, Soil and Environment, vol. 64, no. 11, pp. 523-529.

Ochoa-Velasco, C. E., Valadez-Blanco, R., Salas-Coronado, R., Sustaita-Rivera, F., Hernández-Carlos, B., García-Ortega, S., & Santos-Sánchez, N. F. (2016). *Effect of nitrogen fertilization and Bacillus licheniformis biofertilizer addition on the antioxidants*

compounds and antioxidant activity of greenhouse cultivated tomato fruits (Solanum lycopersicum L. var. Sheva). Scientia Horticulturae, vol. 201, pp. 338-345.

Olsen, S. R., Cole, C. V., Watanabe, F. S., Dean, L. A., & United States. (1954). *Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate*. Washington, D.C: U.S. Dept. of Agriculture.

Ramos Miras, J., Carrasco, C., & Boluda, R., (2002). *Estudio da las características de los antrosoles cumílicos de los invernaderos de la comarca del poniente almeriense. Influencia de las prácticas agrícolas sobre los cambios de sus propiedades*. Edafología, ISSN 1135-6863, vol. 9, no. 2, pp. 129-142.

Reche Mármol, J. (2008). *Agua, suelo y fertirrigación de cultivos hortícolas en invernadero*. Madrid: Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino: Mundi Prensa.

Reche Mármol, J. (2009). *Cultivo de tomate en invernadero*. Madrid: Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.

Reche Mármol, J. (2014). *Cultivo intensivo del tomate*. Madrid: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.

Rodríguez, H. & Fraga, R. (1999). *Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion*. Biotechnology Advances, vol. 17, pp. 319–339.

Rodríguez, M., & Florez, V. (2004). *Elementos Esenciales y Beneficiosos.* CYTED. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, pp. 25-36.

Samaniego Vivanco, T. D. (2018). *Determinación de la capacidad de solubilización de potasio por Bacillus mucilaginosus.* (Tesis doctoral), Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima.

Sánchez López, D. B., Gómez-Vargas, R. M., Garrido Rubiano, M. F., & Bonilla Buitrago, R. B. (2012). *Inoculación con bacterias promotoras de crecimiento vegetal en tomate bajo condiciones de invernadero*. Revista mexicana de ciencias agrícolas, vol. 3, no. 7, pp. 1401-1415.

Toresano Sánchez, F. A. & Camacho Ferre, F. (2008). *El silicio en la agricultura intensiva bajo plástico*, (Tesis doctoral), Universidad de Almería.

Turan, M., Yildirim, E., Ekinci, M., & Argin, S. (2021). *Effect of Biostimulants on Yield and Quality of Cherry Tomatoes Grown in Fertile and Stressed Soils*. HortScience horts, vol. 56, no. 4, pp. 414-423.

Yagmur, B., & Gunes, A. (2021). *Bewertung der Auswirkungen von pflanzenwachstumsfördernden Rhizobakterien (PGPR) auf Ertrags- und Qualitätsparameter von Tomatenpflanzen im ökologischen Landbau mittels Hauptkomponentenanalyse*. Gesunde Pflanzen, vol. 73, no. 2, pp. 219-228.

UNIVERSIDAD DE ALMERÍA

Resumen/Abstract

El crecimiento exponencial de la población mundial en las últimas décadas ha ido acompañado de la mano con un uso excesivo de fertilizantes sintéticos destinado a satisfacer las cada vez más exigentes demandas del mercado. Esta práctica, insostenible en el tiempo, parece haber encontrado en el uso en conjunto de biofertilizantes una solución a corto plazo. A lo largo de un ciclo de cultivo del tomate larga vida *Rebellion* aplicamos periódicamente unos biofertilizantes basados en bacterias de la casa comercial Nostoc Biotechnologies S.L. en conjunto con la fertilización habitual para un cultivo de tomate. Estas bacterias tenían el objetivo de fijar N atmosférico y solubilizar P y K que se encuentra en el suelo de forma no disponible para las plantas. Se estudiaron parámetros morfométricos, producción, rendimiento económico, fertilidad en hojas, frutos y suelo, parámetros de calidad del fruto y caracterización de las comunidades microbianas del suelo. La aplicación de biofertilizantes dieron mejores resultados en cuanto a la fertilidad del fruto y a la producción del cultivo, obteniéndose hasta un 30% más de rendimiento económico respecto a las plantas sin inoculaciones bacterianas gracias a la mayor obtención de frutos de un calibre más cotizado en el mercado. Además, su utilización mejoró considerablemente la disponibilidad de fósforo asimilable para la planta en el suelo. La inoculación de BPCP como un extra al fertirriego normal de un cultivo puede darnos así una mejor producción y un mejor rendimiento económico sin aumentar la superficie de cultivo.