

BIOENSAYO MICROBIANO PARA ESTIMAR LOS NUTRIMENTOS DISPONIBLES EN LOS ABONOS ORGÁNICOS: CALIBRACION EN EL CAMPO¹

Eduardo Salas^{2/*}, Carlos Ramírez^{**}

Palabras clave: *Bioensayo microbiano, abonos orgánicos, calibración en el campo, disponibilidad de nutrientes.*

RESUMEN

Se demostró recientemente que el aumento de la biomasa microbiana en una mezcla de suelo:abono orgánico (9:1), suplementada con glucosa como fuente de carbono, fue proporcional al crecimiento de una planta indicadora (sorgo) crecida en el mismo sustrato. En la presente investigación se determina si este bioensayo es de utilidad como guía en la fertilización de los cultivos con abonos orgánicos, mediante la siembra en el campo de chile dulce (*Capsicum annuum* L.) y tomate (*Lycopersicum esculentum* L.) como plantas indicadoras. Los tratamientos consistieron de suelo solo o en mezcla con 10% de abonos orgánicos de contenido de nutrientes contrastante a saber: pollinaza (CM), compost (C), bocashi (B), vermicompost (V) y broza de café (Br). En el bioensayo microbiano se utilizó un diseño de bloques completos al azar con 6 repeticiones, la biomasa microbiana (BM) se midió 2 días después de incubar con glucosa. En los ensayos de campo las plantas indicadoras se sembraron en un diseño de bloques completos al azar con 4 repeticiones. En chile dulce se midió el peso seco (60° C) de la parte aérea de la planta (PSC) y el peso fresco de frutos verdes (PFF) a los 97 días después de la siembra. El peso seco de la parte aérea de las plantas de tomate (PST) fue medido a los 32 días. Los abonos orgánicos CM, C y B indujeron la

ABSTRACT

A microbial bioassay to estimate nutrient availability in organic fertilizers: field calibration. A good correlation was recently shown between the increase in the microbial biomass (BM) in a mixture of soil/organic amendment and the growth of a test plant, sorghum, in the same substrate. This work reports the validation of the microbial assay as a potential guide to establish the fertilization rate for organic fertilizers such as compost under field conditions. A field trial was established with green pepper (*Capsicum annuum* L.) and tomato (*Lycopersicum esculentum* L.) as test plants. Treatments were soil alone or amended with 10% (W/W) of organic amendments of contrasting nutrient value, namely: chicken manure (CM), compost (C), bocashi (B), vermicompost (V) and coffee hulls (Br). A complete randomized block design with 4 replicates was used. The following variables were determined: plant dry weight (PSC) and fresh fruit weight (PFF) for green pepper, 97 days after sowing; for tomato, plant dry weight (PST) was determined 32 days after sowing. For the microbial biomass a complete randomized block design was also used, with 6 replicates, for the same mixtures. Microbial biomass was determined 2 days after amendment with glucose (0.8%) using the substrate-induced respiration assay. The organic amend-

1/ Recibido para publicación el 1 de agosto del 2000.

2/ Autor para correspondencia.

* Escuela de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional. Beneficiario del Programa Financiero de Apoyo a Investigadores Científicos del Consejo Nacional de

Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT) de Costa Rica. San José, Costa Rica.

** Centro de Investigación en Protección de Cultivos, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

mayor BM y también el mayor PSC, PFF y PST, indicación de que fueron los de mayor y más inmediato suministro de nutrimentos, contrario al V y Br que mostraron los valores más bajos para estas variables ($P < 0.05$). Estos 2 abonos, respecto al tratamiento de CM presentaron 3 y 5 veces menos BM y 2 y 4 veces menos biomasa aérea, respectivamente ($P < 0.05$). Las correlaciones altas obtenidas entre la BM y el PSC ($r = 0.87$) y entre la BM y el PST ($r = 0.93$), permiten concluir que el bioensayo microbiano es un método promisorio para pronosticar el suministro de nutrimentos de los abonos orgánicos a los cultivos bajo condiciones de campo y en consecuencia puede ser una excelente guía en su dosificación.

INTRODUCCION

El costo bajo de los abonos químicos ha marginado la utilización de materias orgánicas como fertilizantes en la agricultura moderna. De esta manera, los residuos orgánicos agrícolas, agroindustriales y domiciliarios, en vez de constituirse en un recurso útil en la agricultura, han contribuido a la contaminación ambiental. En Costa Rica, en la primera mitad de la década de los 90, las principales actividades agrícolas se desarrollaron en una área promedio anual de 451.000 ha, en las cuales se registró un consumo de 281.000 ton³ de fertilizantes químicos (0.62 ton³ de fertilizante/ha/año). La importación de las materias primas de fertilizantes granulados representó, en 1995, una erogación de divisas por 74 millones de dólares (ABOPAC 1996).

El Plan Nacional de Manejo de Desechos de Costa Rica (Gobierno de Costa Rica y GTZ. 1991) recomendó la disposición de los desechos domiciliarios sin tratamiento en rellenos sanitarios o alternativamente, para los residuos orgánicos, su tratamiento en una planta de compostaje, dejando para el relleno sanitario la fracción no biodegradable. Las ventajas del compostaje son: se reduce significativamente el volumen y peso de los residuos, hay menos lixiviados y se obtiene un producto potencialmente útil para la agri-

cultura. Debido a los escasos rellenos sanitarios que existen en el país y a su costo alto de establecimiento, la segunda opción parece la más sensata pues se reduce el problema ambiental y se posibilita un uso mayor de los abonos orgánicos en la agricultura. Tanto en este escenario como en el manejo de desechos agrícolas y agroindustriales es necesario el desarrollo de tecnologías adecuadas para la producción de compostas orgánicas de buena calidad que posibilite su comercialización y utilización correctas en la agricultura.

Para tal efecto, es necesario contar, entre otras cosas, con métodos que evalúen la calidad de los abonos orgánicos, en especial, aquellos que estimen las concentraciones de nutrimentos disponibles a las plantas (Dick y MacCoy 1993). La evaluación del valor fertilizante de los abonos orgánicos evitará la especulación en su venta y orientará a los agricultores en el uso apropiado. Una de las consecuencias más importantes del uso racional de las compostas orgánicas sería el aumento en la demanda que posibilite su empleo en gran escala y facilite su comercialización. Otra consecuencia obvia es el aumento de la utilización de las materias primas: los desechos orgánicos.

Esta necesidad se origina en los inconvenientes asociados a los análisis químicos cuantitativos actuales de los elementos (totales o extraíbles)

Esta necesidad se origina en los inconvenientes asociados a los análisis químicos cuantitativos actuales de los elementos (totales o extraíbles)

que no son adecuados para pronosticar con fidelidad la respuesta de la planta a la aplicación del abono. Por otro lado, otros análisis como el índice de disponibilidad de N y el bioensayo con una planta indicadora (Vandevivere y Ramírez 1995a), que pronostican mejor la absorción de este elemento por las plantas son muy caros y lentos para utilizarlos como análisis de rutina de laboratorio.

Vandevivere y Ramírez (1995b), desarrollaron una metodología para determinar el valor fertilizante de los abonos orgánicos, que se basa en estimular el crecimiento de los microorganismos nativos de una mezcla suelo:abono mediante la adición de glucosa. Dos días después se mide la biomasa microbiana, cuyo incremento va a depender de la disponibilidad de otros nutrimentos aportados mayormente por el abono orgánico o composta. En este estudio se encontró una correlación excelente entre la biomasa microbiana y el incremento en el crecimiento de las plantas cultivadas en sustratos iguales. Esta metodología se apoyó en trabajos previos realizados por Waksman y Starkey (1924) y Rusch (1968) quienes sugirieron recuentos del número de microorganismos en condiciones especiales de incubación como indicador de la fertilidad de los suelos o abonos orgánicos.

Los trabajos realizados por Vandevivere y Ramírez (1995 ab) se llevaron a cabo en condiciones controladas que minimizan las pérdidas de nutrimentos especialmente por lixiviación. De ahí la, necesidad de validarlos en condiciones de campo para establecer su utilidad para guiar la fertilización de los cultivos con los abonos orgánicos. En este trabajo se informa sobre los resultados de esta validación.

MATERIALES Y METODOS

Se llevaron a cabo 2 experimentos, uno en el laboratorio y otro en el campo. En el primer experimento se evaluaron 5 abonos orgánicos mediante la metodología de Vandevivere y Ramírez (1995b), mientras que el experimento de campo consistió en evaluar el efecto de éstos abonos en el crecimiento de chile dulce (*Capsicum annuum* L.) y tomate (*Lycopersicon esculentum* L.).

Ensayo de laboratorio

El experimento se llevó a cabo en el laboratorio de Biotecnología del Centro de Investigaciones en Protección de Cultivos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Costa Rica.

Mediante la metodología de Vandevivere y Ramírez (1995b) se evaluaron 5 abonos orgánicos de calidad contrastante: Pollinaza (CM), Compost (C), Bocashi (B), Vermicompost (V) y Broza de café (Br), cuyos orígenes y preparación se presentan en el Cuadro 1, además de un tratamiento testigo de sólo suelo (T). Sus características químicas se presentan en los Cuadros 2, 3 y 4. El análisis se realizó en el Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica de acuerdo a las metodologías descritas por Briceño y Pacheco (1984). Los 5 abonos orgánicos se mezclaron con un mismo tipo de suelo, clasificado como Andisol, en proporción 1:9 en peso seco. En experimentos preliminares se determinó que esta proporción era adecuada para evitar que el exceso de CO₂ que evoluciona una muestra con una proporción mayor de abono orgánico neutralizara totalmente el NaOH en los tubos trampa, lo cual impediría la determinación de la biomasa microbiana. El suelo fue recolectado de una finca hortícola en Los Angeles de Santo Domingo de Heredia, tamizado por una malla de 2 mm de apertura y secado al aire.

Se empleó un diseño de bloques completos al azar con 6 repeticiones. Cada bloque correspondió al grupo de unidades experimentales que recibieron los tratamientos en el mismo período de incubación, bajo las mismas condiciones ambientales y de manejo. La unidad experimental consistió en un frasco Erlenmeyer de 1 L con 70 g de la mezcla suelo:abono, con la humedad ajustada a la capacidad de campo del suelo. El agua destilada usada para ajustar a capacidad de campo se aprovechó como vehículo para adicionar cicloheximida (40 mg/g seco de mezcla suelo:abono) como inhibidor de protozoarios. Los Erlenmeyers se colocaron sin tapar en gaveteros de madera, bajo condiciones de oscuridad, por 12 h. Después de este período se adicionó 1% de glucosa en polvo y de inmediato se agitó fuertemente

Cuadro 1. Características generales de los abonos orgánicos

Abono orgánico	Procedencia	Tiempo de compostaje	Composición	
Pollinaza	PIPASA		Excreta de pollos de engorde en mezcla con cascarilla de arroz, recogida a las 7 semanas de crecimiento de las aves.	
Compost	PIPASA	6 meses	Gallinaza	19.2%
			Broza de café	19.2%
			Desechos de piña	46.2%
			Aserrín	15.4%
				100.0%
Bocashi	San Luis de Santo Domingo, Heredia	0.5 meses	Suelo	28.6%
			Gallinaza	14.3%
			Granza de arroz	14.3%
			Semolina	14.3%
			Miel	14.3%
			Carbón	14.3%
				100.0%
Vermicompost	Beneficio Monte Redondo en Santiago de Paraíso, Cervantes, Cartago	4 meses	Pulpa de café (broza) a la intemperie, dispuesta en camas de 1 m de ancho por 0.5 m de alto, inoculadas con lombriz (<i>Eisenia fetida</i>)	
Broza de café	CooproNaranjo	12 meses	Pulpa de café a la intemperie apilada en montículos de hasta 3 m, con 3 ó 4 volteos al año.	

* % con base en peso fresco.

** % con base en volumen.

Cuadro 2. Contenidos totales de elementos en los abonos orgánicos determinados por medio de digestión húmeda en mezcla de ácido nítrico y ácido perclórico.

Abono orgánico	%					mg/kg				%		C:N
	N total	P	Ca	Mg	K	Fe	Cu	Zn	Mn	agua	C.O.	
Pollinaza	2.8	2.1	3.4	0.6	2.2	2200	47	390	398	4.1	19.4	7:1
Compost	2.4	2.1	5.5	0.6	2.2	504	58	480	530	48.7	25.4	10:1
Bocashi	1.1	0.8	1.8	0.5	0.8	19583	92	277	653	34.6	9.4	8:1
Vermicompost	2.5	0.2	1.2	0.3	0.4	19280	62	68	359	61.2	15.8	6:1
Broza de café	1.4	0.2	0.6	0.3	0.7	81787	120	71	723	61.9	12.5	9:1

Cuadro 3. Contenidos disponibles de elementos en los abonos orgánicos determinados por el método de extracto de medio saturado para medios de crecimiento.

Abono orgánico	mg/L												mS/cm
	pH	P	Ca	Mg	K	Na	Fe	Cu	Zn	Mn	N-NH ₄	N/NO ₃	Conduc.
Pollinaza	8.4	52.5	24.5	11.0	654.0	280.0	6.7	1.5	3.9	0.6	126.0	79.2	6.5
Compost	7.9	29.0	35.2	22.0	658.0	171.5	1.6	0.2	0.6	0.1	11.7	102.0	3.9
Bocashi	8.2	16.2	17.0	12.0	479.0	43.5	2.9	0.6	0.3	0.3	85.3	14.6	2.2
Vermi compost	5.7	1.9	120.5	79.5	548.5	19.5	ND	0.0	0.0	0.0	1.9	153.1	2.7
Broza de café	6.8	0.1	4.9	1.0	80.0	ND	2.5	2.0	0.0	5.0	5.0	13.5	0.3

ND: no hay dato.

Cuadro 4. Características químicas de los suelos utilizados en los ensayos de valor nutricional de abonos orgánicos. Los Angeles de Santo Domingo de Heredia. Costa Rica.

Ensayos	cmol(+)/L					mg/ml					%
	pH	Ca	Mg	K	Acidez	P	Cu	Fe	Mn	Zn	M.O.
Laboratorio y Chile dulce	4.7	2.4	0.4	0.4	1.1	45.5	7.2	263	5.2	2.0	14.6
Tomate	4.9	2.2	0.4	0.4	0.5	43.2	8.3	100	5.0	2.6	8.2

para homogeneizar la mezcla, se incubó en gaveteros de madera a temperatura ambiente y en la oscuridad por 48 h.

Después de los 2 días de incubación se determinó la biomasa microbiana (BM) con el método de Respiración Inducida por un Sustrato (RIS) (Anderson y Domsch 1978) con las modificaciones realizadas por Cheng y Coleman (1989).

El método RIS fue llevado a cabo a temperatura ambiente ($22 \pm 2^\circ\text{C}$). En cada Erlenmeyer se adicionó glucosa en polvo (0.8 g/100 g peso seco de suelo:abono) y se mezcló de inmediato. Media hora después los frascos se conectaron a un sistema de flujo de aire (libre de CO₂) por media hora para eliminar el CO₂ acumulado en la tubería del sistema. Luego se conectaron tubos trampa de 60 ml con 40 ml de NaOH a 50 mM, por el que se hizo burbujear durante 1 h el aire con el CO₂ generado

por la actividad de los microorganismos. El flujo de aire fue de al menos 3 L/h. Además, se conectaron frascos Erlenmeyer vacíos en el sistema (blancos) con sus respectivos tubos con NaOH. Posteriormente, se transfirió cuantitativamente el contenido de las trampas de NaOH en frascos Erlenmeyer de 125 ml en donde se agregó 6 ml de BaCl₂ 0.2 N y 2 gotas de fenolftaleína como indicador y se titularon con HCl (0.19 M).

Para obtener el valor de la BM se realizaron los siguientes cálculos: (ml de HCl del frasco vacío "blanco" - ml de HCl del frasco suelo: abono) * 0.19 M HCl * 6 (mg CO₂-C/meq de H+)/1 h de evolución * 2 = mg CO₂-C/h 100 g de mezcla seca. Los mg CO₂-C se multiplicaron por 0.75 factor de conversión de Anderson y Domsch (1978) para pasar los datos a biomasa microbiana (BM).

Ensayos de campo

Los ensayos se llevaron a cabo en una finca hortícola en Los Angeles de Santo Domingo, Heredia, Costa Rica. Las características químicas del suelo Andisol se presentan en el Cuadro 4.

Se utilizaron como plantas indicadoras, el chile dulce (*C. annuum*) y el tomate (*L. esculentum*) en las cuales se evaluó los mismos tratamientos del ensayo de laboratorio (CM, C, B, V, Br y T) con la excepción que en chile dulce no se evaluó la broza de café y en tomate no se evaluó el vermicompost. Además, en tomate se incluyó un sexto tratamiento de fertilización química: 30 g/planta de 18-10-15-4-2 a la siembra. Se utilizó esta fórmula con base en el análisis químico del suelo (Cuadro 4) que indica una menor deficiencia de P pero problemas con el K y el Mg.

En ambos ensayos se empleó un diseño de bloques completos al azar con 4 repeticiones. La distancia de siembra del chile dulce fue de 0.80 m entre surcos y de 0.30 m entre plantas. En tomate la distancia de siembra fue de 1 m entre surcos y de 0.30 m entre plantas.

Para calcular la cantidad de abono a aplicar, se tomó como volumen de mayor importancia para la absorción de nutrimentos por la raíz, aquél definido por una profundidad de 0.05 m y una área de 0.075 m². Mediante la densidad aparente del suelo (0.93 ton/m³) se obtuvo el peso seco total del suelo de dicho volumen y el 10% de este peso correspondió al abono. De esta for-

ma se calculó que se debía aplicar 0.34 kg de abono/planta; sin embargo, la pollinaza se aplicó a la mitad de ésta dosis en ambos cultivos y el bocashi se aplicó a la mitad de la dosis pero solo en chile dulce (Cuadro 5). En resultados y discusión se analiza el por qué de las reducciones de las dosis para dichos tratamientos y las implicaciones de dicha decisión.

Para la siembra se utilizaron plantulas de chile dulce de 2 meses y de tomate de 1 mes de desarrollo. Ambos almácigos se sembraron en bandejas de polietileno negro en condiciones de invernadero. La siembra o transplante en el campo se realizó en surcos previamente preparados en los cuales una semana antes se habían mezclado los abonos orgánicos.

En las plantas de chile dulce se midió el peso seco de la parte aérea (60°C) a los 97 días de la siembra (PSC), además se midió el peso fresco de frutos verdes (PFF). En el cultivo de tomate se midió el peso seco de la parte aérea de las plantas (60°C) a los 32 días de la siembra (PST).

Los datos de las variables medidas en los experimentos se sometieron a un análisis de varianza y luego se realizó una separación de medias de tratamientos por medio de la prueba Waller-Duncan. Las medias de biomasa microbiana obtenidas en los tratamientos del ensayo microbiano, efectuado en laboratorio se correlacionaron con las medias de peso seco de las plantas de chile dulce y con las de plantas de tomate de los tratamientos de los experimentos efectuados en el campo.

Cuadro 5. Cantidad de abono orgánico por planta y por hectárea aplicado a los cultivos de chile dulce y tomate.

Abono orgánico	Densidad aparente ton/m ³	Cantidad aplicada por planta		Ensayo I Chile dulce		Ensayo II Tomate		N*
		kg	L	ton/ha	m ³ /ha	ton/ha	m ³ /ha	
Pollinaza	0.25	0.17	0.68	7.03	28.12	5.62	22.48	196.1
Compost	0.19	0.34	1.79	14.06	74.00	11.25	59.20	341.7
Bocashi	0.50	0.34*	0.68*	7.03	14.06	11.25	22.50	161.7*
Vermicompost	0.25	0.34	1.36	14.06	56.24	11.25	45.00	345.9
Broza	0.38	0.34	0.89	14.06	37.00	11.25	29.60	198.2

* Calculado según N total en los abonos orgánicos (Cuadro 2) y la cantidad aplicada/ha.

** En chile dulce se agregó la mitad de cada cantidad anotada.

RESULTADOS Y DISCUSION

Calidad nutricional de los abonos orgánicos

Se presentaron diferencias de disponibilidad de nutrientes entre los abonos orgánicos analizados. Esto se demostró en las variables de crecimiento medidas en los 2 cultivos hortícolas bajo condiciones de campo, y en la biomasa microbiana estimada por el método de Vandevivere y Ramírez (1995b) (Cuadros 6 y 7). Las plantas de chile dulce fertilizadas con pollinaza y compost duplicaron su peso seco respecto a las plantas testigo (razón $k=100$, según prueba Waller-

Duncan), y no hubo efecto significativo (razón $k>100$) entre los tratamientos de bocashi, vermicompost y testigo. La materia seca del tomate, medida 32 días después de la siembra, mostró una respuesta aún mayor con los tratamientos de pollinaza y el compost, con un efecto cuadruplicado y triplicado, respecto al testigo. Mientras que con el bocashi se duplicó el peso seco de las plantas (razón $k=100$) y por el contrario las plantas que recibieron la broza de café no difirieron del tratamiento testigo (razón $k>100$) (Cuadro 7).

La variación en la calidad de los abonos orgánicos es conocida (Vandevivere y Ramírez 1995ab, Chen et al. 1996), y depende en gran

Cuadro 6. Resumen del análisis de varianza de la biomasa microbiana (BM), peso fresco de frutos (PFF) y peso seco de la parte aérea de plantas de chile dulce (PSC) y peso seco de la parte aérea de plantas de tomate (PST) evaluados en un suelo Andisol.

Fuente de variación	GL	Probabilidad*			
		BM	PFF	PSC	PST
Repeticiones	3	0.4861	0.6568	0.9552	0.1805
Tratamientos	4*	0.0001	0.0057	0.0037	0.0001
		Coeficientes de variación (%)			
		23.0	28.9	28.5	14

* Probabilidad de incurrir en error al declarar que existen diferencias entre niveles de un factor (repetición, N o P) o interacción N*P.

** En el experimento de tomate los grados de libertad fueron 5.

Cuadro 7. Medias de biomasa microbiana (BM), peso fresco de frutos (PFF) y peso seco de parte aérea de plantas de chile dulce (PSC) y peso seco de parte aérea de plantas de tomate (PST), según tratamientos de abonos orgánicos evaluados en un suelo Andisol.

Tratamiento	BM (mg C mic./g de sustrato)	PFF (g/planta)	PSC (g/planta)	PST (g/planta)
Pollinaza	7.39 ±0.48 a	105.99 ±13.83 a	28.59 ±4.22 a	12.658 ±0.84 a
Compost	3.19 ±0.43 c	95.92 ±11.72 ab	22.38 ±2.78 ab	9.549 ±0.56 b
Bocashi	4.76 ±0.31 b	69.10 ±12.59 bc	16.49 ± 1.68 bc	8.105 ±0.27 bc
Vermicompost	2.22 ±0.05 d	57.30 ± 4.69 c	14.52 ±0.52 bc	-
Broza de café	1.48 ±0.18 d	-	-	3.177 ±0.25 d
Testigo	0.41 ±0.10 e	41.07 ± 3.45 c	10.72 ±0.45 c	2.986 ±0.47 d
Fert. química	-	-	-	6.906 ±0.60 c

* Tratamientos cuyas medias tienen letras iguales en una misma columna no difieren según prueba Waller-Duncan (razón $k=100$).

medida de las condiciones de preparación y de la composición de los residuos utilizados, factores que inciden sobre la cantidad de nutrimentos solubles y en la velocidad de mineralización de los compuestos orgánicos (Haug 1980, NRAES 1992, Chen et al. 1996). La broza de café sufrió un proceso de compostaje inadecuado, a la intemperie, en montículos grandes, expuesta al exceso de lluvia y a la poca aireación. Por otro lado, el vermicompost fue el resultado de la degradación de la broza de café por lombrices a cielo abierto. En ambos casos la calidad del producto final se afectó negativamente por el manejo que causaron la anaerobiosis y el lavado de nutrimentos. Por otro lado, el compost y el bocashi mostraron con una calidad mayor como consecuencia de su preparación adecuada y manejo (conveniente relación C:N de los ingredientes, manejo eficiente de humedad y temperatura). La pollinaza no tuvo un proceso de compostaje pero es un producto que contiene altas cantidades de N, P y otros elementos (Cuadros 1, 2 y 3) aunque es deseable realizar un proceso de compostaje para reducir las pérdidas de N mediante su mezcla con otros desechos orgánicos altos en carbono (Murillo 1999).

En Chile dulce se redujo a la mitad la dosis de la pollinaza y la dosis del bocashi respecto a los otros abonos, esta disminución afectó el efecto del segundo abono ($P < 0.05$). En tomate se agregó la dosis completa del bocashi y sus efectos sobre el peso seco fueron los esperados según la prueba del bioensayo microbiano. La decisión de las reducciones de las dosis fue tomada con base en resultados previos de altas BM, además la pollinaza presentó una conductividad eléctrica de 6.5 mS/cm, indicativo de su alto contenido de sales que potenciaban problemas de salinidad para los cultivos (Warncke y Krauskopf 1983). En efecto, las plantas tratadas con pollinaza presentaron algunos problemas de quemaduras en las raíces y tallos, aún cuando se redujo a la mitad la dosis. Los agricultores suelen utilizar la pollinaza y el bocashi en dosis menores respecto a las demás compostas.

Los abonos orgánicos se clasificaron como superiores, iguales o inferiores respecto al tratamiento de fertilización química incluido en el cultivo de tomate (Cuadro 7). Con el tratamiento de pollinaza se produjo un 83% y con

compost un 37% más materia seca que con el tratamiento químico (razón $k=100$), el efecto del bocashi fue similar al químico y con broza de café se produjo menos de la mitad de la materia seca obtenida con el fertilizante químico (Cuadro 7). De esta forma se comprueba que hay abonos orgánicos que igualan o superan a los fertilizantes químicos en el suplemento de nutrimentos a corto plazo. Resultados similares han sido informados por Mays et al. (1973), Tester (1989), Chen et al. (1996) y Vandevivere y Ramírez (1995a). El comportamiento de los nutrimentos en un abono orgánico no propicia la lixiviación de los mismos, de esta manera si hubo lixiviación el abono orgánico compensó esta pérdida. Además, el abono orgánico puede movilizar del suelo nutrimentos y por lo general poseen un balance nutricional adecuado para las plantas. Por otro lado, no hay que descartar otros efectos colaterales benéficos de los abonos no asociados con el aporte nutricional, tales como la mejora de las condiciones de crecimiento de las raíces asociadas a una actividad microbiana mayor y a mejores condiciones físicas del suelo explorado por las raíces.

La variación alta en el aporte de nutrimentos por los abonos orgánicos justifica estimar la disponibilidad de diversos elementos en ellos para su dosificación correcta en el campo y así evitar rendimientos bajos de los cultivos, causados por dosis insuficientes de abonos orgánicos de baja calidad o evitar, por sobredosificación, los efectos negativos sobre el cultivo o el desperdicio de abonos de calidad alta o muy alta. Por ejemplo, en el caso del compost fue suficiente una dosis de 0.34 kg/planta para una nutrición adecuada durante el periodo de los ensayos, pero dicha dosis fue insuficiente para la broza de café o vermicompost, según se infiere de los datos de materia seca de los cultivos.

Se considera a los abonos orgánicos como "mejoradores del suelo" porque afectan de forma positiva las propiedades físicas del suelo (Epstein 1975, Metzger et al. 1987, Tester 1990) y también mejoran las condiciones microbiológicas (Volland y Epstein, 1994, Serra-Wittling et al., 1996, Hoitink et al. 1997). Sin embargo, muchas veces se subestima el aporte que los abonos orgánicos brindan al mejoramiento químico del

suelo, lo que lleva a recomendar innecesariamente dosis altas para suplir los requerimientos mínimos de un cultivo, en especial cuando se depende solo de fuentes orgánicas para la producción. Sin embargo, como se demostró en esta investigación, los abonos orgánicos de alta calidad pueden suministrar cantidades importantes de nutrientes en un corto plazo (1-3 meses) o de identificar deficiencias en aquellos de baja calidad, de ahí la necesidad de contar con metodologías confiables y prácticas para medir la disponibilidad de nutrientes. Esta información puede permitir el uso eficiente de este recurso por parte del agricultor. De esta manera, aquellos productores que manejan su finca totalmente orgánica, tendrán un mejor criterio para dosificar el abono orgánico según las necesidades del cultivo.

Aunque el mejor indicador de la calidad de los abonos es, en última instancia el cultivo mismo, es necesario conocer sobre su capacidad de aporte de nutrientes con antelación a su siembra, pues, de otra manera, los resultados obtenidos no tendrían aplicación inmediata sobre el cultivo que se inicia. El bioensayo microbiano se convierte así en un método promisorio para evaluar la calidad de los abonos orgánicos y sugerir su dosificación como se explica a continuación.

Validación de la metodología

Vandevivere y Ramírez (1995ab) demostraron que el aumento de la biomasa microbiana, después de incubar con glucosa una mezcla de suelo y abono orgánico adicionada de glucosa, es proporcional al crecimiento de las plantas indicadoras sembradas en el mismo sustrato. De igual forma, Salas y Ramírez (2001) obtuvieron una correlación alta ($r=0.86$, $P=0.0001$) entre el crecimiento microbiano inducido con glucosa y el de sorgo (*S. vulgare*) como planta indicadora, utilizando como sustratos el suelo y los 5 abonos orgánicos descritos aquí. Estos ensayos comprobaron la validación del bioensayo microbiano en condiciones de invernadero, de ahí la necesidad en validar la metodología con ensayos de campo para poner a prueba su confiabilidad. Bajo las

condiciones más restrictivas de campo, las plantas por un lado están sujetas a condiciones ambientales más variables que en el invernadero, a su vez, los abonos están sujetos a factores ambientales que propician la pérdida de nutrientes como el lavado causado por la lluvia. Sin embargo, las correlaciones fueron también altas; así se confirmó que la metodología propuesta promete ser una herramienta adecuada para pronosticar los efectos nutricionales de los abonos orgánicos sobre los cultivos bajo las condiciones de campo. La Figura 1 muestra una alta correlación ($r=0.87$, $P=0.05$) entre la biomasa microbiana (BM) y el peso seco

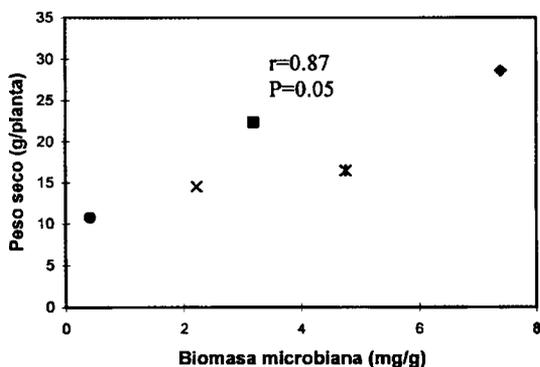


Fig. 1. Diagrama de dispersión de los puntos definidos por la biomasa microbiana medida 2 días después de incubar con glucosa y el peso seco de la parte aérea de plantas de chile dulce (*Capsicum annuum* L.). ◆, Pollinaza; ■, Compost; x, Bocashi; x, Vermicompost; ●, Suelo.

de las plantas de chile dulce (PSC); cada punto en la figura representa un sustrato de crecimiento diferente. De manera similar la Figura 2 muestra una alta correlación ($r=0.93$, $P=0.02$) entre la BM y el peso seco de las plantas de tomate (PST).

En el ensayo de chile dulce, tanto el bocashi como la pollinaza se usaron al 5%, mientras que en el bioensayo microbiano se usaron al 10%. Se decidió reducir la dosis en estos abonos debido a los altos valores de biomasa microbiana (4.76 y 7.39 mg de C mic/g para bocashi y pollinaza respectivamente); además, se consideró que la norma en los agricultores es aplicar cantidades

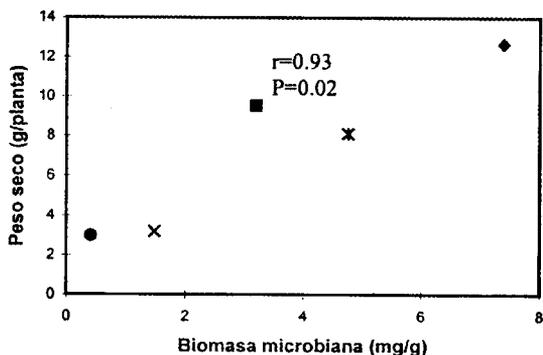


Fig. 2. Diagrama de dispersión de los puntos definidos por la biomasa microbiana medida 2 días después de incubar con glucosa y el peso seco de la parte aérea de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* L.). ◆, Pollinaza; ■, Compost; x, Bocashi; x, Broza de café; ●, suelo.

inferiores al 10% de estos, pues se considera que son muy concentrados en nutrientes. De esta manera, dosis muy altas de estos abonos podrían no inducir una respuesta en la planta proporcional a su nivel nutricional pues se corre el riesgo de caer en la parte plana de la curva de respuesta a causa del exceso de nutrientes. Sin embargo, para contrastar los efectos de las dosis en las plantas, se aplicó en tomate el 10% del bocashi. Para la pollinaza se mantuvo el 5% de aplicación en ambos cultivos, ya que fue el único abono orgánico con un alto valor de conductividad eléctrica (6.5 mS/cm), que es indicativo de un alto contenido de sales que causan problemas en las raíces de los cultivos (Warncke y Krauskopf 1993). De hecho, en este trabajo se encontró que este tratamiento fue el único que causó problemas de quemaduras en raíces y tallos.

¿Cómo afectó las reducciones de estos abonos los resultados?

Por un lado, en cuanto a peso seco de las plantas de chile se refiere, el tratamiento bocashi no difirió del tratamiento testigo de solo suelo ($P>0.05$), mientras en el cultivo de tomate se presentaron diferencias significativas entre ambos tratamientos. La diferencia se debió a la disminu-

ción de la cantidad de bocashi en el chile dulce. La correlación lineal entre el peso seco de las plantas de chile dulce y la biomasa microbiana hubiera incrementado con la aplicación del 10% de bocashi, porque era de esperar mayor biomasa foliar al aumentar la dosis, tal como sucedió con tomate donde las plantas que recibieron el bocashi al 10% incrementaron significativamente su peso y la correlación entre ensayos mejoró (Figuras 1 y 2).

En cambio predecir el efecto de la pollinaza al 10% es más difícil, porque ambos cultivos recibieron la mitad de esta proporción y pese a ello, fue el tratamiento que dio los mayores pesos secos. Suponer una mayor biomasa de chile y tomate con la aplicación de pollinaza al 10% puede no ser lo correcto, como sucedió con la biomasa de tomate cuando se adicionó bocashi al 10%. Los cultivos responden a la adición de nutrientes hasta un máximo, más allá del cual no hay respuesta positiva de las plantas e incluso ésta puede ser negativa. Esto sugiere que se deben realizar ensayos de calibración del bioensayo y el cultivo en cuestión al menos en las zonas definidas por características parecidas de suelo y clima donde se utilice un rango de concentraciones del compost para obtener el óptimo biológico. Es posible que el nivel óptimo de pollinaza este cercano al 5% y no al 10%. Los resultados obtenidos por Salas y Ramírez (2001) sugieren lo anterior, porque a diferencia de los ensayos de campo donde la pollinaza al 5% resultó el mejor tratamiento, cuando se agregó al 10% a plantas de sorgo sembradas en condiciones de invernadero, mostró pesos secos menores a los obtenidos con el compost y el bocashi, aunque siempre mostró las mayores biomásas microbianas. Esto sugiere una respuesta diferencial, los microorganismos son capaces de responder a dosis más altas de nutrientes, mientras que las plantas, por limitaciones fisiológicas, no responden a niveles altos. Hay que recordar que el objetivo de este trabajo no era la dosificación *per se* de los abonos orgánicos en el campo sino el establecer si existía una correlación con el bioensayo, y así legitimar la realización de nuevos trabajos que permitan establecer conclusivamente si éste es una herramienta

útil en establecer el valor nutricional de los abonos orgánicos y así ayudar a dosificarlos bajo condiciones de campo. Estudios adicionales con compost, obtenido a partir de fibra de racimos vacíos de palma africana, confirman la validez de esta metodología para estimar la disponibilidad de nutrientes a corto plazo en el campo (Segura et al. 2001).

Los resultados del bioensayo microbiano y el de plantas indicadoras puede no tener una relación lineal (como es sugerido en las Figuras 1 y 2) sino curvilínea. La relación lineal se presenta con abonos orgánicos que producen biomasa microbiana inferior a 5 mg de C. mic. y la curvilínea se presentaría con abonos que producen biomasa superior a 7 mg de C. mic., es decir con aquellos abonos de excelente calidad fertilizante, como la pollinaza que resultó un abono muy completo en cuanto al aporte de N y P, mientras que los demás abonos presentaron limitación de al menos uno de esos elementos (ver Salas y Ramírez 2001). Teniendo la pollinaza una alta concentración de nutrientes biológicamente disponibles, y de acuerdo a la evidencia suministrada, es probable que el nivel óptimo esté cercano al 5%. Con un 10% puede ocurrir consumo de lujo de nutrientes e incluso una disminución de la materia seca de las plantas. En todo caso, es de esperar que sea el abono que logre un balance nutricional de las plantas más sostenido en el tiempo y el bioensayo microbiano es capaz de sugerir dicho efecto.

La relación curvilínea no es tan evidente en las Figuras 1 y 2 por los motivos antes expuestos; sin embargo, es más evidente en Salas y Ramírez (2001) y fue sugerida también por Vandevivere y Ramírez (1995a).

A pesar que las bacterias utilizan de inmediato otras formas (orgánicas) de nutrientes no disponibles de igual manera para las plantas, la prueba tiene su fundamento en simular, mediante la adición de glucosa, el efecto rizosférico provocado por la exudación de sustratos orgánicos de fácil utilización para los microorganismos. La presencia de sustratos orgánicos en ambas instancias (bioensayo, rizosfera) potencian el crecimiento de los microorganismos (principalmente bacterias), los cuales inmovilizan los nutrientes

al incrementar su biomasa. Como en el caso de las bacterias rizosféricas, los nutrientes inmovilizados pueden estar disponibles a otros microorganismos y a las plantas durante su ciclo de crecimiento. Esto explica por qué la alta correlación entre el crecimiento de la biomasa microbiana y el de las plantas.

Por otro lado, las cantidades de nutrientes potencialmente disponibles que arrojan los análisis químicos, no necesariamente concuerdan con las cantidades utilizadas por los microorganismos. De ahí que el bioensayo tenga el potencial de expresar los nutrientes biológicamente disponibles tanto para los microorganismos, como eventualmente para las plantas, mediante su intermediación como anteriormente se explicó.

Por ejemplo, la pollinaza, el compost y el vermicompost presentaron los valores más altos de N según los análisis químicos (Cuadros 2 y 3); basados en estos resultados se podría esperar respuestas de las plantas semejantes con la aplicación de estos 3 abonos, pero el vermicompost no produjo buenas respuestas tanto en el PST y el PSC como en la BM.

El bioensayo microbiano no solo tiene el potencial de clasificar cualitativamente la calidad de los abonos orgánicos, también es posible obtener información cuantitativa. Las concentraciones de N, P y K en las bacterias son aproximadamente 6, 13 y 20 veces menores, respectivamente, que la concentración en C (Powlson et al. 1987, Brookes et al. 1984, Anderson y Domsch 1980). Si el carbono microbiano (Cmic) se divide entre estos valores se obtienen los mg de N, P o K biológicamente disponibles en 100 mg de abono. Las cifras podrían subestimarse si existe un elemento limitante pues el crecimiento microbiano, al igual que el crecimiento de las plantas, estaría en función de ese elemento limitante. Un estudio en este sentido fue realizado por los autores para determinar la disponibilidad de N o P en estos abonos mediante el bioensayo microbiano (Salas y Ramírez 2001). De esta forma el bioensayo puede guiar la fertilización de los cultivos con abonos orgánicos y su enmienda con abonos químicos si fuera necesario.

Como recomendación para estudios posteriores se sugiere ensayos con diferentes niveles

de abonos para calibrar, según resultados del bioensayo, las dosis a aplicar en el campo.

Para que la metodología de Vandevivere y Ramírez (1995b) pueda ser utilizada como análisis de rutina para predecir la disponibilidad de nutrientes en los abonos orgánicos a emplear en el campo, es necesario comparar sus resultados con los rendimientos de cosechas en diferentes cultivos sembrados bajo diferentes condiciones climáticas y edáficas, así se podrá dosificar el abono orgánico a dosis económicas y agrónomicamente eficientes.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo económico brindado por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT) y al Centro de Investigaciones en Protección de Cultivos (CIPROC) de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Costa Rica, por el uso de las instalaciones, materiales y equipo.

LITERATURA CITADA

- ABOPAC 1996. Análisis de mercado de fertilizantes y participación estimada de ABOPAC.
- ANDERSON J.P.E., DOMSCH K.H. 1978. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biol. Biochem.* 10:215-221.
- ANDERSON J.P.E., DOMSCH K.H. 1980. Quantities of plant nutrients in the microbial biomass of selected soils. *Soil Sci.* 130(4):211-216.
- BRICEÑO J.A., PACHECO R. 1984. Métodos analíticos para el estudio de suelos y plantas. Editorial de la Universidad de Costa Rica San José, Costa Rica. 152 p.
- BROOKES P.C., POWLSON D.S., JENKINSON, D.S. 1984. Phosphorus in the soil microbial biomass. *Soil Biol. Biochem.* 16:169-175.
- GOBIERNO DE COSTA RICA GTZ. 1991. Plan Nacional de Desechos de Costa Rica. San José, Costa Rica. 193 p.
- CHEN L., DICK W.A., STREETER J.G., HOITINK H.A.J. 1996. Ryegrass utilization of nutrients released from composted biosolids and cow manure. *Compost Science Utilization* 4(1):73-83.
- CHENG W., COLEMAN D.C. 1989. A simple method for measuring CO₂ in a continuous air-flow system: modifications to the substrate-induced respiration technique. *Soil Biol. Biochem.* 21:385-388.
- DICK W.A., McCO, E.L. 1993. Enhancing soil fertility by addition of compost. *In: Science and engineering of composting: Design, environmental, microbiological and utilization aspects.* Ed. by Harry A.J. Hoitink; Harold M. Keener. Ohio, EE.UU., Renaissance Publications. p. 622-644.
- EPSTEIN E. 1975. Effect of sewage sludge on some soil physical properties. *J. Environ. Qual.* 4(1):139-142.
- HAUG R.T. 1980. *Composting engineering: principles and practice.* Lancaster, Pensinsylvania. Technomics Publishing Co. 655 p.
- HOITINK H.A.J., ZHANG W., HAN D.Y., DICK W.A. 1997. Making compost to suppress plant disease. *BioCycle* April 40-42.
- MAYS D.A., TERMAN G.L., DUGGAN J.C. 1973. Municipal compost: effects on crop yields and soil properties. *J. Environ. Quality* 2(1):89-92.
- METZGER L. LEVANON, D. MINGELGRIN, U. 1987. The effect of sewage sludge on soil structural stability: Microbiological aspects. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 51:346-351.
- MURILLO T. 1999. Alternativas de uso para la gallinaza. *In: Memoria Recursos Naturales y Producción Animal. III Congreso Nacional de Suelos. Volumen III.* San José, Costa Rica. EUNED. p. 427-436.
- NORTHEAST REGIONAL AGRICULTURAL ENGINEERING SERVICE (NRAES). 1992. *On-farm composting handbook.* Ed. Robert Rynk. Cooperative Extension, Ithaca, New York.
- POWLSON D.S. BROOKES P.C., CHRISTENSEN, B.T. 1987. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. *Soil Biol. and Biochem.* 19:159-164.
- RUSCH H.P. 1968. *Bodenfruchtbarkeit; eine studie biologischen denkens.* Karl F. Haug Verlag, Heidelberg.
- SALAS E., RAMIREZ C. 2001. Determinación de la disponibilidad de N y P en abonos orgánicos mediante la técnica del elemento faltante de invernadero

- y un bioensayo microbiano. *Agronomía Costarricense*. 25(2):25-34.
- SEGURA M., RAMIREZ C., CHINCHILLA C., TORRES R. 2001. Use of two bioassays to estimate the residual effect and nutritional value of a compost made from oil palm (*Elaeis guinensis* Jacq.) empty fruit bunches. *ASD Oil Palm Research Papers* (Costa Rica), No. 22, 1-11.
- SERRA-WITTLING C., HOUOT S., ALABOUVETTE C., 1996. Increased soil suppressiveness to *Fusarium* wilt of flax after addition of municipal solid waste compost. *Soil Biol. Biochem.* 28(9):1207-1214.
- TESTER C.F., 1989. Tall fescue growth in greenhouse, growth chamber, and field plots amended with sewage sludge compost and fertilizer. *Soil Science* 148(6):452-458.
- TESTER C.F., 1990. Organic amendment effects on physical and chemical properties of a sandy soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 54:827-831.
- VANDEVIVERE P., RAMIREZ C. 1995a. Control de calidad de abonos orgánicos por medio de bioensayos. *In: Simposio Centroamericano Sobre Agricultura Orgánica*. Ed. por J.A. García, J.M. Nájera. UNED, San José, Costa Rica. p. 121-140.
- VANDEVIVERE P., RAMIREZ C. 1995b. Bioensayo microbiano para determinar los nutrientes disponibles en abonos orgánicos. *Boltec* 28(2):90-96.
- VOLAND R.P., EPSTEIN A.H. 1994. Development of suppressiveness to diseases caused by *Rhizoctonia solani* in soils amended with composted and noncomposted manure. *Plant Dis.* 78:461-466.
- WAKSMAN S.A., R.L. STARKEY. 1924. Microbiological analysis of soil as an index of soil fertility: VII. Carbon dioxide evolution. *Soil Sci.* 17:141-161.
- WARNCKE D.D., KRAUSKOPF D.M. 1983. Greenhouse growth media: testing and nutrition guidelines. Michigan State University, Cooperative Extension Service Bulletin E-1736.