

Ha
2(1)

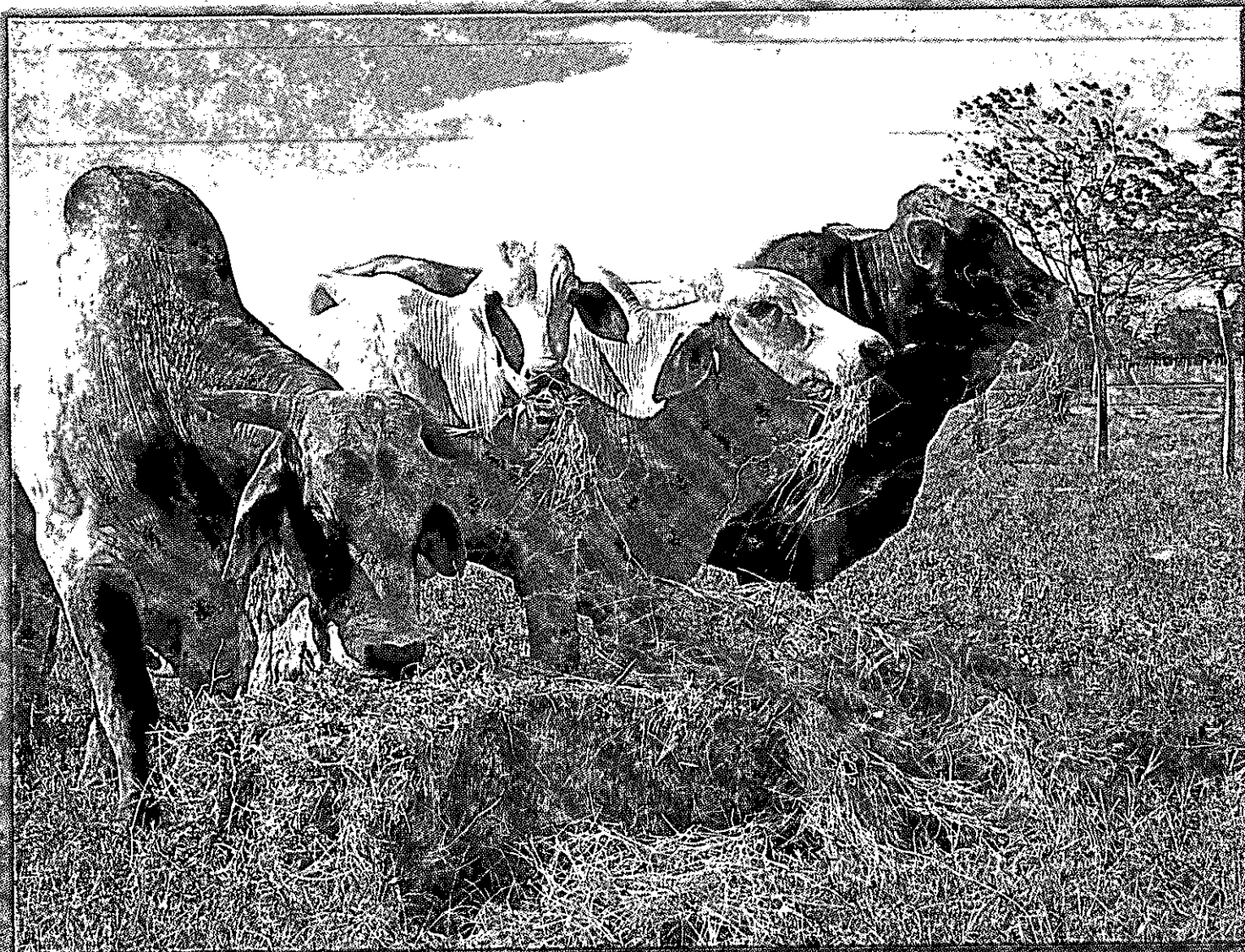
ALCANCES TECNOLÓGICOS

REVISTA DEL INSTITUTO NACIONAL DE INNOVACIÓN Y TRANSFERENCIA EN TECNOLOGÍA AGROPECUARIA

AÑO 2

NÚMERO 1

2004



Instituto Nacional de Innovación y Transferencia
en Tecnología Agropecuaria - Costa Rica

Hacia una investigación comprometida



Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria

El Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria-INTA-, es un órgano de desconcentración máxima, creado por Ley N. 8149 el 5 de noviembre del 2001, adscrito al Ministerio de Agricultura y Ganadería y especializado en investigación.

Programas Estratégicos del INTA

Programa Agroambiente

Objetivo: Generar, innovar y transferir tecnologías orientadas al uso, manejo y conservación de los recursos naturales.

Estrategia: Este programa se desarrollará bajo el enfoque de cuencas hidrográficas, como unidades territoriales para la acción en temas de trabajo como: ordenamiento territorial, tecnologías para sistemas de producción agroforestal, calidad y cantidad del recurso hídrico, rescate y conservación de áreas intervenidas y recurso energético.

Subprogramas:

- Desarrollo Agroforestal
- Uso y manejo racional de tierras y aguas

Programa Agricultura Empresarial y Estratégica

Objetivo: Generar, innovar y transferir tecnologías que favorezcan la competitividad de las actividades productivas de escala comercial y potencial; así como desarrollar y transferir tecnologías que mejoren la productividad en productos estratégicos.

Estrategia: Se atenderá la demanda por tecnología en rubros definidos como estratégicos, importantes para la alimentación y nutrición de la población costarricense. Así como apoyar el mejoramiento de la competitividad en actividades intensivas en el uso de tecnología, capital e insumos que se encuentran en manos de empresarios, por medio de atención a demandas puntuales.

Subprogramas:

- Agricultura Empresarial
- Seguridad Alimentaria

Programa Sistemas Integrados

Objetivo: Innovar y transferir tecnologías para los sistemas productivos bajo la perspectiva de fincas integrales en el nivel de microcuenca, que contribuyan con el mejoramiento del ingreso y generación de empleo de los productores.

Estrategia: Como estrategia, las innovaciones se orientarán hacia los sistemas productivos integrados que permitan el mejor uso de los recursos naturales, humanos y financieros, procurando la generación de productos de calidad de alto valor nutritivo que mejoren

la dieta del productor y su familia; así como, mayor valor agregado, buen precio y mercado.

Subprograma:

- Sistemas Integrados de Producción.

Programa de Desarrollo Institucional

Objetivo: Fortalecer el INTA en sus áreas de trabajo y acciones estratégicas para potenciar su desarrollo institucional.

Componentes:

- Sistemas de Información Gerencial
- Desarrollo del Talento Humano
- Actualización de Infraestructura y Equipo
- Desarrollo de Productos y Prestación de Servicios

Operatividad de los Programas y Subprogramas

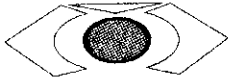
La unidad operativa de los Programas y Subprogramas serán los proyectos integrales y multidisciplinarios, los cuales se ejecutarán en conjunto con los actores relevantes e interesados de la agrocadena, principalmente hacia los grupos organizados; y además, deberán propiciar el trabajo en equipo y la correspondiente transferencia de tecnología.

Estos proyectos tienen como ejes transversales la sostenibilidad de los sistemas productivos, la inocuidad de los productos agropecuarios, la igualdad de oportunidades y beneficios de los productores y productoras, la transferencia de la tecnología, el seguimiento y la evaluación.

Dependencias del INTA con sus correos electrónicos

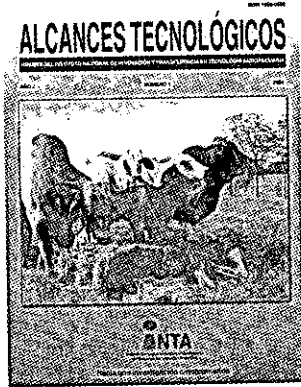
Junta Directiva -jdinta@inta.go.cr
Auditoría -auditoria@inta.go.cr
Dirección Ejecutiva -deinta@inta.go.cr; adeinta@inta.go.cr
Planificación institucional -planificación@inta.go.cr
Dirección Investigación y Desarrollo Tecnológico -didtinta@inta.go.cr
Dirección Gestión Proyectos y Recursos -dgprinta@inta.go.cr
Dirección Administrativa Financiera -dafinta@inta.go.cr
Departamento Investigación e Innovación -investigacion@inta.go.cr
Departamento Transferencia e Información Tecnológica -transferencia@inta.go.cr
Departamento Servicios Técnicos -sertecnicos@inta.go.cr
Departamento Formulación y Negociación de Proyectos y Recursos -forproyectos@inta.go.cr
Departamento Seguimiento y Evaluación de Proyectos -segproyectos@inta.go.cr
Departamento Administración de Recursos -adrecursos@inta.go.cr
Departamento Servicios Generales -sergenerales@inta.go.cr
Servidor Web INTA -webinta@inta.go.cr

Web INTA (www.inta.go.cr)



INTA

Instituto Nacional de Innovación y Transferencia
en Tecnología Agropecuaria - Costa Rica



ALCANCES TECNOLÓGICOS es la revista semestral del Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria

ISSN-1659-0538

Año 2 / Número 1 / 2004

Comité Editorial:

Dr. Diógenes Cubero
MSc. Carlos Hidalgo
MSc. Alfredo Bolaños
MSc. Jorge Mora
MSc. Juan Mora
Ing. Laura Ramírez
Ing. María de los Ángeles Aguilar

Editoras:

Ing. María de los Angeles Aguilar
Ing. Laura Ramírez Cartín

Portada:

Desarrollo de la producción de heno de alta calidad en Guanacaste, Costa Rica. Noviembre, 2003

Fotografías:

Dr. Jorge Morales González

Diseño gráfico:

Meliza Villegas Alpizar

Impresión:

Imprenta Nacional



SISTEMA UNIFICADO DE INFORMACIÓN TECNOLÓGICA

INDICE

ARTÍCULOS

Evaluación de gramíneas de piso de clima frío en Oreamuno de Cartago. William Sánchez, María Mesén	1 ✓
Evaluación de gramíneas de los géneros <i>Lolium</i> y <i>Festuca</i> en la zona alta lechera del cantón de Oreamuno de Cartago, Costa Rica. María Mesén, William Sánchez	7 ✓
Efecto de la micorrizosfera en el desarrollo de dos plantas forrajeras. Susana Schweizer, Eduardo Salas, Rocío Bejarano, Marco Vinicio Castro, Beatriz Sandoval	13 ✓
Efecto de la inoculación con micorrizas arbusculares (MA) y sustratos de siembra sobre el desarrollo y contenido de N y P en plantas de <i>Cratylia argentea</i> . Susana Schweizer, Eduardo Salas, Rocío Bejarano, Marco Vinicio Castro	23 ✓
Caracterización de abonos orgánicos utilizando técnicas físicas, químicas y biológicas. Susana Schweizer, Eduardo Salas, Alexis Vargas	31 ✓
Control biológico de <i>Rosellinia bunodes</i> en helecho hoja de cuero (<i>Rumohra adiantiformis</i>), con el hongo <i>Trichoderma lignorum</i> . Bernardo Mora, José Arturo Solórzano	43 ✓
Acondicionamiento térmico de Lima Mesina (<i>Citrus latifolia</i> Tan.): cualidades del fruto durante almacenamiento refrigerado. Francisco Marín, Sergio Hernández, Sandra Saborío	51 ✓
Empaques para el almacenamiento refrigerado de Lima Mesina (<i>Citrus latifolia</i> Tan) para mercado local en Costa Rica. Francisco Marín, Sergio Hernández, Sandra Saborío	59 ✓
NOTAS TÉCNICAS	
Comportamiento de gramíneas herbáceas de uso potencial en sistemas de producción de leche de altura. María Mesén, William Sánchez	67 ✓
ANÁLISIS Y COMENTARIOS	
Propiedad Intelectual y organismos vivos. Silvia Salazar	75 ✓
Manejo integrado de la broca del café (<i>Hypothenemus hampei</i>). Jorge Mora	85 ✓
Normativa y procedimientos para la publicación de artículos científicos en la Revista del INTA	91

E - OCT. 2004

EVALUACIÓN DE GRAMÍNEAS DE PISO DE CLIMA FRÍO EN OREAMUNO DE CARTAGO

William Sánchez¹, María Mesén¹

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar la adaptación, producción y valor nutritivo de seis *Lolium*, dos *Festucas*, dos *Dactylis* y dos *Phalaris*, y compararlos con el *Lolium hybridum* cultivar Tetrelite utilizado como testigo local, se realizó un estudio en San Juan de Chicué de Oreamuno de Cartago durante 1996 y 1997. El sitio se ubica a 2.864 msnm, donde con una temperatura y precipitación promedio anual de 12 °C y 2.198 mm, respectivamente, predomina el Bosque muy Húmedo Montano. Se trabajó con un diseño de bloques completos al azar con arreglo de parcelas divididas en el tiempo y tres repeticiones, realizando un análisis de varianza con la altura de la planta, cobertura, incidencia de Roya (*Puccinia* sp.), producción de materia seca y proteína cruda. En el estudio sobrevivieron únicamente los *L. perenne* (Aberelite y Nui), *L. hybridum* (Bison y Tetrelite), *F. arundinacea* (Fawn y Manade) y *D. glomerata* (Potamat). Los cultivares presentaron diferencias significativas en altura ($P \leq 0,003$), indicando la prueba de medias que el *L. hybridum* cultivar Bison, alcanzó mayor altura (39,4 cm) que el testigo local (35,5 cm), mientras que el *L. perenne* (Nui) y la *F. arundinacea* (Manade) fueron los de menor crecimiento (30 cm). La cobertura no presentó diferencias significativas entre variedades ($P \leq 0,064$), mientras que la incidencia de Roya (*Puccinia* sp) fue altamente significativa entre variedades ($P \leq 0,0001$), indicando la prueba de medias que los *L. multiflorum* (Grazer y Tama) son altamente susceptibles y los *L. hybridum* (Bison y Tetrelite) moderadamente, mientras que las *Festucas*, *D. glomeratas* y *Phalaris* sp. los más tolerantes al ataque del hongo. La producción de materia seca ($P \leq 0,083$) y proteína cruda ($P \leq 0,234$) no presentaron diferencias significativas entre variedades, sin embargo, el *L. hybridum* cultivar Bison, produjo 2,95 y 0,192 t/ha/año más de materia seca y proteína cruda, respectivamente, que el testigo local. Por esta razón, se recomienda realizar estudios de pastoreo en comparación con el Tetrelite como testigo local.

INTRODUCCIÓN

Dentro de las actividades agropecuarias que se desarrollan en Costa Rica, la ganadería de leche es una de las de mayor importancia socioeconómica, ya que logra no sólo abastecer la demanda interna, sino que también genera empleo y divisas provenientes de las exportaciones, sin embargo, ante la eventualidad de tratados del libre comercio de este país con otras naciones, aunado a los altos

costos de producción, se cuestiona la sostenibilidad de dicha actividad.

La producción de leche depende en gran medida de la disponibilidad y calidad de los alimentos suministrados al hato durante todo el año. En Costa Rica, la alimentación en lecherías de altura se ha basado principalmente en la utilización de forrajes, predominando el *Lolium hybridum* variedad Tetrelite en las fincas ubicadas entre los 2.200 a 3.200 msnm, sin

¹ Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria (INTA), Costa Rica.

embargo, durante la época seca la disponibilidad y calidad de las pasturas disminuyen considerablemente, situación que, en conjunto con los requerimientos nutricionales de los animales, ha obligado a los productores a utilizar alimentos concentrados.

Consecuentemente, la demanda creciente de granos para la alimentación humana, la escasez y el alto costo de los mismos, dejan en duda el beneficio económico y la sostenibilidad de esta práctica alimenticia.

Considerando que los forrajes son las fuentes de alimentación más baratos utilizados en las lecherías y ante la situación citada, se hace necesario buscar nuevas fuentes forrajeras que permitan disminuir los costos de producción e incrementar la producción por unidad de área, lo que permitirá al sector lechero competir tanto en el mercado nacional como en el internacional. Por tal razón, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la adaptación, producción y valor nutritivo de seis *Lolium*, dos *Festuca*, dos *Dactylis* y dos *Phalaris*, comparándolos con el *Lolium hybridum* cultivar Tetrelite utilizado como gramínea de piso en la zona.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en una finca ubicada en la localidad de San Juan de Chicué, Cartago, a 2.864 msnm, predominando el Bosque Muy Húmedo Montano. La temperatura, precipitación y humedad relativa promedio anual es de 12 °C, 2.198 mm y 85%, respectivamente. En el estudio se evaluaron dos *Lolium multiflorum* (Grazer y Tama), tres *Lolium perenne* (Aberelán, Aberelite y Nui), dos *Lolium hybridum* (Bison y Tetrelite), dos *Festuca arundinacea* (Fawn y Manade), dos *Dactylis glomerata* (Currie y Potamat) y dos *Phalaris sp.* (Sirolán y Sirosa).

Los *L. multiflorum* son especies diploides, anuales de crecimiento erecto que alcanzan hasta 90 cm de altura, mientras que los *L. perenne* son de crecimiento erecto, diploides y perennes, los cuales miden hasta 30 cm me-

nos que los anuales. Los *L. hybridum* son tetraploides (*L. multiflorum* x *L. perenne*), por lo que presenta características intermedias (Bernal 1991). Por otra parte, Bernal (1992) y Argüelles (1992), coinciden en que estos *Lolium* se adaptan desde los 2.200 a 3.200 msnm.

Las *Festucas* son gramíneas perennes, de crecimiento erecto, con tallos que pueden alcanzar hasta 1,3 m de altura. Se adapta desde los 1.800 a 3.200 msnm. Los *Dactylis* son perennes y robustos, sus tallos pueden medir hasta 1,2 m de altura, resiste la sequía y se adaptan desde los 1.500 a 3.100 msnm. El *Phalaris spp.* es perenne y de crecimiento erecto, con raíces profundas y con tallos que alcanzan hasta 2 m de altura, se utiliza para corte, pastoreo, heno o ensilado, adaptándose desde 1.800 a 3.000 msnm (Bernal 1991).

Según Argüelles (1992), el *L. hybridum* (Tetrelite) es de crecimiento erecto y puede llegar a alcanzar hasta un metro de altura. Se adapta desde los 2.200 a 3.200 msnm.

El suelo utilizado es de origen volcánico y pertenece al orden de los Andisoles, (Bertsch 1995). Según el análisis químico, el pH (6,1) y el contenido de Al (0,2) son óptimos, por lo que el porcentaje de acidez (1,25) es muy inferior al 25% que según Borel (1981) toleran las gramíneas. Los contenidos de Ca, Mg y K se encuentran dentro del rango adecuado, así mismo sus relaciones (Bertsch 1987).

La preparación del terreno fue mecánica, mediante una arada y dos rastreadas, surcando a 0,5 m entre hileras. La siembra se realizó el 30 de agosto de 1996, utilizando una densidad de 15, 6, 6 y 4 kg de semilla pura germinable por hectárea (S.P.G./ha) para los *Lolium*, *Festuca*, *Dactylis* y *Phalaris*, respectivamente, mientras que el *L. hybridum* variedad Tetrelite, se propagó en forma vegetativa. Durante el primer año, el programa de fertilización utilizado fue de 100, 50, 50, 20 y 20 kg/ha de N, P₂O₅, K₂O, MgO y S, respectivamente. El fósforo, magnesio y azufre se aplicaron al momento de la siembra, mientras que la dosis de nitrógeno y potasio se fraccionaron en tres

partes iguales; la primera a las cuatro semanas después de la siembra, la segunda 10 semanas después y la última al momento del corte de uniformidad. Para el segundo año, en el que se efectuaron las evaluaciones agronómicas, se aplicaron 100, 70, 200, 50 y 20 kg/ha de N, P₂O₅, K₂O, MgO y S, respectivamente, distribuidos en siete aplicaciones, una después de cada corte.

El corte fue manual a 10 cm de altura cada 42 días, durante un período experimental de un año. Se cosechó 0,25 m² en la parte central de cada parcela, formando una muestra compuesta con material de las tres repeticiones por cultivar, a la cual se le determinó el contenido de materia seca y proteína cruda. En total se realizaron siete cortes, cuatro y tres durante la época de máxima y mínima precipitación, respectivamente.

Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con arreglo de parcelas divididas en el tiempo, donde los cultivos distribuidos en la parcela grande constituyen el factor A y las mediciones repetidas en el tiempo el factor B. La unidad experimental fue la parcela de 6 m², conformada por tres hileras de tres metros de largo y distanciadas a 0,5 metros entre sí. Los tratamientos correspondieron a los diferentes cultivos, utilizando el *L. hybridum* (Tetrelite) como testigo local. Se evaluaron variables: altura de la planta, cobertura de la planta, incidencia de insectos y enfermedades (Toledo y Schuttze-Kraft 1982, Calderón 1982 y Lanne 1982), producción de materia seca y contenido de proteína cruda. Los datos se sometieron a un análisis de varianza, y en los casos que la fuente de variación fuera significativa ($P \leq 0,05$), se procedió a realizar una prueba de Walker/Duncan (5%) para la comparación de medias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De todas las especies estudiadas, las únicas que lograron persistir durante el año de evaluación fueron los *L. perenne* (Aberelite y Nui), los *L. hybridum* (Bison y Tetrelite), las *F. arundinacea* (Fawn y Manade) y el *D. glome-*

rata (Potamat). El resto no se adaptaron a las condiciones edafoclimáticas de la zona, las cuales fueron afectadas severamente por la Roya (*Puccinia sp.*), el Trébol (*Trifolium perenne*) como maleza y por la sequía.

Altura

Como se observa en el Cuadro 1, en promedio ninguna de las especies superó los 40 cm de altura, mostrando el análisis de varianza diferencias significativas entre variedades ($P > 0,003$), e indicando la prueba de medias que el *L. hybridum* (Bison) fue la especie que alcanzó la mayor altura (39,4 cm) y el *L. perenne* (Nui) y la *F. arundinacea* (Manade) los menores crecimientos (30 cm), mientras que el testigo local (Tetrelite), alcanzó una altura intermedia (35,5).

Cuadro 1. Altura y cobertura promedio a los 42 días de crecimiento.

Especie	Altura, cm	Cobertura, %
<i>L. hybridum</i> (Bison)	39,4 a	80,0
<i>L. perenne</i> (Aberelite)	36,4 b	70,3
<i>D. glomerata</i> (Potamat)	35,6 bc	74,8
<i>L. hybridum</i> (Tetrelite)	35,5 bc	78,1
<i>F. arundinacea</i> (Fawn)	33,4 c	64,1
<i>L. perenne</i> (Nui)	30,5 d	64,0
<i>F. arundinacea</i> (Manade)	29,7 d	64,1

Nota: Letras iguales no difieren entre sí ($P > 0,05$).

Cobertura

En cuanto a cobertura, no se encontró significancia entre variedades ($P > 0,064$), sin embargo, el *L. hybridum* cultivar Bison, presentó mayor cobertura (80%) que el testigo local (78,1), mientras que al igual que en el caso de la altura, el *L. perenne* Nui y las Festucas, alcanzaron los menores valores (64%).

Daños por insectos y enfermedades

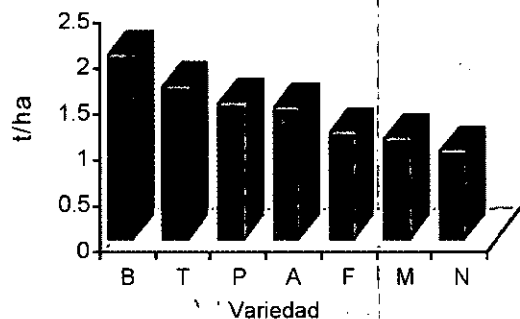
El único insecto que se presentó fue la *Aulocarthum solani* (Collarea), ocasionando

un daño leve (5% plantas afectadas), principalmente sobre el *L. perenne* (Aberelite), *L. multiflorum* (Tama), los *L. hybridum* (Bison y Tetrelite) y *Phalaris* spp. (Potamat y Currie).

En cuanto a enfermedades, el hongo *Puccinia* sp. (Roya) se presentó en todas los cultivares, sin embargo, el grado de tolerancia fue altamente significativo ($P > 0,0001$), indicando la prueba de medias que los *L. multiflorum* anuales (Grazer y Tama), fueron los más susceptibles (más 40% plantas afectadas) y por consiguiente, destruidos por dicha enfermedad después del tercer corte. En los *L. hybridum* (Bison y Tetrelite) el daño fue moderado (5 al 20% de plantas afectadas), mientras que los cultivares de los géneros *Festucas*, *Dactylis* y *Phalaris* presentaron un daño leve (5% plantas afectadas).

Producción de materia seca

En cuanto a la producción de materia seca (Figura 1), no se encontró diferencias significativas entre variedades ($P > 0,083$), sin embargo, el *L. hybridum* cultivar Bison (2,01) produjo más materia seca por hectárea/corte que el testigo local (1,67), mientras que el *L. perenne* cultivar Nui, alcanzó el menor rendimiento (0,98).



Variedad: B: Bison T: Tetrelite P: Potamat
A: Aberelite F: Fawn M: Manade N: Nui

Figura 1: Producción promedio de materia seca cada 45 días según variedad.

Según lo anterior, y con un promedio de 8,7 cortes por año, el *L. hybridum* (Bison) produjo tres, cuatro y cinco toneladas más de materia seca por ha/año que el Tetrelite (testigo), Potamat y Aberelite, respectivamente, sus más cercanos seguidores.

Por otra parte, se determinó que a pesar de que el Potamat produce 358 kg más de MS por ha/año que el Aberelite, el último presentó mejor comportamiento durante la época seca, ya que produjo 610 kg más de MS por ha durante dicha época.

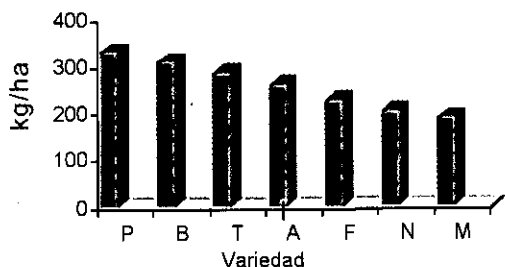
Proteína cruda

Como se observa en el Cuadro 2, durante el período de evaluación, el *D. glomerata* (Potamat) y el *L. hybridum* (Tetralite), fueron las especies que presentaron los mayores contenidos de proteína cruda durante la máxima precipitación, sin embargo, en el mismo orden, el contenido de dicho nutriente decayó 4,4 y 6,5 unidades porcentuales durante la época seca, mientras que las *F. arundinacea* (Fawn y Manade), redujeron únicamente en 0,7 unidades en dicho cambio de época.

Por otra parte, ninguna de las especies analizadas presentó valores de proteína cruda inferiores a 13%, situación que podría permitir reducir el suministro de concentrado durante las etapas de menor exigencia de dicho nutriente.

Cuadro 2. Porcentaje de proteína cruda promedio durante máxima y mínima precipitación.

Especie	Proteína cruda	
	Máxima Precip.	Mínima Precip.
<i>L. hybridum</i> (Bison)	16,8	15,3
<i>L. hybridum</i> (Tetrelite)	19,6	13,1
<i>D. glomerata</i> (Potamat)	21,8	17,4
<i>L. perenne</i> (Aberelite)	18,4	14,6
<i>F. arundinacea</i> (Fawn)	18,2	17,6
<i>F. arundinacea</i> (Manade)	16,6	15,9
<i>L. perenne</i> (Nui)	18,6	16,9



Variaciones: P: Potamat B: Bison T: Tetrelite
A: Aberelite F: Fawn N: Nui M: Manade

Figura 2: Producción promedio de proteína cruda por ha/corte/año.

En cuanto a la producción de proteína cruda por ha/año, no se encontró diferencias significativas entre variedades ($P < 0,234$), sin embargo, el *D. glomerata* cultivar Potamat (329 kg/ha/año) y el *L. hybridum* cultivar Bison (307 kg/ha/año), produjeron más que el Tetrelite (285 kg/ha/año), mientras el *L. perenne* (Nui) y la *F. arundinacea* (Marade) alcanzaron los menores rendimientos (185 kg/ha/año).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Considerando las condiciones bajo las cuales se llevó a cabo el presente estudio y los resultados obtenidos, es posible formular las siguientes conclusiones y recomendaciones.

En cuanto a producción de materia seca y proteína cruda, no se encontró diferencias significativas entre variedades, sin embargo, el *Lolium hybridum* cultivar Bison, produjo 2,95 y 0,192 t/ha/año más de materia seca y proteína cruda que el *Lolium hybridum* cultivar Tetrelite, situación que lo califica como posible sustituto del testigo local.

Los *L. multiflorum* (Grazer y Tama), son variedades altamente susceptibles al hongo de la Roya (*Puccinia sp.*), mientras que el testigo local (Tetrelite), al igual que el cultivar Bison, presentaron susceptibilidad moderada,

los cuales fueron superados, con daños leves por las *Festucas*, *Dactylis* y *Phalaris*.

Para futuros proyectos de investigación con gramíneas de piso, tanto en el campo agronómico como zootécnico, las especies seleccionadas deben ser, preferiblemente, de crecimiento decumbente, con buena capacidad de cobertura, altura y de alta calidad y producción de materia seca, con tolerancia a la Roya y de fácil propagación.

Se recomienda realizar estudios de pastoreo con el *L. hybridum* (Bison) y *L. perenne* (Aberelite), comparándolos con el *L. hybridum* (Tetrelite).

AGRADECIMIENTO

Los autores manifiestan su agradecimiento al señor Noré Gómez, a la ingeniera Beatriz Molina, a los ingenieros Luis Villegas y Milton Gutierrez, así como a la Cooperativa de Productores de Leche R.L., al Departamento Pecuario (MAG) y a la empresa Servicios Científicos Agropecuarios.

LITERATURA CITADA

- Argüelles, G. 1992. Pasto tetralitre. In: Pastos y forrajes para Colombia. Bogotá, Colombia. p. 103-105.
- Bernal, J. 1991. Pastos y forrajes tropicales, producción y manejo. In: Banco Ganadero. Bogotá, Colombia. p. 412-445.
- _____ 1992. Algunas características agronómicas de los Raigrases. In: Banco Ganadero. Bogotá, Colombia. p. 95-101.
- Bertsch, F. 1995. La fertilidad de los suelos y su manejo. Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo. San José, Costa Rica. p. 21-22.
- _____ 1987. Manual para interpretar la fertilidad de los suelos de Costa Rica. Universidad de Costa Rica. Comunicación Agrícola. Costa Rica. 78 p.

- Borel, R. 1981. Uso de los fertilizantes en pasturas. *In: Compendio de producción y utilización de forrajes en el trópico*. CATIE. Serie Materiales de Enseñanza No 10. Costa Rica. p. 58-69.
- Calderón, M. 1982. Evaluación del daño causado por insectos. *In: Toledo, J.M. (ed.). Manual para la evaluación agronómica*. Red Internacional de Evaluación de Pastos Tropicales (RIEPT) CIAT, Cali, Colombia. p. 57-72.
- Lenne, J. 1982. Evaluación de enfermedades en pastos tropicales en el área de actuación. *In: Toledo, J.M. (ed.). Manual para la evaluación agronómica*. Red Internacional de Evaluación de Pastos Tropicales (RIEPT), CIAT, Cali, Colombia. p. 45-55.
- Toledo, J; Schultze-Kraft, R. 1982. Metodología para la evaluación agronómica de pastos tropicales. *In: Manual para la evaluación agronómica*. Red Internacional de Pastos Tropicales. CIAT. Colombia. p. 91-109.

EVALUACIÓN DE GRAMÍNEAS DE LOS GÉNEROS *Lolium* Y *Festuca* EN LA ZONA ALTA LECHERA DEL CANTÓN DE OREAMUNO DE CARTAGO, COSTA RICA

María Mesén¹, William Sánchez¹

RESUMEN

El presente estudio se realizó en San Juan de Chicué, distrito Potrero Cerrado, Cantón Oreamuno, provincia Cartago. La altitud es de 2.964 msnm y la temperatura y precipitación promedio anual son de 12,0 °C y 1.821 mm, respectivamente. El objetivo fue evaluar el comportamiento de una gramínea del género *Festuca* y tres del género *Lolium* con el *Lolium hybridum*, Tetrelite como testigo local. El diseño experimental utilizado fue de bloques completos al azar con arreglo de parcelas divididas. En cuanto a la variable cobertura, se encontró que hubo diferencias entre cultivares ($P \leq 0,01$) y entre cortes ($P \leq 0,0001$). También fue significativa la interacción bloque+cultivar ($P \leq 0,01$). No se encontró diferencias entre bloques ($P \leq 0,10$) ni fue significativa la interacción cultivar+corte ($P \leq 0,28$). Para los valores de altura, se encontró diferencias entre cultivares, cortes y bloques, también fue significativa la interacción bloque+cultivar ($P \leq 0,001$, $P \leq 0,001$, $P \leq 0,003$ y $P \leq 0,05$) respectivamente. No fue significativa la interacción cultivar+corte ($P \leq 0,13$). La única enfermedad que se presentó fue la *Puccinia* sp (5-20% del follaje afectado) demostrando no existir diferencias entre cultivares ($P \leq 0,14$). En cuanto a la producción de biomasa en base seca, el análisis de varianza demuestra que hay diferencias entre bloques y cortes y fue significativa la interacción bloque+cultivar ($P \leq 0,01$, $P \leq 0,0001$ y $P \leq 0,007$) respectivamente. No se encontró diferencias entre cultivares ($P \leq 0,9$), ni fue significativa la interacción cultivar+corte ($P \leq 0,7$). Se concluye que de acuerdo a la producción de biomasa en base seca, y a la calidad nutritiva de los cultivares evaluados, ninguno supera el testigo local (*Lolium hybridum*, Tetrelite). Se debe continuar investigando con cultivares de mayor potencial productivo.

INTRODUCCIÓN

Una de las actividades agropecuarias de mayor importancia en Costa Rica es la ganadería bovina de leche, la cual depende en gran medida de los forrajes.

En la zona alta lechera del cantón de Oreamuno dedicada a la ganadería de leche, el *Lolium hybridum*, Tetrelite es el principal forraje utilizado en la alimentación de los animales. Sin embargo son muy pocas las fincas

que lo utilizan ya que se adapta a una zona climática muy restringida.

Las especies del género *Lolium*, *L. multiflorum*, *L. perenne* y *L. hybridum* conjuntamente con las del género *Festuca*, son forrajes de alto rendimiento y valor nutritivo y se adaptan a alturas superiores a 2.200 msnm y a temperaturas no mayores a 22°C (Bernal 1991).

Por lo anteriormente mencionado, se pretende evaluar algunas gramíneas de los

¹ Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria (INTA). Costa Rica.

géneros *Lolium* y *Festuca* de uso potencial en sistemas de producción de leche de altura.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se desarrolló en la finca de un productor de ganado de leche, ubicada en el distrito Potrero Cerrado, cantón Oreamuno, provincia Cartago, a 83° 53' 30" longitud oeste y a 9° 57' latitud norte. La topografía de la finca es irregular; la altitud es de 2.964 msnm, la temperatura y precipitación promedio anual son de 12,0 °C y 1.821,2 mm respectivamente, con una humedad relativa de 85 %.

El terreno utilizado había sido cultivado anteriormente con forrajes de piso. Geomorfológicamente, el suelo es de origen volcánico y taxonómicamente corresponde al orden de los andisoles (Bertsch *et al.* 1993).

El suelo (Cuadro 1) tiene valores adecuados de pH y Aluminio, como consecuencia el porcentaje de acidez es 4,1. Borel (1981), menciona que los valores de acidez inferiores al 25 % son adecuados para gramíneas. Los contenidos de Ca, Mg, K, y las relaciones Ca/Mg y Ca/K se encuentran dentro del rango óptimo. El fósforo muestra un valor adecuado. Las relaciones Ca+Mg/K y Mg/K presentan un desbalance. En cuanto a los microelementos, los contenidos de Fe y Zn son altos, el Mn es bajo y el Cu está dentro del rango óptimo (Bertsch 1987).

La preparación del suelo fue mecánica, utilizando una arada, dos rastreadas y surcando cada 0,5 m.

Se utilizó material vegetativo de un ensayo establecido en la zona cinco meses antes, la semilla del ensayo inicial fue proporcionada por la Red de Pastos Andinos (REPAAN) (Cuadro 2). La metodología de evaluación que se utilizó fue una modificación de la propuesta por la Red Internacional de Evaluación de Pastos Tropicales (Toledo y Schultze-Kraft 1982).

La siembra se realizó el 9 de noviembre de 1995, y el período de muestreo finalizó el 18 de diciembre del año 1997.

Las características de los géneros utilizados son las siguientes:

Lolium

Género que tiene especies anuales (*L. multiflorum*) y perennes (*L. perenne*), y cruces de ambas (*L. multiflorum* x *L. perenne*). Las plantas se caracterizan por presentar tallos cortos y finos que encaman fácilmente, las hojas son estrechas, cortas, brillantes y muy flexibles (Gillet 1984). Se adaptan de 2.200 a 3.200 msnm (Bernal 1991 y 1992).

Festuca

La principal gramínea perteneciente a este género es la *F. arundinacea*, la cual es una planta perenne que se desarrolla formando macollas densas con hojas anchas y brillantes que endurecen al envejecer (Gillet 1984). Se adapta de 1.800 a 3.200 msnm (Bernal 1991).

Cuadro 1. Resultado del análisis de suelo antes de la siembra.

Meq/100ml					Ug/ml suelo					Textura suelo	Materia orgánica
pH	Al	Ca	Mg	K	P	Zn	Mn	Cu	Fe		
5,8	0,25	4,0	1,1	0,74	30,0	22,0	4,0	10,0	+100	Franco Arcilloso	9,64

Cuadro 2. Cultivares evaluados

Cultivar	Simbología	Procedencia
<i>Lolium multiflorum</i> , Multino	LMM	Holanda
<i>Festuca arundinacea</i> , Clarine	FAC	Francia
<i>Lolium multiflorum</i> , Tribunc	LMT	Holanda
<i>Lolium multiflorum</i> , Barspectra	LMB	Holanda
<i>Lolium híbridum</i> , Tetrelite	Testigo	Costa Rica

Descripción de la unidad experimental

Las unidades experimentales fueron parcelas de 9 m² con seis hileras de 3,0 m de largo y separadas entre sí por 0,5 m.

El diseño experimental utilizado fue de tres bloques completos al azar con arreglo de parcelas divididas.

Fertilización

Las dosis aplicadas fueron 100, 50, 50, 20 y 20 kg/ha de N, P₂O₅, K₂O, Mg y S respectivamente. El Fósforo, Magnesio y el Azufre se incorporaron al suelo en el momento de la siembra, el Nitrógeno y el Potasio se aplicaron fraccionados, con 1/3 de lo recomendado cuatro semanas después de la siembra, 1/3 después del corte de uniformización y el último tercio al cabo de dos cortes (Toledo y Schultze-Kraft 1982).

VARIABLES EVALUADAS

Cobertura

Esta variable se evaluó como porcentaje del área que no presenta suelo desnudo. Durante la fase de establecimiento estas mediciones se iniciaron a los 60 días, y luego cada 30 días. Cuando los pastos fueron sometidos al régimen de corte las evaluaciones de cobertura coincidieron con los muestreos de rendimiento. Para este propósito, se

utilizó la metodología propuesta por la RIEPT (Toledo y Schultze-Kraft 1982).

Altura

Se realizó con la misma frecuencia que la cobertura. Se midió desde el nivel del suelo hasta el punto más alto de la planta, sin estirarla y sin considerar la inflorescencia. Cuando las parcelas estuvieron sometidas al régimen de corte, también se hicieron estimaciones de altura de la planta (Toledo y Schultze-Kraft 1982).

Plagas (Insectos y enfermedades)

Se utilizó una escala de 1 a 4 en la cual:

- 1 = Presencia (5% del follaje afectado)
 - 2 = Daño leve (5-20% afectado)
 - 3 = Daño moderado (20-40 % afectado)
 - 4 = Daño grave (+ de 40% afectado)
- (Adaptado de Calderón 1982 y Lenné 1982)

Producción de Biomasa

El corte de uniformización se realizó al inicio de las lluvias, posteriormente se realizaron las evaluaciones cada seis semanas.

La altura de corte fue de aproximadamente 10 cm, utilizando un metro en la hilera central de cada parcela, dejando sin cortar los extremos, como efecto de borde (Roig 1989).

El material de un metro de la hilera central se pesó en verde y luego una sub-muestra de 500 g se llevó al laboratorio para la determinación del contenido de materia seca a 105 °C. También se determinó proteína cruda y digestibilidad *in vitro* de la materia seca.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante la fase de establecimiento, se realizaron cuatro evaluaciones (Cuadro 3), al inicio

Cuadro 3. Comportamiento de las gramíneas durante la fase de establecimiento.

Cultivar	Días de crecimiento								<i>Puccinia</i> sp. **
	60		90		120		150 *		
	Alt. (cm)	Cob. (%)	Alt. (cm)	Cob. (%)	Alt. (cm)	Cob. (%)	Alt. (cm)	Cob. (%)	
LMM	22	45	35	90	43	100	85	100	2
FAC	23	8	32	30	33	65	72	85	1
LMT	24	30	34	55	41	100	77	100	2
LMB	26	60	42	85	80	100	114	100	3
Testigo	27	30	40	85	80	100	100	100	2

Alt. = Altura Cob. = Cobertura

* Todos los cultivares iniciaron floración

** No se presentó en las evaluaciones anteriores.

de las lluvias, se llevó a cabo el corte de nivelación y luego las evaluaciones correspondientes.

cias entre bloques ($P \leq 0,10$), ni fue significativa la interacción cultivar*corte ($P \leq 0,28$).

Cobertura

En la fase de establecimiento, se observó que la *Festuca arundinacea*, Clarine fué la gramínea de menor cobertura durante todo el período, alcanzó únicamente el 85% a los 150 días. Todos los cultivares, alcanzaron el 100% de cobertura a los 120 días después del establecimiento (Cuadro 3).

Cuando los cultivares se sometieron a evaluación (Cuadro 4), el análisis de varianza para los valores de cobertura demuestra que hubo diferencias entre cultivares y entre cortes ($P \leq 0,01$ y $P \leq 0,0001$) respectivamente, también fue significativa la interacción bloque*cultivar ($P \leq 0,01$). No se encontró diferen-

Altura

Para los valores de altura se encontró diferencias entre cultivares, cortes, bloques y la interacción bloque*cultivar fue significativa ($P \leq 0,001$, $P \leq 0,001$, $P \leq 0,003$, $P \leq 0,05$) respectivamente. No fue significativa la interacción cultivar*corte ($P \leq 0,13$).

Plagas (Insectos y enfermedades)

Durante la fase de establecimiento, la única enfermedad que se presentó fue la *Puccinia* sp. (Cuadro 3), identificada por el Laboratorio de Protección de Cultivos del MAG. Esta enfermedad es causada por hongos Basidiomicetos,

Cuadro 4. Producción promedio, altura y cobertura de los cultivares durante el período de evaluación.

Cultivar	Época lluviosa			Época seca		
	Altura, cm	Cobertura, %	Materia, seca t/ha/corte	Altura, cm	Cobertura, %	Materia, seca t/ha/corte
LMM	76,50	90,00	4,68	64,33	80,00	2,39
FAC	61,10	90,00	3,60	55,33	70,00	2,42
LMT	69,00	94,00	4,83	56,33	70,00	2,17
LMB	84,70	87,00	4,73	64,83	66,00	1,80
Testigo	58,00	85,70	4,33	55,60	57,50	2,12

suborden Uredales, familia Pucciniaceae, parásitos de plantas diversas (Dominguez 1972).

Durante el período de corte, también se presentó la *Puccinia* sp en forma leve (5-20% del follaje afectado), demostrando no existir diferencias entre cultivares ni bloques, ni fue significativa la interacción bloque*cultivar ($P \leq 0,14$; $P \leq 0,96$; $P \leq 0,13$) respectivamente. Sin embargo sí hubo diferencias significativas entre cortes ($P \leq 0,0001$), lo cual se debió probablemente a efectos climáticos.

Producción de biomasa

Con los resultados de producción de biomasa en base seca (Cuadro 4), el análisis de varianza demuestra que hay diferencias entre bloques y cortes, y fue significativa la interacción bloque*cultivar ($P \leq 0,01$; $P \leq 0,0001$ y $P \leq 0,007$) respectivamente. No se encontró diferencias entre cultivares ($P \leq 0,9$), ni fue significativa la interacción cultivar*corte ($P \leq 0,7$).

Proteína cruda y digestibilidad *in vitro* de la materia seca

Debido a la escasez de presupuesto, se analizó únicamente el contenido nutricional del último corte de época seca (Cuadro 5).

En cuanto a la proteína cruda, se puede observar que los contenidos son muy similares entre sí, oscilaron entre 10,0 y 12,2%, siendo inferiores a 18,3 y 16,9% para *Lolium* sp y *Festuca* sp respectivamente. Mesén (Datos sin publicar).

Cuadro 5. Contenido de proteína cruda y digestibilidad *in vitro* de la materia seca.

Cultivar	Proteína cruda (%)	D.I.V.M.S. (%)
LMM	10,5	76,0
FAC	12,2	85,0
LMT	10,7	72,0
LMB	10,8	84,0
Testigo	10,0	71,0

Los valores de digestibilidad *in vitro* de la materia seca oscilaron entre 71,0 y 85,0% correspondiéndole el valor más alto a la *Festuca arundinacea*, Clarine y el menor al testigo (*Lolium hybridum* Tetrelite), valores similares fueron encontrados por Mesén (Datos sin publicar).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Teniendo en consideración las condiciones bajo las cuales se llevó a cabo el ensayo, se pueden formular las siguientes conclusiones y recomendaciones:

En cuanto a la producción de biomasa, los nuevos cultivares presentaron valores similares al testigo (*Lolium hybridum*, Tetrelite).

No se debe sustituir al testigo (*Lolium hybridum*, Tetrelite) por ninguno de los nuevos cultivares.

La Roya (*Puccinia* sp) se presentó en forma leve (5-20%) del follaje afectado en todos los cultivares.

AGRADECIMIENTO

Al Doctor Danilo Pezo Q. y a los Ingenieros Luis Villegas Z. y Beatriz Molina B. por su valiosa colaboración en el desarrollo del presente trabajo.

LITERATURA CITADA

- Bernal, J. 1991. Pastos y forrajes tropicales. Editorial Banco Ganadero. 2da. Edición. Colombia. p. 273.
- _____. 1992. Algunas características agronómicas de los Raigrases. In: Suplemento ganadero. Colombia. p. 95-101.
- Bertsch, F. *et al.* 1993. Características de los principales órdenes de suelos presentes en Costa Rica. Congreso Nacional Agropecuario y de Recursos Naturales. U.C.R. Costa Rica. 78 p.

- Bertsch, F. 1987. Manual para interpretar la fertilidad de los suelos de Costa Rica. Universidad de Costa Rica. Costa Rica. 82 p.
- Borel, R. 1981. Uso de los fertilizantes en pasturas. In: Producción y utilización de forrajes en el trópico. CATIE. Costa Rica. p. 58-69.
- Calderón, M. 1982. Evaluación del daño causado por insectos. In: Toledo, J.M. Manual para la evaluación agronómica. Red Internacional de Evaluación de Pastos Tropicales. (RIEPT), CIAT, Colombia. p. 45-56.
- Dominguez y García. 1972. Plagas y enfermedades de las plantas cultivadas. España. 385 p.
- Gillet, M. 1984. Las gramíneas forrajeras. Editorial ACRIBIA. España. p. 299-341.
- Lenne, J. 1982. Evaluación de enfermedades en pastos tropicales. In: Toledo, J.M. Manual para la evaluación agronómica. Red Internacional de Evaluación de Pastos Tropicales. (RIEPT), CIAT, Colombia. p. 45-56.
- Mesén, M. 2004. Evaluación de gramíneas de uso potencial en sistemas de producción de leche de altura. Datos sin publicar.
- Roig, C.A. 1989. Evaluación preliminar de 200 accesiones de leguminosas forrajeras tropicales en el ecosistema de bosque tropical lluvioso en Costa Rica. Guápiles, Costa Rica. Tesis Mag. Sc. CATIE, Turrialba, Costa Rica. 179 p.
- Toledo, J.M.; Schultze - Kraft, R. 1982. Metodología para la evaluación agronómica de pastos tropicales. In: Toledo, J.M. Manual para la Evaluación Agronómica. Red Internacional de Evaluación de Pastos Tropicales (RIEPT), CIAT, Cali, Colombia. p. 91-109.

EFFECTO DE LA MICORRIZOSFERA EN EL DESARROLLO DE DOS PLANTAS FORRAJERAS

Susana Schweizer¹, Eduardo Salas², Rocío Bejarano¹, Marco Vinicio Castro¹, Beatriz Sandoval¹

RESUMEN

Se agregó un inóculo consistente de suelo rizosférico de *Cratylia argentea*, a un suelo estéril de la misma procedencia. Se investigó su efecto sobre el desarrollo y absorción de nutrimentos de dos plantas forrajeras en un experimento con macetas, en invernadero. Para tal fin se usaron la gramínea *Brachiaria decumbens* y la leguminosa *Cratylia argentea* (cv. Veraniega) con y sin inóculo de *Rhizobium*. Los tratamientos en *Brachiaria* fueron: suelo estéril (Testigo); con microflora nativa (Mic); con Mic + nitrógeno (Mic+N) y con Mic + N + fósforo (Mic+N+P). Para *Cratylia* (Leg) se consideraron: Suelo estéril + *Rhizobium* (LegRh); con inóculo de microflora nativa (Mic + LegRh); con adición de fósforo (Mic + LegRh + P); con fertilizante químico (Mic + N + P). Las plantas de *B. decumbens* con inóculo presentaron un incremento de más de 300% en la biomasa de raíces y más de 400% en biomasa aérea con respecto a las plantas no inoculadas. Los mayores incrementos en biomasa aérea se presentaron cuando, además del inóculo se agregó N y P; sin embargo el incremento fue poco, comparado con aquéllas que sólo recibieron inóculo. En el caso de *C. argentea*, cuando se usó suelo con inóculo, se obtuvo un incremento de 100% en biomasa de raíces y más de 250% en biomasa aérea, al compararlo con el testigo con suelo estéril. Hubo, para ambas especies, una mayor absorción de P y N en las plantas inoculadas con microflora nativa y fertilizadas. El mayor porcentaje de colonización de raíces por hongos micorrizógenos, se obtuvo con la leguminosa *Cratylia argentea* inoculada con *Rhizobium*. Para la gramínea *Brachiaria decumbens* el mayor porcentaje de colonización se dio cuando, además de agregar rizosfera se fertilizó con N.

INTRODUCCIÓN

Las micorrizas son asociaciones simbióticas mutualistas entre ciertos hongos del suelo y las raíces de las plantas superiores. Los hongos obtienen fotosintatos de la planta huésped y ésta se beneficia de la presencia del hongo de muchas maneras (Blanco y Salas 1997). La más conocida de estas asociaciones es la llamada micorriza vesículo-arbuscular (MVA) o micorriza arbuscular (MA).

La simbiosis de MA es reconocida por sus múltiples efectos positivos sobre el desarrollo

de las plantas y por su importante contribución para mantener la calidad del suelo. Está documentado que produce un incremento de la rizosfera (Camel *et al.* 1991) y de esta manera se facilita la absorción de nutrimentos, fundamentalmente los menos móviles como P, Zn, Cu (Barea 1991, Bolán 1991). Hay evidencias que las plantas con MA se recuperan más rápido de un corto período de estrés hídrico, son más resistentes a la toxicidad de elementos y acidez del suelo (Sieverding 1991) y son menos propensas a la incidencia de enfermedades de las raíces (Dehne 1982).

¹ Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria (INTA), Costa Rica.

² Escuela de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional, Costa Rica.

Otros beneficios señalados son el incremento en la tasa fotosintética, el aumento de la fijación de N_2 por las bacterias simbióticas, y la mayor diversidad de microorganismos en el suelo. Barea *et al.* (1992) y Bethlenfalvay (1992) hacen referencia a la asociación tripartita de Leguminosa–*Rhizobium*–Hongos micorrícicos arbusculares (HMA) y coinciden en el papel regulador que tiene la toma de P por las micorrizas, en la fotosíntesis y en la actividad nodular.

Hamel (1996) señala que aún cuando los beneficios de la asociación de MA se conocen, los resultados están restringidos prácticamente a ensayos con macetas en condiciones controladas; en ensayos de campo los resultados son controversiales, por eso se recomienda para maximizar el beneficio potencial, realizar el aislamiento y selección de estos hongos a partir de comunidades nativas de HMA, considerando el manejo propio de la zona.

Los sistemas de producción de bajos insumos en la agricultura sostenible, tienden a establecer agro-ecosistemas más naturales y en los cuales las MA son fundamentales; es por ello que se necesitan más trabajos de investigación para llegar a obtener un manejo eficiente de estas asociaciones.

De acuerdo con lo señalado anteriormente, se planteó esta investigación con el objetivo de determinar los beneficios obtenidos por *Brachiaria decumbens* y *Cratylia argentea* (cv. Veraniega) de la simbiosis con HMA nativos, bajo condiciones de invernadero.



Figura 1: Hifas y esporas de micorrizas nativas

MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvo una muestra compuesta de raíces y suelo superficial establecido con *Cratylia argentea* (cv. Veraniega) en la zona de Atenas, Costa Rica. Las raíces se cortaron en trozos de aproximadamente un cm de largo y se mezclaron con el suelo. De esta manera se obtuvo el inóculo de microflora nativa. A las macetas se les agregó aproximadamente 800 ml de suelo pasteurizado obtenido del horizonte A de la misma zona y una porción de 250 ml de microflora nativa. A los tratamientos con P se les adicionó 46 mg de P/ kg, como Triple superfosfato y en aquellos que llevaban N se les adicionó urea a razón de 73,6 mg de N / kg para la gramínea y 90 mg de N/ kg para la leguminosa no inoculada con *Rhizobium* (Cepa CIAT 3564).

Las poblaciones nativas de HMA se incrementaron en macetas, empleando como hospedantes *Brachiaria decumbens* y *Cratylia argentea* (CIAT 18516). Los tratamientos fueron los siguientes:

En *Brachiaria decumbens*:

- Testigo: Suelo estéril
- Microflora nativa (Mic)
- Mic + Nitrógeno (N)
- Mic + N + Fósforo (P)

En *Cratylia argentea* (Leg):

- Testigo: Suelo estéril + *Rhizobium* (LegRh)
- Mic + LegRh
- Mic + LegRh + P
- Mic + N + P

Se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones por tratamiento. La unidad experimental fue una maceta de un litro de capacidad.

Con el fin de separar el efecto de la microflora y micorrizas nativas, se realizó un ensayo adicional con el mismo suelo y las mismas plantas y semillas, en el que se consideraron tres tratamientos y cuatro repeticiones:

- Suelo estéril (Testigo)
- Suelo + Extracto filtrado de Suelo (sin micorrizas)
- Suelo + Mic

Se determinaron las características físicas y químicas del suelo de la zona antes y después de pasteurizado a 80 °C (Cuadros 1 y 2); el proceso de pasteurización se realizó durante tres días, por períodos de ocho horas cada día.

El suelo tiene un horizonte superficial de textura franca, ligeramente ácido y con bajo contenido de P, así como alto porcentaje de fijación de este elemento (mayor de 70%).

Variables evaluadas:

- Biomasa aérea secada a 60 °C.
- Biomasa radicular secada a 60 °C.
- Contenido foliar de nutrimentos (Schweizer *et al.* 1980).
- Colonización de raíces por tinción según Brundrett *et al.* (1996).

Con el propósito de determinar cuál fue el mejor tratamiento para la asociación, se rea-

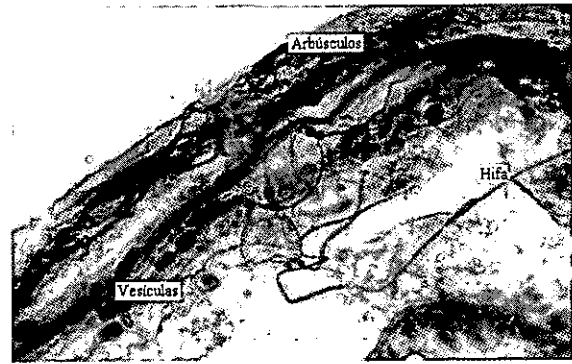


Figura 2: Raíz de *Cratylia argentea* colonizada por HMA nativos.

lizaron las comparaciones dadas a continuación, mediante una prueba de separación de medias.

En gramínea:

- 1.- Efecto de la microflora nativa
Testigo vs. Mic
- 2.- Efecto de la adición de Nitrógeno:
Mic vs. Mic + N
- 3.- Efecto de la adición de P y N:
Mic vs. Mic + N + P

Cuadro 1. Características físicas del horizonte superficial del suelo experimental en la Escuela Centroamericana de Ganadería, Atenas, Costa Rica.

Identificación	% Arena	% Limo	% Arcilla	Textura	% M. orgánica
Suelo sin pasteurizar	46,0	34,0	20,0	Franco	4,81
Suelo pasteurizado	44,0	34,0	22,0	Franco	4,10

Cuadro 2. Características químicas del horizonte superficial del suelo experimental en la Escuela Centroamericana de Ganadería, Atenas, Costa Rica.

Identificación	pH	cm / l					mg / l				
		Al	Ca	Mg	K	P	Zn	Mn	Cu	Fe	
Suelo sin pasteurizar	4,7	0,40	3,4	1,3	0,15	4	1,1	06	7	68	
Suelo pasteurizado	5,2	0,35	2,8	1,2	0,18	4	0,5	40	4	48	

En leguminosa:

1.- Efecto de la microflora nativa
LegRh vs. LegRh + Mic.

2.- Efecto del inóculo con *Rhizobium*:
LegRh + Mic. + P vs. Mic. + N + P

RESULTADOS

La pasteurización del suelo no afectó las características físicas y químicas del suelo (Cuadros 1 y 2); sin embargo, si tuvo influencia en el crecimiento de las plantas de *Brachiaria decumbens* como se puede apreciar en las Figuras 3 y 4.

La adición de microflora nativa fue suficiente para estimular de forma significativa ($P \leq 0,05\%$) el crecimiento de las plantas de *B. decumbens*, con un incremento de 4,85 veces la biomasa aérea obtenida por el tratamiento testigo.

La mayor biomasa de raíces se obtuvo en el tratamiento sin fertilizante y micorrizado. Sin embargo, si se compara la relación raíz:

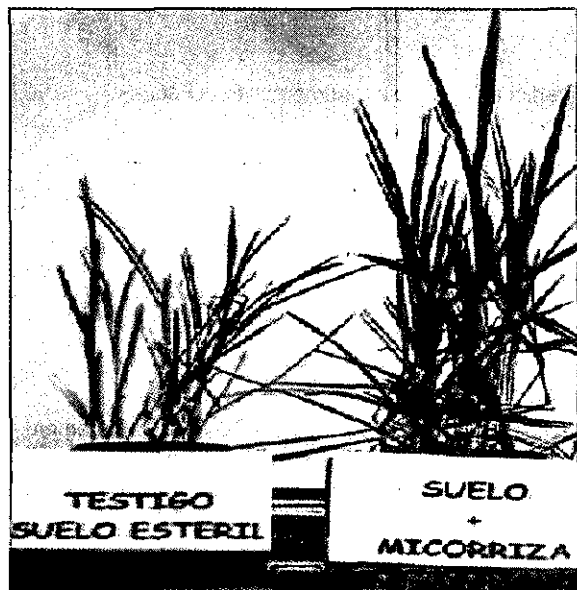


Figura 3: Biomasa aérea de *B. decumbens* con y sin inóculo de microflora nativa

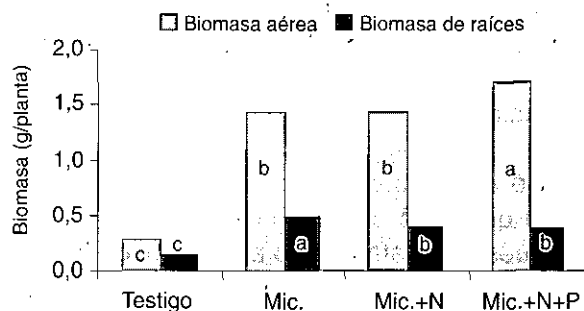


Figura 4: Efecto de la microflora nativa (Mic) de rizosfera de *Cratylia argentea* (cv. Veraniega) sobre la biomasa aérea y biomasa de raíces de *B. decumbens*

parte aérea, la mayor relación se presenta en el testigo no micorrizado. Clark *et al.* (1999) encontraron resultados similares en un experimento con *Panicum virgatum* en un suelo ácido. Se aprecia además que un fertilizante base es importante para que la simbiosis sea más efectiva.

La adición de N, junto con la microflora, no afectó la biomasa aérea de las plantas respecto al tratamiento de sólo microflora; sin embargo, la adición de P y N, siempre en presencia de microflora nativa, mejoró significativamente ($P \leq 0,05\%$) la biomasa aérea con respecto a los otros tratamientos. Se ha observado que las plantas deficientes en P muestran retardos en el crecimiento y su función de fotosíntesis disminuye (Bougher *et al.* 1990, Qiu e Israel 1992). El suelo que se utilizó en el experimento es deficitario en este elemento.

Estos resultados no permitieron diferenciar entre el efecto causado por la micorriza nativa y el causado por otros microorganismos; para despejar esta duda, se realizó un segundo experimento comparando suelo pasteurizado e inoculado con microflora libre de HMA y microflora con HMA. Este último tratamiento incrementó la biomasa aérea respecto al primero ($P \leq 0,05$), comprobándose que el efecto positivo se debió principalmente a la micorriza. Salas y Soto (datos no publicados) encontraron resultados similares en un experimento de invernadero usando como planta hospedera el frijol común (*Phaseolus vulgaris*).

La colonización de raíces por los hongos nativos se puede observar en la Figura 5. Debe considerarse que en los tres tratamientos se obtuvo un muy buen grado de colonización de las raíces por parte de los HMA. El N favoreció la colonización, mientras que la aplicación de P la afectó negativamente, aunque de forma leve. Esta medida no correlaciona con la respuesta en desarrollo de la planta. Clark y otros (1999) encontraron que la colonización de las raíces varía ampliamente con el tipo de hongo y concluyeron que sólo ocurrió un buen incremento de materia seca de la planta cuando los porcentajes de colonización de raíces estaban por encima de 20% y lo relacionaron con la efectividad del aislamiento.

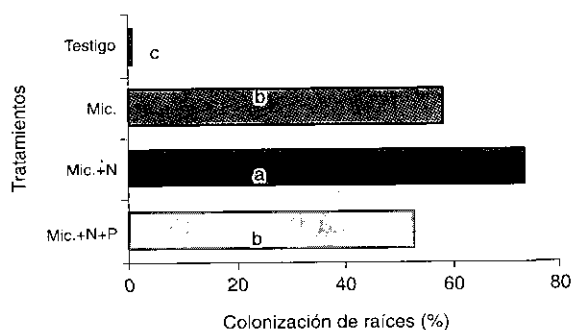


Figura 5: Efecto de la fertilización sobre el porcentaje de colonización de raíces de *Brachiaria decumbens* con hongos micorrizógenos autóctonos.

En el Cuadro 3 se observa que las plantas micorrizadas y además fertilizadas con N o con N y P, son las que presentaron la mayor absorción de estos elementos, comparadas con las que sólo fueron micorrizadas y con el testigo, que fue el tratamiento que mostró menor absorción. Nielsen y otros (1998) encontraron en su estudio un incremento en la tasa específica de absorción de P inducida por la micorriza.

Estos resultados están estrechamente relacionados con la biomasa aérea obtenida. También puede apreciarse que cuando hay menor toma de P, el rendimiento de las plantas es menor.

Cuadro 3. Absorción neta de N y P en plantas de *Brachiaria decumbens* con inóculo de microflora nativa y tratamientos de fertilización.

Tratamientos	Elementos extraídos (mg/ planta)	
	N	P
Testigo	6,9 c	0,204 c
Mic	16,0 b	0,975 b
Mic+N	24,0 a	1,033 b
Mic+N+P	22,0 a	1,346 a

* Letras iguales indican que no hay diferencia significativa ($P \geq 0,05$) entre tratamientos.

En *Cratylia argentea*, los tratamientos que dieron mayor biomasa aérea fueron: la asociación tripartita Leguminosa-*Rhizobium*-hongos micorrizógenos con una pequeña dosis de P y el tratamiento con N y P + microflora nativa. Estos tratamientos fueron significativamente diferentes ($P \geq 0,05$) al que sólo consideró la asociación tripartita, que se encuentra en una posición intermedia y al testigo que fué el que dio significativamente menor biomasa aérea (Figuras 6 y 7).

El efecto positivo de las micorrizas sobre la fijación de N_2 ha sido relacionado con la nutrición de P. Linderman (1992) afirma que las leguminosas que están en simbiosis con ambos (*Rhizobium* y HMA), tienen mejor desarrollo.

Bethenfalvay (1992) sostiene que la toma de P por HMA es de particular interés para la



Figura 6: Biomasa aérea de *Cratylia argentea*.

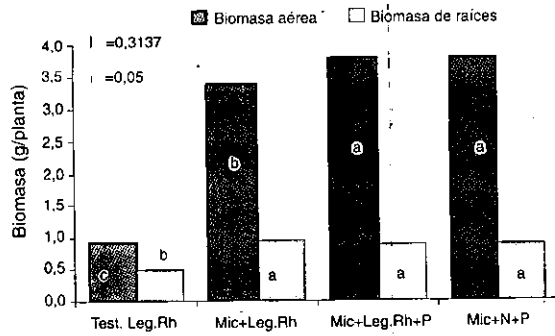


Figura 7: Efecto de la microflora nativa (Mic.) de rizosfera de *Cratylia argentea* (CIAT 18516) sobre la biomasa aérea y biomasa de raíces de *Cratylia argentea*.

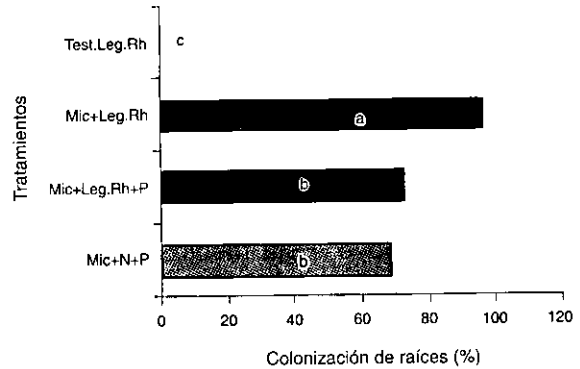


Figura 8: Efecto de la fertilización e inóculo de *Rhizobium* sobre el porcentaje de infección de raíces de *Cratylia argentea* con hongos micorrizógenos autóctonos.

leguminosa simbiote, ya que el P juega un papel regulador de la fotosíntesis y en la actividad de los nódulos.

Según Barea y Azcón-Aguilar (1983) el P y otros elementos menores que pueden limitar la fijación simbiótica de N_2 por *Rhizobium*, pueden ser suministrados por las micorrizas. Los mismos autores comentan que la doble simbiosis no sólo reduce el gasto de fertilizantes sintéticos sino que parece que se reduce el costo del sistema leguminosa-*Rhizobium* en términos de gastos de fotosintatos.

El testigo fue el que dio menor biomasa de raíces por menor desarrollo de la planta, pero sin embargo es el tratamiento que presenta la mayor proporción raíz: biomasa aérea.

La diferencia en biomasa de raíces es significativa con respecto a los otros tres tratamientos, que no se diferencian entre sí. Varios investigadores sostienen que las plantas micorrizadas y noduladas, usualmente tienen una menor razón raíz: biomasa aérea que las inoculadas con uno solo de los simbioses (Asimi *et al.* 1980, Redente y Reeves 1981, citados por Barea y Azcón-Aguilar 1983).

Los porcentajes de colonización de raíces obtenidos se presentan en la Figura 8 y fueron en general superiores a la gramínea. El mayor porcentaje se obtuvo cuando se agregó microflora nativa y la leguminosa fue inoculada con *Rhizobium*.

La adición de fertilizante, así como la ausencia de *Rhizobium* disminuyeron la colonización. Esta medida no está relacionada con el rendimiento en materia seca de la planta, resultados que concuerdan con los obtenidos por Saif (1987).

Smith *et al.* (1992) llegan a las mismas conclusiones y agregan que la infección en el sistema radical está influenciada por condiciones ambientales, tales como la edad de las plantas, el nivel de fosfatos en el suelo y la capacidad de la población de hongos para formar micorrizas.

Salinas *et al.* (1985) encontraron una mayor colonización por micorrizas en leguminosa inoculada con *Rhizobium* (cerca de 100 % en *Pueraria phaseoloides*) que en gramínea (alrededor de 65% en *Andropogon gayanus*).

Barea y Azcón-Aguilar (1983) dicen que las leguminosas son más micotróficas que las gramíneas y que probablemente puedan beneficiarse más de esta asociación.

El Cuadro 4 muestra que al agregar microflora nativa, se incrementó la absorción de N y P respecto al testigo. En los dos tratamientos que llevan P y microflora, se encontró mayor absorción de este elemento respecto a los que no se fertilizaron. La absorción de N fue mayor ($P \leq 0,05$) en las plantas en que se aplicó una fuente de N inorgánico, lo que

Cuadro 4. Contenido foliar de N y P en plantas de *Cratylia argentea* con inóculo de microflora nativa y tratamientos de fertilización

Tratamientos	Elementos extraídos (mg/ planta)	
	N	P
Testigo Leg Rh	35,87 c	0,67 c
Mic + Leg Rh	95,0 b	3,65 b
Mic+Leg Rh+P	95,0 b	5,03 a
Mic+N+P	111,25 a	4,78 a

* Letras iguales indican que no hay diferencia significativa ($P \geq 0,05$) entre tratamientos.

sugiere que la inoculación con *Rhizobium* no fue tan eficiente, aunque estas diferencias no se manifestaron en la biomasa aérea.

Saif (1987) encontró que la inoculación con micorrizas incrementó significativamente el contenido de todos los elementos minerales en leguminosas y gramíneas forrajeras.

Azcón-Aguilar y Barea (1981) obtuvieron el doble de rendimiento en *Medicago sativa* con la inoculación dual comparado con el control no inoculado. Dodd *et al.* (1990) observaron el mayor incremento en el rendimiento en yuca (*Manihot esculenta*) y kudzú (*Pueraria phaseoloides*). Estos resultados están asociados con mayores contenidos foliares de P y Mg. Salinas *et al.* (1985) encontraron una mayor y más continua absorción de P en las plantas micorrizadas y de dos a cuatro veces mayor utilización del P agregado tanto en la gramínea como en la leguminosa consideradas. Además se ha comprobado comparando fuentes externas de P, que el incremento en rendimiento debido a micorrizas es mayor con P de baja solubilidad, pudiendo concluir que las plantas micorrizadas solubilizan este elemento (Bolan 1991).

Barea y otros (1987) usando técnicas de ^{15}N mostraron que tanto el N amoniacal como el N nítrico pueden ser rápidamente absorbidos por medio de las hifas extrarradicales de micorrizas, así el mayor crecimiento de las leguminosas micorrizadas puede deberse al aumento de fijación de N_2 como a la mayor

absorción de N del suelo, especialmente la forma amoniacal.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La inoculación con micorrizosfera proveniente de un suelo establecido con *Cratylia argentea* de la zona de Atenas, aumentó el rendimiento de *Brachiaria decumbens* y *Cratylia argentea* y además la absorción de P y N por las plantas.

En *Brachiaria decumbens* la fertilización base de P y N produjo los máximos rendimientos en biomasa aérea.

Los máximos rendimientos se encontraron en *Cratylia argentea* micorrizada, inoculada con *Rhizobium* y fertilizada con P, así como cuando se aplicó N y P inorgánicos en suelo con rizosfera.

Los altos porcentajes de colonización radical obtenidos en *Brachiaria decumbens* y *Cratylia argentea*, indican el alto potencial de inóculo de micorriza nativa obtenido de la rizosfera de *Cratylia argentea* crecida en la zona de Atenas, bajo condiciones de campo.

Como la producción de forrajes, especialmente cuando se incluyen las leguminosas, está muchas veces limitada por el bajo nivel de P asimilable en los suelos, la inoculación con hongos micorrizógenos es una buena alternativa para aumentar la productividad. Por eso se recomienda seguir con las investigaciones y tratar de lograr aislamientos zonales realmente efectivos.

AGRADECIMIENTOS

Al CIAT y a la ECAG por la colaboración prestada, al personal del Laboratorio de Suelos del INTA por el análisis de las muestras, y al Ing. Carlos Hidalgo, INTA, por sus acertadas sugerencias.

LITERATURA CITADA

- Azcón-Aguilar, C., Barea, J. M. 1981. Field inoculation of Medicago with V-A mycorrhiza and *Rhizobium* in phosphate-fixing agricultural soil. *Soil Biol. Biochem.* 13: 19-22.
- Barea, J. M. 1991. Vesicular - arbuscular mycorrhizae as modifiers of soil fertility. *Adv. Soil Sci.* 15: 1 - 40.
- _____, J. M.; Azcón-Aguilar, C. 1983. Mycorrhizas and their significance in nodulating nitrogen-fixing plants. *In Advances in Agronomy* 36: 1-54.
- _____; _____; Azcón, R. 1987. Vesicular-arbuscular mycorrhiza improve both symbiotic N₂ fixation and N uptake from soil as assessed with a ¹⁵N technique under field conditions. *New Phytology* 106: 717-725.
- _____; Azcón, R.; Azcón-Aguilar, C. 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in nitrogen-fixing systems. *Methods Microbiol* 24: 391-416.
- Bethenfalvay, G. J. 1992. Mycorrhizae and crop productivity. *In: G. J. Bethenfalvay y R. G. Linderman (eds). Mycorrhizae in sustainable agriculture. ASA special publication N° 54. Madison, WI, USA. p. 1-27.*
- Blanco, F. A.; Salas, E. A. 1997. Micorrizas en la agricultura: Contexto mundial e investigación realizada en Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 21 (1): 55-67.
- Bolan, N.S. 1991. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant & Soil* 134: 189 - 207.
- Bougher, N.L.; Grove, T.S.; Malajczuk, N. 1990. Growth and phosphorus acquisition of karri (*Eucalyptus diversicolor* F. Muell.) seedlings inoculated with ectomycorrhizal fungi in relation to phosphorus supply. *New Phytologist* 114: 77-85.
- Brundrett, M.; Bougher, N.; Dell, B.; Grove, T.; Malajczuk, N. 1996. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR) Monograph 32, 374 p.
- Camel, S.B.; Reyes, M.G.; Ferrera, R.; Ranson, R.L.; Brown, M.S.; Bethlen, G.J. 1991. The growth of mycorrhizal mycelia through bulk soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 58: 389 - 393.
- Clark, R. B.; Zeto, S. K.; Zobel, R. W. 1999. Arbuscular mycorrhizal fungal isolate effectiveness on growth and root colonization of *Panicum virgatum* in acidic soil. *Soil Biology and Biochemistry* 31: 1757-1763.
- Cooper, K.M. 1984. Physiology of VA mycorrhizal associations. *In: Powell C.L., Bagyaraj D.J. (eds.) VA Mycorrhiza. Boca Raton, FL, USA: CRC Press. p. 155-186.*
- Dehne, J. 1982. Interaction between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and plant pathogens. *Phitopathology* 72: 1115 - 1118.
- Dodd, J. C.; Arias, I.; Koomen, I.; Hayman, D. S. 1990. The management of populations of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in acid-infertile soils of savanna ecosystem. I. The effect of pre-cropping and inoculation with VAM-fungi on plant growth and nutrition in the field. *Plant and Soil* 122: 229-240.
- Hamel, Ch. 1996. Prospects and problems pertaining to the management of arbuscular mycorrhizae in agriculture. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 60: 197 - 210.
- Jakobsen, I. 1986. Vesicular-arbuscular mycorrhiza in field grown crops. III. Mycorrhizal infection and rates of inflow in pea plants. *New Phytologist* 86: 131-144.
- Koide, R.T. 1991. Nutrient supply, nutrient demand and plant response to mycorrhizal infection. *New Phytologist* 117: 365-386.
- Linderman, R.G. 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and soil microbial interactions. *In: G. J. Bethenfalvay y R. G. Linderman (eds). Mycorrhizae in sustainable agriculture. ASA special publication N° 54. Madison, WI, USA. p. 45-70.*
- Nielsen, K.L.; Bouma, T.J.; Lynch, J.; Eissenstat, D. M. 1998. Effects of phosphorus availability and vesicular-arbuscular mycorrhizas on the carbon budget of common bean (*Phaseolus vulgaris*). *New Phytologist* 139: 647-656.

- Qiu, J.; Israel D.W. 1992. Diurnal starch accumulation and utilization in phosphorus-deficient soybean plants. *Plant physiology* 98: 316-323.
- Saif, S.R. 1987. Growth responses of tropical forage plant species to vesicular-arbuscular mycorrhizae. I: Growth, mineral uptake and mycorrhizal dependency. *Plant and Soil* 97: 25-35.
- Salinas, J. G.; Sanz, J. I.; Sieverding, E. 1985. Importance of VA mycorrhizae for phosphorus supply to pasture plants in tropical Oxisols. *Plant and Soil* 84: 347-360.
- Schweiser, S.; Coward, H.; Vázquez, A. 1980. Metodología para análisis de suelos, aguas y plantas. Boletín Técnico N° 68. Ministerio de Agricultura y Ganadería. 32 p.
- Sieverding, E. 1983. Manual de métodos para la investigación de la micorriza vesículo-arbuscular en el laboratorio. CIAT. Colombia. 96 p.
- Sieverding, E. 1991. Vesicular- arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. Technical Cooperation - Federal Republic of Germani. Eschborn. 371 p.
- Smith, S. E.; Robson, A. D.; Abbott, L. K. 1992. The involvement of mycorrhizas in assessment of genetically dependent efficiency of nutrient uptake and use. *Plant and Soil* 146: 169-179.

EFFECTO DE LA INOCULACIÓN CON MICORRIZAS ARBÚSCULARES (MA) Y SUSTRATOS DE SIEMBRA SOBRE EL DESARROLLO Y CONTENIDOS DE N Y P EN PLANTAS DE *Cratylia argentea*

Susana Schweizer¹, Eduardo Salas², Rocío Bejarano¹, Marco V. Castro¹

RESUMEN

Se midió el efecto de micorrizas nativas aisladas de la zona de Atenas, Alajuela, Costa Rica y de un hongo introducido de la colección de hongos micorrícicos de la Universidad Nacional (*Glomus manihotis*), de calidad comprobada, sobre el rendimiento y la absorción de P y N de plantas de *Cratylia argentea* cv. veraniega, inoculadas con una cepa de la bacteria del género *Rhizobium* (CIAT 3564) y sembradas sobre cuatro sustratos diferentes. El experimento se realizó en invernadero, en el Alto de Ochozogo, Cartago, Costa Rica. Se utilizó un diseño completamente aleatorio con cuatro repeticiones por tratamiento, en un arreglo factorial. Se consideró como Factor 1: Inóculo, con tres niveles: a) sin inocular, b) con inóculo de micorrizas nativas y c) con inóculo de *Glomus manihotis* y Factor 2: sustrato, con cuatro niveles: a) suelo de potrero sin mejorar de la zona de Atenas; b) suelo de potrero con P inorgánico; c) sustrato orgánico utilizado en el vivero de la Escuela Centroamericana de Ganadería; y d) mezcla 3:1 de suelo de potrero sin fertilizar y sustrato orgánico. Las plantas micorrizadas presentaron incrementos significativos con respecto a las no inoculadas en todas las variables consideradas ($p \leq 0,05$): en Biomasa aérea (hasta un 22%), absorción de P por la planta (hasta un 22%), absorción de N (hasta un 27%). La colonización de raíces fue de 46,8% con inóculo de *Glomus manihotis* y de 59,1% cuando se inoculó con micorrizas nativas. Estos tratamientos difieren significativamente entre sí ($p \leq 0,0001$) y también con el testigo, que dio un porcentaje de colonización de 24,8%. Los mejores resultados se obtuvieron cuando se incorporó la población nativa y cuando se utilizaron los sustratos con abono orgánico, especialmente en el caso de la mezcla de suelo-abono orgánico 3:1. Los resultados obtenidos permiten enfatizar el uso de aislamientos locales de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) como una buena alternativa para mejorar el vigor y el valor nutritivo de esta leguminosa tropical, promisoría para la alimentación del ganado.

INTRODUCCIÓN

El uso de leguminosas forrajeras arbustivas asociadas con gramíneas se incrementa cada día en las zonas de pastoreo del país. Estas plantas tienen de dos a tres veces más porcentaje de proteína que las gramíneas, aportan altos volúmenes de nitrógeno a los agroecosistemas y son capaces de transmitir una cantidad significativa del nitrógeno fija-

do a los pastos asociados (Guzmán Plazola *et al.* 1992). Son capaces de formar simbiosis con la bacteria *Rhizobium* y con HMA y esta relación tripartita las habilita para competir satisfactoriamente en suelos de baja fertilidad y con gramíneas nativas (Barea *et al.* 1989, Cook *et al.* 1993). El P es un factor limitante de crecimiento en muchas leguminosas tropicales y se requieren fuertes aplicaciones de este fertilizante para su

¹ Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria (INTA). Costa Rica.

² Escuela de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional. Heredia. Costa Rica.

- El porcentaje de colonización de raíces se determinó a los 45 días de la siembra y las otras variables se midieron a los 90 días de la siembra.

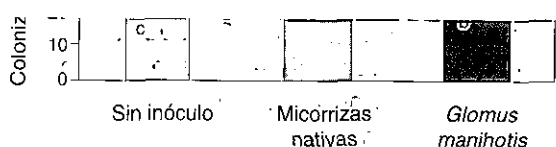


Figura 1. Porcentaje de colonización de raíces.

establecimiento y crecimiento. Una alternativa para aumentar la eficiencia del fertilizante es la inoculación de las leguminosas con micorrizas arbusculares (Paulino *et al.* 1990).

El Proyecto de Reforestación en Fincas Ganaderas MAG / MINAE / ODA Costa Rica, sugiere, que la *Cratylia argentea* es una de las leguminosas forrajeras más adecuadas para la región del Pacífico Central de Costa Rica. Además Argel (1995), recomienda realizar la siembra inicial de las plantas en vivero. González *et al.* (1998), consideran que los métodos de inoculación con micorrizas en plantas producidas en almácigos y en vivero, pueden resultar altamente redituables.

En la agricultura sostenible se trata de lograr sistemas de manejo optimizando los recursos disponibles y conservándolos; en este contexto, son fundamentales las asociaciones simbióticas de microorganismos con las plantas superiores. Teniendo en cuenta las consideraciones señaladas con anterioridad, es que se planteó esta investigación utilizando un sustrato de vivero de la Escuela Centroamericana de Ganadería y un suelo representativo de potreros de pastoreo de la zona de Atenas, Costa Rica, con el objetivo de medir el efecto de las micorrizas nativas y de un hongo introducido de calidad comprobada, en el crecimiento de *Cratylia argentea* en condiciones de vivero e introduciendo los HMA directamente en el suelo en que se desarrolla-

condiciones de suelo esterilizado; sin embargo es necesario conocer su respuesta en suelo no estéril.

Por ese motivo se planteó este experimento con un arreglo factorial de doce tratamientos, donde el primer factor corresponde al sustrato en que se desarrollan las plantas, con cuatro niveles: a) Suelo de potrero no estéril sin adición de P (suelo sin P); b) Suelo de potrero no estéril más siete mg de P como triple-superfosfato por bolsa (suelo con P); c) Sustrato orgánico de vivero; d) Mezcla 3:1 de suelo y sustrato orgánico. El segundo factor corresponde a los HMA con tres niveles: Sin inóculo; micorrizas nativas (30 g de inóculo por bolsa); y *Glomus manihotis* (15 g de inóculo por bolsa).

El diseño experimental fue irrestricto al azar, con cuatro repeticiones. La unidad experimental fue una bolsa de polietileno de 800 ml de capacidad con dos plantas de *Cratylia* cv. veraniega. En todos los tratamientos las semillas se inocularon con *Rhizobium* (cepa CIAT 3564) previo a la siembra. Se usaron cinco gramos de inoculante por 100 g de semilla.

El suelo citado, representativo de potreros de pastoreo de la zona de Atenas, tiene un horizonte superficial de textura franca /franca arcillosa, es fuertemente ácido, bien provisto de materia orgánica y con conteni-

disminuyó la infección de MA cuando se aplicó en dosis de cinco a 30 t/ha. Atribuyó sus resultados al alto contenido de amonio del abono fresco. Graham y Timmer (1985) mencionan la inhibición sobre los HMA por altos niveles de materia orgánica y un consecuente incremento del P disponible en el suelo. El sustrato de vivero utilizado en este ensayo tiene las dos condiciones anteriormente citadas. Su contenido de materia orgánica es muy alto y el nivel de P asimilable también.

Las plantas de *Cratylia argentea* respondieron positivamente a la adición de HMA (Figura 3). Las plantas inoculadas dieron mayor biomasa aérea ($p \leq 0,0029$) que el testigo. También se debe señalar una pequeña diferencia, aunque no fue significativa a favor de las micorrizas nativas. Esto corresponde con el mayor porcentaje de colonización obtenido.

servan las características químicas de estos sustratos en el Cuadro 1, verificamos que el sustrato de vivero tiene mayor disponibilidad de nutrimentos y un nivel muy alto de P asimilable, condiciones excelentes para un buen desarrollo de las plantas. Al mezclar este sustrato orgánico con suelo representativo de potreros de pastoreo, aún cuando se disminuyen los niveles de elementos nutritivos, no hubo diferencia en la biomasa aérea. Cuando se utilizó suelo sólo sin P y con la adición de P, el crecimiento de las plantas fue menor. En la Figura 4 se aprecia la interacción entre los dos factores ($P \leq 0,006$) para esta variable. Cabe destacar que el testigo no inoculado creció mejor cuando se mezcló el sustrato orgánico con el suelo, esto puede deberse a la presencia de micorrizas en el suelo. Jaen y Ferrara-Cerrato (1989) consideran el uso de hongos micorrícicos efectivos como una alternativa para la inoculación de viveros y

Cuadro 1. Características químicas de los sustratos experimentales.

Identificación	cm ^l / l					mg / l					% M.O.	% Fij. P
	pH	Al	Ca	Mg	K	P	Zn	Mn	Cu	Fe		
Suelo de potrero	5,4	0,25	5,9	1,9	0,21	8	0,9	10	14	65	6,1	71,5
Sustrato orgánico	6,4	0,10	15,8	5,4	1,36	79	4,7	02	04	70	36,9	42,5
Mezcla suelo sustrato	5,6	0,20	8,3	2,9	0,54	29	3,8	19	9	103	18,6	---

- Porcentaje de colonización de raíces (Determinación del % de infectividad de raíces por MA por tinción según Brundrett *et al.* (1996).
- Contenido de nutrientes foliares (Schweizer *et al.* 1980).
- El porcentaje de colonización de raíces se determinó a los 45 días de la siembra y las otras variables se midieron a los 90 días de la siembra.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la variable colonización de raíces, el ANDEVA reveló diferencias significativas entre inóculos y entre sustratos utilizados. No hubo interacción entre los factores.

La Figura 1 evidencia que los HMA nativos de *Cratylia*, fueron más infectivos que la cepa de *Glomus manihotis* independientemente del sustrato utilizado. El tratamiento testigo mostró muy bajo potencial de inóculo. Hamel (1996) recomienda para maximizar el beneficio potencial de las MA, realizar el aislamiento y selección de estos hongos a partir de comunidades nativas, considerando el manejo propio de la zona.

La Figura 2, muestra que el mayor porcentaje de colonización de raíces se obtuvo en la mezcla suelo-sustrato orgánico 3:1. El sustrato orgánico tiene un bajo potencial de inóculo y además tuvo un efecto negativo en la colonización de raíces por los HMA de los inóculos agregados. Cuando se usó sólo suelo para el desarrollo de las plantas, los porcentajes de colonización fueron intermedios.

Sieverding (1991) comenta al respecto que las raíces de yuca fueron más coloniza-

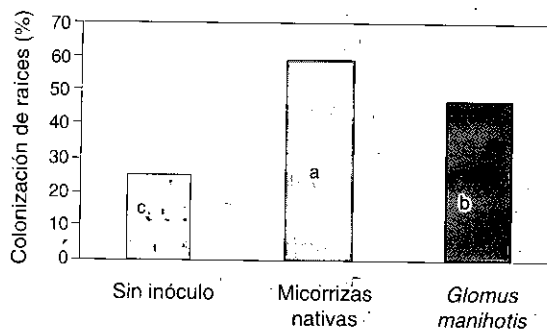


Figura 1: Porcentajes de colonización de raíces de *Cratylia argentea* por HMA nativos y por *Glomus manihotis*.

das cuando se agregó compost al suelo (cinco t/ha). Otras investigaciones prueban que altas cantidades de abono orgánico provocan la disminución de la eficiencia micorrícica. Guttay (1983) sostiene que la calidad del compost es importante para optimizar la formación de MA. Brechelt (1989) lo comprobó agregando cantidades crecientes de estiércol fresco y compost de estiércol y de residuos vegetales. Ella encontró que el abono fresco

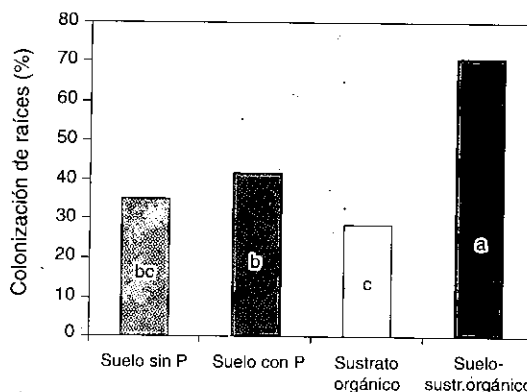


Figura 2: Porcentajes de colonización de raíces de *Cratylia argentea* por hongos MA en cuatro sustratos de siembra.

disminuyó la infección de MA cuando se aplicó en dosis de cinco a 30 t/ha. Atribuyó sus resultados al alto contenido de amonio del abono fresco. Graham y Timmer (1985) mencionan la inhibición sobre los HMA por altos niveles de materia orgánica y un consecuente incremento del P disponible en el suelo. El sustrato de vivero utilizado en este ensayo tiene las dos condiciones anteriormente citadas. Su contenido de materia orgánica es muy alto y el nivel de P asimilable también.

Las plantas de *Cratylia argentea* respondieron positivamente a la adición de HMA (Figura 3). Las plantas inoculadas dieron mayor biomasa aérea ($p \leq 0,0029$) que el testigo. También se debe señalar una pequeña diferencia, aunque no fue significativa a favor de las micorrizas nativas. Esto corresponde con el mayor porcentaje de colonización obtenido. Clark *et al.* (1999) en un experimento de invernadero utilizando diferentes aislamientos de HMA y como planta hospedera la gramínea *Panicum virgatum*, encontraron que sólo ocurrió un buen incremento de materia seca de la planta cuando los porcentajes de colonización de raíces estaban por encima del 20% y lo relacionaron con la efectividad del aislamiento.

La mayor biomasa aérea ($p \leq 0,0001$) se obtuvo cuando se usó el sustrato orgánico y la mezcla suelo-sustrato orgánico. Si se ob-

servan las características químicas de estos sustratos en el Cuadro 1, verificamos que el sustrato de vivero tiene mayor disponibilidad de nutrimentos y un nivel muy alto de P asimilable, condiciones excelentes para un buen desarrollo de las plantas. Al mezclar este sustrato orgánico con suelo representativo de potreros de pastoreo, aún cuando se disminuyen los niveles de elementos nutritivos, no hubo diferencia en la biomasa aérea. Cuando se utilizó suelo sólo sin P y con la adición de P, el crecimiento de las plantas fue menor. En la Figura 4 se aprecia la interacción entre los dos factores ($P \leq 0,006$) para esta variable. Cabe destacar que el testigo no inoculado creció mejor cuando se mezcló el sustrato orgánico con el suelo, esto puede deberse a la presencia de micorrizas en el suelo. Jaen y Ferrara-Cerrato (1989) consideran el uso de hongos micorrícicos efectivos como una alternativa viable en la tecnología de viveros ya que incrementan la tasa de crecimiento y mejoran la nutrición mineral de las plantas. Además, en un vivero es necesario fertilizar abundantemente y de esta forma se incrementan los costos de producción.

La inoculación de plantas en vivero puede reemplazar la fertilización en algunos casos o el efecto puede ser mejorado por fertilización moderada en otros. En este experimento se comprueba que puede lograrse un ahorro sustancial del abono o sustrato orgánico inoculando con micorrizas.



Figura 3: Efecto de dos cepas de HMA sobre biomasa aérea en *Cratylia argentea*.

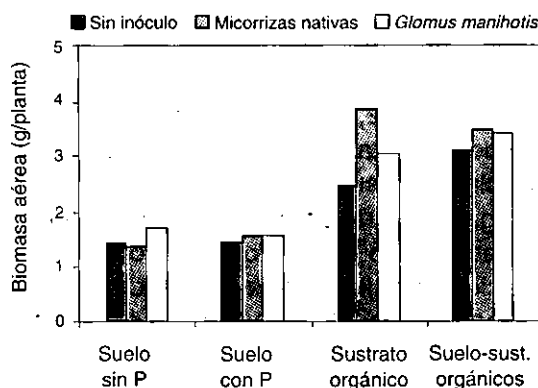


Figura 4: Interacción inóculos de hongos MA y sustratos en la biomasa aérea de *Cratylia argentea*.

La inoculación con micorrizas nativas tuvo una influencia positiva en la absorción de N por las plantas. Este tratamiento se diferencia significativamente de los otros dos tratamientos de inóculo. Los sustratos con abono orgánico facilitaron la absorción de N por las plantas. Hay una pequeña diferencia a favor de la mezcla suelo: sustrato (4,5 mg/planta), ésto puede deberse a la presencia de mayor cantidad de nódulos de *Rhizobium* en este sustrato ($P \leq 0,0001$). Se pudo apreciar además interacción entre los dos factores. Las plantas no inoculadas y aquellas inoculadas con *Glomus manihotis* presentaron una mayor absorción de N cuando se desarrollaron sobre la mezcla suelo-sustrato orgánico. Cabe recordar que en este sustrato se encontró mayor infectividad micorrícica. Las micorrizas nativas se desarrollaron bien en el sustrato orgánico y fue esta interacción la que mostró mayor cantidad de N absorbido por las plantas (Figura 5). En la mezcla suelo-sustrato los tres tratamientos de inóculos se comportaron de manera semejante en cuanto a esta variable. Cuando se usó sólo suelo, las plantas absorbieron menor cantidad de nitrógeno.

Linderman (1992) hace referencia a la asociación tripartita de leguminosas- *Rhizobium* micorrizas y sostiene que los hongos micorrícicos definitivamente aumentan la fijación de N_2 por las bacterias que producen nódulos, aún cuando falta aclarar los mecanismos involucrados. Barea *et al.* (1987) en un

experimento con ^{15}N mostraron la rápida absorción de nitrógeno por hifas extrarradicales de micorrizas, tanto en la forma de N nítrico como N amoniacal. Concluyen que el mayor crecimiento de las leguminosas micorrizadas puede deberse al aumento en la fijación de N_2 y a la mayor absorción de nitrógeno del suelo, especialmente en la forma amoniacal.

Respecto a la absorción de P, se presentaron diferencias significativas entre sustratos ($P \leq 0,0001$) y entre tratamientos de inóculos ($P \leq 0,0059$). El sustrato orgánico tiene un nivel muy alto de P asimilable; este valor es tres veces mayor que el de la muestra suelo-sustrato y por ende, es en el que se obtuvo una mayor extracción de este elemento por las plantas, aunque esta diferencia no se reflejó en la biomasa aérea.

La micorriza nativa incrementó la absorción de P por las plantas hasta un 31,8% si se compara con el testigo. La absorción también fue mayor que cuando se inoculó con *Glomus*. Los resultados se correlacionan muy bien con la absorción neta de N y con la biomasa aérea obtenida en este experimento.

Paulino *et al.* (1990) inocularon con micorrizas dos leguminosas forrajeras (*Pueraria phaseoloides* y *Centrosema macrocarpum*) y concluyeron que la aplicación del inóculo incrementó significativamente la absorción de N y P por las plantas. Howeler *et al.* (1987) enfatizan que una asociación micorrícica eficiente es de gran importancia para incrementar la absorción de P. En un experimento que realizaron con leguminosas y gramíneas forrajeras, las leguminosas respondieron mejor a la inoculación.

El factor sustrato tuvo influencia en el comportamiento de los inóculos (Figura 6). Las micorrizas nativas no incrementaron la absorción de P por las plantas cuando se usó el suelo sin y con adición de P. Sin embargo, al aumentar los niveles de P en los sustratos, las plantas inoculadas con micorrizas nativas absorbieron la mayor cantidad de este elemento. Al respecto, Howeler *et al.* (1987) sostienen que las asociaciones de micorrizas

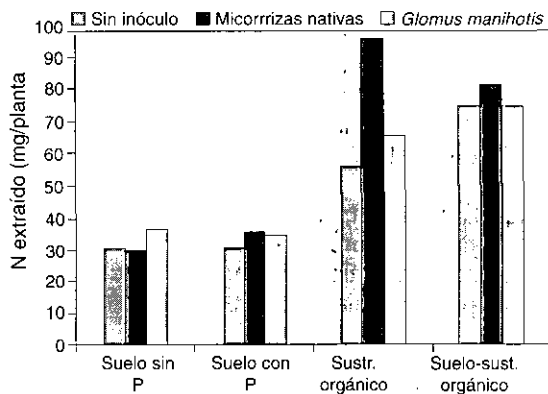


Figura 5: Interacción entre inóculos de HMA y cuatro diferentes sustratos de siembra en la absorción de N por plantas de *Cratylia*.

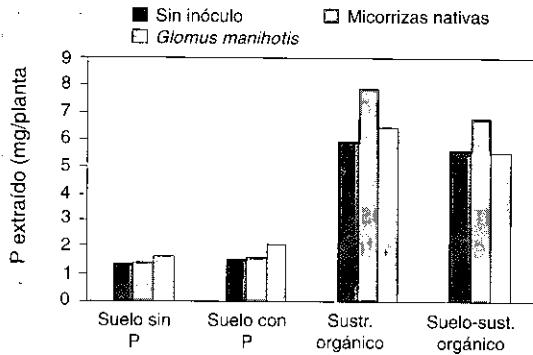


Figura 6: Interacción entre inóculos de hongos MA y cuatro diferentes sustratos de siembra, en la absorción de P por plantas de *Cratylia*.

pueden no ser efectivas cuando el suelo tiene muy bajos niveles de P, porque se podría presentar una competencia del P lábil entre las micorrizas y las raíces de las plantas.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La adición de sustrato orgánico al suelo de pastoreo (1:3) tuvo una influencia positiva en la colonización de las raíces por hongos MA y en la presencia de nódulos.

El uso de sustrato orgánico sólo, no fue favorable para el desarrollo de la simbiosis. Fue el sustrato que presentó el menor porcentaje de colonización de raíces por HMA.

La inoculación con HMA aumentó significativamente la biomasa aérea de *Cratylia*.

Las plantas de *Cratylia* inoculadas con micorrizas nativas absorbieron más N y más P.

El sustrato con un nivel de P asimilable intermedio (mezcla suelo-sustrato) fue el más apropiado para el desarrollo de las plantas.

De los resultados obtenidos debe destacarse la importancia del uso conjunto de abono orgánico y micorrizas efectivas en el desarrollo de *Cratylia argentea*.

AGRADECIMIENTOS

Al CIAT y a la ECAG por la colaboración prestada, al personal del Laboratorio de Suelos del INTA por el análisis de las muestras, y al Ing. Carlos Hidalgo, INTA, por sus acertadas sugerencias.

LITERATURA CITADA

- Argel, P. J. 1995. Evaluación agronómica de *Cratylia argentea* en México y Centroamérica. Memorias del Taller de trabajo sobre *Cratylia* realizado el 19 y 20 de julio de 1995, Brasilia, DF, Brasil. p:75-82.
- Barea, J. M.; Azcón-Aguilar, C.; Azcón, R. 1987. Vesicular arbuscular mycorrhiza improve both symbiotic N₂ fixation and N uptake from soil as assessed with a N¹⁵ technique under field conditions. *New Phytology* 106: 717-725.
- Barea, J.M.; El-Atrach, F.; Azcón, R. 1989. Mycorrhiza and phosphate interactions as affecting plant development, N₂-fixation, N-transfer and N-uptake from soil in legume-grass mixtures by using a ¹⁵N dilution technique. *Soil Biology and Biochemistry* 21: 581-589.
- Brechelt, A. 1989. Effect of different organic manures on the efficiency of VA mycorrhiza. *Agriculture, Ecosystem and Environment* 29: 55-58.
- Brundrett, M.; Bougher, N.; Dell, B.; Grove, T.; Malajczuk, N. 1996. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR) Monograph 32, 374 p..
- Clark, R. B.; Zeto, S. K.; Zobel, R. W. 1999. Arbuscular mycorrhizal fungal isolate effectiveness on growth and root colonization of *Panicum virgatum* in acidic soil. *Soil Biology and Biochemistry* 31: 1757-1763.
- Cook, S.J.; Gilbert, M.A.; Shelton, H.M. 1993. Tropical pasture establishment. 3. Impact of plant competition on seedling and survival. *Tropical grassland* 27: 291-301.
- Graham, J. H.; Timmer, L. W. 1985. Rock phosphate as a source of phosphorus for vesicular-arbuscular mycorrhizal development and

- growth of citrus in a soiles medium. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 109 (1): 118-121.
- González, C.; Ferrara, R.; Pérez, J. 1998. Biotecnología de la micorriza arbuscular en fruticultura. Universidad Autónoma de Tlaxcala y Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México, 1998. 131 p.
- Guttay, A. J. R. 1983. The interaction of fertilizers and vesicular - arbuscular mycorrhizae in composed plant residues. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 108: 222-224.
- Guzmán, R.; Ferrara, R.; Bethenfalvay, G. J. 1992. Papel de la endomicorriza VA en la transferencia de exudados radicales entre frijol y maíz sembrados en asociación bajo condiciones de campo. Terra 10 (2): 236-245.
- Hamel, Ch. 1996. Prospects and problems pertaining to the management of arbuscular mycorrhizae in agriculture. Agriculture, Ecosystems and Environment 60: 197 - 210.
- Howeler, R. H.; Sieverding, E.; Saif, S. 1987. Practical aspects of mycorrhizal technology in some tropical crops and pastures. Plant and Soil 100: 249-283.
- Jaen, C. D.; Ferrara, R. 1989. Efecto de la inoculación de cuatro cepas de hongos endomicorrícicos y tres niveles de fertilización NPK en zapote blanco (*Casimiroa edulis*) cultivada en vivero. XVI Congreso Nacional de Fitopatología. 24-26 de Julio. Montecillo, estado de México.
- Linderman, R. G. 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and soil microbial interactions. In: G. J. Bethenfalvay y R. G. Linderman (eds). Mycorrhizae in sustainable agriculture. ASA special publication N° 54. Madison, WI, USA, 1992, pp. 45-70.
- Paulino, V. T.; Costa, N. L.; Schammas, E. A. 1990. Effects of mycorrhizal inoculation on growth, nitrogen and phosphorus contents of two tropical forage legumes. Rev. de Agricultura, Piracicaba vol. 65, fasc. 2: 151-164.
- Schweizer, S.; Coward, H.; Vázquez, A. 1980. Metodología para análisis de suelos, aguas y plantas. Boletín Técnico N° 68. Ministerio de Agricultura y Ganadería. 32 p.
- Schweizer, S.; Salas, E.; Bejarano, R.; Castro, M. V.; Sandoval, B. 2000. Efecto de la micorrizosfera en el desarrollo de dos plantas forrajeras. Informe Archivos Técnicos MAG. Código N° PS03 NM 501-5-99. Ministerio de Agricultura y Ganadería, Costa Rica. 18p.
- Sieverding, E. 1991. Vesicular - arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. Technical Cooperation - Federal Republic of Germany. Eschborn. 371 p.

CARACTERIZACIÓN DE ABONOS ORGÁNICOS UTILIZANDO TÉCNICAS FÍSICAS, QUÍMICAS Y BIOLÓGICAS

Susana Schweizer¹, Eduardo Salas², Alexis Vargas¹

RESUMEN

Se recolectaron 16 muestras de abonos orgánicos, la mayoría de ellos disponibles comercialmente en el país y se analizaron siguiendo técnicas físicas, químicas y biológicas. El objetivo fue caracterizarlos y a la vez, determinar las técnicas más apropiadas para conocer su calidad y madurez, utilizando como parámetro el rendimiento de plantas de sorgo en invernadero desarrolladas en un sustrato con una proporción de abono- suelo de 1:9 peso por peso. Entre las medidas físicas y físico-químicas se determinaron: humedad de cada muestra, densidad, porcentaje de materiales gruesos, pH y conductividad eléctrica. La caracterización química se realizó cuantificando el contenido nutricional disponible y total para las plantas. Se determinaron además: contenido de cenizas, porcentaje de materia orgánica y C orgánico, C hidrosoluble, capacidad de intercambio catiónico (CIC) y porcentaje de N total. Las medidas biológicas evaluadas fueron: bioensayo microbiano, determinación del índice de germinación con semillas de sorgo y rendimiento de sorgo en invernadero. Los resultados obtenidos confirman la heterogeneidad de los abonos orgánicos y la necesidad de determinar parámetros que puedan usarse de rutina en los laboratorios y que permitan establecer estándares de calidad para los diferentes abonos orgánicos, según el uso que se desee darles. Algunos de los análisis presentados en este trabajo pueden ser idóneos para tal fin, como Índice de germinación, determinación de biomasa "crecida" que se relaciona con la liberación de nutrimentos de los abonos orgánicos a corto plazo, pH, conductividad eléctrica, porcentaje de C orgánico y N y se podrían incorporar otros más. Lo importante es determinar el menor número de medidas factibles de realizar, que permitan establecer la calidad de un abono orgánico y reglamentar rangos apropiados para su buen uso.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, en la búsqueda de alternativas de una producción agropecuaria en forma amigable con el ambiente, los abonos orgánicos han adquirido especial importancia por su capacidad de mejorar las condiciones del suelo y restituirle la materia orgánica perdida. En el país, según un estudio realizado por CEDECO (1998) había 9000 ha dedicadas a la producción orgánica. Se espera que actualmente la cifra sea superior y siga aumentando con el tiempo.

Dos condiciones primordiales a tener en cuenta para poder usar un abono orgánico en agricultura es la inocuidad desde el punto de vista bacteriológico y fitopatológico, y que su aplicación no produzca riesgo de contaminación química.

De cumplirse lo anterior, un segundo paso es evaluar la calidad de los mismos, ya que pueden ser distribuidos sin cumplir con los requerimientos de madurez. Además, la información que se especifica en la mayoría de los abonos es el contenido total de cada

¹ Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria (INTA), Costa Rica.

² Escuela de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional, Costa Rica.

nutrimento, lo que no indica su disponibilidad (Melgarejo *et al.* 1997). La aplicación de un abono inestable e inmaduro puede provocar inmovilización de N mineral del suelo, posible toxicidad de elementos pesados y, si contiene sustancias fitotóxicas, estas pueden inhibir la germinación y el desarrollo de las plantas (Imbar *et al.* 1990, Hue y Liu 1995, Shiralipour *et al.* 1997).

Para evitar estos y otros problemas es necesario evaluar la estabilidad y madurez de los abonos orgánicos para lo que se cuenta con diferentes métodos, que en ocasiones se complementan. La riqueza en microorganismos favorables para los suelos y la ausencia de patógenos, determina la calidad biológica del abono final. Además debe considerarse la eliminación de materiales inertes como vidrio, plástico y metales (California Integrated Waste Management Board 2002).

En el país existe actualmente una reglamentación específica para abonos orgánicos, pero no se ha desarrollado una normativa en cuanto a los métodos que se deben usar y a los parámetros de calidad ya establecidos en muchos países y es necesario un desarrollo exhaustivo de la investigación respectiva. Actualmente se tienen pocas referencias de investigaciones sobre parámetros de calidad en composts (Rojas 1999), por estos motivos se plantea la presente investigación con el objetivo de plantear algunos parámetros adecuados en la determinación del estado de estabilidad y madurez del compost y la calidad nutricional del mismo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectaron 16 muestras de abonos orgánicos, la mayoría disponibles comercialmente en el país (Cuadro 1) y se secaron a 60 °C, se tamizaron y se envasaron para su posterior análisis químico y físico. Se guardó muestra de cada uno sin procesar, para realizar el análisis de biomasa "crecida" por el método de respiración microbial inducida por un sustrato.

Técnicas físicas y físico-químicas:

Se determinó humedad de campo en el material tal y como se suministró, a 105 °C durante 24 h. El porcentaje de materiales gruesos en los abonos se calculó tamizando un peso exacto del producto por tamiz de seis mm de apertura, separando y pesando los materiales que no pasaron por el tamiz. Se midió la densidad aparente siguiendo la técnica citada por Ingram y Henley (s.f.). El pH y la conductividad eléctrica se midieron directamente en extracto acuoso 1:2,5 y 1:2 (v: v) respectivamente.

Técnicas químicas:

Para C orgánico total se utilizó el método de Walkley y Black modificado tanto en la muestra sólida como en el extracto acuoso. En este último caso, se mezcló material con agua en una relación 1: 10 (p:v), se agitó mecánicamente durante 24 horas, a temperatura ambiente y se filtró. Se tomó una alícuota de 10 cc, que fue secada y en el residuo se realizó la determinación de C hidrosoluble (Hue y Liu 1995). El porcentaje de materia orgánica por la técnica de ignición a baja temperatura, se calculó por diferencia entre 100% y el porcentaje de cenizas de las muestras colocadas en mufla a 550 °C por siete horas. Se obtuvo el dato de C orgánico total por esta técnica, multiplicando por 0,58 el porcentaje de materia orgánica obtenido. La capacidad de intercambio catiónico se analizó por extracción con acetato de amonio 1 N, a un pH de 7. Se evaluó N total por el método de micro-Kjeldahl y se cuantificó el contenido nutricional en forma disponible por extracción con bicarbonato sódico y total por el método de metanol ácido (Schweizer *et al.* 1980).

Técnicas biológicas:

Se llevó a cabo un ensayo de índice de germinación de semillas de sorgo, en base al test de Zucconi *et al.* (1981) modificado para

posible toxicidad y un bioensayo microbiano para determinar biomasa microbiana "crecida" que se relaciona con los nutrientes que puede liberar un abono orgánico en corto tiempo (Vandevire y Ramírez 1995). Se realizó un experimento de invernadero donde se midió la biomasa aérea de plantas de sorgo desarrolladas en un sustrato con una proporción de abono-suelo de 1:9. El diseño experimental fue totalmente aleatorizado, con cuatro repeticiones por cada abono considerado. Se utilizó como testigo el suelo experimental sin adición de abono.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis físicos y físico-químicos:

En el Cuadro 2 se presentan los resultados obtenidos en el análisis de las propiedades físicas y físico-químicas que se determinaron.

Con respecto al contenido de humedad, las normativas de los diferentes países tienen divergencias según el uso que se les dará a los abonos orgánicos, aunque esto se manifiesta en casi todos los estándares. Considerando un rango óptimo de humedad entre 30% y 50% (NSOGA 2002), se puede acotar que sólo cuatro de los abonos analizados están dentro de ese rango. Seis han perdido mucha humedad y están muy secos para su manipulación y los seis restantes tienen un contenido de agua muy alto.

La importancia de este parámetro en la calidad de los abonos orgánicos debe considerarse desde dos aspectos: el aspecto económico, ya que se pagaría en producto y transporte por el agua que contiene el abono y también porque es indicativo de las condiciones del proceso de compostaje. La Dirección General de Tecnología Agraria de Zaragoza, España (2000) considera los valores límites de humedad entre 35 - 45%; Bidlingmaier

Cuadro 1. Identificación de los abonos orgánicos analizados*

N° Muestra	Identificación
01	Lc1. Lombricompost de estiércol vacuno y de caballo. Tres meses de proceso
02	Lc2. Lombricompost de cerdaza con heno, lirio, burucha, polvo de maíz
03	B1. Bocashi con gallinaza, semolina, carbón molido, melaza, cascarilla de arroz, tierra de bosque. Proceso 15 días. Almacenaje 16 días
04	Lc3. Lombricompost de broza de café. Tres meses. Almacenaje 20 días.
05	C1. Compost de estiércol de vacuno y caballar y desecho de pacas. Seis semanas de compostaje
06	Lc4. Lombricompost de estiércol vacuno, caballar y desecho de pacas
07	Ao1. Abono orgánico de burucha y cerdaza. Proceso cuatro semanas
08	Ao2. Abono orgánico de burucha, cerdaza, heno, polvo de maíz, efluente de bio-digestor. Proceso cuatro semanas
09	Lc5. Lombricompost con cerdaza, lirio, granza, bagazo y burucha
10	Ao3. Abono orgánico con pulpa de café, cachaza y carbón
11	Lc6. Lombricompost de broza de café y cachaza. Proceso seis meses
12	B2. Bocashi de gallinaza (75%), granza, carbón de caña, semolina y miel. Proceso: 30 días
13	B3. Bocashi de gallinaza con caña picada, carbón, microorganismos y miel. Proceso: tres semanas. Almacenamiento: seis meses
14	C2. Compost de pulpa de café con bagazo. Proceso: tres meses
15	Lc7. Lombricompost de pulpa de café con miel. Proceso tres meses
16	Lc8. Lombricompost de broza de café

* La identificación de los materiales analizados los cuales en su mayoría son comerciales, fue suministrada por los productores.

Cuadro 2. Propiedades físicas y físico-químicas de los materiales analizados.

Muestra N°	Humedad (% de peso total)	Densidad (g/cm ³)	Materiales Gruesos (%)	pH	Conductividad (dS/m)
1	14,2	0,41	6,15	7,5	4,6
2	56,0	0,20	28,6	7,0	7,7
3	17,4	0,28	20,4	8,1	6,7
4	66,1	0,16	21,1	8,2	5,5
5	34,6	0,27	n.d.	8,6	6,4
6	37,8	0,37	n.d.	8,4	3,3
7	19,4	0,03	54,6	7,8	n.d.
8	60,3	0,08	33,6	7,4	4,5
9	69,3	0,13	45,3	6,9	n.d.
10	17,7	0,38	17,6	8,5	2,4
11	38,5	0,36	1,5	8,7	5,8
12	14,9	0,35	7,4	9,3	14,6
13	12,1	0,41	20,5	8,4	16,9
14	54,1	0,28	5,0	7,8	2,1
15	45,8	0,29	23,7	8,7	7,0
16	56,5	0,23	0,0	9,2	5,6

n.d. = no determinado.

(1993) comenta que la humedad máxima de un compost debe ser de 50% y, si se vende empacado, alrededor de 20% para evitar reacciones de fermentación. El mismo autor comenta que en Alemania el límite máximo es de 45% y si el producto se vende empacado, debe tener menos de 35% de humedad.

Los valores de densidad encontrados están todos por debajo del límite inferior considerado en la literatura de 0,48 a 0,50 g/cm³, (BIOAGRO s.f.). Ho Um y Lee (2001) sólo hacen referencia al límite superior para densidad aparente y lo establecen en 0,60 g·cm⁻³.

Se considera que los abonos orgánicos de calidad no deben tener más de 5% de piedras o materiales mayores de 0,5 cm (Brinton 2000). Esta es una medida a tener en cuenta para determinar calidad física del abono. Sólo tres de estos abonos cumplen con ese requisito.

El pH de las muestras analizadas varía entre 6,9 y 9,3. Hay siete muestras que presentan valores de pH mayores a 8,4. En los

abonos con pH alcalino puede producirse una pérdida de N. En Australia los valores estándares de pH están entre 5 y 7,5 (WRAP 2002). En Canadá (NSOGA 2002) consideran que el pH debe estar entre 5,5 y 7 y en EEUU, entre 6 y 7 (Brinton 2000).

Los valores de conductividad eléctrica encontrados están entre 2,1 y 16,9 dS/m. Se puede considerar que sólo tres abonos tienen un contenido óptimo de sales solubles (conductividad eléctrica menor a 3,5 dS/m (Ho Um y Lee 2001); Cedar Grove Certification (s.f.) recomienda valores entre 2,1 a 3,2 dS/m. Seis de estos abonos tienen como material base la pulpa de café, que es rica en potasio, esto sumado a los otros iones solubles, puede incrementar la conductividad eléctrica (Leal y Madriz s.f.). Soliva y Giró (1992) observaron conductividades eléctricas entre 4,04 y 5,8 dS/m al añadir excretas animales a la mezcla de compostaje. Diez de estos abonos tienen excretas animales en sus componentes.

Análisis químicos:

La determinación de materia orgánica en abonos orgánicos es un proceso que brinda una estimación de todas las sustancias que tienen C orgánico. Incluye formas de materia orgánica en diferentes etapas de degradación. Durante el compostaje, algunos compuestos de C se transforman en otros más estables y también se mineralizan y pierden C como CO₂. Ciertos abonos orgánicos considerados en este estudio posiblemente requieran mayor tiempo de compostaje y la acción de microorganismos especializados para descomponer los materiales más difíciles. La materia orgánica en este trabajo se analizó por dos métodos: el tradicional por oxidación ácida y por ignición en mufla. Por el método de ignición en mufla o calcinación, los valores fluctúan entre 31,4 y 80,9, mientras los mismos abonos analizados por oxidación ácida dieron resultados entre 10,3% y 33,4% (Figura 1). Los valores obtenidos por este último método indican que sólo se oxida parte del C contenido en el abono orgánico. Ciavata y otros (1989) señalan la inconveniencia de aplicar el método de oxidación ácida de Walkley and Black para determinar C en compost y otros materiales orgánicos. Granatstein (1997) afirma que este método tiende a subestimar los contenidos en materiales altos en materia orgánica como los composts.

El método considerado en el "Test de métodos para el análisis de caracterización

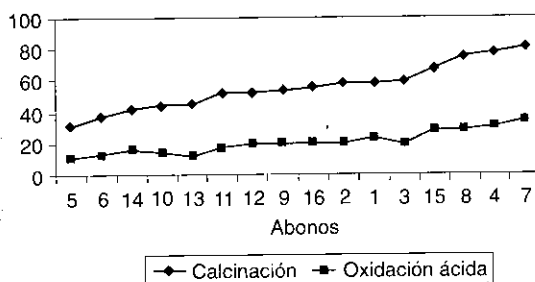


Figura 1: Porcentaje de materia orgánica de los abonos orgánicos, analizada por dos métodos diferentes.

de compost" publicado por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (U.S.D.A. 2 000) para materia orgánica, es el de pérdida por ignición o calcinación a baja temperatura (500 °C) y el C se calcula por medida del CO₂ desprendido. En este trabajo se consideraron para la discusión los datos obtenidos por el método de calcinación.

Todos los abonos superan el porcentaje mínimo de M.O. establecido por la Legislación Australiana y por la Comunidad Económica Europea que es del 25% de la materia seca, pero además hay que considerar que para que un abono esté maduro debe tener una reducción en el contenido de materia orgánica inicial de un 60% (Ho Um y Lee 2001).

Los porcentajes de C orgánico se obtuvieron multiplicando el porcentaje de materia orgánica por el factor 0,58 y estuvieron en el rango de 18% a 47% (Cuadro 3).

En el contenido de N total en un compost influyen los materiales iniciales y el proceso de compostaje, que puede originar pérdidas importantes de este nutrimento. Los estándares australianos consideran que si el producto se va a usar como fertilizante orgánico debe tener un mínimo de 0,8 % de N (WRAP 2002), condición que cumplen todos los abonos considerados en este estudio (Cuadro 3). Sin embargo la etiqueta ecológica en Europa exige además que el contenido de N no exceda el 2% (Brinton 2000) y ocho de los abonos analizados exceden ese límite. En BIOAGRO (s. f.) recomiendan entre 3% y 4% como porcentaje apropiado de N para un compost de calidad. Debe considerarse el uso que se va a dar a los abonos y las condiciones ambientales de la zona para poder establecer estándares apropiados.

La relación C:N en el producto final no es un buen indicador de madurez pero denota el éxito del proceso de compostaje en producir un producto final de características similares a la materia orgánica del suelo (Brewer y Sullivan 2003). Stevenson (1994) señala que en el humus dicha relación está entre 10 y 12.

Cuadro 3. Porcentaje de cenizas, materia orgánica, Carbono orgánico, Nitrógeno, relación C/N, C hidrosoluble y CIC de los diferentes abonos orgánicos.

Muestra N°	Cenizas %	M.O. por calcinación %	C orgánico %	N Total %	Relación C/N	C hidrosoluble g/ kg	C.I.C. de M.O. Cmol(+).l
1	41,87	58,13	34	1,8	18,47	3,1	92,38
2	42,49	57,51	33	2,6	12,81	3,1	118,24
3	40,83	59,18	34	1,9	18,30	9,9	107,82
4	22,37	77,64	45	4,2	10,65	3,7	126,75
5	68,59	31,41	18	1,0	17,56	3,7	133,72
6	62,30	37,70	22	1,2	18,27	3,1	122,55
7	19,04	80,96	47	2,1	22,63	12,4	65,83
8	25,39	74,61	43	2,9	14,86	12,4	97,71
9	46,60	53,41	31	2,5	12,27	3,7	117,22
10	56,02	43,99	26	1,6	16,29	3,1	152,32
11	48,25	51,76	30	2,6	11,75	3,7	146,07
12	47,88	52,12	30	1,8	17,32	n.d.	92,38
13	54,82	45,18	26	1,6	16,52	n.d.	118,24
14	58,60	41,40	24	1,8	13,52	n.d.	107,82
15	32,62	67,38	39	3,0	13,28	n.d.	126,75
16	45,00	55,00	32	2,2	14,40	n.d.	133,72

n.d = no determinado

California Compost Quality Council (2001) establece que dicha relación debe ser igual o menor a 25 para aplicar otros métodos de madurez con posterioridad. La Dirección General de Tecnología Agraria de Zaragoza (2000) indica que este parámetro debe presentar valores lo más cercanos a 15 y que su interpretación es muy difícil.

La mitad de las muestras analizadas dieron una relación C:N entre 10 y 14, considerada como muy buena para la finalización de un abono orgánico. De las restantes, siete muestras tuvieron una relación C:N entre 15 y 20 y el abono con burucha y cerdaza dio superior a 20 (Cuadro 3). Una relación C:N superior a 20, significa que ese abono puede liberar nitrógeno muy lentamente (C.I.W.M.B 2002). La relación C:N desciende a medida que el compost se va madurando o estabilizando. Para que esta medida sea útil, es necesario conocer su valor al comienzo, durante y al final del proceso.

El C hidrosoluble es usado en algunos casos como medida de estabilidad para abonos orgánicos. Hue y Liu (1995) proponen como índice: C hidrosoluble \leq a 10 g de C por kg

de material. De los 11 abonos a los que se les realizó el análisis, uno casi alcanza este valor y otros dos superan el límite propuesto y serían considerados inmaduros. Este método al requerir que se seque una alícuota de extracto acuoso para realizar la determinación, puede resultar demasiado lento para incorporarlo como medida de rutina en un laboratorio.

Los valores encontrados para CIC están entre 65,8 y 152,3 cmol(+)/kg sobre la base del material libre de cenizas (Cuadro 3). Este parámetro tiene interés por el valor agronómico que representa y también porque tiene una relación directa con el grado de estabilidad de la materia orgánica del abono (Dirección General de Tecnología Agraria de Zaragoza, 2000). Van Dijk (1971), citado por Erhart y Burian (1997), considera que la capacidad de intercambio de la materia orgánica está entre 150 y 400 cmol (+)/ kg. En nuestro estudio sólo una muestra alcanza el valor mínimo considerado.

Los resultados de los nutrientes disponibles se muestran en el Cuadro 4. El calcio da valores en un ámbito desde bajo (2,4 cmol(+)/l) hasta muy alto (27 cmol(+)/l). El Mg

fluctúa entre 2,6 y 17,1 cmol(+)/l y el K está alto en todos los abonos (4,64-32,75 (cmol(+)/l). En la mitad de los abonos caracterizados, los niveles de K disponible son mucho más altos que los de Ca y Mg pudiendo presentar problemas de salinidad y alteración en las relaciones catiónicas y absorción de nutrimentos por las plantas.

El contenido de P varió desde 35 mg/l hasta 1.600 mg/l. Ho Um y Lee (2001) comentan que pueden liberarse entre 13,6 y 80,7 mg/kg de fosfato soluble a partir de un suelo que contenga 1.600 mg/kg de fosfato. Aunque el fosfato es fácilmente fijado por el suelo, pequeñas concentraciones pueden causar eutroficación de lagos y ríos (0,02-0,07 mg/l). Brinton (2000) transcribe valores de P y K recomendados en Alemania, Austria y USA para composts categoría "Mezcla para potes". Un promedio de estos valores sería para P menos de 400 mg/l (nueve abonos sobrepasan este límite y para K menos de 1.500 mg/l (todos los abonos tienen contenidos de K superiores al recomendado en ese estudio).

El análisis de los contenidos totales de nutrimentos varía ampliamente y no se puede

deducir cuánto de esos contenidos estará disponible para los cultivos ni en cuánto tiempo, pero éste es uno de los parámetros que se solicita actualmente en el país para registrar un abono orgánico. El porcentaje de disponibilidad de los nutrimentos analizados varía desde 0,6% para P hasta 97% para Ca.

En el Cuadro 5 se observa que el N total varía entre 1,04 y 4,24%; El P entre 0,12 y 1,30%. EL K está entre 0,4 y 5,6%; el Ca presenta valores entre 0,83 y 1,89% y el Mg fluctúa entre 0,13 y 1,58%. De los elementos menores los únicos que consideran las normativas internacionales son los contenidos de Cu y Zn y los abonos analizados no presentan problemas dentro de los rangos establecidos, aunque las normativas varían mucho en los estándares para estos parámetros. La Comunidad Económica Europea considera apropiados para fincas orgánicas, valores de Cu menores a 70 mg/kg (Centemero *et al.* s.f.). Dos de los abonos estudiados sobrepasan ese límite.

Análisis biológicos:

La determinación del Índice de germinación (I.G.) indica la presencia de sustancias

Cuadro 4. Contenido de nutrimentos disponibles en los abonos orgánicos

Muestra Número	Cmol(+)/l				mg/l				
	Al	Ca	Mg	K	P	Zn	Mn	Cu	Fe
1	0,10	16,6	13,4	4,64	530	12,8	51	2	49
2	0,15	27,0	17,1	4,74	590	80,3	14	10	112
3	0,15	6,2	5,8	5,56	220	28,8	107	3	90
4	0,15	16,0	3,4	32,75	90	7,9	5	1	13
5	0,15	9,3	8,0	13,75	650	29,0	27	4	75
6	0,15	12,5	12,6	5,25	540	65,0	13	2	70
7	0,15	8,0	5,6	5,18	790	57,2	19	12	92
8	0,15	6,9	9,7	28,50	1600	56,1	22	14	62
9	0,15	18,7	12,3	5,58	480	79,5	5	5	69
10	0,15	5,9	2,6	5,43	390	10,4	97	97	189
11	0,15	14,3	7,8	29,50	35	16,6	16	16	132
12	0,15	2,4	13,4	16,75	1300	42,2	68	6	107
13	0,15	5,4	9,4	35,75	1600	43,1	59	9	60
14	0,10	14,3	4,3	6,25	80	13,1	12	4	79
15	0,10	9,6	5,4	20,00	100	7,5	60	4	100
16	0,15	7,3	4,4	16,00	100	9,0	117	4	188

Cuadro 5. Contenido total de elementos mayores y menores en diferentes abonos orgánicos.

Muestra Número	N	P	%		Mg	Cu	Mg/kg		
			K	Ca			Zn	Mn	Fe
1	1,83	0,26	2,6	1,04	0,95	17	144	212	582
2	2,61	0,24	5,6	1,12	0,61	17	141	179	704
3	1,88	0,19	1,7	1,55	0,30	11	28	37	550
4	4,24	0,19	1,8	1,51	0,35	13	32	28	507
5	1,04	0,60	0,6	1,48	0,58	49	112	338	859
6	1,20	1,00	0,7	1,47	0,68	185	177	335	880
7	2,08	0,55	1,1	0,86	0,34	47	101	362	875
8	2,92	0,21	2,6	1,56	0,19	47	60	145	769
9	2,53	0,24	0,9	1,02	0,40	70	98	384	850
10	1,57	0,38	0,7	1,25	0,56	68	152	476	861
11	2,56	0,54	1,6	1,34	0,36	53	158	179	860
12	1,75	1,10	3,2	1,89	1,58	49	142	486	770
13	1,59	1,30	2,3	1,80	0,61	102	141	481	801
14	1,78	0,15	0,4	1,67	0,22	81	67	356	794
15	2,95	0,20	2,5	1,17	0,38	64	68	341	795
16	2,22	0,12	0,7	0,83	0,13	54	51	390	771

fitotóxicas y se considera internacionalmente como uno de los test para determinar madurez de un compost. Combina la medida de dos variables: el porcentaje de germinación y la longitud de la radícula, después de 72 horas de incubación a 28 °C.

Los índices de germinación obtenidos fueron muy variables. Seis abonos tuvieron un I.G. inferior a 50. la Legislación Española establece ese porcentaje como límite inferior para considerar un abono como maduro (Dirección General de Tecnología Agraria 2000). Barberis y Nappi (1996) y Jodice (1989) citado por Helfrich y otros (1998) consideran que un I.G. > 70, indica un bajo nivel de sustancias fitotóxicas. Estos autores encontraron un nivel constante de I.G. > 80 después de los 105 días de compostaje.

La adición de abonos orgánicos al suelo dio, en todos los casos, un efecto positivo sobre el desarrollo de las plantas de sorgo en el experimento de invernadero, pero su magnitud varió para cada abono utilizado.

Considerando el rendimiento del testigo (suelo sin abono) igual a la unidad, en biomasa aérea la relación fluctuó desde 1:1,8 hasta 1:5,8 según los diferentes abonos orgánicos (Figura 3).

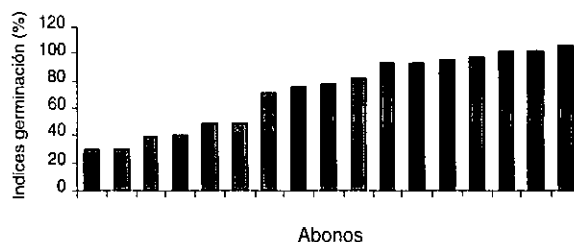


Figura 2: Índices de germinación de diferentes abonos orgánicos.

Los valores de biomasa microbial obtenidos en estos abonos (entre 0,42 y 3,36 mg C/g) se sitúan en los niveles medios y superiores. Vandevire y Ramírez (1995) establecen que un abono puede considerarse excelente como fertilizante si su contenido en C microbial es > 2 mg C/g. De los 11 abonos que se analizaron por este método, cuatro pueden considerarse de excelente calidad y los restantes como de mediana y buena calidad.

Al comparar los resultados del bioensayo microbiano para determinar el valor nutricional de los abonos estudiados con el rendimiento de las plantas de sorgo se obtuvo un coeficiente de correlación de 0,83 (Figura 4). Los autores que proponen este método para medir disponibilidad de nutrimentos en

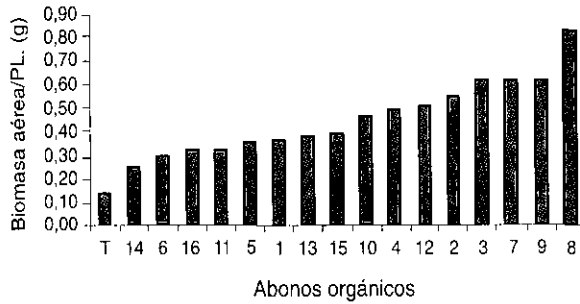


Figura 3: Biomasa aérea de sorgo en mezcla suelo: abono 9: 1.

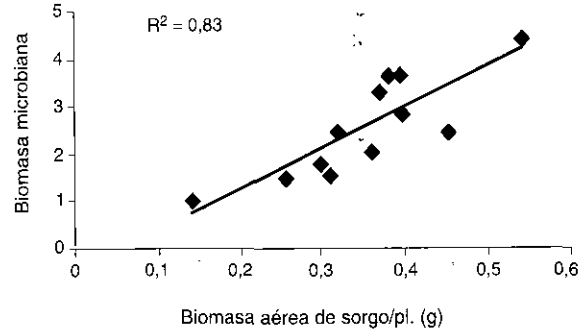


Figura 4: Correlación entre biomasa microbiana y biomasa aérea de sorgo en invernadero.

compost (Vandevire y Ramírez 1995), también señalan en su artículo la relación existente entre la biomasa microbiana y porcentajes de N, P y K disponibles. Este mismo bioensayo puede utilizarse para determinar estabilidad de los compost, midiendo la evolución del CO₂ en abonos sin incubar anteriormente con glucosa.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- El trabajo confirma la heterogeneidad de los abonos orgánicos disponibles comercialmente en el país.
- Señala la necesidad de determinar calidad de abonos orgánicos según uso, con la menor cantidad de análisis por muestra y priorizar cuáles deben ser esos análisis. Además se deben establecer estándares nacionales para diferentes parámetros que puedan indicar calidad y un etiquetado apropiado para los abonos orgánicos.
- Algunos de los parámetros considerados en este estudio que podrían considerarse como métodos de rutina en laboratorios son: Tamaño de agregados (tamizado según se suministre la muestra); porcentaje de humedad; conductividad eléctrica; materia orgánica; C y N totales, nutrientes disponibles por bioensayo microbiano, índice de germinación y contenido total de nutrientes.

- El abono destinado para uso en potes para invernaderos o para semilleros debe ser de mayor calidad (muchos de los parámetros aquí considerados son para ese uso). Cuando el abono se aplica en el campo no es siempre necesario o deseable que esté muy maduro.
- Para cultivos desarrollándose activamente los abonos jóvenes que tienen una relación C:N < a 20 pueden ser rápidamente mineralizados y liberar nutrientes. Los abonos maduros y con una mayor relación C:N pueden contribuir más a aumentar el nivel de humus y liberar nutrientes a largo plazo. Estos criterios son importantes para poder establecer parámetros, métodos y estándares apropiados para abonos orgánicos según el uso que se desee darles.

AGRADECIMIENTO

A los agricultores y casas comerciales que donaron muestras para este estudio, y a la Lic. Paulina Montes de Oca, de la Universidad Nacional, por su colaboración desinteresada.

LITERATURA CITADA

- Barberis, R.; Nappi, P. 1996. Evaluation of compost stability. *In: The Science of Composting*. Chapman y Hall. p. 175-184.

- Bidlingmaier, W. 1993. The history of the development of compost standards in Germany. *In*: Hoitink A.J. y Keener H.M. (ed.). Science and engineering of composting: design, environmental, microbiological and utilization aspects. The Ohio State University, pp: 536-544.
- BIOAGRO s.f. Biofertilizantes 100% orgánicos. Composición físico-química del compost. (En línea). Consultado 17/07/03. Disponible en: www.montevideo.com.uy/bioagro
- Brewer, L. J.; Sullivan, D. M. 2003. Maturity and stability evaluation of composted yard trimmings. *Compost Science and Utilization* 11 (2): 96-112.
- Brinton, W. F. 2000. Compost quality standards & guidelines. Final report. Woods End Research Laboratory, Inc. New York State Association of Recyclers. 42 p.
- California Compost Quality Council. 2001. Compost maturity index. (En línea) Consultado 15/07/03. Disponible en: www.ccqc.org,
- California Integrated Waste Management Board (CIWMB). 2002. Compost quality: performance requirement. Organic materials management (En línea). Consultado 23/07/03. Disponible en: www.ciwmb.ca.gov/Organic.
- CEDAR GROVE. (s.f.). Product certification & testing (En línea). Consultado 22/09/03. Disponible en: www.cedargrovecertification.
- Corporación Educativa para el Desarrollo Costarricense (CEDECO). 1998. Estado actual de la agricultura orgánica en Costa Rica. San José. Costa Rica. Avance de resultados N°3, Noviembre.
- Centemero, M; Ragazzi, R; Favoino, E. 1999. Label policies, marketing strategies and technical developments of compost market in the European Counties (En línea). Consultado 04/08/03. Disponible en www.orbit99-centemero.com.
- Ciavatta C., Antisari, L.; Sequi, P. 1989. Determination of organic carbon in soils and fertilizers. *Commun. In Soil Sci. Plant Anal* 20 (7-8):759-773.
- Dirección General de Tecnología Agraria. 2000. Producción y gestión del compost. (En línea).
- Departamento de Agricultura del Centro de Técnicas Agrarias de Zaragoza, España. Informaciones Técnicas Núm. 88. 32p. Consultado 15/07/03. Disponible en: www.agricologica.com.
- Erhart, E.; Burian, K. 1997. Evaluating quality and suppressiveness of Austrian Biowaste Composts. *Compost Science & Utilization* 5 (3): 15-24.
- Granatstein, D. 1997. Laboratory comparison study completed. The Compost Connection for Washington Agriculture No. 4. Washington State University Cooperative Extension. 4p.
- Helfrich, P.; Chefetz, B.; Hadar, Y.; Chen, Y.; Schnabl, H. 1998. A novel method for determining phytotoxicity in compost. *Compost Science & Utilization* 6 (3): 6-13.
- Ho Um M.; Lee, Y. 2001. Quality control for commercial compost in Korea. National Institute of Agricultural Science and Technology (NIAS), Suwon, Korea. (En línea). Consultado 10/09/03. Disponible en: www.Agnet.org/library/article.
- Hue, N.V.; Liu, J. 1995. Predicting compost stability. *Compost Science & Utilization* 3 (2): 8-15.
- Imbar, Y.; Chen, Y.; Hadar, Y.; Hoitink, H.A.J. 1990. New approaches to compost maturity. *BioCycle* 31 (12): 64 - 69.
- Ingram, Dewaine L.; Henley, Richard W.; Yeager, Thomas H. Diagnostic and monitoring procedures for nursery crops. Circular 556. Florida Cooperative Extension Service. University of Florida s/f. p 25.
- Leal, N.; Madriz de Cañizales, C. s.f. Compostaje de residuos orgánicos mezclados con roca fosfórica. *Agronomía Tropical* 48: 335-357. (En línea). Consultado 29/09/03. Disponible en: www.redpav-fpolar.info.ve.
- Melgarejo M.; Ballesteros M.; Bendeck M. 1997. Evaluación de algunos parámetros físico-químicos y nutricionales en humus de lombriz y composts derivados de diferentes sustratos. *Revista Colombiana de Química* 26 (2).
- Nova Scotia Organic Growers Association (NSOGA). 2002. Compost quality. (En línea).

- Consultado 10/09/03. Disponible en: www.gks.com/NSOGA/compost.php3.
- Rojas, C. F. 1999. Memorias del taller la producción orgánica en Costa Rica: lineamientos para una estrategia concertada. 1a. Coronado, Costa Rica.
- Schweizer, S.; Coward, H.; Vázquez, A. 1980. Metodología para análisis de suelos, aguas y plantas. Boletín Técnico N° 68. Ministerio de Agricultura y Ganadería. 32 p.
- Shiralipour, A.; McConnell, D.B.; Smith W.H. 1997. Phytotoxic effects of a short-chain fatty acid on seed germination and root length of *Cucumis sativus* cv. "Poinset". *Compost Science & Utilization* 5 (2): 47 - 52.
- Soliva, M.; Giró, F. 1992. Composting of three kinds of residues of very different origin. *Acta Horticulturae* (302): 181-192.
- Stevenson, F. J. 1994. Electrochemical and ion exchange properties of humic substances. *In*: J. F. Stevenson (ed.). *Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. John Wiley and Sons, Inc., New York. p. 350-377.
- The Waste and Resources Action Programme (WRAP). 2002. Review of compost standards in Australia. Nation specific supplement 16. (En línea). Consultado 5/08/03. Disponible en: www.wrap.org.uk.
- USDA. 2000. Test methods for the examination of composting and compost. W.H. Thompson; P.B. Leege; P. Milner; M.E. Watson (ed.) U. S. Government Printing Office (En Prensa). Tabla de contenidos consultada 3/07/03. Disponible en: <http://tmecc.org>.
- Vandevivere, P; Ramírez, C. 1995. Control de calidad de abonos orgánicos por medio de bioensayos. *In*: Simposio centroamericano sobre agricultura orgánica. Ed. por J. A. García, J. Monge Nájera, O. Castañeda. UNED, San José, Costa Rica. p. 121-140.
- Zucconi, F.; Pera, A.; Forte, M. 1981. Evaluating toxicity of immature compost. *BioCycle* 22 (2): 54 - 57.

CONTROL BIOLÓGICO DE *Rosellinia bunodes* EN HELECHO HOJA DE CUERO (*Rumohra adiantiformis*), CON EL HONGO *Trichoderma lignorum*

Bernardo Mora¹, José Arturo Solórzano¹

RESUMEN

Una formulación comercial del hongo (*Trichoderma lignorum*) (Mycobac® 50 WP) se evaluó en el cultivo de Helecho Hoja de Cuero, en Follajes El Espino, Sabanilla de Alajuela, entre setiembre del 2002 y abril del 2003, para medir su eficacia como controlador biológico del hongo *Rosellinia bunodes*. El producto biológico formulado comercialmente se evaluó en las dosis de 40 y 20 gramos de producto comercial en cinco metros cuadrados (cinco repeticiones de un metro cuadrado cada una). Ambas dosis se aplicaron de forma curativa y preventiva en el cultivo, con el objetivo de realizar un control práctico del patógeno. El estudio se realizó de setiembre a abril con el fin de observar el desarrollo de la enfermedad durante los meses lluviosos (12 aplicaciones) y los meses de menor precipitación (seis aplicaciones). En el Laboratorio de Protección de Cultivos del INTA se determinó mediante la técnica de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) (Uribe 1999, Vélez y Montoya 1997), una buena recuperación del hongo *Trichoderma lignorum* en la dosis de 40 gramos en cinco metros cuadrados, aplicados de forma preventiva sobre plantas de *Rumohra adiantiformis* afectadas por *Rosellinia bunodes*, ejerciendo el hongo *Trichoderma* biocontrol de esta enfermedad (Freeman y Szejnberg 1997). Los resultados del estudio determinaron que el Mycobac® 50 WP fue eficiente para controlar al hongo *Rosellinia bunodes*, en el cultivo de Helecho Hoja de Cuero, al cabo de seis meses, aplicado de forma curativa o preventiva, en las dosis de 40 y 20 gramos de la formulación del hongo.

INTRODUCCIÓN

El Helecho Hoja de Cuero *Rumohra adiantiformis* constituye una especie ornamental de gran importancia económica, que se cultiva de forma intensiva en las faldas de la Cordillera Volcánica Central, en alturas que oscilan entre los 900 y los 1.800 metros sobre el nivel del mar; las plantaciones están distribuidas desde Juan Viñas en Cartago a San Ramón en Alajuela. La agroindustria de esta actividad genera gran cantidad de empleo, constituyendo un factor de desarrollo social y económico muy importante, en las comunidades donde se encuentran establecidas las plantaciones.

El cultivo de helecho tiene varias limitaciones agronómicas donde las plagas y las enfermedades de follaje y rizoma constituyen un papel importante, causando grandes pérdidas en el rendimiento, ya que el mercado internacional es bastante exigente en la calidad del producto.

El hongo *Rosellinia bunodes* y *R. pepo*, producen en Helecho Hoja de Cuero la pudrición del rizoma, que constituye una enfermedad de importancia económica, también muy conocida en el cultivo de café, cultivos maderables y otros frutales tropicales, donde *R. necatrix* = *Demathophora necatrix* es la de mayor importancia económica por su amplio

¹ Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria (INTA), Costa Rica.

grupo de hospederos (Sztejnberg 1980). En el cultivo de Helecho, el patógeno ha sido reportado pero aún no se conoce una forma eficiente de manejo de la enfermedad. El microorganismo se caracteriza por producir un marchitamiento gradual de las frondas, en cualquier etapa de desarrollo de la planta. Cuando la fronda es afectada en la fase de violín, su crecimiento se afecta de forma drástica. La fronda se marchita en el lapso de tres a cuatro semanas, su ráquis adquiere una coloración café y se dobla a la altura de la primera pinnula. Las pinnulas adquieren un color amarillento, y algunas personas lo denominan como "Vena amarilla". Cuando el rizoma es afectado en la fase adulta y la fronda esta totalmente abierta, se hace presente la característica vena amarilla de forma notoria (Mora 2003).

El hongo puede avanzar en los rizomas de uno a dos metros por año, razón por la cual algunos productores realizan cortes en las camas de helecho para aislar su avance. Se considera un habitante que puede sobrevivir de forma saprofítica atacando gran cantidad de hospederos. Se reporta en cultivos como café, papa, cacao, ornamentales y algunos árboles forestales. Prácticas culturales y control químico del hongo sí se conocen al presente, pero el control del hongo es muy limitado (Freeman y Sztejnberg 1997). Los Funguicidas Cloraneb, Penta cloro nitrobenzeno (PCNB), así como la fumigación con Bromuro de metilo, se reportan como productos eficaces para evitar el avance del hongo. El control biológico del hongo en el cultivo de Helecho de Cuero no se ha investigado en Costa Rica. Las pérdidas económicas causadas por esta enfermedad no se han cuantificado, pero en los parches afectados la pérdida es del 100 %.

El objetivo general del presente experimento fue evaluar una formulación del hongo *Trichoderma lignorum*, Mycobac® 50 WP para medir su eficacia biológica sobre el hongo *Rosellinia bunodes* en el cultivo de Helecho Hoja de Cuero.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en la Empresa Follajes El Espino localizada en Sabanilla de Alajuela, a una altura de 1.425 msnm. Los suelos son de origen volcánico del Orden Andisol. La zona presenta dos épocas climáticas bien definidas. Una lluviosa, de fines de abril a principios de diciembre, caracterizada por una alta humedad relativa; la otra se extiende de mediados de diciembre a fines de abril, la cual es de mínima o escasa precipitación y de menor humedad relativa. La temperatura mínima promedio en ambas épocas del año es inferior a 20 °C; lo cual ayuda en gran medida a la colonización del hongo; además de una Humedad Relativa apropiada para la infección del patógeno. El Cuadro 1 presenta los datos de clima durante la época en que se realizó el experimento.

El experimento se realizó durante los meses de setiembre del 2002 a abril del 2003, en los que se valoró el desarrollo del hongo en dos épocas climáticas bien definidas. El producto formulado Mycobac® 50 WP se evaluó con un diseño de Bloques Completos al Azar (BCA), con cinco repeticiones. La parcela total estuvo constituida por una área de 1,0 m x 1,0 m.

Los bloques para la evaluación de los diferentes tratamientos, se establecieron en áreas de baja, mediana y alta presión de inóculo, para mantener la homogeneidad de los bloques. Los tratamientos que se evaluaron fueron:

Tratamiento 1. 40 gramos de Mycobac® 50 WP para 20 litros de agua en cinco metros cuadrados de parcela útil, aplicados de forma preventiva. En la parcela se eliminaron todos los rizomas y posteriormente se sembraron de nuevo con helecho sano.

Tratamiento 2. 40 gramos de Mycobac® 50 WP para 20 litros de agua en cinco metros cuadrados de parcela útil, aplicados de forma curativa. En la parcela se dejó el helecho con

Cuadro 1. Datos de precipitación, temperatura y humedad relativa, en los meses de setiembre del 2002 a abril del 2003. Follajes el Espino, Sabanilla, Alajuela.

Mes	Precipitación	Temperatura		Humedad relativa	
		Mínima	Máxima	Mínima	Máxima
Setiembre	467,4	16,3	24,5	63,5	80,0
Octubre	488,0	18,3	27,9	66,5	80,0
Noviembre	176,7	15,5	26,4	55,1	79,3
Diciembre	14,1	15,9	26,4	52,5	71,8
Enero	11,6	15,5	26,7	47,6	61,9
Febrero	1,0	16,0	28,1	43,9	63,2
Marzo	73,1	15,9	27,4	45,0	68,0
Abril	42,3	14,6	28,2	48,8	68,0
Total / media	1.273,5	16,0	27,0	52,9	71,5

el objetivo de recuperarlo de la infección causada por el hongo.

Tratamiento 3. 20 gramos de Mycobac® 50 WP para 20 litros de agua en cinco metros cuadrados de parcela útil, aplicados de forma preventiva. (igual forma que en 1).

Tratamiento 4. 20 gramos de Mycobac® 50 WP para 20 litros de agua en cinco metros cuadrados de parcela útil, aplicados de forma curativa (igual forma que en 2).

Tratamiento 5. Testigo transplantado. En la parcela útil se eliminaron los rizomas y posteriormente se sembraron de nuevo con helecho sano.

Tratamiento 6. Testigo Absoluto. La parcela útil no recibió tratamiento.

Al Mycobac® 50 WP se le adicionó, Kemkol® 99 EC como activador para mejorar su eficacia. Las dosis a emplear y el orden de mezcla se realizaron siempre de la siguiente manera:

A. 1 litro de agua + 5 cc de Kemkol® 99 EC + buena agitación + 40 gramos de Mycobac® 50 WP + buena agitación. La mezcla se agregó a los restantes 19 litros de agua para la aplicación de los dos primeros tratamientos (100 %).

B. 1 litro de agua + 5 cc de Kemkol® 99 EC + buena agitación + 20 gramos de Mycobac® 50 WP + buena agitación, luego esta premezcla se adicionó a los restantes 19 litros de agua para la aplicación de los dos segundos tratamientos (50 %).

Se realizaron doce aplicaciones de Mycobac® 50 WP en el período de septiembre a diciembre (época lluviosa). En la época de verano se hicieron seis aplicaciones de enero a marzo (dos mensuales). La intensidad de la enfermedad se determinó por medio del conteo del total de plantas y plantas enfermas por parcela. El análisis de los resultados se realizó por medio de un análisis de variación (ANDEVA) y una prueba de rango múltiple de separación de medias (Duncan $P \leq 0,05$).

Análisis de Laboratorio: Recuperación del hongo

En el Laboratorio del Departamento de Protección de Cultivos del INTA se determinó las poblaciones del hongo aplicado, mediante cultivo en medio de Agar Nutritivo® en el cual se realizaron las evaluaciones y cuantificación de las Unidades Formadoras de Colonia UFC del hongo (Loynachan 1985).

La técnica de determinación de la eficacia biológica *in vitro* de los fungicidas según

Unidades Formadoras de Colonia (UFC), se realizó según metodología descrita por Loynachan, 1985 así como por Parkison y Coleman (1991), la cual se emplea para enumerar las poblaciones de microorganismos en diferentes productos (Vélez *et al.* 1997).

Este protocolo también es utilizado para cuantificar la calidad de los bioplaguicidas (Vélez y Montoya 1998, López *et al.* 1995). Consiste en la realización de diluciones seriadas 1/10 (10 ml del hongo en 90 ml de agua destilada esteril) hasta la dilución de 1×10^{-7} . Las diluciones se agitan a 80 rpm (Eberbach model 60 CY) durante 30 minutos y del sobrenatante se toman alícuotas de 0,1 ml que se siembran en medio de cultivo específico para el desarrollo de las colonias del hongo, después se dejan en incubación (Napco incubador model 303) a 23 °C por 96 a 120 horas. En general la composición del medio depende del microorganismo que se requiera identificar y enumerar (Parkison y Coleman 1991, Uribe 1999). Se cuenta el número de unidades de colonias formadas (UFC) que aparece en las placas de petri. En la Figura 1 se describe la metodología empleada.

El término UFC se refiere al momento en el que un microorganismo entra en contacto con el medio de cultivo y empieza a multipli-

carse formando una colonia de microorganismos que pueden verse y contarse. Por lo tanto, se determina que cada una de estas colonias es un microorganismo en la muestra inicial. Como en algunos de los casos una sola colonia puede formarse por más de un microorganismo, y se adoptó el término de unidades formadoras de colonia.

La preparación de los medios de cultivo se realizó en medio MARTIN®, y se adicionaron diluciones seriadas de las muestras tomadas de campo. Se colocó una alícuota de 0,1 ml en cada placa petri con medio de cultivo con las dosis correspondientes de cada producto evaluado. Los tratamientos se compararon con un testigo absoluto el cual consistió tanto del testigo del ensayo como un testigo de los bordes (testigo límite) de la plantación cercano al cultivo comercial, donde no se marcaron parcelas. Todos los tratamientos se colocaron en una incubadora a una temperatura de 23°C, la cual es la óptima para el desarrollo de las colonias del hongo. Los resultados se evaluaron a los cinco días después de inoculadas las placas petri. Se cuantificó únicamente las poblaciones del hongo de interés (*Trichoderma lignorum*). El mismo se confirmó mediante la observación en microscopio de luz.

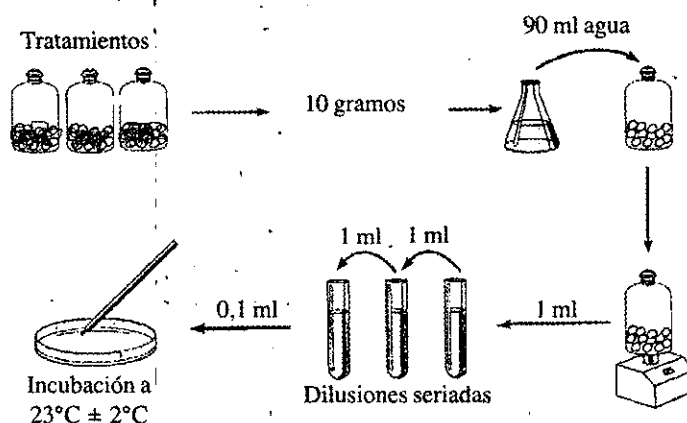


Figura 1: Metodología para la evaluación de microorganismos en el control biológico de plagas (Adaptado de Loynachan 1985 y Vélez y Montoya 1998).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el campo se evaluó la incidencia de la enfermedad en los diferentes tratamientos, además se determinó mediante análisis de laboratorio la colonización del medio donde se cultiva el helecho hoja de cuero. Los resultados se muestran en dos etapas: laboratorio y campo.

El comportamiento de los patógenos de suelo es impredecible, máxime si el microorganismo presenta un período de incubación prolongado.

Es posible que *Rosellinia* spp. sea un patógeno que en el cultivo de helecho su período de incubación sea de uno a dos meses. En el Cuadro 2, se presentan los datos de incidencia de la enfermedad obtenidos de setiembre del 2002 a abril del 2003.

Cuadro 2. Tratamientos y promedios de incidencia de *R. bunodes* en el cultivo de helecho hoja de cuero en dos fechas de evaluación. Hda. Alsacia, Follajes el Espino. Sabanilla, Alajuela. 2003.

Tratamiento	Primera evaluación 23-12-02	Segunda evaluación 10-04-03
Preventivo 40g (P 100)	0 a	2,6 a
Curativo 40 g (C 100)	10,2 ab	8,0 a
Preventivo 20g (P 50)	0 a	4,8 a
Curativo 20 g (C 50)	7,2 ab	13,2 a
Testigo de trasplante	0 a	10,4 a
Testigo Absoluto	15 b	25,6 b

Medias con igual letra en la misma columna, no son estadísticamente diferentes de acuerdo a la Prueba de Rangos Múltiples de Duncan ($P \leq 0,05$) (SAS 1998).

En la primera evaluación los dos Tratamientos Preventivos (40 y 20 g) y el Testigo de Trasplante, no presentaron incidencia de marchites del patógeno, a pesar de haber transcurrido más de tres meses de realizada la primera aplicación del controlador biológico. La explicación se debe a que los tres tra-

tamientos fueron sembrados con helecho sano, obtenido de áreas libres del patógeno.

El hongo presente en el suelo, debió causar la infección e iniciar un prolongado período de incubación, desarrollando los primeros síntomas de la enfermedad. La primera aplicación de Mycobac® 50 WP, se realizó el 10 de setiembre del 2002 y la primera evaluación se hizo el 23 de diciembre (104 días después). Es importante mencionar que entre los 55 y 60 días después de la primera aplicación se empezó a notar un amarillamiento alrededor de la vena de la pinnula, lo cual se considera un síntoma inicial de la enfermedad. Es probable que el período de incubación del hongo en el cultivo de Helecho, sea cerca de dos meses, máxime si se considera que en cultivos leñosos dura varios meses e incluso años, para que inicien los primeros síntomas, dependiendo del nivel de inóculo en el suelo.

Los dos tratamientos aplicados en forma curativa con Mycobac® 50 WP a las dosis de 40 y 20 g PC (producto comercial) tuvieron promedios muy similares. El tratamiento del Testigo Absoluto mostró la mayor incidencia con definida diferencia estadística con los tratamientos preventivos y el Testigo de Trasplante.

En la evaluación realizada en abril se aprecia que los dos tratamientos preventivos con Mycobac® 50 WP, mostraron niveles relativamente bajos de infección y que el tratamiento Testigo de Trasplante presentó un nivel de incidencia de la enfermedad de 10,4. Estos tres tratamientos en la primera evaluación no tuvieron presencia de la enfermedad debido al largo período de incubación del hongo como se explicó anteriormente. El tratamiento Testigo Absoluto se diferenció estadísticamente de los demás tratamientos, exhibiendo la mayor incidencia de la enfermedad. También es importante señalar la tendencia que existe en el tratamiento preventivo de superar al tratamiento curativo. Sin embargo, desde el punto de vista práctico el tratamiento curativo es el tratamiento ideal y económico en una plantación afectada por

parches de la enfermedad. Además, ambos tratamientos en un período de ocho a diez meses se llegan a uniformizar, debido a que el tratamiento transplantado se comporta de la misma manera que el no transplantado en cuanto al crecimiento fenológico del cultivo.

En el laboratorio se determinó las unidades formadoras de colonia del hongo aplicado *Trichoderma* sp. (Cuadro 3). En el mismo se observa que los tratamientos que mejor se adaptaron son Preventivo 40 g (P100) y Curativo 40 g (C100) tienen una recuperación muy buena del hongo *Trichoderma* sp. Los tratamientos testigo absoluto y testigo límite no mostraron unidades formadoras de colonia del hongo aplicado.

En el Cuadro anterior se observa que en los tratamientos testigo absoluto y testigo límite no hubo presencia del hongo *Trichoderma* spp. Esta conclusión nos permite visualizar el efecto supresivo de *Rosellinia bunodes* que se ejerció sobre las parcelas aplicadas por el hongo *Trichoderma lignorum*. En el caso de los tratamientos Curativo 100 y 50 no se produjo esporulación a los cinco días de evaluación (Figura 2), por lo tanto este tratamiento no se adaptó de la forma en que sí lo hizo el tratamiento P100 en el cual se determinaron altas poblaciones del hongo esporulado (conidias), esta situación permite una mayor reproducción en campo del controlador biológico aplicado. El tratamiento Preventivo P50 no mostró poblaciones del hongo *Trichoderma*, por lo que su dosis aplicada dista

de la requerida para ejercer un buen control de la enfermedad en campo (Figura 2).

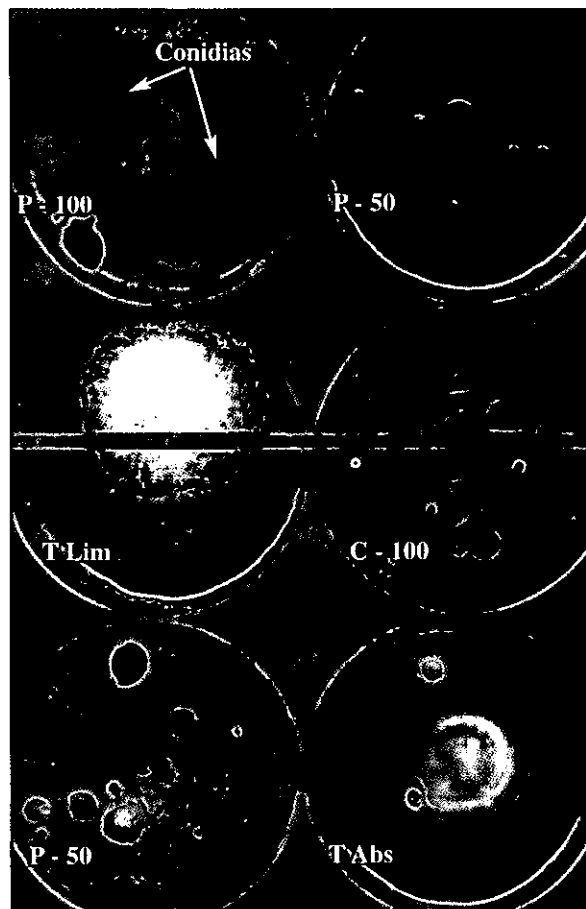


Figura 2: Unidades formadoras de colonia de hongos según tratamientos aplicados (1X105) en medio de cultivo Martin. Follajes el Espino, Sabanilla, Alajuela, 2003.

Cuadro 3. Crecimiento en medio de cultivo Martin del hongo *Trichoderma* spp. según tratamiento y dilución. Laboratorio de Protección de Cultivos. INTA, 2003.

Tratamiento/ días	Diluciones				Observaciones
	1X10 ³	1X10 ⁴	1X10 ⁵	1X10 ⁶	
1. Preventivo 100	>100	4	8	13	Diluciones 5 y 6 muy esporuladas
2. Preventivo 50	0	0	0	0	Pocos contaminantes
3. Testigo Límite	0	0	0	0	Contaminantes, <i>Aspergillus</i>
4. Curativo 100	>50	>40	5	0	No esporulado, solo micelio
5. Curativo 50	Cont	2	6	3	No esporulado varios contaminantes
6. Testigo Absoluto	0	0	0	0	Pocos contaminantes

CONCLUSIONES

Del presente estudio se concluye que el controlador biológico Mycobac® 50 WP, cuyo ingrediente activo es el hongo *Trichoderma lignorum* fue efectivo para controlar a *Rosellinia bunodes*, en helecho, en su forma preventiva o curativa, en las dosis de 40 y 20 gramos, distribuidos en cinco metros cuadrados, en un volumen de 20 litros de agua aplicados con regadera. Además, no se observaron otros efectos colaterales dañinos al cultivo que pudiera causar el controlador biológico sobre el cultivo.

LITERATURA CITADA

- Bianchini, C. 1958. Las llagas del café en Costa Rica. San José. Ministerio de Agricultura e industrias. Boletín Técnico N° 21. 30 p.
- Bermúdez, M., Carranza, J. 1990. Patogenicidad de *Rosellinia bunodes* en el jaúl (*Alnus acuminata*). Agronomía Costarricense 14 (2): 181-188
- García, J., y Tora R. 1995. Las enfermedades del manzano. Vida Rural: Revista de Campo. Año II N° 18: pp 62-68.
- Fundación Salvadoreña para Investigaciones del Café, 1996. Manejo integrado de la podredumbre negra de la raíz del cafeto (*Rosellinia* sp). Boletín Técnico N° 2. 8 p.
- Freeman, S.; Szejnberg, A. 1997. *Rosellinia*. In Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. Ed Singleton, L.; Mihail, J.; Rush, C. APS. St Paul Minnesota. USA. 71-73.
- López, J.C.; Rivera, A.; Bustillo, A.; Chávez, B. 1995. Persistencia de *Beauveria bassiana* (Bals.) en el suelo con el transcurso del tiempo. Revista Colombiana de Entomología 21(4): 173-176.
- Loynachan, T.E. 1985. Soil biology: Laboratory manual for agronomy No. 485. Iowa State University, Ames, Iowa, USA. 78p.
- Mora, B. 2003. Actualización sobre aspectos fitosanitarios y regulaciones comerciales en el cultivo de helecho hoja de cuero (*Rumorha adiantiformis*). Seminario Servicio Fitosanitario del Estado. MAG. San José, Costa Rica. 45p.
- Parkison, D; Coleman, D.C. 1991. Methods for assessing soil microbial populations, activity and biomass. Agriculture, Ecosystems and Environment 34:3-33
- Ruiz, Serna. L; Leguizamón C, J. 1996. Efecto del contenido de materia orgánica del suelo sobre el control de *Rosellinia bunodes*, con *Trichoderma* spp. Cenicafé 47 (4): 179-186. 1996.
- Szejnberg, A., Madar, Z. 1980. Host range of *Dematophora necatrix*, the cause of white roots in fruit trees. Plant Dis. 64:662-664.
- Uribe. L. 1999. Técnicas microbiológicas para determinar la calidad de suelos y productos biológicos. In: Memorias Taller Manejo de la Biología del suelo para la agricultura de hoy. CIA Centro de Investigaciones Agronómicas, Microbiología de suelos, Universidad de Costa Rica, San José. Costa Rica. p. 1-13.
- Velez, A. P.; Montoya, R. E. 1998. Supervivencia de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en dos localidades cafeteras colombianas. CENICAFE, 49(1):51-71
- Velez, A.P., Posada, F.; Marín, P.; González, M^{AT}.; Osorio, E.; Bustillo, A. 1997. Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. Boletín Técnico. No. 17 CENICAFE. Chinchina, Caldas. Colombia. 37p.

ACONDICIONAMIENTO TÉRMICO DE LIMA PERSA (*Citrus latifolia* Tan): CUALIDADES DEL FRUTO DURANTE ALMACENAMIENTO REFRIGERADO

Francisco Marín¹, Sergio Hernández², Sandra Sabório¹

RESUMEN

Aplicando estándares internacionales de calidad se recolectaron frutos de lima persa de la plantación de la Estación Experimental Enrique Jiménez Núñez, ubicada en Cañas, provincia de Guanacaste. Las limas fueron sometidas a inmersión en agua caliente a tres temperaturas (18, 49 y 53 °C) y a cuatro sistemas de acondicionamiento (con y sin encerado; empacadas en bolsa plástica o granel). Posteriormente fueron almacenadas en cámara fría a una temperatura de 10 °C, con el fin de aumentar la vida de almacenamiento. Se realizaron evaluaciones quincenales durante 90 días, en las que se valoró: color de la piel, oleocelosis y algunas variables bioquímicas. Se encontró que los frutos sumergidos en agua a 18 °C y sin encerar, presentaron mejores condiciones para mercado fresco en cuanto a color y contenido de jugo, hasta alcanzar 75 días de almacenamiento; para 49 °C hubo una tendencia a disminuir la expresión de oleocelosis y en el caso de 53 °C se afectó la calidad debido a daño por calor y cambios acelerados en coloración. Se propone realizar estudios más detallados del efecto de la temperatura como proceso de curado así como del tipo y concentraciones de ceras orientando la atención hacia las características externas del fruto más que hacia el contenido de jugo o sus cualidades internas.

INTRODUCCIÓN

En vista de que durante el almacenamiento refrigerado de los cítricos se presentan daños por frío, enfermedades y ablandamiento por deshidratación, se han desarrollado muchos trabajos relacionados con el acondicionamiento de estos frutos (Artés 1999). El agua caliente se ha empleado como elemento básico de un sistema de curado que ha permitido lograr un control de plagas y enfermedades (Couey 1989) y reducir el daño fisiológico (Artés 1999).

Sin embargo, la respuesta a este tratamiento entre las diferentes especies de cítri-

cos es muy diferente (Lafuente *et al.* 2001). En pomelos, las inmersiones en agua caliente a 51-54 °C durante dos minutos, han sido eficaces para reducir podredumbres (Ben-Yehoshua *et al.* 2000). En limones no se observó un efecto positivo del tratamiento de frutos con agua caliente a 53 °C por más de cinco minutos (Rodov *et al.* 1995).

El principio del efecto del agua caliente se basa en la inducción de proteínas de termotolerancia y la alteración de la respuesta de las membranas, factores que permiten almacenar bajo condiciones de inferior temperatura o con productos hasta ese momento incompatibles (Artés 1995). Con base en ello

¹ Area Poscosecha, Dirección Calidad Agrícola, Consejo Nacional de Producción. Costa Rica

² Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria (INTA). Costa Rica

podrían lograrse cambios en las actuales recomendaciones para almacenamiento de lima persa, que son una temperatura entre 9 y 10 °C y humedad relativa de 90 a 95 %, que aumentan la vida de almacenamiento de 45 a 75 días (Artés 2001).

El objetivo del presente ensayo fue evaluar algunas opciones preliminares de acondicionamiento térmico y su efecto sobre la calidad de frutos de lima persa bajo condiciones de almacenamiento refrigerado.

MATERIALES Y MÉTODOS

En diciembre de 2000, fueron recolectadas limas persa (*Citrus latifolia* Tan.) obtenidas sobre patrones de *C. volkameriana*) de las plantaciones de cítricos de la Estación Experimental Enrique Jiménez Núñez, la cual se encuentra ubicada en Cañas, Prov. Guanacaste, Costa Rica; a una altitud de 17 msnm, con temperaturas medias de 27 °C, 2.500 mm de lluvia al año y una estación seca bien definida que va desde diciembre hasta mayo. Aplicando un estándar comercial de cosecha, se seleccionaron frutos con diámetros entre 4,5 y 5,5 cm, de color verde intenso y con no más de un 10 % del área decolorada producida por contacto entre ellos. El material fue transportado por tierra en horas frescas de la tarde hasta el Laboratorio de Tecnología Poscosecha de la Universidad de Costa Rica, en donde fue desarrollado el experimento.

Se tomaron veinticinco frutas al azar y se caracterizaron, con la finalidad de establecer las cualidades del lote antes del almacenamiento.

Con el resto del material, se conformaron tres grupos de 384 frutos, los cuales fueron sumergidos en agua a 18, 49 o 53 °C y sometidos a inmersión en una solución de hipoclorito de sodio a 150 mg/l, en ambos casos por dos minutos.

Cada uno de los grupos fue dividido en dos subgrupos de 192 unidades; a uno se le aplicó cera (Sta-Fresh 705 de FMC al 0,50 %) por inmersión durante un minuto y el otro permaneció sin encerar.

De seguido, la mitad de cada subgrupo (96 unidades) fue empacada a granel (G) o en bolsas con perforaciones (B), en este caso en grupos de 4 unidades. Los diferentes tratamientos se colocaron en cajas comerciales de cartón corrugado de 34 x 30 x 12 cm, con 8 % de ventilación.

Las cajas fueron almacenadas al azar en una cámara de refrigeración cuya temperatura fue de 10 °C y 80-90 % de humedad relativa, y se rotaron cada dos semanas. Cada 15 y hasta cumplir con 90 días, fueron evaluadas cuatro repeticiones de cada tratamiento, para un total de 16 frutos por tratamiento. Las variables estudiadas fueron: color (según intensidad del color verde detallada en el Cuadro 1), contenido de jugo (como porcentaje en masa) extraído manualmente (mínimo 35 %), contenido de sólidos solubles totales (empleando refractómetro de mano ATACO), acidez (como porcentaje de ácido cítrico), índice de madurez (relación Brix/acidez titulable, mayor que 1) y severidad de oleocelosis (como porcentaje del área afectada, máximo 5 %, Cuadro 2).

Para evaluar el efecto de la temperatura del agua sobre las variables, los datos se

Cuadro 1. Valores asignados para coloración de lima persa.

Grado	Característica
1	Verde oscuro intenso
2	Verde claro
3*	Más verde que amarillo
4	Más amarillo que verde
5	Amarillo

* Con base en experiencias previas de los autores el grado tres para el color, se seleccionó como máximo para la venta de fruta fresca.

Cuadro 2. Valores asignados para severidad de oleocelosis.

Grado	Característica
0*	Hasta 5 %
1	Desde 5,1 hasta 10 %
2	Desde 10,1 hasta 25 %
3	Desde 25,1 hasta 50 %
4	Más de 50 %

* Se consideró un 5% el valor máximo permisible para venta de fruta fresca (límite 0-1).

agruparon por separado para cada período de almacenamiento y se procedió a analizarlos mediante un diseño de bloques completos al azar arreglado en parcelas divididas, donde la parcela grande fue la temperatura (18, 49 y 53 °C), la subparcela el encerado (con-sin) y la sub-subparcela el tipo de empaque (con-sin bolsa). Los análisis de varianza se establecieron por medio del programa SAS y las diferencias entre medias se obtuvieron por medio de la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSION

La caracterización inicial de los frutos del lote se presenta en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Características de los frutos de lima persa del lote para ensayo*.

Variable	Valor
Masa	104,3 ± 16,3 g
Diámetro	5,6 ± 0,3 cm
Longitud	6,3 ± 0,5 cm
Contenido de jugo	34,0 ± 11,7 % (m/m)
Sólidos Solubles Totales	7,3 ± 0,5 %
Acidez	6,5 ± 0,6 %
pH	2,4 ± 0,3

* Lecturas promedio de 25 unidades.

Estas características se encuentran dentro de lo estipulado por la normativa de FAO-OMS (1999), en la que se indica un diámetro no menor de 40 mm, En el caso de porcentaje mínimo de jugo, se ha establecido que no

sea inferior a 42%, sin embargo esta variable alcanzó un promedio de 34 % con una desviación estándar de 11,7, situación que podría estar afectada por diferencias en la aplicación de cosecha, al utilizar casi de manera exclusiva, el diámetro de la fruta como indicador.

Otras variables como contenido de sólidos solubles totales y acidez, no se consideraron en la normativa, pero fueron descritos con fines ilustrativos.

Color de los frutos:

El color de los frutos sometidos a los tratamientos descritos, permaneció con condiciones comerciales adecuadas hasta los 30 días, según los niveles indicados en el Cuadro 1. Así, los rangos para color fueron entre 1,44 y 2,50 en los frutos tratados agua a 18 °C, 1,25 y 2,19 en el tratamiento con agua a 49 °C y entre 2,25 y 2,75 en el tratamiento de frutos con agua a 53 °C, sin embargo, en este último tratamiento, en los frutos sin encerar a granel el grado de color fue 3,31.

A partir de 45 días de almacenamiento, se iniciaron cambios más evidentes en la expresión de esta variable, con diferencias significativas para los tratamientos. El grado de coloración de los frutos en el 75 % de los tratamientos sometidos a 53 °C fue superior al grado tres, el cual es el máximo permitido para la comercialización de lima persa como fruta fresca. Los frutos que mantuvieron las mejores condiciones de color, fueron aquellos que no se enceraron, pese a que se observó un valor ligeramente superior en el caso de frutos sometidos a 18 °C y empacados a granel (Cuadro 4).

Este comportamiento se observó con mayor claridad a los 60 días de almacenamiento, momento en el cual frutos sin encerar y empacados a granel y tratados con agua a 18 °C y sin encerar empacado en bolsa -y tratados con agua a 49 °C- fueron significativamente iguales ($p \leq 0,26$) y presentaron los mejores valores de color (Figura 1).

Cuadro 4. Color de limas persa tratadas con agua a diferentes temperaturas, procesos de acondicionamiento y tiempos de almacenamiento.

Temperatura del agua (°C)	Tratamiento	Período de almacenamiento (en días)*		
		45	60	75
18 °C	Cera+bolsa	2,56 c		
	Cera+granel	3,06 bc		
	Sin cera+bolsa	2,62 cd	3,00 abc	3,00 b
	Sin encerar+granel	3,12 b	2,50 c	2,50 c
49 °C	Cera+bolsa	3,62 ab	3,00 abc	
	Cera+granel	2,94 c	3,58 ab	3,24 ab
	Sin cera+bolsa	2,50 cd	2,87 bc	3,61 a
	Sin encerar+granel	2,18 d	3,00 abc	
53 °C	Cera+bolsa	3,69 ab		
	Cera+granel	2,75 c		
	Sin cera+bolsa	3,06 bc	3,56 a	3,41 ab
	Sin encerar+granel	4,19 a		

* Valores en columna con la misma letra no difieren significativamente entre sí (5 %).

Otros tratamientos permitieron frutos con condiciones aparentes aceptables (diferencia no significativa), pero frutos encerados y empacados a granel tratados con agua a 49 °C fueron significativamente más amarillos que los demás.

A 75 días de almacenamiento, el único tratamiento que exhibió coloración adecuada fue el de inmersión de los frutos en agua a 18 °C empacados a granel y sin encerar, con un

valor de color de 2,5 y significativamente menor que los otros y que además fue también el de menor valor absoluto en el periodo de 60 días.

Los frutos tratados con agua a 18 °C sin encerar mantienen una tendencia a conservar los valores para color y esto coincide con observaciones de otros ensayos desarrollados en forma paralela (Marín, Hernández y Saborío 2003).

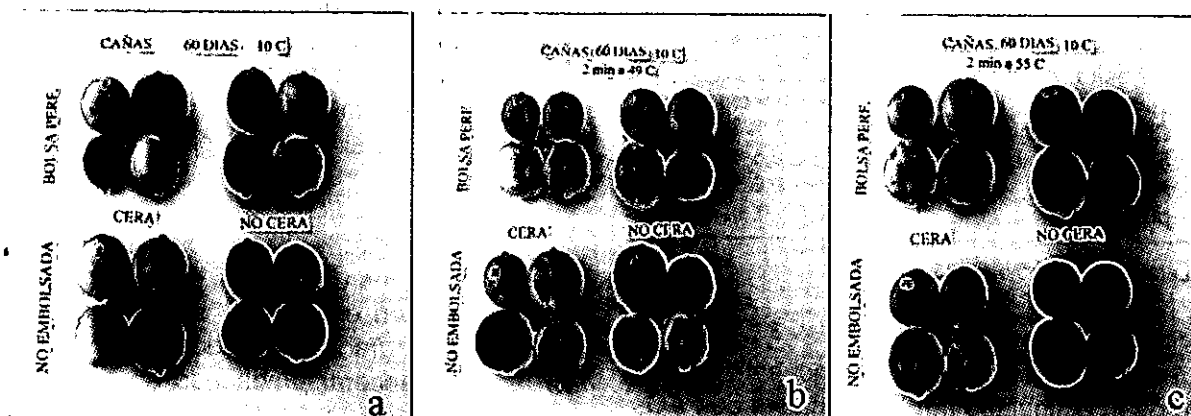


Figura 1: Contraste de color para frutos de lima persa almacenados a 10 °C por 60 días, luego de haber sido sometidos a inmersión en agua a 18 °C (a), 49 °C (b) o 53 °C (c). Se incluyen dos tipos de acondicionamiento (sin cera o con cera) o empaque en bolsa perforada (arriba) o a granel (abajo).

Oleocelosis:

Los valores máximos de severidad de oleocelosis en frutas tratadas con agua a 18 °C y almacenadas por 30 días fueron de 0,25, pero en el caso de los tratamientos con agua a 49 y 53 °C no se presentó este problema.

Después de 45 días de almacenamiento, se observaron altos valores para oleocelosis en frutos sumergidos en agua a 18 y a 53 °C. Este comportamiento se mantuvo para posteriores períodos de observación, en los cuales se presentaron valores absolutos superiores. Someter los frutos a una inmersión en agua a 49 °C, parece haber evitado la expresión de altos niveles de oleocelosis, aunque los valores de frutos a 18 o 53 °C por lo general, no fueron mayores al valor máximo permitido de uno (Cuadro 5). En pomelos este mismo efecto fue detectado por Artés (1999).

Para 60 días de almacenamiento, los valores de severidad de oleocelosis en los frutos sumergidos en agua a 18 °C oscilaron entre 0,5 y 1,06 y entre 0,00 y 0,25 para los frutos expuestos en agua a 49 °C. A los 75 días los rangos fueron entre 0,56 y 0,81 y entre 0,00 y 0,13, para las temperaturas de inmersión de 18, 49 y 53 °C respectivamente.

Contenido y características del jugo

Los mayores contenidos de jugo fueron observados de forma consistente, en frutos tratados con agua a 53 °C (Cuadro 6), aunque eso se justificaría por un mayor ablandamiento de los frutos lo cual facilitó la extracción. Por otro lado, frutos sometidos a inmersión en agua a 49 °C, mostraron mayor dificultad para la extracción, lo que se podría comprender con base en una mejor conservación de la textura. Esto podría explicar también la menor severidad de oleocelosis, según fuera descrito anteriormente. La tendencia se mantuvo a través de las evaluaciones hasta alcanzar los 75 días y los tratamientos que presentaron color aceptable (para 18 °C frutos sin encerar; para 49 °C, frutos encerados y a granel y sin encerar y en bolsa plástica) exhibieron contenidos de jugo entre 34,4 y 43,8 % m/m.

Igual que en las otras variables analizadas, los frutos sin encerar y empacados en bolsa, permanecieron hasta los 75 días. Sin embargo, de acuerdo con la normativa FAO-OMS (1999), solamente frutos expuestos a agua a 18 °C cumplirían con el mínimo aceptable de 42 % de jugo. A su vez, estos tratamientos exhibieron un grado de color dentro del rango admisible.

Cuadro 5. Severidad de oleocelosis en limas persa sometidas a agua a diferentes temperaturas, procesos de acondicionamiento y tiempos de almacenamiento.

Temperatura del agua (°C)	Tratamiento	Período de almacenamiento (en días)*		
		45	60	75
18 °C	Cera+bolsa	0,50 a		
	Cera+granel	1,19 b		
	Sin cera+bolsa	1,00 b	0,50 a	0,56 b
49 °C	Sin encerar+granel	1,25 b	1,06 b	0,81 bc
	Cera+bolsa	0,00 a	0,00 a	
	Cera+granel	0,25 a	0,25 a	0,13 ab
	Sin cera+bolsa	0,06 a	0,06 a	0,00 a
53 °C	Sin encerar+granel	0,19 a	0,19 a	
	Cera+bolsa	1,56 b		
	Cera+granel	1,50 b		
	Sin cera+bolsa	1,19 b	0,56 a	0,50 ab
	Sin encerar+granel	4,19 c		

* Valores en columna con la misma letra no difieren significativamente entre sí (5 %).

Cuadro 6. Contenido porcentual (masa/masa) de jugo en limas persa tratadas con agua a diferentes temperaturas, procesos de acondicionamiento y tiempos de almacenamiento.

Temperatura del agua (°C)	Tratamiento	Período de almacenamiento (en días)*		
		45	60	75
18 °C	Cera+bolsa	36,75 bc		
	Cera+granel	41,45 ab		
	Sin cera+bolsa	39,92 b	42,22 b	42,13 a
	Sin encerar+granel	46,35 a	41,43 b	43,80 a
49 °C	Cera+bolsa	35,28 bc	35,70 c	
	Cera+granel	30,45 c	36,00 bc	34,40 b
	Sin cera+bolsa	34,33 c	41,40 b	40,10 ab
	Sin encerar+granel	40,57 b	48,13 a	
53 °C	Cera+bolsa	40,67 b		
	Cera+granel	41,10 ab		
	Sin cera+bolsa	41,48 ab	48,25 a	43,73 a
	Sin encerar+granel	42,73 ab		

* Valores en columna con la misma letra no difieren significativamente entre sí (5 %).

EL momento de aplicación de la normativa del Codex (FAO-OMS 1999), podría causar alguna interferencia en situaciones contractuales, pues no es lo mismo hacerlo al momento de la cosecha (Cuadro 3) que luego de 75 días de almacenamiento (Cuadro 6), cuando es más fácil extraer el jugo. Por otro lado, sin dejar la aplicación de normativa formal, existen otras referencias que proponen

33 % como contenido de jugo, valor más conservador (McAlpine 1994).

Luego de 60 días de almacenamiento, los frutos sometidos a agua a 53 °C presentaron, además del incremento en el valor de coloración, degradación patológica y daño por calor (Figura 2), eventos reconocidos por Ben-Yehoshua *et al.* (2002). Todos los tratamientos

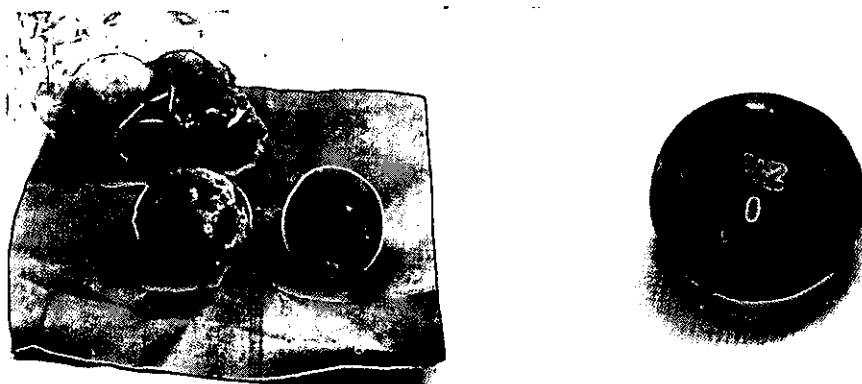


Figura 2: Daños por deterioro patológico extremo y por calor en lima persa almacenada por 60 días a 10 °C, luego de haber sido sometida a curado en agua a 53 °C.

sometidos a esa temperatura, fueron descartados, a pesar que el contenido de jugo (masa/masa) superó el 40 %.

Al cumplirse 75 días de almacenamiento, se notaron malos sabores y adustiosis (oxidación interna) en casi todos los tratamientos, que han sido claramente definidos para cítricos (La Fuente *et al.* 2001) y que en muchas oportunidades son producto de la presencia de etanol, α -pireno y acetaldehído (Del-Río *et al.* 1999b).

En el Cuadro 7 se presenta el resultado general de las variables bioquímicas estudiadas. Los valores absolutos de los promedios en el tiempo, fueron similares entre los diferentes tratamientos y a datos obtenidos por Hernández (2003), pero considerando que este autor realizó las lecturas al momento de la cosecha.

CONCLUSIONES

Los beneficios de los tratamientos térmicos por inmersión en agua caliente, no se evidenciaron de manera significativa en términos de vida útil en almacenamiento a 10 °C, aunque algunas de las variables sí se vieron favorecidas.

La oleocelosis fue significativamente disminuida por el acondicionamiento térmico a 49 °C, por lo que se establece la posibilidad de considerarlo como un tratamiento de apli-

cación potencial. Es necesario, realizar pruebas con temperaturas inferiores por períodos más prolongados de exposición, no ilustrados en la literatura, para corroborar el efecto sobre esta variable y mitigar a la vez la promoción de color, considerando variaciones en la respuesta, mencionadas por Lafuente *et al.* (2001). Sería prudente analizar esta variable dentro del esquema de calidad, pues su efecto sobre la apariencia del fruto se evidencia fácilmente.

La inmersión, en agua a 53 °C, promovió daño fisiológico, aunque es importante desarrollar nuevos trabajos con exposiciones previas a temperaturas inferiores, buscando evitar los daños por escaldado ya definidos en la literatura (Lafuente *et al.* 2001, Artés 1999), pero considerando además la posibilidad de almacenar la fruta a más bajas temperaturas.

El uso de empaque a granel sin cera, parece ser la opción más práctica para almacenamiento de frutos por un período de 60 días, en el cual los atributos de los mismos se mantienen cumpliendo con expectativas de mercado (valor ≤ 3 para color y menos de 5 % de área afectada por oleocelosis). Esto sin embargo, no descarta del todo el empleo de ceras bajo otras condiciones o en concentraciones distintas, en particular en lo que se refiere aspectos de apariencia.

Los porcentajes de jugo, el índice de madurez y sus componentes, son elementos poco cambiantes, afirmación que concuerda

Cuadro 7. Valores bioquímicos para jugo de limas persa tratadas por inmersión en agua a diferentes temperaturas.

Variables		Temperatura del agua		
		18 °C	49 °C	53 °C
% Acidez titulable	Promedio	6,47 \pm 0,46	6,47 \pm 0,36	6,58 \pm 0,42
	Rango	5,73-7,38	5,78-7,01	5,95-7,12
Brix	Promedio	7,56 \pm 0,51	7,46 \pm 0,41	7,29 \pm 0,38
	Rango	6,9-8,3	6,93-8,15	6,60-7,95
Índice de madurez	Promedio	1,17 \pm 0,1	1,15 \pm 0,06	1,11 \pm 0,05
	Rango	1,07-1,36	1,08-1,22	1,06-1,17
pH	Promedio	2,7 \pm 0,12	2,17 \pm 0,14	2,19 \pm 0,1
	Rango	1,87-2,45	1,88-2,43	1,82-2,38

con lo indicado por Del Río *et al.* 1999 a. En consecuencia, es mejor orientar la atención hacia variables relacionadas con la apariencia del fruto, como color y oleocelosis, además de incorporar en la discusión adustiosis y contenido de sustancias que provocan malos sabores.

AGRADECIMIENTO

Se desea expresar el sincero agradecimiento al Ing. Marco V. Sáenz, Coordinador del Laboratorio de Tecnología Postcosecha de la Universidad de Costa Rica, por la facilitación de recursos de laboratorio, al igual que a la MSc. Beatriz Sandoval, del Instituto Nacional de Transferencia en Tecnología Agropecuaria, INTA, por su apoyo en la elaboración e interpretación de los análisis estadísticos.

LITERATURA CITADA

- Artes, F.A. 1995. Review: innovaciones en los tratamientos físicos para preservar la calidad de los productos hortifrutícolas en la postrecolección. I. Pretratamientos térmicos. *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos* 35 (1): 45-64.
- _____. 1999. Avances en los tratamientos postcosecha para la conservación en fresco de limón y pomelo. *Levante Agrícola*: 289-238.
- _____. 2001. Tratamientos alternativos para preservar mejor la calidad de los cítricos refrigerados. *Levante Agrícola*: 229-238.
- Ben-Yehoshua, S.; Peretz, J.; Rodov, V.; Yekutieli, O.; Wiseblum, A.; Regev, R. 2000. Aplicación de agua caliente en la postrecolección de los cítricos: el camino desde el laboratorio hasta el almacén de manipulación. *Levante Agrícola* 244-250.
- Couey, M. 1989. Heat treatment for control of postharvest diseases and insect pests of fruits. *HortScience* 24(2):198-202.
- Del Río, M.A.; Martínez-Javrega, J.M.; Navarro, P.; Navarro, J.; Cuquerella, J. 1999 a. Aplicaciones del frío en postcosecha de cítricos panorama actual. *Levante Agrícola*: 253-262.
- _____. 1999 b. Recubrimientos para la comercialización de frutos cítricos: tendencias actuales. *Levante Agrícola* 301-311.
- FAO-OMS. 1999. Codex standard for limes; Codex Stan 213-1999. Comisión del Codex Alimentarius, Roma. 4 p.
- Hernández, S. 2003. Evaluación del crecimiento productividad, calidad de fruta y contenido nutricional en hojas y frutos de lima persa (*Citrus latifolia* Tan.) injertada en cuatro patrones de cítricos bajo condiciones de Cañas, Guanacaste. *In: Producción de lima persa (limón mesino); día de campo, Estación Experimental Enrique Jiménez Núñez, Cañas, Guanacaste (Costa Rica)*. s.p.
- Lafuente, M.T.; Alferez, F.; Sánchez, M.T.; Sala, J.M.; Mulas, L. 2001. Alteraciones fisiológicas durante la postcosecha de frutos cítricos: tratamientos de control y mecanismos implicados. *Levante Agrícola*: 128-132.
- Marín, F.; Hernández, S.; Saborío, S. 2003. Embalajes para almacenamiento refrigerado de lima persa (*Citrus latifolia* Tan.) para mercado local en Costa Rica. *Avances Tecnológicos (Costa Rica)*.
- McAlpine, G. 1994. Western Australian Citrus grading and packing code. *In: <http://agspsr-v34.agric.wa.gov.au/agency/Pubns/farmnote/1994/F05794.htm>* (consulta 13-02-2004). 5 p.
- Rodov, V.; Ben-Yehoshua, S.; Albagli, R.; Fang, D.Q. 1995. Reducing chilling injury and the decay of stored citrus fruit by hot water dips. *Postharvest Biology and Technology* 5: 119-127.

EMPAQUES PARA ALMACENAMIENTO REFRIGERADO DE LIMA PERSA (*Citrus latifolia* Tan.) PARA MERCADO LOCAL EN COSTA RICA¹

Francisco Marín², Sergio Hernández³, Sandra Saborío²

RESUMEN

Es conocido que durante la estación seca, los frutos de lima persa, alcanzan precios hasta de un 78% sobre el promedio anual. Sin embargo, esto es precedido por épocas de máxima oferta en las que los precios son bajos. Debido a la estacionalidad en la producción de este cultivo, se decidió evaluar algunas opciones de empaque que permitan prolongar la vida útil del fruto bajo condiciones de almacenamiento refrigerado. Para ello se cosecharon limas entre 4,5 y 6,5 cm de diámetro, color verde con menos de 10% de área decolorada por contacto con otros frutos de acuerdo a norma Codex Alimentario, los cuales se lavaron con una solución de hipoclorito de sodio (150g/l) por inmersión durante dos minutos, se dividieron en dos grupos de 256 frutos, sumergiendo uno de los subgrupos en una solución de cera Sta-Fresh 705 (FMC) al 0,5%. Posteriormente, se formaron grupos de 64 frutos en cada grupo que fueron empacados a granel, bolsa con perforaciones, caja de cartón tipo Freshpan para atmósfera modificada y bolsa al vacío. Las cajas se colocaron bajo condiciones de temperatura de 10 °C y 80-90% de humedad relativa y la evaluación de los frutos fue realizada cada 15 días hasta alcanzar 90 días de almacenamiento. Se encontró que el empaque a granel fue la opción más congruente con respecto a costos, pues la fruta no requiere de embolsado, vacío o acondicionamiento con ceras o en empaques especiales. Los frutos almacenados a granel con o sin cera presentaron las mejores características para la mayoría de los tratamientos evaluados en este estudio. El color fue la variable de mayor importancia para optar por el descarte de tratamientos, considerando que la evaluación visual es el parámetro que utilizan los consumidores para adquisición del producto.

INTRODUCCIÓN

Los empaques empleados comúnmente en lima persa (*Citrus latifolia* Tan.) son diseñados por las empresas comercializadoras. Para la exportación, se emplean cajas de cartón corrugado con capacidad para 4,5 kg de limas a granel, alrededor de 8 % de área diseñada para ventilación, telescópicas o de una sola pieza. En el mercado local costarricense, se comercializan a granel o en mallas de polipropileno.

Costa Rica presenta un período de mayor oferta de lima persa que se inicia entre setiembre y octubre y termina entre diciembre y enero, encontrándose una baja oferta durante toda la estación seca (enero hasta mayo). Los precios del fruto sufren incrementos de hasta 78. % sobre promedio anual (Figura 1), pero los autores han observado que en los mercados detallistas esto significa un incremento de más de 300 % para el consumidor.

¹ El ensayo se realizó bajo el convenio Poscosecha entre la Universidad de Costa Rica y el Consejo Nacional de Producción.

² Area Poscosecha, Dirección Calidad Agrícola, Consejo Nacional de Producción, Costa Rica.

³ Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria (INTA), Costa Rica.

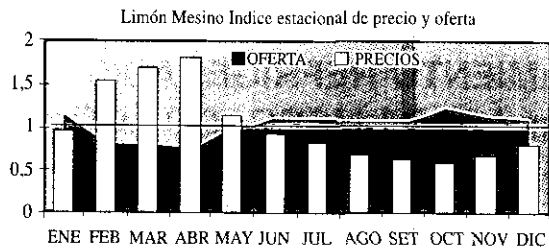


Figura 1: Índice estacional de precios y oferta para lima persa.
Fuente: (PIMA-CNP 2001).

Debido a esos factores de estacionalidad y a una dinámica rotación de producto, en nuestro país no se han desarrollado procesos de almacenamiento prolongado. En la literatura se reportan períodos de almacenamiento para algunas especies de cítricos de hasta 6 meses bajo condiciones óptimas (Arpaia y Kader 2000), lo cual implica control de temperatura, humedad relativa y acondicionamiento con recubrimientos, aplicación de ácido giberélico y la exposición a aire o agua caliente para curado, según la especie y lo requerido por los mercados.

En el caso de limas persa, las recomendaciones para almacenamiento son una temperatura de 9 - 10 °C y humedad relativa de 90 a 95 %, con lo cual se logra una vida útil de almacenamiento de 1,5 a 2,5 meses (Artes 2001). Poca información existe con respecto a frutos producidos bajo condiciones tropicales, pero aplicando tecnología básica, sería factible cubrir buena parte del período de la estación seca costarricense, manteniendo una oferta más estable y precios más justos para productores y consumidores.

El objetivo del presente ensayo fue evaluar algunas opciones preliminares de empaque que permitan prolongar la vida útil bajo condiciones de almacenamiento refrigerado.

MATERIALES Y MÉTODOS

En diciembre de 2000, fueron recolectados de la plantación de la Estación Experimental Enrique Jiménez Núñez (ubicada en

Cañas, Prov. Guanacaste, Costa Rica, a 17 msnm, con condiciones aproximadas de temperatura media de 27 °C, 2500 mm de lluvia al año y una estación seca que se extiende desde diciembre hasta mayo), frutos de lima persa (*Citrus latifolia* Tan.) injertados sobre *C. volkameriana*. Se cosecharon frutos de entre 4,5 y 6,5 cm de diámetro, de color verde intenso y con no más de 10 % del área decolorada por contacto con otros frutos, cualidades descritas en la norma del Codex Alimentarius (FAO 1997). El material fue transportado por carretera en horas frescas de la tarde del mismo día hasta el Laboratorio de Tecnología Poscosecha de la Universidad de Costa Rica, en donde fue desarrollado el experimento.

Los frutos se lavaron y desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio (150 mg/l) por inmersión durante dos minutos. Se conformaron dos grupos de 256 unidades, de los cuales uno fue sometido a encerado por inmersión durante un minuto en una solución de cera Sta-Fresh 705 (FMC) al 0,50 %. Posteriormente en cada caso se establecieron subgrupos de 64 frutos y cada subgrupo fue sometido a un diferente sistema de empaque. Se emplearon el empaque a granel, bolsa con perforaciones, caja de cartón tipo Freshpan para atmósfera modificada y bolsa al vacío. Con excepción del caso de caja Freshpan, la fruta fue colocada en cajas comerciales de cartón corrugado de 34 x 30 x 12 cm, con 8 % de ventilación.

Las cajas se almacenaron bajo condiciones de temperatura de 10 °C y 80-90 % de humedad relativa y la evaluación de los frutos fue realizada cada 15 días hasta alcanzar 90 días de almacenamiento. Las variables estudiadas fueron: color (según escala de intensidad de color verde detallada en el Cuadro 1), contenido de jugo (como porcentaje de masa) extraído manualmente, contenido de sólidos solubles totales (refractómetro de mano ATACO), acidez total titulable (como porcentaje de ácido cítrico) y severidad de oleocelosis (utilizando la escala de porcentajes de área afectada que se presenta en el Cuadro 2).

Cuadro 1. Valores asignados para coloración de los frutos.

Grado	Características
1	Verde oscuro intenso
2	Verde claro (momento de cambio)
3	Más verde que amarillo
4	Más amarillo que verde
5	Amarillo

Nota: El color tres se seleccionó como máximo para la venta de fruta fresca.

Para determinar las características generales del lote, se realizó un análisis a 25 unidades en el día de arribo de producto al laboratorio, de forma que se pudiera contar con datos referenciales.

Para el análisis estadístico se emplearon unidades experimentales de cuatro frutos y cuatros repeticiones por tratamiento. Se utilizó un diseño de parcelas divididas, donde la parcela grande fue el tiempo de almacenamiento (15, 45, 60 y 75 días), la subparcela se relacionó con el uso de cera (si o no) y los tratamientos fueron determinados por el tipo de empaque. Las diferencias entre medias se detectaron según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$).

Cuadro 2. Valores asignados para severidad de oleocelosis*.

Grado	Características (% área)
0	Hasta 5 %
1	Desde 5,1 hasta 10 %
2	Desde 10,1 hasta 25 %
3	Desde 25,1 hasta 50 %
4	Más de 50 %

* Se consideró 5 % como máximo permisible para venta de fruta fresca.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La caracterización de los frutos recolectados para este ensayo se presenta en el Cuadro 3. El lote reunió claras condiciones para cumplir con la normativa establecida, excepto

para el contenido de jugo en donde se apreció una tendencia a contenidos menores que los solicitados en el estándar australiano 33% (McAlpine 1997) y en el Codex Alimentarius 42% (FAO 1997). En este último caso la metodología difiere, pues se referencia extracción mecánica.

Cuadro 3. Características de los frutos del lote*.

Variable	Valor
Masa	104,3 ± 16,3 g
Diámetro	5,6 ± 0,3 cm
Longitud	6,3 ± 0,5 cm
Contenido de jugo	34,0 ± 11,7 % (m/m)
Sólidos Solubles Totales	7,3 ± 0,5 %
Acidez	6,5 ± 0,6 %
PH	2,4 ± 0,3

* Lecturas promedio de 25 unidades.

Color

El color fue la variable de mayor importancia para optar por el descarte de los frutos, considerando que la evaluación visual es el parámetro que utilizan los consumidores para la adquisición del producto.

A 15 días de almacenamiento, no se detectaron diferencias significativas entre los valores de color para los frutos de los diferentes tratamientos. Sin embargo, a partir de los 45 días se comenzaron a observar diferencias (Cuadro 4). No hubo diferencias significativas en el color de frutos sin encerar, indistintamente del tipo de empaque (valores de color de 2,3 hasta 2,9). Por el contrario, en frutos encerados se encontraron dos respuestas: frutos empacados a granel y en caja Freshpan fueron estadísticamente distintos de los frutos empacados en bolsas plásticas, aunque estadísticamente iguales a los frutos sin encerar.

La combinación cera-bolsa plástica presentó valores extremos de color; en el caso de bolsa perforada la media fue de 3,5 (de acuerdo con lo establecido, los frutos de este

Cuadro 4. Valores promedio para color en limas persa expuestas a diferentes periodos de almacenamiento y sometidas a diferentes empaques*.

Tratamientos	Empaque	Días en almacenamiento			
		15	45	60	75
Con cera	Granel	1,74 a	2,64 b	3,00 a	-
	bolsa perf.	2,25 a	3,56 a	-	-
	caja am	2,25 a	2,75 ab	-	-
	bolsa vacío	1,68 a	1,29 c	-	-
Sin cera	Granel	1,87 a	2,58 b	3,00 a	-
	bolsa perf.	2,12 a	2,37 b	3,12 a	-
	caja am	1,75 a	2,68 b	2,50 a	-
	bolsa vacío	1,62 a	2,99 ab	2,87 a	3,91 a

* Valores en columnas con letras iguales no difieren significativamente entre sí.

tratamiento se habrían descartado para comercialización en fresco, con base en el desarrollo de color indicado en el Cuadro 2) y en la bolsa con vacío de 1,2 (ver escala de color en el Cuadro 2). En naranja, se ha demostrado la acumulación de etileno interno al someter las frutas a encerado y en relación directa con la concentración de cera (Coquella y Navarro 1989). Una situación como esta podría haberse presentado en esta oportunidad pero originada por el plástico.

Esto podría deberse a que frutos encerrados y empacados al vacío, tienen poca capacidad de intercambio gaseoso, lo cual limita fuertemente la expresión de algunos aspectos de la fisiología propia de la maduración. En contraste, la bolsa perforada podría haber limitado parcialmente el intercambio de gases y haber favorecido un incremento en el metabolismo, aunque para demostrar esto se requeriría de un análisis de la calidad de la atmósfera circundante en cada caso, situación no contemplada en el presente estudio (Del Río *et al.* 1999).

A 60 días de almacenamiento, se inició el descarte de tratamientos con base en color. En este momento la coloración fue estadísticamente igual entre los cuatro tratamientos aún presentes: de los frutos encerrados, se mantuvo solamente el tratamiento con empaque a granel. Sin embargo, las limas empa-

cadadas en caja AM y en bolsa a vacío, presentaron valores absolutos de color inferiores que el resto de los tratamientos. Se presume un efecto negativo de la cera, promovido posiblemente por un deficiente intercambio gaseoso (Figura 2).

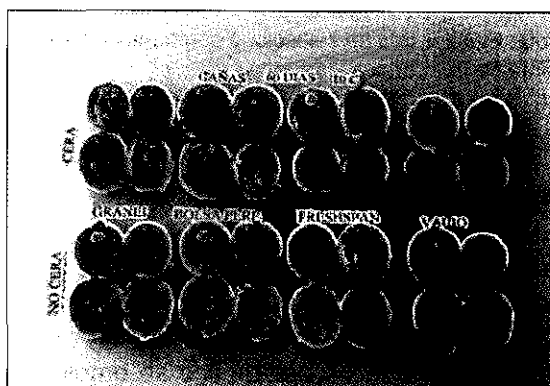


Figura 2: Apariencia de frutos a 60 días de almacenamiento a 10 C. Arriba CC. Abajo SC.

* De izquierda a derecha: empaque G, B, AM y V.

Los 75 días de almacenamiento fueron alcanzados por limas sin encerar y en bolsa a vacío, pero con un grado de coloración superior al valor máximo admisible.

La evolución de cada uno de los tratamientos exhibió valores lógicos en cuanto a cambio en la coloración de los frutos, salvo tal vez aquellos en que se emplearon bolsas, en los que se observó una tendencia a presentar cambios más acelerados (Figura 3).

Porcentaje de jugo (% P/P)

El contenido de jugo de los frutos se caracterizó por alta heterogeneidad (28 hasta 43,7 %) desde la primera evaluación a los 15 días. En la muestra utilizada para caracterizar esta variable se observó una elevada desviación estándar de 11,7 % (Cuadro 3). Las diferencias apuntadas fueron menos acentuadas conforme se avanzó en el tiempo y tendieron a ser semejantes entre tratamientos a partir de los 60 días (Figura 4). Como

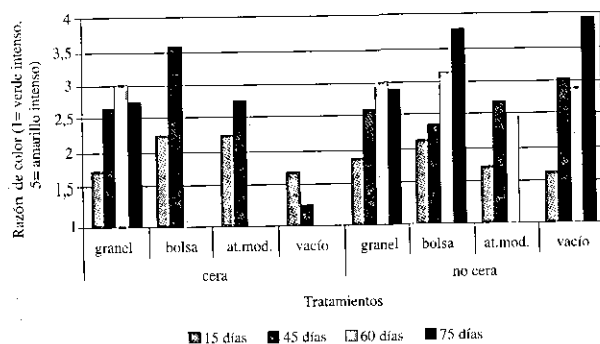


Figura 3: Evolución del color de los frutos.

posibles causas para explicar valores reducidos de contenido de jugo en repeticiones particulares (28 %) se sugieren: error al cosechar y una lectura errónea, o deficiente distribución de los frutos, a pesar de la homogenización del lote. Sin embargo, ello no se identifica con el efecto del tratamiento.

Se encontraron contenidos de jugo superiores a 40 % en frutos encerados-a granel, sin encerar-a granel y sin encerar-embolsado a los 60 días (Cuadro 5). A los 75 días, los frutos sin encerar y en bolsa a vacío superaron 40 % de jugo. En frutos sin encerar empacados a granel o en bolsa perforada, cuyas diferencias fueron no significativas ($p \leq 0,38$), se detectaron también valores superiores en contenido de jugo (47 y 43 % respectivamente), pero debido a que la coloración no fue aceptable para mercado fresco, no se mostraron en el Cuadro 4; ello no descarta la posibilidad de su empleo en actividades industriales.

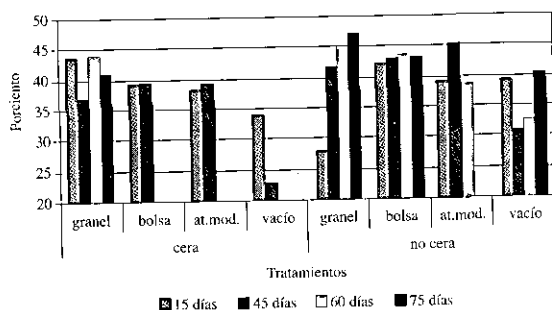


Figura 4: Contenido porcentual de jugo (p/p).

McAlpine (1997) señaló para Australia un requerimiento mínimo de 33 % de jugo y se menciona 25 % para Martinica (CENPRO 1986). Los valores observados en el ensayo cubren con suficiencia esas referencias y, aunque son en parte el resultado de la evolución de los frutos durante el almacenamiento, se había detectado alrededor de 34 % en el descriptor del lote (Cuadro 1).

Esta variable se consideró como altamente sensible debido a que podría ser afectada por el índice de cosecha (visual, en cuanto a dimensión y forma de los frutos), el efecto de los tratamientos sobre la pérdida de agua y el ablandamiento del flavedo que facilitan la extracción de jugo. No se han considerado aspectos de orden agronómico debido a que la plantación se trató de manera uniforme (riego y fertilización especialmente).

A pesar de que no se realizaron lecturas sobre firmeza, los frutos de los tratamientos sin encerar a granel y encerados-a granel se observaron con pérdida de humedad al cabo de 75 días, por lo que se hace necesario realizar pruebas complementarias semi-comerciales con otras ceras y dosis. Además, las condiciones de humedad estuvieron por debajo de lo recomendado (80 a 90 en vez de 90 a 95 %), pudiendo ser esta otra causa del problema.

Noriega, Arrios y Rivero (1997) demostraron el beneficio de bolsas plásticas para

Cuadro 5. Contenido porcentual de jugo en limas persa expuestas a diferentes periodos de almacenamiento y sometidas a distintos empaques*.

Tratamientos	Días en almacenamiento			
	15	45	60	75
Encerado				
Empaque				
granel	43,83 a	36,91 bc	43,87 ab	-
Con cera				
bolsa perf.	39,27 ab	39,46 ab	-	-
caja am	38,16 ab	39,35 ab	-	-
bolsa vacío	33,97 bc	22,58 d	-	-
Sin cera				
granel	28,00 c	41,98 ab	45,22 a	-
bolsa perf.	42,08 a	42,92 ab	43,67 ab	-
caja am	39,20 ab	45,20 a	38,43 bc	-
bolsa vacío	39,29 ab	30,90 c	32,56 c	40,17 a

* Valores en columnas con letras iguales no difieren significativamente entre sí.

reducir las pérdidas de peso a 60 días de almacenamiento, pero su ensayo fue desarrollado bajo condiciones de temperatura de 6 °C.

Relación brix/acidez titulable (índice de madurez)

La razón entre azúcares y acidez fue relativamente estable, sin que se dieran diferencias significativas entre los tratamientos a los 45 días (Figura 5). Los cambios se observaron en evaluaciones posteriores. A 60 días, frutos sin encerar-a vacío fueron los que presentaron mayor índice (1,36), superando estadísticamente a los frutos de los tratamientos encerado-a granel ($p \leq 0,0001$) y sin encerar: a granel ($p \leq 0,0001$), en bolsa perforada ($p \leq 0,002$) y en caja AM ($p \leq 0,0001$). Estos últimos cuatro tratamientos no presentaron diferencia significativa entre sí y presentaron índices entre 1,17 y 1,26.

La tendencia a incrementarse el índice de madurez en el tiempo es normal; valores superiores se deberían a una reducción en los contenidos de ácido cítrico (Coquerella y Navarro 1989). A pesar que las limas sin encerar a granel no presentaron un elevado valor para esa relación, al considerar el contenido de azúcares se reflejó su alto contenido de acidez. En la norma australiana se indica que el índice deberá estar entre ocho y uno (McAlpine 1997), situación presente en todos los casos (Cuadro 6) y que para fines prácti-

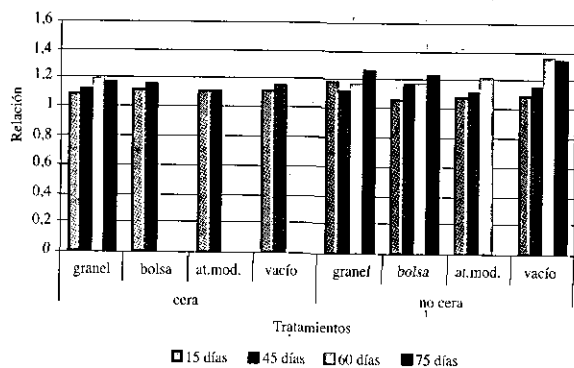


Figura 5: Índice de madurez (sólidos solubles totales/acidez titulable)

Cuadro 6. Índice de madurez (relación Brix/acidez) en limas persa expuestas a diferentes períodos de almacenamiento*.

Tratamientos	Días en almacenamiento				
	15	45	60	75	
Con cera	granel	1,09 ab	1,12 a	1,18 b	-
	bolsa perf.	1,12 ab	1,16 a	-	-
	caja am	1,12 ab	1,12 a	-	-
	bolsa vacío	1,10 ab	1,16 a	-	-
Sin cera	granel	1,18 a	1,13 a	1,17 b	-
	bolsa perf.	1,05 b	1,17 a	1,17 b	-
	caja am	1,08 b	1,12 a	1,21 b	-
	bolsa vacío	1,10 ab	1,15 a	1,36 a	1,34 a

* Valores en columnas con letras iguales no difieren significativamente entre sí.

cos permitiría desestimar las diferencias entre los valores absolutos de los tratamientos.

Se observó un aumento, de acidez y contenido de sólidos solubles totales (SST) en el tiempo. Sin embargo, el contenido de SST aumentó en mayores proporciones, lo cual explica diferencias en los valores para índice de madurez.

Oleocelosis

La presencia de oleocelosis se ilustra en la Figura 6.

Los valores fueron inferiores a uno (Cuadros 2 y 7), lo que representa menos del 5 % del área total del fruto afectada, con excepción

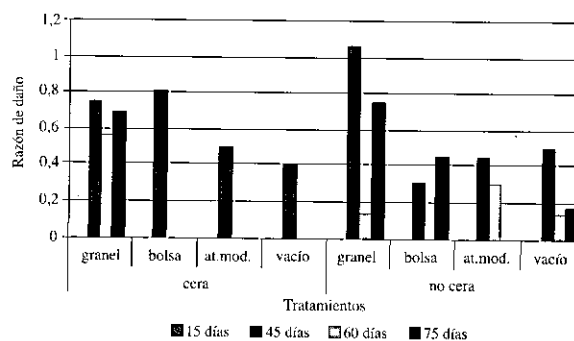


Figura 6: Severidad de oleocelosis (valores aceptables <1).

de frutos sin encerar-a granel a 45 días (1,06) y cuyos valores se podrían desestimar como debidos a una situación extraordinaria.

La variable parece no haber sido afectada por el tiempo de almacenamiento, la temperatura (10 °C) o el empaque, confirmando así lo descrito por otros autores (Wardowsky, McCormack y Grierson 1976) que el efecto es ocasionado por daño mecánico durante los periodos de mayor turgencia en la fruta. En este sentido, se ha observado en el mercado nacional, una mayor afinidad de los comerciantes por limas provenientes de zonas más secas, situación que se origina, probablemente, en una menor turgencia de los frutos, en comparación con materiales producidos en condiciones del Atlántico.

Cuadro 7. Promedios para severidad de oleocelosis en limas persa expuestas a diferentes periodos de almacenamiento*.

Tratamientos		Días en almacenamiento			
Encerado	Empaque	15	45	60	75
Con cera	granel	0,00 a	0,75 ab	0,56 a	-
	bolsa perf.	0,00 a	0,81 ab	-	-
	caja am	0,00 a	0,50 b	-	-
	bolsa vacío	0,00 a	0,39 b	-	-
Sin cera	granel	0,00 a	1,06 a	0,12 ab	-
	bolsa perf.	0,00 a	0,31 b	0,00 b	-
	caja am	0,00 a	0,44 b	0,31 ab	-
	bolsa vacío	0,00 a	0,50 b	0,12 ab	0,17 a

* Valores en columnas con letras iguales no difieren significativamente entre sí.

CONCLUSIONES

El empaque a granel resulta la opción más congruente en relación con los costos, pues la fruta no requiere de embolsado, vacío o acondicionamiento con ceras o en empaques especiales. Los frutos almacenados a granel con o sin cera presentaron las mejores características para la mayoría de los tratamientos evaluados en este estudio.

El hecho de que los frutos de esos tratamientos resultaran iguales en términos esta-

dísticos, haría poco necesaria o eficaz la aplicación de cera, al menos en la concentración empleada en este ensayo. Es posible que se haya dado una situación que dificultara el intercambio gaseoso ocasionando consecuencias negativas para la conservación de los frutos bajo ciertas condiciones o empaques. Esto parece reforzarse con el hecho de que los tratamientos embolsados y en empaque con atmósfera modificada presentaron valores absolutos significativamente inferiores a lo esperado en la mayor parte de las variables.

En términos generales, la degradación de la calidad se encuentra determinada por las pérdidas de clorofila. La aplicación de ceras con más de 10 % de sólidos, se ha relacionado con daño fisiológico (Cuquerella y Navarro 1989). Este evento debe revisarse en cuanto a tipos de ceras y la fisiología de productos estudiados bajo condiciones tropicales. Es claro que las limas persa son sensibles a condiciones de poca ventilación o presencia de oxígeno, lo cual ha quedado evidenciado en la poca tolerancia de los frutos en los tratamientos con bolsas o en cajas para atmósfera modificada. El acondicionamiento de los frutos para permitir almacenamiento a temperaturas más bajas, surge como una posibilidad para mejorar su vida útil.

A pesar de contar con valores aceptables de área afectada, la presencia de oleocelosis es regular, por lo que debe prestarse especial atención al manejo poscosecha, en particular debido al contraste que desarrolla con el color del fruto, en etapas cercanas a color tres.

A 10 °C no se generan daños por frío en frutos sometidos a las condiciones anotadas.

AGRADECIMIENTO

Se desea expresar el agradecimiento a los Ing. Alvaro Fallas y Olivier Jariel por el suministro de las cajas para atmósfera modificada. Al Ing. Marco V. Sáenz por la facilitación de recursos de laboratorio. A la M.Sc. Beatriz Sandoval (INTA) por su apoyo en los análisis estadísticos.

LITERATURA CITADA

- Arpaia, M.L.; Kader, A. 2000. Recomendaciones para preservar la calidad postcosecha de los cítricos. *Levante Agrícola*. p. 239-243.
- Artes, F. 2001. Tratamientos alternativos para preservar mejor la calidad de los cítricos refrigerados. *Levante Agrícola*. p. 229-238.
- CENPRO. 1986. Exportación de frutas del Pacífico Central a América del Norte y Europa: mercado potencial y propuestas a corto plazo. Proyecto C.E.E. NA/82-12: Reordenamiento agrario y desarrollo rural integrado. 137 p.
- Del Río, M.A.; Martínez, J.M.; Navarro, P.; Cuquerella, J. 1999. Recubrimientos para la comercialización de frutos cítricos: tendencias actuales. *Levante Agrícola* 301-311.
- Cuquerella, J.; Navarro, P. 1989. Estado actual de la frigoconservación de los cítricos. *Fruticultura Profesional* 25: 122-129.
- FAO. 1997. Comisión del Codex Alimentarius; anteproyecto de norma del codex para limón (trámite 5). VI Reunión del Comité del Codex sobre Frutas y Hortalizas Frescas. p. 36-41.
- McAlpine, G. 1997. Western Australia Citrus Grading and Packing Code 1994: interpretative notes. *In*: <http://agric.wa.gov.au/AGENCY/PUBS/FARMNOTE/1994/F05794.HTM> (consulta 00/07/24).
- PIMA - CNP. 2001. Comercialización hortifrutícola en CENADA; manual de consulta. Programa Integral de Mercadeo Agropecuario. 49 p.
- Noriega, K.; Arrios, J.; Rivero, L. 1997. Conservación postcosecha de frutos de cítró "Persa" (*Citrus latifolia* Tan.): II. Efecto combinado del patrón, temperatura de almacenamiento y envase de almacenamiento. *In*: Resúmenes del VI Congreso Nacional de Fruticultura, Venezuela. p. 68.
- Wardowsky, W.F.; McCornak, A.A.; Grierson, W. 1976. Oil spotting (oleocellosis) of citrus fruit. Florida Cooperative Extension Service Circular 410, University of Florida, Gainesville. 6 p.

NOTA TÉCNICA

COMPORTAMIENTO DE GRAMÍNEAS HERBÁCEAS DE USO POTENCIAL EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE LECHE DE ALTURA EN COSTA RICA

María Mesén¹, William Sánchez¹

RESUMEN

El presente estudio se realizó en el distrito Cot, cantón Oreámuno, provincia Cartago, en el año 1995. La altitud es de 2.100 msnm y, la temperatura y precipitación promedio anual son de 20,7 °C y 2.121,2 mm respectivamente. El objetivo fue evaluar la adaptación de una colección de 13 cultivares de gramíneas para clima frío, proporcionada por la Red de Pastos Andinos (REPAAN). Los cultivares utilizados pertenecen a los géneros *Bromus*, *Dactyles*, *Festuca*, *Lolium* y como testigo local el *Pennisetum clandestinum*. Se establecieron 13 unidades experimentales cada una con un cultivar diferente, con el fin de utilizar la técnica de análisis de conglomerados ("Cluster Analysis"). Sin embargo, no se aplicó, ya que cuando se sometieron a corte, sobrevivieron únicamente cinco cultivares, dos del género *Bromus* (Aladín y Samson), el *Dactyles glomerata* Sw Dactus y dos *Festucas* (Clarine y Demeter) con promedios de rendimiento de 1,84, 1,97, 1,69, 1,20, y 1,96 toneladas de materia seca por hectárea por corte respectivamente, producciones inferiores a las presentadas por el *Pennisetum clandestinum*. Se concluye que el testigo local (*Pennisetum clandestinum*) al ser un forraje de valor nutritivo similar a los cultivares en estudio y de producción de biomasa superior, continúa siendo la gramínea mejor adaptada a la zona alta lechera de Costa Rica. Se debe continuar investigando con variedades de mayor potencial productivo.

INTRODUCCIÓN

La ganadería de leche es una de las principales actividades agropecuarias en Costa Rica, ya que los productos lácteos son básicos en la dieta de la población; además representa un rubro de mucha importancia en la economía nacional, logrando llenar la demanda interna y generando divisas provenientes de las exportaciones (Villegas 1993).

Sin embargo, la producción de leche en áreas tropicales depende en gran medida de los forrajes, los cuales frecuentemente no

proporcionan la cantidad y/o calidad que requieren los animales; principalmente las vacas de leche de mediana y alta producción, siendo necesario acudir al uso de alimentos balanceados, que aumentan considerablemente los costos de producción.

Por lo anteriormente mencionado se evaluó una colección de gramíneas de uso potencial en sistemas de producción de leche de altura, proporcionada por la Red de Pastos Andinos (REPAAN). El objetivo fue buscar variedades forrajeras que superen a las existentes en la zona alta lechera de Costa Rica.

¹ Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria (INTA), Costa Rica.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se desarrolló en la finca de un productor de leche ubicada en el distrito Cot, cantón Oreamuno, provincia Cartago, a 83° 53' 30" longitud oeste y a 9° 57' latitud norte. La topografía de la finca es irregular; la altitud 2.100 msnm y la temperatura y precipitación promedio anual son de 20,7 °C y 2.121,2 mm respectivamente, con una humedad relativa de 85 %.

El terreno utilizado fue cultivado anteriormente con forrajes de piso. Geomorfológicamente, el suelo es de origen volcánico y taxonómicamente corresponde al orden de los andisoles (Bertsch *et al.* 1993).

El análisis de suelo (Cuadro 1) presenta valores adecuados de pH y Aluminio, como consecuencia el porcentaje de acidez es 8.8. Borel (1981) menciona que los valores de acidez inferiores al 25% son adecuados para gramíneas. Los contenidos de Ca, Mg, K, P y la relación Ca/Mg se encuentran dentro del rango óptimo. Sin embargo, las relaciones Ca/K, Ca+Mg/K y Mg/K presentan un desbalance. En cuanto a los microelementos, los contenidos de Zn y Mn están dentro del rango óptimo, mientras que el Cu y el Fe se encuentran en un nivel alto (Bertsch 1987). La preparación del suelo fue mecánica, utilizando una arada, dos rastreadas y surcando cada 0,5 m.

La siembra se realizó el 13 de julio de 1995 y durante la fase de establecimiento se hicieron evaluaciones de incidencia de plagas y enfermedades, cobertura y altura, a partir de los 30 días de crecimiento. Al inicio

de las lluvias del año siguiente se realizó el corte de uniformización, posteriormente se realizaron las evaluaciones cada seis semanas, para finalizar el período de muestreo un año después.

Se utilizó una colección de semillas proporcionada por la Red de Pastos Andinos (REPAAN) (Cuadro 2) y la metodología de evaluación que se utilizó fue una modificación de la utilizada por la Red Internacional de Evaluación de Pastos Tropicales (Toledo y Schultze - Kraft 1982).

Cuadro 2. Cultivares evaluados.

Cultivar	Simbología	Procedencia
<i>Bromus inermis</i> , Aladín	BIA	*
<i>Bromus inermis</i> , Samson	BIS	*
<i>Dactyles glomerata</i> , Sw Dactus	DGSD	*
<i>Dactyles glomerata</i> , Curie	DGC	Australia
<i>Festuca arundinacea</i> , Clarine	FAC	Francia
<i>Festuca arundinacea</i> , Demeter	FAD	Australia
<i>Lolium multiflorum</i> , Multino	LMM	Holanda
<i>Lolium multiflorum</i> , Tribunc	LMT	Holanda
<i>Lolium multiflorum</i> , Barspectra	LMB	Holanda
<i>Lolium multiflorum</i> , Bartissimo	LMBA	Holanda
<i>Lolium multiflorum</i> , Balmutra	LMBAL	Holanda
<i>Lolium perenne</i> , Condesa	LPC	Holanda
<i>Pennisetum clandestinum</i>	Testigo	Costa Rica

Las características de los géneros utilizados son las siguientes:

Bromus

La planta de *Bromus* es perenne, contiene tallos gruesos, resistentes al encamado,

Cuadro 1. Resultado del análisis de suelo antes de la siembra

pH	Meq/100ml suelo					Ug/ml suelo					Textura	Materia orgánica %
	Al	Ca	Mg	K	P	Zn	Mn	Cu	Fe			
5,5	0,35	5,1	2,2	1,16	17,0	4,9	13,0	32,0	+100	Franco Arcillosa	6,17	

las hojas son anchas y produce semillas grandes (Gillet 1984), se adapta de 2.200 a 3.000 msnm (Bernal 1991).

Dactyles

Es una gramínea perenne y capaz de crecer en verano, los tallos son gruesos en la base y endurecen rápidamente, resiste al encamado (Gillet 1984), se adapta de 1500 a 3100 msnm (Bernal 1991).

Festuca

La principal gramínea perteneciente a este género es la *F. arundinacea*, la cual es una planta perenne que se desarrolla formando macollas densas con hojas anchas y brillantes que endurecen al envejecer (Gillet 1984). Se adapta de 1.800 a 3.200 msnm (Bernal 1991).

Lolium

A este género corresponden diversas especies anuales, (*L. multiflorum*) y perennes, (*L. perenne*) y los cruces de ambos (*L. multiflorum* x *L. perenne*). Las plantas se caracterizan por presentar tallos cortos, finos y encaman fácilmente, las hojas son estrechas, cortas, brillantes y muy flexibles (Gillet 1984), se adaptan de 2.200 a 3.200 msnm (Bernal 1991).

Pennisetum clandestinum

Es una de las gramíneas más comunes y mejor adaptadas a la zona alta lechera de Costa Rica, es una gramínea herbácea, perenne, rastrera, con estolones superficiales y subterráneos (Garza *et al.* consultado por Vargas 1981).

Descripción de la unidad experimental

Las unidades experimentales fueron de 6 m² con tres hileras de 3,0 m de largo y separadas entre sí por 0,5 m. Dadas las cantidades tan limitadas de semillas, se estableció el ensayo sin repeticiones, con el fin de utilizar

la técnica de análisis de conglomerados "Cluster Analysis". (Pezo, D. Información personal). Sin embargo, no se pudo aplicar ya que quedaron muy pocos cultivares.

Fertilización

Las dosis aplicadas fueron 100, 50, 50, 20 y 20 kg/ha de Nitrógeno, P₂O₅, K₂O, Mg y S. El Fósforo, Magnesio y Azufre se incorporaron al suelo a la siembra, el Nitrógeno y el Potasio se aplicaron fraccionados, con 1/3 de lo recomendado cuatro semanas después de la siembra, 1/3 después del corte de uniformización y el último tercio al cabo de dos cortes (Toledo;Schuitze-Kraft 1982).

Variables evaluadas

Plagas (Insectos y enfermedades)

Se utilizó una escala de uno a cuatro en la cual:

- 1 = Presencia (5% del follaje afectado)
 - 2 = Daño leve (5-20% afectado)
 - 3 = Daño moderado (20-40 % afectado)
 - 4 = Daño grave (más de 40% afectado)
- (Adaptado de Calderón 1982 y Lenné 1982)

Cobertura

Esta variable se evaluó como porcentaje del área que no presenta suelo desnudo. Durante la fase de establecimiento estas mediciones se iniciaron a los 60 días y luego cada 30 días. Cuando los pastos fueron sometidos al régimen de corte, las evaluaciones coincidieron con los muestreos de rendimiento. Para este propósito, se utilizó la metodología propuesta por la RIEPT (Toledo y Schuitze-Kraft 1982), con la diferencia de que al tener las parcelas solo tres hileras, de las cuales una constituye la parcela útil, se utilizó un marco rectangular de 0,5 x 1,0 m, con cuadrículas de 0,25 x 0,25 m.

Altura

Se realizó a la misma frecuencia que la cobertura. Para esta medición, se tomó la altura desde el nivel del suelo hasta el punto más alto de la planta, sin estirla y sin considerar la inflorescencia. Cuando las parcelas estuvieron sometidas al régimen de corte, también se hicieron estimaciones de altura (Toledo, Schultze-Kraft 1982).

Producción de biomasa

La altura de corte fue de aproximadamente 10 cm. El testigo (*Pennisetum clandestinum*) por ser de hábito rastrero se muestreó por medio de un marco de 0,25 m² en el centro de la parcela, en los demás cultivares se cosechó un metro en la hilera central de cada parcela, dejando sin cortar los extremos, como efecto de borde (Roig 1989).

El material cosechado se pesó en verde y luego una sub-muestra de 500 g se llevó al laboratorio para la determinación del contenido de la materia seca a 105°C.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante la fase de establecimiento, se realizaron tres evaluaciones, a los 120 días de crecimiento de las plantas, persisten todos los cultivares con alturas comprendidas entre 15 y 30 cm y coberturas entre 15 y 30% excepto el *Lolium perenne*, Condesa, con una cobertura de 5%. (Cuadro 3). A todos los cultivares se les hizo corte de nivelación al inicio de las lluvias, y luego las evaluaciones correspondientes.

Plagas (insectos y enfermedades)

Durante la fase de establecimiento, la única enfermedad que se presentó fue la *Puccinia* sp, la cual afectó levemente (5-20% del follaje afectado), en todos los cultivares incluyendo el testigo. Esta enfermedad fue identificada por el Laboratorio de protección de cultivos del MAG y es causada por hongos Basidiomicetos, suborden Uredales, familia Pucciniaceae, parásitos de plantas diversas (Domínguez 1972).

Cuadro 3. Comportamiento de las gramíneas durante la fase de establecimiento.

Cultivar	Días de crecimiento					
	60		90		120	
	Altura (cm)	Cobertura %	Altura (cm)	Cobertura %	Altura (cm)	Cobertura %
BIA	18	36	20	38	26	30
BIS	15	30	20	30	29	30
DGSD	11	15	17	21	17	25
DGC	15	6	15	10	20	15
FAC	20	27	20	27	23	27
FAD	22	18	20	18	20	20
LMM	23	9	20	10	20	15
LMT	12	11	21	14	18	20
LMB	18	9	20	10	22	15
LMBA	20	20	21	24	21	25
LMBAL	19	19	19	20	19	20
LPC	16	5	10	5	21	5
Testigo	10	18	10	20	17	20

Durante el período de corte los cultivares prevalecientes presentaron *Puccinia* sp en forma leve (5-20% del follaje afectado). Los cultivares que desaparecieron presentaron mayor daño (40% del follaje afectado), además hubo invasión de malezas y murieron después de los primeros cortes.

Cobertura

Durante la fase de establecimiento los cultivares del género *Bromus* presentaron una cobertura de 30 %, siendo superior al resto de los cultivares que tuvieron valores entre 15 y 27 % con excepción del *Lolium perenne*, Condesa que presentó un 5 %.

Cuando los forrajes se sometieron a evaluación sobrevivieron únicamente cinco cultivares, con coberturas inferiores al testigo (Cuadro 4).

Altura

Durante la fase de establecimiento la altura de los diferentes cultivares osciló entre 17 y 29 cm. Durante el periodo de evaluación las

alturas de los cultivares prevalecientes oscilaron entre 19 y 32 cm (Cuadro 4).

Producción de biomasa

En el Cuadro 4 se observa que todos los cultivares del género *Lolium* y el *Dactyles glomerata*, Curie, se reportan como perdidos, los rendimientos fueron muy bajos después del corte de nivelación y luego desaparecieron.

El *Dactyles glomerata* Sw Dactus y la *Festuca arundinacea*, Demeter tienen producciones muy parecidas al testigo *Pennisetum clandestinum*, pero ligeramente inferiores.

El testigo (*Pennisetum clandestinum*) fue superior a todos los demás cultivares, con 47,1 kg de materia seca/ha/día. Hernández 1986 reporta un rendimiento inferior, 16,4 kg de materia seca/ha/día, sin embargo Castillo 1981, Vargas 1981, Quesada 1986, reportan valores superiores a los encontrados en el presente estudio 55,3, 65,3 y 79,2 kg de materia seca/ha/día respectivamente. La *Festuca arundinacea*, Clarine fue la de menor producción seguida del *Bromus inermis*, Aladín.

Cuadro 4. Producción promedio, altura y cobertura de los cultivares prevalecientes durante el período de evaluación.

Cultivar	Cobertura (%)	Altura (cm)	Materia seca (t/ha/corte)
<i>Bromus inermis</i> , Aladín	38	31	1,84
<i>Bromus inermis</i> , Samson	48	31	1,97
<i>Dactyles glomerata</i> , Sw Dactus	28	19	1,69
<i>Dactyles glomerata</i> , Curie			P
<i>Festuca arundinacea</i> , Clarine	35	32	1,20
<i>Festuca arundinacea</i> , Demeter	35	28	1,96
<i>Lolium multiflorum</i> , Multino			P
<i>Lolium multiflorum</i> , Tribunc			P
<i>Lolium multiflorum</i> , Barspectra			P
<i>Lolium multiflorum</i> , Bartissimo			P
<i>Lolium multiflorum</i> , Balmutra			P
<i>Lolium perenne</i> , Condesa			P
<i>Pennisetum clandestinum</i> , Testigo	93	28	1,98

P = parcelas perdidas.

Proteína cruda y digestibilidad *in vitro* de la materia seca

Debido a la escasez de presupuesto, no se analizó el contenido nutricional de los forrajes, sin embargo en otros estudios, se demuestra que el valor nutritivo de los cultivares en estudio es muy similar al testigo, (Mesén M. y Sánchez W. datos sin publicar), (Sánchez W. y Mesén M. datos sin publicar). (Mesén M. y Sánchez W. datos sin publicar).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Teniendo en consideración las condiciones bajo las cuales se llevó a cabo el ensayo, se pueden formular las siguientes conclusiones y recomendaciones:

Los cultivares del género *Lolium* y el *Dactyles glomerata*, Curie no se adaptan a la zona en estudio.

Todos los cultivares que desaparecieron presentaron daño moderado de *Puccinia* sp; sin embargo, no fue la causa principal de su desaparición.

Todos los cultivares prevalecientes presentaron daño leve ocasionado por *Puccinia* sp.

El testigo (*Pennisetum clandestinum*) mostró daño leve ocasionado por *Puccinia* sp.

El testigo (*Pennisetum clandestinum*) no fue superado por ninguno de los cultivares introducidos, continúa siendo la gramínea mejor adaptada a la zona alta lechera de Costa Rica.

Se debe continuar investigando con variedades de mayor potencial productivo.

AGRADECIMIENTO

Al Doctor Danilo Pezo Q. y a los Ingenieros Luis Villegas Z., Leticia Badilla R. y Bea-

triz Molina B. por su valiosa colaboración en el desarrollo del presente trabajo.

LITERATURA CITADA

- Bernal, J. 1991. Pastos y forrajes tropicales. 2^{da} Edición. Colombia. Editorial Banco Ganadero. p. 273.
- _____. 1992. Algunas características agronómicas de los Raigrases. *In: Suplemento Ganadero*. Colombia. p. 95-101.
- Bertsch, F. *et al.* 1993. Características de los principales órdenes de suelos presentes en Costa Rica. Congreso Nacional Agropecuario y de Recursos Naturales. U.C.R. Costa Rica. 78 p.
- _____, F. 1987. Manual para interpretar la fertilidad de los suelos de Costa Rica. Universidad de Costa Rica. Costa Rica. 82 p.
- Borel, R. 1981. Uso de los fertilizantes en pasturas. *In: Producción y utilización de forrajes en el trópico*. CATIE. Costa Rica. p 58-69.
- Castillo, E. 1981. Efecto de la fertilización nitrogenada en época lluviosa sobre la productividad de materia seca, composición química y digestibilidad *in vitro* del pasto Kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) bajo pastoreo. Tesis Ing. Agr. San José, Costa Rica. Universidad de Costa Rica. 122 p.
- Calderón, M. 1982. Evaluación del daño causado por insectos. *In: Toledo, J.M.* Manual para la evaluación agronómica. Red Internacional de Evaluación de pastos tropicales. (RIEPT), CIAT. Cali, Colombia. p. 45-56.
- Domínguez; García. 1972. Plagas y enfermedades de las plantas cultivadas. (s.e). España. 385 p.
- Gillet, M. 1984. Las gramíneas forrajeras. España, Editorial ACRIBIA. p. 299-341.
- Hernández, O. 1986. Respuesta del pasto Kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) a tres dosis de nitrógeno y fósforo. Tesis Ing. Agr. San José, Costa Rica. Universidad de Costa Rica. pp. 138.

- Lenne, J. 1982. Evaluación de enfermedades en pastos tropicales. *In*: Toledo, J.M. Manual para la evaluación agronómica. Red Internacional de Evaluación de pastos tropicales. (RIEPT), CIAT, Cali, Colombia. p. 57-72.
- Mesén, M.; Sánchez, W. 2004. Evaluación de gramíneas de los géneros *Lolium* y *Festuca* en la zona alta lechera del cantón de Oreamuno.
- _____. Evaluación de gramíneas de los géneros *Lolium*, *Phalaris*, *Festuca* y *Dactyles* en Cot de Cartago. Datos sin publicar.
- _____. Evaluación de gramíneas de piso de clima frío en Oreamuno de Cartago. Datos sin publicar.
- Pezo, D. 1994. Cluster análisis. Consultor de forrajes. Información personal.
- Quesada, J. 1986. Respuesta del pasto Kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) a tres dosis de nitrógeno y de fósforo. Tesis Ing. Agr. San José, Costa Rica. Universidad de Costa Rica. 122p.
- Roig, C.A. 1989. Evaluación preliminar de 200 accesiones de leguminosas forrajeras tropicales en el ecosistema de Bosque Tropical Lluvioso en Costa Rica Guápiles, Costa Rica. Tesis Mag. Sc., Turrialba, CATIE. 179 p.
- Toledo, J.M.; Schultze - Kraft, R. 1982. Metodología para la evaluación agronómica de pastos tropicales. *In*: Toledo, J.M. Manual para la Evaluación Agronómica. Red Internacional de Evaluación de Pastos Tropicales (RIEPT), CIAT, Cali, Colombia. p. 91-109.
- Vargas, M. 1981. Efecto de la fertilización nitrogenada sobre la productividad, contenido de proteína cruda y minerales del pasto Kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) bajo pastoreo. Tesis Ing. Agr. San José, Costa Rica. Universidad de Costa Rica. 75 p.
- Villegas, L. 1993. Situación actual de la actividad lechera en Costa Rica. *In*: Congreso Agronómico Nacional. San José, Costa Rica. p. 53.

ANÁLISIS Y COMENTARIOS

PROPIEDAD INTELECTUAL Y ORGANISMOS VIVOS

Silvia Salazar¹

Tradicionalmente se había considerado que la propiedad intelectual era un tema de estudio de los académicos y reservado a cierto círculo de personas, pero en las últimas dos décadas el mundo ha sido testigo de grandes cambios en su estructura económica, transformando un mundo en el que la mayor preocupación era una guerra nuclear entre las potencias, a un mundo donde la globalización, los mercados abiertos y las negociaciones de libre comercio se han impuesto como el tema del momento.

También hay que reconocer que la propiedad intelectual no formaba parte de la agenda de las relaciones comerciales, hasta que los economistas se empezaron a percatar y a realizar estudios sobre la importancia que los bienes intelectuales tienen en el flujo de comercio y en las economías de los países, a la par de la inversión, el capital, la infraestructura y el recurso humano. Fue en la Ronda Uruguay en la que los países desarrollados tuvieron éxito al introducir dentro de los temas de negociación todo lo referente a la propiedad intelectual, señalando que su protección o no, podría convertirse perfectamente en una barrera no arancelaria al libre comercio y con la intención también de que al lograr niveles más altos de protección, en el ámbito mundial, se reducirían los montos de pérdidas, que por concepto de piratería, estaban sufriendo las principales compañías nacionales y transnacionales en campos tan diversos como la industria del entretenimiento, la industria farmacéutica, la industria de la biotecnología, etc.

Este escenario es el que ha propiciado que hoy en día el tema de la protección de la propiedad intelectual sea un tema de mayor difusión en el mundo y que sea un tema de obligado tratamiento en las negociaciones comerciales, tanto bilaterales como multilaterales. Ha logrado también que haya un mayor interés de parte de una amplia gama de sectores, que antes se creían inmunes a los cambios en esta materia, y que ahora se dan cuenta de que cualquier cambio en los sistemas de protección de la propiedad intelectual, produce efectos, tanto positivos como negativos, en todos esos sectores. Esa situación es la que explica el hecho de que en una revista dedicada principalmente a agrónomos, como esta, se otorgue un espacio para al análisis y discusión de este tema, posición que es digna de emular y promover.

Este artículo pretende de una manera sencilla y accesible describir algunas situaciones que se dan en relación con la protección de organismos vivos por medio de la protección de la propiedad intelectual y sobre todo describir en forma general el entorno con respecto a este tema.

La propiedad intelectual es una herramienta, y un instrumento que surgió en el mundo como un incentivo a la creatividad y a la innovación. Como instrumento que es, debe ser moldeado de acuerdo al modelo de desarrollo económico que un país se proponga seguir. De tal manera, dependiendo de las metas que se quieran lograr y los medios

¹ Unidad de Transferencia, Universidad de Costa Rica, Costa Rica.

para conseguir esas metas, así se debe diseñar el sistema de protección a la propiedad intelectual. Lamentablemente hoy día es difícil que un país logre ese nivel, hay dos razones para eso. Por un lado los países, en especial los países en desarrollo, están sujetos a una serie de compromisos y presiones a escala internacional que hacen que sus gobiernos tomen decisiones aceleradas y sin el debido análisis y discusión; en segundo lugar, también hay que reconocer que la mayoría de estos países no tienen una disciplina para la planificación y para el planteamiento específico de metas con objetivos claros y enfoques integrales. Por lo tanto la propiedad intelectual, que es una herramienta tan importante para el planeamiento y la ejecución de políticas en investigación y desarrollo, en educación, en incentivos a la agricultura y a la industria, en inversión nacional y extranjera, etc. es la gran ausente y los Gobiernos solo se preocupan de ella cuando reciben presiones específicas.

A pesar de que los países desarrollados lograron que el tema estuviera incluido en un Anexo al Acuerdo de Creación de la Organización Mundial del Comercio (OMC), que se denomina Acuerdo sobre los Aspectos de Propiedad Intelectual relacionados con el Comercio (ADPIC), estos países, en especial los Estados Unidos consideran que las obligaciones estipuladas en ADPIC no son suficientes y constituyen apenas un piso deseable en la armonización mundial de los asuntos sobre protección de la propiedad intelectual. Para todos los países miembros de la OMC las estipulaciones de ADPIC son obligatorias, sin embargo el tema no se ha agotado pues ha seguido siendo objeto de discusión bajo las negociaciones bilaterales que Estados Unidos ha venido promoviendo con países en desarrollo, incluido Costa Rica.

Mucho se ha dicho sobre la propiedad intelectual y su relación con el desarrollo económico de los países. Existe un gran debate internacional sobre este tema y lo cierto es que expertos en el mundo no se han podido poner de acuerdo. Existen muchos matices

en la discusión, pero quizá lo que mejor la puede resumir es el enfrentamiento entre dos tesis antagónicas. Una por un lado otorgándole a la protección fuerte de la propiedad intelectual un lugar privilegiado como motor del desarrollo, como incentivo a la inversión y como generadora de nuevas ideas, tesis comúnmente respaldada por los países desarrollados, y otra, por otro lado, achacándole más bien la culpa del subdesarrollo y de la dependencia científica y tecnológica, y por ende económica, que sufren los países en desarrollo. Se pueden encontrar estudios y análisis muy serios de uno y otro lado, de tal modo, la una y la otra tesis tienen sus puntos, el problema estriba en el hecho de que no hay tiempo para el análisis y además los pocos estudios que hay al respecto no son concluyentes. Los países en desarrollo, a pesar de que pudieran tener sus dudas, y así lo demostraron en las negociaciones para el ADPIC, tomaron la decisión final de embarcarse en la nave de la globalización y del libre comercio y esa decisión, buena o mala, tiene sus consecuencias, también buenas o malas. Véase por ejemplo el hecho de que en la recién concluida ronda de negociaciones entre Centroamérica y los Estados Unidos para un tratado de libre comercio, el tema fue incluido y se tomaron decisiones que muchos sectores adversan.

Por lo tanto, pareciera lógico no enfrascarse en una discusión, al rato estéril, sobre la conveniencia o no de la protección de la propiedad intelectual, sino más bien sacar el mejor provecho de la situación en que las relaciones comerciales internacionales nos han dejado, tratando de lograr, al final, lo mejor para cada uno de los países. Por otra parte, a pesar de las presiones, existen todavía algunos temas, que por su novedad y por las implicaciones que conllevan, están sujetos todavía a análisis en el ámbito internacional, por lo tanto los países en desarrollo pueden todavía hacer aportes, algunos aspectos sobre la protección de las invenciones biotecnológicas, o dicho de una manera más amplia, la protección de los organismos vivos, es uno de ellos y es el objeto central de este comentario.

La propiedad intelectual y en especial los sistemas de patentes, fueron inicialmente diseñados para proteger aparatos útiles para la industria y la vida cotidiana. Por lo tanto el surgimiento de la biotecnología le significó un gran reto a los sistemas de propiedad intelectual. Pero antes de continuar con el tema específico es conveniente enumerar algunas generalidades sobre la propiedad intelectual.

Un breve encuentro con la propiedad intelectual

Se denomina propiedad intelectual al conjunto de normas y doctrinas que regulan todo lo referente a la interrelación de los bienes jurídicos inmateriales que derivan del intelecto. Se protegen por tanto las creaciones artísticas y las innovaciones en el campo de la industria. Propiedad intelectual es un término genérico que se usa para englobar a las dos grandes ramas en que se divide, que son: los derechos de autor y la propiedad industrial. Algunas veces incluso se usa como sinónimo de alguna de ellas.

A pesar de que son de la misma familia, existen diferencias sustanciales entre los derechos de autor y la propiedad industrial. Los derechos de autor son inherentes al ser humano, se concibieron para proteger las creaciones artísticas y literarias y nacen desde el momento de creación de la obra, sea que no se requiere que ningún órgano del Estado reconozca el derecho, sino que éste nace a la vida jurídica en el momento en que se concibe la obra y se plasma en un medio material. Por otra parte, los derechos de autor protegen la forma o la expresión de las ideas intelectuales y no las ideas en sí. De tal manera pueden existir tantas formas de concebir la pintura de un paisaje como personas lo pinten, aunque sea el mismo paisaje, y ninguna persona está infringiendo el derecho de otro. Lo mismo puede suceder con un tema de una película o un libro. En esta materia existe un registro únicamente como elemento de prueba, pero no es una condición "sine que non" para tener el derecho.

Por otro lado, la propiedad industrial está concebida para proteger elementos intelectuales útiles para la industria, lo que técnicamente se denominan invenciones. Son títulos que el Estado otorga para que nazca el derecho. En esta categoría se encuentran: las marcas y otros signos distintivos, los dibujos y modelos industriales; los modelos de utilidad, la información no divulgada, las normas de competencia desleal y no por últimas, menos importantes, las patentes.

Las marcas son sumamente importantes para el comercio y tienen una función de protección al consumidor. Se constituyen en cualquier tipo de signo que sirva para distinguir los productos y servicios de una empresa, de los productos y servicios de otra; de manera que el consumidor tenga la opción de escoger, con los parámetros que él mismo determine. Los dibujos y modelos industriales son reuniones de líneas y colores que en conjunto logran dar una apariencia mejor a los artefactos cotidianos y los modelos de utilidad son invenciones menores, que no reúnen los requisitos para ser patentes, pero que tienen suficientes méritos como para otorgarles una protección menor.

Las patentes son títulos que otorga el Estado, mediante los cuales, de acuerdo a las concepciones más modernas, se adquiere el derecho de impedir a terceros el uso de la invención que encierra la patente y también se adquiere el derecho de otorgar licencias a terceros para su explotación, por un período de tiempo. Para ser susceptible de patentamiento una invención debe cumplir con los requisitos de novedad universal, nivel inventivo y aplicación industrial.

La novedad universal se refiere al hecho de que la invención no debe haber sido conocida en ninguna parte del mundo antes de su solitud. Si bien es cierto hay algunas legislaciones que otorgan plazos de gracia, es necesario decir que en general cualquier divulgación como: publicación, presentación en simposios, muestreo, comentarios entre colegas, etc., es capaz de impedir el patentamiento de una

de frutos sin encerar-a granel a 45 días (1,06) y cuyos valores se podrían desestimar como debidos a una situación extraordinaria.

La variable parece no haber sido afectada por el tiempo de almacenamiento, la temperatura (10 °C) o el empaque, confirmando así lo descrito por otros autores (Wardowsky, McCormack y Grierson 1976) que el efecto es ocasionado por daño mecánico durante los periodos de mayor turgencia en la fruta. En este sentido, se ha observado en el mercado nacional, una mayor afinidad de los comerciantes por limas provenientes de zonas más secas, situación que se origina, probablemente, en una menor turgencia de los frutos, en comparación con materiales producidos en condiciones del Atlántico.

Cuadro 7. Promedios para severidad de oleocelosis en limas persa expuestas a diferentes periodos de almacenamiento*.

Tratamientos		Días en almacenamiento			
Encerado	Empaque	15	45	60	75
Con cera	granel	0,00 a	0,75 ab	0,56 a	-
	bolsa perf.	0,00 a	0,81 ab	-	-
	caja am	0,00 a	0,50 b	-	-
	bolsa vacío	0,00 a	0,39 b	-	-
Sin cera	granel	0,00 a	1,06 a	0,12 ab	-
	bolsa perf.	0,00 a	0,31 b	0,00 b	-
	caja am	0,00 a	0,44 b	0,31 ab	-
	bolsa vacío	0,00 a	0,50 b	0,12 ab	0,17 a

* Valores en columnas con letras iguales no difieren significativamente entre sí.

CONCLUSIONES

El empaque a granel resulta la opción más congruente en relación con los costos, pues la fruta no requiere de embolsado, vacío o acondicionamiento con ceras o en empaques especiales. Los frutos almacenados a granel con o sin cera presentaron las mejores características para la mayoría de los tratamientos evaluados en este estudio.

El hecho de que los frutos de esos tratamientos resultaran iguales en términos esta-

dísticos, haría poco necesaria o eficaz la aplicación de cera, al menos en la concentración empleada en este ensayo. Es posible que se haya dado una situación que dificultara el intercambio gaseoso ocasionando consecuencias negativas para la conservación de los frutos bajo ciertas condiciones o empaques. Esto parece reforzarse con el hecho de que los tratamientos embolsados y en empaque con atmósfera modificada presentaron valores absolutos significativamente inferiores a lo esperado en la mayor parte de las variables.

En términos generales, la degradación de la calidad se encuentra determinada por las pérdidas de clorofila. La aplicación de ceras con más de 10 % de sólidos, se ha relacionado con daño fisiológico (Cuquerella y Navarro 1989). Este evento debe revisarse en cuanto a tipos de ceras y la fisiología de productos estudiados bajo condiciones tropicales. Es claro que las limas persa son sensibles a condiciones de poca ventilación o presencia de oxígeno, lo cual ha quedado evidenciado en la poca tolerancia de los frutos en los tratamientos con bolsas o en cajas para atmósfera modificada. El acondicionamiento de los frutos para permitir almacenamiento a temperaturas más bajas, surge como una posibilidad para mejorar su vida útil.

A pesar de contar con valores aceptables de área afectada, la presencia de oleocelosis es regular, por lo que debe prestarse especial atención al manejo poscosecha, en particular debido al contraste que desarrolla con el color del fruto, en etapas cercanas a color tres.

A 10 °C no se generan daños por frío en frutos sometidos a las condiciones anotadas.

AGRADECIMIENTO

Se desea expresar el agradecimiento a los Ing. Alvaro Fallas y Olivier Jariel por el suministro de las cajas para atmósfera modificada. Al Ing. Marco V. Sáenz por la facilitación de recursos de laboratorio. A la M.Sc. Beatriz Sandoval (INTA) por su apoyo en los análisis estadísticos.

invención. El nivel inventivo y la aplicación industrial son criterios un tanto subjetivos que significan, el primero, que la invención no tiene que parecer obvia a una persona versada en la materia de la que se trate y la segunda que la invención debe ser susceptible de producirse industrialmente. Las invenciones son soluciones técnicas para la industria, y pueden ser productos o procesos.

Otra cuestión de suma importancia es que los sistemas de patentes son territoriales, esto significa que, si bien es cierto, existen algunos principios que son universalmente aplicables, cada legislación de patentes rige para el territorio para la que fue promulgada. En la práctica esto significa que un título de patente otorgado en un país, es válido y solo rige en ese país. Los derechos de patente adquiridos en Costa Rica para una invención, sólo pueden surtir efectos en Costa Rica, de manera que en donde no está patentado el invento, este se puede utilizar sin estar infringiendo ningún derecho. De ahí que, dependiendo del mercado potencial de una invención y de las posibilidades que cada legislación otorgue, el titular deba decidir, en cuáles países proceder a solicitar patentes.

También debe de tomarse en cuenta que la mayoría de los sistemas de patentes en el mundo contemplan la excepción de la investigación, que quiere decir que la invención protegida por una patente, puede ser utilizada libremente, para efectos de investigación. El problema estriba en que si el producto de la investigación, resulta algo comercializable, que requiera el uso de la misma, no se podrá utilizar comercialmente sin tener una licencia del titular.

Organismos vivos

Hay que reconocer que los sistemas de patentes fueron concebidos para la protección de procesos y objetos inanimados y que debido a que los principios están por ende diseñados para la materia inerte, el tratar de aplicarlos a los organismos vivos representó todo un reto para la propiedad industrial.

Estados Unidos fue el país pionero en otorgar protección a los organismos vivos. En 1930 se promulgó la denominada Acta de Plantas, mediante la cual se otorgaba protección a las plantas que se reproducían asexualmente. El Acta de Plantas creó básicamente un régimen especial para este tipo de plantas, diferente del sistema de patentes de utilidad que regía en ese país.

Posteriormente, en Europa, en la década de los cincuenta, se empieza a gestar el surgimiento de un nuevo sistema de protección de propiedad intelectual para proteger exclusivamente a las variedades vegetales. Se trata de un sistema "sui generis" de protección para las variedades u obtenciones vegetales. Bajo este sistema se protegen las creaciones de los fitomejoradores, traducidas en variedades vegetales.

Con la adopción del Convenio Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales UPOV, por sus siglas en francés, se reconocieron por primera vez en el ámbito internacional, los derechos de los obtentores. Para acceder al sistema UPOV los países deben promulgar legislación de acuerdo con los principios generales establecidos en el Acta en vigencia, en este caso el Acta de 1991 y solicitar su ingreso a la sede en Ginebra.

Esa protección bajo un sistema internacional, se justifica en tanto que las variedades vegetales están concebidas para regiones en las que reinan condiciones agroecológicas particulares. Es frecuente que los límites de esas regiones no correspondan con las fronteras nacionales. En consecuencia, es corriente que los obtentores busquen protección en todos los Estados donde las condiciones agroecológicas son suficientemente similares.

En cuanto al ámbito de protección, se protege el uso comercial de todo el material de la variedad y no solo el reproductivo. Asimismo el Acta del 91 establece que se deberá otorgar protección a todas las variedades de todos los géneros y especies.

Las condiciones bajo las cuales se concede el derecho de obtentor son: novedad, distintibilidad, homogeneidad y estabilidad. Con respecto al primer requisito, una variedad se considera nueva si el material de reproducción del vegetal o de un producto de la cosecha de la variedad, no ha sido vendida por el obtentor o por alguien autorizado para fines de explotación, antes de la presentación de la solicitud del derecho de obtentor.

En lo que respecta a la distinción, una variedad cumple con tal principio si es claramente distinta de cualquier otra variedad conocida notoriamente antes de la solicitud de la primera. El mismo depósito de una variedad para fines de registro oficial, equivale a reconocer el conocimiento notorio de tal variedad. Una variedad es homogénea si sus características son uniformes, a excepción de las variaciones particulares de reproducción sexual o multiplicación vegetativa. Finalmente, se considera estable aquella variedad, cuyas características no se alteran luego de reproducciones o multiplicaciones sucesivas.

La variedad debe tener una denominación y el derecho otorgado al obtentor es de una duración limitada que no puede ser menor de veinte años en general y de veinticinco para el caso de vides y árboles.

Por tratarse de un sistema "sui generis" el sistema de la UPOV reconoce ciertas excepciones a los derechos del obtentor. Éstas se conocen como la excepción de los fitomejoradores y el derecho de los agricultores. La primera se refiere a la posibilidad de utilizar una variedad protegida como origen inicial para generar otras variedades y comercializarlas. Aunque el Acta del 91 restringe este concepto y utiliza el concepto de variedad esencialmente derivada, que se refiere a la prohibición de usar una variedad protegida como base inicial para crear otra, cuando a la segunda se le introduzca la modificación de una sola característica. Lo que se pretende con esto es evitar que a una variedad se le introduzca, por ejemplo, un gen de resistencia a insectos y se pretenda la protección. En este

sentido la variedad esencialmente derivada conserva la expresión de las características esenciales del genotipo o combinación de genotipos de la primera variedad.

Cuando se hace alusión a los derechos de los agricultores se involucra el hecho de que los agricultores pueden guardar semilla de su cosecha como base para su próxima producción, sin infringir ningún tipo de derechos. Antes del Acta del 91 este era un principio declarado del sistema UPOV pero con esta nueva Acta cada país miembro podrá establecer si desea o no conceder el privilegio de los agricultores, estableciéndolo así en su legislación nacional y se abre la posibilidad de la doble protección, o sea la posibilidad de obtener sobre una variedad una patente y un título de obtentor vegetal al mismo tiempo, posibilidad que se encontraba vedada en el Acta del 78.

Existe una controversia mundial sobre las bondades de los cambios efectuados en el sistema de la UPOV por el Acta del 91. Algunos piensan que ante el desenvolvimiento del sistema de patentes para cubrir organismos vivos, el cual se tratará más adelante, y el desarrollo en el uso de técnicas de ingeniería genética en la agricultura, el sistema de protección de variedades vegetales se estaba quedando rezagado y no satisfacía las necesidades de los fitomejoradores. Otros por el contrario piensan que el sistema se está restringiendo para cada vez asemejarse más al sistema de patentes, lo cual, para ellos, es una lástima pues precisamente las diferencias entre ambos son las que hacen más atractivo para ciertos países el sistema de la UPOV, permitiéndose el desarrollo de la agricultura a través del intercambio genético y la proliferación de variedades sin restricciones.

Aunque hay que reconocer que el concepto de la variedad esencialmente derivada en realidad era una necesidad, por cuanto, por medio de técnicas de ingeniería genética se podía introducir un gen de resistencia a alguna enfermedad o insectos y reclamar protección sobre una variedad que en esencia es

la misma, pudiéndose utilizar el mismo procedimiento en infinidad de variedades, todo en detrimento del fitomejorador de la variedad original.

Ahora bien, en cuanto a la posibilidad de patentar organismos vivos, incluyendo plantas, se hará referencia en primer término a la evolución del tema en algunos países industrializados. Para empezar se puede decir que en Estados Unidos tradicionalmente la Oficina de Patentes y Marcas consideraba a los productos naturales y a los organismos vivos, como productos de la naturaleza y por ende no susceptibles de ser patentados. La única excepción a este concepto se dio en algunas patentes concedidas a Pasteur en 1873, en las cuales se le reconocieron reivindicaciones a procesos que involucraban levaduras asemejándolos a un proceso de manufactura.

Sin embargo en 1977, la Corte de Apelaciones aclaró en un fallo que a pesar de que los productos naturales "*per se*" no podían ser patentados, si se podría obtener protección por cualquier nueva forma o composición. De tal manera que si el hombre era capaz de aislar un elemento de la naturaleza, que no existiera como tal en ella, y darle una función, éste era patentable. Esta posición derivó en el reconocimiento de que los productos naturales purificados, se consideraban nuevos y patentables. A partir de esa decisión se comenzaron a otorgar patentes para organismos vivos.

En 1980 la Corte Suprema de los Estados Unidos, en el afamado fallo *Diamond vs. Chakrabarty*, estableció que se debía otorgar patente a la primera bacteria genéticamente modificada que era capaz de limpiar derrames de petróleo. La Corte indicó que un microorganismo vivo, hecho por el hombre, tenía que ser protegido bajo las leyes estadounidenses como un producto o composición de materia. Esta decisión le dio un marco judicial a la Oficina de Patentes y Marcas para otorgar patentes tanto para plantas como para animales no humanos. Vale aclarar que este concepto se refiere al de patente de utilidad, en contraposición al concepto de pa-

tente del *Plant Patent Act*, mencionado en los inicios de este artículo.

Ya en 1985 se otorgó una patente para una variedad de maíz que contiene un incremento en su nivel del aminoácido tryptophan y en 1988 fue otorgada la primera patente para un animal genéticamente modificado, en específico un ratón que tiene una susceptibilidad uniforme para contraer cáncer lo cual lo hace un instrumento excelente en las investigaciones para la cura de ese mal.

La situación en Estados Unidos ha derivado a tal grado que ya se ha patentado incluso material genético humano. En ese país es posible patentar genes, su localización y técnicas de localización de los mismos, técnicas génicas, técnicas de clonación, sondas de diagnóstico, etc.

Más relacionado con la agricultura, en Estados Unidos es posible patentar una planta manipulada genéticamente, o lo que se denomina planta transgénica. Generalmente las compañías incluso tienen patentado el gen con el que transformaron la planta y es hasta posible que la tecnología, el proceso o los constructos utilizados, también sean patentados. Al patentar la planta patentan también las semillas y los derivados de esa planta.

En un plano práctico lo que esto significa es que al comprar semilla de esa planta transgénica, el agricultor, no podría dejarse semilla para la próxima cosecha, ni intercambiarla o venderla a sus vecinos. Para la próxima cosecha tendría que recurrir a la misma compañía a comprar la semilla. Tampoco podría el agricultor o un fitomejorador utilizar esa planta como base de mejoramiento sin una licencia, a menos que sea únicamente con fines de investigación y en el país la legislación otorgue esa excepción.

En Europa, la Oficina de Patentes Europea, otorgó la primera patente de un microorganismo en 1981 y la primera patente sobre una planta se otorgó en 1989, a pesar de que las disposiciones legales al respecto no eran claras. La patente para el oncoratón fue otorgada

en 1992, bajo la consideración de que el ratón modificado no calzaba en la exclusión existente para patentar animales. Muy recientemente se han promulgado unas disposiciones muy fuertes en cuanto al patentamiento de invenciones biotecnológicas.

A pesar de que se puede hablar de estos adelantos, la protección legal de la biotecnología ha sido muy debatida. Existen consideraciones éticas, filosóficas, religiosas y políticas, que han enriquecido el debate sobre la conveniencia o no de proteger por medio de derechos de propiedad intelectual a las invenciones biotecnológicas. Por ejemplo, el pequeño número de patentes que han sido otorgadas para plantas y animales en la Unión Europea han sido opuestas oficialmente por varias organizaciones. Más de 80 organizaciones no gubernamentales colectivamente presentaron una objeción legal al otorgamiento de la patente para el oncoratón.

Algunas de las preocupaciones en torno a la protección de la biotecnología tienen raíces éticas y filosóficas y se refieren al derecho moral del hombre a transferir genes de una especie a otra y a manipular la creación de Dios. Existen cuestionamientos sobre el derecho a reemplazar genes malos con buenos y quién decide cuáles son malos y cuáles buenos.

Otros cuestionamientos se refieren a la concentración de la industria agrícola, que es de vital importancia para la sobrevivencia del hombre, en algunas pocas firmas o transnacionales y en especial la concentración en esas mismas compañías, de todos los insumos necesarios para la agricultura, lo que podría devenir en discriminaciones de precios, limitando a los agricultores el acceso a los mismos.

Pero al analizar el debate es necesario tomar en cuenta que estas consideraciones éticas no son exclusivas de la biotecnología. El fitomejoramiento tradicional, la adopción de nuevas prácticas de cultivo y producción, como la inseminación artificial, la introducción

de nuevos alimentos, como la leche pasteurizada, etc., fueron también cuestionadas en su momento y algunas lo continúan siendo. La biotecnología es capaz de acelerar el cambio estructural en la agricultura por lo que definitivamente hará surgir nuevos y diferentes cuestionamientos.

La situación en Costa Rica

Influenciada por las corrientes de la década de los 70, que promovidas por la UNCTAD, indicaban que los sistemas de patentes eran perjudiciales para los países en desarrollo, sobre todo en ciertas áreas estratégicas, como el sector salud y al agropecuario, la Ley de Patentes costarricense que se promulgó en 1986 excluía de patentamiento a las variedades vegetales y las razas animales, a los procedimientos esencialmente biológicos para la obtención de plantas y animales, así como los procedimientos microbiológicos y los productos obtenidos de ellos:

También otorgaba una protección de un año, o sea nula, a las patentes relativas a medicamentos, artículos y sustancias de aplicación terapéutica, las de bebidas, productos alimenticios, abonos, fertilizantes, agroquímicos en general y sustancias o productos para el control, tratamiento o prevención de malezas o plagas de animales o vegetales. De tal manera las invenciones biotecnológicas estaban vedadas de protección en Costa Rica.

Pero con el ingreso del país a la OMC y por ende con la obligación aparejada de apegarse a las disposiciones del Anexo 1C del Acuerdo de Creación de la OMC sobre los Aspectos de los Derechos de Propiedad Intelectual relacionados con el Comercio (ADPIC), a partir del 1 de enero del año 2000 el país tenía la obligación de hacer cambios en esta materia, y sobre todo implementar lo establecido en el artículo 27 del ADPIC, que en lo que interesa dispone que se deberán otorgar patentes ya sea de productos o de procesos, en todos los campos de la tecnología, sin discriminaciones, por un período de 20 años.

Seguidamente el mencionado artículo establece unas excepciones que de manera práctica significan la posibilidad de excluir de patentamiento a las plantas y los animales, excepto los microorganismos y excluir también a los procedimientos esencialmente biológicos para la producción de plantas y animales, siempre que no sean microbiológicos. En cuanto a las variedades vegetales el ADPIC otorga la posibilidad de que los países otorguen protección ya sea por patentes o por un sistema "sui generis", o una combinación de ambos, significando esto que un país otorgar ambas posibilidades de protección.

Las discusiones sobre estos temas en la Ronda Uruguay, fueron tan fuertes entre los países desarrollados y los subdesarrollados, que el mismo ADPIC contiene una disposición para la revisión de este artículo en 1999. La cuestión es si esa revisión será para reforzar aún más la protección para los productos biotecnológicos o para aminorarla. Lo cierto es que a nivel mundial hay una preocupación latente en ciertos sectores sobre el impacto que la apropiación de las biotecnologías y sus productos, tendrá sobre la agricultura mundial. Hay que reconocer que la agricultura en el mundo se desarrolló en un ambiente caracterizado por el libre intercambio de germoplasma, de recursos genéticos y de tecnologías, por lo que definitivamente un ambiente más restrictivo tendría que causar algún tipo de consecuencia del ADPIC aún no se ha llevado a cabo y eso podría dar una idea de lo conflictivo del tema a nivel mundial.

Antes de los cambios efectuados en la Ley de Patentes a raíz de la entrada de Costa Rica al ADPIC, se promulgó la Ley de Biodiversidad de 1998, la cual a pesar de que se refiere a materia de conservación de la biodiversidad incluyó un capítulo sobre protección de la propiedad intelectual. En la materia que nos ocupa la Ley estipula que se debe excluir de patentabilidad las secuencias de ADN *per se*, las plantas y los animales, los microorganismos no modificados genéticamente, los procedimientos esencialmente biológicos para la producción de plantas y animales, los

procesos o ciclos naturales en sí mismos, las invenciones esencialmente derivadas del conocimiento asociado a prácticas biológicas tradicionales o culturales en dominio público y las invenciones que al ser explotadas comercialmente en forma monopólica puedan afectar los procesos o productos agropecuarios considerados básicos para la alimentación y la salud de los habitantes del país.

Es claro que la Ley estuvo inspirada en la teorías que adversan el patentamiento de las invenciones biotecnológicas. Lo que no es claro es el significado y el alcance de algunas de las disposiciones ya que por ejemplo los ciclos o procesos naturales no son patentables. Esto da pie incluso para recalcar el hecho de que en esta materia existe todavía una gran confusión sobre los alcances del patentamiento de organismos vivos. Debe recordarse que para que una invención sea patentable debe cumplir los requisitos de novedad, nivel inventivo y aplicación industrial. Esto de manera práctica significa en primer lugar que debe haber intervención de la mano del hombre.

Ahora bien en los inicios del año 2000 se promulgaron en Costa Rica una serie de leyes que tenían como intención que el país cumpliera con los requisitos estipulados en el ADPIC. Esta situación dio pie para una reforma a la Ley de Patentes ya mencionada. En la materia de interés para este artículo la Ley de Patentes se reformó de la siguiente manera. Se excluye de patentabilidad a las plantas, los animales y los procedimientos esencialmente biológicos para la producción de plantas o animales y se estipula claramente que las variedades vegetales serán objeto de una legislación especial. En otras palabras cabe decir que los microorganismos y los procedimientos esencialmente microbiológicos si son patentables, tal y como lo establece el ADPIC.

Sin embargo, al no reformarse explícitamente la Ley de Biodiversidad estas nuevas disposiciones de la Ley de Patentes conllevan un conflicto de leyes que aún no se ha solucionado pues no queda claro cuáles

disposiciones prevalecen sobre cuáles. De tal manera no es claro si un microorganismo simplemente aislado sería patentable o si debe conllevar una modificación genética. Tampoco es claro de ninguna de las dos leyes si los genes son patentables o no o si un vector o un constructo son patentables, esto para efectos de protección de invenciones relacionadas con plantas transgénicas. Esta situación crea un clima de incertidumbre e inseguridad jurídica que debe ser remediado de alguna manera.

En otro orden de cosas la reforma cambia el tratamiento de las invenciones referidas a farmacéuticos, agroquímicos, fertilizantes y alimentos, otorgándose la protección para este tipo de invenciones por un período de un año a partir de la promulgación de las reformas a la ley en enero del 2000.

Finalmente cabe mencionar las nuevas obligaciones de las que será objeto Costa Rica a raíz de la negociación de un tratado de libre comercio entre Centroamérica y los Estados Unidos, denominado CAFTA por sus siglas en inglés. Si bien es cierto Centroamérica logró que el tema en específico de las

invenciones biotecnológicas no se tocará detalladamente, Costa Rica por no haber cumplido todavía con la disposición del ADPIC de proteger a las variedades vegetales, se comprometió a emitir legislación a ese respecto antes de junio del 2007 y a incorporarse a la UPOV, entendiéndose esto como la adhesión al Acta de 1991.

Asimismo, Costa Rica, al no otorgar protección por medio de patentes a las plantas, se comprometió a hacer todos los esfuerzos razonables a efecto de otorgar esa protección. Como se ve el artículo es muy ambiguo y es poco claro si en el futuro el país estará comprometido a otorgar patentes en plantas.

El tema de la protección de los organismos vivos es un tema relativamente nuevo e implica un reto para los países en desarrollo, sobre todo aquellos países, que, como Costa Rica, dependen en buena medida de la agricultura. Es necesario que todos los sectores involucrados conozcan del tema a efecto de que cuando se presenten las discusiones puedan opinar con conocimiento de causa y así lograr influenciar al sector político, que es al final el que toma la última decisión.

ANÁLISIS Y COMENTARIOS

MANEJO INTEGRADO DE LA BROCA DEL CAFÉ (*Hypothenemus hampei*)

Jorge Mora¹

La aparición de la broca (*H. hampei*) en el Valle Central de Costa Rica a finales del año 2000 generó una gran expectativa en el caficultor costarricense, sobre todo por que se presenta en un período donde los precios internacionales del café no favorecen la actividad. Sumado a ello, aparecen interrogantes sobre el efecto que pueda tener el manejo de dicha plaga en un ecosistema que se ha caracterizado por mantenerse en equilibrio, a raíz del poco uso de los plaguicidas, factor que contribuye al control natural de muchas de las plagas presentes a niveles de incidencia que no generan pérdidas para nuestro productor. Entre los aspectos que se analizan, está la necesidad de introducir algunas prácticas al sistema, como la recolecta del grano que se encuentra en el suelo posterior a la cosecha, práctica desde tiempo abandonada por el productor costarricense debido principalmente a la disponibilidad de mano de obra y al costo económico que ésta genera. También se plantea la posibilidad del uso de insecticidas para el combate de la plaga, esta medida en muchos casos debe de analizarse a conciencia y con criterio técnico, debido a factores que limitan su uso, entre ellos, es necesario tomar en consideración la alta densidad de plantas que dificulta la labor de aplicación y aumenta la cantidad de producto comercial a utilizar. Existe poca claridad en nuestros productores del momento más óptimo para la aplicación y que permita lograr la mayor reducción de la plaga, además de su

desconocimiento para el manejo de este tipo de plaguicida. Lo anterior, no solo genera un efecto sobre la salud de las personas que estarían en contacto con esta práctica de combate sino que influye sobre la estabilidad del ecosistema, el cual, en muchos de los casos se desarrolla en regiones con presencia de mantos acuíferos.

La plaga se ha dispersado en la mayoría de las plantaciones ubicadas bajo los 1.300 msnm, en casi todo el Valle Central y parte de la zona Sur del país. Los datos suministrados por el Servicio Fitosanitario del Estado estiman para el presente año (2004) un total de 14.000 hectáreas con presencia de la broca. Con base en esta situación el panorama que se plantea por el ingreso de la broca a nuestros cafetales, obliga a adoptar estrategias de manejo que permitan reducir las poblaciones del insecto, a niveles que no afecten el costo económico de la actividad así como la estabilidad del ecosistema. Por esta razón, es importante tomar en consideración aspectos como la fluctuación poblacional de la plaga en cada una de las regiones, la respuesta del insecto a factores climáticos y el conocimiento de la fenología de los cultivares de café, a fin de definir el momento de mayor vulnerabilidad de la plaga.

Las medidas de combate deben ser enfocadas a través de la integración de prácticas donde se incluyan el manejo cultural, etológico y biológico de la broca.

¹ Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria (INTA), Costa Rica.

1. Manejo cultural

El objetivo que se persigue con la integración de varias prácticas culturales o de manejo agronómico, es crear una condición desfavorable para la reproducción y alimentación de la broca dentro del cafetal. Se estima que aproximadamente el 80% del control de la plaga se logra mediante la aplicación de las siguientes prácticas culturales:

a. Ubicación de los focos iniciales dentro del cafetal

La distribución espacial de la broca dentro del cafetal es focalizada y cualquier método de control se facilita si se tienen identificados los primeros focos dentro de la plantación. El establecimiento de banderillas visibles, que sobresalen entre las plantas de café, permiten conocer el movimiento del insecto dentro del área afectada, las zonas de mayor concentración del insecto y por ende el lugar donde debemos intensificar las medidas de combate.

b. Uniformidad de la plantación

La mezcla de cultivares favorece la presencia de la broca dentro de la plantación debido a que se dispone de suficiente fruto y refugio durante gran parte del año. En Costa Rica, principalmente en cafetales del pequeño productor es característico encontrar esta situación, con plantas de catimores o del cultivar "Borbón" dentro de plantaciones de "Caturra" o "Catuai". Los cultivares "Caturra" y "Catuai" presentan mayor uniformidad en la floración que los Catimores, y el cultivar "Borbón" concentra su floración al inicio del año, antes que los restantes. Es recomendable mantener la uniformidad de la plantación, con aquellos cultivares que concentran su floración, a fin de reducir la disponibilidad del grano en las etapas más críticas para el insecto.

c. Regulación de la sombra

Dentro del cafetal la broca prefiere los lugares sombreados con mayor humedad, no obstante, también se ha observado que conforme se incrementa la humedad a valores mayores de un 75%, su actividad se reduce aún en oscuridad. Los fuertes aguaceros que se presentan en Costa Rica en los meses de setiembre y octubre reducen la actividad del insecto y en algunos casos originan su mortalidad. La regulación de la sombra en los primeros meses del año crea una condición desfavorable para el insecto que se encuentra en el grano residual ya sea en la planta o en el suelo. Asimismo, la poda de los cafetos y el control de malezas permiten una mejor ventilación del cultivo y un ambiente menos propicio para el insecto.

d. Cosecha del grano brocado en la planta y recolecta del grano caído

La recolecta del grano brocado ya sea en la planta o en el suelo son prácticas que en conjunto reducen significativamente el efecto de la plaga en la siguiente cosecha. En países como Colombia, esta medida redujo los niveles de infestación hasta en un 70%. En Costa Rica, ambas prácticas se ven limitadas por el costo económico y en la disponibilidad de mano de obra, sobretodo para aquellas plantaciones que mantienen altas incidencias del insecto. Sin embargo, el control preventivo de la plaga mediante la ubicación de los primeros focos en la plantación reducen el costo de la cosecha sanitaria.

Posterior a la cosecha, cerca de un 10% del grano permanece en la plantación como grano residual, principalmente en el suelo y es aquí donde se mantiene el insecto en la etapa más crítica de su ciclo de vida, razón por la cual, cualquier práctica dirigida a combatir la broca en este período del año, tiene un alto efecto en la reducción del grano

brocado de la siguiente cosecha. En esta fase, algunas prácticas complementarias como el control de las malezas y enterrar el grano mediante la "palea" tienden a fomentar una condición desfavorable para la plaga dentro del grano residual.

Estudios de fluctuación poblacional de la plaga realizados en Costa Rica, demuestran una actividad importante del insecto en dos épocas del año, la primera se da con el inicio de las primeras lluvias, en este momento la broca emerge del grano residual en busca de alimento y un segundo período de actividad con la reducción de las lluvias a mediados del año, período que en nuestro país se conoce como "veranillo de San Juan". En este último caso el insecto busca el grano para ovipositar, razón por la cual, se incrementa la cantidad de grano brocado en la planta. Es a partir de este período del año cuando se debe iniciar la cosecha sanitaria del grano brocado en la planta.

e. Programación de la cosecha

Esta práctica persigue evitar el traslado del grano cosechado de una plantación con broca a plantaciones libres de la plaga. Para tal efecto, debe programarse primero la cosecha en los lotes libres de broca y posteriormente en las plantaciones con incidencia de la plaga. El grano recolectado de cafetales brocados deben ser trasladados rápidamente al beneficio.

f. Uso de plantas trampa

Es poca la información que sustenta la eficacia de esta medida en el combate de la broca, debido a que no ha sido estudiada bajo nuestras condiciones. Con ella se pretende adelantar la floración y por ende la disponibilidad de grano en algunas plantas del cafetal, en el período en que el insecto no mantiene alimento. La mayoría de los cultivares utilizados en Costa Rica manifiestan la floración principal al inicio de las lluvias, en los meses de abril y mayo. Con la aplicación de agua a

cierta cantidad de plantas, cercanas a los focos de la plaga, se adelanta el proceso de fructificación y la disponibilidad de alimento para las brocas que pueden ser capturadas con la recolección de este grano. Esta práctica puede ser complementada con el control etológico para reducir las poblaciones de la plaga antes del período de fructificación.

2. Manejo etológico

El uso de trampas con atrayentes se ubica entre las medidas más eficaces para reducir las poblaciones del insecto, antes de que se manifieste la producción del grano en la planta. El atrayente está constituido por una mezcla de los alcoholes etanol y metanol, en una relación 3:1. Estudios realizados en el Salvador y Costa Rica han demostrado también que el insecto responde a los colores y se han logrado las mayores capturas cuando se utilizan trampas de color rojo (Figura 1).



Figura 1: Tipo de trampa utilizada en Costa Rica para la captura de la broca (*H. hampei*). Marzo, 2004.

El uso de las trampas como medida preventiva para disminuir el porcentaje de grano brocado debe realizarse con base en la fluctuación poblacional del insecto que varía según la condición climática prevaleciente en cada región. Con el inicio de las lluvias, el insecto que se encuentra en el grano residual es estimulado por la búsqueda de alimento y al no encontrarlo, es atraído por los alcoholes que se mantienen en una membrana en la parte superior de la trampa. En Costa Rica se han logrado las mayores capturas del insecto en cafetales con sombra y se cuantificaron hasta 32.000 brocas por trampa en la semana de mayor actividad del insecto (semana 17 del año 2003) en una plantación ubicada en la zona de Naranjo, provincia de Alajuela a 800 msnm y con alta incidencia de la plaga. En otro estudio realizado el mismo año en la zona de Jericó, provincia de San José a 1.400 msnm se lograron las mayores capturas entre las semanas 15 a la 19. El área de acción de cada una de las trampas es aproximado a los 500 m², razón por la cual deben utilizarse alrededor de 25 trampas por hectárea en un período que va desde antes del inicio de las lluvias, en el mes de marzo para el Valle Central hasta el momento en que se completa el llenado del grano, entre los 75 a 100 días después de la floración principal. Posterior a este período, la captura en las trampas es mínima debido a que el insecto es atraído por el grano.

3. Aplicación de biocontroladores

El uso de hongos entomopatógenos se encuentra entre las estrategias del control biológico más utilizadas para reducir las poblaciones de la broca a nivel mundial. Las infecciones por los hongos son muy comunes y relativamente fáciles de detectar en el cuerpo del insecto, el cual se observa cubierto de micelio o cuerpos fructíferos del hongo. Entre los géneros más utilizados en el control de la plaga se encuentran *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana*, principalmente este último ha sido el más evaluado a nivel comercial. Con la aparición de la plaga en Costa Rica, a finales del año 2000 en la localidad de Barreal de Heredia, se detectaron insectos parasitados por el

hongo *B. bassiana*, factor que contribuyó con el inicio de los primeros proyectos encaminados a la colecta y evaluación de la eficacia de aislamientos nativos en el país. Pruebas de campo realizadas por investigadores del Instituto de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria (INTA) mostraron los mejores resultados con aplicaciones inundativas (1X10¹² conidias/ mL) del hongo *B. bassiana*, obteniendo valores de un 50 % de la población de broca parasitada cuando se concentraron tres aplicaciones del hongo entre los meses de julio y agosto, momento del año en que el insecto sale para ovipositar nuevos granos. *Beauveria bassiana* requiere de ciertas condiciones para favorecer el desarrollo de la epidemia dentro del ecosistema cafetalero. Plantaciones con sombra permiten un microclima más favorable para la adaptación y persistencia del hongo. El efecto de la luz ultravioleta sobre las conidias del hongo es detrimental, razón por la cual, las aplicaciones del hongo deben realizarse preferiblemente en horas de la tarde, con poca intensidad lumínica. Ensayos realizados en Costa Rica a fin de evaluar la persistencia de *B. bassiana*, en una plantación de café a plena exposición solar, permitieron concluir que el hongo no persiste más de 72 horas sobre el grano y más bien su efecto sobre el nivel de parasitismo se observó principalmente, sobre los insectos que estuvieron en contacto en el momento de la aplicación. Lo anterior, obliga a concentrar las aplicaciones en los días de mayor actividad del insecto, que para las condiciones del Valle central se observa entre los meses de julio y agosto con el inicio del período climático que en nuestro país se conoce como "veranillo de San Juan". El hongo tiene su efecto sobre la broca cuando los insectos entran en contacto con las esporas al tratar de perforar el grano, si el insecto se encuentra dentro del grano es poco probable que lo parasite. A raíz de lo anterior, es que aplicaciones de *Beauveria bassiana* una vez concluido el período de mayor actividad del insecto tienen poco efecto en el nivel de parasitismo. Se ha observado una reducción en el número de individuos parasitados en el campo como resultado de las altas precipitaciones que se presentan en las regiones cafetaleras de Costa Rica, entre los meses de setiembre y octubre.

La interacción de *B. bassiana* con el manejo agronómico del cultivo juega un papel fundamental para definir los niveles de parasitismo en el campo, principalmente, el uso de fungicidas utilizados para el combate de las principales enfermedades foliares que afectan el cultivo, para Costa Rica el caso de la roya (*Hemileia vastatrix*) y el ojo de gallo (*Mycena citricolor*). Los fungicidas de la familia de los triazoles, comúnmente utilizados para el manejo de ambas enfermedades reducen sensiblemente los porcentajes del parasitismo, mientras que los hidróxidos de cobre y la validamicina tienen poco efecto sobre la persistencia del hongo en el campo.

Otro aspecto a tomar en consideración con el uso de estos bioplaguicidas tiene que ver con el control de calidad de las formulaciones. Es fundamental asegurarse de que la formulación este libre de contaminantes, que mantenga la concentración de conidias indicada y con un 100 % con capacidad de germinar, además, su capacidad de virulencia debe ser reactivada ya que ésta se pierde por el manejo del hongo en medios de cultivo en el laboratorio. Es indicado el uso de los aislamientos nativos, sobre todo aquellos que sobresalen por mantener los mayores niveles de parasitismo. Al respecto, las investigaciones llevadas a cabo en Costa Rica por funcionarios del INTA, en los años 2003 y 2004, demostraron que los aislamientos PC02 y PC05 mantienen una alta capacidad de virulencia cuando fueron evaluados en campo en comparación con la cepa Bb9205 propiedad de CENICAFE, de bastante uso en Colombia.

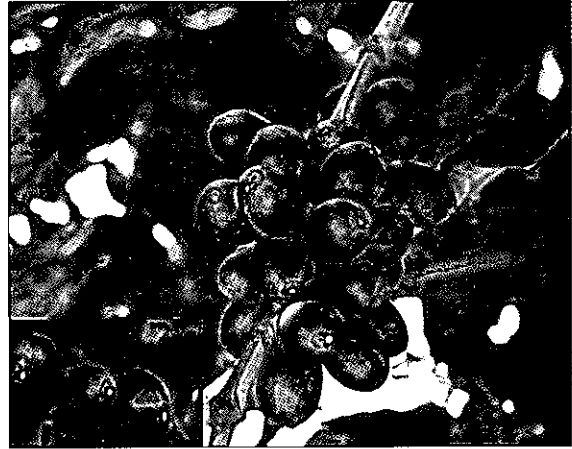
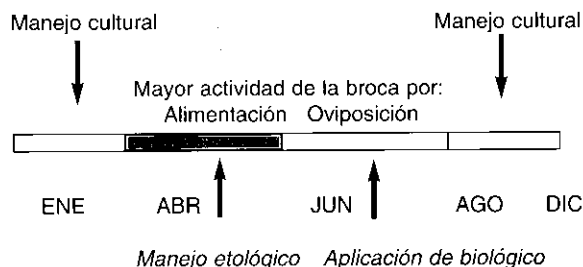


Figura 2: Brocas parasitadas por el hongo *Beauveria bassiana* observadas en el foco de origen de la plaga. Barreal, Heredia. Costa Rica. 2000.

El uso de parasitoides, como parte del control biológico, es otra de las estrategias a considerar en un programa para el manejo integrado de la broca. *Hypothenemus hampei* por ser una plaga exótica, presenta pocos enemigos naturales cuando ingresa por primera vez al país. Se conoce de varias especies de hormigas predadoras de la broca, sin embargo, representantes de la familia Bethyridae como lo son *Cephalonomia stephanoderis* y *Prorops nasuta* son los de más uso a nivel mundial. En el caso de Costa Rica, recientemente el Servicio Fitosanitario del Estado introdujo ambas especies. Sin embargo, son pocos los trabajos de investigación realizados con estas especies y aún no se conocen los resultados de dicha introducción a nuestro ecosistema cafetalero.

Desarrollo de un modelo sobre el manejo integrado de la broca para las condiciones de Costa Rica



NORMATIVA Y PROCEDIMIENTOS PARA LA PUBLICACIÓN DE ARTÍCULOS CIENTÍFICOS EN LA REVISTA DEL INTA

ASPECTOS GENERALES

1. La edición de la revista es una de las actividades relevantes de Transferencia, por lo que se publicarán dos números por año (en junio y en diciembre).

2. La aceptación o no de los escritos será de acuerdo con las normas y procedimientos para publicar artículos científicos y es competencia del Comité Editorial.

Únicamente se aceptarán aquellos artículos que no hayan sido publicados en otra(s) revista(s).

3. La revista tiene carácter técnico -científico y en ella se publican:

- a- Artículos científicos resultado de trabajos originales e inéditos de investigación (básica, aplicada, validación), que a juicio del Comité Editorial tengan mérito científico o técnico.
- b- Noticias técnicas (notas técnicas, avances de investigación, etc.).
- c- Análisis y comentarios sobre temas especializados.
- d- Revisiones bibliográficas.

PROCEDIMIENTOS

1. Una vez que el Comité Editorial recibe el artículo, dispone de un mes para enviarlo a los revisores. Los revisores internos tendrán un plazo máximo de un mes para entregar las publicaciones revisadas con un informe escrito de las mismas. A los reviso-

res externos se les sugerirá el mismo tiempo para revisarlo.

Cuando el artículo es devuelto por los revisores, los editores dispondrán de ocho días hábiles para enviarlo a los autores con una nota en la que se indican las correcciones respectivas. Por su parte, los autores contarán con un plazo máximo de 15 días hábiles para hacer las correcciones y devolverlo al Comité Editorial.

2. Los artículos científicos deben de tener una extensión máxima de 20 páginas escritas a doble espacio.

Las notas técnicas deben tener una extensión no mayor de 12 páginas escritas a doble espacio.

Se debe presentar un original y tres copias en hojas de papel bond tamaño carta y el texto grabado en un diskette preferiblemente de 3^{1/2} o CD de computadora; escrito en Word con letra Helvética No 12. Los gráficos y cuadros deben aparecer en Excel con sus respectivas tablas de valores.

3. En la redacción de los artículos se deben utilizar las Normas de la Real Academia, las unidades de medida del Sistema Métrico Decimal y las simbologías escritas de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI). Las unidades no llevan punto, se escriben con minúscula y no tienen plural.

Algunos ejemplos son: kilogramo (kg) gramo (g) metro (m) hectárea (ha) grados Celsius (C) milímetro (mm) miligramo (mg) litro (l) metros sobre del nivel del mar (msnm) y elementos (N,P,etc).

Si el autor se ve obligado a utilizar unidades de medida de otro sistema, tendría que mencionar entre paréntesis su equivalencia.

Cuando las unidades no están precedidas por un número, se expresan por su nombre completo sin utilizar su abreviatura. Por ejemplo: metro en lugar de m.

Los decimales se indican con coma; los miles con punto y los millones con un espacio.

En el caso de los números del cero al nueve, cuando no van seguidos de unidades, se escriben con palabra; y números para valores iguales o mayores a diez.

4. Cuando los productos químicos se citan en el título y texto se debe utilizar solo el nombre genérico del producto. Ejemplos: terbufos, cletodim.

ESTRUCTURA DE LOS ARTÍCULOS

Título: tiene que ser claro, breve, claro y conciso y lo más informativo posible. No más de 15 palabras es aceptable. Debe indicar el contenido del artículo de manera suficientemente explícita y precisa (MAG 1990). Indicar con un "1", si el trabajo fue parte de una tesis, proyecto, etc.

En él se deben incluir los nombres científicos de las plantas y animales u otros organismos considerados en el estudio (EEFBM 1999).

Los nombres científicos (género, especie, cultivar y el nombre del clasificador) deberán ser citados para cada organismo en su primera mención, posteriormente se puede continuar usando el nombre vulgar. Se escriben con letra cursiva o itálica.

El nombre del género, se puede abreviar con sus iniciales a partir de ese momento excepto en el caso en que se deban citar otros géneros con las mismas iniciales, ya que se puede crear confusión (Molestina et al. 1988).

Autores: se considera (n) autor (es), el (los) individuo (s) (autor (es) personal (es), o la entidad (es), institución (es), asociación (es), organización (es), sociedad (es) (autor (es) corporativo (es), responsable (s) de los contenidos intelectuales de las publicaciones. El orden en el que se mencionan va de acuerdo con su contribución y aportes en la investigación y se colocan al margen superior derecho, debajo del título, nombre completo y un sólo apellido. Con una nota al pie de página indicando la institución para la cual labora el autor (es). Se omiten los grados académicos del (los) autor (es).

Resumen: se coloca después del nombre de los autores y presenta en forma concisa el mensaje del artículo, describiendo brevemente los materiales y condiciones más relevantes del experimento. Debe indicar el año y lugar, los resultados obtenidos y las conclusiones más importantes. Las oraciones usadas deben ser racionales, objetivas y justificar el porqué de la investigación y el objetivo, evitando describir directamente los materiales y los métodos. La extensión no debe ser mayor de media página.

Introducción: Define el problema que motiva la investigación y al final de esta sección se indican los objetivos o razones del estudio. Pueden incluirse citas bibliográficas para ayudar a la definición del problema y del trabajo. La extensión de esta se recomienda que sea de aproximadamente 350 palabras (MAG 1990).

Materiales y Métodos: describen en forma bien detallada la ubicación, la fecha de inicio y término, el ambiente, los materiales, las técnicas, los tratamientos, el diseño experimental, los análisis estadísticos y las variables a evaluar expuestos con suficiente claridad para que otros científicos puedan repetir el estudio. Si el método es muy conocido, solamente se incluyen referencias bibliográficas aclaratorias; si es nuevo o modificado se debe escribir nuevamente. Escribir en orden cronológico (MAG 1990).

Resultados y Discusión: se recomienda que ambas partes vayan juntas, sin embargo, el autor podrá separarlas en caso que sea recomendable. Los resultados describen la información generada por la investigación; deben escribirse en forma concisa y siguiendo una secuencia lógica, usando cuadros y figuras (cuando se incluyen fotografías, se les da el nombre de figuras y su numeración se debe ajustar a la secuencia de los gráficos). Los cuadros se presentan en tablas sin divisiones internas y externas. Los cuadros y figuras deben estar ubicados donde se mencionan, deben ser autoexplicativos y la información debe presentarse en forma completa, clara y concisa, de tal forma que no se tenga que recurrir al texto para entender el resultado presentado. Use decimales cuando sea justificado, si no, redondee o aproxime apropiadamente.

En la discusión no abuse de la estadística, úsela como una herramienta para probar la (s) hipótesis propuesta(s), con una base objetiva. Suministrar la significancia de las pruebas.

Se discutirán los resultados obtenidos, comparándolos con otros trabajos afines para dar interpretaciones o deducciones lógicas sobre las diferencias o concordancias encontradas.

En la "Discusión" se debe explicar hasta qué punto los resultados obtenidos contribuyen a la solución del problema (limitantes) y que puede traducirse en recomendaciones, aplicaciones, sugerencias, hipótesis, etc. (MAG1990).

Conclusiones: En las conclusiones se hace una síntesis de los resultados importantes producto de los datos obtenidos durante la ejecución del ensayo o experimento. Se resumen aquellos resultados sobresalientes obtenidos en la investigación realizada.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS (LITERATURA CITADA)

Resumen de Normas Técnicas para la redacción de referencias bibliográficas

En IICA y CATIE (1999) se define la Referencia Bibliográfica como el conjunto de elementos suficientemente detallados que permiten la identificación de la fuente documental (impresa o no) de la que se extrae la información. En términos generales esos elementos son: Autor, Año de publicación, Título y Subtítulo, Información sobre el documento, tal como notas tipográficas, volumen y número de revista, etc., y el orden y especificación varían según el tipo de documento: libro, revista serie, documento electrónico y otros.

A continuación se citan algunos ejemplos tomados de este documento. Si existiera, dudas sobre la forma de citar los mismos, la información se encuentra en la dirección electrónica <http://www.iica.int>, luego dar clic en Biblioteca Conmemorativa Orton; y cuando aparece Servicios dar clic en Documentos de Trabajo.

1. Libros y Folletos

La portada es la fuente principal de la información para la redactar la referencia, sin embargo hay otras partes como la cubierta, la falsa portada, el colofón, la solapa, la introducción, etc.

Los elementos son:

Autor(es). Año de publicación. Título: Subtítulo. Mención del traductor y /o editor. Edición. Ciudad y/o país de publicación en caso necesario, Casa editora. Páginas o volúmenes (Mención de serie).

Crosby, PB.1990. Dinámica gerencial: el arte de hacer que las cosas ocurran. México, DF, Mc Graw-Hill. 272p. (Serie de Administración).

2. Tesis

Se elabora de la misma forma que la de los libros y folletos, pero después del título se anota la palabra Tesis seguida del grado académico en forma abreviada, en el idioma en que está escrita la tesis.

Autor(es). Año de publicación. Título: subtítulo. Mención del grado académico. Ciudad y país donde se ubica la institución, Nombre de la institución que otorga el grado. Páginas.

Yah Correa, E. V. 1988. Crioconservación de suspensiones celulares embriogénicas de *Musa spp* iniciadas a partir de flores inmaduras. Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR, CATIE. 77p.

3. Conferencias, Congresos, Reuniones, etc.

Los informes, memorias, actas, resúmenes de las conferencias, congresos, reuniones, simposios, nacionales e internacionales se anotan por el mismo nombre de la conferencia, congreso, o reunión.

Los elementos son:

Nombre del evento (Número, Año de realización, Lugar donde se realizó). Año de publicación. Título. Mención del Editor (es). Ciudad y país de publicación, Casa editorial. Páginas o volúmenes.

Regional Workshop Needs and Priorities for Forestry and Agroforestry Policy Research in Latin America (1993 San José, CR). 1994.(Report). Eds. M Alfaro; R de Camino, M I Mora; P Oram. San José, CR, IICA. 298p.

4. Analíticas

A. Obra colectiva

Es la referencia bibliográfica de un trabajo escrito por un autor en un documento editado o compilado por otro(s) autor(es) tal y como es el caso de las conferencias, reuniones o congresos.

do o compilado por otro(s) autor(es) tal y como es el caso de las conferencias, reuniones o congresos.

Los elementos son:

Autor, Año de publicación. Título del trabajo consultado. Preposición latina *In*, la referencia bibliográfica completa de la fuente que lo contiene, con las páginas iniciales y finales de la parte analizada sin mencionar nuevamente el año de publicación.

Mortimer, AM. 1990. The biology of weeds. *In* Hance, JR; Holly, K. eds. Weed control handbook: principales. 8 ed. Oxford, GB, British Crop Protection Council. p. 1-42.

Santos Pereira, H dos. 1997. Brasil. *In* Reunión de los puntos focales de los Programas forestales nacionales de América Latina y el Caribe (1997, Brasilia, DF). Memoria. Santiago, CL. p. 49-56.

B. Trabajo de un autor en su propia obra

La redacción de la referencia bibliográfica de una parte o capítulo con título específico escrito por un autor en una obra propia, tiene los elementos siguientes:

Autor. Año de publicación. Título de la parte o capítulo. Preposición *In* y los datos que incluye la referencia bibliográfica completa del libro o folleto sin mencionar nuevamente el autor ni el año de publicación. El autor se vuelve a mencionar en el caso que la publicación contenga más de un autor o un editor.

Phetig, R. 1994. Valuing the environmental methodological and measurement issues. *In* Ecological dynamics and the valuation of environmental change. Dordrecht, Kluwer. p. 3-22.

Mugabe, J; Otieno-Odek, J. 1997. National access regimes: capacity building and policy

reforms. In: Mugabe, J; Barber, CV; Henne, G; Glowka, L. eds. Access to genetic resources. Nairobi, ACTC. p. 95-41.

5. Publicación periódica

Es aquella obra editada por lo general con título distintivo, en fascículos o partes a intervalos regulares, en orden numérico o cronológico y que pretende continuar indefinidamente. Incluye trabajos sobre temas diversos en un solo ejemplar, con la colaboración de varios autores (revistas, periódicos diarios).

A. Revistas

Elementos:

Autor(es). Año de publicación. Título del artículo. Nombre de la revista Volumen de la revista (Número de la revista): página inicial y final del artículo.

El volumen y el número se mencionan en números arábigos.

Singh, CK; Grewal, GS. 1998. Detection of rabies in central nervous system of experimentally infected buffalo calves. Indian Journal of Animal Sciences 68(12):1242-1254.

a. Sin Volumen y sin número

Se recurre a algún elemento que pueda ayudar a su identificación, como son los meses o las estaciones del año.

Powles, H. 1987. Fencing off fish. Caribbean Farming feb.1987.13,21.

b. Con Volumen con número

Si la revista tiene solamente el volumen se indica dicho dato, sin ninguna abreviatura.

Pierce, F. 1999. Aspects of precision agriculture. Advances in Agronomy 67:1-58

c. Sin Volumen con número

Se utiliza la abreviatura "no" antes de dicho número.

Chamorro-Trejos, G. 1993. Zoca de café intercalada con nogal. Bosques y Desarrollo no.9:46-49

B. Periódicos o diarios

Elementos:

Autor(es). Año de publicación del periódico. Título del artículo. Nombre del periódico, Ciudad de publicación, país abreviado, mes abreviado. Día: página.

Méndez, W. 1998. Prometen apoyo a cooperativismo. La Nación, San José, CR, ene.8:6A.

C. Separatas

La cita se hace según las normas establecidas para cada tipo de material. La fuente donde fue originalmente publicado el trabajo debe indicarse en una nota y en el idioma en que se redacta la bibliografía.

Sánchez, P. 1995. Science in agroforestry. Nairobi, ICRAF. 50 p. Reimpreso de: Agroforestry Systems 30:5-55.

6. Materiales cartográficos

Incluyen mapas o atlas de países, regiones, áreas y continentes; mapas o atlas básicos con datos estadísticos; estudios de observación en agricultura; cartas meteorológicas o hidrográficas, fotografías aéreas con fines cartográficos y otros.

Elementos:

Autor(es). Año de publicación. Título. Edición. Lugar de publicación, Casa editorial. Escala. Paginación. Indicación de color (Serie).

Cortés, G. 1994. Atlas agropecuario de Costa Rica. San José, CR, EUNED. Esc. varía. 513p.Color

COSEFORMA (Cooperación en los Sectores Forestal y Maderero, CR). Convenio Costarricense Alemán. 1996. Zonas bioclimáticas de la región Huetar Norte de Costa Rica. San José, CR. Esc.1:200.000. Color .

7. Material Audiovisual

Materiales gráficos (fotobandas, diapositivas, transparencias, fotografías, diagramas y otros) y colecciones de estos materiales; grabaciones sonoras (cintas, casetes, discos), microfichas, micropelículas, películas y videograbaciones.

Elementos:

Autor(es). Año de publicación. Título: subtítulo. Mención del traductor y / o editor. Edición. Ciudad y país de publicación, Casa editora. Descripción física (Mención de serie).

A. Microficha

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT).1990. Guidelines for soil profile description (microficha). 2 ed. Roma. 10,5 x 14,5 cm.

B. Diapositiva

CATIE(Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza , CR). 1990. La investigación silvicultural (diapositivas). Turrialba, CR.110 diapositivas, son. 1 casete (26 min.), color.

C. Videocinta

Instituto para el Desarrollo de Sistemas de Producción del Trópico Húmedo de Tabasco,MX.1995. La mujer y la Agricultura.Tabasco,MX.(videocasete). 1 videocinta VHS(10:49 min.), son., color.

8. Documentos Electrónicos

Actualmente en forma electrónica se encuentran monografías, publicaciones periódicas, mensajes, conferencias, reuniones, bases de datos, programas de computadora, etc. Por tanto, se seguirán las normas establecidas para cada uno de ellos y además se incluirán otros elementos que permitan identificar el medio en que están disponibles (en línea, disco compacto, disquetes, mensajes electrónicos, cintas magnéticas y otros.).

Elementos:

Autor(es). Año de publicación. Título:subtítulo.(Tipo de medio). Edición. Ciudad y país de publicación, Casa editora. Fecha en que se consultó el material para los documentos en línea. Descripción física. Disponibilidad y acceso para los documentos en línea. (Nota de serie).

A. En línea

Documento disponible en línea a través de los servicios de internet.

a. Libros

Guzmán, M de. 1993. Tendencias innovadoras en educación matemática. (en línea). Bogotá, Unesco. Consultado5ene. 1998. Disponible en <http://www.oel.org.co/oeivirt/educmat.htm>.

b. Revistas

Rodríguez, I. 1999.Tratamientos del agua potable. (en línea). Globo Terráqueo No. 20610. Consultado 10 set. 1999. Disponible en <http://www.interbook.net/personal/jgonzales1set99.htm>

c. Base de datos

Fundación Arias para la paz y el progreso humano, CR. 1998. Ceiba: base de datos

ONG centroamericanas (en línea). San José, CR. Consultado 15 ene. 1998. Disponible en <http://www.arias.or.cr/ceiba>.

d. Correo electrónico

Núñez, R. 1999. Plan de trabajo SIDALC. (correo electrónico). Santo Domingo, RD, IICA.

e. Disco compacto

Frater, H; Paulissen, D. 1995. El gran libro de multimedia. México, DF, Computec. 1 disco compacto, 8mm.

f. En disquete

Los tamaños estándares comunes son: 5 1/4 x 8 pulgadas y 3 1/2 pulgadas

CIFOR (Centro para la Investigación Forestal Internacional, ID); Catie (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, CR). 1997. Manejo del bosque natural latifoliado en el Trópico Americano. Turrialba, CR., Biblioteca Conmemorativa Orton. 1 disquete HD. 3 1/2 pulgadas (Serie Bibliotecología y Documentación. Bibliografía no. 26).

9. Comunicaciones Personales

No deberían figurar en la literatura citada, se mencionan en nota al pie de página en el texto de la publicación.

Elementos:

Autor. Año en que tuvo lugar la comunicación. Título de la comunicación. Lugar, e institución donde trabaja el autor. Mención de Comunicación personal.

Aguilar, JF. 1997. Forestería social (entrevista). San José, CR, Universidad de Costa Rica.

Salazar, F. 1999. Formación de consorcios (correo electrónico). Bogotá.

10. Notas

Son datos suplementarios sobre el contenido o ciertas características especiales de un documento, que se agregan a la referencia para aclarar y ampliar información cuando es necesario.

Las hay de dos tipos: Notas de contenido y Notas sobre las características específicas de la publicación.

A. Notas de contenido

Notas sobre las características específicas de la publicación.

B. Trabajos sin publicar

Si un trabajo no se ha publicado o está en proceso de publicación, se agrega la frase

C. En prensa o Sin publicar

Somarriba, E. 1997. Shade management in coffee and cocoa plantations. Agroforestry Systems. En prensa.

11. Presentación, ordenación y organización de la lista bibliográfica

Se recomienda presentarla al final del trabajo y se le asigna el título que más convenga: "Literatura citada" o Literatura consultada".

Hay diversas formas de organizarla según el uso que se le vaya a dar; sin embargo en los trabajos científicos y técnicos predomina el arreglo alfabético por autor y en orden cronológico por año de publicación iniciando con la más antigua para finalizar con la más reciente.

A. Citas de un mismo autor publicadas el mismo año.

Luna, A. 1995a. El bosque protector. Mérida, VE, Instituto Forestal Latinoamericano. 71p.

_____. 1995b. Ordenación sostenible de los bosques naturales en Venezuela. Criterios para la evaluación de la ordenación sostenible de los bosques tropicales: caso de Venezuela. Mérida, VE, Instituto Forestal Latinoamericano. 68p.

Si alguna de las citas de un mismo autor no tiene fecha de publicación, se coloca primero que las demás.

El nombre de un mismo autor (siempre y cuando sea el primero mencionado), no se repite en la lista, sino que a partir de la segunda referencia se sustituye su nombre por una línea de 8 espacios (_____).

B. Citas cuyo primer autor es el mismo, pero hay otros autores.

Mesén, JF. 1993. Vegetative propagation of Central American hardwoods. Ph.D. Thesis. Scotland, University of Edinburgh. 230p.

_____; Herasme, R. 1996. Optimización de condiciones ambientales para la germinación de cedro (*Cedrela odorata*) y ciprés (*Cupressus lusitanica* Mill). Boletín Mejoramiento Genético y Semillas Forestales no.16:23-26.

LITERATURA CITADA

EEFBM (Estación Experimental Fabio Baudrit Moreno). 1999. Cómo presentar manuscritos. 1999. Revista de Biología Tropical 47(3):633-639.

IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, CR); CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, CR). 1999. Redacción de referencias bibliográficas: normas técnicas del IICA y CATIE. 4ed. Costa Rica Biblioteca Conmemorativa Orton .25p.

MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería). 1990. Normas para la publicación de artículos científicos en la revista investigación agrícola. Investigación Agrícola 4(2):3-6

Molestina, J. *et.al.* 1988. Fundamentos de comunicación científica y redacción técnica. 1ed. Costa Rica. IICA. 267p.



Alvaro Esquivel Molina

**Productor de heno bajo riego. Maní forrajero asociado con
pasto transvala. Parcela No. 3. Asentamiento La Soga, Bagaces.
Proyecto "Producción de heno de alta calidad en Guanacaste"
Tecnología desarrollada por el INTA**

Hacia una investigación comprometida...



Instituto Nacional de Innovación y Transferencia
en Tecnología Agropecuaria - Costa Rica

Para mayor información diríjase a:

Tel.: (506) 231-2625 Fax: (506) 296-0858

E-mail: deinta@inta.go.cr, transferencia@inta.go.cr

Web del INTA: www.inta.go.cr

Cuadro 4. Contenido foliar de N y P en plantas de *Cratylia argentea* con inóculo de microflora nativa y tratamientos de fertilización

Tratamientos	Elementos extraídos (mg/ planta)	
	N	P
Testigo Leg Rh	35,87 c	0,67 c
Mic + Leg Rh	95,0 b	3,65 b
Mic+Leg Rh+P	95,0 b	5,03 a
Mic+N+P	111,25 a	4,78 a

* Letras iguales indican que no hay diferencia significativa ($P \geq 0,05$) entre tratamientos.

sugiere que la inoculación con *Rhizobium* no fue tan eficiente, aunque estas diferencias no se manifestaron en la biomasa aérea.

Saif (1987) encontró que la inoculación con micorrizas incrementó significativamente el contenido de todos los elementos minerales en leguminosas y gramíneas forrajeras.

Azcón-Aguilar y Barea (1981) obtuvieron el doble de rendimiento en *Medicago sativa* con la inoculación dual comparado con el control no inoculado. Dodd *et al.* (1990) observaron el mayor incremento en el rendimiento en yuca (*Manihot esculenta*) y kudzú (*Pueraria phaseoloides*). Estos resultados están asociados con mayores contenidos foliares de P y Mg. Salinas *et al.* (1985) encontraron una mayor y más continua absorción de P en las plantas micorrizadas y de dos a cuatro veces mayor utilización del P agregado tanto en la gramínea como en la leguminosa consideradas. Además se ha comprobado comparando fuentes externas de P, que el incremento en rendimiento debido a micorrizas es mayor con P de baja solubilidad, pudiendo concluir que las plantas micorrizadas solubilizan este elemento (Bolan 1991).

Barea y otros (1987) usando técnicas de ^{15}N mostraron que tanto el N amoniacal como el N nítrico pueden ser rápidamente absorbidos por medio de las hifas extrarradicales de micorrizas, así el mayor crecimiento de las leguminosas micorrizadas puede deberse al aumento de fijación de N_2 como a la mayor

absorción de N del suelo, especialmente la forma amoniacal.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La inoculación con micorrizosfera proveniente de un suelo establecido con *Cratylia argentea* de la zona de Atenas, aumentó el rendimiento de *Brachiaria decumbens* y *Cratylia argentea* y además la absorción de P y N por las plantas.

En *Brachiaria decumbens* la fertilización base de P y N produjo los máximos rendimientos en biomasa aérea.

Los máximos rendimientos se encontraron en *Cratylia argentea* micorrizada, inoculada con *Rhizobium* y fertilizada con P, así como cuando se aplicó N y P inorgánicos en suelo con rizosfera.

Los altos porcentajes de colonización radical obtenidos en *Brachiaria decumbens* y *Cratylia argentea*, indican el alto potencial de inóculo de micorriza nativa obtenido de la rizosfera de *Cratylia argentea* crecida en la zona de Atenas, bajo condiciones de campo.

Como la producción de forrajes, especialmente cuando se incluyen las leguminosas, está muchas veces limitada por el bajo nivel de P asimilable en los suelos, la inoculación con hongos micorrizógenos es una buena alternativa para aumentar la productividad. Por eso se recomienda seguir con las investigaciones y tratar de lograr aislamientos zonales realmente efectivos.

AGRADECIMIENTOS

Al CIAT y a la ECAG por la colaboración prestada, al personal del Laboratorio de Suelos del INTA por el análisis de las muestras, y al Ing. Carlos Hidalgo, INTA, por sus acertadas sugerencias.

La inoculación con micorrizas nativas tuvo una influencia positiva en la absorción de N por las plantas. Este tratamiento se diferencia significativamente de los otros dos tratamientos de inóculo. Los sustratos con abono orgánico facilitaron la absorción de N por las plantas. Hay una pequeña diferencia a favor de la mezcla suelo: sustrato (4,5 mg/planta), ésto puede deberse a la presencia de mayor cantidad de nódulos de *Rhizobium* en este sustrato ($P \leq 0,0001$). Se pudo apreciar además interacción entre los dos factores. Las plantas no inoculadas y aquellas inoculadas con *Glomus manihotis* presentaron una mayor absorción de N cuando se desarrollaron sobre la mezcla suelo-sustrato orgánico. Cabe recordar que en este sustrato se encontró mayor infectividad micorrícica. Las micorrizas nativas se desarrollaron bien en el sustrato orgánico y fue esta interacción la que mostró mayor cantidad de N absorbido por las plantas (Figura 5). En la mezcla suelo-sustrato los tres tratamientos de inóculos se comportaron de manera semejante en cuanto a esta variable. Cuando se usó sólo suelo, las plantas absorbieron menor cantidad de nitrógeno.

Linderman (1992) hace referencia a la asociación tripartita de leguminosas- *Rhizobium* micorrizas y sostiene que los hongos micorrícicos definitivamente aumentan la fijación de N_2 por las bacterias que producen nódulos, aún cuando falta aclarar los mecanismos involucrados. Barea *et al.* (1987) en un

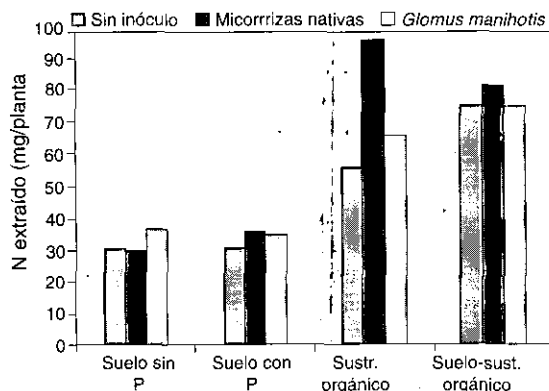


Figura 5: Interacción entre inóculos de HMA y cuatro diferentes sustratos de siembra en la absorción de N por plantas de *Cratylia*.

experimento con ^{15}N mostraron la rápida absorción de nitrógeno por hifas extrarradicales de micorrizas, tanto en la forma de N nítrico como N amoniacal. Concluyen que el mayor crecimiento de las leguminosas micorrizadas puede deberse al aumento en la fijación de N_2 y a la mayor absorción de nitrógeno del suelo, especialmente en la forma amoniacal.

Respecto a la absorción de P, se presentaron diferencias significativas entre sustratos ($P \leq 0,0001$) y entre tratamientos de inóculos ($P \leq 0,0059$). El sustrato orgánico tiene un nivel muy alto de P asimilable; este valor es tres veces mayor que el de la muestra suelo-sustrato y por ende, es en el que se obtuvo una mayor extracción de este elemento por las plantas, aunque esta diferencia no se reflejó en la biomasa aérea.

La micorriza nativa incrementó la absorción de P por las plantas hasta un 31,8% si se compara con el testigo. La absorción también fue mayor que cuando se inoculó con *Glomus*. Los resultados se correlacionan muy bien con la absorción neta de N y con la biomasa aérea obtenida en este experimento.

Paulino *et al.* (1990) inocularon con micorrizas dos leguminosas forrajeras (*Pueraria phaseoloides* y *Centrosema macrocarpum*) y concluyeron que la aplicación del inóculo incrementó significativamente la absorción de N y P por las plantas. Howeler *et al.* (1987) enfatizan que una asociación micorrícica eficiente es de gran importancia para incrementar la absorción de P. En un experimento que realizaron con leguminosas y gramíneas forrajeras, las leguminosas respondieron mejor a la inoculación.

El factor sustrato tuvo influencia en el comportamiento de los inóculos (Figura 6). Las micorrizas nativas no incrementaron la absorción de P por las plantas cuando se usó el suelo sin y con adición de P. Sin embargo, al aumentar los niveles de P en los sustratos, las plantas inoculadas con micorrizas nativas absorbieron la mayor cantidad de este elemento. Al respecto, Howeler *et al.* (1987) sostienen que las asociaciones de micorrizas

LITERATURA CITADA

- Arpaia, M.L.; Kader, A. 2000. Recomendaciones para preservar la calidad postcosecha de los cítricos. *Levante Agrícola*. p. 239-243.
- Artes, F. 2001. Tratamientos alternativos para preservar mejor la calidad de los cítricos refrigerados. *Levante Agrícola*. p. 229-238.
- CENPRO. 1986. Exportación de frutas del Pacífico Central a América del Norte y Europa: mercado potencial y propuestas a corto plazo. Proyecto C.E.E. NA/82-12: Reordenamiento agrario y desarrollo rural integrado. 137 p.
- Del Río, M.A.; Martínez, J.M.; Navarro, P.; Cuquerella, J. 1999. Recubrimientos para la comercialización de frutos cítricos: tendencias actuales. *Levante Agrícola* 301-311.
- Cuquerella, J.; Navarro, P. 1989. Estado actual de la frigoconservación de los cítricos. *Fruticultura Profesional* 25: 122-129.
- FAO. 1997. Comisión del Codex Alimentarius; anteproyecto de norma del codex para limón (trámite 5). VI Reunión del Comité del Codex sobre Frutas y Hortalizas Frescas. p. 36-41.
- McAlpine, G. 1997. Western Australia Citrus Grading and Packing Code 1994: interpretative notes. In: <http://agric.wa.gov.au/AGENCY/PUBS/FARMNOTE/1994/F05794.HTM> (consulta 00/07/24).
- PIMA - CNP. 2001. Comercialización hortifrutícola en CENADA; manual de consulta. Programa Integral de Mercadeo Agropecuario. 49 p.
- Noriega, K.; Arrios, J.; Rivero, L. 1997. Conservación postcosecha de frutos de cítró "Persa" (*Citrus latifolia* Tan.): II. Efecto combinado del patrón, temperatura de almacenamiento y envase de almacenamiento. In: Resúmenes del VI Congreso Nacional de Fruticultura, Venezuela. p. 68.
- Wardowsky, W.F.; McCornak, A.A.; Grierson, W. 1976. Oil spotting (oleocellosis) of citrus fruit. Florida Cooperative Extension Service Circular 410, University of Florida, Gainesville. 6 p.