



**CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL
DE INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA**

ESCUELA DE POSGRADO

**Efectos de bioles en brócoli (*Brassica oleracea*) y lechuga (*Lactuca sativa*)
en la zona hortícola de Cartago, Costa Rica**

**Tesis sometida a consideración de la División de Educación y el Programa de
Posgrado como requisito para optar por el grado de *Magister Scientiae* en
Agroforestería y Agricultura Sostenible**

Paolo Arturo Xiu Canche

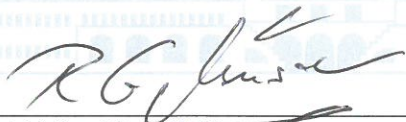
Turrialba, Costa Rica

2018

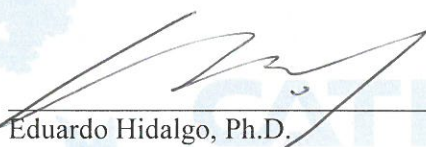
Esta tesis ha sido aceptada en su presente forma por la División de Educación y el Programa de Posgrado del CATIE y aprobada por el Comité Consejero del estudiante, como requisito parcial para optar por el grado de

MAGISTER SCIENTIAE EN AGROFORESTERIA Y AGRICULTURA SOSTENIBLE


FIRMANTES:



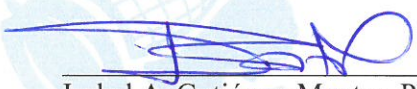
Reinhold Muschler, Ph.D.
Director de tesis




Eduardo Hidalgo, Ph.D.
Miembro Comité Consejero



Yohana Gato, M.Sc.
Miembro Comité Consejero



Isabel A. Gutiérrez-Montes, Ph.D.
Decana Programa de Posgrado



Paolo Arturo Xiu Canche
Candidato

DEDICATORIA

A mis padres, Bernardo Xiu y Elsy Canche, quienes han dado todo para que esté donde estoy, muchas gracias, este logro también es de ustedes.

A mis hermanos Benjamín, Minelia y Augusto, por ser mi motivación para seguir preparándome.

A la mujer más hermosa, Dulce Milagros Magaña, por acompañarme y apoyarme en todo momento.

AGRADECIMIENTOS

A CIESAS-CONACYT, por otorgarme la beca para estudiar mi maestría, y al equipo de PROBEPI, por su acompañamiento a lo largo de este sueño.

Agradezco a mi asesor principal, Reinhold Muschler, por su apoyo, su paciencia y su interés por compartirme sus conocimientos.

A mis asesores del Comité Académico, Eduardo Hidalgo y Yohana Gato Cárdenas, por sus valiosos aportes en la tesis y dedicación en todo momento.

A Jacobo Ramírez, por el apoyo en campo en todo momento; su ayuda fue fundamental en la tesis.

Al Centro de Agricultura Orgánica del INA, por brindarme su apoyo en el desarrollo de mi trabajo de campo, especialmente a Fabián Pacheco, director de la institución.

A los productores Cristóbal Granados Mora y Florybel Cerdas Calderón, por el espacio que me brindaron en sus fincas para la fase de validación.

Al Departamento de Estadística del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, por su apoyo en el procesamiento de los datos.

A mis amigas y amigos del CATIE, que se han ganado un lugar en mi corazón, por su apoyo en todo momento y por las risas compartidas y bailes.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	III
AGRADECIMIENTOS.....	IV
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VII
ÍNDICE DE CUADROS.....	VIII
LISTA DE ACRÓNIMOS.....	IX
RESUMEN.....	X
ABSTRACT.....	XI
CAPÍTULO I.....	1
1. Introducción.....	1
2. Objetivos.....	3
2.1. Objetivo General.....	3
2.2. Objetivos Específicos.....	3
3. Preguntas e hipótesis de la investigación.....	3
4. Revisión de literatura.....	4
4.1. Problemas por la aplicación irracional de fertilizantes minerales.....	4
4.2. Importancia de los abonos orgánicos en la agricultura sostenible.....	5
4.3. ¿Qué son los biofermentos?.....	5
4.4. ¿Cómo funcionan los bioles?.....	6
4.5. Sustancias comunes en los bioles.....	7
4.6. Importancia de los bioles para el manejo de enfermedades.....	7
4.7. Proceso de la fermentación anaeróbica.....	8
4.8. Factores determinantes para la fermentación anaeróbica.....	9
4.9. Ingredientes comunes para la elaboración de los bioles.....	10
4.10. Elaboración de los bioles.....	12
4.11. Aplicación de los bioles.....	13
4.12. Brócoli.....	14
4.13. Lechuga.....	16
4.14. Literatura citada.....	18

CAPÍTULO II	23
5. Artículo 1. Efecto de abonos líquidos fermentados en el cultivo de brócoli (<i>Brassica oleracea</i> var. Avenger) y lechuga (<i>Lactuca sativa</i> var. Iceberg) en la zona hortícola de Cartago, Costa Rica.....	23
5.1. Resumen	23
5.2. Abstract.....	24
5.3. Introducción	25
5.4. Metodología.....	26
5.4.1. Fase de experimentación	26
5.4.2. Fase de entrevista a productores.....	30
5.4.3. Fase de validación en campo	31
5.5. Resultados	35
5.5.1. Fase de experimentación del brócoli.....	35
5.5.2. Fase entrevista a productores.....	39
5.5.3. Fase validación en fincas orgánicas	43
5.6. Discusión	45
5.7. Conclusiones.....	47
5.8. Recomendaciones	48
5.9. Bibliografía	49
CAPÍTULO III	53
6. Artículo 2. Caracterización química y microbiológica de bioles	53
6.1. Resumen	53
6.2. Abstract.....	54
6.3. Introducción	55
6.4. Materiales y métodos.....	56
6.4.1. Área de estudio	56
6.4.2. Selección de muestra.....	57
6.4.3. Caracterización química	57
6.4.4. Determinación de riqueza microbiológica	58
6.5. Análisis de datos.....	60
6.6. Resultados y discusión	61
6.7. Conclusiones.....	68
6.8. Recomendaciones	69

6.9. Bibliografía	70
7. Anexos.....	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Las tres etapas principales de la fermentación.....	9
Figura 2. Ciclo patológico de la hernia de las crucíferas producidas por <i>P. brassicae</i>	16
Figura 3. Ubicación donde se elaboraron los bioles	26
Figura 4. Diseño y estructura experimental.....	28
Figura 5. Utilización de rotador en la formación de camas para la siembra del brócoli	29
Figura 6. Ubicación de la Finca 1: San Rafael y Finca 2: Chitaría	31
Figura 7. Escala de daño de <i>P. brassicae</i> y el porcentaje de afectación en las plantas seleccionadas como unidad útil	35
Figura 8. (A) Incremento de la Altura del brócoli en los tiempos. (B) Altura de la planta en el tiempo-3 con relación a los tratamientos	37
Figura 9. (A) Peso de la inflorescencia del brócoli. (A) Rendimiento del brócoli por tratamiento.....	39
Figura 10. Sistemas de producción	40
Figura 11. Finca convencional con cultivo de cebolla (<i>Allium cepa</i>).....	40
Figura 12. Finca con manejo orgánico y convencional en el cultivo de papa (<i>Solanum tuberosum</i>).....	40
Figura 13. Conjunto de abonos aplicados por los productores.....	41
Figura 14. Opinión sobre el uso de abonos sólidos en los suelos agrícolas	42
Figura 15. Opinión sobre el uso de abonos foliares en los cultivos agrícolas	43
Figura 16. (A). Peso de la lechuga en San Rafael de Oreamuno, Cartago. (B). Peso de la lechuga en Chitaría, Turrialba, Cartago.....	44
Figura 17. Ubicación geográfica del INA, donde se realizaron los bioles utilizados	56
Figura 18. Evaluación del cultivo dual: Izq. cultivo visto desde arriba, Der. envés de la caja de cultivo, Característica de medición de r1 y r2	59
Figura 19. Proceso de colocar en disco el papel celofán estéril	60
Figura 20. Crecimiento radial del microorganismo sobre el papel celofán incubado en una cámara bioclimática a 25°C durante 48 hrs	60
Figura 21. Porcentaje de pH de los bioles.....	62
Figura 22. Comparaciones de pruebas antagónicas contra <i>Alternaria spp</i> y <i>Xanthomonas campestris pv</i>	66
Figura 23. (BM) Prueba dual de <i>Trametes hirsuta</i> contra <i>X. campestris pv</i> . (BM) Prueba papel celofán de <i>Trametes hirsuta</i> contra <i>X. campestris pv</i>	66
Figura 24. (BM) Prueba dual de <i>Trametes hirsuta</i> contra <i>X. campestris pv</i> . (BM) Prueba papel celofán de <i>Trametes hirsuta</i> contra <i>X. campestris pv</i>	67

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Impacto de agroquímicos en el ambiente	5
Cuadro 2. Sustancias comunes en bioles a base de materia orgánica, estiércol, suero, leche, melaza y ceniza	7
Cuadro 3. Pasos para la elaboración de los bioles	13
Cuadro 4. Algunos cultivos con dosis recomendadas.....	14
Cuadro 5. Principales enfermedades de brócoli	15
Cuadro 6. Ingredientes de los cuatro tipos de bioles.....	27
Cuadro 7. Características importantes que se tomaron en cuenta para seleccionar a los encuestados.....	31
Cuadro 8. Diseño y estructura en la validación en fincas	32
Cuadro 9. Incidencia de daño por <i>Hernia (P. brassicae)</i> al día 90 en el área experimental	35
Cuadro 10. Tratamientos de menor a mayor incidencia <i>P. brassicae</i>	36
Cuadro 11. Contrastes ortogonales de los productos más dosis (tratamientos).....	38
Cuadro 12. Contrastes ortogonales para el rendimiento del brócoli	39
Cuadro 13. Contrastes ortogonales en las fincas de San Rafael de Oreamuno y Chitará, Turrialba	45
Cuadro 14. Ingredientes de los cuatro tipos bioles.....	57
Cuadro 15. Contenido de nutrientes minerales en los cuatro bioles elaborado en el INA ..	61
Cuadro 16. Caracterización de morfología de colonia y UFC de MM.....	63
Cuadro 17. Caracterización de morfología de colonia y UFC en los bioles	63
Cuadro 18. Identificación de las muestras e índice de diversidad de Shannon	65

LISTA DE ACRÓNIMOS

BM	Banco Mundial
CEDECO	Corporación Educativa para el Desarrollo Costarricense
CIA	Centro de Investigación Agronómica, UCR
CORBANA	Corporativa bananera de CR
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
IICA	Instituto Internacional de Cooperación para la Agricultura
INA-AO	Instituto Nacional de Aprendizaje – Centro especializado en agricultura orgánica, La Chinchilla, Costa Rica
INFOAGRO	Sistema de Información del Sector Agropecuario Costarricense
INIFAP	Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, México
INTA	Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria de CR
MAG	Ministerio de Agricultura y Ganadería de CR
MEA	Millennium Ecosystem Assessment
MEIC	Ministerio de Economía, Industria y Comercio de CR
MM	Microorganismos de montaña
UFC	Unidades formadoras de colonias
USAID	Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional

RESUMEN

La producción de alimentos en el mundo está sujeta a efectos negativos por el cambio climático, la contaminación química de aguas y suelos, el agotamiento de los recursos naturales, la baja fertilidad en los suelos, las adversidades bióticas y la pérdida de la agrobiodiversidad.

Muchas veces, estos efectos negativos fueron fomentados por las tecnologías derivadas de la revolución verde, provocando una reducción de los recursos naturales y de los servicios ecosistémicos por el avance de la frontera agrícola y la intensificación continua. Para evitar estos problemas, la agricultura del futuro debe ser basada en principios agroecológicos, incluyendo a fertilizantes biológicos. Entre ellos, los bioles representan un componente de gran potencial para los sistemas agrícolas sostenibles. Por sus bajo costos de elaboración y por ser ecológicamente amigables con el ambiente, bioles son utilizados con mayor frecuencia en la producción orgánica.

El presente proyecto de grado evaluó el efecto de la aplicación de bioles como fertilizantes foliares en cultivos de brócoli (*Brassica oleracea*) y lechuga (*Lactuca sativa*), caracterizando su riqueza microbiológica, y determinó las percepciones de los productores sobre el uso de abonos orgánicos. El trabajo de investigación fue desarrollado en tres fases. La primera fue la fase experimental con el establecimiento de brócoli en las instalaciones del Instituto Nacional de Aprendizaje especializado en Agricultura Orgánica (INA-AO). La segunda fase fue la validación en campo, en la cual se realizaron entrevistas a 30 productores y se verificó la eficiencia de los dos bioles más promisorios (B3 y B4) aplicados a lechuga en dos fincas de la región de Cartago. Los resultados sobresalientes fueron que algunos bioles mostraron beneficios marcados sobre el crecimiento: para brócoli, plantas tratadas con B2-15% (biol 2 al 15%) superaron el testigo absoluto en un 30% en altura a los 70 días y que plantas tratadas con B4-5% superó el testigo al doble en peso y en rendimiento; para lechuga, el B4-10% incrementó el rendimiento en las dos fincas superando al testigo absoluto en un 50%. Los detalles se presentan en capítulo II (Artículo 1. Efecto de abonos líquidos fermentados en el cultivo de brócoli (*Brassica oleracea* var. Avenger) y lechuga (*Lactuca sativa* var. Iceberg) en la zona hortícola de Cartago, Costa Rica). La tercera fase consistió en el análisis de la riqueza microbiológica de los inoculantes de los microorganismos de montaña (MM) y el contenido químico de los bioles, donde el B1 tenía los valores más altos en macro- y micro-nutrientes, y el B2 y B3 con valores muy similares. En contraste, el B4 tuvo los valores más bajos. En los medios de cultivo se observó una mayor presencia de morfotipos en las muestras MM3 y B1. El mayor número de UFC se encontró para MM3 y el biol B4. Los detalles se presentan en el Capítulo III (Artículo 2. Caracterización química y microbiológica de los bioles).

Palabras claves: abonos orgánicos, biofermentos, bioles, microorganismos de montaña (MM), brócoli, lechuga.

ABSTRACT

Global food production is subject to the negative effects of climate change, chemical contamination of soils and water, degradation of natural resources, low soil fertility, biological adversity, and the loss of agricultural biodiversity.

Often these negative effects have been fostered by green revolution technologies which tend to reduce natural resources and compromise ecosystem services as a result of the advance of the agricultural frontier and continuous intensification. To avoid such problems, agricultural systems of the future need to be based on agroecological principles, including biological fertilizers. Among these, liquid biofertilizers hold great promise for sustainable agricultural systems. Their low production costs and their high environmental compatibility make it that bioferments are often used in organic production.

The present master's thesis evaluated the effects of applying bioferments as foliar fertilizers on broccoli (*Brassica oleracea*) and lettuce (*Lactuca sativa*), characterized the microbial and chemical composition of these fertilizers, and assessed producer perceptions concerning the use of organic fertilizers. The research was carried out in three phases. The first was the experimental phase where broccoli was planted at the National Institute of Learning for Organic Agriculture (INA-AO). The second was the field validation phase, which included 30 interviews with producers and the verification of the efficiency of the two most promising bioferments (B3 and B4) applied on lettuce planted in two farms in the province of Cartago, Costa Rica. The most important results were that some bioferments showed marked beneficial effects on growth: for broccoli, plants treated with B2-15% (bioferment 2 at 15%) generated plants that exceeded the absolute control by 30% in height at 70 days, and plants treated with B4-5% doubled the control in weight and in yield; for lettuce, the treatment B4-10% increased the yield on the two farms by 50% compared to the control. Details are given in Chapter II (Article 1: Effects of Fermented Liquid Fertilizer on Broccoli (*Brassica oleracea*, variety Avenger) and Lettuce (*Lactuca sativa*, variety Iceberg) in the Horticultural Region of Cartago, Costa Rica). Finally, the third phase consisted in the analysis of the microbial diversity of the inoculant of microorganisms ("MM") and the chemistry of the bioferments. B1 had the highest values in macro- and micro-nutrients, while B2 and B3 had very similar values. In contrast, B4 had the lowest values. In the culture media, the highest number of morphotypes was observed in the samples MM-3 and B1. The highest number of colony-forming units was found for the sample MM-3 and the bioferment B4. The results are presented in Chapter III (Article 2: Chemical and Microbiological Components of Bioferments).

Key words: organic fertilizers, bioferments, biofertilizers, mountain microorganisms (MM), broccoli, lettuce

CAPÍTULO I

1. Introducción

1.1. Antecedentes: de la revolución verde hacia la agroecología

Durante más de 5 décadas, la revolución verde fue el motor de la intensificación agrícola en todo el mundo, pero al paso de los años no fue capaz de sostener la producción y distribución de alimentos, para erradicar la desnutrición en los países en vía de desarrollo, basado en el supuesto que siempre contaría con abundante agua y energía barata para la producción y distribución de insumos y que el clima nunca cambiaría (Altieri y Nicholls 2012). Sin embargo, este supuesto no se cumple, porque la producción agrícola está sujeta a efectos negativos como el cambio climático, la contaminación química de aguas y suelos, el agotamiento de los recursos naturales, la baja fertilidad en los suelos, las adversidades bióticas y la pérdida de la agrobiodiversidad (IICA 2016; Fischer *et al.* 2014).

Muchas veces estos efectos negativos fueron fomentados por las mismas tecnologías derivadas de la revolución verde, que han provocado una reducción de los servicios ecosistémicos, en su mayoría, ocasionados por el avance de la frontera agrícola y la intensificación continua (Muschler 2016; Zagoya 2013). Por ende, estas actividades no son sostenibles ambientalmente, ya que ejercen un fuerte impacto en los servicios ecosistémicos comprometiendo así la capacidad del mundo de producir alimentos (MEA 2005).

Según Altieri y Nicholls (2012), los costos de las externalidades de la agricultura industrial por año para EUA ascienden a 17 mil millones de dólares, cuando se internalizan los costos por daños a recursos hídricos, suelo, agua, aire, biodiversidad y la salud humana. Costos anuales adicionales de 3.7 mil millones de dólares son invertidos para fomentar la transición hacia sistemas más sostenibles.

Los productos químicos agrícolas ocasionan grandes problemas de contaminación a la biodiversidad y riesgos a la salud de los productores principalmente por un manejo excesivo o inadecuado (Martínez *et al.* 2010; Soto y Muñoz 2002).

En los últimos 50 años a nivel mundial se ha incrementado el consumo de pesticidas, alcanzando los 2.6 millones de toneladas por año de producto formulado, con un valor de mercado alrededor de 25 mil millones de dólares (Altieri y Nicholls 2012). En el caso de los fertilizantes, se estima que el consumo a nivel mundial para el 2018 supere 200 millones de toneladas al año, 25% más que en el 2008 (FAO 2015).

1.2. Justificación

La insostenibilidad de la revolución verde, tanto por la alta susceptibilidad de monocultivos a plagas y enfermedades, así como por los costos económicos y ambientales cada vez más altos, obliga a cambiar el paradigma para la producción agrícola futura. Según la FAO (2017), la agricultura futura debe ser basada, cada vez más, en prácticas agroecológicas en vez de una dependencia fuerte de agroquímicos peligrosos. Dentro de estas prácticas agroecológicas, los abonos orgánicos juegan un papel muy importante para mantener o mejorar la fertilidad del suelo (Ramos 2016). Si se aplican de la manera correcta, la aplicación de abonos orgánicos puede mejorar las características físicas, químicas y biológicas del suelo y puede aumentar el rendimiento en los cultivos sin generar ningún tipo de daño al ambiente. Entre los abonos orgánicos que se pueden utilizar están, entre otros: estiércoles, abonos verdes, vermicompost, compostas, abonos sólidos fermentados, sedimentos orgánicos y bioles líquidos.

Entre los abonos orgánicos, los biofermentos, muchas veces también llamados bioles, son considerados como excelente sustituto para reducir el uso de fertilizantes nitrogenados (Restrepo 2002). Bioles son una opción particularmente importante para agricultores que dependen de insumos agrícolas sintéticos y que quieren orientarse hacia la exigencia de la sociedad de hoy de producir alimentos sanos y al mismo tiempo mantener o mejorar los recursos naturales de su entorno (Pacheco 2003; Acuña 2003). En su composición típica, bioles son el producto de la fermentación de excreta animal, ceniza vegetal, harina de roca, melaza, suero y microorganismos de montaña y se aplican comúnmente de manera foliar a semilleros y cultivos en desarrollo (Peña *et al.* 2015).

En la mayoría de los casos, los bioles son utilizados para mejorar el rendimiento y la calidad de los cultivos (Restrepo 2002). Según el INIFAP (2012) es posible aumentar los rendimientos de los cultivos de ciclo corto de un 15 a 50%. Restrepo (2001) y Martínez (2012) afirmaron que los bioles pueden fomentar el crecimiento en las plantas al estimular procesos metabólicos y mejorar la condición física, química y biológica de suelo, además que pueden disminuir la incidencia de enfermedades patógenas en el cultivo. A pesar de estos reportes sobre efectos positivos, existen muy pocos estudios detallados para cuantificar los efectos reales que se pueden obtener al usar bioles. El presente estudio busca generar información cuantitativa para rellenar esta laguna de conocimiento científico.

1.3. Importancia

Costa Rica ocupa posiblemente el primer lugar a nivel mundial en el consumo de plaguicidas por ha agrícola, con un promedio de 18.2 kg de ingrediente activo por ha de cultivo agrícola por año y en fertilizantes 700 kg/ha de tierra cultivable (Araya 2015; BM 2016). Según el MIEC (2011) en el periodo de enero 2010 a marzo 2011 se importaron 5,000 t de N-P-K (10-30-10), alrededor de 62,000 t de Nitrato de Amonio y 69,000 t de Urea (46%). El mal uso de estos fertilizantes puede ocasionar graves daños al ambiente. Por ejemplo, el nitrógeno y fósforo en cuerpos de agua causan la eutroficación, y en el suelo la aplicación continua de fertilizantes causa acidificación y favorece la erosión (Martínez *et al.* 2013).

Las prácticas agroecológicas para reducir el uso de fertilizantes químicos incluyen los abonos orgánicos, considerados como insumos vitales para los sistemas agrícolas sostenibles, ya que pueden solucionar problemas de nutrición en los cultivos. Estos insumos agroecológicos son utilizados con mayor frecuencia en la producción orgánica, por su bajo costo en la elaboración y por ser ecológicamente aceptables para el ambiente (CEDECO 2005). El presente estudio buscó cuantificar beneficios por el uso de bioles aplicados a dos cultivos hortícolas en condiciones de finca.

2. Objetivos

2.1. Objetivo General

Evaluar en cultivos de brócoli (*Brassica oleracea*) y lechuga (*Lactuca sativa*) el efecto de la aplicación de bioles, caracterizando su riqueza microbiológica, y determinar las percepciones de los productores sobre el uso de abonos orgánicos.

2.2. Objetivos Específicos

1. Evaluar el efecto de la aplicación de diferentes dosis de bioles (al 5, 10, y 15%) en el rendimiento y desarrollo del brócoli durante su ciclo productivo.
2. Validar en campo los dos mejores bioles con dosis de 5 y 10% en el rendimiento de la lechuga.
3. Determinar la riqueza microbiológica e identificar la composición química de los bioles.
4. Caracterizar in vitro el efecto antagónico de los bioles contra *Alternaria spp* y *Xanthomonas campestris pv.*
5. Documentar las percepciones de los productores sobre el uso de abonos orgánicos y sus beneficios para mejorar la fertilidad del cultivo.

3. Preguntas e hipótesis de la investigación

OE 1

- Hi. La aplicación de los bioles no tiene un efecto significativo sobre el desarrollo y el rendimiento del brócoli durante su ciclo productivo.
- Ho. La aplicación de los bioles tiene un efecto significativo sobre el desarrollo y el rendimiento del brócoli durante su ciclo productivo.

OE 2

- Hi. La aplicación de los bioles no tiene un efecto significativo sobre el rendimiento de la lechuga.
- Ho. La aplicación de los bioles tiene un efecto significativo sobre el rendimiento de la lechuga.

OE 3

- ¿Cuál es la riqueza microbiológica de los bioles y de los microorganismos de montaña (MM) basado en el número de colonias y la clasificación de morfotipos en medios de cultivos?
- ¿Qué morfotipos y UFC se encuentran en los medios de cultivos de los bioles y de los microorganismos de montaña?

OE 4

- Hi. El microorganismo encontrado en los bioles no tiene un efecto significativo en la inhibición de patógenos del brócoli.
- Ho. El microorganismo encontrado en los bioles tiene un efecto significativo en la inhibición de patógenos del brócoli.

OE 5

- ¿Cuáles son las percepciones de los productores respecto al beneficio y aporte de los abonos orgánicos para mejorar la fertilidad del cultivo?

4. Revisión de literatura

4.1. Problemas por la aplicación irracional de fertilizantes minerales

El incremento de la producción a nivel mundial ha contribuido a la provisión de alimentos para la creciente población humana. Se estima que, a nivel mundial, 1500 millones ha de tierra se utilizan para tierra de labranza y cultivos permanentes, el constante incremento de tierra cultivable ha sido acompañada por avances científicos e innovaciones tecnológicas que incluyen el desarrollo de nuevas variedades de plantas, el uso de fertilizantes químicos, plaguicidas y la tecnificación del riego en grandes superficies (FAO 2015).

El problema más serio de la agricultura moderna es el uso irracional de fertilizantes nitrogenados y plaguicidas que pueden afectar la salud de quien lo utiliza o lo consume, además de dejar suelos improductivos (Martínez 2010). Según Gliessman (2002) la aplicación irracional de fertilizantes químicos, las innovaciones tecnológicas, las malas prácticas del uso de suelos, y políticas que se toman para incrementar la productividad tienden a erosionar las bases fundamentales que sostienen la producción y degradan los recursos naturales de los cuales depende la agricultura.

El Cuadro 1 resume las consecuencias por la fabricación y aplicación de agroquímicos en los cultivos.

Cuadro 1. Impacto de agroquímicos en el ambiente

Acciones	Consecuencias
Fabricación	<ul style="list-style-type: none"> • Grandes emisiones de CO₂ y NO₂ a la atmósfera • Degradación potencial de la capa de ozono • Contaminación de aguas y ríos
Aplicación	<ul style="list-style-type: none"> • Lixiviación de nitratos y emisiones de N₂O y NH₃ • Eutroficación y contaminación de lagos, ríos, embalses y estanques • Erosión de suelos y reducción de su fertilidad • Pérdida de ecosistemas productivos

Fuente: Martínez 2010, MEA 2005, FAO 2015.

4.2. Importancia de los abonos orgánicos en la agricultura sostenible

Los abonos orgánicos fueron la base de la fertilización en la agricultura durante varios siglos, hasta la revolución verde y la aparición de los fertilizantes químicos (Salaya 2010). El uso de abonos orgánicos en la agricultura evita la degradación de los suelos, mejorándolos mediante la incorporación de materia orgánica rica en microorganismos que ayudan a mantener la fertilidad del suelo. Estas enmiendas son de suma importancia para los pequeños productores al mantener una alta fertilidad en sus áreas de producción (Huamání 2014).

Según Herrán *et al.* (2008), el desarrollo de nuevos sistemas de producción alternativos caracterizados por la ausencia de agroquímicos y la utilización constante de fuentes de materia orgánica, permiten mantener un equilibrio en la relación planta-suelo y una buena producción, utilizando humus, vermicompost, compost, abonos verdes, abonos líquidos y biofermentos. Con estos abonos incorporados al sistema productivo se mejora la productividad a una escala familiar y hasta comercial, pero el mayor beneficio es optimizar las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo. (Romero *et al.* 2012; Zagoya 2013)

La producción de biofermentos se ha venido desarrollando desde hace mucho tiempo por agricultores latinoamericanos. Los biofermentos constituyen una herramienta agrícola con la que se pueden reducir o sustituir los abonos químicos de alta solubilidad; permitiendo al productor disminuir su dependencia de insumos externos. (Pacheco 2003)

4.3. ¿Qué son los biofermentos?

Los biofermentos son abonos líquidos a base de materias orgánicas como estiércol, plantas verdes, microorganismos (incluyendo "microorganismos de montaña" MM), fuentes de energía (melaza) y proteínas (p.e. suero o leche) y otros ingredientes como harina de roca. Comúnmente, estos biofermentos, también llamados bioles, se generan a través de un

proceso de fermentación anaeróbica que produce enzimas, coenzimas, ácidos orgánicos, y diferentes vitaminas, las cuales pueden fomentar y estimular el crecimiento de las plantas (Zagoya 2013).

Según Restrepo (2007), los bioles pueden aumentar el crecimiento de la planta y al mismo tiempo, estimular el metabolismo vegetal que ayuda a protegerse de los ataques de enfermedades. De igual manera se puede decir que los bioles pueden llegar a sustituir, al menos parcialmente, a los fertilizantes químicos en un esfuerzo de contribuir a una agricultura sostenible (Restrepo 2001; 2002).

El uso del biol es una opción viable para el productor y de gran importancia para los que practican la agricultura orgánica. En la actualidad, se utiliza frecuente por ser ecológicamente sustentable manteniendo y conservando la fertilidad del suelo (Andrew 2002). La elaboración de bioles es muy sencilla y permite de enriquecer los bioles con minerales como polvo piedra de rocas fosfóricas y otras sales minerales (Criollo *et al.* 2011). Los bioles se pueden aplicar de manera foliar, al suelo, o al sistema de riego (Suchini 2012).

4.4. ¿Cómo funcionan los bioles?

Los bioles fortalecen el equilibrio nutricional y los mecanismos de defensa del cultivo debido a su contenido de ácidos orgánicos, hormonas de crecimiento, antibióticos, vitaminas, minerales y enzimas que se pueden generar en el proceso de fermentación (Restrepo 2007). Otra función consiste en que los bioles pueden ayudar a movilizar nutrientes como nitrógeno (N), fósforo (P), azufre (S), hierro (Fe), potasio (K), manganeso (Mn). El aporte de fitohormonas puede acelerar una mayor actividad metabólica en las plantas (Martínez 2010).

Los beneficios en la agricultura incluyen (Kennedy 2002, Aguado 2012):

- Aumento de la capacidad del cultivo para absorber agua y nutrientes en el suelo.
- Aumento en el crecimiento del cultivo.
- Incremento en el vigor de las plantas.
- Biocontrol de fitopatógenos.
- Aumento de la calidad de los frutos.
- Reducción en la dependencia de productos químicos.
- Compatibilidad con diferentes abonos orgánicos.

En Honduras, Aguilar (2015) evaluó la aplicación de bioles con harinas de roca en tres variedades de lechuga (crespa, romana y seda) con tres dosis de aplicación (0, 10 y 20 l ha⁻¹), y con cinco aplicaciones semanales. Los rendimientos fueron mayores en el segundo ciclo con un aumento de un 30 % en la época lluviosa. La lechuga tipo crespa obtuvo los más altos rendimientos (4.4 – 5.0 kg/m²), con un peso promedio por planta de 388 g comparado con el testigo que obtuvo un peso promedio de 295 g. En Costa Rica, en la Universidad EARTH, se evaluó el efecto de un biol con nivel de dosis 0, 2, 4, 8 y 16%, sobre el cultivo de lechuga. El tratamiento al 8 % fue el mejor, tanto en peso fresco como en el

área foliar indicando un efecto positivo de los bioles sobre lechuga (González y Valiente 2001).

4.5. Sustancias comunes en los bioles

Los bioles contienen diversas sustancias que tienen efectos positivos en cultivos. Estas sustancias se forman durante la acción de microorganismos capaces de transformar el estiércol, el suero, melaza y otros materiales que integran el biofertilizante fermentado en vitaminas, minerales y ácidos orgánicos que pueden favorecer el crecimiento de plantas. (Ver Cuadro 2; Restrepo 2001; Pacheco 2006)

Cuadro 2. Sustancias comunes en bioles a base de materia orgánica, estiércol, suero, leche, melaza y ceniza

Sustancia	Fomenta	Producido por
Vitamina B1 (Tiamina)	- Inmunidad adquirida de cultivos	- Levaduras
Vitamina B6 (Piridoxina o piridoxol)	- Protección contra patógenos.	- Levaduras
Vitamina B3 (Niacina = Ácido nicotínico)	- Precursor de enzimas esenciales para la respiración y al metabolismo de los carbohidratos en las plantas	- Descomposición de materia orgánica (M.O)
Vitamina B5 (Ácido pantoténico)	- Crecimiento del cultivo	- Microorganismos de la Materia orgánica
Vitamina B2 (Riboflavina)	- Crecimiento mediante la acción de oxi-reducción	- Bacterias
Vitamina B12 (Cianobalamina)	- Protección para la planta de agentes patógenos	- Bacterias
Vitamina C (Ácido ascórbico)	- Como cofactor enzimático en las plantas	- <i>Bacillus</i> y <i>Aspergillus</i> al fermentar glucosa
Ácido fólico	- Promueve el desarrollo del fruto	- Lactobacterias
Vitamina E (Ergosterol)	- Protección y crecimiento	- Leche/suero
Ácidos orgánicos	- Microflora benéfica	- Materia orgánica

Fuente: Restrepo 2001

4.6. Importancia de los bioles para el manejo de enfermedades

El uso de bioles es considerado como una buena práctica agrícola (BPA), especialmente en el manejo agroecológico de enfermedades en el cultivo. Los microorganismos aportados en los bioles pueden colonizar toda el área foliar de las plantas y tener un efecto antagónico

contra microorganismos fitopatógenos. De esta manera, los bioles pueden fomentar la prevención y el combate de enfermedades en las plantas (Vázquez 2013; Pacheco y Uribe 2006). Bioles también pueden generar efectos benéficos por la producción de sideróforos que fijan Fe y de antibióticos contra hongos, bacterias y virus (Criollo *et al.* (2011).

4.7. Proceso de la fermentación anaeróbica

La digestión anaeróbica cuenta con varios procesos de degradación microbiana de la materia orgánica en ausencia de agentes oxidantes (O_2 , NO_3 , SO_4). Como producto de esta degradación se producen gases y al final queda como remanente una forma de materia orgánica estabilizada lista para la aplicación en cultivos agrícolas. El proceso de la fermentación anaeróbica inicia, primero con la etapa de hidrólisis de polímeros complejos, segundo por la acidogénesis por fermentación de ácidos orgánicos, finalmente la metanogénesis (Robalino 2011).

Hidrólisis

La primera etapa de la degradación normalmente es la más lenta y es conocida como procesos de hidrólisis, son polímeros que están presentes en la degradación anaeróbica de la biomasa vegetal estas son: Homopolisacáridos (almidón y celulosa), heteropolisacáridos (hemicelulosas), pectinas, ligninas y proteínas (Del Real 2007). Estas poblaciones de bacterias son responsables de la despolimerización de los polímeros, además que la producción de metano y es directamente dependiente de las reacciones de la bacteria (Bernal y Rojas 2014). Robalino (2011) señala en esta fase la larga cadena de estructura carbonatada se va rompiendo y transformándose en cadenas más simples (ácidos orgánicos) liberando hidrógeno y CO_2 ; estos compuestos son utilizados como fuente de energía para las bacterias, a través de la relación sintrófica.

Acidogénesis

En la segunda etapa del proceso de fermentación anaeróbica actúan bacterias que transforman los productos de la primera etapa en ácidos orgánicos (acético, propiónico, láctico, fórmico, entre otros) y alcoholes (sobre todo etanol), además de otros subproductos importantes para la etapa siguiente (amoníaco, H_2 , CO_2) (Bernal y Rojas 2014; Del Real 2007). También las acetogénesis son conocidas como bacterias sintróficas obligadas, que se caracterizan por su imposibilidad de crecer en un cultivo puro, estas bacterias son el producto final de la flora acidogénica y junto con el H_2 y CO_2 generan acetato en dos rutas; la primera por deshidrogenación acetogénica como producto de la fermentación de ácidos (ácidos grasos volátiles o lactato) y alcoholes; la segunda ruta de transformación es por hidrogenación acetogénica donde la bacterias sintetizan acetato a partir de hidrógeno y dióxido de carbono. Cuando se quiere, primordialmente, obtener un biol de alta calidad se debe ser rico en ácidos orgánicos, por lo tanto, en esta fase es importante la abundante multiplicación de las bacterias fermentativas las cuales actúan en las primeras dos etapas del proceso (Robalino 2011).

Metanogénesis

En la última etapa, las procariontas reductoras de CO_2 son más importantes que las bacterias metanogénicas, pero también actúan bacterias primitivas (arquibacterias) que utilizan el ácido acético junto con otros ácidos orgánicos para su desarrollo (Carrillo 2010). Por lo tanto, se puede clasificar según los sustratos que pueda degradar como es el caso de hidrogenotróficas que producen metano a partir de H_2 y CO_2 : $\text{CO}_2 + 4\text{H}_2 - \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$, Aceticlásticas que producen metano y CO_2 a partir de acetato y metilótrofos que metabolizan compuesto tales como metilaminas y metilsulfuros, por lo tanto, este grupo de bacterias requieren de condiciones medioambientales muy estrictas para su desarrollo (Robalino 2011)0.

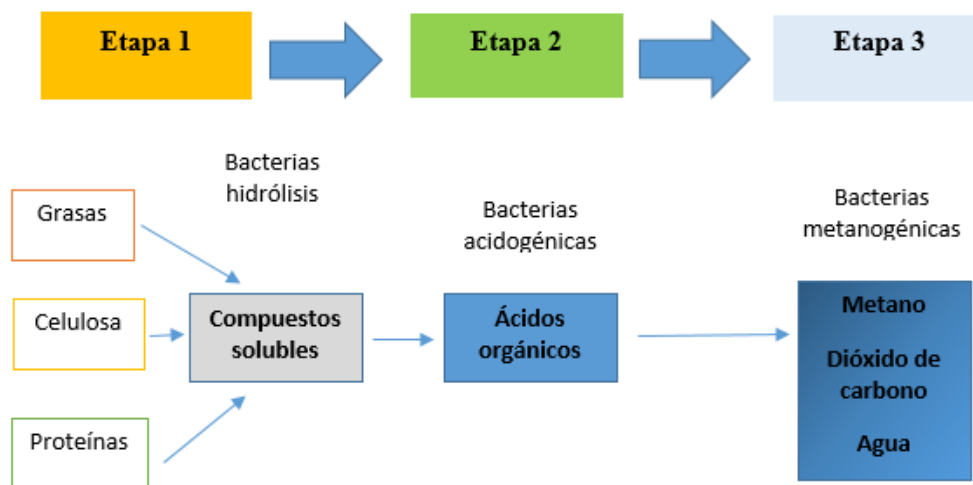


Figura 1. Las tres etapas principales de la fermentación
Fuente: Del Real 2011

4.8. Factores determinantes para la fermentación anaeróbica

Temperatura

En los procesos de fermentación, la temperatura desempeña un papel muy importante por su gran influencia sobre las actividades biológicas, afectando la capacidad catalítica como la difusión del sustrato hacia las células, por lo tanto, cuando la temperatura aumenta las relaciones de biodegradación requieren menos energías en la transformación. Por lo general, los microorganismos se clasifican según su temperatura óptima de crecimiento; para los microorganismos psicrófilas su temperatura óptima es de -5 a 30 $^{\circ}\text{C}$, para los mesófilas es de 20 a 40 $^{\circ}\text{C}$ y para las termófilas son de 25 a 80 $^{\circ}\text{C}$. Las bacterias anaeróbicas de biol se desarrollan en un amplio rango de temperatura, pero la mayoría de los estudios se han realizado en condiciones ambientales que favorecen a microorganismos mesófilas o termófilas (Del Real 2007).

pH

El pH es de gran importancia para la fermentación, porque influye en el desarrollo de los microorganismos y es considerado como un factor que incide en la digestión anaeróbica disminuyendo la actividad biológica del biol cuando las condiciones no son óptimas, cuanto más alejado esté el pH a un óptimo, menor es la actividad microbiana. Las bacterias metanogénicas son las más sensibles al efecto del pH (Bernal y Rojas 2014). Según Del Real (2007), el pH influye en la selección de microorganismos preponderantes en el ecosistema anaeróbico y que cada grupo presenta un grado de sensibilidad distinto.

Para las bacterias hidrolíticas, el rango óptimo de pH es de 7.2 a 7.4, en las acidogénicas es cerca de 6 y para las bacterias metanogénicas hidrogenófilas o acetoclásticas el rango del pH ideal es de 6.5 a 7.5. Cuando el pH está por debajo de 6.5 disminuye significativamente la actividad de las bacterias acetoclásticas y con un pH de 4.5 se detiene por completo la actividad de los microorganismos implicados en el proceso (Robalino 2011). Durante la elaboración de un biol, el pH varía típicamente de 5 a 6 al inicio del proceso y con un pH de 3.5 a 3.8 (Pacheco 2003).

4.9. Ingredientes comunes para la elaboración de los bioles

Agua

Con el agua y los materiales se generará una solución que propician las condiciones esenciales para el buen desarrollo de todas las actividades y reproducción de microorganismos. El agua es de suma importancia para la sobrevivencia de los microorganismos y para que no se rigidicen los abonos líquidos; es de suma importancia utilizar agua no contaminada y clorada. Si el agua es potable es necesario dejarla abierta durante un día para que evapore el cloro, es recomendable almacenar y usar agua de lluvia (Infante 2011).

Estiércol

El aporte principal del estiércol son los microorganismos indispensables para que ocurra la fermentación, tienen un aporte en: hongos, protozoos y bacterias que son responsables de digerir la materia orgánica, metabolizar los minerales y proporcionar a las plantas nutrientes (Restrepo 2009). Por otro lado, permite disminuir la acidez de la mezcla, elevando el pH, aportando compuestos que se degradan muy rápido, y ayuda a iniciar el proceso de descomposición (Infante 2011).

Restos de vegetales

Infante (2011) menciona que la materia orgánica como malezas, paja y hojas, es de gran aporte y pueden ser usada para la elaboración de composta, los restos de vegetales aportan grandes nutrientes al cultivo, especialmente de género leguminosa. Los residuos vegetales secos, compuestos por material lignificado, poseen una relación carbono nitrógeno más

elevada y por consecuencia son más lentas en descomponerse, por lo tanto, es necesario reducir el tamaño de partículas mediante la trituración y lograr una buena homogenización.

Melaza/Azúcar

La principal función de la melaza/azúcar es aportar la energía necesaria para activar el metabolismo microbiológico para que el proceso de fermentación tenga un mayor potencial de desarrollo del producto, además que aporta minerales como: calcio, potasio, fósforo, boro, hierro, azufre, manganeso, zinc y magnesio. (Restrepo 2007; 2009)

Levaduras

Infante (2011) indica que la levadura contiene hongos microscópicos unicelulares que ayuda a tener una buena descomposición mediante la fermentación de hidratos de carbono principalmente.

Suero/Leche

La leche y el suero aportan vitaminas, proteínas, grasas y aminoácidos que les permiten la formación de otros compuestos orgánicos que se generan durante el periodo de la fermentación (Restrepo 2001). Según Infante (2011), estos productos contienen bacterias y enzimas que ayudan a descomponer y generar proteínas llamadas caseína que enriquece el medio, favoreciendo el desarrollo de microorganismos y eliminan hongos y bacterias indeseadas.

Microorganismos de montaña

El medio natural alberga millones de microorganismos diversos entre hongos, bacterias, actinomicetos, protozoarios y otros que pueden ser utilizados para la elaboración de los bioles, para poder recolectar los microorganismos en cualquier bosque natural es necesario hacer trampas con mantillo o arroz, embolsarlos para depositarlos en diferentes lugares debajo de arbustos o árboles donde hay más actividad de descomposición. Por último, para identificar si los microorganismos capturados son de buena calidad, es necesario que tenga una coloración blanca cremosa o café y que tenga un agradable olor, si se encuentra una coloración negra no es de buena calidad, para la reproducción se necesita un recipiente hermético y agregar materia orgánica, melaza y cascarilla de arroz, mezclarlo homogéneamente y dejarlo aproximadamente 15 días en reposo para utilizarlo en el bio (Acosta 2012).

Harina de roca

Harinas de roca, cal o dolomita fueron los primeros fertilizantes usados en la agricultura, en general, las rocas contienen una combinación heterogénea de varios tipos de forma de roca o mineralogía. Las rocas contienen minerales de alta calidad para la elaboración de harina de rocas, son ricas en elementos como el silicio, aluminio, hierro, calcio, magnesio, sodio, potasio, cobre, zinc, fósforo y azufre. La forma de aprovecharlo en estos tiempos es

mediante las técnicas biológicas de fermentación como es el biol, permitiendo con una gran facilidad la preparación y la aplicación foliar de forma eficiente en las plantas. (Bernal y Rojas 2014)

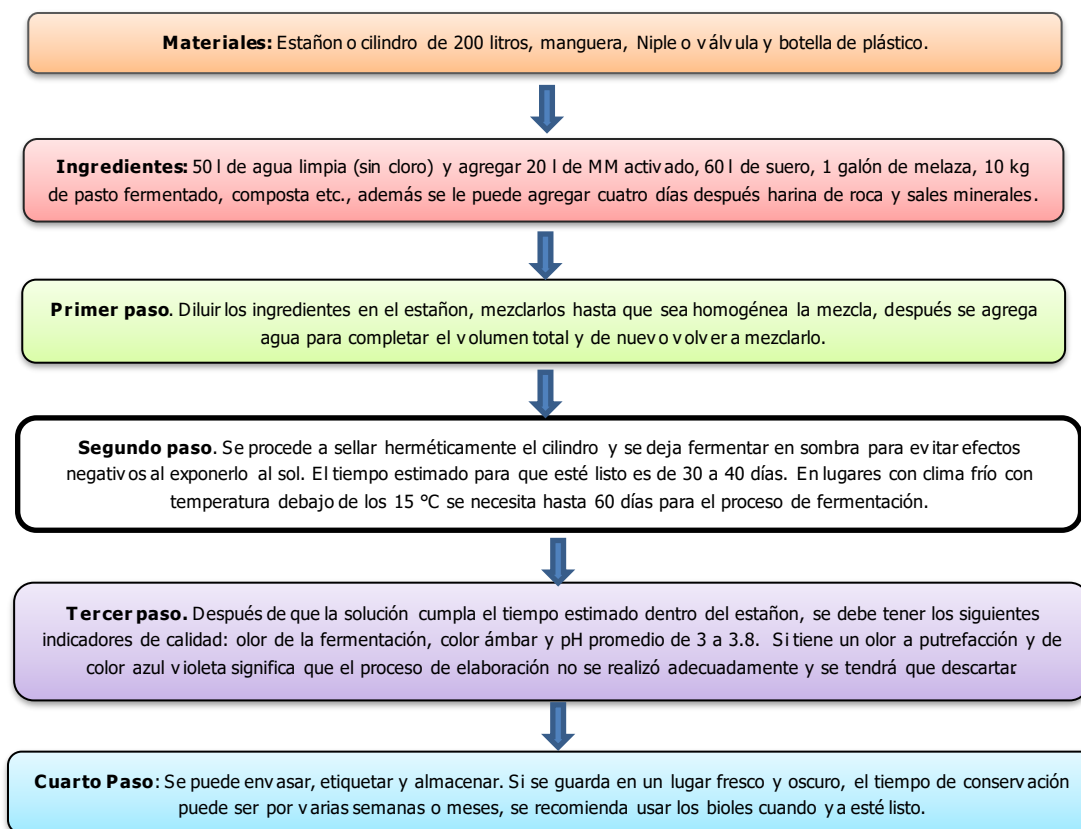
Sales minerales

Son sustancias sólidas inorgánicas de origen natural que generan un efecto sobre la fertilidad de suelo, activan y enriquece la fermentación y tiene como función principal nutrir la planta, al incluirlas en la fermentación los microorganismos cobran vida a través de la digestión de las sales (Restrepo 2009). Prácticamente, todos los minerales se derivan de formaciones geológicas y pueden ser utilizado como fertilizantes para el cultivo, por ejemplo: sulfato de fierro, sulfato de zinc. Otros elementos se pueden encontrar en su mayoría en casas comerciales, para enriquecer el biol y cubrir las necesidades de cultivo (Infante 2011).

4.10. Elaboración de los bioles

Durante el proceso de fermentación, los bioles libera gases sobre todo CO_2 y CH_4 ; para lograr que los gases salgan sin que entre aire e interrumpa la fermentación, se necesita una válvula metálica o un implemento artesanal, por lo general, se utilizan un pedazo de Niple como válvula con una longitud de 7 cm y de 3/8 a 1/2 pulgada de diámetro que será adaptada a la tapa y que tiene como función el paso de los gases, después de adaptar el Niple a la tapa, el siguiente paso es conectarle un pedazo de manguera y al final de la manguera, utilizar una botella de agua, que servirá como una válvula de seguridad para que no deje entrar aire al estañon, de modo que se controla la salida de gases del interior del cilindro (Restrepo 2007).

Cuadro 3. Pasos para la elaboración de los bioles



Fuente: Restrepo 2007; 2001; Infoagro 2016; Tencio 2012

4.11. Aplicación de los bioles

La aplicación varía según el productor o las recomendaciones técnicas. Muchas veces para aplicaciones foliares o suelo se utilizan concentraciones hasta el 5% o 10% de biof, diluido en agua sin cloro. Las dosis varían según del ciclo productivo, requerimiento nutricional del cultivo y los análisis del suelo (Restrepo 2007).

En una experiencia de campo con productores de la Región de Trifinio y otras partes de Centroamérica se utilizaron dosis de 0.5 a 1.5 l por bomba de 18 l y con 8 aplicaciones durante ciclo del cultivo, se observaron beneficios en la fertilidad del suelo y en la calidad de la producción. (Ver Cuadro 4) (Suchini 2012)

Cuadro 4. Algunos cultivos con dosis recomendadas

Cultivo	Dosis %	Número de aplicaciones	Momento de la aplicación
Hortalizas	3 a 5	3 a 5	Durante todo el ciclo
Papa	5 a 10	6 a 8	Durante todo el ciclo
Frutales	5 a 7	12 a 15	Durante todo el año

Fuente: Restrepo 2007

4.12. Brócoli

Existen vegetales de gran importancia a nivel mundial por su aporte nutricional, en esta investigación se trabajará con el brócoli (*Brassica oleracea*), ya que es un vegetal con grandes propiedades nutricionales, fuente de calcio, hierro, vitaminas A, C, ácido fólico, fibras, calorías y bajo en sodio, se ha encontrado que contiene sustancias que se conoce como "fitoquímicas" que ayuda a prevenir el cáncer (Corea *et al* 2007).

El brócoli pertenece a las crucíferas se le conoce con el nombre de Brassicas, misma familia del coliflor, repollo, rábano y otros vegetales de menor presencia en Costa Rica como la mostaza y el col de Bruselas. Se le consume la inflorescencia inmadura, en realidad son yemas florales, son compactas y de grano fino (USAID-RED 2008; Goites 2008). En Costa Rica, el consumo del brócoli es relativamente poco, sin embargo, tiene un gran potencial en el mercado nacional e internacional, se comercializa en el estado fresco y en exportación como producto congelado. (MAG S.F; Stoppani y Francescangeli 2005)

Requerimientos del Cultivo

Factores Principales	Características
Zonas de Cultivo	En Costa Rica se siembra principalmente en la provincia de Cartago, Heredia, Aláguela y San José (MAG S.F).
Suelo	Requiere de suelos bien drenados, ya que tiene un sistema radicular muy sensible y el exceso de agua puede ocasionarle daños, requiere un pH óptimo entre 5.5 y 6.5 (USAID-RED 2008).
Clima	En el trópico, es un cultivo primordialmente en zonas altas, su mejor desarrollo y calidad se obtiene alrededor de 1,700 msnm con una temperatura media alrededor de los 18 °C. Es tolerante a temperaturas muy bajas, para un desarrollo normal de la planta es necesario que la temperatura durante la fase de crecimiento se

encuentre en 20 y 24 °C y para iniciar la fase de inducción floral se necesitan temperaturas de 10 y 15 °C (USAID-RED 2008).

Forma de siembra

Se recomienda en almácigo durante todo el año, preferentemente en el invernadero en los meses febrero-marzo por las temperaturas bajas (Goites 2008). Para la producción en cielo abierto se recomienda hacer el semillero al inicio de mayo para trasplantar en el mes de junio (MAG S.F).

Época de siembra

En Costa Rica se recomienda sembrar durante todo el año, pero es de mucha importancia el suministro de agua. En la temporada de mucha lluvia aumenta la humedad y por consecuencia el rendimiento baja y calidad de la cabeza de brócoli no es adecuada (USAID-RED 2008).

Distancia de siembra

En general se siembra en surcos de 0.60 cm a 1.5 de ancho, con espaciamiento entre las plantas de 0.30 a 60 cm (Casseres 1980).

Principales insectos y enfermedades

Cuadro 5. Principales enfermedades de brócoli

Enfermedades	Síntomas o daños
Pudrición de la base del tallo (mal de talluelo), (<i>Rhizoctonia sp</i>)	El ataque de este hongo es a nivel de semillero o postransplante, la forma de daño es en la base de la plántula dejándolo de color negro hasta que la plántula cae. El hongo pudre la parte central del tallo y lo destruye en pocos días.
Pierna negra (<i>Leptosphaeria maculans</i>)	El hongo ataca la base del tallo y presenta lesiones en forma oval, hundido, de color marrón claro, a menudo se observa un margen de color negro o violeta cerca de la base del tallo del cultivo.
Alternaria (<i>Alternaria sp</i>)	Es muy común en el cultivo de brócoli, sobre todo cuando se encuentra en situaciones de estrés hídrico, también podría ser por falta de nutrientes o por el manejo. La lesión se puede observar en la planta como manchas concéntricas que frecuentemente son rodeadas de un aro color amarillo. Estas lesiones se pueden agujerar, pero en condiciones de humedad elevada está llena de una mancha negra o modo de hollín.

<p>Mildeu lanoso (<i>Peronospora parasítica</i>)</p>	<p>Esta enfermedad se presenta con manchas pequeñas y oscuras sobre la superficie de las hojas, a medida que la enfermedad aumenta, se puede observar una mancha blanca de aspecto lanoso que cubre en su totalidad las hojas.</p>
<p>Hernia (<i>Plasmodiophora brassicae</i>)</p>	<p>El patógeno es un moho mucilaginoso cuyo soma es un plasmodio, penetran los pelos radicales del hospedante, causando abultamientos en la raíces de la planta. Como consecuencia no absorbe agua y sustancias alimentarias. Por consiguiente, se marchitan al medio día, muestran enanismo e incluso, llegan a morir, es difícil de erradicar lo cual hace difícil su control. (Ver Figura 2)</p>

Fuente: Agrios 2005; USAID-RED 2008

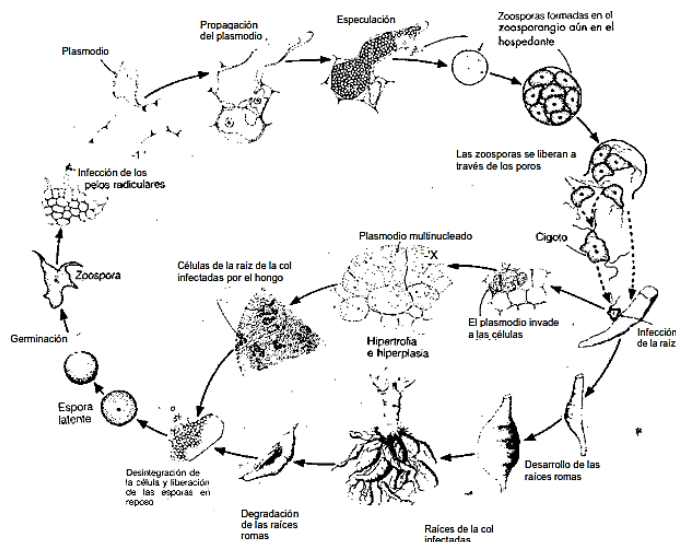


Figura 2. Ciclo patológico de la hernia de las crucíferas producidas por *P. brassicae*
Fuente: Agrios 2005

4.13. Lechuga

El cultivo de la lechuga ha venido en aumento en los últimos años, posee grandes oportunidades comerciales, por ser un producto de consumo diario (IICA 2017). La gran demanda en restaurantes de comida rápida ha sido un factor determinante para un mayor consumo de este producto (Guzmán 2004). Su crecimiento también se ha visto reflejado en el aumento de los tipos de lechuga que se consumen en el país. Su producción está concentrada en la región hortícola de Cartago, al igual en la producción doméstica o en pequeñas fincas por ser cultivo que no requiere mucha tecnificación (USAID-RED 2008).

Requerimientos del Cultivo

Factores Principales	Características
Suelo	Requiere de suelos francos con muy buen drenaje ya que tiene un sistema radicular particularmente sensible al exceso de agua. Su pH óptimo está entre 5.5 y 6.5 (USAID-RED 2008).
Clima	Es un cultivo principalmente de zonas altas, donde su mejor desarrollo y calidad lo obtiene por encima de los 1,100 msnm. Con temperatura media alrededor de los 18°C. Es bastante tolerante a las bajas temperaturas, pero a altas temperaturas su calidad baja y la vida de anaquel se limita (USAID-RED 2008).
Época de siembra	En Costa Rica se recomienda sembrar todo el año, aunque falta investigación para determinar las mejores variedades para la época lluviosa (USAID-RED 2008)

4.14. Literatura citada

- Acosta Almanzar, HA. 2012. Microorganismos eficientes de montaña: Evaluación de su potencial bajo manejo agroecológico de tomate en Costa Rica. Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). 100 p.
- Acuña, O. 2003. El uso de biofertilizantes en la agricultura. Taller de abonos orgánicos. Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica. San Pedro de Montes de Oca, Costa Rica. 39 p.
- Altieri, MA; Nicholls, CI. 2012. Agroecología: única esperanza para la soberanía alimentaria y la resiliencia socioecológica. *Agroecología* 72:65-8.
- Aguilar, VP. 2015. Evaluación del uso de biofermento de harinas con aplicación foliar y al suelo en tres tipos de lechuga. Tesis Lic. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras. 24 p.
- Aguado Santacruz, G. 2012. Uso de Microorganismos como Biofertilizantes. Introducción al Uso y Manejo de los Biofertilizantes en la Agricultura. Primera Edición. Celaya, Guanajuato, México, INIFAP/SAGARPA.
- Agrios, G. 2005. Fitopatología. Segunda Edición. Grupo Noriega, México DF, México. 838 p.
- Andrew Vega, KD. 2002. Evaluación de abonos orgánicos y biofertilizantes líquidos para el desarrollo de plántulas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mil) bajo el sistema de cultivo protegido en Panamá. Tesis Mag. Sc. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Turrialba, Costa Rica. 120 p.
- Araya, J. 2015. Día mundial del Ambiente; Costa Rica es el consumidor más voraz de plaguicidas en el mundo. Semanario Universidad. Costa Rica, viernes 3 Jun. Disponible en <http://semanariouniversidad.ucr.cr/pais/costa-rica-es-el-consumidor-mas-voraz-de-plaguicidas-en-el-mundo/>
- Bernal, M; Rojas, P. 2014. Optimización del proceso de elaboración y el uso de los abonos biofermentados (biol). Cuenca, Ecuador. Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Agropecuarias. 239 p.
- Casseres, E. 1980. Producción de Hortalizas. Tercera Edición Instituto Interamericano de Ciencia Agrícola, San José, Costa Rica. 400 p.
- CEDECO (Corporación Educativa para el Desarrollo Costarricense). 2005. Preparación y uso de abonos orgánicos sólido y líquido. Serie Agricultura Orgánica N°8. Consultado 22 jun. 2017. Disponible en http://cedeco.or.cr/files/Abonos_organicos.pdf.
- Corea Solórzano, GA; Arróliga, M; Martín, E. 2007. Evaluación de dos variedades de brócoli (Pirata y Green F. Sprouting Calabrese) y tres dosis de fertilización (18-46-0) en la comarca Mombachito, Camoapa (Boaco). Universidad Nacional Agraria, UNA. 49 p.

- Criollo, H; Lagos, T; Piarpuezan, E; Pérez, R. 2011. The effect of three liquid bio-fertilizers in the production of lettuce (*Lactuca sativa* L.) and cabbage (*Brassica oleracea* L var. capitata). *Agronomía Colombiana* 293:415-421.
- Del Real Olvera, J. 2007. Evaluación y modelado de la cinética de depuración anaerobia de vinazas de la industria alcoholera. Pachuca de Soto, Hidalgo. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Doctorado en ciencias ambientales. 152 p.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) 2015. World fertilizer trends and Outlook to 2018. Roma, Italia. 66 p.
- Fischer Byerle, TD; Edmeades, G. 2014. Crop Yields and Global Food Security. Will yield increase continue to feed the world? ACIAR Monograph Nro 158. Australian Centre for International Agricultural Research. Canberra. 634 p.
- González, P; Valiente, F. 2001. Evaluación y validación del efecto de un abono orgánico líquido fermentado sobre el crecimiento de lechuga (*Lactuca sativa* cv. Emperador) en Finca Integrada Orgánica de EARTH. Tesis Lic. Agronomía. Guácimo, CR, Universidad EARTH. 31 p.
- Guzmán-Díaz, G. 2004. HIDROPONÍA EN CASA: Una actividad familiar. Ministerio de Agricultura y Ganadería Sistema Unificado de Información Institucional. San José, CR. 25 p.
- Gliessman, SR. 2002. Agroecología. Procesos Ecológicos en Agricultura Sostenible. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Turrialba, CR. 359 p.
- Goites, ED. 2008. Manual de cultivos para la huerta orgánica familiar. Primera edición. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria-INTA. Buenos Aires, Argentina. 140 p.
- Herrán, AF; Torres, RS; Rojo, GE. 2008. Importancia de los abonos orgánicos. Universidad Autónoma Indígena de México. Revista de Sociedad y Desarrollo; Revista Ximhai 41:57-67.
- Huamani, LY. 2014. Importancia de los abonos orgánicos en la agricultura. Universidad Peruana Unión. Revista de Investigación Universitaria. 3: 10-31.
- IICA (Instituto Internacional de Cooperación para la Agricultura). 2016. Perspectivas de la Agricultura y del Desarrollo Rural en las Américas: Una Mirada hacia América Latina y el Caribe 2015-2016. San José, CR. 214 p.
- IICA (Instituto Internacional de Cooperación para la Agricultura). 2007. Guía práctica para la exportación de lechuga a EE.UU. Managua, Nicaragua. 11 p.
- INIFAP (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias). 2012. Introducción al uso y manejo de los biofertilizantes en la agricultura. Celaya, Guanajuato, México. SAGARPA. 315 p.

- Infante Lira, A. 2011. Manual de Biopreparados para la agricultura ecológica. Programa territorial orgánico. Santiago de Chile. 29 p.
- INFOAGRO (Sistema de información del sector Agropecuario Costarricense). 2016. Mejoramiento del suelo: Importancia de los microorganismos, Elaboración de MM, Bocashi, Compost. Consultado el 08 Nov. 2016. Disponible en <http://www.infoagro.go.cr/Inforegiones/RegionCentralOriental/Documents/Agricultura%20Org%C3%A1nica/elaboracion%20Abonos%20y%20bioles%20nov%202012.pdf>.
- Kennedy, I. 2002. Biofertilisers in Action. A report for the Rural Industries Research and Development Corporation. Publication No. 02/088. The University of Sydney, Australia, 144 p.
- Martínez-Viera R, Dibut-Álvarez B, 2012. Biofertilizantes bacterianos. Editorial Científico-Técnica, La Habana. 279 p.
- Martínez-Viera, R; Dibut, B; Ríos, Y. 2010. Reseña efecto de la integración de aplicaciones agrícolas de biofertilizantes y fertilizantes minerales sobre las relaciones suelo-planta. Cultivos Tropicales 313:27-31.
- Martínez, B; Dibut, Y. Ríos, M. 2010. Reseña de efecto de la integración de aplicaciones agrícolas de biofertilizantes y fertilizantes. Cultivos Tropicales 313:27-31.
- Martínez, E; Aguilar, J; Osornio, A; Aguilar, R; Bucio, M; Bosque, G. 2013. Manual Teórico-Práctico Los Biofertilizantes y su uso en la Agricultura, SAGARPA, COFURPRO, UNAM.
- MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería) S.F. Brócoli. Nota Informativa. Costa Rica Consultado 08 Nov. 2016. Disponible en http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_ciencia/tec-brocoli.pdf.
- MEA (Millennium Ecosystem Assessment) 2005. Ecosystems and Human Well-being: Biodiversity Synthesis. Washington, DC. World Resources Institute. Consultado 30 ene. 2016. Disponible en: <http://www.unep.org/maweb/documents/document.354.aspx.pdf>
- MEIC (Ministerio de Economía, Industria y Comercio) 2011. Comercialización de Agroquímicos en CR, Dirección de estudios Económicos. San José, CR. 84 p.
- Muschler, RG. 2016. Agroforestry: Essential for Sustainable and Climate-Smart Land Use? Tropical Forestry Handbook. Springer-Verlag. 2013-2116 p.
- Pacheco, F; Uribe, L. 2006. Lactofermentos, Una alternativa en la producción de abonos líquidos fermentados. INA-Agricultura Orgánica, Cartago, CR. 18 p.
- Pacheco Rodríguez, F. 2003. Evaluación del efecto de un abono líquido orgánico fermentado (biofermento) sobre el crecimiento de Morera (*Morus alba*) en bancos de forraje en la Región Tropical Húmeda de Costa Rica. Tesis Lic. Universidad EARTH. CR 122p.

- Peña Borrego, MD; De Zayas Pérez, MR; Rodríguez Fernández, RM 2015. Biofertilizantes en Cuba (Aplicación histórica). Revista cultivos tropicales 361:44-54
- Ramos, F; Lesly, M. 2016. Caracterización físico-química del biofertilizante Microorganismos de Montaña (MM) para la Finca Agroecológica Santa Inés, Zamorano, Honduras. Ingeniera en Ambiente y Desarrollo. Honduras Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. 27 p.
- Restrepo Rivera, J. 2009. Manual Práctico de Agricultura Orgánica y panes de piedra: Biofertilizantes preparados y fermentados a base de mierda de vaca. Institución Cali, Colombia. 318 p.
- Restrepo Rivera, J. 2007. El A, B, C de la Agricultura Orgánica y Harina de Rocas, Manual Práctico: Algunas preguntas y respuestas sobre la preparación y uso de biofertilizantes fermentados a base de mierda de vaca. Primera Edición, E. Managua, Nicaragua, Printex. 257 p.
- Restrepo, J. 2002. Biofertilizantes. Preparados y Fermentados a base de mierda de vaca. A Preguntas directas, respuestas prácticas. Santiago de Cali, Colombia. Fundación Juquira Candiru. 105 p.
- Restrepo Rivera, J. 2001. Elaboración de abonos orgánicos fermentados y biofertilizantes foliares: experiencias con agricultores en Mesoamérica y Brasil. IICA. San José, Costa Rica. 157 p.
- Robalino, HS. 2011. Evaluación de las actividades biológicas y nutricionales del Biol en diferentes formulaciones y la Respuesta a su aplicación en Cultivo de Arroz (*Oryza Sativa*) y Maíz (*Zea mays*), en Guayas. Tesis Mag. Sc. Escuela Superior en Mecánica y Ciencias de la Producción. Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de Producción. Guayaquil, Ecuador. 77 p.
- Romero, CO; Ocampo, J; Sandoval, C; Tobar, J. 2012. Fertilización orgánica-mineral y orgánico en el cultivo de fresa (*Fragaria xananasa* Duch) bajo condiciones de invernadero. Revista Ra Ximhai. 83: 41-49 p.
- Salaya, D. 2010. Elaboración artesanal de dos abonos líquidos fermentados y su efectividad en la producción de plántulas de chile habanero (*Capsicum chinense Jacq*). Tesis Mag. Sc. Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco. 101 p.
- Soto, G; Muñoz, C. 2002. Consideraciones teóricas y prácticas sobre el compost, y su empleo en la agricultura orgánica. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología 65:123-129.
- Stoppani, M; Francescangeli, N. 2005. El brócoli y su potencial: hortaliza del tercer milenio. Argentina. 7 p.
- Tencio R. 2012. Elaboraciones de Bioles, Mejoramiento de suelos. MAG Región Central Oriente. Costa Rica Diapositiva 32. Consultado 08 Nov. 2016. Disponible en <http://www.infoagro.go.cr/Inforegiones/RegionCentralOriental/Documents/Agricultura%20Org%C3%A1nica/elaboracion%20Abonos%20y%20bioles%20nov%202012.pdf>.

- Trinidad Santos, A. 2015. Abonos orgánicos. SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca Y Alimentación) Subsecretaría de Desarrollo Rural, Dirección General de Apoyos para el Desarrollo Rural. México. 8 p.
- USAID-RED. 2008. Manual Producción de Brócoli. La Lima, Cortes, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana (Zamorano). 37 p.
- USAID-RED. 2008. Manual Producción de Lechuga. La Lima, Cortes, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana (Zamorano). 37 p.
- Vázquez-Moreno, LL. 2013. Manual para la adopción del manejo agroecológico de plagas en fincas de la agricultura suburbana: Buenas prácticas en manejo agroecológico de plagas en la agricultura suburbana. La Habana, Cuba. INISAV/INIFAT. Primera Edición. Vol. 2. 269 p.
- Zagoya Martínez, J. 2013. Evaluación de biofertilizantes y factores para su innovación con productores de Maíz en San Felipe Teotlakingo. Tesis Mag. Sc. Colegio de Posgraduados Campus Puebla (COLPOS). México 107 p.

CAPÍTULO II

5. Artículo 1. Efecto de abonos líquidos fermentados en el cultivo de brócoli (*Brassica oleracea* var. Avenger) y lechuga (*Lactuca sativa* var. Iceberg) en la zona hortícola de Cartago, Costa Rica.

5.1. Resumen

Costa Rica, posiblemente, es el mayor consumidor de plaguicidas con 18.2 kg/ha de ingrediente activo al año y en fertilizantes 700 kg/ha por tierra cultivable al año, lo cual genera una serie de efectos negativos para el ambiente, sobre todo en caso de un manejo inadecuado de estos insumos químicos. Con el fin de reducir los riesgos por estos productos, se pueden aplicar prácticas agroecológicas incluyendo abonos orgánicos y métodos de control biológico.

El presente trabajo busca cuantificar el efecto de la aplicación foliar de bioles en brócoli (*Brassica oleracea*) y lechuga (*Lactuca sativa*) y documentar las percepciones de los productores sobre el uso de estos abonos orgánicos. En el cultivo de brócoli la incidencia de *Plasmodiophora brassicae* en el experimento y la severidad alcanzada condicionó el efecto de los bioles para las variables desarrollo y cosecha, para minimizar el efecto por una incidencia diferente de la hernia del brócoli en los diferentes tratamientos, se analizaron los datos de crecimiento solamente para las plantas en la categoría 3 (escala 3), ya que esta categoría representaba a la mayoría de las plantas seleccionadas como unidad útil

Como resultado se obtuvo que algunos bioles mostraron beneficios marcados sobre el crecimiento: para brócoli, plantas tratadas con B2-15% (biol 2 al 15%) superaron el testigo absoluto en un 30% en altura a los 70 días y que plantas tratadas con B4-5% superó el testigo al doble en peso y en rendimiento. La validación de bioles para la lechuga se encontró que el B4-10% incrementó el rendimiento en las dos fincas superando al testigo absoluto en un 50%. En el cultivo de brócoli la *P. brassicae* posiblemente estuvo presente en el área experimental antes de la siembra lo que causó mucha variabilidad entre las plantas y tratamientos, enmascarando los efectos de los bioles. En las entrevistas realizadas todos los productores afirmaron que utilizan abonos orgánicos y más de la mitad comentaron que los abonos líquidos y sólidos generan beneficios al suelo y cultivo. Para estudios futuros, se recomienda evitar posibles enfermedades, analizando detalladamente el sitio y establecer bloques o repeticiones en diferentes lugares y fincas, también aumentar la cantidad de plantas seleccionadas (unidad útil) por tratamiento, o bien alargando la duración de experimento en campo con dos o tres ciclos por cultivo y minimizar riesgos fitosanitarios y estadísticos.

Palabras claves: abonos orgánicos, bioles, *Plasmodiophora brassicae*, brócoli y lechuga

5.2. Abstract

Costa Rica is potentially the largest consumer of pesticides in the world with 18.2 kg of active chemical ingredients per hectare each year, and also of fertilizers at 700 kg per hectare of arable land each year, which generates a series of negative effects on the environment, especially due to the inadequate management of these chemical inputs. In order to reduce the risks of these products, ecologically friendly practices can be used such as organic fertilizers and biological control methods.

The present project seeks to quantify the effect of foliar application of biofertilizers on broccoli (*Brassica oleracea*) and lettuce (*Lactuca sativa*) and document producer perceptions concerning the use of these organic fertilizers. In the cultivation of broccoli, the incidence of *Plasmodiophora brassicae* in the experiment and the severity reached conditioned the effect of the biofertilizers for the development and harvest variables, to minimize the effect of a different incidence of broccoli hernia in the different treatments, were analyzed. The growth data only for the plants in category 3 (scale 3), since this category represented the majority of the selected plants as a useful unit

As a result, it was found that some biofertilizers showed marked benefits on growth: for broccoli, plants treated with B2-15% (biofertilizer 2 to 15%) exceeded the absolute control by 30% in height at 70 days and that plants treated with B4-5% exceeded the control to double in weight and in yield. The validation of biofertilizers for lettuce was found that B4-10% increased the yield in the two farms, surpassing the absolute control by 50%, the *P. brassicae* illness was possibly present in the experimental area before planting, which led to high variability between plants and treatments groups, masking the effects of the biofertilizers. In the interviews performed, all the producers affirmed their use of organic fertilizers and more than half commented that liquid and solid organic fertilizers generate benefits for the soil and the crops. In future studies, it is recommended to minimize potential damage from plant diseases in the experimental area by analyzing the site in detail and by establishing blocks or planting repetitions in different places/farms. Furthermore, it is recommended to increase the number of plants in each plot and to repeating the planting cycles two or three times per crop to minimize the risks of plant diseases.

Key words: organic fertilizers, biofertilizers, *Plasmodiophora brassicae*, broccoli and lettuce

5.3. Introducción

Costa Rica ocupa el primer lugar a nivel mundial en consumir plaguicidas para la producción agrícola con un promedio de 18.2 kg/ha de ingrediente activo por año (Araya 2015). Igualmente, según datos del Banco Mundial en el consumo de fertilizantes por país Costa Rica es el número uno a nivel latinoamericano con 700 kg/ha por tierra cultivables superando a Colombia con un consumo de 649 kg (BM 2016). De acuerdo con MIEC (2011), se registraron grandes importaciones de fertilizantes en el país en el periodo de enero 2010 a marzo 2011 especialmente 5,000 ton de N-P-K (10-30-10), alrededor de 62,000 ton de Nitrato de Amonio y 69,000 ton de Urea (46%).

La aplicación inadecuada y mal uso de fertilizantes en el campo, ocasionan varios efectos negativos para el ambiente, especialmente, el nitrógeno y fósforo terminan en los cuerpos de agua causando la eutrofización; lo que significa que aumenta las concentraciones de nutrientes más allá de lo normal al igual que en el suelo, causando un desequilibrio ecológico. Otro efecto negativo es lo que ocasiona el Óxido nítrico (NO) causante de lluvia acida y el Óxido Nitroso (N₂O) genera GEI causando el aumento de la temperatura a nivel global contribuyendo al cambio climático (Martínez *et al.* 2013).

Dentro de los recursos agroecológicos para reducir el uso de fertilizantes químicos se hallan los abonos orgánicos como composta, vermicompost, bocashi, biofertilizantes (fijadores de nitrógeno como Azospirillum-Rhizobium-Micorrizas) y bioles (a base de excretas de animales, ceniza vegetal, harinas, melaza, suero y MM). Los abonos orgánicos son insumos vitales para los sistemas agrícolas sostenibles, pues pueden solucionar problemas de nutrición en los cultivos, estos recursos son utilizados con mayor frecuencia en la producción agrícola orgánica por su bajo costo en la elaboración (CEDECO 2005; Ramos 2016).

La aplicación de abonos orgánicos no genera ningún tipo de daño al ambiente, su mayor influencia está en mejorar las características físicas, químicas, y biológicas del suelo sobre todo mejora el rendimiento en los cultivos (CEDECO 2005; Trinidad 2008). Según Huamaní (2014), la utilización de bioinsumos en la agricultura evita la degradación de los suelos, mejorándolos al incorporar materia orgánica rica en microorganismos que ayudan a mantener su fertilidad. Estas enmiendas son de suma importancia para los pequeños productores en mantener una alta fertilidad en sus áreas de producción (Muschler 2016).

Por lo tanto, los bioles hoy día son usados en todos los sistemas de producción ecológica para fortalecer el equilibrio nutricional y los mecanismos de defensa del cultivo debido al contenido de ácidos orgánicos, hormonas de crecimiento, antibióticos, vitaminas, minerales y enzimas que se puede encontrar en los fermentados (Restrepo 2007). El presente trabajo permite evaluar, en cultivos de brócoli (*Brassica oleracea*) y lechuga (*Lactuca sativa*), el efecto de la aplicación de los bioles. De la misma forma se documentaron las percepciones de los productores sobre el uso de abonos orgánicos y sus beneficios para mejorar la fertilidad del suelo y cultivo.

5.4. Metodología

El trabajo de investigación fue dividido en tres fases; la primera fase de experimentación se realizó en el INA- Agricultura orgánica con el establecimiento de la parcela experimental del brócoli, la segunda fase fue entrevistar a productores de la región sobre el uso de abonos orgánicos y la tercera fase fue validar en campo la eficiencia de los dos mejores bioles en el cultivo de lechuga.

5.4.1. Fase de experimentación

Lugar del estudio

El Centro Nacional Especializado en Agricultura Orgánica del Instituto Nacional de Aprendizaje (INA) se localiza en la Chinchilla, San Rafael de Oreamuno, Cartago, a una altitud de 1600 metros sobre el nivel de mar, su posición geográfica se encuentra en las coordenadas CRTMOS X-511238 y Y-1092728 con una temperatura mínima promedio de 16 °C y máxima promedio de 25.2 °C, la precipitación promedió es de 1500 mm. Se encuentra en la región con mayor producción agrícola de Costa Rica en donde la mayoría de su suelo es de origen volcánico del orden Andisoles del Gran Grupo: Tropohumult, suelos aptos para la siembra de una amplia gama de cultivos. Datos obtenidos del Atlas digital de Costa Rica, ver Figura 3 (Ortiz y Soto 2008).

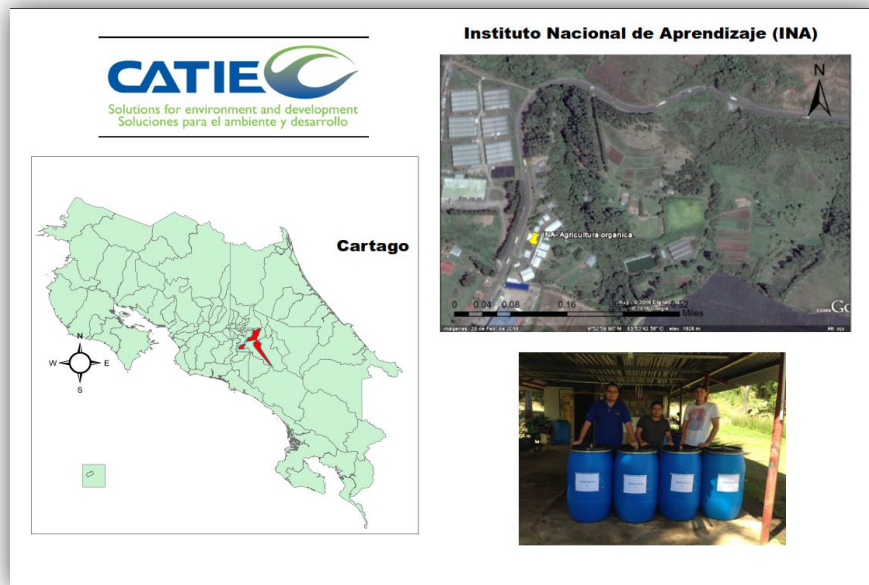


Figura 3. Ubicación donde se elaboraron los bioles

Selección de muestra

Para el experimento, se seleccionaron cuatro tipos de bioles: el B1 (abono sólido + sales minerales) fue proporcionada por un productor de la región San Rafael de Oreamuno, el B2 (estiércol + sales) y B3 (hojas de *Erythrina poeppigiana*+ sales) fueron recomendadas por el INA y el B4 (básico), fue considerado como una receta base para la elaboración de cada biol mencionado (ver Cuadro 6). A cada biol se le asignó al azar un tipo de microorganismo de montaña (MM-proveniente del INA) como inoculante, resultando de la siguiente manera; al B1 el MM (1), al B3 el MM (2), para el B2 y 4 se asignó el MM (3).

Cuadro 6. Ingredientes de los cuatro tipos de bioles

Productor orgánico		INA		Receta base			
B1		B2		B3		B4	
-Suero 60 l	-Suero 60 l	-Suero 60 l	-Suero 60 l	-Suero 60 l	-Suero 60 l	-Suero 60 l	-Suero 60 l
-Melaza 10 kg	-Melaza 10 kg	-Melaza 10 kg	-Melaza 10 kg	-Melaza 10 kg	-Melaza 10 kg	-Melaza 10 kg	-Melaza 10 kg
-Ceniza 1kg	-Ceniza 1kg	-Ceniza 1kg	-Ceniza 1kg	-Ceniza 1 kg	-Ceniza 1 kg	-Ceniza 1 kg	-Ceniza 1 kg
-Roca fosfórica 2 kg	-Roca fosfórica 2 kg	-Roca fosfórica 2 kg	-Roca fosfórica 2 kg	-Roca fosfórica 2 kg	-Roca fosfórica 2 kg	-Roca fosfórica 2 kg	-Roca fosfórica 2 kg
-MM (1) 6 l	-MM (3) 6 l	-MM (2) 6 l	-MM (2) 6 l	-MM (2) 6 l	-MM (3) 6 l	-MM (3) 6 l	-MM (3) 6 l
-Vermicompost 10 kg	-Boñiga 50 kg	-Poró 10 kg	-Poró 10 kg	-Poró 10 kg			
-Sulfato de manganeso 500 g	-Magnesio 1 kg	-Manganeso 500 g	-Manganeso 500 g	-Manganeso 500 g			
-Sulfato de magnesio 500 g		-Sulfato de potasio 500 g	-Sulfato de potasio 500 g	-Sulfato de potasio 500 g			
-Sulfato de potasio 500 g		-Sulfato de zinc 500 g	-Sulfato de zinc 500 g	-Sulfato de zinc 500 g			
-Zinc 500 g		-Sulfato de magnesio 500 g	-Sulfato de magnesio 500 g	-Sulfato de magnesio 500 g			
-Cáscara de huevo 100 g							

El cultivo seleccionado para este experimento fue el brócoli (*Brassica oleracea*) Hid. Avenger de ciclo productivo de 85 a 95 días, adaptado al tipo de suelo y al clima de la zona hortícola de Cartago y frecuentemente cultivado por los productores de la zona. La compra de las plántulas fue hecha en Cartago a una empresa dedicada a producción y ventas de plantas de diversas hortalizas, para evitar problemas de enfermedades en la raíz.

Diseño y estructura experimental

El experimento se realizó con un diseño factorial incompleta con parcelas divididas (DCA) con 14 tratamientos y tres repeticiones en campo. La estructura de los tratamientos estuvo conformada por el factor "bioles" que está compuesta por los 4 tipos de biol y el factor "dosis" con tres niveles 5, 10 y 15%, en conjunto representa un total de 12 tratamientos, más dos testigos (absolutos y químicos), ver Figura 4. El área experimental fue de 425 m², estuvo compuesto por 42 unidades de observación (U.O) de 1.20 m de ancho y 5 m de largo con una superficie de 6 m² por U.O, ubicadas en 9 camas de siembra de 25 m de largo y 1.20 m de ancho.

Diseño experimental en campo								
1	2	3	4	5	6	7	8	9
B2-10%	B3-10%		B3-15%	TA	B4-5%	B2-15%	T10 (5%)	
B3-5%	TQ	B2-15%	B2-5%	B4-15%	B2-10%	B3-15%	B4-10%	
B3-5%	B1-15%	TA	B3-15%	B2-5%	B2-10%	B3-10%	B1-5%	B3-5%
B1-15%	TQ	B1-5%	B2-15%	B4-15%	B4-10%	B4-15%	B1-15%	B2-5%
B3-10%	B1-10%	B1-10%	TQ	B4-5%	B1-10%	B4-10%	TA	B1-5%
1	2	3	4	5	6	7	8	9

Biofermentos

B1 5

B2 10

B3 15

B4

Tratamientos

B1-5%

B1-10%

B1-15%

B2-5%

B2-10%

B2-15 %

B3-5%

B3-10%

B3-15 %

B4-5%

B4-10%

B4-15%

Testigo Químico

Testigo absoluto

Figura 4. Diseño y estructura experimental

Por unidad de observación (O.U) se sembraron 39 plantas de brócoli a una distancia de 0.45 cm entre plantas y 0.40 entre línea. De las 39 plantas, se seleccionaron 10 plantas por U.O como unidad útil para la toma de datos, en cada parcela se consideró el efecto borde con el objetivo de tener independencia en las U.O (ver Figura 3). La frecuencia de aplicación de los tratamientos fue cada semana durante todo el ciclo del brócoli, fueron en total 13 aplicaciones y se utilizaron 3 mochilas de aspersión de 20 l por cada dosis. Por cada biol aplicado se lavó muy bien la mochila para evitar combinaciones de residuos y garantizar la homogeneidad de las unidades experimentales. La aplicación de los tratamientos se realizó en la tercera semana después del trasplante y fue de manera foliar.

Manejo agronómico del cultivo

Preparación del suelo

Para el manejo de suelo se utilizó un tractor para el rastreo, subsolado y rotador de placa móvil. El uso de rastreo tiene la función de pulverizar y deshacer terrón previo a la formación de camas, después se recurrió a un subsolador que rompe capas compactadas en perfiles profundos de 35 a 50 cm y proporcionar al suelo mayor captación e infiltración de humedad, además de incorporar materia orgánica. Por último, se utilizó un rotador de placa móvil para dejar el suelo suave y sin terrones, fue necesario mojar el suelo durante 2 horas (esta actividad se realizó tres veces) (ver Figura 5).



Figura 5. Utilización de rotador en la formación de camas para la siembra del brócoli

Desinfección de suelo

El INA proporcionó los extractos naturales para la desinfección de las camas, se utilizaron mezclas de cuatro especies como: extractos de cocción de *Euphorbia cotinifolia* (leche de sapo) 4 litros, *Ricinus communis* (Higuerilla) 4 l, *Cymbopogon citratus* (citronela) 2 l y *Cnicus benedictus* (Cardo santo) 2 l. La mezcla de estos extractos fue de 12 l y disuelto en 200 l de agua y por medio de una regadera se mojaron las camas para desinfectarlas y evitar problemas de insectos, bacterias y hongos que puedan afectar el desarrollo del brócoli.

Siembra del brócoli

Se utilizaron 9 charolas de brócoli Hib. Avenger de 200 cavidades cada una, con un total de 1,800 plantas para cubrir toda el área experimental. Este híbrido es líder en el mercado por su amplia adaptación y consistentes rendimientos, sus características son un follaje moderado, el vigor es bien formado, grano fino, tallo grueso, sin presencia de tallo hueco y resistente a condiciones de estrés con gran tolerante a mildiú veloso, por último, su ciclo productivo es de 85 a 90 días. Para el trasplante de las plántulas en campo, se desinfectó el suelo con *Trichoderma spp.* Como beneficios estimula el crecimiento y desarrollo de las raíces de las plantas actuando como catalizadores o aceleradores de los tejidos meristemáticos primarios en las partes jóvenes.

Riego

El riego utilizado fue por aspersión y tuvo la capacidad de distribuir el agua por toda el área experimental para cubrir las necesidades fisiológicas del cultivo para su crecimiento. El tiempo de riego asignado fue de dos horas los días lunes, miércoles y viernes de cada semana.

Control de malezas

Se utilizó un motocultor o tractor para el volteo del suelo y se eliminaron las primeras malezas. Por ser un área de producción orgánica no se aplicó ningún producto químico para el control de maleza, por lo tanto, el control se realizó de manera manual (deshierbes y chapias) cada 15 días durante el ciclo del cultivo.

Variables evaluados

- **Altura:** Para la toma de altura de la planta de brócoli se utilizó una cinta métrica extensible. El registro de altura se realizó en los días 35, 50, 70, 90 días después del trasplante. La cinta métrica extensible se desplegó desde la base de la planta hasta el ápice de la hoja más alta (Ubidia 2014).
- **Peso de la inflorescencia:** Se utilizó una balanza digital para tomar el peso de la inflorescencia al momento del corte y evitar cualquier error al trasladar a otro lugar (Carrillo 2010).
- **Rendimiento:** Para el rendimiento por tratamiento se consideró el peso de las inflorescencias de las 30 plantas seleccionadas como unidad útil (Carrillo 2010).

5.4.2. Fase de entrevista a productores

Se seleccionaron 15 productores de la región de San Rafael de Oreamuno y 15 productores de Turrialba, Costa Rica, que cumplieran con las características que se muestran en el Cuadro 7. La herramienta utilizada fue entrevistas semi-estructuradas, que permitió reunir información sobre la percepción de los productores respecto al uso de abonos orgánicos y los beneficios para mejorar las propiedades físicas (estructura, porosidad, aireación, retención de humedad, estabilidad de agregados) y biológicas del suelo (mejorar la vida microbiana del suelo mediante M.O).

Cuadro 7. Características importantes que se tomaron en cuenta para seleccionar a los encuestados

Características

Localización	Productor	Uso de Abono	Tipo de sistema
Tierra blanca			
Paso Ancho en Oreamuno	Orgánico-Convencional	Foliar – al suelo	Invernadero-Campo
Turrialba			

5.4.3. Fase de validación en campo

Área de estudio

La validación de los bioles con mayor eficiencia se realizó con dos productores que se dedicaban principalmente a la producción de hortalizas mayores y menores. La primera finca se encuentra en la región con mayor producción agrícola del país en San Rafael de Oreamuno, Cartago (9°53'05.99 N y 83°51'44.38 O) a una altura de 1673 msnm donde la mayoría de su suelo son de origen volcánico del orden Andisoles. La segunda finca se localiza en Chitaría, Turrialba (9°55'23.00 N y 83°35'21.42 O) a una altura de 890 msnm, con suelos Ultisoles, ver Figura 6. Datos obtenidos del Atlas digital de Costa Rica. (Ortiz y Soto 2008; CIA 2017; INTA 2015)

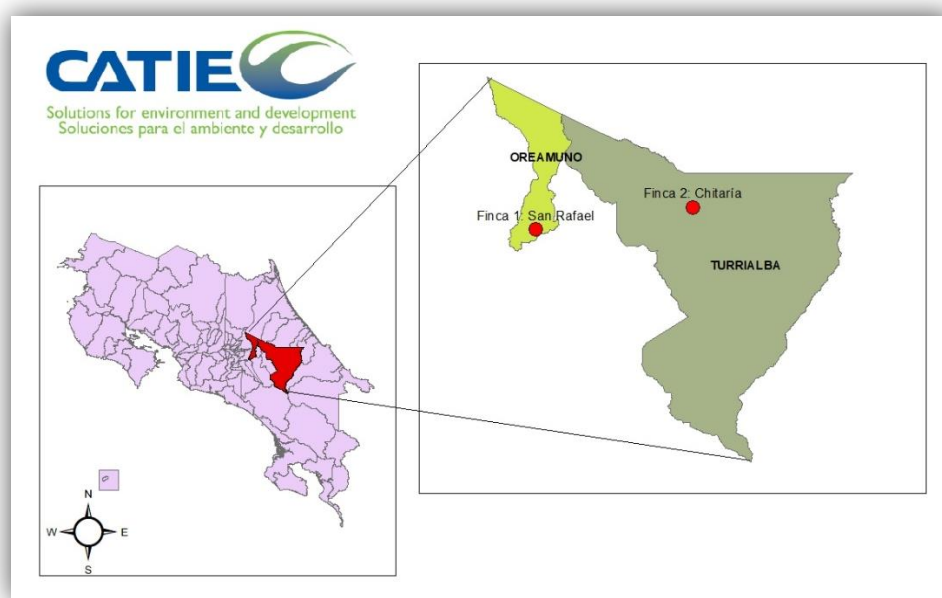


Figura 6. Ubicación de la Finca 1: San Rafael y Finca 2: Chitaría

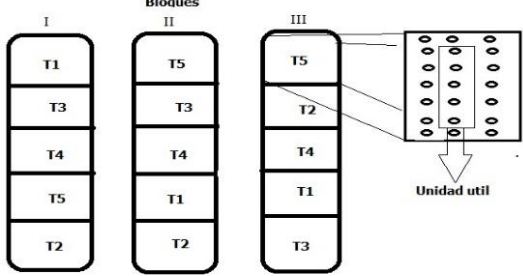


Prueba de eficacia de bioles en el cultivo de lechuga

Con los resultados obtenidos de las encuestas a productores, se tuvo el dato de cuántos se dedican a la producción orgánica y cuántos aplican bioles, de los 30 productores entrevistados se seleccionaron dos fincas al azar para evaluar el efecto del B4 y B3. No se seleccionó el B2 por estar elaborado con boñiga y no permitirse su aplicación en cultivos de hojas de ciclo corto, por seguridad sanitaria. El cultivo seleccionado para la validación en campo fue la lechuga (*Lactuca sativa*) variedad Iceberg tipo acogollada de ciclo corto, que fue comprada a una empresa productora de plántulas de hortalizas en Cartago, ideal para ser producida en altitudes de entre los 600 a 1700 msnm, el manejo estuvo a cargo de cada productor (Vázquez 2015).

Diseño experimental

El experimento se realizó con un diseño de bloques completamente al azar (DBCA) para evitar el efecto área en las fincas. La estructura está conformada por el factor "bioles" y el factor "dosis" con dos niveles de 5, 10% además un testigo absoluto. Fueron un total de cinco tratamientos repetidos en cada bloque, ver Cuadro 8. Para la finca 1 cada bloque estuvo conformado por 3 camas de siembra. En la finca 2, los tres bloques están representada con 1 cama de 12 metros de largo y 1.50 m de ancho. La distribución de los tratamientos fue similar, ver Cuadro 8.

Cuadro 8. Diseño y estructura en la validación en fincas

Tratamientos	Diseño en campo
<ol style="list-style-type: none"> 1. B3-5% 2. B3-10% 3. B4-5% 4. B4-10% 5. TA 	<div style="text-align: center;"> <p>Bloques</p>  </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 10px;">   </div> <p style="text-align: center; margin-top: 5px;">Finca 1 Finca 2</p>

Se seleccionaron 6 plantas como unidad útil para la toma de datos; es importante mencionar que en cada parcela se consideró el efecto borde, con el objetivo de tener independencia entre parcelas en cada bloque. La frecuencia de aplicación de los tratamientos fue semanal durante todo el ciclo de la lechuga, por lo tanto, se realizaron 4 aplicaciones en el tiempo

para cubrir el requerimiento nutricional de los 40 días del cultivo. La variable principal a evaluar fue el rendimiento.

5.4.4. Análisis de datos

El análisis de la información se hizo mediante el programa estadístico Infostat versión 2017 (Di Rienzo et al., 2017)

Desarrollo del cultivo: Altura

Modelo Estadístico: $Y_{ij} = \mu + T_{\text{tratamiento}(i)} + T_{\text{tiempo}(j)} + T_i T_j + \epsilon_{ijk}$

Donde:

Y_{ij} : Factor de interés (altura)

μ : Media general

$T_{\text{tratamiento}(i)}$: Efecto del i-ésimo de tratamiento (1, 2, 3... 14)

$T_{\text{tiempo}(j)}$: Efecto del j-ésimo de tiempo

$T_i T_j$: Efecto de interacción de tratamiento por tiempo

ϵ_{ijk} : Es el término de error aleatorio, independiente, y supuestamente distribuido normal con media cero y varianza constante.

Variables cosecha: Rendimiento

Modelo estadístico: $Y_{ij} = \mu + P_i + D_j + P_i D_j + \epsilon_{ijk}$

Donde:

Y_{ij} : Factor de interés (peso de la inflorescencia y rendimiento)

μ : Media general

P_i : Efecto del i-ésimo de productos 1, 2, 3 y 4

D_j : Efecto del j-ésimo de dosis 5, 10 y 15 %

$P_i D_j$: Efecto de interacción de producto dosis

ϵ_{ijk} : Es el término de error aleatorio, independiente, y supuestamente distribuido normal con media cero y varianza constante

Percepciones de los productores sobre el uso de abonos orgánicos

Para responder a este objetivo de investigación sobre las percepciones de los productores en el uso de abonos orgánicos y sus beneficios en mejorar la fertilidad del cultivo, se sometieron las entrevistas semi-estructuradas a un análisis descriptivo. Además, para visualizar con mayor claridad y facilidad los resultados se presentan gráficos de barras del uso de abonos.

Variable rendimiento en la validación de campo

Para la validación de los bioles utilizados y el nivel de dosis, los tratamientos fueron analizados en el programa estadístico infoStat, mediante un diseño en bloques completos al azar (DBCA), dentro de cada bloque los tratamientos fueron asignados a las parcelas en forma aleatoria, para las comparaciones de medias se seleccionó el método DGC. (Di Rienzo *et al.* 2017)

Modelo: $Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + \epsilon_{ij}$

Y_{ij} = Rendimiento

μ = Media general

T_i = El efecto del i-ésimo tratamientos (1, 2, 3, 4, 5)

B_j = El efecto del j-ésimo bloque (1, 2, 3)

ϵ_{ij} = Es el término de error aleatorio, independiente, y supuestamente distribuido normal con media cero y varianza constante

5.5. Resultados

5.5.1. Fase de experimentación del brócoli

Para minimizar el efecto por una incidencia diferente de la hernia (*Plasmodiophora brassicae*) del brócoli en los diferentes tratamientos, se analizaron los datos de crecimiento (altura), peso de inflorescencia y rendimiento, solamente para las plantas en la categoría 3 (escala 3), ya que esta categoría representaba a la mayoría de las plantas seleccionadas como unidad útil (ver Cuadro 9). La escala de daño se realizó después de la cosecha, se observó un 57% de plantas útil en la escala 3 (raíz con 3 a 4 nódulos y un daño del 50 %), seguido con un 24 % en la escala 5 y 10% en la escala 4 (ver Figura 7).



Figura 7. Escala de daño de *P. brassicae* y el porcentaje de afectación en las plantas seleccionadas como unidad útil

Cuadro 9. Incidencia de daño por Hernia (*P. brassicae*) al día 90 en el área experimental

1	2	3	4	5	6	7	8	9
B2-10%	B3-10%		B3-15)	TA	B4-5%	B2-15%	B4-5%	
B3-5%	TQ	B2-15%	B2-5%	B4-15%	B2-10%	B3-15%	B4-10%	
B3-5%	B1-15%	TA	B3-15%	B2-5%	B2-10%	B3-10%	B1-5%	B3-5%
B1-15%	TQ	B1-5%	B2-15%	B4-15%	B4-10%	B4-15%	B1-15%	B2-5%
B3-10%	B1-10%	B1-10%	TQ	B4-5%	B1-10%	B4-10%	TA	B1-5%
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Escala de daño			S-D		E-1		E-2	
			E-3		E-4		E-5	

Los tratamientos menos afectados por la *P. brassicae* fueron B2-10%, B4-5%, B4-10%, B4-15%, B2-15%, B3-15%, B3-10%, TA y B1-5 % y los tratamientos más afectados fueron B1-15%, TQ, B3-5%, B2-5% y B1-10% (ver Cuadro 10), por lo tanto, para lograr observar efecto de los tratamientos en brócoli, se analizaron las plantas útiles con la escala de daño 3 en la raíz, para tener homogeneidad en los datos e interpretar los efectos de los bioles en las variables de desarrollo y cosecha.

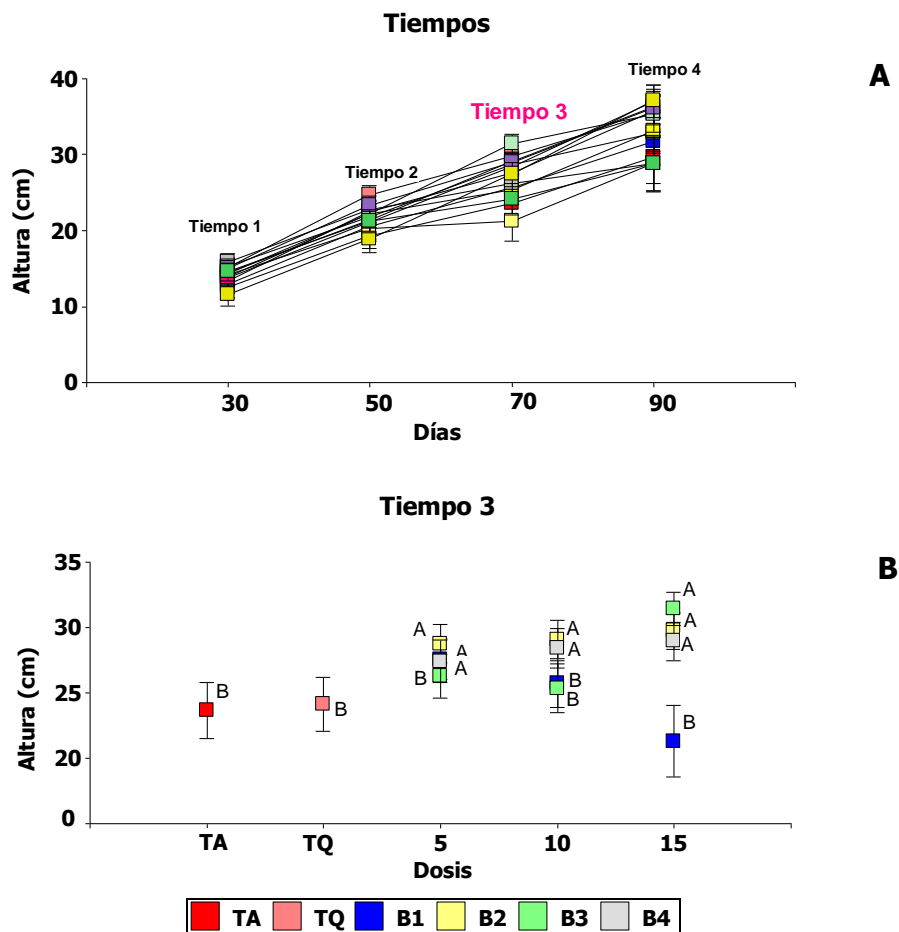
Cuadro 10. Tratamientos de menor a mayor incidencia *P. brassicae*

Tratamientos	Plantas totales	Escala de daño en las raíces del brócoli					
		SD	1	2	3	4	5
B2-10%	30	0	4	1	21	2	2
B4-5%	30	0	2	3	20	3	2
B4-10%	30	0	1	0	21	3	5
B4-15%	30	0	0	3	20	5	2
B2-15%	30	0	0	5	21	0	4
B3-15%	30	0	0	4	19	3	4
B3-10%	30	0	4	0	16	4	6
TA	30	0	2	3	17	1	6
B1-5%	30	0	0	2	20	1	7
B1-10%	30	0	0	1	18	0	11
B2-5%	30	0	0	2	16	1	11
B3-5%	30	0	0	1	14	3	12
TQ	30	0	0	1	13	0	16
B1-15%	30	0	0	0	11	2	17

Altura

En la Figura 8 (A) se observa una interacción en los tiempos con el efecto de los tratamientos reflejándose con mayor claridad en el tiempo 3 a los 70 días, esto se debe a la gran variabilidad ocasionada por *P. brassicae*. Se encontró diferencia significativa en las medias ajustadas por DGC ($P < 0.0025$) para el tiempo-3 (70 días), el B3-15% tuvo mayor altura con un promedio de 31.43 cm, siendo el tratamiento con menor daño, de las 30 plantas (p) útiles, hubo 20 p con escala de daño 3, 3 p con escala de daño 2 y 4, por último 2 p con escala de daño 5. El B2-5, 10 y 15 % mantuvo un crecimiento similar con un promedio de 27 a 30 cm. Con menor altura fueron los tratamientos B1-15%, los testigos (absoluto y

químico) y el B3-5 y 10 %, en promedio tenían más plantas útiles dañadas (escala de daño 5) ocasionado por *P. brassicae*, ver Figura 8 (B).



B1. Biol con sales minerales-**B2.** Biol con estiércol y sales-**B3.** Bolo (con hojas de poro (*Erythrina poeppigiana*) y sales-**B4.** Biol básico-**TQ.** Producto químico y **TA.** Absoluto-DGC (Alfa=0.05)-Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Figura 8. (A) Incremento de la Altura del brócoli en los tiempos. (B) Altura de la planta en el tiempo-3 con relación a los tratamientos

Al contrastar los diferentes tratamientos evaluados, se encontró que los bioles son mejores que los testigos con una significancia de $p < 0.0453$. En los bioles se encontró que el B2 y B3 son mejores que el B4 y B1 con una diferencia significativa de $P < 0.0418$. Por dosis se halló mayor altura en el B2 y B3 al 15 % con una diferencia de $p < 0.0070$ (ver Cuadro 11).

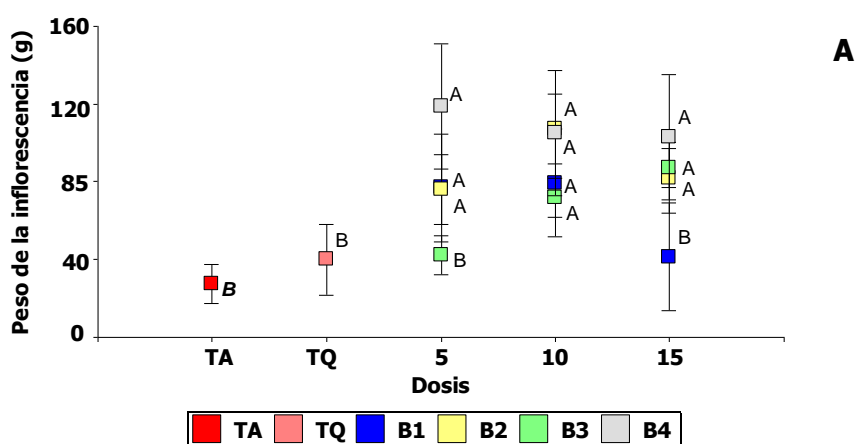
Cuadro 11. Contrastes ortogonales de los productos más dosis (tratamientos)

Producto-Dosis	Contraste	E.E.	F	gl (núm.)	gl (den)	p- valor
TA vs bioles	-3.10	1.53	4.10	1	112	0.0453
B4, B1 vs B3, B2	-1.98	0.96	4.24	1	112	0.0418
B4, B1 al 15% vs B3, B2 al 15%	-4.86	1.77	7.54	1	112	0.0070
Total			0.09	1	112	0.7616

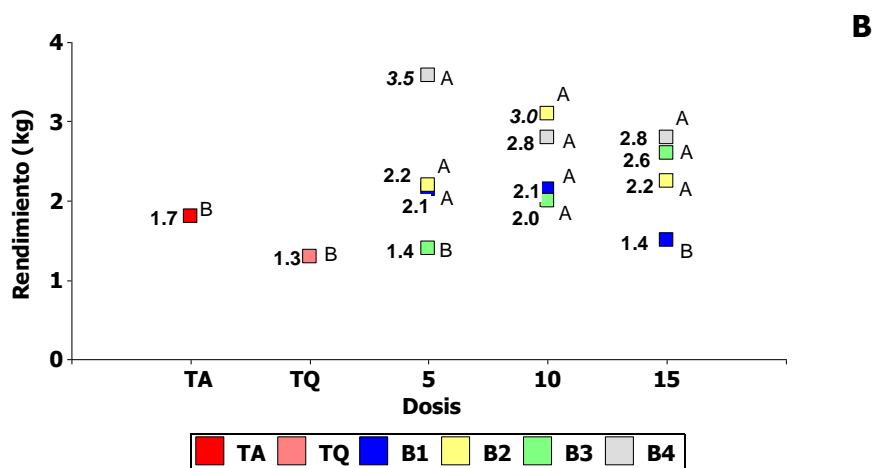
Variables de cosecha

Peso de la inflorescencia y rendimiento

Hay diferencia significativa ($p < 0.0060$) en las medias ajustadas por DGC en los tratamientos. Por lo tanto, el B4-5% obtuvo mayor peso de inflorescencia con 124 g y un rendimiento de 3.58 kg superando al doble a los testigos, siendo el tratamiento menos dañado por *P. brassicae*. De las 30 plantas (P) útiles hubo 20 p con escala de daño 3, 3 p con escala de daño 2 y 4, por último, 2 p con escala de daño 5. Otros tratamientos con mejor peso el B4-10 y 15 % y el B2-10 % obtuvieron en peso de inflorescencia entre 100 a 110 g superando a los testigos (absoluto y químico). El B3-5% y el B1-15% obtuvieron el menor promedio de 30 a 50 fueron tratamientos afectados por el patógeno (ver Figura 9) (A) y (B). De igual manera, el B3 incrementó el peso cuando se incrementó la dosis. Al contrastar los cuatro bioles se encontró que superan a los testigos (absoluto y químico) con una significancia de $p < 0.0001$ y $p < 0.0354$ respectivamente, ver Cuatro 12.



B1. Biol con sales minerales-**B2.** Biol con estiércol y sales-**B3.** Bolo (con hojas de poro (*Erythrina poeppigiana*) y sales-**B4.** Biol básico-**TQ.** Producto químico y **TA.** Absoluto-DGC (Alfa=0.05)-Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)



B1. Biol con sales minerales-**B2.** Biol con estiércol y sales-**B3.** Bolo (con hojas de poro (*Erythrina poeppigiana*) y sales-**B4.** Biol básico-**TQ.** Producto químico y **TA.** Absoluto-DGC (Alfa=0.05)-Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Figura 9. (A) Peso de la inflorescencia del brócoli. (A) Rendimiento del brócoli por tratamiento

Cuadro 12. Contrastes ortogonales para el rendimiento del brócoli

Producto_Dosis	Contraste	E.E.	F	gl(núm.)	gl(den)	p-valor
TA vs bioles	-51.79	11.39	20.67	1	28	0.0001
TQ vs bioles	-39.98	18.08	4.89	1	28	0.0354
Total			0.06	1	28	0.8075

5.5.2. Fase entrevista a productores

Situación de los productores

Las entrevistas fueron realizadas a 30 productores. El 100% trabajan con hortalizas de ciclo corto (remolacha, lechuga) y largo (zanahoria, papa, tomates y brócoli). Se encontró que el 100% de los entrevistados son propietarios de su finca, de los cuales el 57% se dedican a la producción orgánica, el 33% combina el sistema de producción orgánico y convencional, solo el 10% de los productores manejan su finca de manera convencional (ver Figura 10).

Tipo de producción

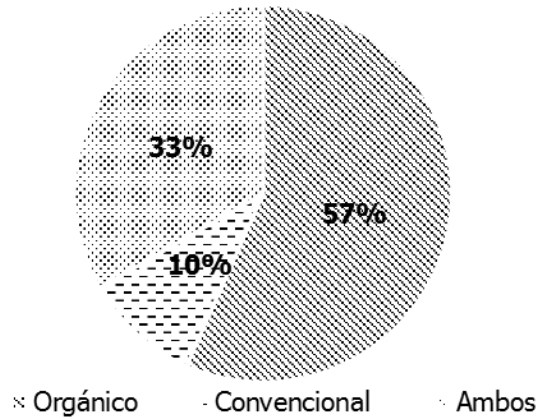


Figura 10. Sistemas de producción



Figura 11. Finca convencional con cultivo de cebolla (*Allium cepa*)



Figura 12. Finca con manejo orgánico y convencional en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum*)

Uso de abonos en las fincas

Se encontraron que el 100% de los productores utilizan abono orgánico desde semillero hasta el crecimiento de los cultivos, 10 productores entrevistados mencionaron que utilizan hasta cuatro tipos de abono (composta, bioles, vermicompost y bocashi), 5 productores solo utilizan vermicompost, 3 productores utilizan estiércol al inicio de cada producción y son los que practican la agricultura convencional (ver Figura 13). Por otra parte, se logró conocer las dosis y la frecuencia de uso de los abonos; para el caso de los bioles la mayoría utilizan dosis de 500 ml a 1 L disuelto en 20 l de agua, 2 veces a la semana durante el ciclo productivo. Con relación a los abonos sólidos utilizan de 60 a 200 g por planta aplicándolo 2 veces durante el ciclo del cultivo.

Tipos de abonos que utilizan

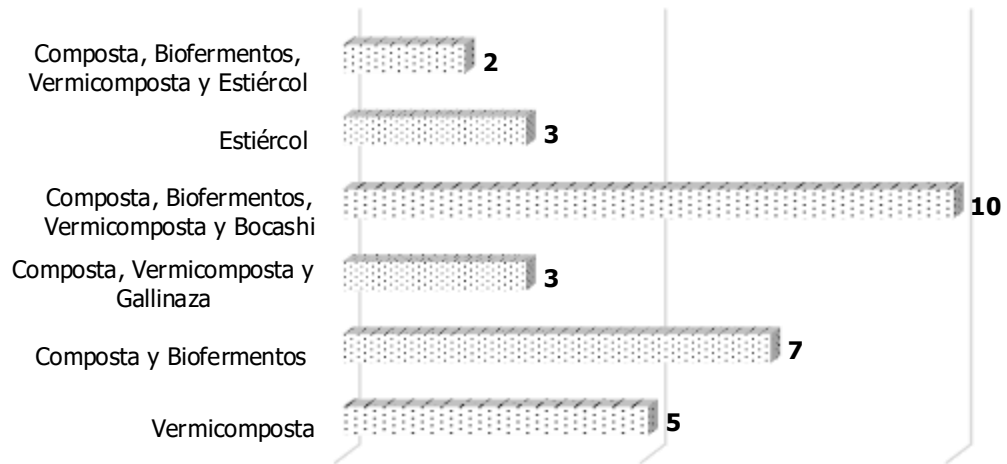


Figura 13. Conjunto de abonos aplicados por los productores

Abonos sólidos

Se encontraron que 30 productores utilizan más de un abono orgánico (composta, vermicompost, estiércol, gallinaza y bocashi), de los cuales solo 3 productores compran estiércol para aplicar al inicio de cada ciclo productivo y 5 productores utilizan la vermicompost. Después de conocer que los 30 productores utilizan algún tipo de abono se procedió a conocer su opinión sobre los beneficios que aporta al suelo, la mayoría de los productores calificaron como bueno ya que mejora las características físicas, retención de humedad y supresión de enfermedades en el suelo, aporta a la productividad y calidad del cultivo, por último solo calificaron como muy bueno la aplicación de abono en mejorar la características químicas del suelo y la rentabilidad del abono (ver Figura 14).

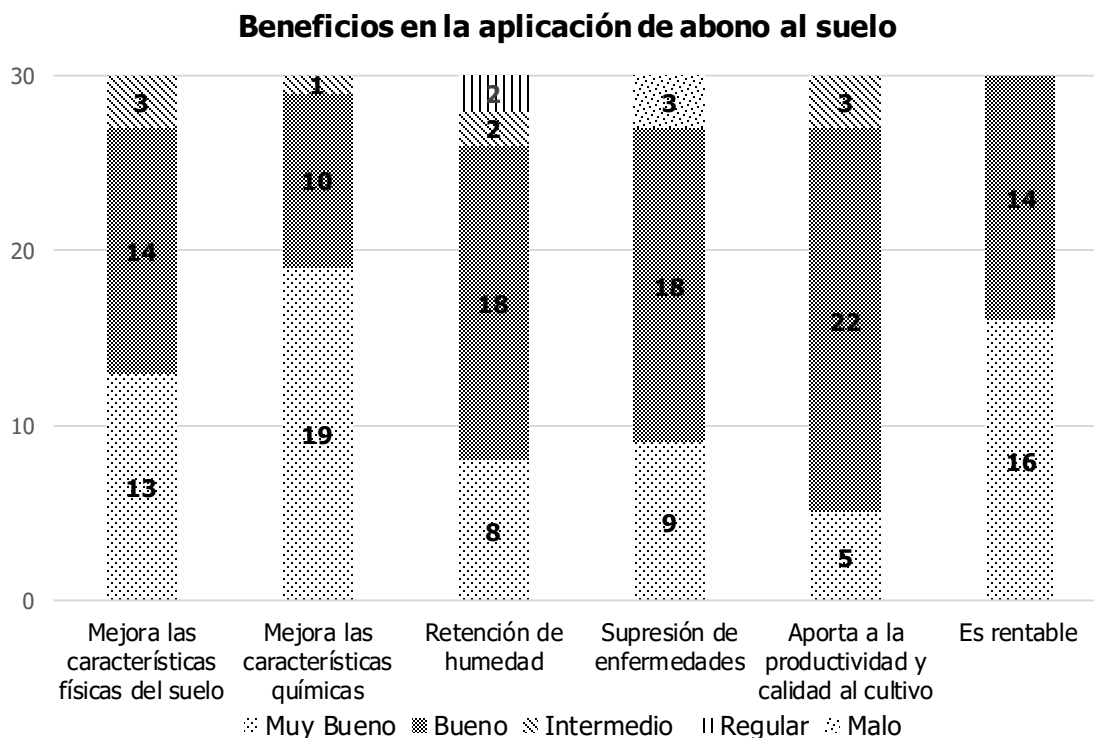


Figura 14. Opinión sobre el uso de abonos sólidos en los suelos agrícolas

Bioles

Se identificaron a 19 productores que utilizan bioles. Como ingredientes principales para su elaboración utilizaron microorganismo de montaña (MM), suero, melaza y roca fosfórica. De los cuales, 5 productores incluyeron la boñiga a su biol, y otros 6 productores incluyeron en el biol los ingredientes principales mencionados más ceniza y sales minerales. Después de conocer cuántos se dedican a hacer este tipo de abono foliar se procedió a conocer el punto de vista de cada productor, calificando como muy buenos los beneficios de aplicar abono foliar en términos de rentabilidad, mejoramiento del crecimiento del follaje, mejoras en la productividad y calidad de cultivo. La efectividad de abonos para poder suprimir enfermedades foliares fue evaluado como bueno (ver Figura 15).

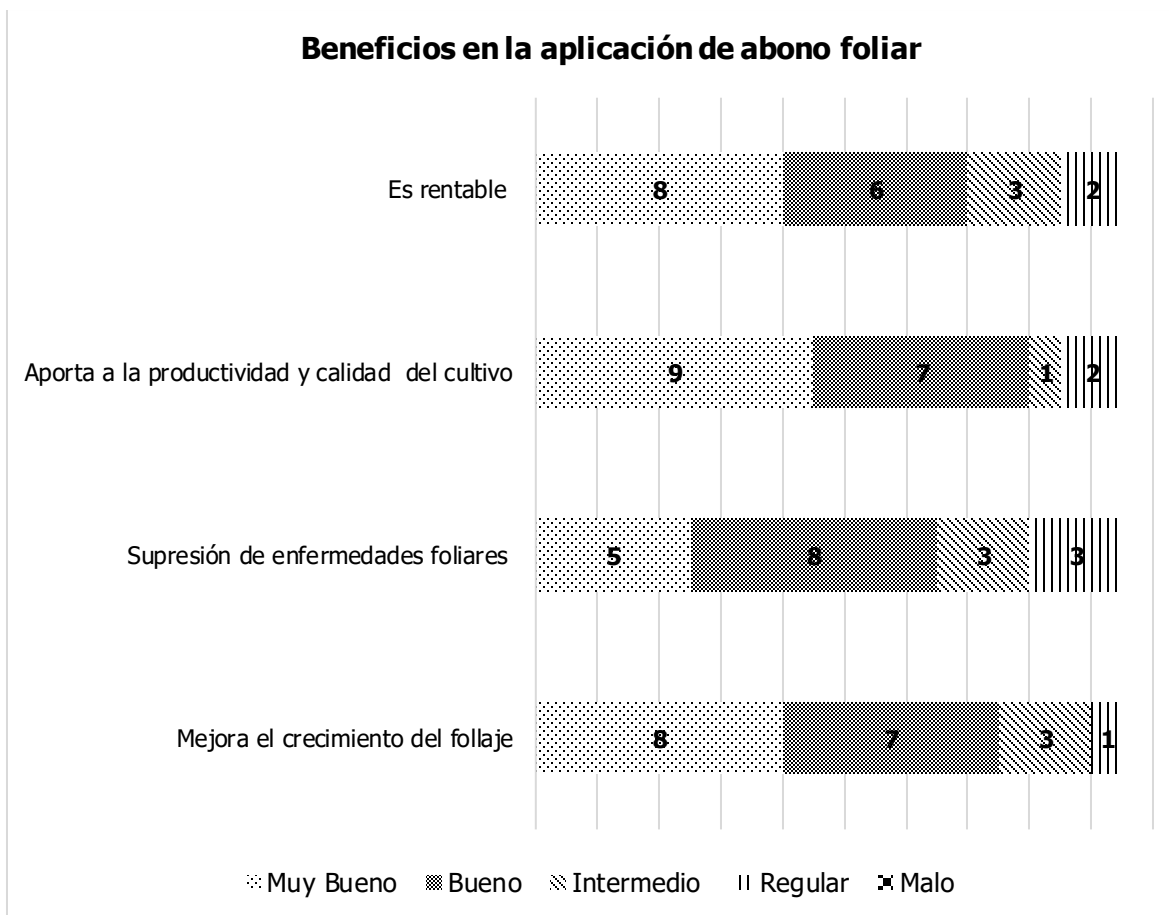


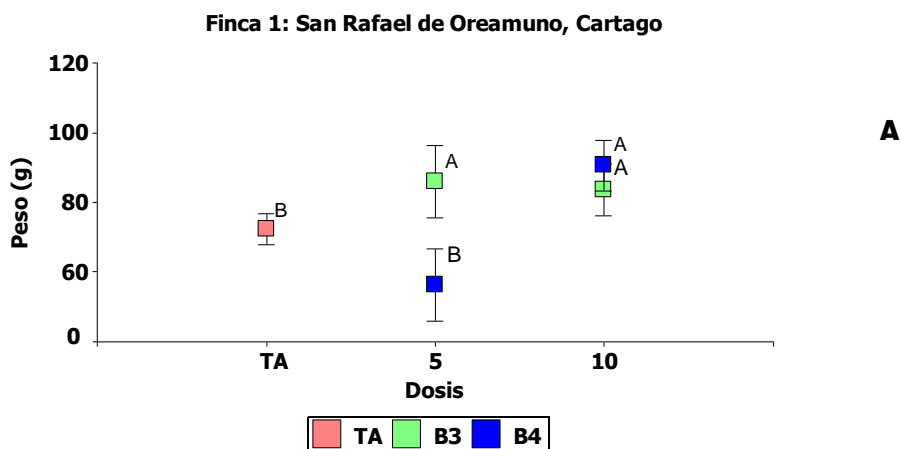
Figura 15. Opinión sobre el uso de abonos foliares en los cultivos agrícolas

5.5.3. Fase validación en fincas orgánicas

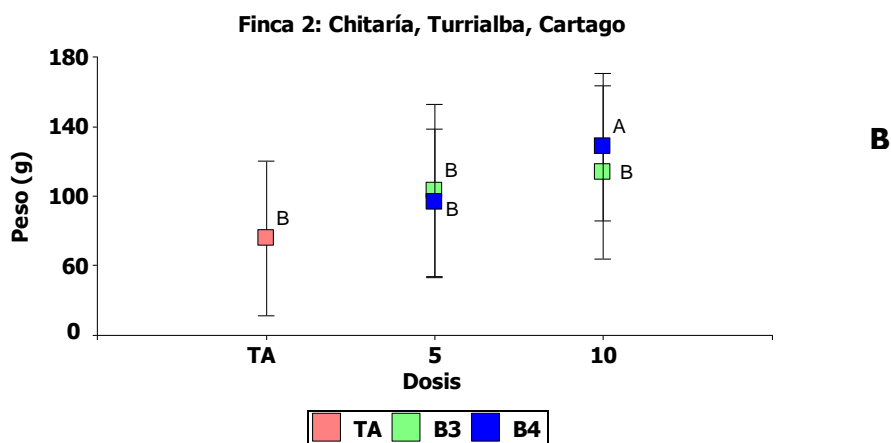
En términos generales, hay mayor rendimiento de la lechuga en la finca 2 (Chitaría, Turrialba), superando con un 34% de rendimiento a la finca 1 (San Rafael de Oreamuno). Esta diferencia también está relacionada al manejo del cultivo porque en la finca 1 existía mucha competencia de malezas y en la finca 2 el manejo fue de mayor responsabilidad. Por lo tanto, se encontró diferencia significativa con la aplicación de bioles en la finca 1 ($p < 0.0338$) y finca 2 ($p < 0.0001$).

En la Figura 16 (A) para la finca 1, los bioles superaron e igualaron al testigo absoluto. El B4-10% obtuvo mayor peso con 90 g y un rendimiento 1.4 kg, superando con 24% al testigo absoluto, el B4 aumentó el peso al incrementar la dosis de aplicación; con dosis 5% tuvo menor peso y rendimiento estando por debajo del testigo, este comportamiento se debió al daño por enfermedad, especialmente en el bloque tres. En el caso de B3 no hay cambio en las dos dosis con relación al rendimiento. Al realizar los contrastes el B4 fue mejor que el

B3 con una significancia de $p < 0.0492$). En la Figura 16 (B) para la finca 2 de nuevo el B4-10% obtuvo mayor registro de peso con un promedio de 120 g y un rendimiento de 1.9 kg superando con 60% al testigo absoluto. Al realizar los contrastes el B4-10% fue mejor con un nivel de significancia de $p < 0.0001$ (ver Cuadro 13).



B3. Biol bolo (con hojas de poro (*Erythrina poeppigiana* + sales)-**B4.** Biol básico-**TA.** testigo absoluto- DGC (Alfa=0.05)- Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)



B3. Biol bolo (con hojas de poro (*Erythrina poeppigiana* + sales)-**B4.** Biol básico-**TA.** testigo absoluto- DGC (Alfa=0.05)- Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Figura 16. (A). Peso de la lechuga en San Rafael de Oreamuno, Cartago. (B). Peso de la lechuga en Chitaría, Turrialba, Cartago

Cuadro 13. Contrastes ortogonales en las fincas de San Rafael de Oreamuno y Chitaría, Turrialba

Finca-1						
Prod_Dosis	Contraste	E.E.	F	gl(núm.)	gl(den)	p-valor
B3-5% vs B3-10%	-29.60	13.23	5.01	1	10	0.0492
Finca-2						
Prod_Dosis	Contraste	E.E.	F	gl(núm.)	gl(den)	p-valor
B4-5% vs B4-10%	-32.00	3.11	105.75	1	10	<0.0001

5.6. Discusión

La incidencia de *P. brassicae* en toda el área de experimento del brócoli fue la principal variabilidad externa que condicionó el efecto de los bioles. La incidencia y severidad alcanzada por el patógeno fue del 100%, incrementando su daño a medida que aumentó el desarrollo del cultivo y durante las altas precipitaciones en los meses de mayo-julio. Estos daños concuerdan con Castillo y Guerrero (2008), la incidencia y severidad de la hernia agranda a medida que aumenta el desarrollo del cultivo, afectando gravemente el rendimiento del brócoli. Por su parte, Tamayo y Jaramillon (1992) afirman que la precipitación o temporal de lluvias aumenta el daño de la hernia. Condiciones óptimas para que el patógeno se fragmente en porciones multinucleadas que forman a su vez un zoosporangio y que liberan de 4 a 8 zoosporas secundaria que producen nuevas infecciones en el cultivo (Agris 2005).

El efecto de los bioles en brócoli puede estar enmascarado con la incidencia de *P. brassicae*, el efecto de bioles en la variable altura se reflejó con mayor claridad en el tiempo 3 a 70 días de crecimiento del brócoli. Por lo tanto, el B3-15% elaborado con hojas de poro (*Erythrina poeppigiana*) y el B2 con estiércol con la misma dosis obtuvieron mayor altura en el brócoli. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Guamangallo (2014) y Zambrano (2009) al utilizar biol con la misma dosis registrando en el tiempo 3 obtuvo mayor altura del brócoli con un promedio de 40 cm. Al igual Maheshbabu *et al.* (2008) reportaron mayor altura, pero en planta de trigo aplicando biol al 15% y con biol artesanal de hojas de *Gliricidia sepium*, registró mayor altura para chile habanero (*Capsicum chinense*) superando al biol con estiércol (Salaya 2010).

En el peso y rendimiento del brócoli fueron condicionados por la alta incidencia y severidad del patógeno *P. brassicae*. Según Castillo y Guerrero (2008) la enfermedad disminuye el tamaño de la inflorescencia del brócoli y se estima que puede disminuir el rendimiento hasta un 20-50%. Considerando la presencia del patógeno se obtuvo por parte del B4-5 % un peso de la inflorescencia de 123 g y en rendimiento de 3.58 kg, superando por doble a los testigos, comparándolo con Guamangallo (2014) al usar biol de roca fosfórica al 10 % en

brócoli, obtuvo un peso en la inflorescencia de 300 g en promedio, pero sin la afectación de *P. brassicae*. Otro resultado similar ha sido obtenido por Proaño (2015) al utilizar dosis de 20 l de biol/ha obtuvo un rendimiento de 4.4 -5.0 kg/m² y un peso en la inflorescencia de brócoli de 388 g.

Al validar la eficiencia de los dos tipos de bioles en la región productiva de Cartago, se pudo observar mejor resultado en el B4-10%, obteniendo mayor peso y rendimiento en lechuga hasta un 50%. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en estudios previos en cultivo de lechuga donde Bonillo et al. (2015), obtuvo un 53% de aumento con respecto al testigo en lechuga utilizando biol (supermacro) al 10% y Aguilar (2015) obtuvo con la aplicación de biofermento con harinas de roca en tres variedades de lechuga (crespa, romana y seda) rendimiento de 79% (4.4 – 5.0 kg/m²). Pero igual Hu y Qi (2013) obtuvo el mismo efecto al aplicar microorganismo líquido con composta aumento significativamente la biomasa de paja de trigo, los rendimientos de grano, la paja y nutrición de granos en comparación con el tratamiento donde no se trató (testigo).

Según Fernández *et al.* (2010), los abonos líquidos estimularon a obtener mayor peso y rendimiento, lo cual coincide con la investigación al aumenta un 50% el rendimiento respecto al tratamiento testigo. Mismo resultado lo obtuvo Mazariegos y Colindres (2002) aplicando SM al cultivo de ají (*Capsicum frutescens*) en concentraciones de 16% lograron efectos positivos respecto al testigo.

El 57% de los productores encuestados se dedican a la producción orgánica, son productores consientes en el cambio de paradigma del consumidor y el surgimiento de nuevos espacios de ventas con gran potencial económico (Brenes 2003). El beneficio que obtiene los productores al usar abono sólido es en mejorar las características físicas, biológicas y químicas del suelo (Trinidad 2015), incrementando las concentraciones de nitrógenos, fósforo, potasio y la degradación de residuos de plaguicidas en el suelo (Nieto *et al.* 2002; Hernández *et al.* 2010; Soto y Muñoz 2002). Los abonos líquidos se tienen una gran aceptación por parte de los productores, opinaron que beneficia el crecimiento del follaje, suprime o retarda el daño de enfermedades y aportan beneficio en la calidad de los cultivos. Similar a lo encontrado por Acosta (2012) donde el 70% de los 30 productores encuestados en Alajuela y Turrialba opinan que es muy bueno el uso de abonos líquidos y mejorando el crecimiento de follaje, la productividad y la calidad de cultivo.

5.7. Conclusiones

1. En lechuga, con excepción del B4-5% en una de las dos fincas, ambos bioles mostraron una tendencia consistente de aumentar el tamaño de la planta y el rendimiento al aplicar mayores concentraciones. Los aumentos fueron estadísticamente significativos para el tratamiento B4-10% en ambas fincas, con un incremento en el rendimiento del 50% con relación con el testigo absoluto.
2. Para brócoli, la interferencia fuerte de la hernia de la col (*P. brassicae*) no permitió analizar los datos de crecimiento y rendimiento en todas las plantas útiles a los 90 días. Por ende, se analizó solamente el 57% de plantas con escala de daño 3 en la raíz. De estas plantas, aquellas tratadas con el B3-15% en el tiempo 3 (70 días) desarrollaron mayor altura. Las plantas tratadas con el B4-5% tuvieron mayor peso y rendimiento superando al doble a los testigos.
3. La mayoría de los productores entrevistados consideraron a los bioles como una práctica agroecológica efectiva para la producción sostenible y sus beneficios se reflejan en una gran aceptación, ya que su uso puede aumentar la productividad del sistema y reducir la contaminación con sustancias tóxicas.
4. Para las variables crecimiento y rendimiento del brócoli y lechuga no se encontraron ventajas significativas entre los bioles que contenían sales minerales (B1, B2 y B3) con respecto al que carecía de sales adicionales (B4). Posiblemente, este comportamiento se puede atribuir a reacciones químicas entre las sales que se usaron en la elaboración de los bioles, por ende, es necesario conocer cuáles son las sales minerales que provocan mayor salinidad y cuáles tienen mayor solubilidad. Considerando estas reacciones al momento de mezclar se tendrá mayor seguridad en la aportación de los nutrientes para la planta.

5.8. Recomendaciones

1. El aumento de dosis en la aplicación foliar del B4-10% incrementó el peso de la lechuga, por lo tanto, se considera que existe un mayor potencial si se aplica este biol como inóculo en las bandejas de plántulas. Por ende, se recomienda evaluar el efecto de B4-10% aplicado a plántulas cuyas raíces y sustratos fueron inmersos en el mismo.
2. Como hubo una interferencia de *P. brassicae* en los efectos de los tratamientos, es necesario prevenir enfermedades en futuras investigaciones, para ello se debe analizar detalladamente el sitio y establecer bloques o repeticiones en diferentes lugares/fincas para minimizar riesgos fitosanitarios.
3. Se recomienda, en futuras investigaciones, aumentar el número de plantas en la parcela útil a al menos lo doble (60 plantas) o repetir el experimento a dos o tres ciclos por cultivo para evaluar la respuesta a un plazo más largo.
4. Se recomienda estudiar el efecto potencial de diferentes microorganismos como antagonistas para el control biológico de *Plasmodiophora brassicae*.
5. Los resultados de este estudio sugieren que no se justifica elaborar el biol con varios tipos de sales minerales.
6. Es importante conocer las necesidades nutricionales del cultivo de interés y de acuerdo a estas elaborar el biol específico para cubrir sus requerimientos.

5.9. Bibliografía

- Acosta Almanzar, HA. 2012. Microorganismos eficientes de montaña: Evaluación de su potencial bajo manejo agroecológico de tomate en Costa Rica. Tesis Mag. Sc. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba, Costa Rica. 100 p.
- Araya, J. 2015. Día mundial del Ambiente; Costa Rica es el consumidor más voraz de plaguicidas en el mundo. Semanario Universidad. Costa Rica, Viernes 3, Jun. Disponible en <http://semanariouniversidad.ucr.cr/pais/costa-rica-es-el-consumidor-mas-voraz-de-plaguicidas-en-el-mundo/>.
- Agrios, G. 2005. Fitopatología. Segunda Edición. Grupo Noriega. DF, México. 838 p.
- BM (Banco Mundial). 2003-2013. Consumo de fertilizantes (Kilogramos por hectárea de tierras cultivables). Grupo Banco Mundial 2016. Consultado el 15 Nov. 2016. Disponible en <http://datos.bancomundial.org/indicador/AG.CON.FERT.ZS?view=chart>
- Brenes Bonilla, L. 2003. Dirección estratégica para organizaciones inteligentes. Universidad Estatal a Distancia, EUNED. San José, Costa Rica. 170 p.
- Bruulsema, T. 2003. Productividad de los sistemas orgánicos y convencionales de producción de cultivos. Informaciones Agronómicas. Ecuador. 51:8-10.
- Castillo, JA; Guerrero, O. 2008. Efecto de controladores biológicos sobre la hernia de las crucíferas en Tabio, Cundinamarca. Revista Inventum 5:30-40.
- Carrillo, L. 2010. Microbiología Agrícola. Universidad Nacional de Salta. Facultad de Ciencias Agrarias. 16 p.
- CEDECO (Corporación Educativa para el Desarrollo Costarricense). 2005. Preparación y uso de abonos orgánicos sólido y líquido. Serie Agricultura Orgánica N°8. Consultado 22 jun. 2017. Disponible en http://cedeco.or.cr/files/Abonos_organicos.pdf
- Corea Solórzano, GA; Arróliga, M; Martín, E. 2007. Evaluación de dos variedades de brócoli (Pirata y Green F. Sprouting Calabrese) y tres dosis de fertilización (18-46-0) en la comarca Mombachito, Camoapa (Boaco). Universidad Nacional Agraria, UNA. 49 p.
- CIA (Centro de investigaciones Agronómicas). 2017. Mapa digital de suelos de Costa Rica (en línea). Universidad de Costa Rica. Consultado 21 Sep. 2017. Disponible en http://www.cia.ucr.ac.cr/?page_id=139
- Di Rienzo, JA; Macchiavelli, R; Casanoves, F. 2017. Modelos lineales generalizados mixtos aplicaciones en InfoStat. Primera edición especial ed. 249 p.

- Fernández-Luqueño, F; Reyes-Varela, V; Martínez-Suárez, C; Salomón-Hernández, G; Yáñez-Meneses, J; Ceballos-Ramírez, J; Dendooven, L. 2010. Effect of different nitrogen sources on plant characteristics and yield of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Bioresource technology* 1011:396-403.
- García, JE. 2002. Situación actual y perspectivas de la agricultura orgánica y su relación con América Latina. *Manejo integrado de plagas y Agroecología (Agricultura Orgánica)* 64:116-124.
- Guamangallo, C; Patricio, S. 2014. Aplicación de diferentes dosis de biol enriquecido con roca fosfórica en el cultivo de brócoli (*Brassica oleracea* L. var. Itálica Híbrido Legacy) utilizado como coadyuvante gel de sábila (*Aloe vera*). Msc en Agroecología y Ambiente. Universidad de Ambato. Ecuador. 122 p.
- Hernández-Rodríguez, OA; Ojeda-Barrios, DL; López-Díaz, J; Arras-Vota, A. 2010. Abonos orgánicos y su efecto en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo. *Tecnocienc. Chihuahua, México* 4:1-6.
- Huamaní, LY. 2014. Importancia de los abonos orgánicos en la agricultura. Universidad Peruana Unión. *Revista de Investigación Universitaria.* 3: 10-31.
- Hu-Cheng; Qi-Yingchun. 2013. Long-term effective microorganisms application promote growth and increase yields and nutrition of wheat in China. *European journal of agronomy.* 46: 63-67.
- INTA (Instituto Nacional de innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria). 2015. Suelos de Costa Rica Orden Andisol. *Boletín Técnico Número 8.* San José CR. 4 p.
- Maheshbabu, H; Hunje, R; Patil, NB; Babalad, H. 2008. Effect of organic manures on plant growth, seed yield and quality of soybean. *Karnataka Journal of Agricultural Sciences* 212:219-221.
- Martínez, E; Aguilar, J; Osornio, A; Aguilar, R; Bucio, M; Bosque, G. 2013. Manual Teórico-Práctico Los Biofertilizantes y su uso en la Agricultura, SAGARPA, COFURPRO, UNAM
- Mazariegos Ramírez, S; Colindres Véliz, C. 2002. Producción de chile picante (*Capsicum frutescens* L.) con y sin presencia de arvenses bajo cinco concentraciones de abono líquido orgánico. Guácimo, CR. Tesis Lic. Guacimo, CR, Universidad EARTH. 44 p.
- Medranda, VEF; García, GAC; Chávez, JEC; Villacorta, HS; Vidal, LRL. 2016. Efecto del biol bovino y avícola en la producción de pimiento dulce (*Capsicum annum* L.). *Revista espamciencia* 71: 33-41.
- Nieto Garibay, A; Murillo Amador, B; Troyo Diéguez, E; Larrinaga Mayoral, JA; García Hernández, JL. 2002. El uso de compostas como alternativa ecológica para la producción sostenible del chile (*Capsicum annum* L.) en zonas áridas. *Interciencia* 278 p.

- Ochoa, M; Bustamante, C; Rivero, R. 2000. Utilización de fuentes de abonos orgánicos en combinaciones con fertilizantes minerales (NPK) para la producción de posturas de *Coffea arábica* L. Convención internacional de Educación Superior. Editorial "Félix Varela". Universidad Agraria de la Habana, Cuba. 100 p.
- Ortiz, E; Soto, C. 2008. Atlas Digital de Costa Rica. CD-ROM). Cartago, CR: Laboratorio de Sistemas de Información Geográfica, Escuela de Ingeniería Forestal. ITCR.
- Proaño, A; Ana, V. 2015. Evaluación del uso de biofermento de harinas con aplicación foliar y al suelo en tres tipos de lechuga. Ingeniera Agrónoma. Honduras Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. 24 p.
- Quintuña, L; Lucía, M; Yunga, L. 2016. Discriminación del efecto nutricional de biofertilizantes líquidos enriquecidos con componentes minerales en aplicación foliar en el cultivo de pimiento *Capsicum annuum* L. Pregrado. Ecuador Universidad de Cuenca. 69 p.
- Ramos, F; Lesly, M. 2016. Caracterización físico-química del biofertilizante Microorganismos de Montaña (MM) para la Finca Agroecológica Santa Inés, Zamorano, Honduras. Ingeniera en Ambiente y Desarrollo. Honduras Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. 27 p.
- Salaya, D. 2010. Elaboración artesanal de dos abonos líquidos fermentados y su efectividad en la producción de plántulas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq). Msc. H. Cárdenas, Tabasco, Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco. 101 p.
- Soto, G; Muñoz, C. 2002. Consideraciones teóricas y prácticas sobre el compost, y su empleo en la agricultura orgánica. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología 65: 123 - 129.
- Tamayo, P; Jaramillon, J. 1992. Situación patológica de las hortalizas cultivadas en el oriente Antioqueño. Revista ICA informa 26:29-38.
- Trinidad Santos, A. 2015. Abonos orgánicos. SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, desarrollo Rural Pesca y Alimentación) Subsecretaría de Desarrollo Rural, Dirección General de Apoyos para el Desarrollo Rural. México.
- Ubidia Valencia, MM. 2014. Evaluación de la eficiencia de fertilizantes de liberación controlada (CRF) en el cultivo de Brócoli (*Brassica oleracea* var. Itálica): Datos tomados. Tesis Lic. Ambato, Ecuador, Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias Agropecuarias. 82 p.
- Uribe, K; Córdoba, O; Sánchez, J; Castellanos, D. 2004. Efecto de dos tipos de compost y un biofertilizante sobre algunas poblaciones microbianas edáficas y su posible relación con el desarrollo de un cultivo de zanahoria y cebolla en el municipio de Pueblo Rico (Risaralda, Colombia). 9: 71-72.

- Vásquez-Camacho, JG. 2015. Evaluación agronómica de cinco variedades de lechuga (*Lactuca sativa* L.) en tres ciclos de siembra consecutivos en San Miguel de la Tigra, San Carlos, Alajuela, CR. Licenciatura en Ingeniería en Agronomía. Costa Rica, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Sede regional san Carlos. 72 p.
- Zambrano Real, A. 2009. Evaluación de tres dosis de biol como complemento a la fertilización nitrogenada en el cultivo de brócoli (*Brassica oleracea* italica L) híbrido Legacy en Pichincha. Ecuador, Quito: USFQ, 2009. 97 p.

CAPÍTULO III

6. Artículo 2. Caracterización química y microbiológica de bioles

6.1. Resumen

La transición hacia una agricultura sostenible requiere de la aplicación de prácticas agroecológicas incluyendo abonos orgánicos que juegan un rol central para mejorar la fertilidad del suelo, al mismo tiempo que permiten reducir el uso de fertilizantes nitrogenados causantes de emisiones de dióxido de carbono (CO₂) y óxido nitroso (N₂O). Los abonos orgánicos más utilizados incluyen estiércoles, abonos verdes, vermicompost, composta, abonos sólidos fermentados y bioles.

El presente estudio caracterizó los atributos químicos y microbiológicos de 4 bioles y se realizaron pruebas antagónicas de un microorganismo aislado del biol contra los principales patógenos del brócoli. El B1 tenía los valores más altos en macro- y micro-nutrientes, y el B2 y B3 con valores muy similares. En contraste, el B4 tuvo los valores más bajos. En los medios de cultivo se observó una mayor presencia de morfotipos en las muestras MM3 y B1. El mayor número de UFC se encontró para MM3 y el biol B4.

Las pruebas de antagonismo de *Trametes hirsuta* solamente mostraron un efecto leve de inhibición de *Xanthomonas campestris*, pero no de otros organismos. El índice de Shannon, basado en el análisis genético de los materiales usados, fue relativamente bajo y muy similar para los inoculantes (MM) y los bioles. La baja diversidad de los microorganismos vivos en el biol puede ser el resultado de la cantidad de sales minerales y el proceso de fermentación, el cual conlleva a la predominancia de unos grupos de microorganismos, eliminando a una gran parte de la diversidad original. Para la investigación futura se recomienda analizar la producción de metabolitos secundarios de cada grupo de microorganismos que sobreviven la fermentación y de evaluar su efectividad para (a) controlar patógenos y (b) fortalecer los cultivos por los aportes de sustancias estimulantes y nutritivos.

Palabras claves: Agricultura sostenible, abonos orgánicos, bioles, microorganismo de montaña (MM), UFC, ADN, pruebas antagónicas, *Trametes hirsuta*, *Xanthomonas campestris*

6.2. Abstract

The transition to sustainable agriculture requires the application of ecologically friendly practices including organic fertilizers that play a central role in improving soil fertility, and at the same time allowing a reduction in the use of nitrogen fertilizers which cause the emission of carbon dioxide (CO₂) and nitrogen oxide (N₂O). The organic fertilizers most used include manure, green manure, vermicompost, compost, fermented solid fertilizers, and bioferments.

The present study characterized the chemical and microbiological attributes of four bioferments and the antagonistic activity of one microorganism that was isolated from one bioferment and used against the main pathogens of broccoli. The bioferment B1 had the highest values in macro- and micro-nutrients, and B2 and B3 had very similar values. In contrast, B4 had the lowest values. In the culture media, a greater presence of morphotypes was observed in samples MM3 and B1. The largest number of colony-forming units (CFU) was found for MM3 and bio B4.

In the lab tests of antagonism, *Trametes hirsuta* showed only a slight inhibitory effect against *Xanthomonas campestris*, but not against other pathogens. The Shannon Diversity Index, based on the genetic analysis of the materials used, was relatively low and very similar for the inoculants of "Forest Microorganisms" ("MM") and the bioferments. The low diversity of microorganisms that were alive in the bioferments were probably due to the minerals added and the fermentation itself, which leads to a predominance of a few groups of microorganisms that may displace a great portion of the original diversity. For future research, it is recommended to analyze the production of secondary metabolites of each group of microorganisms that survives the fermentation process and to evaluate their effectiveness in (a) the control of pathogens and (b) for strengthening crop growth through the provision of stimulating and nourishing compounds.

Key words: sustainable agriculture, organic fertilizers, bioferment fertilizers, forest microorganism (MM), CFU, DNA, antagonistic tests, *Trametes hirsuta*, *Xanthomonas campestris*

6.3. Introducción

El desarrollo de la agricultura sostenible ha llevado al productor y las instituciones agrícolas a innovar en insumos agroecológicos más sanos e inocuos para la salud humana y el cuidado del medio ambiente (Suchini 2012). Preferentemente en buscar buenas prácticas como la elaboración de abonos orgánicos, que juegan un rol central en el mejoramiento de suelos degradados. Ocasionados principalmente por las malas prácticas indiscriminadas de la agricultura convencional donde se aplica grandes cantidades de fertilizantes sintéticos y plaguicidas para el control de plagas, que afectan la biodiversidad en general (suelo, agua y aire) (Lamas 2004; Pedraza *et al.* 2011; IICA 2016).

Los abonos orgánicos juegan un papel muy importante para la agricultura orgánica, mejorando la fertilidad del cultivo y manteniendo la disposición de nutrientes en el suelo (Ramos 2016). No generan ningún tipo de daño al ambiente, su mayor influencia es en mejorar las características físicas, biológicas del suelo (retención de agua, porosidad, aireación, conductividad, mejorar la vida microbiana) y el rendimiento en los cultivos (Zagoya 2013). Entre los abonos orgánicos que se pueden utilizar en las fincas están: estiércol, abonos verdes, vermicomposta, composta, abonos sólidos fermentados, sedimentos orgánicos y bioles. Cada abono varía en sus características físicas y composición química principalmente en el contenido de nutrientes (CEDECO 2005; Trinidad 2015).

En especial, los biofermentos conocidos como bioles y lactofermentos (Pacheco 2003) pueden ser excelentes sustitutos de los fertilizantes sintéticos, causantes de emisiones de dióxido de carbono (CO₂) y óxido nitroso (N₂O) al ambiente (Ramos 2016). Según Peña *et al.* 2015 los bioles están constituidos por materias orgánicas y sustancias líquidas que se fermentan con pasto fermentado (MM), fuentes lácticas (leche o suero), sales minerales (N, P, K, Ca, Mg, K, Cu, Zn, Mn, Fe) o harina de roca (como sustituto de sales minerales) por al menos 45 días dependiendo de la región. Suchini (2012) señala que los bioles favorecen la reproducción de microorganismos benéficos especialmente del género *Lactobacillus*, levaduras y bacterias anaeróbicas, en su mayoría tiene un efecto antagónico contra las enfermedades del cultivo.

Los bioles son una opción muy importante y viable para aquellos agricultores que tienen una gran dependencia de insumos agrícolas sintéticos y que quieren orientarse hacia la exigencia de la sociedad de hoy, en la producción de alimentos sanos y al mismo tiempo manteniendo y mejorando los recursos naturales en su entorno. La agricultura del futuro tiene como premisa la sustitución o disminución del uso de agroquímicos y la aplicación de organismos benéficos en las prácticas agrícolas en el control de plagas y enfermedades. Estos organismos pueden ser insectos benéficos, micorrizas, biofertilizantes, microorganismos eficientes y microorganismos de montaña (Carrión 2012).

Se necesitan seguir haciendo estudios *in vitro* y *in vivo* de las potencialidades de uso de organismos benéficos, sobre todo en el caso de los MM. Los productores utilizan los MM, pero no cuentan con herramientas para elucidar sus características y su modo de acción,

que garantiza la protección de sus cultivos. El presente estudio tiene como objetivo determinar la riqueza microbiológica e identificar la composición química de los bioles y caracterizar in vitro el efecto antagónico de los bioles contra *Alternaria* spp y *Xanthomonas campestris* pv. que afectan al brócoli.

6.4. Materiales y métodos

6.4.1. Área de estudio

La investigación está conformada en dos partes: elaboración de los bioles y el trabajo en el laboratorio con muestras. La elaboración de los 4 bioles se realizó en las instalaciones del Instituto Nacional de Aprendizaje de Agricultura Orgánica (INA), Localizado en la Chinchilla, San Rafael de Oreamuno, Cartago. A una altitud de 1600 metros sobre el nivel de mar, su posición geográfica se encuentra en las coordenadas CRTMOSX-511238 y Y-1092728, con una temperatura mínima promedio de 16° C y la máxima promedio de 25°C y una precipitación promedio de 1500 mm, según datos obtenidos del Atlas digital de Costa Rica, ver Figura 17 (Ortiz y Soto 2008). La segunda parte se realizó en el laboratorio Fitoprotección, en el área de control biológico del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), localizada en Turrialba, Cartago.

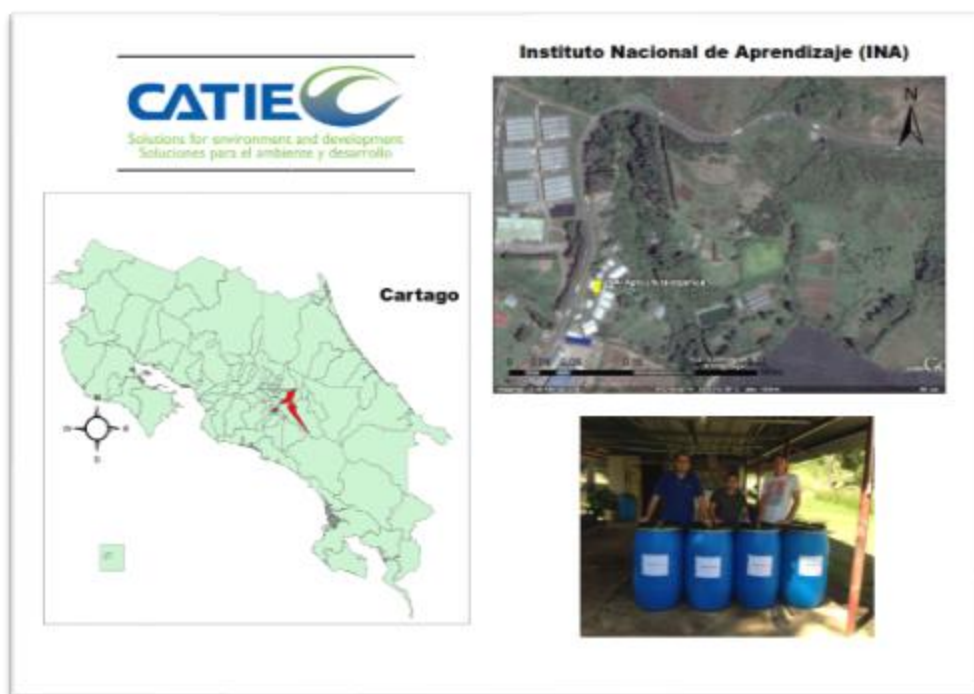


Figura 17. Ubicación geográfica del INA, donde se realizaron los bioles utilizados

6.4.2. Selección de muestra

Para el experimento se seleccionaron cuatro tipos de bioles: el B1 (abono sólido + sales minerales) fue proporcionada por un productor de la región San Rafael de Oreamuno, el B2 (estiércol + sales) y B3 (hojas de *Erythrina poeppigiana*+ sales) fueron recomendadas por el INA y el B4 (básico), fue considerado como una receta base para la elaboración de cada biol mencionado, ver Cuadro 14. A cada biol se le asignó al azar un tipo de microorganismo de montaña (MM-proveniente del INA) como inoculante, resultando de la siguiente manera; al B1 el MM (1), al B3 el MM (2), para el B2 y B4 se asignó el MM (3).

Cuadro 14. Ingredientes de los cuatro tipos bioles

Productor orgánico		INA		Receta base	
B1	B2	B3	B4		
-Suero 60 l	-Suero 60 l	-Suero 60 l	-Suero 60 l		
-Melaza 10 kg	-Melaza 10 kg	-Melaza 10 kg	-Melaza 10 kg		
-Ceniza 1kg	-Ceniza 1kg	-Ceniza 1 kg	-Ceniza 1 kg		
-Roca fosfórica 2 kg	-Roca fosfórica 2 kg	-Roca fosfórica 2 kg	-Roca fosfórica 2 kg		
-MM (1) 6 l	-MM (3) 6 l	-MM (2) 6 l	-MM (3) 6 l		
-Vermicomposta 10 kg	-Boñiga 50 kg	-Poró 10 kg			
-Sulfato de manganeso 500 g	-Magnesio 1 kg	-Manganeso 500 g			
-Sulfato de magnesio 500 g		-Sulfato de potasio 500 g			
-Sulfato de potasio 500 g		-Sulfato de zinc 500 g			
-Zinc 500 g		-Sulfato de magnesio 500 g			
-Cáscara de huevo 100 g					

6.4.3. Caracterización química

Se analizó el contenido de macro y micro nutrientes de los cuatro tipos de bioles (B1, B2, B3 y B4). Los análisis se realizaron en el laboratorio de suelo, tejido y aguas del CATIE. Los métodos utilizados para el análisis de contenido químico fueron por digestión nítrico-perclórica del material y por absorción atómica para conocer el contenido de K, Ca, Mg, K,

Cu, Zn, Mn, Fe. El contenido de Fósforo (P) se realizó por colorimetría del extracto de digestión y para la relación de Carbono (C) -Nitrógeno (N) por combustión total. Posteriormente, se procedió a medir el pH en cada uno de los productos concentrados de manera directa.

6.4.4. Determinación de riqueza microbiológica

Caracterización y cuantificación de morfotipos en medios de cultivo

En el laboratorio de Fitoprotección del CATIE, se realizó la dilución seriada de cada muestra de MM y de los bioles. Para cada muestra original se tomó 1 ml y se añadió a un tubo con 9 ml de agua destilada estéril (ADE), representando la primera dilución (10^{-1}) este proceso se repitió hasta obtener las siguientes diluciones; 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} de cada muestra. Mediante un alícuota de 100 μ litros se inocularon los diferentes medios sólidos (Agar Papa Dextrosa, Agar Actinomicetos y Agar Nutritivo), cada medio tuvo tres repeticiones. Los medios inoculados se incubaron a 25 °C en una cámara bioclimática con 12 horas luz. Para el conteo e identificación (forma, elevación y bordes) de colonias morfotipos (Montelongo 2012), inició después de 48 horas de inocular los medios sólidos, posteriormente con el factor de dilución (10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6}) y el volumen de inoculación se cuantificaron las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de cada muestra (Sivila y Álvarez 2013).

Análisis con marcadores moleculares

Se enviaron al Laboratorio de Biología Molecular del Corporativo Bananera Nacional de Costa Rica (CORBANA) los tres tipos de microorganismos de montaña (MM) líquidos utilizados como inoculantes y los 4 bioles, para conocer y estimar mediante el índice de "Shannon" la diversidad de bacterias y hongos en cada muestra. La técnica utilizada por el laboratorio fue PCP convencional/DGGE y los instrumentos o equipos utilizados fueron Applied Biosystems®, Veriti®, Thermal Cycler/ C.B.S. Scientific DGGE electrophoresis system.

6.4.5. Pruebas de antagonismo

Después de identificar los microorganismos en los bioles, se seleccionó un microorganismo para determinar mediante pruebas antagónicas su grado de antagonismo contra los principales patógenos del brócoli (*Alternaria spp* y *Xanthomonas campestris pv.*). Las pruebas se realizaron en el laboratorio del CATIE, con una duración de 4 a 10 días.

Prueba de cultivo dual

En esta prueba se observó la capacidad de inhibición del microorganismo seleccionado vs. *Alternaria spp* y *Xanthomonas campestris pv.* del brócoli. La prueba permitió ver cuál es el porcentaje de inhibición por espacio/nutrientes.

Como primer paso se aislaron los organismos fitopatógenos (*Alternaria spp* y *Xanthomonas campestris pv.*) y se seleccionó un microorganismo antagónico con mayor crecimiento en el medio de cultivo. En ambos casos se extrajo una sección de cada colonia pura

aproximadamente 7 mm² y se colocó a 3 cm en los extremos opuestos de la caja de petri, utilizando el medio solido de APG al 2 %. Con un periodo de incubación de 24 a 72 h a 25°C, posteriormente se evaluó el efecto antagónico mediante el porcentaje de inhibición del crecimiento radial del patógeno (%I) aplicando la ecuación de Royse and Ries. (Ver Figura 18) (Nancy y Álvarez 2013)

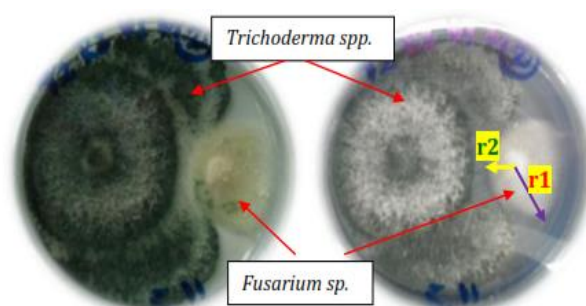
Ecuación de Royse y Ries (1978)

$$\%I = 100 \times [(r1 - r2) / r1]$$

%I = Porcentaje de inhibición del crecimiento radial del patógeno

r1 = Crecimiento radial del patógeno

r2 = Crecimiento radial del patógeno en orientación directa al antagonista (cultivo dual)



Fuente: Nancy y Álvarez 2013

Figura 18. Evaluación del cultivo dual: Izq. cultivo visto desde arriba, Der. envés de la caja de cultivo, Característica de medición de r1 y r2

Prueba del papel celofán

Esta prueba se realizó para determinar si la cepa del microorganismo antagónico produjo sustancias tóxicas (metabolitos secundarios) y pueda reducir el crecimiento de *Alternaria spp* y *X. campestris pv.*

Esta prueba consistió en colocar un disco de papel celofán estéril sobre el medio de cultivo (APG 2%) de la caja petri (ver Figura 19). En el centro de la caja se coloca una sección de 7 mm² del microorganismo antagónico y se incuba en una cámara bioclimática a 25°C durante 48 hrs (ver Figura 20). Se retira el papel celofán con la colonia adherida a él y posteriormente se siembra en el centro de la placa una sección de 7 mm² del *Alternaria spp* o *X. campestris pv.*, paralelamente se siembra otra sección de los fitopatógenos en otra caja de Petri como testigo, para evaluar su crecimiento en ausencia de las toxinas producidas por los antagonistas. Por último, se vuelve a incubar durante 7 días y se mide el crecimiento radial de las colonias para tener el porcentaje de inhibición, utilizando la ecuación de Royse and Ries, donde r1 representa el crecimiento del patógeno con la influencia del antagonista y el r2 el crecimiento radial del patógeno (testigo), para determinar si el crecimiento de la colonia

de patógeno ha sido afectado por la producción de metabolitos que se difunden desde la colonia del antagonista (Nancy y Álvarez 2013).



Figura 19. Proceso de cobcar en disco el papel celofán estéril

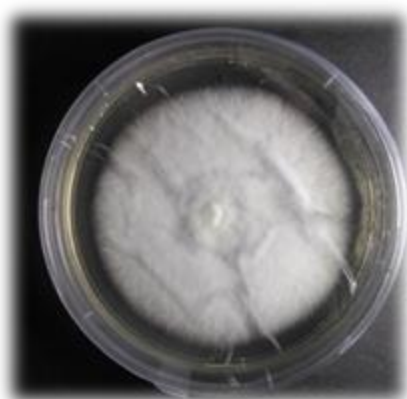


Figura 20. Crecimiento radial del microorganismo sobre el papel celofán incubado en una cámara bioclimática a 25°C durante 48 hrs

6.5. Análisis de datos

Los datos de análisis químicos y de la riqueza microbiológica de los cuatro bioles se analizaron con estadísticas descriptivas. El porcentaje de inhibición de cada tratamiento en las pruebas antagónicas fueron analizadas mediante ANOVA, utilizando el programa infoStat (Di Rienzo et al. 2017).

Modelo: $Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$

Y_{ij} = Inhibición

μ = Media general

T_i = El efecto del i-ésimo tratamientos (1, 2, 3, 4)

ϵ_{ij} = Es el término de error aleatorio, independiente, y supuestamente distribuido normal con media cero y varianza constante

6.6.Resultados y discusión

Análisis químico

En el contenido nutricional de los 4 bioles se puede observar que el B1 (abono sólido + sales minerales) tiene los valores más altos en macro-micro nutrientes, y el B2 (estiércol + sales) y B3 (hojas de *Erythrina poeppigiana* + sales) recomendada por el Instituto Nacional de Aprendizaje de Agricultura Orgánica (INA), con valores muy similares el B1. En contraste, el B4 (básico) tuvo los valores más bajos en contenido nutricional (ver Cuadro 15).

Cuadro 15. Contenido de nutrientes minerales en los cuatro bioles elaborado en el INA

Identificación	N	P	K	Ca	Mg	Cu	Zn	Mn	Fe
	%					Mg/kg			
B1	0.08	0.03	0.41	0.13	0.05	0.55	819	763	333
B2	0.10	0.04	0.21	0.14	0.03	2.29	12.8	1653	101
B3	0.10	0.03	0.34	0.11	0.05	0.84	920	855	139
B4	0.10	0.03	0.20	0.19	0.02	0.71	1.70	9.60	98

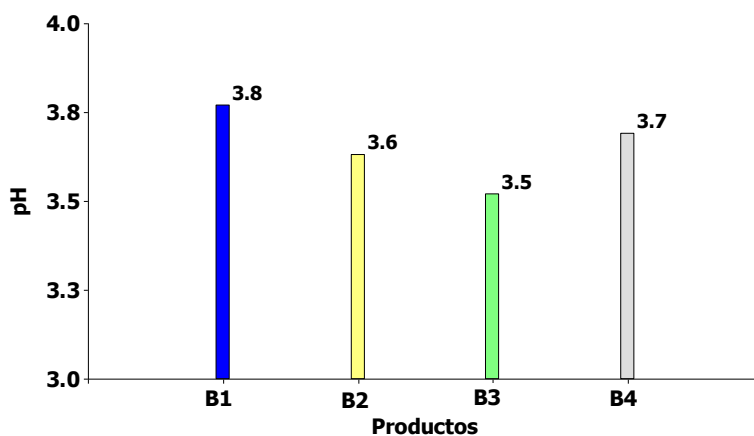
B1 (abono sólido + sales minerales)-**B2** (estiércol + sales)-**B3** (hojas de *Erythrina poeppigiana* + sales)- **B4** (básico)-Nitrógeno (N), Fósforo (P), Potasio (K), Calcio (Ca), Magnesio (Mg), Cobre (Cu), Zinc (Zn), Manganeseo (Mn) y Hierro (Fe)

Según Solano *et al.* (2009), al inicio de la fermentación el Nitrógeno (N) se encuentra en cantidades mayores y después de la fermentación disminuye por que los microorganismos consumen el Nitrógeno (N) para su reproducción y sintetizar proteínas, por lo tanto, los niveles de Nitrógeno (N) y Fósforo (P) en los bioles son muy similares a excepción del Potasio (K) donde tuvo diferentes porcentajes en cada biol, como se observa en B1, superando por doble al B2 y B3. La variación probable de N, P y K en cada biol, se podría atribuir a los diferentes ingredientes de cada biol (Gomero 2005 y Robalino 2011), pero Pacheco (2003) y León (2015) mencionan que la actividad microbiana genera esta gran variabilidad y por ende la composición química de los bioles suele ser diferentes.

Para el caso del B4 básico aporta buen contenido de macronutrientes y menor contenido de micronutrientes, por lo general, fue baja en comparación con los demás bioles. El mismo resultado encontró Ramos (2016), donde su biol básico, similar a este experimento, tuvo menor contenido nutricional en comparación con los demás bioles, que contaban con sales minerales como ingredientes. Solo la ceniza como ingrediente, aporta elementos como P, Ca y Mg Salaya (2010), por tal motivo se puede explicar la similitud del contenido de Potasio y la presencia de Calcio en los cuatro bioles.

pH

En la Figura 21 se observa el nivel de pH de los bioles en un rango óptimo entre 3 a 4. El B3 obtuvo el pH más ácido, resultado similar han sido obtenidos por Proaño (2015) al utilizar 50 l de suero por biol. En contraste con Pacheco (2003), los niveles de pH de su bioles fueron por encima de 4. El B2 elaborado con estiércol + sales minerales, no presenta coliformes, por tener un pH ácido de 3.63, y a este nivel no hay condiciones para que coliformes crezcan. Así lo indica Meléndez et al. (2003) y INA (2017), para que crezca microorganismo como *Escherichia coli* y *Erwinia carotovora* necesitan un pH neutro arriba de 4, y cuando están en condiciones ácidas son desplazados fácilmente por los *Lactobacillus*, por lo tanto, es recomendable el B2 elaborado con estiércol + sales minerales para hortalizas en general.



B1 (abono sólido + sales minerales)-**B2** (estiércol + sales)-**B3** (hojas de *Erythrina poeppigiana* + sales)- **B4** (básico)

Figura 21. Porcentaje de pH de los bioles

Riqueza microbiológica de Microorganismo de montaña (MM) y bioles

En los medios sólidos utilizados para las muestras de MM se observó mayor presencia de morfotipos en el MM (3) con 8, predominando microorganismo de forma puntiforme, con elevación chata y borde entero. En el MM (1), se observaron un total de 6 morfotipos, predominando microorganismos de forma puntiforme con elevación chata y un borde filamentosos. Con menor presencia, el MM (2) con 4 morfotipos, predominando microorganismo de forma puntiforme, elevación chata y de borde filamentosos. No hubo crecimientos de morfotipos en el agar actinomiceto en MM (1) y MM (2). Con el factor de dilución se cuantificaron las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) para cada muestra, el MM (1) obtuvo mayor UFC, seguido por el MM (2) y con menor UFC el MM (1) (ver Cuadro 16).

Cuadro 16. Caracterización de morfología de colonia y UFC de MM

Medios	MM (1)	MM (2)	MM (3)	MM (1)	MM (2)	MM (3)
	Morfotipos			UFC/ml		
PDA	3	3	3	4.48E+06	1.12E+08	4.66E+07
AN	3	1	3	3.77E+06	1.50E+07	8.48E+07
AC	0	0	2	0.00E+00	0.00E+00	6.85E+07
Total	6	4	8			

PDA : A gar Papa Dextrosa, **AN**: A gar Nutritivo, **AC**: A gar Actinomicetos

Resultado similar fue reportado por Samaniego (2006) en MM líquidos, encontrando unidades formadoras de colonias de 5.30 Log UFC/ml. Por lo tanto, la diversidad de cada MM utilizado varía según el lugar o ambiente donde se recolecta. Según Rodríguez y Tafur (2014) e Higa (2013), se han encontrado hasta 80 especies de microorganismo de unos 10 géneros, que pertenece básicamente a grupos como: bacterias, levaduras y actinomicetos, necesarios para generar compuestos como vitaminas, ácidos y minerales durante el proceso de fermentación; estos compuestos son indispensables para que la planta tenga un equilibrio nutricional adecuado. (Restrepo 2001)

En los medios sólidos utilizados para las muestras de cada bio, se observó mayor presencia de colonias (morfotipos) en el B1 con 10 morfotipos, predominando microorganismos de forma puntiforme, elevación chata y borde lobato. Seguido por el B2 y B3 con un total de 7 morfotipos cada uno, predominando microorganismos de forma filamentosa, elevación chata y un borde ondulado respectivamente. Por último, con menor colonia, el B4 con 4 morfotipos, predominando microorganismos de forma filamentosa, elevación chata y de borde entero. Con el factor dilución, se cuantificaron las Unidades Formadoras de Colonias (UFC). El B4 obtuvo mayor UFC, seguido por el B3 y posterior, con menor presencia él B1 y el B2 (ver Cuadro 17).

Cuadro 17. Caracterización de morfología de colonia y UFC en los bioles

Medios	B1	B2	B3	B4	B1	B2	B3	B4
	Morfotipos				UFC/ml			
PDA	4	3	3	2	1.31E+09	9.59E+08	1.02E+09	1.36E+09
AN	6	4	4	2	1.58E+08	1.92E+08	9.19E+08	1.36E+09
AC	0	0	0	0	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
Total	10	7	7	4				

B1 (abono sólido + sales minerales)-**B2** (estiércol + sales)-**B3** (hojas de *Erythrina poeppigiana* + sales)- **B4** (básico)- **PDA** : A gar Papa Dextrosa, **AN**: A gar Nutritivo, **AC**: A gar Actinomicetos

Los resultados muestran que en los bioles se encuentran microorganismos después de la fermentación. La presencia de morfotipos y UFC de un biol a otro, dependerá de la calidad de los inoculantes (MM) y de los ingredientes, especialmente cuando se usa sales minerales. Estos resultados no superan a lo encontrado por Fabián (2003) y Samaniego (2006) en UFC/ml por biofermento. En UFC/ml fueron muy bajo comparándolo con el INA (2017) en cuatro tipos de bioles y con ingredientes similares a la investigación, obteniendo los siguientes resultados: Biop1- 8.95E+08, Biopik-5.45E+08, Biop2-5.72E+08 y Biop2k-4.71E+08.

Análisis con marcadores moleculares

(MM)

Se encontró alta diversidad para la muestra MM (1) que proviene del INA con 3.21 H' de bacterias y 3.02 H' de hongos, seguido por el MM (3), también del INA con una diversidad de 2.99 H' de bacterias y 3.12 H' de hongos y por último, con menos diversidad se encuentra el MM (2) que provienen de una finca orgánica con 2.85 H' de bacterias y 3.02 H' de hongos (ver cuadro 19). En comparación con Samaniego (2006), obtuvo alta diversidad en bacterias especialmente; bacterias anaeróbicas, bacterias aeróbicas y actinomicetos. Y baja diversidad de hongos, distinto a lo encontrado en el análisis de diversidad de las tres muestras de MM del experimento. Esta variación puede estar relacionada con lo que menciona Chiari (2015) citando a Paniagua (2009), los MM contiene un promedio de hasta 80 especies de microorganismos de unos 10 géneros y que la mayoría pertenece a levaduras, bacterias, actinomicetos y lactobacillus, se activan manera líquida mezclando con la melaza que es una fuente de energía para que los microorganismos crezcan (Urtecho 2005).

Bioles

En las muestras de los bioles se encontró una similitud de diversidad de bacterias y hongos, por muestra, se encontró un alta diversidad para el B1, con un índice de 3.05 H de bacterias y 3.08 H' de hongos, seguido por el B3, con un índice de 3.06 H' de bacterias y 2.92 H' de hongos, en tercer lugar se encuentra el B4, con un índice de 2.78 H' de bacterias y 3.28 H' de hongos y por último con un índice de diversidad mediana para el B2 con 2.98 H' de bacterias y 2.92 H' de hongos (ver Cuadro 18). A diferencia de Pacheco (2003), identificó en sus bioles enriquecido con sales minerales (Mn, Ca, Roca Fosfórica) predominancia de *Lactobacillus* sp y una baja diversidad de hongos. Es posible que la variabilidad se deba a los ingredientes y la forma de integrar cada ingrediente. Comparándolo con Pedraza *et al* (2011), no se encontró presencia de hongos en su biofermento, pero encontraron densidades favorables de bacterias heterótrofas, actinomicetos, fijadores de nitrógeno y solubilizadores, con ingredientes similar al experimento.

Cuadro 18. Identificación de las muestras e índice de diversidad de Shannon

Producto	Tipo de Muestra	H'	
		Bacterias	Hongos
MM (1)	Líquida	3.21	3.02
MM (2)	Líquida	2.85	3.02
MM (3)	Líquida	2.99	3.12
B1	Líquida	3,05	3.08
B2	Líquida	2.98	2.92
B3	Líquida	3.06	2.92
B4	Líquida	2.78	3.28

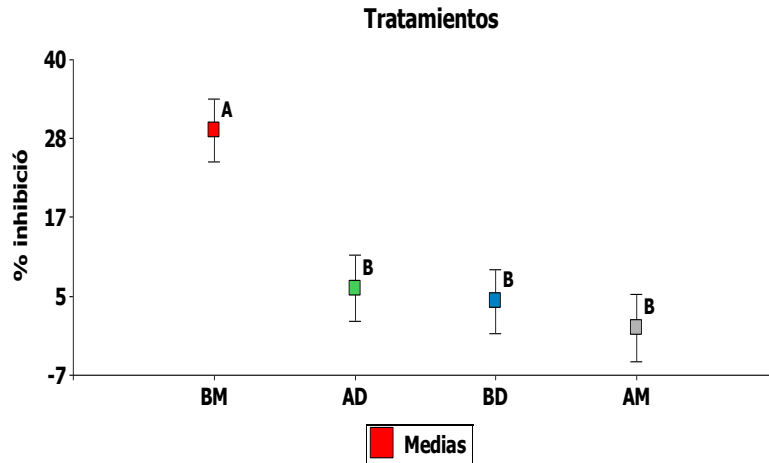
Interpretación de diversidad: **1 a 2 Baja, 2 a 3 Mediana y 3 a 4 Alta**

García (2006) mencionó que la calidad del biol se puede medir en términos de la cantidad de microorganismo presentes. Para este experimento de acuerdo con el análisis de laboratorio, se encontró de mediano a un alto índice de diversidad y con una similitud en cantidad de bacterias y hongos, de los cuales son beneficiosos para el suelo y cultivo. En condiciones adecuadas estos microorganismos pasarán a periodo de colonización, beneficiando al cultivo en liberar nutrientes (Gómez 2000, Ramírez 2005 y Pedraza et al 2011).

Pruebas de Antagonismo

Se seleccionó un microorganismo en el medio PDA proveniente del B4, fue aislado y seleccionado como antagonista para realizar las pruebas (Dual y Papel celofán) y calcular el porcentaje de inhibición que tenga contra los patógenos principales que afectan el brócoli; *Alternaria spp* y *X. campestris pv.* Según Carrión (2012) La mayoría de los fitopatógenos tienen antagonistas biológicos en medio que se pueden emplear como estrategia para el control de biológico e interfieren contra el patógeno, causando pérdida de actividad de uno de ellos (Pérez et al. 2004).

En el laboratorio de CORBANA utilizando la técnica de PCR convencional/Secuenciación y con un 96 % de confiabilidad se identificó el microorganismo aislado como; Basidiomiceto "*Trametes hirsuta*" (*Coriolus hisutus*). Este hongo, se ha caracterizado por la gran capacidad de degradar madera y materia orgánica se encuentra presente en el medio natural y permite el reciclaje de carbono e incluso mineralizar los nutrientes para el suelo (Castillo 2010; Díaz 2009). Durante los últimos años se ha orientado el hongo "*Trametes hirsuta*" a la capacidad para degradar un amplio rango de compuestos xenobióticos como plaguicidas, como el lindano degradando de 10.6 hasta 90% (Quintero 2011; Singh y kuhad 1999), por lo tanto, la Figura 22, se puede visualizar el porcentaje de inhibición de *Trametes hirsuta* las pruebas antagonicas.



Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$) LSD Fisher-**BM** (Prueba celofán) *Xanthomonas* vs *Trametes hirsuta* -**AD** (Prueba Dual) *Alternaria* vs *Trametes hirsuta* -**BD** (Prueba Dual) *B. Xanthomonas* vs *Trametes hirsuta* -**AM** (Prueba celofán) *Alternaria* vs *Trametes hirsuta*

Figura 22. Comparaciones de pruebas antagonicas contra *Alternaria* spp y *Xanthomonas campestris* pv

En la prueba papel celofán (*X. campestris* vs *Trametes hirsuta*) obtuvo un porcentaje de inhibición de 29.50%, pero muy bajo a comparación con el amplio espectro antagónico del género *Trichoderma* (ver Figura 23) (Villamil *et al.* 2014; Carrión 2012). Según Astorga *et al.* (2013), el nivel antagónico del *Trichoderma* spp contra *X. campestris* en pruebas in vitro en laboratorio evidencio una inhibición de 50.92% en la tercera prueba. Zambrano y Gonzales (2016) encontraron que el *Trichoderma* spp impide el desarrollo de bacteria de genero *Xanthomonas*, presentando menor desarrollo bacteriano en área donde creció el hongo, por ende, el potencial de antagonismo revelado por el estudio con *Trametes hirsuta*, posiblemente no revela todo el potencial en los bioles.

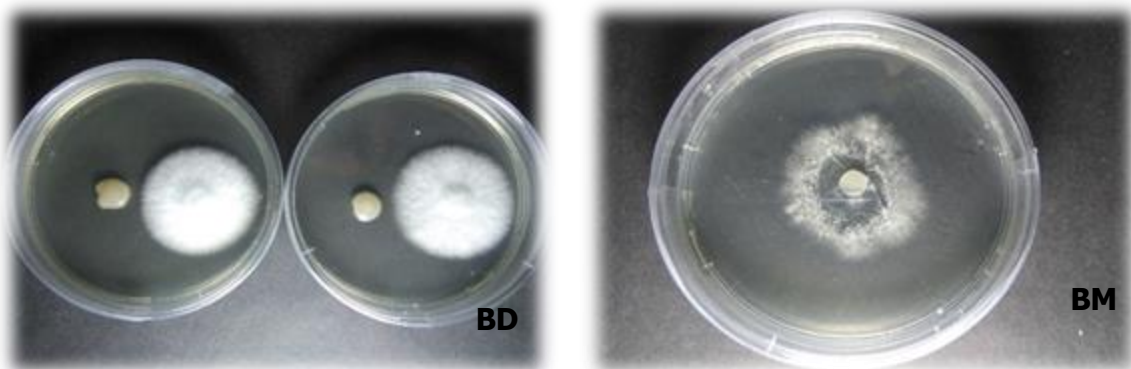


Figura 23. (BM) Prueba dual de *Trametes hirsuta* contra *X. campestris* pv. (BM) Prueba papel celofán de *Trametes hirsuta* contra *X. campestris* pv

La prueba dual *A. solani* contra *Trametes hirsuta* tuvo un 6.09 % de inhibición y prueba de papel celofán *A. solani* vs *Trametes hirsuta* obtuvo un 0.12 % de inhibición, en general las dos pruebas tuvieron porcentaje de inhibición nula (ver Figura 24). Comparando con Aceves et al (2008), donde evaluaron la capacidad antagonista de *Trichoderma spp* vs *A. solani* y *Phytophthora infestans*, utilizando la técnica de papel celofán en 20 pruebas, al menos 10 pruebas inhibieron el crecimiento de ambos hongos en un 65%. Mismo autores, Aceves et al. (2001; 2005) evaluaron de nuevo el efecto antagonista del *Trichoderma spp.* contra el crecimiento del micelio y su potencial reproductivo del *F. oxysporum*, obteniendo un 50 % de inhibición del antagonista.

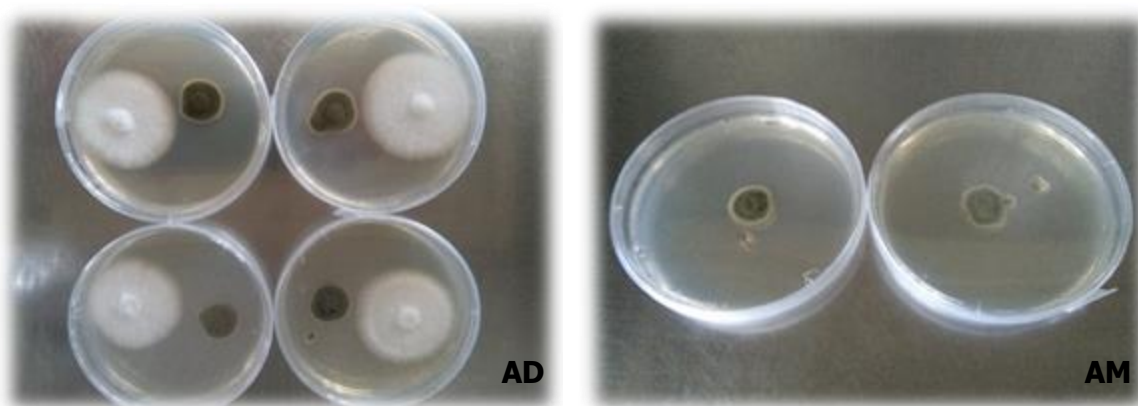


Figura 24. (BM) Prueba dual de *Trametes hirsuta* contra *X. campestris* pv. (BM) Prueba papel celofán de *Trametes hirsuta* contra *X. campestris* pv

Comparándolo con el efecto antagonista *in vitro* de Actinomicetos proveniente en extractos fermentados, *Trametes hirsuta* tuvo un porcentaje de inhibición muy bajo. Fonseca et al. (2011) mencionan el efecto de inhibidor de los actinomicetos presente en extractos fermentados contra el crecimiento de *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary, mediante la técnica de anillos Gauze, evidenció la inhibición del oomycete en 33–77%. Otra investigación evidenció que la levadura antagonista inhibe al *Penicillium expansum* Link un 85%. (Rivera et al. 2012)

6.7. Conclusiones

1. Los cuatro bioles tuvieron valores similares en la concentración de macronutrientes (N, P, K), pero variaron mucho en los micronutrientes (Cu, Zn, Mn, Fe). El B4 tuvo los valores más bajos.
2. El pH de los cuatro bioles se encuentra en un nivel adecuado (entre 3.5 y 3.7), imposibilitando el crecimiento de coliformes que puedan contaminar el biol.
3. El índice de Shannon, basado en el análisis genético, mostró que la diversidad de microorganismos en los inoculantes (MM) y en los bioles fue muy similar y relativamente baja. Una diversidad baja en los bioles puede ser el resultado de efectos de inhibición a causa de los sales minerales agregados y el proceso de fermentación.
4. El efecto de inhibición del *Trametes hirsuta* contra las enfermedades de brócoli fue muy bajo en comparación con otros hongos antagonistas.

6.8. Recomendaciones

1. Es importante estudiar la ecología de los microorganismos responsables para los diferentes morfotipos (p.e. levaduras, actinomicetos, lactobacilos y bacterias) que sobreviven el proceso de fermentación con sales y realizar pruebas antagónicas (dual, papel celofán y por la técnica de anillos Gauze) para evidenciar si hay producción de metabolitos secundarios y si estos son efectivos para el control de patógenos.
2. Las pruebas antagónicas se deberían realizar en condiciones ambientales (temperatura, humedad y horas luz) similares a las condiciones de donde proviene la cepa.
3. Para estudios futuros es importante realizar análisis microbiológicos y bioquímicos detallados para determinar la composición microbiológica y el contenido de sustancias bioactivas en los MM, sobre todo por la gran biodiversidad de microorganismos que se encuentran en diferentes bosques.
4. Por su capacidad de acelerar la mineralización, se recomienda investigar más el rol del hongo de la pudrición blanca (*Trametes hirsuta*) para mejorar la disponibilidad de nutrientes en abonos orgánicos.

6.9. Bibliografía

- Arzate-Vega, J; Michel-Aceves, AC; Domínguez-Márquez, VM; Santos-Emes, OA. 2006. Antagonismo de *Trichoderma* spp. sobre *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, agente causal de la *sigatoca negra* del plátano (*Musa* sp.) in vitro e invernadero. *Rev. Mex. Fitopatología*. 24: 98-104.
- Astorga-Quirós, K; Meneses-Montero, K; Zúñiga-Vega, C; Brenes-Madriz, J; Rivera-Méndez, W. 2014. Evaluación del antagonismo de *Trichoderma* sp. y *Bacillus subtilis* contra tres patógenos del ajo. *Revista Tecnología en Marcha* 272:82-91.
- Carrión, ÁRR. 2012. Uso de microorganismos antagonistas y sustancias naturales como una alternativa ecológica en el control de enfermedades en cultivos. *Centro de Biotecnología* 11:32.
- Castillo, A. 2010. Aislamiento de hongos *lignocelulíticos* a partir de residuos agroindustriales de plátano. Tesis Mag. Sc. Yucatán, México, Centro de investigaciones científicas de Yucatán CICY. 128 p.
- Chiari García, PF. 2015. Evaluación de forrajes enriquecidos con microorganismos de montaña en la producción y calidad de leche caprina. Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). 69 p.
- Di Rienzo, JA; Macchiavelli, R; Casanoves, F. 2017. Modelos lineales generalizados mixtos aplicaciones en InfoStat. 1a edición especial ed. 249 p.
- Díaz Godínez, R. 2012. Efecto del pH inicial de desarrollo de *pleurotus ostreatus* en fermentación sumergida sobre su actividad de lacasas. Maestro en ciencias en biotecnología aplicada. Tlaxcala, México, Instituto Politécnico Nacional Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada CIBA-IPN 108 p.
- EDECO (Corporación Educativa para el Desarrollo Costarricense). 2005. Preparación y uso de abonos orgánicos sólido y líquido. Serie Agricultura Orgánica N°8. Consultado 22 jun. 2017. Disponible en http://cedeco.or.cr/files/Abonos_organicos.pdf.
- Fonseca Ardila, YA; Castellanos Suárez, DE; León Sicard, TE. 2011. Efecto antagónico in vitro de actinomicetos aislados de purines de chipaca (*Bidens pilosa* L.) frente a *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín* 642:6111-6119.
- García, JF. 2006. Principios generales de agricultura orgánica. 1st. Ed. JDC. Fundación Universitaria Juan de Castellanos. Instituto de Investigaciones Científicas (Inicien). 180 p.
- Gomero Osorio, L. 2005. Los biodigestores campesinos, una innovación para el aprovechamiento de los recursos orgánicos. *Leisa revista de agroecología*. Perú. 211:25-27.

- Gómez, J. 2000. Abonos orgánicos. 1st. Ed. Universidad Nacional de Colombia, Cali. 107 p.
- Higa, T. (2013). Reproducción de Microorganismos de Montaña - MM A2-02, 21.
- IICA (Instituto Internacional de Cooperación para la Agricultura). 2016. Perspectivas de la Agricultura y del Desarrollo Rural en las Américas: Una Mirada hacia América Latina y el Caribe 2015-2016. San José, C.R. 214 p.
- INA (Instituto Nacional de Aprendizaje). 2017. Evaluación de la calidad bioquímica resultante de bioles agrícolas para uso de familias productoras orgánicas. Cartago, CR. 35 p.
- León Macías, EM. 2015. El efecto de bioles más microorganismos eficientes (EM) sobre el comportamiento agronómico del maíz (*Zea mays* L.). Ingeniero Agropecuario Ecuador, Quevedo-UTEQ. 80 p.
- Meléndez, G; Soto, G; Uribe, L. 2003. Abonos orgánicos: principios, aplicaciones e impacto en la agricultura. No. 631.87 C977. Universidad de Costa Rica, San José (Costa Rica). Centro de Investigaciones Agronómicas.
- Michel-Aceves, AC; Rebolledo-Domínguez, O; Lezama-Gutiérrez, R. 2001. Especies de *Trichoderma* en suelos cultivados con mango afectados por "Escoba de bruja" y su potencial inhibitorio sobre *F. oxysporum* y *F. subglutinans*. Rev. Mex. Fitopatología. 19 (2): 154-160.
- Michel-Aceves, AC; Otero-Sánchez, MA; Martínez- Rojero, RD; Rebolledo-Domínguez, O; Lezama-Gutiérrez, R. y Ariza-Flores, R. 2005. Actividad microparasítica in vitro de *Trichoderma spp.*, sobre *F. subglutinans* y *F. oxysporum*. Rev. Mex. Fitopatología. 23(3). 253-261.
- Ortiz, E; Soto, C. 2008. Atlas Digital de Costa Rica. CD-ROM). Cartago, CR: Laboratorio de Sistemas de Información Geográfica, Escuela de Ingeniería Forestal. ITCR.
- Pacheco Rodríguez, F. 2003. Evaluación del efecto de un abono líquido orgánico fermentado (biofermento) sobre el crecimiento de Morera (*Morus alba*) en bancos de forraje en la Región Tropical Húmeda de Costa Rica. Tesis de licenciatura. Universidad EARTH 122 p.
- Pedraza Luengas, A; Pérez Trujillo, MM; Cortés Zambrano, IC; Arias Gómez, LC. 2011. Evaluación de un biofermento de preparación local para el abonamiento orgánico del tomillo (*Thymus vulgaris*), Romero (*Rosmarinus officinalis*) Y Orégano (*Origanum vulgare*). Revista Facultad de Ciencias Básicas. 71 p.
- Peña Borrego, MD; De Zayas Pérez, MR; Rodríguez Fernández, RM 2015. Biofertilizantes en Cuba (Aplicación histórica). Revista cultivos tropicales 361:44-54.
- Pérez, A; Céspedes, C; Núñez, P. 2008. Caracterización física-química y biológica de enmiendas orgánicas aplicadas en la producción de cultivos en República Dominicana. Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal 83:10-29.

- Proaño, A; Ana, V. 2015. Evaluación del uso de biofermento de harinas con aplicación foliar y al suelo en tres tipos de lechuga. Ingeniera Agrónoma. Honduras Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. 24 p.
- Ramos, F; Lesly, M. 2016. Caracterización físico-química del biofertilizante Microorganismos de Montaña (MM) para la Finca Agroecológica Santa Inés, Zamorano, Honduras. Ingeniera en Ambiente y Desarrollo. Honduras Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. 27 p.
- Ramírez, H. 2005. Manual de fertilizantes: El campo y sus recursos. 1st. Ed. Ediciones Enlace Cultural. Colombia. 32 p.
- Restrepo Rivera, J. 2001. Elaboración de abonos orgánicos fermentados y biofertilizantes foliares: experiencias con agricultores en Mesoamérica y Brasil. IICA. San José, Costa Rica. 157 p.
- Rivera Avalos, S; Martínez-Peniche, RÁ; Soto-Muñoz, L; Chávaro-Ortiz, MdS. 2012. Modos de acción de cuatro cepas de levaduras antagónicas contra *Penicillium expansum* Link en manzana. Revista Chapingo. Serie horticultura 182:227-238.
- Robalino, HS. 2011. Evaluación de las actividades biológicas y nutricionales del Biol en diferentes formulaciones y la Respuesta a su aplicación en Cultivo de Arroz (*Oriza Sativa*) y Maíz (*Zea mays*), en Guayas. Tesis Mag. Sc. Escuela Superior en Mecánica y Ciencias de la Producción. Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de Producción. Guayaquil, Ecuador. 77 p.
- Rodríguez-Calampa, NY; Tafur-Torres, Zkl. 2014. Producción de Microorganismos de Montaña para el Desarrollo de una Agricultura Orgánica. IV CONACIN. Universidad Peruana unión, Dirección General de Investigación. Perú. 80 p.
- Samaniego Sánchez, R. 2006. Efecto de la Producción orgánica y convencional de chile dulce (*Capsicum annuum*) bajo invernadero sobre el componente planta-suelo en el cantón de Alfaro Ruiz, Costa Rica. Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR, Centro Agronómico Tropical de Investigación y enseñanza (CATIE). 92 p.
- Sivila, N; Álvarez, S. 2013. Producción artesanal de *Trichoderma*. Tecnologías para la agricultura familiar. Universitario de Jujuy. Argentina. 48 p.
- Singh, B; Kuhad, R. 1999. Biodegradation of lindane (γ -hexachlorocyclohexane) by the white-rot fungus *Trametes hirsutus*. Letters in applied microbiology. 283:238-24
- Solano-Rivas, O; Faith-Vargas, M; Guillén-Watson, R. (2009). Biodigestores: factores químicos, físicos y biológicos relacionados a su productividad. Tecnología en Marcha, 23(1):39-46.

- Soto-Muñoz, L; Martínez-Peniche, R. 2009. Efecto de levaduras antagonicas y bicarbonato de sodio sobre *Penicillium expansum* Link en dos variedades de manzana. Revista Chapingo. Serie horticultura 152:211-216
- Suchini, J. 2012. Innovaciones agroecológicas para una producción agropecuaria sostenible en la región del Trifinio. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). 25 p.
- Trinidad Santos, A. 2015. Abonos orgánicos. SAGARPA (Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca Y Alimentación) Subsecretaría de Desarrollo Rural, Dirección General de Apoyos para el Desarrollo Rural. México. Fecha de consulta 20 May 2017. Disponible en <http://www.sagarpa.gob.mx/desarrolloRural/Documents/fichasCOUSSA/Abonos%20Organicos.pdf>.
- Urtecho, K. 2005. Elaboración de inóculo microbiológico MM. In Feria América Tropical. La sostenibilidad está en tus manos (2005, EARTH). Memorias. EARTH, CR.
- Villamil Carvajal, JE; Viteri Rosero, SE; Villegas Orozco, WL. 2015. Aplicación de Antagonistas Microbianos para el Control Biológico de *Monilophthora roreri* Cif & Par en *Theobroma cacao* L. bajo condiciones de campo. Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín 681:7441-7450.
- Zagoya Martínez, J. 2013. Evaluación de biofertilizantes y factores para su innovación con productores de Maíz en San Felipe Teotlalcingo, Puebla. Tesis Mag. Sc. Colegio de Posgraduados, Campus Puebla (COLPOS). Puebla, México. 107 p.
- Zambrano-Orozco, ML; Gonzales, Ct. 2016. Evaluación, diagnóstico y biocontrol de fitopatógenos de *Capsicum frutescens* (Solanaceae) en Guacarí, Valle del Cauca. Universidad del Valle, Apartado Aéreo 25360, Cali, Colombia.

7. Anexos

Anexo 1. Análisis del contenido químico (macro y micro nutrientes) de los bioles

LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, TEJIDO VEGETAL Y AGUAS.

TEL: (506) 25582377. FAX 25582060.

Http://www.catie.ac.cr

Nombre del

Ciente: Paolo Arturo Xiu Canche.

Nombre

Agricultor:

Dirección de la

Finca: I.N.A. Cartago.

Tipo de muestra: Abono líquido.

Fecha Ingreso: 10/03/2017.

Fecha Análisis: 15,21,23/03/2017.

Fecha de

Reporte:

23/03/2017.

Método Análisis:

Digestión Nítrico-Perclórica del material.

Determinación por Absorción Atómica para Ca, Mg, K, Cu, Zn, Mn, Fe.

Fósforo por método colorimétrico del extracto de digestión.

Carbono y Nitrógeno por método de combustión total.

No. Reporte: NR17-032

No.		Identificación	pH	Ca	Mg	K	P	N	C	Cu	Zn	Mn	Fe
Lab.				%	%	%	%	%	%	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
LS17-	299	B1	3.77	0.13	0.05	0.41	0.03	0.08	1.93	0.55	819	763	333
LS17-	300	B2	3.63	0.14	0.03	0.21	0.04	0.10	1.66	2.29	12.8	1653	101
LS17-	301	B 3	3.52	0.11	0.05	0.34	0.03	0.10	2.07	0.84	920	855	139
LS17-	302	B 4	3.69	0.19	0.02	0.20	0.03	0.10	2.03	0.71	1.70	9.60	98


Los resultados anteriores corresponden a las muestras ingresadas al laboratorio por el cliente.

Anexo 2. Formato elaborado para la toma de datos en la fase experimental; brócoli y lechuga

Registro de variables

Tratamientos (__/__/__)				
Fila (____)	Plantas	Diámetro del tallo	Altura de planta	Vigor de planta
T () (____)	1			
	2			
	3			
	4			
	5			
	6			
	7			
	8			
	9			
	10			
T () (____)	1			
	2			
	3			
	4			
	5			
	6			
	7			
	8			
	9			
	10			

Anexo 3. Análisis de diversidad de hongos y bacterias de los bioles y microorganismos de montaña (MM) utilizados como inoculantes

	Dirección de investigaciones Sección de Fitopatología Laboratorio Biología Molecular	Consecutivo: DI-SF-BMS-011-2017
		Fecha: 22 marzo de 2016

<p>Servicios solicitados: Diversidad de hongos y bacterias.</p> <p>Solicitante: Paolo Arturo Xiucanche, estudiante CATIE.</p> <p>Fecha de solicitud: 16 de febrero y 15 de marzo de 2016.</p> <p>Tipo de producto (s) evaluado (s): Abono líquido.</p>
--

Identificación de las muestras e índice de diversidad de Shannon.

ID usuario	ID BM	Tipo de muestra	H'	
			Bacterias	Hongos
MM3	2-63	Líquida	2.99	3.02
MM2	2-62	Líquida	2.85	3.02
MM1	2-61	Líquida	3.21	3.12
Biofermento 4	3-33	Líquida	2.78	3.28
Biofermento 3	3-32	Líquida	3.06	2.92
Biofermento 2	3-31	Líquida	2.98	2.92
Biofermento 1	3-30	Líquida	3.05	3.08

Interpretación del índice.

Valor del índice	Diversidad
1 a 2	Baja
2 a 3	Mediana
3 a 4	Alta

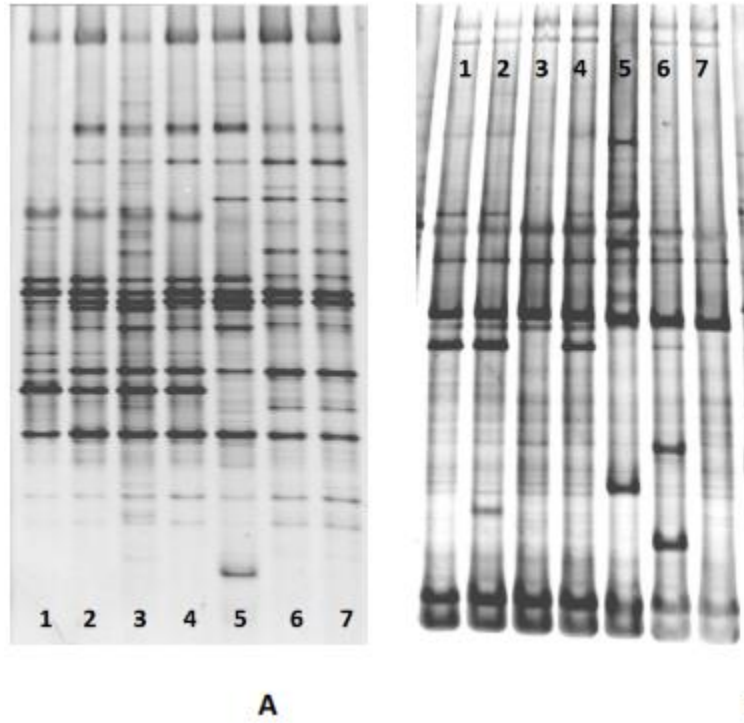


Figura 1. Patrones generados a partir de la técnica DGGE para (A) bacterias y (B) hongos.

Técnica utilizada: PCR convencional/ DGGE.

Instrumento o equipo utilizado: Applied Biosystems® Veriti® Thermal Cycler/ C.B.S. Scientific DGGE electrophoresis system.

Nota: El Laboratorio queda eximido de toda responsabilidad, en interpretaciones de resultados por parte de terceras personas ajenas al proceso de análisis y a CORBANA S.A.

Anexo 4. Resultados obtenidos en laboratorio del CATIE en la cuantificación de unidades formadoras de colonias en bioles y MM

Unidades formadoras de colonias de MM (UFC)

Muestra	Repetición	Medio	Solución	Morfotipos	UFC	Forma	Elevación	Borde	UFC/Morf.
MM1	R1	PDA	10 (-4)	3	11	Filamentosa	Chata	Ondulado	1.10E+06
MM1	R1	PDA	10 (-4)		7	Circular	Chata	Entero	7.00E+05
MM1	R1	PDA	10 (-4)		138	Puntiforme	Chata	Filamentoso	1.38E+07
MM1	R2	PDA	10 (-4)	3	38	Filamento	Chata	Ondulado	3.80E+06
MM1	R2	PDA	10 (-4)		3	Circular	Chata	Entero	3.00E+05
MM1	R2	PDA	10 (-4)		82	Puntiforme	Chata	Filamentoso	8.20E+06
MM1	R3	PDA	10 (-4)	3	18	Filamentosa	Chata	Ondulado	1.80E+06
MM1	R3	PDA	10 (-4)		13	Circular	Chata	Entero	1.30E+06
MM1	R3	PDA	10 (-4)		93	Puntiforme	Chata	Filamentoso	9.30E+06
MM1	R1	AN	10 (-4)	2	2	Rizoide	Elevada	Filamentoso	2.00E+05
MM1	R1	AN	10 (-4)		9	Circular	Chata	Entero	9.00E+05
MM1	R2	AN	10 (-4)	3	1	Irregular	Chata	Ondulado	1.00E+05
MM1	R2	AN	10 (-4)		2	Rizoide	Elevada	Filamentoso	2.00E+05
MM1	R2	AN	10 (-4)		7	Circular	Chata	Entero	7.00E+05
MM1	R3	AN	10 (-4)	1	8	Circular	Chata	Entero	8.00E+05
MM2	R1	PDA	10(-5)	2	5	Circular	Chata	Entero	5.00E+06
MM2	R1	PDA	10 (-5)		222	Puntiforme	Chata	Entero	2.22E+08
MM2	R2	PDA	10 (-5)	3	1	Irregular	Chata	Lobado	1.00E+06
MM2	R2	PDA	10 (-5)		1	Circular	Chata	Entero	1.00E+06
MM2	R2	PDA	10 (-5)		246	Puntiforme	Chata	Entero	2.46E+08
MM2	R3	PDA	10 (-5)	1	336	Circular	Chata	Entero	3.36E+08
MM2	R1	AN	10 (-5)	1	16	Filamentosa	Chata	Filamentoso	1.60E+07
MM2	R2	AN	10 (-5)	1	10	Filamentosa	Chata	Filamentoso	1.00E+07
MM2	R3	AN	10 (-5)	1	19	Filamentosa	Chata	Filamentoso	1.90E+07
MM3	R1	PDA	10 (-5)	2	3	Circular	Chata	Ondulado	3.00E+06
MM3	R1	PDA	10 (-5)		166	Circular	Chata	Entero	1.66E+08
MM3	R2	PDA	10 (-5)	3	12	Circular	Convexa	Entero	1.20E+07
MM3	R2	PDA	10 (-5)		3	Circular	Chata	Ondulado	3.00E+06
MM3	R2	PDA	10 (-5)		98	Circular	Chata	Entero	9.80E+07
MM3	R3	PDA	10 (-5)	2	15	Circular	Convexa	Entero	1.50E+07
MM3	R3	PDA	10 (-5)		106	Circular	Chata	Entero	1.06E+08
MM3	R1	AN	10 (-5)	1	128	Puntiforme	Elevada	Entero	1.28E+08
MM3	R2	AN	10 (-5)	2	22	Circular	Chata	Entero	2.20E+07
MM3	R2	AN	10 (-5)		48	Circular	Convexa	Entero	4.80E+07
MM3	R3	AN	10 (-5)	2	17	Circular	Chata	Entero	1.70E+07
MM3	R3	AN	10 (-5)		95	Circular	Convexa	Entero	9.50E+07

MM3	R1	AC	10 (-5)	1	100	Puntiforme	Convexa	Entero	1.00E+08
MM3	R2	AC	10 (-5)	2	1	Rizoide	Chata	Filamentoso	1.00E+06
MM3	R2	AC	10 (-5)		164	Puntiforme	Convexa	Entero	1.64E+08
MM3	R3	AC	10 (-5)	1	144	Puntiforme	Convexa	Entero	1.44E+08

Unidades formadoras de colonias de bioles (UFC)

Muestra	Rep.	Medio	Solución	Mor.	UFC	Forma	Elevación	Borde	UFC/Morf.
B1	1	PDA	10 (-6)	3	24	Rizoide	Chata	Filamentoso	2.40E+08
B1	1	PDA	10 (-6)		76	Irregular	Chata	Lobado	7.60E+08
B1	1	PDA	10 (-6)		365	Puntiforme	Chata	Lobado	3.65E+09
B1	2	PDA	10 (-6)	3	72	Circular	Chata	Entero	7.20E+08
B1	2	PDA	10 (-6)		412	Puntiforme	Chata	Lobado	4.12E+09
B1	2	PDA	10 (-6)		35	Irregular	Chata	Lobado	3.50E+08
B1	3	PDA	10 (-6)	3	58	Circular	Chata	Entero	5.80E+08
B1	3	PDA	10 (-6)		325	Puntiforme	Chata	Lobado	3.25E+09
B1	3	PDA	10 (-6)		29	Irregular	Chata	Lobado	2.90E+08
B1	1	AN	10 (-6)	3	10	Circular	Chata	Entero	1.00E+08
B1	1	AN	10 (-6)		5	Rizoide	Chata	Lobado	5.00E+07
B1	1	AN	10 (-6)		5	Irregular	Chata	Lobado	5.00E+07
B1	2	AN	10 (-6)	3	12	Irregular	Chata	Entero	1.20E+08
B1	2	AN	10 (-6)		66	Rizoide	Chata	Filamentosa	6.60E+08
B1	2	AN	10 (-6)		6	Irregular	Chata	Ondulado	6.00E+07
B1	3	AN	10 (-6)	3	24	Circular	Chata	Entero	2.40E+08
B1	3	AN	10 (-6)		40	Rizoide	Chata	Filamentoso	4.00E+08
B1	3	AN	10 (-6)		4	Irregular	Chata	Ondulado	4.00E+07
B2	1	PDA	10 (-6)	2	33	Circular	Chata	Entero	3.30E+08
B2	1	PDA	10 (-6)		256	Filamentosa	Chata	Ondulado	2.56E+09
B2	2	PDA	10 (-6)	2	32	Circular	Chata	Entero	3.20E+08
B2	2	PDA	10 (-6)		258	Filamentosa	Chata	Ondulado	2.58E+09
B2	3	PDA	10 (-6)	3	25	Circular	Chata	Entero	2.50E+08
B2	3	PDA	10 (-6)		250	Filamentosa	Chata	Ondulado	2.50E+09
B2	3	PDA	10 (-6)		3	Irregular	Chata	Ondulado	3.00E+07
B2	1	AN	10 (-6)	4	19	Circular	Chata	Entero	1.90E+08
B2	1	AN	10 (-6)		12	Filamentosa	Chata	Ondulado	1.20E+08
B2	1	AN	10 (-6)		38	Filamentosa	Chata	Filamentoso	3.80E+08
B2	1	AN	10 (-6)		1	Irregular	Chata	Lobado	1.00E+07
B2	2	AN	10 (-6)	3	22	Circular	Chata	Entero	2.20E+08
B2	2	AN	10 (-6)		24	Filamentosa	Chata	Ondulado	2.40E+08
B2	2	AN	10 (-6)		34	Filamentosa	Chata	Filamentoso	3.40E+08
B2	3	AN	10 (-6)	3	25	Circular	Chata	Entero	2.50E+08

B2	3	AN	10 (-6)		27	Filamentosa	Chata	Ondulado	2.70E+08
B2	3	AN	10 (-6)		31	Filamentosa	Chata	Filamentoso	3.10E+08
B3	1	PDA	10 (-6)	2	25	Circular	Chata	Entero	2.50E+08
B3	1	PDA	10 (-6)		356	Filamentosa	Chata	Ondulado	3.56E+09
B3	2	PDA	10 (-6)	2	24	Circular	Chata	Entero	2.40E+08
B3	2	PDA	10 (-6)		246	Filamentosa	Chata	Ondulado	2.46E+09
B3	3	PDA	10 (-6)	3	23	Circular	Chata	Entero	2.30E+08
B3	3	PDA	10 (-6)		226	Filamentosa	Chata	Ondulado	2.26E+09
B3	3	PDA	10 (-6)		4	Irregular	Chata	Ondulado	4.00E+07
B3	1	AN	10 (-6)	3	20	Circular	Chata	Entero	2.00E+08
B3	1	AN	10 (-6)		268	Filamentosa	Chata	Ondulado	2.68E+09
B3	1	AN	10 (-6)		1	Irregular	Chata	Ondulado	1.00E+07
B3	2	AN	10 (-6)	2	24	Circular	Chata	Entero	2.40E+08
B3	2	AN	10 (-6)		70	Filamentosa	Chata	Entero	7.00E+08
B3	3	AN	10 (-6)	2	19	Circular	Chata	Entero	1.90E+08
B3	3	AN	10 (-6)		85	Filamentosa	Chata	Entero	8.50E+08
B4	1	PDA	10 (-6)	2	31	Circular	Chata	Entero	3.10E+08
B4	1	PDA	10 (-6)		265	Filamentosa	Chata	Entero	2.65E+09
B4	2	PDA	10 (-6)	2	10	Circular	Chata	Entero	1.00E+08
B4	2	PDA	10 (-6)		254	Filamentosa	Chata	Entero	2.54E+09
B4	3	PDA	10 (-6)	2	32	Circular	Chata	Entero	3.20E+08
B4	3	PDA	10 (-6)		224	Filamentosa	Chata	Entero	2.24E+09
B4	1	AN	10 (-6)	2	45	Circular	Chata	Entero	4.50E+08
B4	1	AN	10 (-6)		144	Filamentosa	Chata	Entero	1.44E+09
B4	2	AN	10 (-6)	2	30	Circular	Chata	Entero	3.00E+08
B4	2	AN	10 (-6)		236	Filamentosa	Chata	Entero	2.36E+09
B4	3	AN	10 (-6)	2	22	Circular	Chata	Entero	2.20E+08
B4	3	AN	10 (-6)		136	Filamentosa	Chata	Entero	1.36E+09

Anexo 5. Estructura de la entrevista utilizado para diagnosticar la percepción de los productores sobre el uso de abonos y beneficio para mejorar la fertilidad de suelo

CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA (CATIE)

Diagnóstico de las percepciones de los productores sobre el uso de abonos y sus beneficios para mejorar la fertilidad del cultivo

Entrevista No. _____
Nombre de encuestador. _____
Fecha: ____/____/____
Ubicación. _____
Nombre de la finca. _____

1. Datos del productor

Nombre: _____

Experiencia en campo: _____ (años).

Asistencia técnica: Si _____ No _____

Condiciones de la propiedad: Propia _____ Alquilada _____ Prestada _____

Es productor orgánico _____ Convencional _____ o Ambos _____

Cuanto tiempo tiene de producir bajo ese sistema en: finca _____ invernadero _____

Notas:

2. Datos de la finca

Ubicación: _____

Área: _____

Distribución del área: Finca _____ Vivienda _____ Bosque _____ Otras _____

Distribución de la finca: Campo abierto _____ Invernadero _____ otros _____

Está certificada: Si _____ No _____

Certificación orgánica: Sí _____ No _____ ¿Cuál o cuáles? _____

Otra certificación: Sí _____ No _____ ¿Cuál o cuáles? _____

¿Qué tiempo tiene la certificación? _____

3. Uso de Abonos

¿Aplica abono orgánico? Sí ____ No ____

Tipo de abono orgánico que utiliza: Composta__ Biofermentos__ Vermicomposta__ Otros

¿Cuánto tiempo hace que lo usa? _____

¿Cómo lo obtiene? Lo fabrica el mismo ____ Lo compra ____ Otra forma _____

¿Cómo? Foliar ____ al suelo ____

¿Con que frecuencia? _____

¿Qué dosis usa? Solido _____ Líquido _____

Procedimiento de hacer biofertilizante:

¿Cuánto de biofertilizante hace? _____ ¿Qué ingrediente utiliza para su elaboración? _____

¿Cuánto tiempo lo tiene en el proceso anaeróbico? _____

Opinión sobre del producto:

Aplicando al suelo

Pregunta	Muy bueno	Bueno	Intermedio	Regular	Pobre
Mejora las características físicas					
Mejora las características químicas					
Retención de humedad					
Supresión de enfermedades					
Es rentable					

Aplicando al follaje

Pregunta	Muy bueno	Bueno	Intermedio	Regular	Pobre
Mejora crecimiento de follaje					

Supresión de enfermedades foliares					
Aporta a la calidad del cultivo					
Aporta a la productividad del cultivo					
Es rentable					

4. Datos de manejo de cultivos

Suelo:

¿Cómo es la preparación de la cama de siembra?

¿Qué ingredientes lleva el sustrato que usa y que proporciones?

¿Desinfecta el suelo? Sí _____ No _____ ¿Cada cuánto tiempo?

¿Cómo lo hace?

¿Qué producto usa? A- _____ B- _____ C-

Cultivo:

Varietades de cultivos que usa:

A: _____ B: _____ C: _____ D: _____

¿Prepara su propio semillero? Sí _____ No _____

Densidad de siembra: entre plantas _____ entre surcos _____

¿Hace rotación de cultivo? Sí _____ No _____ ¿Que cultivos?

Fertilización:

¿Química? Sí _____ No _____ ¿Orgánica? Sí _____ No _____

¿Hace análisis de suelo? Sí _____ No _____ ¿Cada qué tiempo?

¿Hace análisis foliar? Sí _____ No _____ ¿Cada qué tiempo?

Fórmula utilizada:

A: _____ B: _____ C: _____

Dosis: _____

Forma de aplicación: ¿Al suelo? Sí ____ No ____ ¿Al follaje? Sí ____ No ____
 Frecuencia de aplicación: Al suelo _____ Foliar _____
 Abono utilizado:

A: _____ B: _____ C: _____

Dosis: _____

¿Forma de aplicación: ¿Al suelo? Sí ____ No ____ ¿Al follaje? Sí ____ No ____
 Frecuencia de aplicación: Al suelo _____ Foliar _____

Manejo de insectos plagas

¿Cuáles insectos se presenta con más frecuencia?	Tipo de control		Producto utilizado
	Orgánico	Químico	
1.			
2.			
3.			
4.			

Manejo de enfermedades

¿Cuáles enfermedades se presenta con más frecuencia?	Tipo de control		Producto utilizado
	Orgánico	Químico	
1.			
2.			
3.			

Manejo de malezas.

¿Cuáles malezas se presenta con más frecuencia?	Tipo de control		Producto utilizado	Frecuencia
	Orgánico	Químico		
1.				
2.				
3.				
4.				

8. Mercado

¿Dónde vende sus productos?

¿Es estable el mercado?

¿Tiene sobre precio? _____

Observaciones _____
