DIFERENCIAS EN NODULACION Y PRODUCCION DE GRANO DE LA SOYA AL INOCULAR SUELO O SEMILLA[1] /

*M. VALDES**
*J. F. AGUIRRE***
*M. VELAZQUEZ***

Summary

The experiment was conducted in the Soconusco Region of Chiapas State, Mexico, and it was done to evaluate, through nodulation and grain yield, two different techniques of inoculation to soybean (var. Jupiter) Strains of Rhizobium japonicum *(ENCB 517, 502 and 516) were utilized to prepare peat-moss inoculants; a commercial inoculant was also utilized. Same treatments were studied plus N fertilizer (80 kg N as urea/ha).*

Results showed that nodule numbers and yields were higher in soil inoculation than in seed inoculation. No nodules were found when inoculated with the commercial inoculant. Best yields were obtained with strains 502 and 516 in both techniques of inoculation, with and without N fertilization. Soil treatment with the strain 502 (without N fertilizer) was significatively better to all other treatments

Introducción

Se ha incrementado rápidamente en los últimos años el interés regional sobre la soya dadas las necesidades de los países en la adquisición de este grano. Sólo en México el total de granos importados en 1982 fue equivalente a $ 1 700 000 dólares, ocupando la soya el cuarto lugar.

Dentro de las estrategias por considerar para la inoculación de leguminosas en países en desarrollo, además de la selección de cepas, la implementación de una tecnología adecuada es un aspecto fundamental (2).

Cuando se siembra soya por primera vez aparece con frecuencia un fenómeno que los campesinos llaman "soya tricolor"; se ha podido comprobar que este fenómeno está relacionado con la nodulación de la planta, es decir, en un mismo terreno aparecen plantas amarillas (sin nódulos), plantas verde claro (con pocos nódulos) y verde oscuro (con nódulos abundantes). Por otro lado, muchos de los suelos recién abiertos al cultivo de la soya son suelos donde previamente y por muchos años ha sido cultivado algodón, cultivo fertilizado con altas dosis de nitrógeno, pudiéndose encontrar residuos en cantidades tales que puedan afectar negativamente la simbiosis *Rhizobium japonicum* soya. Este nitrógeno residual es quizás la razón por la cual en algunas ocasiones, cuando se siembra soya por primera vez y sin que presente nódulos radiculares, los rendimientos son altos; también podría explicar la irregularidad de la nodulación en los primeros años de siembra, aunque este último hecho podría también ser debido a un mal uso del inoculante.

El objetivo de este estudio es evaluar dos formas de inoculación a la soya, así como de verificar si existe algún efecto en la simbiosis causado por la presencia en el suelo del fertilizante nitrogenado.

El método más común de inoculación consiste en aplicar el inoculante directamente a la semilla (2). Sin embargo, en algunos casos este método puede no ser el mejor, debido a la necesidad de disminuir la incidencia de enfermedades preemergentes o de ataques a la semilla por insectos, mediante el uso de plaguicidas

1 Recibido para publicación el 19 de julio de 1984. Auspiciado en parte por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, proyecto PCECBNA 1029.

* Laboratorio de Microbiología Agrícola, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, México.

** Departamento de Forrajes, Centro de Investigaciones Agrícolas del Pacífico Sur, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, México.

que pueden ser tóxicos a los rhizobia (1), disminuyendo el número viable de bacterias inoculadas en la cubierta de la semilla, lo cual puede afectar negativamente la posterior nodulación de la plántula. Por otro lado, la cubierta de la semilla de soya es muy delicada y la adición de adherente e inoculante puede estropearla; muchas veces cuando la testa de la semilla está dañada se facilita la invasión de patógenos, lo cual afecta a su vez la germinación (Reza, A. R. Comunicación personal, 1982).

Cuando en el suelo hay problemas de humedad y de temperatura, para lograr el número de rhizobia necesario para la nodulación efectiva, el método de inoculación a la semilla no es recomendable (4). En los suelos con poblaciones bajas de rhizobia, las cepas introducidas por inoculación forman casi el 100% de los nódulos (10); sin embargo, cuando hay poblaciones numerosas de rhizobia indígena, únicamente alrededor de un 5% de los nódulos son formados por las cepas introducidas (7). En estas circunstancias es mejor introducir las bacterias por otros medios que permitan la inoculación de un mayor número de ellas.

Los métodos alternativos incluyen tanto inoculantes líquidos como sólidos aplicados al suelo antes de sembrar (1). El inoculante líquido simplemente se suspende en solución acuosa para aplicarlo. En cuanto al inoculante sólido, se aplica al suelo tal como se produce comercialmente en forma granular y en la dosis recomendada por el productor. Esto podría ser más aceptable y práctico para el agricultor pues se incorpora al suelo en la misma forma que se aplica el fertilizante.

La inhibición de la fijación simbiótica de nitrógeno por nitrógeno mineral está bien documentada (5, 9).

Existen diferencias en la respuesta simbiótica a la presencia de nitratos, dependiendo ésta tanto de la planta como de la bacteria de que se trate (3, 5, 6). En cuanto a las cepas de *R. japonicum,* su tolerancia a los efectos de N mineral es de gran importancia económica para el ecosistema, pues la soya es un buen removedor de N mineral en los suelos (8), lo que podría afectar aún más la formación de nódulos y el nitrógeno fijado simbióticamente.

Materiales y métodos

El experimento se realizó en el verano de 1982 en la estación auxiliar del Campo Agrícola Experimental Rosario Izapa, INIA, localizado en el km 20 de la carretera Tapachula-Puerto Madero. El suelo presenta un pH de 7.1, una capacidad de retención de agua del 60%, está clasificado como medianamente rico en materia orgánica y tiene una textura fina con clasificación textural migajón-arcillosa. Su clasificación de acuerdo a FAO es como unidad un Nitosol, como subunidad Districo; en otra clasificación correspondería a un Andosol húmico (Carta Edafológica del Atlas Nal. del Medio Físico, Secretaría de Programación y Presupuesto, México). El tipo climático correspondiente a la zona es Aw"2(w)[1] g, es decir, cálido-húmedo.

El terreno no había sido previamente sembrado con soya. Para el estudio se utilizó la variedad de soya Júpiter que es la recomendada por el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas para la región, a una densidad de 100 kg/ha con una distancia entre surcos de 61 cm. El tamaño de la parcela total fue de 14.4 m^2, considerando como parcela útil los dos surcos centrales. La distancia entre parcelas y bloques fue de 2 m.

Las cepas de *R. japonicum* ensayadas fueron ENCB 502, ENCB 517 y ENCB 516. Las dos primeras fueron proporcionadas por el Dr. P. Williams del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas y cuya nomenclatura para esas cepas es IVIC 2 e IVIC 34; la tercera cepa la proporcionó el Dr. J. R. Jardim Freire del Centro de Recursos Microbiológicos (MIRCEN/UNESCO) de Porto-Alegre, Brasil, en cuyo cepario está bajo la denominación de SEMIA 587. También se utilizó el inoculante comercial Nitragín de fabricación nacional. Las cepas fueron previamente seleccionadas bajo condiciones controladas en el solario del Laboratorio de Microbiología Agrícola de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN.

Con las cepas puras se prepararon inoculantes unicepa a base de turba con una cuenta de 10^8 células/g de turba para cada inoculante. Para preparar el inoculante multicepa se mezclaron en proporciones iguales los inoculantes unicepa. En el caso del inoculante comercial no se hizo recuento de células viables de *R. japonicum.*

La inoculación se hizo tanto al suelo como a la semilla. La cantidad de inóculo fue al 4% con respecto al peso de la semilla. La inoculación de la semilla fue directa usando como adherente goma arábiga al 10%. La inoculación al suelo se hizo mezclando el inoculante con aserrín (pH 6.5) en una cantidad equivalente a 16.6 kg/ha, y previamente tamizado (malla aproximada de 1mm) a través de un morral común de plástico. Los tratamientos sin inocular también fueron suplementados con aserrín.

Como fuente de nitrógeno se utilizó urea en una dosis de 80 kg/ha y como fósforo, superfosfato de

calcio triple, también equivalente a 80 kg/ha. Este último fue aplicado en todos los tratamientos con inoculación. La aplicación del fertilizante fue antes de la siembra en el fondo del surco y tapado antes de depositar la semilla.

Tratamientos y diseño experimental

Número	Tratamientos
1	*R. japonicum* ENCB 517
2	*R. japonicum* ENCB 502
3	*R. japonicum* ENCB 516
4	Mezcla de las 3 cepas
5	*R. japonicum* Nitragín
6	*R. japonicum* ENCB 517 + N
7	*R. japonicum* ENCB 502 + N
8	*R. japonicum* ENCB 516 + N
9	Mezcla de las 3 cepas + N
10	*R. japonicum* Nitragín + N
11	Nitrógeno
12	Nitrógeno + Fósforo
13	Testigo

Se utilizó el diseño de bloques al azar con 4 repeticiones, analizándose los datos por el mismo método.

Variables consideradas

Durante la floración se muestrearon 5 plantas por parcela (20 por tratamiento) para cuantificar el número de nódulos; estos se colocaron en una estufa a 80°C hasta peso seco. Una parte de los nódulos de las plantas inoculadas con la mezcla de cepas se conservaron congelados para identificar posteriormente la cepa que había formado cada nódulo. La identificación se hizo por método serológico previamente descrito (11).

Al final del ciclo vegetativo se cuantificó producción de grano.

Resultados y discusión

Durante el ensayo hubo disturbios climáticos importantes. Después de instalado el experimento se presentó una sequía de 20 días consecutivos. Posteriormente, cuando la vaina ya estuvo formada, la precipitación pluvial fue tan intensa que el terreno se inundó, permaneciendo así durante 5 días. De esta manera tanto las células fijadoras de nitrógeno como las plantas estuvieron bajo condiciones muy adversas. La Figura 1 muestra el climograma para 1982.

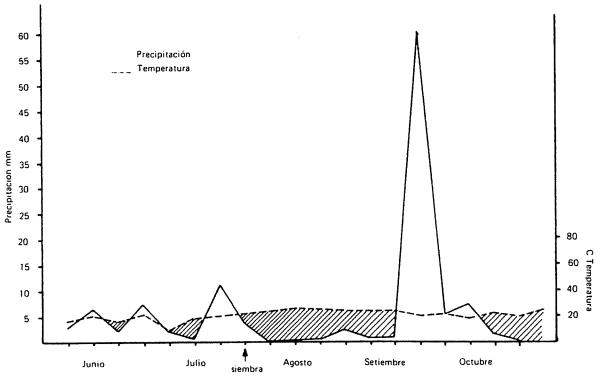

Fig. 1. Climograma del sitio experimental "La Costa" según Bagnouls y Gaussen para 1982. ▨ = déficit hídrico.

En forma general la nodulación fue incrementada al inocular el suelo (Cuadro 1). Bajo ninguno de los 2 métodos de inoculación el inoculante comercial fue capaz de nodular las plantas. En ambos métodos la nodulación de la cepa *R. japonicum* ENCB 512 no fue considerable, siendo aún menor al inocular el suelo en presencia de nitrógeno.

Los incrementos mayores en el número de nódulos al inocular el suelo se observaron en los siguientes tratamientos (Cuadro 1): mezcla de cepas, cuyo incremento fue de 2.5 nódulos por planta cuando se inocula semilla, a 7.7 nódulos por planta al inocular suelo; la misma mezcla más fertilizante nitrogenado, con un aumento de 2.2 a 14 nódulos y la cepa ENCB 502 más el mismo fertilizante aumentando el número de nódulos por planta de 1.2 a 16.5.

Cuadro 1. No. de nódulos comparativo cuando se inocula suelo o semilla de soya var. Júpiter con diferentes cepas de *R. japonicum*.

Tratamiento	Prom. No. de nódulos/planta	
	Inoculación a semilla	Inoculación a suelo
R. japonicum ENCB 517	0.7	2.7
R. japonicum ENCB 502	5.3	7.1
R. japonicum ENCB 516	16.5	19.2
Mezcla de cepas	2.5	7.7
Nitragín	0.0	0.3
R. japonicum ENCB 517 + N	2.4	0.3
R. japonicum ENCB 502 + N	1.2	16.5
R. japonicum ENCB 516 + N	6.7	7.0
Mezcla de cepas + N	2.2	14.1
Nitragín + N	0.1	0.0
N + P	0.2	0.0
Testigo	0.0	0.0

Dados los grandes cambios en el número de nódulos formados, sobre todo con el inoculante elaborado con la mezcla de las 3 cepas ensayadas, se procedió a identificar los nódulos formados al inocular el suelo para conocer la dominancia entre ellos de una cepa u otra. En el caso de la mezcla de cepas sin adición de nitrógeno se encontró que la ENCB 502 y la ENCB 516 formaron cada una un 35% de los nódulos y la ENCB 517 sólo un 15%. Cuando se adicionó a esta mezcla el fertilizante nitrogenado, esta última cepa no formó nódulos, mientras que la ENCB 502 formó sólo un 10% de ellos y la ENCB 516 fue la dominante formando el 85% de los nódulos. Estos resultados confirman lo obtenido en otro ensayo nuestro (11) inoculando semilla, donde esta misma cepa se manifiesta dominante en la formación de nódulos en presencia de nitrógeno combinado. Sin embargo, la nodulación por esta cepa, cuando se inocula individualmente tanto a semilla como a suelo, baja en presencia de nitrógeno.

En el caso de la cepa ENCB 502 su comportamiento en presencia del fertilizante nitrogenado es notoriamente diferente cuando se inocula al suelo que cuando se inocula a la semilla, es decir, cuando se inocula semilla en presencia de fertilizante nitrogenado el número de nódulos disminuye y cuando se inocula el suelo en presencia del fertilizante, el número de nódulos se incrementa considerablemente. Cuando se inocula individualmente al suelo, en presencia de nitrógeno, el número de nódulos aumenta, mientras que disminuye este número al inocularse con otras cepas.

En cuanto a los rendimientos, mostrados en el Cuadro 2, no fueron muy altos dado las condiciones adversas de experimentación; sin embargo, superan considerablemente a la media regional que en este año fue de 1 400 kg/ha (Reza, A. R. Comunicación personal, 1982).

En todos los casos fueron mejores los mismos cuando se inoculó el suelo que cuando se inoculó la semilla. Así mismo, las plantas creciendo en el suelo previamente inoculado, mostraron una coloración uniforme.

Cuando se inoculó la semilla, los mejores tratamientos fueron con las cepas ENCB 502 y ENCB 516 sin fertilización de nitrógeno, presentando diferencias significativas, con los otros tratamientos.

Cuando se inoculó el suelo los mejores rendimientos fueron para los mismos tratamientos aunándose a ellos el tratamiento de la mezcla de las 3 cepas, siendo el mejor el tratamiento con la cepa 502 sin adición de nitrógeno, con diferencia significativa entre tratamientos.

Cuadro 2. Rendimiento comparativo de grano (kg/ha) de la soya variedad Júpiter al inocular semilla o suelo con diferentes cepas de *R. japonicum*.

Tratamientos	Rendimiento de tratamientos	
	Inoculación a semilla	Inoculación a suelo
R. japonicum ENCB 517	1 462.75 bcd	2 123.25 bcd
R. japonicum ENCB 502	2 022.25 a	2 812.75 a
R. japonicum ENCB 516	2 227.50 a	2 358.25 abcd
Mezcla de cepas	1 549.00 bcd	2 204.25 abcd
Nitragin	1 579.50 bcd	1 919.75 de
R. japonicum ENCB 517 + N	1 582.75 bcd	2 044.75 cde
R. japonicum LNCB 502+N	1 842.00 abc	2 614.25 ab
R. japonicum ENCB 516+N	1 853.75 ab	2 483.00 abc
Mezcla de cepas + N	1 621.50 bcd	2 032.25 cde
Nitragin + N	1 499.00 bcd	2 161.25 bcd
N	1 420.25 cd	1 888.75 de
N + P	1 611.00 bcd	2 055.00 cde
Testigo	1 410.75 d	1 577.50 e
	DMS = 5% 421.19 CV = 17.6	DMS = 5% 518.24 CV = 16.6

Si se considera que al inocular el suelo el mayor rendimiento de grano es de 2 812.75 kg/ha y que fue obtenido con inoculación de la cepa ENCB 502 (más fósforo) y lo comparamos con el rendimiento obtenido al fertilizar con nitrógeno (más fósforo) que fue de 2 055 kg/ha, significa que el primer tratamiento supera al segundo en un 36%, por lo que esta cepa podría substituir y superar al fertilizante nitrogenado.

Estos incrementos podrían mejorarse si se contara con condiciones climáticas mejores y si se utilizara una mayor tasa de inoculación, lo que es recomendable cuando se inocula al suelo (2) ya sea con un inoculante de mejor calidad (más bacteria/g de turba) o agregando mayor cantidad de inoculante.

Conclusiones

1. El número promedio de nódulos por planta fue mayor al inocular suelo que al inocular semilla.

2. La producción de grano fue mayor al inocular suelo que al inocular semilla.

3. El mayor rendimiento de grano se obtuvo al inocular al suelo con la cepa *R. japonicum* ENCB 502 superando significativamente a todos los tratamientos, dando esta cepa junto con la 516 los mejores rendimientos en todos los casos.

4. El inoculante comercial no formó nódulos en ningún caso y el rendimiento de las plantas fue tan bajo como los testigos.

5. La presencia de N en la dosis utilizada no manifestó efecto negativo en la simbiosis de la soya con las cepas 502 y 516, y la simbiosis con la cepa 517 si se mostró afectada.

Resumen

En la región del Soconusco, Chiapas, México, fue montado un ensayo con el objeto de evaluar a través de nodulación y producción de grano, la inoculación al suelo y la inoculación a la semilla de soya var Júpiter. Las cepas estudiadas fueron *Rhizobium japonicum* ENCB 517, 502 y 516 con las que se elaboraron inoculantes uni y multicepa a base de turba. Se inoculó también con un inoculante comercial. Se incluyeron también estos tratamientos adicionados con fertilizantes nitrogenado (80 kg de urea/ha). El número promedio de nódulos por planta en general fue mayor al inocular el suelo que al inocular la semilla, así mismo el rendimiento en grano. Bajo ninguno de los dos métodos de inoculación, el inoculante comercial formó nódulos. Los mejores rendimientos en ambos métodos adicionando y sin adicionar fertilizante nitrogenado, se lograron con las cepas de *R. japonicum* 502 y 516. La cepa 502 superó significativamente todos los tratamientos al inocular el suelo

Literatura citada

1. BROCKELL, J. Application of legume seed inoculants. **In** IV. R. W. F. Hardy and A. H. Gibson eds. A treatise on dinitrogen fixation, section. Wiley, New York, 1977.

2. BURTON, J. C. *Rhizobium* inoculants for developing countries. Tropical Agriculture (Trinidad) 58(4):291-295. 1981.

3. EVANS, J. Response of soybean-*Rhizobium* symbiosis to mineral nitrogen. Plant and Soil 66:439-442. 1982.

4. GIBSON, A. H. Factors in the physical and biological environment affecting nodulation and nitrogen fixation by legumes. Plant and Soil. Special volume: 139-152. 1971.

5. GIBSON, A. H. Recovery and compensation by nodulated legumes to environmental stress. **In** P. S. Nutman, ed. Symbiotic nitrogen fixation in plants. IBP No. 7. Cambridge, University Press. 1973. pp. 385-403.

6. GIBSON, A. H., DUDMAN, W. F., WEAVER, R. W., HORTON, J. C., ANDERSON, I. C. Variation within serogroup 123 of *Rhizobium japonicum*. Plant and Soil, Special volume: 33-37. 1971.

7. JOHNSON, J. W., MEANS, U. M., WEBER, C. R. Competition for nodule sites between strain of *Rhizobium japonicum* applied as inoculum and strains in the soil. Agronomy Journal Madison 57:179-185. 1965.

8. JOHNSON, J. W., WELCH, L. F., KURTZ, L. T. Environmental implication of N fixation by soybeans. Journal of Environmental Quality 4:303-306. 1975.

9. MUUNS, D. N. Mineral nutrition and the legume symbiosis. **In** R. W. F. Hardy and A. H. Gibson, eds. A treatise on dinitrogen fixation, section IV. Wiley. New York, 1977. pp. 353-391.

10. ROUGHLEY, R. J., BLOWS, W. M., HERRIDGE, D. F. Nodulation of *Trifolium* subterraneum by introduced rhizobia in competition with naturalized strains. Soil Biology and Biochemistry 8:403-407. 1976.

11. VALDES, M., VELAZQUEZ, V. M., AGUIRRE, J. F. Competencia por nodulación de *Rhizobium japonicum* en la variedad Júpiter de soya y su producción de grano. Agricultura Técnica en México 10(2) (en prensa).

Reseña de libros

JENSEN, U , and FAIRBROTHERS, D E Proteins and nucleic acids in plant systematics Springer Verlag 1983 408 p.

Recientemente la Editorial Springer-Verlag publicó una serie de conferencias, veintiséis en total, sobre bioquímica macromolecular, biología celular, genética vegetal, filogenia sistemática y otras ciencias afines, bajo el título: "Proteins and Nucleic Acids in Plant Systematics", 1983. Las conferencias versaron sobre temas altamente especializados y se dictaron con motivo de la celebración de un simposio internacional, el cual se llevó a cabo en la Universidad de Bayreuth, República Federal de Alemania El objetivo principal de dicho simposio fue el de brindarles a los científicos germanos la oportunidad de comunicarse con colegas de otras naciones –intercambiando información acerca de los métodos analíticos más modernos– y examinar el rumbo que debe imprimírsele a las investigaciones en Biosistemática Macromolecular Vegetal en el futuro cercano.

El simposio estuvo plenamente justificado en virtud de la gran cantidad de información científica que se había acumulado desde inicios de la década de los setenta, cuando se desencadenó una avalancha de estudios sobre biología celular y molecular, genética, taxonomía y filogenia Como se recordará, la taxonomía fue la primera disciplina que se desarrolló para clasificar sistemáticamente y ordenar las características especiales de los organismos y grupos de éstos (taxones) Por otra parte, la filogenia estudia las relaciones de parentesco y la historia de grupos de seres vivos, con base en datos paleontológicos, ontogénicos, anatómicos y de clasificación y distribución de floras y faunas. La filogenia sistemática o biosistemática surgió por la necesidad de correlacionar diferentes características biológicas con ciertos aspectos evolucionistas. En este aspecto, el uso de reacciones serológicas hizo posible que se confirmara la mayoría de los grupos taxonómicos establecidos y que, además, se haya podido perfeccionar y hasta corregir otros. Es interesante señalar que la portada del libro resume todo lo antes dicho, por medio de una concepción artística de las relaciones evolucionistas de una planta unicelular flagelada, posiblemente *Euglena,* y una angiosperma representada por lo que parece ser una bellota de algodón. Verticalmente y ocupando una posición central se aprecia como emerge una cadena helicoidal doble (ADN), que equivale a la línea evolutiva principal del Reino Vegetal.

La delicada tarea de confeccionar el libro estuvo a cargo de dos eminentes profesores e investigadores: U Jensen de la Universidad de Bayreuth, y D E. Fairbrothers de la Universidad de Rutgers, Nueva Jersey, EEUU, quienes además tuvieron una participación activa en el Simposio

Podría pensarse que "Proteins and Nucleic Acids in Plant Systematics" fue escrita para un grupo de lectores pequeño, dado el alto nivel de la obra. Sin embargo, después de leerla nos atrevemos a decir, sin temor de incurrir en exageraciones, que no. La información debe ser de interés y gran utilidad tanto para el biólogo evolucionista como para el biólogo celular y molecular, así como para ecólogos, genetistas, bioquímicos vegetales y estudiantes avanzados de diversas ramas de la Biología Moderna

Ya mencionamos que el libro es de alto nivel y bastante especializado, lo cual es cierto Pero también lo es el hecho de que es sumamente didáctico pues seguramante así quisieron que lo fuera sus editores Los temas siguen una secuencia lógica; están adecuadamente entrelazados sin que haya una repetición excesiva de los conceptos fundamentales (genética, bioquímica, etc) en que se sustentan los análisis de las relaciones evolutivas de las plantas; con igual énfasis se discuten las buenas características como las limiciones de los métodos analíticos aplicables en estudios sobre filogenia y clasificación de las plantas Pero por encima de todo eso hay que destacar que todos los temas se desarrollaron cuidadosa y hábilmente, y que cada capítulo termina con una discusión en la cual se repasan los puntos sobresalientes y se hacen valiosas recomendaciones para que las futuras investigaciones sean aún más eficaces Sin duda alguna, se trata de una excelente obra científica

Consideramos que "Proteins and Nucleic Acids in Plant Systematics" es ideal para un curso avanzado en Botánica, y que el estudio de esa materia puede servir para que los nuevos profesionales en ciencias biológicas –y Agricultura es una de ellas– descubran por ellos mismos otros campos en que desenvolverse técnica o científicamente. Para nadie es un secreto que los mercados tradicionales de trabajo están saturados y que esta situación posiblemente siga igual mientras perdure la seria crisis económica por la que atravesamos los países pobres. Quizás porque creemos en el valor de la superación profesional como requisito para la superación socioeconómica, es que la lectura de esta importante obra resultó tan estimulante para nosotros. Ojalá tenga igual efecto en otros lectores

EDUARDO JIMENEZ
ESCUELA DE BIOLOGIA
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA