

UNIVERSIDAD NACIONAL
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA TIERRA Y EL MAR
ESCUELA DE CIENCIAS AGRARIAS

**Efecto del compost y condiciones agroecológicas sobre la
concentración de polifenoles de mora (*Rubus adenotrichos* Schtdl) en
dos localidades de Costa Rica**

Tesis de grado para optar al grado de Licenciatura en Ingeniería en Agronomía, con énfasis en Agricultura
Alternativa.

Estudiante

Ronald Saúl López Abarca

Tutor

PhD. Rafael Orozco Rodríguez

Asesores

PhD. Eduardo Salas Alvarado

PhD. Roger Muñoz Hernández

Campus Omar Dengo
Heredia, Costa Rica, 2016

**Efecto del compost y condiciones agroecológicas sobre la
concentración de polifenoles de mora (*Rubus adenotrichos* Schtdl) en
dos localidades de Costa Rica**

Estudiante

Ronald Saúl López Abarca

**Trabajo final de graduación de tesis sometida a consideración del
tribunal examinador de la Escuela de Ciencias Agrarias para optar por el
grado de Licenciatura en Ingeniería Agronómica**

Trabajo final de Graduación presentado como requisito parcial para optar al grado de Licenciado en Ingeniería Agronómica.

Tribunal Examinador

M.Sc. Tomás Marino Herrera
Decano

M.Sc. Allan González Herrera
Representante Escuela de Ciencias Agrarias

PhD. Rafael Orozco Rodríguez
Director de Tesis

PhD. Eduardo Salas Alvarado
Asesor

PhD. Roger Muñoz Hernández
Asesor

Bach. Ronald Saúl López Abarca
Estudiante

DEDICATORIA

A Dios por permitirme disfrutar de esta satisfactoria experiencia de aprendizaje y otorgarme fortaleza y perseverancia para culminar esta etapa de mi carrera con gran ilusión y agrado.

A mi mamá Xinia y abuelos Saúl y Juana, por confiar en mí, por su esfuerzo, amor, trabajo, paciencia y dedicación que día a día sustentaron para permitirme alcanzar mis metas.

A mi primita Valeria y ahijado Nathan unos de los tesoros más preciados que la vida me ha obsequiado, que este logro los motive a seguir adelante, para que en un futuro cercano logren cumplir sus objetivos, metas y anhelos.

A mi familia por su apoyo incondicional a lo largo de todas las etapas de mi vida, alentándome a sobrepasar cada uno de los obstáculos que en ella se presentan.

Los amo...

La tragedia en la vida no es que no puedas alcanzar tus metas.

La tragedia es no tener metas que desees alcanzar.

Benjamín Mays

AGRADECIMIENTOS

Al programa de Biotecnología y Recursos Genéticos para el Fitomejoramiento (BIOFERVI), de la Escuela de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional (ECA).

Al proyecto “Evaluación de procesos biotecnológicos y determinación de la influencia de los factores agroclimáticos en el cultivo de mora (*Rubus adenotrichos*) para la obtención de extractos de polifenoles” (B-4663), financiado con fondos especiales del sistema de educación Superior (CONARE).

Al Dr. Rafael Orozco Rodríguez, director de tesis, por su apoyo y apreciables sugerencias.

Al Dr. Roger Muñoz Hernández, por su colaboración y precisa revisión del documento.

Al Dr. Eduardo Salas Alvarado, por su apoyo y consejos estadísticos, indispensables para la elaboración de este proyecto.

A la M.Sc. Gabriela Soto Muñoz, a la Lic. Irena Hilje Rodríguez y al MBA Gerardo Solís Sequeira, por su amistad, confianza, apoyo, enseñanza y excelente asesoría en estos años.

A la Lic. Steffany Orozco Cayaso, coordinadora del Laboratorio de Fitopatología - UNA, por permitirme realizar parte de mi proyecto en sus instalaciones y brindarme ayuda y consejo.

A la Dra. Lidieth Uribe Lorío, coordinadora del Laboratorio de Microbiología Agrícola – CIA (Centro de Investigaciones Agronómicas)-UCR, por permitirme realizar parte de mi proyecto en sus instalaciones, cuya amistad y consejos fueron de gran ayuda.

A la M.Sc. Floria Bertsch Hernández, coordinadora del Laboratorio de Fertilidad de Suelos y Nutrición-CIA-UCR, por permitirme realizar parte de mi proyecto en sus instalaciones.

Al Ing. Francisco Córdoba, Sra. Rebeca Vargas y Sr. Randall Elizondo, por su apoyo desinteresado y aportes meticulosos en cuanto a metodología y utilización de los laboratorios.

Al personal del laboratorio de química del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA) por su paciencia y entrega, así como a la Dra. Ana Mercedes Pérez Carvajal, coordinadora del CITA, por su valioso aporte en los análisis de fruta.

Al Dr. Roberto Cordero y mis colegas Lic. Johaner Rosales y Keylor Villalobos, por su apoyo constante en el trabajo de campo y oportunas observaciones.

A los productores Miguel Mena y Francisco Garita por prestar parte de sus terrenos y cosechas para la elaboración de esta investigación.

A todas las personas que conocí durante esta investigación, porque de todas ellas aprendí algo y todo eso me ha servido para convertirme en un mejor profesional y sobre todo una mejor persona.

Gracias!

RESUMEN

En los últimos años se ha demostrado que los polifenoles presentes en las moras criollas costarricenses son estimuladores de actividades biológicas tales como actividad antimutagénica, antiviral, anticancerígena, antitumoral, quimioprotectora y antioxidante. Sin embargo se desconoce qué factores pueden provocar fluctuaciones de dichos compuestos en las plantas de mora. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto del compost y variables agroclimáticas, sobre la concentración de polifenoles en frutos de mora (*Rubus adenotrichos* Schtdl) variedad “Vino” en dos escenarios agroecológicos de Costa Rica. Entre febrero de 2014 y agosto de 2015, se estableció un experimento en la Luchita del Guarco, Cartago y otro en la Trinidad de Dota, San José. Se evaluaron dos dosis de un abono orgánico aplicado a plantas de mora y un control: control 0 kg (0 ton/ha/año), 5 kg (8,3 ton/ha/ año) y 15 kg (24,5 ton/ha/ año). Se estableció un diseño de bloques al azar con 12 repeticiones en ambas localidades. La frecuencia de aplicación de abono fue cada tres meses. Se evaluaron propiedades químicas de los suelos a los 0, 3, 6, 9, 12 y 18 meses después de aplicado el compost, así como propiedades microbiológicas a los 6, 12 y 18 meses. Se registró la temperatura, humedad relativa y radiación fotosintéticamente activa (PAR) diaria en cada finca, mediante sensores climatológicos. Se analizó la disponibilidad de nutrientes en el follaje, mediante muestreos un mes antes de los picos de producción (entre febrero y abril de cada año). Se determinaron propiedades físicas y químicas de las frutas: humedad, pH, grados Brix (°Bx), acidez titulable y concentración de antocianinas y elagitaninos. Se evaluó la calidad del abono orgánico utilizado en campo, mediante un análisis químico, comparándolo a este con otros tres abonos orgánicos de fabricación diferente. Además se realizó un bioensayo en invernadero con una planta indicadora del aporte de nutrimentos del compost y los otros abonos. Los resultados indicaron que las dosis de abono aplicadas no mostraron efecto significativo ($P > 0,05$) sobre las propiedades físicas y químicas en los frutos de mora, ni sobre los nutrimentos a nivel foliar en ninguna de las localidades. El aumento de elagitaninos y grados Brix (°Bx) en la Trinidad, estuvo ligado a suelos ácidos con concentraciones altas de K, P, Cu, Zn y Fe, así como a altos porcentajes de materia orgánica e indicadores microbiológicos igualmente altos. La Luchita se caracterizó por presentar frutos con mayor porcentaje de humedad y acidez en base seca, mientras la Trinidad se caracterizó por mostrar frutos con mayor cantidad de sólidos solubles y concentración de polifenoles. El aumento en polifenoles también estuvo ligado positivamente a características agroclimáticas como: mayor elevación (m.s.n.m) y alta radiación fotosintéticamente activa (PAR), pero bajos porcentajes de humedad relativa y baja temperatura, así como a periodos de estrés hídrico. El bioensayo que se realizó para mostrar la calidad del abono utilizado, reveló que este no proporcionó la calidad nutricional esperada, según los elementos antes mencionados, con efecto positivo sobre los polifenoles en frutos mora, siendo los otros sustratos evaluados significativamente superiores ($P < 0,005$) en comparación al compost utilizado en campo.

Palabras Clave: *Rubus adenotrichos*; compost; clima; polifenoles; bioensayo.

ABSTRACT

In recent years, polyphenols found in native berries of Costa Rica have proved to be stimulators of biological activity such as antimutagenic, antiviral, anticancer, antitumor, antioxidant and chemopreventive. What factors cause fluctuations of such compounds in blackberries are yet unknown. The objective of this research was to evaluate the effect of compost and agroclimatic variables on the concentration of polyphenols in blackberry fruits (*Rubus adenotrichos* Schtdl) Vino variety at two agroecological scenarios of Costa Rica. One field trial was conducted at La Luchita del Guarco, Cartago and another at La Trinidad de Dota, San José from february 2014 to august 2015. Two doses of an organic fertilizer and a control were evaluated: control 0 kg/plant (0 ton/ha/year), 5 (8,3 ton/ha/year) and 15 (24,5 ton/ha/year). A randomized blocks design with 12 replicates at both locations was established. The application frequency was once every three months during 18 months. Chemical and microbiological properties of soils were evaluated at 0, 3, 6, 12, 15, 18 and 6, 12, 18 months respectively after the compost applications. Temperature, relative humidity and photosynthetically active radiation (PAR) were daily recorded in each farm by weather sensors. Availability of nutrients in the leaves was analyzed by sampling a month before peak production (from february to april each year). Physical and chemical properties of fruits were evaluated: moisture, pH, degrees Brix, titratable acidity and concentration of anthocyanins and ellagitannins. Quality of the organic fertilizer was determined by chemical analysis, comparing this with three different manufacturing organic fertilizers. Plus greenhouse bioassays performed with a compost and nutrient supply indicator plant. The results indicated that the doses of the fertilizer applied showed no significant effect ($P>0.05$) on the chemical and physical properties of blackberry fruits, or on the leaves nutrient levels at both locations. The increase in ellagitannins and degrees Brix appeared to be linked to acid soils with high concentrations of K, P, Cu, Zn and Fe, as well as high percentages of organic matter and equally high microbiological indicators. La Luchita was characterized by fruits with the highest percentage of moisture and acidity on dry basis, while La Trinidad was characterized by fruits with the highest amount of soluble solids and highest concentration of polyphenols. The increase in polyphenols also seems to be positively linked to agroclimatic features such as higher elevation (MASL) and higher photosynthetically active radiation (PAR), but low percentages of relative humidity and low temperature, as well as periods of water stress. The bioassay conducted showed that the quality of the fertilizer used, did not provide the expected nutritional quality according to the aforementioned elements, with positive on the fruits polyphenols, and the other substrates evaluated were significantly superior ($P<0.005$) than compost.

Key words: *Rubus adenotrichos*; compost; weather; polyphenols; bioassay.

ÍNDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
RESUMEN.....	iii
ABSTRACT	iv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	3
2.1. GENERAL	3
2.2. ESPECÍFICOS	3
III. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
3.1. El cultivo de mora criolla en Costa Rica.....	4
3.1.1. Taxonomía.....	5
3.1.2. Morfología.....	5
3.2. Polifenoles asociados al cultivo de mora	6
3.2.1. Definición y acción de los antioxidantes.....	7
3.2.2. Antioxidantes en la mora.....	8
3.3. Abonos orgánicos.....	11
3.3.1. Los microorganismos del suelo.....	13
3.3.1.1. Efecto de los microorganismos sobre el suelo	14
3.3.1.2. Efecto de los factores climáticos relacionados a la caracterización microbiológica del suelo.....	16
3.3.2. Indicadores de calidad y salud del suelo	17
3.4. Factores ambientales, geográficos y edáficos relacionados al contenido de polifenoles ..	18
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	21
4.1. Selección de las dos localidades de estudio	21
4.2. Tratamientos.....	22
4.3. Diseño experimental.....	23
4.4. Manejo agronómico de la plantación	23
4.5. Variables evaluadas.....	25
4.5.1. Indicadores de la calidad del suelo y el abono	25
4.5.1.1. Fase experimental en campo	25
4.5.1.1.1. Análisis químico del suelo	25

4.5.1.1.1.2.	Análisis físico del suelo.....	26
4.5.1.1.1.3.	Análisis microbiológico del suelo	26
4.5.1.2.	Fase experimental en invernadero	32
4.5.1.2.1.	Determinación de calidad del abono	32
4.5.2.	Variables evaluadas en la parte aérea de plantas de mora.....	34
4.5.2.1.	Evaluación de muestras foliares	34
4.5.2.2.	Índices de calidad de fruta.....	34
4.5.3.	Evaluación de variables agroclimáticas	37
4.5.3.1.	Análisis climatológico.....	37
4.5.3.2.	Determinación de la relación temperatura, humedad relativa y radiación fotosintéticamente activa con los polifenoles.....	38
4.5.3.3.	Determinación de la relación déficit de presión de vapor- Polifenoles.....	38
4.5.4.	Análisis estadístico de los datos	39
V.	RESULTADOS	40
5.1.	Indicadores de la calidad del abono y el suelo	40
5.1.1.	Fase experimental en campo	40
5.1.1.1.	Indicadores químicos de la calidad del suelo	40
5.1.1.2.	Indicadores físicos de la calidad del suelo	43
5.1.1.3.	Indicadores microbiológicos de la calidad del suelo.....	43
5.1.2.	Fase experimental en invernadero	47
5.1.2.1.	Calidad del abono.....	47
5.2.	Variables evaluadas en la parte aérea.....	55
5.2.1.	Fase experimental en campo con plantas de mora	55
5.2.1.1.	Dinámica de nutrimentos en el follaje.....	55
5.2.1.2.	Características químicas de la fruta.....	58
5.3.	Variables agroclimáticas	60
5.3.1.	Relación entre polifenoles y condiciones agroclimáticas.....	62
5.3.2.	Relación entre el déficit de presión de vapor, Condiciones agroclimáticas y Polifenoles.....	66
VI.	DISCUSIÓN	69
6.1.	Indicadores de la calidad del abono y el suelo	69
6.1.1.	Fase experimental en campo	69
6.1.1.1.	Indicadores químicos de la calidad del suelo	69
6.1.1.2.	Indicadores físicos de la calidad del suelo	73

6.1.1.3.	Indicadores microbiológicos de la calidad del suelo.....	74
6.1.2.	Fase experimental en invernadero.....	79
6.1.2.1.	Calidad del abono.....	79
6.2.	Variables evaluadas en la parte aérea.....	82
6.2.1.	Fase experimental en campo con plantas de mora	82
6.2.2.	Dinámica nutricional en el follaje	82
6.2.3.	Fruta	85
6.3.	Relación entre abono, suelo, clima y fruta	89
VII.	CONCLUSIONES	90
VIII.	RECOMENDACIONES	91
IX.	LITERATURA CITADA.....	92

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Contenido de los principales polifenoles identificados en las especies de mora <i>R. adenotrichos</i> (Costa Rica) y <i>R. glaucus</i> (Ecuador).....	7
Cuadro 2. Características de las localidades seleccionadas según productor, cantón, geolocalización, elevación, precipitación, zona de vida, orden, textura y densidad aparente del suelo.	21
Cuadro 3. Análisis químico del suelo (n=4), según dosis de compost. Luchita del Guarco, Cartago.	41
Cuadro 4. Análisis químico del suelo (n=4), según dosis de compost. Trinidad de Dota, San José.	42
Cuadro 5. Densidad aparente (Dap) en ambas localidades de estudio.....	43
Cuadro 6. Efecto del compost, sobre indicadores microbiológicos de suelo (n=4). Luchita del Guarco, Cartago.	45
Cuadro 7. Efecto del compost, sobre indicadores microbiológicos de suelo (n=4). Trinidad de Dota, San José.	45
Cuadro 8. Efecto del compost, sobre la tasa de mineralización del N en el suelo (n=8). Luchita del Guarco, Cartago.	46
Cuadro 9. Efecto del compost, sobre la tasa de mineralización del N en el suelo (n=8). Trinidad de Dota, San José.	46
Cuadro 10. Valores medios (n=4) de follaje, raíz y altura de plantas de maíz (n=4) según sustrato de siembra en macetas y mantenidas en ambiente protegido. Suelo colectado en la Luchita del Guarco, Cartago.	48
Cuadro 11. Valores medios (n=4) de follaje, raíz y altura de plantas de maíz (n=4) según sustrato de siembra en macetas y mantenidas en ambiente protegido. Suelo colectado en la Trinidad de Dota, San José.	50
Cuadro 12. Absorción total de nutrimentos (parte aérea) de maíz (n=4), basadas en el análisis químico foliar de plántulas sembradas en sustratos de abono orgánico y suelo en proporción 1:9, bajo condiciones de ambiente protegido. Luchita del Guarco, Cartago.	51
Cuadro 13. Absorción total de nutrimentos (parte aérea) de maíz (n=4), basadas en el análisis químico foliar de plántulas sembradas en sustratos de abono orgánico y suelo en proporción 1:9, bajo condiciones de ambiente protegido. Trinidad de Dota, San José.	53
Cuadro 14. Elementos a nivel foliar de mora (<i>Rubus adenotrichos</i>) (n=4), según dosis de compost. Luchita del Guarco, Cartago.	56
Cuadro 15. Elementos a nivel foliar de mora (<i>Rubus adenotrichos</i>) (n=4), según dosis de compost. Trinidad de Dota, San José.	57
Cuadro 16. Efecto del compost sobre los indicadores de calidad de fruta de mora (<i>Rubus adenotrichos</i>) (n=4). Luchita del Guarco, Cartago.	59
Cuadro 17. Efecto del compost sobre los indicadores de calidad de fruta de mora (<i>Rubus adenotrichos</i>) (n=4). Trinidad de Dota, San José.	59

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Acción secuestrante de los antioxidantes contra los radicales libres.	8
Figura 2. Estructura química de las antocianinas.	10
Figura 3. Estructura química de los principales taninos del ácido elágico encontrados en <i>R. adenotrichos</i>	11
Figura 4. Croquis del diseño experimental de la finca “La Luchita” Miguel Mena.	24
Figura 5. Croquis del diseño experimental finca de la “La Trinidad” Francisco Garita.	24
Figura 6. Efecto del compost sobre los actinomicetes del suelo, evaluados por el método de dilución seriada (10^{-4}), en ambas localidades.	44
Figura 7. Efecto del compost sobre las bacterias del suelo, evaluados por el método de dilución seriada (10^{-4}), en ambas localidades.	44
Figura 8. Efecto del compost sobre los hongos del suelo, evaluados por el método de dilución seriada (10^{-4}), en ambas localidades.	44
Figura 9. Temperatura media mensual por localidad, durante el periodo de estudio 2014-2015. ..	61
Figura 10. Porcentaje de humedad relativa media mensual por localidad, durante el periodo de estudio 2014-2015.	61
Figura 11. Radiación fotosintéticamente activa media mensual por localidad, durante el periodo de estudio 2014-2015.	61
Figura 12. Relación entre la concentración de antocianinas expresada en mg de cianidin 3-glucosido/100g y la temperatura ($^{\circ}\text{C}$) en dos localidades.	63
Figura 13. Relación entre la concentración de elagitaninos expresada en mg ácido elágico/100g y la temperatura ($^{\circ}\text{C}$) en dos localidades.	63
Figura 14. Relación entre la concentración de antocianinas expresada en mg de cianidin 3-glucosido/100g y la humedad relativa (%) en dos localidades.	64
Figura 15. Relación entre la concentración de elagitaninos expresada en mg ácido elágico/100g y la humedad relativa (%) en dos localidades.	64
Figura 16. Relación entre la concentración de antocianinas expresada en mg de cianidin 3-glucosido/100g y la radiación fotosintéticamente activa ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en dos localidades.	65
Figura 17. Relación entre la concentración de elagitaninos expresada en mg ácido elágico/100g y la radiación fotosintéticamente activa ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en dos localidades.	65
Figura 18. Relación entre la radiación fotosintéticamente activa (PAR) expresa en $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y el déficit de presión de vapor (KPa) en dos localidades y periodos de cosecha.	67
Figura 19. Relación entre la temperatura expresa en grados $^{\circ}\text{C}$ y el déficit de presión de vapor (KPa) en dos localidades y periodos de cosecha.	67
Figura 20. Relación entre el déficit de presión de vapor expresado en KPa y la concentración de antocianinas (mg de cianidin 3-glucosido/100g) en dos localidades.	68
Figura 21. Relación entre el déficit de presión de vapor expresado en KPa y la concentración de elagitaninos (mg ácido elágico/100g) en dos localidades.	68

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Información Climatológica.....	116
Anexo 2. Unidades Formadoras de Colonias.....	117
Anexo 3. Géneros de Hongos hallados en ambas localidades.	120
Anexo 4. Géneros de Bacterias hallados en ambas localidades.....	121
Anexo 5. Resúmenes de análisis de varianza.....	122
Anexo 6. Cálculos realizados.....	127
Anexo 7. Síntesis de metodología empleada para los análisis químicos y físicos de suelo.	131
Anexo 8. Composición química del abono	132
Anexo 9. Requerimientos nutricionales del cultivo de mora a nivel foliar.....	135
Anexo 10. Macro y micronutrientes en el cultivo de mora (<i>Rubus</i> spp).	137

I. INTRODUCCIÓN

Este estudio siguió una línea de investigación que data del año 2003. En este año se realizó en el distrito El Empalme, provincia de San José, el Primer Foro-Taller Nacional, sobre el cultivo de la mora. Al finalizar dicha actividad y tras la necesidad que manifestaron los agricultores, se concluyó que no existía suficiente conocimiento en el país sobre el efecto de la aplicación de abonos orgánicos en el comportamiento agronómico, el rendimiento y la calidad de la fruta de moras criollas cultivadas en las zonas productoras (Flores *et al.* 2003).

A partir de entonces y con la necesidad de responder las inquietudes generadas en aquel momento surgieron diversas investigaciones. El presente estudio formó parte de una de ellas y estuvo involucrado en el proyecto titulado: “Evaluación de procesos biotecnológicos y determinación de la influencia de los factores agroclimáticos en el cultivo de mora (*Rubus adenotrichos*) para la obtención de extractos de polifenoles”, proyecto que es desarrollado por el programa de Biotecnología y Recursos Genéticos para el Fitomejoramiento (BIOVERFI) de la Escuela de Ciencias Agrarias (ECA) de la Universidad Nacional (UNA) en coordinación con el Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR) y la Universidad de Costa Rica (UCR), el cual contó con el financiamiento con Fondos Especiales del Sistema de Educación Superior (FEES) y el apoyo de las vicerrectorías de investigación de las universidades mencionadas.

En Costa Rica, el cultivo de mora (*Rubus* spp) es realizado por alrededor de 800 pequeños agricultores, ubicados principalmente en las provincias de San José y Cartago, donde se combina con otras actividades agrícolas y es mayoritariamente considerado como un cultivo silvestre (Flores *et al.* 2003, Castro y Cerdas 2005, Flores y Argüello 2005). A nivel nacional la variedad de mora más cultivada es la denominada mora “Vino”, cuyo sabor es ácido, seguida por la Castilla y la Negrita, las cuales se definen por diferir en cuanto características físicoquímicas como firmeza, tamaño, micro-nutrientes (polifenoles) y balance acidez/grados Brix (Castro y Cerdas 2005, Céspedes *et al.* 2008).

Con relación a los micro-nutrientes las antocianinas (un tipo de flavonoide) son compuestos que se hallan en moras criollas costarricenses (“Vino”) y brindan un alto contenido de polifenoles totales, así como la mayoría de colores rojos, púrpuras y azules que exhiben frutas como las moras (Benvenuti *et al.* 2004, Moyer *et al.* 2002, Wang y Lin 2000). Dichos compuestos también han demostrado relacionarse con beneficios para la salud (Shahidi y Marian 2003), dado que son capaces de prevenir enfermedades letales tales como; diabetes y cáncer, así como mejorar la circulación sanguínea, e incluso retardar los efectos del aumento en la edad, particularmente en la pérdida de memoria y habilidades motoras (Wang *et al.* 1997).

Por su parte, los elagitaninos (un tipo de tanino) son compuestos que se encuentran en pocos alimentos, principalmente en bayas (del género *Rubus*), granada real y algunas especies de nueces, los cuales al igual que las antocianinas poseen potentes propiedades antioxidantes y biológicas beneficiosas para la salud (Bakkalbasi *et al.* 2009), entre las que destacan su actividad anticancerígena (Castonguay *et al.* 1997) y la prevención de enfermedades cardiovasculares (Aviram *et al.* 2000). Por lo que considerando las propiedades antioxidantes presentes en las moras tipo “Vino” es que adquiere importancia indagar sobre los posibles factores que afectan los polifenoles en los frutos de dichas bayas tales como: variantes agroclimáticas (Galili y Hofgen 2001, Ortiz *et al.* 2010) y propiedades químicas en los suelos. (Orozco y Muñoz 2011, Alí *et al.* 2012).

Finalmente y dado todo lo anterior, es que se hace necesario trabajar en la generación de conocimiento científico y tecnológico que involucre a las moras (*Rubus* spp.) criollas costarricenses como alimento con alto potencial antioxidante, con el propósito de contribuir a la salud y dar respuesta a las interrogantes que rodean el comportamiento de los polifenoles asociados al cultivo de mora.

II. OBJETIVOS

2.1. GENERAL

Evaluar el efecto del compost y variables agroclimáticas, sobre la concentración de polifenoles en frutos de mora Vino en dos condiciones agroecológicas.

2.2. ESPECÍFICOS

- Analizar el efecto del compost, sobre la concentración de polifenoles en frutos de mora, mediante la medición de indicadores de calidad del suelo y foliares.
- Establecer las relaciones entre las variables agroclimáticas y la concentración de polifenoles en frutos de mora.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. El cultivo de mora criolla en Costa Rica

Para el 2005 se cultivaron aproximadamente 20 035 ha de mora a nivel mundial cuya producción se estimó en 140 292 Ton. Para Centroamérica, los únicos dos países que reportan cultivos comerciales son Costa Rica y Guatemala, con un total de 1 640 ha cultivadas. De este total 1550 ha corresponden al área cultivada en Costa Rica, principalmente en las partes altas de San José y Cartago. Para el caso de Guatemala, el área disponible para este cultivo disminuyó un 63% de 1995 al 2005 (Strik *et al.* 2007).

En el país el género *Rubus* se extiende en las partes más altas del país (1400-2500 msnm), ubicados principalmente en el Cerro de la Muerte y sus alrededores. La mayor expansión del área sembrada de mora se ha dado en la Zona de los Santos (Tarrazú, Dota, León Cortés), el Guarco y las partes altas de Pérez Zeledón. El ciclo de vida del cultivo de mora es perenne, lo que permite que exista producción casi todo el año, no obstante la mayor producción en Costa Rica ocurre en los meses de marzo y abril (Cerdas y Montero 1992).

En Costa Rica la principal variedad de mora comercializada es la “Vino” o criolla, dado que es la considerada con mayores rendimientos. Esta fruta crece en alturas sobre 1500 msnm, sus plantaciones son dispersas y las cosechas no son programadas. La producción generalmente es certificada como orgánica, ya que la mora crece de forma silvestre. Los materiales más utilizados como abono por parte de algunos productores han sido la gallinaza y el carbonato de calcio. Sin embargo, dependiendo de la condición del suelo, se aplican otros derivados para una mejor nutrición (Mora 2006).

En general, todas las plantaciones de mora criolla se manipularon en forma artesanal hasta mediados del decenio pasado, cuando se inició la validación, adopción y adaptación de nuevas técnicas en el manejo del cultivo de mora, como son: podas, producción de semilla *in vitro*, fertilización, distancias de siembra y adecuado manejo poscosecha, las cuales hoy

en día se siguen implementando, dejando atrás el manejo artesanal (Cerdas y Montero 1992).

3.1.1. Taxonomía

Reino: Plantae

Subreino Embryobionta

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Rosales

Familia: Rosaceae

Género: *Rubus*

Especie: *adenotrichos*

(Nach y Dieterle 1976).

3.1.2. Morfología

La planta de mora es arbustiva y perenne, de porte erecto a semierecto, conforme crece se arquea y llega al suelo. Desarrolla raíces en los entrenudos y ápices o puntas. Estas raíces crecen horizontalmente y alcanzan una profundidad de entre 30-50 cm, dependiendo del tipo de suelo (arcilloso, arenoso, limoso), disponibilidad de nutrientes, humedad disponible y temperatura del suelo (Castro y Cerdas 2005). Además, se puede describir como una planta con hojas de bordes dentados tri o pentafoliadas, dependiendo de la especie y estado de desarrollo (Flores *et al.* 2003).

Los tallos miden de 1-3 metros de largo, arqueados, densamente cubiertos por largos pelos glandulares, puntiagudos y con pilosidades cortas formados por puntas curvas, las hojas formadas por cinco folíolos, los cuales pueden ser cetáceos, glandulares y aculados. Las hojas del follaje son ovaladas y elípticas u ovoides, la mayoría de 5-10 centímetros de largo y de 3-5 cm de ancho, redondeadas y subcordadas en la base, raramente finas y doblemente aserrados; ampliamente piloso en la parte de arriba, pálido y densamente piloso en los

bordes, las flores en panículas piramidales de 1cm de largo, de pilosidad blanca y glandular, pétalos de color blanco o rosado de 4 cm de largo; fruto ovoide, rojo o negro al madurar de aproximadamente 4 cm de grueso, drupas numerosas y glabras (Flores *et al.* 2003).

Cada glóbulo en un fruto de mora se llama drupa. Esta drupa contiene su semilla y se une a un receptáculo carnoso del cual no se desprenden al momento de la cosecha (Flores y Argüello 2005). Las polidrupas pueden presentar de 30 a 90 frutos cada una, pueden ser de forma redondeada o elipsoidal, de color rojo como la mora tipo “castilla” a morado oscuro como los frutos de las variedades “negrita”, “ratón”, “caballo” y “Vino”. Su sabor puede ser más o menos ácido, y el peso puede variar en torno a los 3 gramos, dependiendo de la variedad y del estado de desarrollo (Castro y Cerdas 2005).

3.2. Polifenoles asociados al cultivo de mora

Los frutos de las especies del género *Rubus* contienen compuestos fenólicos a los cuales se les reconoce como agentes quimiopreventivos, las antocianinas entran en este grupo (Lohachoompol *et al.* 2004). Algunos cultivos y especies nativas de estas frutas existentes cuentan con un mayor contenido de antioxidantes, puesto que la concentración de estos compuestos varía de acuerdo con la estación y el lugar en el cual se desarrollan (Wang *et al.* 1996).

Las moras son consideradas en la actualidad como fuente rica en polifenoles que son compuestos que se producen en el metabolismo secundario, los cuales en su mayoría son taninos elágicos y antocianinas (cuadro 1). Los compuestos formados a partir de la hidrólisis de taninos elágicos han recibido gran atención, debido a sus importantes actividades biológicas tales como actividad antimutagénica, antiviral, anticancerígena, antitumoral, quimioprotectora y antioxidante. Por su parte las antocianinas son los pigmentos más importantes de las plantas vasculares responsable de colores naranja, rosa, rojo, violeta y azul en las flores y frutos de algunas plantas y son conocidos como

potenciales reemplazos de colorantes sintéticos. Estos compuestos además poseen actividad antioxidante y desempeñan un papel importante en la prevención de enfermedades cardiovasculares, cáncer y diabetes entre otros (Castañeda *et al.* 2009).

Cuadro 1. Contenido de los principales polifenoles identificados en las especies de mora *R. adenotrichos* (Costa Rica) y *R. glaucus* (Ecuador).

Polifenoles	<i>R. adenotrichos</i> (mg/100g materia seca)	<i>R. glaucus</i> (mg/100g materia seca)
Antocianinas		
Cianidina-3-glucósido	680 ± 20	380 ± 20
Cianidina-3-rutinósido	ND	630 ± 20
Cianidina-3-malonil glucósido	40 ± 3	ND
Taninos del ácido elágico		
Lambertianina C	598 ± 20	520 ± 30
Sanguina H6	420 ± 17	2450 ± 100

* Los resultados mostrados corresponden al promedio ± la desviación estándar (n=3). ND = No detectado. Adaptado de Mertz *et al.* (2007).

3.2.1. Definición y acción de los antioxidantes

La capacidad antioxidante celular está dada por mecanismos a través de los cuales la célula anula la reactividad o inhibe la generación de radicales libres (Thornalley y Vasak 1985, Palamada y Kehrer 1992, Greenwald 1990). Estos mecanismos son adecuados para la corta vida media de los radicales libres y comprenden moléculas pequeñas, endógenas y exógenas con capacidad antioxidante. Según Belitz y Grosch (1997), los mecanismos a través de los cuales los antioxidantes (AH) secuestran los radicales libres (como los radicales oxi y peroxi), se dan durante las etapas de iniciación, propagación y multiplicación en cadena (figura 1).

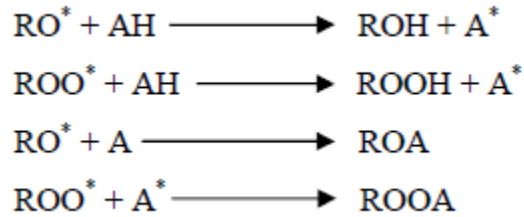


Figura 1. Acción secuestrante de los antioxidantes contra los radicales libres.

El esquema de reacción de la figura 1 muestra que una molécula antioxidante puede interrumpir dos reacciones en cadena. Los antioxidantes no actúan sólo como secuestradores de radicales, sino que disminuyen los hidroperóxidos formados a compuestos hidroxí (Belitz y Grosch 1997). Los antioxidantes exógenos provienen de la dieta, y dentro de este grupo se incluyen la vitamina E, la vitamina C y los carotenoides como los grupos de antioxidantes más conocidos debido a sus propósitos nutricionales (Avello y Suwalsky 2006).

Se han descubierto en algunos alimentos otros antioxidantes no nutrientes como los compuestos fenólicos. Algunas fuentes son los frijoles (isoflavonas), cítricos y bayas (flavonoides), cebollas (quercetina) y aceitunas, todas con una cantidad elevada de polifenoles. También se han encontrado algunos antioxidantes fenólicos en el café, vino tinto y té (Avello y Suwalsky 2006). Los compuestos fenólicos se encuentran en la mayoría de las frutas y en un gran número de casos contribuyen al color y sabor de las mismas (Belitz y Grosch 1997).

3.2.2. Antioxidantes en la mora

Las bayas como el arándano y la mora son frutas ricas en antocianinas y otros antioxidantes (Lohachompol *et al.* 2004). Algunos cultivos y especies nativas de estas frutas existentes cuentan con un mayor contenido de antioxidantes, puesto que la concentración de estos compuestos varía de acuerdo con la estación y el lugar en el cual se desarrollan (Wang *et al.* 1996).

Uno de los grupos mayoritarios de antioxidantes son los polifenoles, compuestos que son efectivos donadores de hidrógenos. Su potencial antioxidante es dependiente del número y de la posición de los grupos hidroxilos y su conjugación, así como de la presencia de electrones donadores en el anillo estructural, como resultado de la capacidad que posee el grupo aromático de soportar el desapareamiento de electrones por desplazamiento del sistema de electrones- π (Kuskoski *et al.* 2004).

Dependiendo de su estructura química puntual, estos metabolitos actúan como antioxidantes donadores de hidrógeno y también como quelantes de iones metálicos, previniendo la formación de metales catalizadores, o inhibiendo las especies radicales (Kaur y Kapoor 2001). Su funcionalidad es también expresada por su acción inhibidora o activadora de una amplia variedad de sistemas enzimáticos (Sánchez *et al.* 2003).

Los polifenoles incluyen distintas clases de compuestos tales como los ácidos hidroxibenzoicos, los ácidos hidroxicinámicos y los flavonoides (Siriwoharn *et al.* 2004). El término flavonoide es el nombre colectivo que se utiliza para mencionar a los pigmentos de las plantas que son generalmente derivados de benzo- γ -pirona (Havsteen 2002). Más de 4000 variedades de flavonoides ya han sido identificados (Nijveldt *et al.* 2001). Dentro de este grupo de compuestos se encuentran las flavonas, isoflavonas, catequinas y las antocianinas (Moyer *et al.* 2002).

Las antocianinas tienen una estructura química adecuada para actuar como antioxidantes, pueden donar hidrógenos o electrones a los radicales libres o bien atraparlos y desplazarlos en su estructura aromática (figura 2). Una actividad antioxidante óptima se relaciona con la presencia de grupos hidroxilos en las posiciones 3' y 4' del anillo B, los cuales confieren una elevada estabilidad al radical formado (Kuskoski *et al.* 2004).

Los grupos hidroxilos libres en la posición 3 del anillo C y en la posición 5 del anillo A, junto con el grupo carbonilo en la posición 4 son donadores de electrones. La diversidad

estructural contribuye favorablemente a la existencia natural de unas 300 antocianinas con diferentes sustituciones glucosídicas, en la estructura básica del ion fenil-2-benzopirilio o flavilio, representado en la figura 2 para las principales antocianinas (Kuskoski *et al.* 2004).

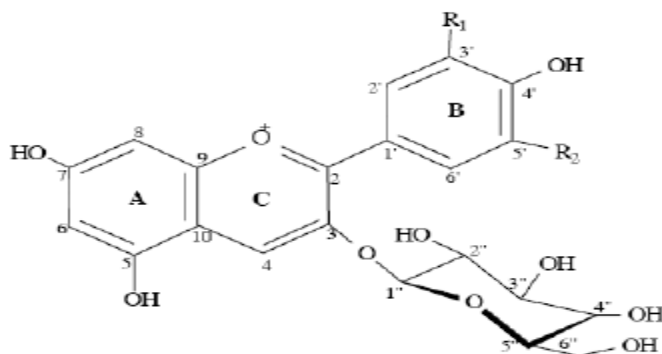


Figura 2. Estructura química de las antocianinas.

Tomada de Kuskoski *et al.* (2004).

En relación a lo anterior gran cantidad de estudios se han dedicado a identificar y caracterizar los diferentes tipos de antocianinas en la mora. En general se han identificaron cinco tipos diferentes de antocianinas en diferentes especies de mora, como lo son la cianidina-3-glucósido (antocianina principal), cianidina-3-rutinósido, ácido malónicoacetilado, xilosa-cianidina derivado y cianidina 3-dioxalyl-glucósido (Siriwoharn *et al.* 2004). Wada y Ou (2002) también reportan la presencia de la cianidina 3-(6'-*p*coumaril)- glucósido en las bayas Marion y la cianidina-3-arabinósido en moras Evergreen. Otro estudio realizado por Dugo *et al.* (2001) reportó la presencia de la cianidina-3-galactósido, cianidina- 3-arabinósido, pelargonidina-3-glucósido y malvidina-3-glucósido en una mora comercial italiana. Para la variedad *R. adenotrichus*, se identificaron la cianidina-3-glucósido y la cianidina-3-malonilglucósido como las principales antocianinas (Mertz *et al.* 2007).

Por otro lado, los taninos son compuestos fenólicos hidrosolubles con un peso molecular comprendido entre 500 y 3000 Da (daltons). Estos compuestos contienen un gran número

de grupos hidroxilo, entre otros grupos funcionales, siendo por tanto capaces de unirse a proteínas y a otras macromoléculas (Martínez *et al.* 2000).

Pueden clasificarse en dos grupos: taninos hidrolizables (taninos del ácido elágico y del ácido gálico) y no hidrolizables o taninos condensados (proantocianidinas) (Williamson y Manach 2005). Los taninos del ácido elágico son compuestos bioactivos que se encuentran en algunas frutas como frambuesa, fresa y en algunas nueces. Algunos taninos y derivados del ácido elágico han sido detectados en algunas especies de *Rubus* (figura 3), pero la cantidad reportada depende del análisis utilizado (Mertz *et al.* 2007).

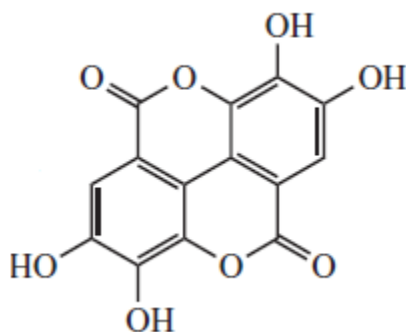


Figura 3. Estructura química de los principales taninos del ácido elágico encontrados en *R. adenotrichos*.

Tomada de Mertz *et al.* (2007).

3.3. Abonos orgánicos

A nivel mundial, ha aumentado el interés por el uso de abonos orgánicos como una forma alternativa de fertilización en los sistemas agrícolas, dado el incremento en los precios de los agroquímicos derivados del petróleo, la toma de conciencia de los productores y consumidores sobre la necesidad de proteger el ambiente y la salud humana, así como por las cualidades que poseen los abonos para mejorar las condiciones físicas y químicas del suelo, sustituir las pérdidas de materia orgánica y estimular la actividad biológica (Melgarejo *et al.* 1997, Thiers 2005, Hargreaves *et al.* 2008, Gomiero y Paoletti 2008, Lovieno *et al.* 2009, Erhart y Hartl 2010, Ghordani *et al.* 2010, Yan y Gong 2010).

La producción de mora criolla en Costa Rica es desarrollada por pequeños agricultores y se distribuye en aproximadamente 1500 ha, con bajo uso de insumos (Flores *et al.* 2003, Castro y Cerdas 2005), por lo que el uso de abonos de origen orgánico se torna una alternativa de fertilización. En cultivos no tradicionales como la mora, ha crecido el interés, por parte de los agricultores, en usar este insumo, ya que existe una mayor demanda de productos orgánicos y un mayor interés de los consumidores en adquirir productos inocuos y de mayor calidad (Orozco y Muñoz 2011).

Por otro lado es importante destacar que los organismos del suelo (biota), incluyendo los microorganismos, usan los residuos de las plantas y los animales y los derivados de la materia orgánica como alimentos. A medida que descomponen los residuos y la materia orgánica, los nutrientes en exceso (nitrógeno, fósforo y azufre) son liberados dentro del suelo en formas que pueden ser usadas por las plantas (disponibilidad de nutrientes). Los productos de desecho producidos por los microorganismos contribuyen a la formación de la materia orgánica del suelo. Los materiales de desecho son más difíciles de descomponer que el material original de las plantas y los animales, pero pueden ser usados por un gran número de organismos (Balota *et al.* 1996).

Mediante la descomposición de los residuos y el almacenamiento del carbono dentro de su propia biomasa o mediante la reconstrucción de nuevas estructuras de carbono, la biota del suelo tiene una función muy importante en los procesos de reciclaje de nutrientes y, por lo tanto, en la capacidad de un suelo para proveer al cultivo con suficientes nutrientes para cosechar un buen producto (Balota *et al.* 1996). La descomposición de la materia orgánica es un proceso biológico que ocurre naturalmente. Su velocidad es determinada por tres factores principales: la composición de los organismos del suelo, el entorno físico (oxígeno, humedad y temperatura) y la calidad de la materia orgánica (FAO 2002).

Existen dos fracciones en las que ocurre dicha descomposición y son la de descomposición lenta que comprende materiales como (celulosa, grasas, ceras y resinas) o muy lenta (lignina) y la fracción activa del suelo comprende materiales orgánicos como azúcares,

almidones y proteínas, los cuales son el principal suministro de alimentos para varios organismos vivos del suelo. Cabe resaltar que la anterior fracción es fuertemente influenciada por las condiciones climáticas, el estado de humedad del suelo, la etapa de desarrollo de la vegetación, la adición de residuos orgánicos y las prácticas culturales (FAO 2002).

Los organismos y las interacciones entre ellos estructuran la red alimenticia del suelo. La energía necesaria para todas las redes alimenticias es generada por los productores primarios: plantas, líquenes, musgos, bacterias fotosintéticas y algas que usan la luz del sol para transformar el dióxido de carbono (CO₂) de la atmósfera en carbohidratos. La mayor parte de los organismos dependen de los productores primarios para obtener su energía y nutrientes: son los llamados consumidores (FAO 2002).

3.3.1. Los microorganismos del suelo

Los microorganismos, tales como las bacterias, y los invertebrados grandes como las lombrices de tierra y los insectos, ayudan a descomponer los residuos de los cultivos mediante su ingestión y mezcla con el mineral madre del suelo; en el proceso reciclan energía y nutrientes de las plantas (Clapperton 2003). En general, las bacterias descomponen los sustratos de fácil uso, los compuestos de carbono simple tales como las exudaciones de las raíces y los residuos frescos de las plantas y los convierten en materia orgánica. Las bacterias son especialmente importantes en la inmovilización y retención de nutrientes en sus células y, por lo tanto, previenen la pérdida de nutrientes de la zona de las raíces (Gassen 1999).

Los hongos descomponen la materia orgánica más resistente, reteniendo en el suelo los nutrientes obtenidos bajo forma de biomasa de hongos y liberación de dióxido de carbono (CO₂). El material menos resistente es descompuesto primero mientras que el material más resistente, como la lignina y las proteínas, es descompuesto en varias etapas (Clapperton 2003).

Muchos de los productos de desechos secundarios son ácidos orgánicos; por ello, los hongos ayudan a incrementar la acumulación de materia orgánica rica en ácidos húmicos, resistentes a una degradación posterior. Los descomponedores son además importantes para la descomposición de las estructuras de los anillos de carbono de algunos agentes contaminantes (Edwards 2000).

También en los suelos agrícolas, los protozoarios son los mayores productores del nitrógeno disponible para las plantas. Entre el 40 – 80% del nitrógeno de las plantas puede provenir de la interacción depredador-presa de protozoarios con bacterias. El nitrógeno liberado por los protozoarios está en forma de amonio (NH_4^+) y de este modo, fácilmente disponible para las raíces de las plantas y otros organismos (Clapperton 2003). Por último aunque en el país se ha producido información importante sobre los abonos orgánicos (Soto 2001, Solórzano y Alvarado 2002, Soto y Muñoz, 2002, Bertsch 2003, Meléndez 2003, Castro *et al.* 2009), indican que es necesario investigar más a profundidad el efecto de este tipo de abonos en frutales no tradicionales, como las moras criollas cultivadas en Costa Rica, y su efecto en aspectos tales como: propiedades químicas, físicas y biológicas del suelo, y su relación con la cantidad de fruta producida.

3.3.1.1. Efecto de los microorganismos sobre el suelo

La biota del suelo constituye una fracción primordial de la biodiversidad terrestre. La mayoría de la energía capturada por la vegetación se utiliza por la biota para una serie de funciones esenciales de la integridad y la productividad del sistema (Palm *et al.* 2001).

En general, la biomasa total de la biota edáfica constituye una fracción relativamente pequeña (1-8%) de la materia orgánica total del suelo. Sin embargo, se reconoce por numerosos autores que la importancia funcional de estos organismos en los ecosistemas no es directamente proporcional a su biomasa existente, pues pueden regular el comportamiento del sistema a través de sus efectos en el reciclaje de nutrientes y en la

estructura del suelo (Opperman, *et al.* 1993, Didden *et al.* 1994, Alegre *et al.* 2001, Feijoo *et al.* 2007).

De acuerdo con su participación en el proceso de descomposición, la fauna del suelo se agrupa en descomponedores y detritívoros. Los organismos descomponedores son bacterias y hongos que participan en las primeras etapas de la descomposición y consumen principalmente azúcares y aminoácidos (Martius *et al.* 2004).

En la medida que avanza la descomposición, el proceso es más lento y participan hongos septados especializados, como Ascomycetes, Basidiomycetes y Actinomycetes, que pueden degradar la celulosa, la lignina y las proteínas más complejas. Los organismos detritívoros son consumidores que se alimentan del detritus y de las poblaciones de microorganismos asociados a él (Lavelle 1997).

Una gran diversidad de invertebrados edáficos representan este grupo y se les ha clasificado, de acuerdo con su tamaño, en: micro, meso, macro y megafauna; La microfauna presenta un diámetro corporal menor que 100 μm y comprende protozoos, gusanos nematodos y rotíferos; la mesofauna (diámetro corporal entre 100 μm y 2 mm), está formada por los Acari (ácaros del mantillo), Collembola y Enchytraeidae; mientras que la macrofauna (diámetro corporal entre 2 y 20 mm) y la megafauna (mayor que 20 mm) incluyen isópodos; diplópodos, larvas de moscas (Diptera) y algunos escarabajos (Coleóptera); oligoquetos, que son las lombrices de tierra; y moluscos a que incluye a los caracoles y las babosas (Lavelle 1997).

La fauna del suelo aumenta la biodegradación y la humificación de los residuos orgánicos a través de varias vías (Tian *et al.* 1997):

1. Pulverizan los residuos orgánicos y aumentan el área superficial para la actividad microbiana.
2. Producen enzimas que transforman las biomoléculas complejas en compuestos simples y polimerizan los compuestos para formar el humus.
3. Mejoran el ambiente para el crecimiento y las interacciones microbianas.
4. Incorporan la materia orgánica en el suelo. Tian *et al.* (1997) informaron que la diversidad de la flora es capaz de liberar amonio de los residuos en descomposición; las bacterias, los hongos y los actinomicetos pueden atacar este tipo de compuestos, con la consecuente mineralización de N, aunque las tasas varían de acuerdo con los grupos involucrados. El amonio (NH_4^+) es oxidado por *Nitrosomonasa* nitrito (NO_2^-) y después a nitrato (NO_3^-) por *Nitrobacter* reacciones que proporcionan a estos organismos la energía para su proliferación y sobrevivencia (Salisbury y Ross 1994).

Además de la mineralización del N existe el fenómeno de la inmovilización, el cual lleva a la síntesis de nuevas moléculas orgánicas a partir de formas inorgánicas. Este proceso es también llevado a cabo por los microorganismos del suelo; se da en mayor grado cuando los residuos son de baja calidad (Heal *et al.* 1997). La mineralización neta de N en el suelo puede ser considerada como un balance entre los procesos de mineralización e inmovilización (Giller y Wilson 1991).

3.3.1.2. Efecto de los factores climáticos relacionados a la caracterización microbiológica del suelo

El clima modifica notablemente la naturaleza y la rapidez de la descomposición de los restos vegetales en la superficie del suelo, en especial la temperatura, la humedad y las precipitaciones, de modo que ejercen una importante influencia en el tipo y la abundancia de la materia orgánica. Estas variables modifican la rapidez de descomposición en el sentido en que si se presenta algún cambio en alguna de ellas como por ejemplo en la

temperatura, esta puede alterar la composición de la flora activa, afectar los procesos de descomposición y liberación de nutrientes, así como la actividad de los microorganismos y el desarrollo de la vegetación, los cuales son factores muy críticos en la formación del suelo (Singh 1969, Brinson 1977, Bertsch 1995).

Kononova (1975), al analizar varias publicaciones, llegó a la conclusión de que la intensidad máxima de la descomposición de la materia orgánica se observa en condiciones de temperatura moderada (alrededor de 30°C) y con un contenido de humedad de alrededor del 60-80% de la capacidad máxima de retención de agua del suelo. Sin embargo, el aumento o la disminución de la temperatura y de la humedad simultáneamente, más allá de los niveles óptimos, producen la disminución de la descomposición de la materia orgánica. Siguiendo esa misma línea de investigación Berg y Laskowski (2005) plantean que tanto la humedad, la temperatura y la precipitación pueden influir en el proceso de descomposición, siendo la combinación de la variación de la temperatura y la humedad la más influyente y que por ende pueden ejercer un mayor efecto y predecir, a partir de ello, el comportamiento de la pérdida de biomasa durante el proceso de descomposición.

3.3.2. Indicadores de calidad y salud del suelo

La calidad del suelo puede definirse como su capacidad para funcionar como un sistema vital para mantener la productividad biológica, promoviendo la calidad ambiental y la salud de plantas y animales (Doran y Zeiss 2000). En este sentido la descomposición de la materia orgánica del suelo y las correspondientes mineralización e inmovilización son procesos clave en el ciclo de algunos nutrientes como el nitrógeno (N) en el sistema suelo-planta. Estos procesos son altamente complejos, pues la materia orgánica es una mezcla muy heterogénea, constituida por restos vegetales y animales recientemente incorporados y también, por materiales húmicos muy resistentes. La biomasa microbiana, responsable de la descomposición de la materia orgánica en el suelo, está compuesta por diversos microorganismos que sufren cambios en respuesta a variaciones en temperatura, humedad, pH y estado de energía del suelo.

Para medir dicha actividad biológica del suelo existen ciertos parámetros microbianos como indicadores de calidad del suelo que caen dentro de tres principales grupos. El primero mide la población microbiana a un nivel de organismo sencillo, grupo funcional o población completa. El segundo grupo mide la actividad de toda la población, por ejemplo, mineralización de C y N orgánico del suelo. El tercero mide una combinación de ambos, actividad y población, para dar actividades específicas (Bloem *et al.* 2005).

El uso de microorganismos, en términos de biomasa, estructura de comunidad o actividad, ciertamente tiene mucho que ofrecer en este tipo de estudio. Primeramente, los microorganismos del suelo están literalmente bañados en la solución del suelo, por eso son un buen dispositivo de muestreo para la detección de contaminantes o cambios en la suplenencia de sustratos. Segundo, muchos microorganismos son en gran parte inmóviles en el suelo, estando unidos a partículas del suelo por una variedad de medios (polisacáridos o hifas). Por ejemplo, incrementos en la concentración de Al^{+3} intercambiable causados por la disminución del pH del suelo ciertamente tendrá interacción directa con la biomasa debido a las concentraciones de Al^{+3} en la corriente de difusión del suelo. Sin embargo, cualquier propiedad del suelo, sea química, física o biológica, opera dentro de un rango el cual puede ser considerado “normal”, y algunos factores de estrés como por ejemplo, el secado al aire y el re-humedecimiento del suelo puede causar que la actividad microbiana fluctúe en varios ordenes de magnitud (Brookes *et al.* 2011).

3.4. Factores ambientales, geográficos y edáficos relacionados al contenido de polifenoles

Las cantidades y tipos de fitoquímicos en una planta están determinados por un número de factores, incluyendo el genotipo, ontogenia, medio ambiente y las prácticas agrícolas (Mañach *et al.* 2004). De los factores ambientales, incluyendo todos los estímulos externos, el más influyente para síntesis fenólica es la luz, a través de su radiación y la temperatura, así como el agua y el estado nutricional. La síntesis fenólica y la acumulación de la misma en las bayas de varias plantas del genero *Rubus*, así como la uva también está determinado por factores genéticos y la interacción entre los genotipo y el medio ambiente, por lo que el

papel de los compuestos fenólicos como foto-protectores explica su dependencia en la exposición al sol.

En climas más cálidos, la alta exposición a la luz puede aumentar la concentración de compuestos fenólicos y antocianinas debido a la mayor actividad de la PAL (enzima fenilalanina amonioliasa), e incluso la exposición al sol es generalmente considerado de importancia primordial para la producción, por ejemplo de vinos de alta calidad. Sin embargo, al día de hoy no está claro si el efecto de la composición del fruto es debido a la luz visible o luz ultravioleta o ambas (Orduña 2010, Schultz *et al.* 2010, Roubelakis y Kliewer 1986, Keller *et al.* 2004).

También en estudios recientes, realizados por Berli *et al.* (2008), Berli *et al.* (2010) y Schreiner *et al.* (2012), se ha demostrado que la radiación UV-B provocan varios cambios morfológicos, fisiológicos y bioquímicos en las plantas superiores; dependiendo de la intensidad, la dosis total, las especies de plantas y el saldo entre UV-B y la radiación fotosintéticamente activa (PAR, 400-700 nm) los fenoles transforman una onda corta, de alta energía y radiación altamente destructiva en luz de longitud de onda más larga, menos destructivos para las estructuras celulares de hoja, incluyendo el aparato fotosintético.

De acuerdo a lo anterior se piensa que los flavonoles están hechos para proteger el tejido de la planta a la radiación UV mientras que se cree que las antocianinas proporcionar cierta protección a la radiación UV y las temperaturas altas extremas, por lo que la síntesis de flavonoles es un proceso dependiente de la luz (Kolb *et al.* 2001). Por su parte las antocianinas que son unos de los principales pigmentos que otorgan el color a las flores, hojas, frutos y semillas pueden acumularse por los cambios en el desarrollo de las plantas o bien cambios en el medio ambiente, donde factores tales como la luz (radiación UV), la temperatura que directamente relacionado a la funcionalidad del aparato fotosintético y la presencia o ausencia de microorganismos patogénicos o benéficos, provocan dicha acumulación (Weiss 2000, Gould *et al.* 2002, Beckman 2000, Winkel 2001, Moyer *et al.* 2002).

Reyes *et al.* (2005) evaluaron el efecto en la capacidad antioxidante de extractos de frutos de zarzamora, producido en diferentes regiones climáticas, donde reportaron que hay una diferencia significativa en el contenido de antocianinas y fenoles para diferentes regiones de cultivo, sin embargo dichas diferencias no se mantuvieron cuando fueron evaluadas por estacionalidad.

Por su parte Texeira *et al.* (2003), aseguraron que el calor, la sequía y la intensidad de la luz o UV afectan seriamente el metabolismo fenólico y, por lo tanto, la composición de la uva y el desarrollo de la misma, así como estrés hídrico aumenta el contenido de flavonoles y disminuye la expresión de genes implicados en la biosíntesis de los precursores de estilbeno.

Por otro lado pocos intentos se han hecho para vincular las condiciones del suelo al contenido fitoquímico en los cultivos; sin embargo Lester y Eischen (1996) reportaron que el melón cultivado en suelos franco arenosos presentaban menor contenido de beta-caroteno que los producidos en suelos franco limo arcillosos. Del mismo modo Oliveira *et al.* (2003) demostraron que los niveles de carotenoides en la uva (*Vitis vinifera*) fueron más afectados por características físicas del suelo como la textura y la retención hídrica que por la ausencia o presencia del riego.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Selección de las dos localidades de estudio

Para la selección de los sitios de estudio se llevó a cabo una evaluación preliminar en donde se consideró aspectos como: ubicación, acceso y compromiso del productor de mora con el proyecto de investigación. En el cuadro 2, se muestran características generales de las parcelas experimentales.

Cuadro 2. Características de las localidades seleccionadas según productor, cantón, geolocalización, elevación, precipitación, zona de vida, orden, textura y densidad aparente del suelo.

Nombre del productor	Francisco Garita	Miguel Mena
Localidad	La Trinidad	La Luchita
Cantón	Dota	El Guarco
Geolocalización	N 09°39' 45.4" W 083°53' 36.5"	N 09°44'39.9" W 083°56' 15.7"
Elevación (m.s.n.m)	2402	1935
Precipitación anuales (mm ³)	4000	4000-8000
Zona de Vida	*bmh-MB/bp-M	*bmh-MB
Orden de Suelo	Inceptisol (suelo joven con horizonte B cambico, Tropept, Humitropept, fuertemente ondulado y con pendientes de 30-60 %)	
Textura del suelo	Franco arenosa	

*Bmh-MB=bosque muy húmedo montano bajo; bp-M= Bosque pluvial montano.

4.2. Tratamientos

Los tratamientos consistieron en la aplicación de tres dosis de abono orgánico a plantas de mora: tratamiento 0 (0 kg/ha/año), tratamiento 1 (8,3 ton/ha/año, a razón de 5 kg/planta) y tratamiento 2 (24,5 ton/ha/año, a razón de 15 kg/planta). El compost utilizado fue el de la empresa Coopeagri El General R.L[®], de ahora en adelante llamado “el abono usado en campo” el cual se compone de pulpa de café (70%), cachaza de caña de azúcar (20%) y cenizas (10%). Se decidió utilizar dicho abono, debido a que el centro de fabricación del mismo es muy cercano a las parcelas de estudio y por ende no requeriría mayores gastos de transporte y acarreo para su posterior manipulación en las parcelas, además ese abono también fue utilizado en estudios previos en el cultivo de mora y en localidades muy cercanas a los puntos de estudio con resultados satisfactorios, por lo que estas razones resultaron de suficiente peso para decidir su uso en el actual experimento en su etapa de campo.

La aplicación del abono se realizó de forma manual, cada tres meses (0, 3, 6, 9, 12,15 y 18 meses) disponiendo el abono cerca de la base o corona de la planta, de 5-10 cm de distancia de la macolla de la planta en la superficie, en forma de media luna y contra la pendiente.

Se destaca que cada vez que se procedía con la aplicación del abono, se tomaba una muestra aleatorizada de este para su correspondiente análisis químico, lo que permitía tener una idea de la estabilidad del abono a aplicar (anexo 8, cuadros A 19 y A 20). Además mediante un ensayo en invernadero (bioensayo) se determinó la capacidad del abono utilizado en campo para aportar nutrimentos a las plantas, esto con el fin de comprobar la calidad del mismo.

Se realizaron análisis químico del suelo a los 0, 3, 6, 12 y 18 meses de aplicado el compost, así como análisis microbiológicos a los 6, 12 y 18 meses de aplicado el compost, para determinar si existieron diferencias significativas entre cada tratamiento.

4.3. Diseño experimental

El diseño experimental que se utilizó en ambas parcelas fue el de bloques completos al azar, donde se establecieron doce repeticiones o bloques (figuras 4 y 5). La unidad experimental consistió de una planta de mora (*Rubus adenotrichos*) variedad criolla, (conocida como mora Vino espina roja). Las plantaciones de mora de ambas fincas tenían seis años de sembrados, lo que garantizó la estabilidad del material en cuanto a desarrollo, producción y expresión del potencial genético.

4.4. Manejo agronómico de la plantación

La distancia de siembra fue de cinco metros entre plantas y de seis metros entre hileras de siembra para un total de 333 plantas por hectárea. Las prácticas de manejo en ambas fincas consistían en la poda de producción con la finalidad de renovar la vida productiva del cultivo, haciendo que las cosechas fueran más largas y abundantes, además de ayudarla en el proceso de floración y formación de frutos. Otra práctica consistió en el manejo de malezas donde usualmente fueron tratadas con herbicida.

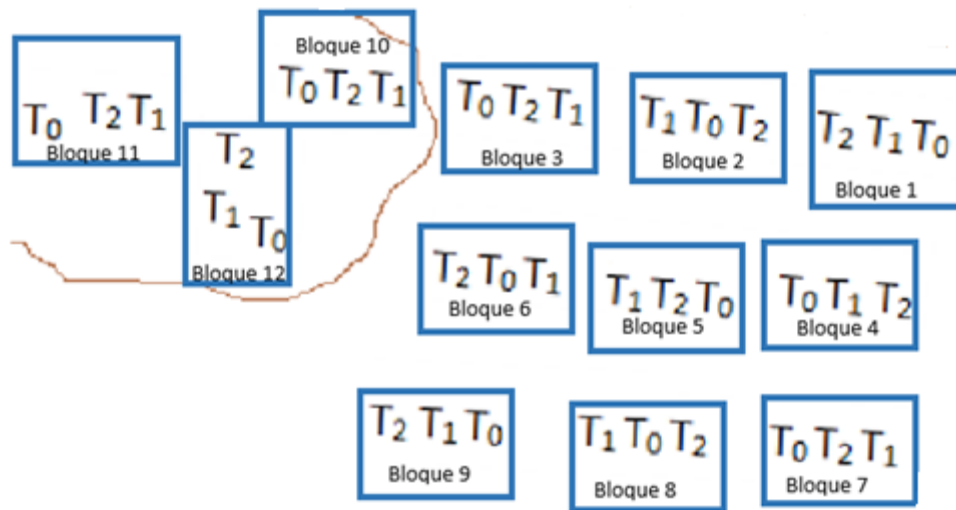


Figura 4. Croquis del diseño experimental de la finca “La Luchita” Miguel Mena.

*T₀, T₁, T₂ corresponden a los tratamientos que se implementaron por bloque.

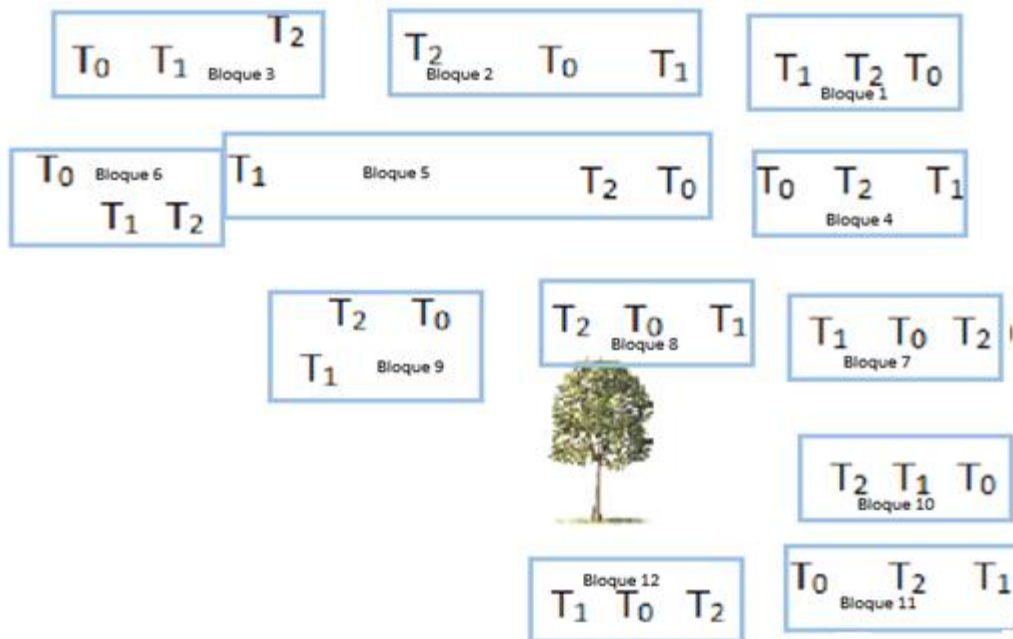


Figura 5. Croquis del diseño experimental finca de la “La Trinidad” Francisco Garita.

*T₀, T₁, T₂ corresponden a los tratamientos que se implementaron por bloque.

* El tamaño de los bloques difieren por el tipo de terreno que era quebrado y ondulado.

4.5. Variables evaluadas

4.5.1. Indicadores de la calidad del suelo y el abono

4.5.1.1. Fase experimental en campo

4.5.1.1.1. Análisis químico del suelo

Para verificar la fertilidad del suelo en el área experimental, durante el periodo de estudio comprendido desde el mes 0 (febrero 2015) hasta el mes 18 (agosto 2016), se realizaron muestreos de suelo según la metodología propuesta por Henríquez y Cabalceta (1999), tomando en cuenta el número de repeticiones por tratamiento (T0, T1 y T2). Asimismo, con el fin de asociar el efecto del compost sobre la condición de fertilidad del suelo y su relación con el contenido de polifenoles totales en las frutas de mora, fue preciso que las mismas fechas en que se colectaba fruta se realizaran los muestreos de suelo para análisis químico. Los muestreos se realizaron a los 0, 3, 6, 12 y 18 meses de aplicado el compost.

La recolección de la muestra de suelo fue manual, quitando un poco de abono del área tratada (media luna donde se hallase el compost) con el pie y luego utilizando un barreno tipo colador o cilindro, se realizaban al menos seis agujeros de 20 cm de profundidad. Aquellos tratamientos en los que se hallaban los testigos siguieron la misma metodología. Las muestras obtenidas de 12 bloques por finca, se combinaron por efectos de costos, por lo que se debieron reunir en submuestras de tres bloques adyacentes por tratamiento, de esta manera se obtenían cuatro muestras por tratamiento para un total de 12 muestras compuestas por finca (cuatro de control, cuatro de la aplicación 8,3 t/ha y cuatro de la aplicación de 24,5 t/ha). Las muestras fueron rotuladas según el respectivo tratamiento, bloque y fecha para posteriormente ser trasladadas al Laboratorio de Suelos del Instituto de Investigación y Servicios Forestales (INISEFOR), donde fueron procesadas para el análisis de materia orgánica, carbono y nitrógeno (Bertsch 1995), análisis físico (Henríquez y Cabalceta 1999) y químico (Díaz y Hunter 1978).

4.5.1.1.1.2. Análisis físico del suelo

Para evaluar la densidad aparente se utilizó la técnica del cilindro de volumen conocido Forsythe (1980). Para escoger los puntos de muestreo se tomó en cuenta la pendiente, la textura y el manejo de cada localidad, definiendo de manera homogénea los límites de las unidades de muestreo (Brady y Weil 1999).

4.5.1.1.1.3. Análisis microbiológico del suelo

Para evaluar la calidad de los suelos estudiados y su correlación con los elementos nutricionales y sustancias afines a la producción de polifenoles, se seleccionaron indicadores biológicos sensibles a cambios de corto plazo, los cuales se realizaron semestralmente en puntos específicos en la banda de fertilización de las plantas de mora. Se colectaron dos submuestras por planta, utilizando cilindros de metal de 90 cm³ de volumen. Se juntó el suelo de tres bloques adyacentes por tratamiento (aproximadamente 600 g), de esta forma se obtuvieron cuatro muestras por tratamiento.

Cada muestra compuesta (obtenida a partir de las submuestras con cilindros), se homogenizó y se colectaron 100 g de suelo para recuento de unidades formadoras de colonias de hongos, bacterias y actinomicetes (Weaver *et al.* 1994), 100 g de suelo para medir la respiración microbiana (Zibilske 1994), otros 100 g de suelo para calcular la biomasa microbiana (Anderson e Ingram 1993) y 100 g más de suelo para determinar el índice de mineralización del N. Cada muestra de 100 g de suelo se depositó en bolsa plástica, identificando según la finca, tratamiento, bloques y fecha de muestreo. Para el transporte, las muestras fueron depositadas en hieleras y procesadas en el Laboratorio de Fitopatología de la Escuela de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional, así como el Laboratorio de Microbiología Agrícola de la Universidad de Costa Rica.

Recuento de unidades formadoras de colonias

El recuento de UFC (Unidades formadoras de colonias) se determinó utilizando la metodología conocida como diluciones seriadas de Acuña y Peña (2006), para lo cual se enumeraron seis tubos de ensayo desde el uno hasta seis, según tratamiento, repetición y parcela, seguidamente se pesó en una balanza 1,0 g de suelo, anticipadamente tamizado, luego se tomaron pequeñas cantidades de diversas partes del suelo resultante de un cuarteo previo. Posteriormente se agregó el gramo de suelo al tubo número uno, se agito y se tomó una alícuota de 1,0 ml, usando una pipeta estéril, luego se transfirió ésta al tubo número dos, se agito y con una pipeta diferente, se tomó otra alícuota de 1,0 ml, para transferirla al número tres, de ésta forma se continuo sucesivamente hasta llegar al tubo número seis. En este punto se obtuvo la dilución lista para hacer los cultivos. Estos se hicieron tomando una alícuota de 0,25 ml con una pipeta estéril, para ubicarla sobre la superficie de los respectivos platos con un medio de cultivo conocido como PDA (Papa-Dextrosa-Agar) solidificado, al cual se le adiciono una gota de ácido láctico en el centro del plato antes de chorrearlo con PDA, para identificación de hongos, en cuanto a bacterias este paso no fue preciso, mientras para actinos fue necesario preparar un medio conocido como AA (agar-agua).

De las diluciones se usaron únicamente los tubos tres, cuatro, cinco, y seis por ser aquellos donde fue más probable obtener colonias separadas de los hongos. Para extender el líquido de las alícuotas por toda la superficie del medio, se usaron aplicadores de algodón, estériles y mantenidos en agua, los cuales se pasaron suavemente tratando de hacer una cobertura homogénea en toda la superficie. Una vez concluida la distribución, se cerró el plato y se rotulo sobre la tapa, usando un marcador indeleble. Finalmente los platos se colocaron dentro de una bolsa plástica y se incubaron a temperatura ambiente.

Cuantificación e identificación de hongos

El conteo se realizó cinco días posteriores a la incubación, tomando pequeños fragmentos del borde o centro (en el caso que no estuviera del todo esporulada) de la colonia, con una punta de jeringa esterilizada y desinfectada para colocarlos sobre un portaobjetos que contuviese una gota de lactofenol. Finalmente se colocó un cubreobjetos y se procedió a la identificación del organismo con ayuda de una la clave (anexo 3, cuadro A6).

Cuantificación e identificación de actinomicetes

El conteo se realizó 15 días posteriores a la incubación, las colonias se observaron y contaron colocando el plato contra luz.

Cuantificación e identificación de bacterias

El conteo se realizó dos días posteriores a la incubación. Por su parte para la identificación fue necesaria, una purificación de las colonias, tomando fragmentos de aquellas que eran visualmente distintas con ayuda de un asa bacteriológica y colocándolas en un nuevo plato por triplicado. Trascurridos otros dos días, se procedió con las pruebas de tinción de Gram, para lo cual se realizaron suspensiones diluidas de las bacterias purificadas, las cuales se colocaron sobre un portaobjetos con ayuda de un asa bacteriológica, las mismas se fijaron al vidrio, pasando la preparación rápidamente unas cinco veces sobre la llama de un mechero, asegurándose de que la llama pase por el lado opuesto a la cara donde se hallasen las bacterias.

Manteniendo el portaobjetos caliente se agregó, unas gotas de violeta de genciana, manteniendo el portaobjetos cubierto con esa solución por un minuto, al terminar el tiempo se elimina el exceso sacudiendo el portaobjetos. Luego se añadió unas gotas de lugol, procediendo de igual forma que el primer paso, pero en esta ocasión se hicieron lavados los excesos con alcohol etílico 95%. Por último se agregó unas gotas de safranina, que se mantuvieron por 30 s sobre la bacteria y finalmente lavando el exceso de la misma con agua.

Para descartar algunos géneros fueron necesarias las pruebas de producción de pigmentación amarilla o naranja (YDC) y anaerobiosis, para esta última, en tres tubos de ensayo estériles se colocaron 3,0 ml de medio PD (papa-dextrosa). Dos de los tubos se inocularon con la bacteria a identificar y el tercer tubo se utilizó como testigo. Una vez inoculados se adiciono a los tres tubos 1,0 ml de aceite mineral estéril, se taparon los tubos con algodón y papel aluminio y se incubaron por 24 horas a temperatura ambiente.

Para las pruebas YDC (cuyas siglas en ingles significan levadura-dextrosa-carbonato de calcio) fue necesaria la preparación de la misma a razón de 10 ml del medio por plato, el cual una vez endurecido, se procedió a inocularlo con la bacteria a identificar con ayuda de un asa bacteriológica. Por último los platos se cerraron, rotularon e incubaron por 48 h. Finalmente se realizaron pruebas de actividad pectolítica, desinfectando tubérculos de papa sanas, flameando los mismos y luego lavándolos con hipoclorito de sodio al 0,5% y alcohol al 95%.

A los tubérculos una vez desinfectados, se les realizo un par de heridas de aproximadamente 3-4 mm de profundidad con una ayuda de un bisturí previamente flameado y se depositaron sobre un plato petri que contenía papel absorbente, luego con un asa bacteriológica desinfectada se colocó la bacteria a identificar, se humedeció el papel con agua estéril, se tapó el plato petri y se dejó incubar por 24 horas, procediendo de igual forma con otro tubérculo que fue utilizado como testigo en cada prueba. Transcurrido el tiempo estimado para cada prueba, se reportan los resultados y con ayuda de una clave de diferenciación por género se identifica la bacteria hallada (anexo 4, cuadro A7).

Determinación de la biomasa microbiana de carbono

La biomasa microbiana se determinó utilizando la metodología de fumigación extracción (Vance *et al.* 1987), para lo cual, se pesaron 10 g de muestra (control) en un erlenmeyer de 250mL, se adicionó 50 mL de K_2SO_4 (0,5M), se agitó 30 minutos y se filtró utilizando un papel Whatman 42. Se guardó el extracto a 4°C hasta su procesamiento. También se pesó 10g de muestra (fumigado) en un *beaker* de 40mL, se fumigó con cloroformo libre de etanol, se incubó durante 24 h a 25°C. Se procedió igual que la muestra control. Del extracto obtenido se colocó 8 mL en tubos de digestión (3 repeticiones control y 3 fumigado, según tratamiento, repetición y parcela), se adicionó 2mL de $K_2Cr_2O_7$ (66,7 mM), 70mg de HgO y 15 mL de mezcla ácida (2v H_2SO_4 (98%) y 1v H_3PO_4 (88%)). Las muestras se digirieron a 150°C por 30 minutos y se dejaron enfriar. Se transfirieron a un erlenmeyer de 250mL, se adicionó 80mL de agua destilada, se agregó 3 gotas de fenantrolina 0,125 M y se valoró el exceso de $K_2Cr_2O_7$ con sal de Morh 33,3 mM $(NH_4)_2$, $Fe(SO_4)_2$, $6(H_2O)$.

Determinación de la respiración microbiana del suelo.

La respiración microbiana del suelo se determinó de acuerdo a la metodología de Anderson (1982), se pesó en 10 g de suelo por triplicado, (según tratamiento, repetición y parcela) la muestra se colocó en una jarra de incubación junto con un recipiente que contenía 10 ml de agua y otro con 10mL de NaOH (1M) y se incubaron a 25°C. A los 4 días se determinó la cantidad de CO_2 absorbido en el NaOH, para lo cual se adicionó 10 mL de BaCl. Se transfirió esta mezcla a un erlenmeyer y se adicionó 3 gotas de fenolftaleína, se tituló la solución con HCl (0,5M). Después de 4 días se repitió este proceso para finalmente determinar el CO_2 generado en los 8 días de incubación.

Estimación de la mineralización de nitrógeno

Se colocaron 5 g de suelo por tratamiento, repetición y parcela en cuatro erlenmeyers de 100 ml, los cuales se humedecieron con 3 ml de agua destilada cada uno, se taparon y fueron almacenados dos de ellos a -70 °C (testigos) e incubados los restantes dos a 25°C, durante 7 días. Después de la incubación todas las muestras de suelo fueron suspendidas en 50 ml de KCl 2M y transferidas a frascos de 100 ml, seguidamente se agitaron por 30 min a una velocidad de 220 r.p.m, posteriormente se filtraron las suspensiones de suelo a través de un filtro libre de N.

Por último se pasaron 8 ml por triplicado de los efluentes a viales de 20 ml. Finalmente las muestras fueron colocaron sobre celdas en un extractor de fluidos de suelo por inyección, donde fueron cuantificados los nitratos a través de una columna cobrizada de cadmio, con un rango de aplicación de 0,025 a 20,0 mg N/L y un rendimiento de 72 inyecciones por hora, mientras los amonios fueron medidos a través de un filtrado bajo el método del salicilato, con un rango de 0,1 a 20,0 mg N/L como NH₃ y un rendimiento de 60 inyecciones por hora.

4.5.1.2. Fase experimental en invernadero

4.5.1.2.1. Determinación de calidad del abono

Bioensayo para evaluar el aporte de nutrimentos del abono orgánico

Mediante la instalación de un experimento en invernadero (bioensayo), comprendido entre los meses de julio-agosto del 2015, se evaluó la calidad del abono utilizado en campo, en términos de su capacidad para aportar nutrimentos a las plantas, esto con el fin de complementar e interpretar de manera más precisa el posible efecto del compost sobre los polifenoles en las moras criollas costarricenses. Para este objetivo se comparó el abono utilizado en campo con tres abonos orgánicos de fabricación diferente. Se establecieron dos experimentos para evaluar los efectos de los abonos en cada uno de los suelos de interés (La Luchita y la Trinidad).

Tratamientos del bioensayo

Para cada suelo se evaluó cinco tratamientos: 1) abono 1 elaborado por Coopebrisas en Zarcero, 2) abono 2, un bocashi elaborado por un agricultor orgánico de Zarcero (Juan José Paniagua Guerrero), 3) abono 3, producto de un establo de ganado vacuno donde se deja acumular el excremento de los animales por 10 días, se agrega burucha de madera y microorganismos eficientes para evitar exceso de humedad y moscas. Después de los 10 días el material se coloca en sacos y se apilan colocando tarimas de madera entre cada fila de sacos para la aireación, 4) abono utilizado en campo, 5) solo suelo (testigo).

El suelo se mezcló con cada abono en una proporción 9 a 1 con base en peso seco. Para esto se determinó las humedades gravimétricas de los abonos y suelos a 105 grados °C en una estufa convencional. Con los datos de humedad gravimétrica se realizaron los cálculos necesarios para conocer las cantidades a pesar de cada material en húmedo.

Diseño experimental del bioensayo

Este experimento empleó un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones por tratamiento, donde la unidad experimental consistió de un pote de plástico de 0.25 L de capacidad con 200 g (peso seco) de mezcla suelo: abono. Como planta indicadora se utilizó maíz (*Zea mays*); en cada pote se sembraron 5 semillas (100% de germinación) y días después de la germinación se raleo a 4 plantas. El sistema de riego fue por capilaridad a través de hendiduras al fondo y en cuatro costados de cada pote (Salas y Ramírez 2001).

Las plantas de maíz se cosecharon a los 34 días de la siembra. Se determinó la longitud del tallo y hoja (juntos), el peso fresco y seco de la parte aérea y radical (60°C). Se realizó un análisis foliar en el que se determinó el contenido de nutrimentos de la parte aérea de las plantas de maíz. Se calculó la absorción total de nutrimentos de la parte aérea de las plantas, mediante el peso seco de las plantas y los datos del análisis químico foliar (Schweizer *et al.* 2004).

4.5.2. Variables evaluadas en la parte aérea de plantas de mora

4.5.2.1. Evaluación de muestras foliares

Se hicieron muestreos un mes antes de los picos de producción (entre febrero-abril), por lo que la recolección de dichas muestras fue en el mes de enero. En cada muestreo se colectaron 12 muestras compuestas que consistían de 20 hojas no tiernas ni senescentes, las cuales se colectaron juntando submuestras de tres bloques adyacentes por tratamiento de esta manera se obtuvieron cuatro muestras por tratamiento finca (cuatro de control, cuatro de la aplicación 8,3 t/ha y cuatro de la aplicación de 24,5 t/ha).

Las muestras a su vez se tomaron, procurando ubicar en el estrato medio de la planta, el tallo más vigoroso y en éste, las ramas hembras o productivas que estén en el estadio fenológico de fructificación - fruto cuajado o color verde ladrillo (que es la fase donde los fotoasimilados y otras sustancias un poco más elaboradas, están siendo translocadas hacia la fruta y generan características implicadas en la calidad de la misma como los polifenoles). Una vez ubicada esa porción de la planta, se procedía a tomar los folíolos procedentes de hojas jóvenes y maduras de dichas ramas. La toma de las muestras se realizó antes de las 10 a.m. (Malavolta 1992) y una vez colectadas las muestras se procedió a colocarlas en una hielera para ser transportadas al Laboratorio de Suelos del Instituto de Investigación y Servicios Forestales (INISEFOR).

4.5.2.2. Índices de calidad de fruta

Las muestras de frutos de mora se cosecharon en cada finca según tratamiento y repetición en las dos épocas del año: seca (marzo-abril) y lluviosa (mayo-junio). Cada muestra consistió de 300 g de frutos maduros (aquellos de color vino intenso y textura firme) de tres bloques adyacentes por tratamiento, los cuales se empacaron en canastillas plásticas cubiertas en su parte superior con plástico transparente.

Las muestras colectadas se transportaron en hieleras al Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA) de la UCR. En el laboratorio del CITA se realizaron los siguientes análisis a los frutos:

pH

El pH se determinó según el método AQCITA-M002, basado en el método AOAC 920.151 (AOAC 2005), en el que se inició calibrando el equipo y usando buffers certificados. Se pesaron 50 gr de muestra fresca de mora y se licuaron hasta formar una pasta homogénea, agregando de 10 a 20 ml de agua destilada. Se precedió a equilibrar los buffers, electrodos y las muestras a la misma temperatura (25°C). Luego se realizó la medición de pH de las muestras, permitiendo que el equipo se estabilizara antes de anotar cada lectura. Finalmente se enjuago y seco los electrodos, para cada muestra nueva según repeticiones, tratamientos y localidades.

Humedad

La humedad se determinó según el método AQCITA-M002, basado en el método AOAC 920.151 (AOAC 2005), en el que se inició pesando 20 gr de muestra fresca de mora en capsulas de metal. Se secaron las capsulas a una temperatura de 98 °C a 100 °C por una hora en una estufa de convección natural, luego se pasaron las capsulas a un desecador (utilizando pinzas) y se precedió a su pesaje tan pronto alcanzaron temperatura ambiente. Después se procedió al segundo secado colocando las capsulas en una estufa de convección natural a 60°C durante toda la noche. Finalmente se colocaron las muestras en una estufa de vacío, calentando las mismas a 70 °C con un vacío de 15 pulgadas de mercurio por cuatro horas, hasta llevar a masa constante (si al cabo de ese tiempo no se lograba la masa constante, se debía devolver las muestras a la estufa de convección natural, dejar enfriar en el desecador y revisar cada dos horas, hasta obtener una diferencia no mayor de 3 mg por muestras).

Sólidos solubles

Los sólidos solubles (grados Brix) fueron medidos utilizando un refractómetro de Abbé con control de temperatura según el método AOAC 932.12 (AOAC 1999), para lo cual se hizo circular una gota de agua a 20°C a través de los prismas del refractómetro, luego se limpió cuidadosamente con alcohol y éter de petróleo el mismo antes de hacer las lecturas. Inmediatamente se comprobó la exactitud del equipo con otra gota de agua a 20°C. Después se precedió a cargar el refractómetro colocando una gota de muestra sobre el prisma (las muestras

se tomaron de la pasta homogénea cuando se realizaron las lecturas de pH), se cerró, ajusto y finalmente leyó el por ciento de sólidos en la escala Brix.

Acidez titulable

La acidez titulable se determinó según el método AOAC 942.15 (AOAC, 2005) y se expresó como equivalente de ácido málico, para lo cual se preparó 50 ml NaOH 0,1 mol/L y una solución con aproximadamente 10 g de fruta fresca en 60 ml de agua destilada, luego se midió la masa de la solución, se hirvió por 5 min y se ajustó el volumen para mantener constante la masa de la solución, luego se centrifugo y filtro para finalmente tomar una alícuota de 25 ml del extracto para valorarlo, utilizando una bureta de 50 ml. (dado que las muestras de mora son generalmente muy ácidas).

Concentración de polifenoles a través de HPLC

Para los análisis de HPLC, las muestras fueron homogenizadas para reducir su tamaño de partícula. Posteriormente, se realizó la extracción (tres veces) durante 20 min utilizando una solución extractora de acetona (acetona/agua, 70:30). Los extractos se combinaron, filtraron (con embudo y papel Whatman No. 41) y concentraron al vacío a 40 °C para remover la acetona. Antes de la inyección en el equipo de HPLC, las muestras fueron filtradas utilizando un filtro de 0,45 µm acoplado al extremo de una jeringa. Los extractos filtrados se mantuvieron protegidos de la luz hasta realizar la determinación en el HPLC-DAD.

El análisis cuantitativo de antocianinas y elagitaninos totales se basó en el método descrito por Mertz *et al.* (2007). Los análisis se llevaron a cabo mediante cromatografía líquida de alto desempeño acoplado a un detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD), utilizando un sistema de cromatografía líquida Shimadzu, el cual se compone de un detector de arreglo de diodos modelo SPD-M20A, un desgasificador modelo DGU-20A5 y una bomba modelo LC-20AT (Shimadzu Manufacturing, Inc., Canby, Oregón, USA). El sistema fue controlado y la información fue procesada con el programa Shimadzu EZStart versión 7.4 SP1. Se usó una columna ACE-3-C18 (125 x 21 mm) con un tamaño de partícula 3µm (AIT, Houilles, Francia). Las condiciones fueron: volumen de inyección 20 µL; temperatura de 30 °C; flujo de solventes constante de 300

$\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$, los cuales consistieron de agua/ácido fórmico, 98:2 v/v (solvente A) y acetonitrilo/agua/ácido fórmico, 80:18:2 v/v/v (solvente B).

Las condiciones de gradiente fueron las siguientes: 0 min: 5% B, 0 - 20 min: gradiente lineal de 5% a 25% B, 20 - 25 min: gradiente lineal de 25 a 100% B, 25 - 30 min: gradiente lineal de 100% a 10% B, 30 - 35 min: gradiente lineal de 10% a 5% B. La cuantificación se realizó a 280 nm y consistió en la comparación del área bajo la curva de cada pico contra el área bajo la curva de soluciones patrón previamente inyectadas de ácido elágico (8 patrones) y de cianidina-3-glucósido (7 patrones) según se tratara de un elagitanino o de una antocianina, respectivamente.

4.5.3. Evaluación de variables agroclimáticas

En cada finca se instalaron sensores climatológicos con el fin de registrar la temperatura, humedad relativa y radiación fotosintéticamente activa. Los datos se registraron diariamente durante todo el experimento y se guardaron en medios de almacenamiento electrónico. Cada mes se llevó a cabo la descarga de la información.

4.5.3.1. Análisis climatológico

Los datos obtenidos a través de los sensores climatológicos, tanto de la Localidad de la Luchita como de la Trinidad, se tabularon obteniendo promedios de cada variable evaluada, las cuales se compararon entre sí, por medio de gráficas obtenidas igualmente de manera mensual a través de las descargas de información de cada zona de estudio. De esta manera se determinó cuál localidad presentó mayores valores de temperatura ($^{\circ}\text{C}$), humedad relativa (%) y radiación fotosintéticamente activa ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) a lo largo de la investigación.

4.5.3.2. Determinación de la relación temperatura, humedad relativa y radiación fotosintéticamente activa con los polifenoles

Esta relación se obtuvo por medio de la determinación mensual de la temperatura, humedad relativa y radiación fotosintéticamente activa, a través de las estaciones meteorológicas de cada zona de estudio, posteriormente los datos obtenidos (medias) de cada variable mencionada, se compararon con las concentraciones medias de los compuestos biológicamente activos en frutos de mora, colectados durante los meses de cosecha correspondiente a la época de verano (marzo-abril) de los años 2014 y 2015 (figuras 12, 13, 14, 15, 16 y 17).

4.5.3.3. Determinación de la relación déficit de presión de vapor- Polifenoles

El déficit de presión de vapor (DPV) es un indicador preciso de la capacidad real evaporante del aire que permite relacionar la disminución en el rendimiento y calidad de los cultivos a través de altos valores del DPA. Dicho índice también permite revelar, si en las zonas de estudio hubo problemas por estrés hídrico (Muñoz *et al.* 2002). El DPV se obtiene de la diferencia entre la presión de saturación y la presión actual de vapor (anexo 6). Cuando un volumen de aire se encuentra retenido sobre una superficie evaporante de agua, se alcanza un equilibrio entre las moléculas de agua, en dicho momento se considera que el aire está saturado puesto que no puede incorporar ninguna molécula de agua adicional, a dicha presión se le conoce como presión de vapor de agua a saturación (e_s), mientras que la presión actual de vapor se obtiene de la multiplicación del e_s por la humedad relativa (López *et al.* 2009).

La relación entre el DPV y los polifenoles se obtuvo por medio de la determinación mensual de la temperatura y la humedad relativa a través de las estaciones meteorológicas de cada zona de estudio, posterior a la obtención de los datos, se procedió a realizar los cálculos correspondientes para obtener el DVP (anexo 6), finalmente dichos valores se compararon con las concentraciones medias de los polifenoles en frutos de mora, colectados durante los meses de cosecha correspondiente a la época de verano (marzo- abril) de los años 2014 y 2015 (figuras 20 y 21).

4.5.4. Análisis estadístico de los datos

Debido a que se realizaron mediciones repetidas en el tiempo a las unidades experimentales, se utilizaron Modelos Lineales Mixtos Generalizados (p. ej. Proc Mixed de SAS[®] 9,2), que permitieron modelar la estructura de covarianzas para estimar los errores estándar adecuados para todas las comparaciones, realizándose esto en cada experimento. De esta forma se examinaron y compararon las tendencias en el tiempo de las respuestas a los tratamientos. También, se realizaron análisis comparativos de los resultados entre experimentos (localidades).

Por otro lado los resultados de UFC de bacterias, hongos y actinomicetes se analizaron utilizando el Proc Gen Mod de SAS[®] 9,2. Finalmente las variables de calidad de fruta (concentración de antocianinas y elagitaninos) se correlacionaron con las otras variables.

Adicionalmente, para relacionar las variables agroclimáticas con los indicadores de calidad de fruta de moras criollas costarricenses (concentración de antocianinas y elagitaninos, acidez titulable, pH, humedad y grados °Bx), se realizaron análisis comparativos de medias entre dichas variables, dado que los datos climáticos se obtuvieron por localidad y no por tratamiento.

V. RESULTADOS

5.1. Indicadores de la calidad del abono y el suelo

5.1.1. Fase experimental en campo

5.1.1.1. Indicadores químicos de la calidad del suelo

En el cuadro 3, no se observaron diferencias estadísticas por la incorporación del abono orgánico en las dosis utilizadas, para las variables: pH, acidez, Ca, Mg, Mn, CICE, Ca/Mg, MO, C, N, mientras que para K los muestreos a lo largo del estudio destacaron que el agregado del compost presentó diferencias ($P=0,0012$) de 47 c mol (+) / L y 56 c mol (+) / L a los 5 kg/ planta y 15 kg/ planta respectivamente en relación al testigo.

En cuanto a la concentración de macronutrientes en el suelo de la Luchita el P ($P=0,0444$) a las dosis de 5 kg/ planta y 15 kg/ planta de abono presentó una diferencia de 5,76 $\mu\text{g} / \text{ml}$ y 8,92 $\mu\text{g} / \text{ml}$ respecto al testigo. Por su lado los micronutrientes que manifestaron diferencias fueron el Cu ($P=0,0142$), que presentó una diferencia de 0,51 $\mu\text{g} / \text{ml}$ cuando se utilizaron 15 kg/ planta en comparación al testigo, no mostrando diferencias estadísticas entre el testigo y la dosis de 5 kg/ planta.

El Zn presentó diferencias estadísticas entre los tratamientos ($P=0,0040$), las cuales fueron de 0,18 $\mu\text{g} / \text{ml}$ y 0,39 $\mu\text{g} / \text{ml}$ a los 5 kg/ planta y 15 kg/ planta respectivamente en relación al testigo, mientras que el Fe ($P=0,1632$) exhibió un comportamiento atípico al resto de micronutrientes, dado que el tratamiento testigo mostró ser ligeramente superior en 11,87 $\mu\text{g} / \text{ml}$ a la dosis de 5 kg/ planta, mas no así a los 15 kg/ planta que fue 12,72 $\mu\text{g} / \text{ml}$ superior al testigo.

Por otro lado la relación Ca/K mostró diferencias de 5,7 y 6,3 entre el testigo y los tratamientos de 5 kg/ planta y 15 kg/ planta correspondientemente, siendo esta variable en el testigo, superior a las dosis evaluadas. De igual forma la relación Mg/K mostró diferencias de 0,40 y 0,50 entre el testigo y los tratamientos evaluados de 5 kg/ planta y 15 kg/ planta respectivamente, finalmente

la misma tendencia siguió con la relación Ca/Mg+K exhibiendo discrepancias de 5,1 y 3,68 entre el testigo y las dosis menor y mayor de abono respectivamente.

Cuadro 3. Análisis químico del suelo (n=4), según dosis de compost. Luchita del Guarco, Cartago.

Elemento	Compost (kg/ planta)			Error estándar	*Probabilidad
	0	5	15		
pH	5,17	5,36	5,27	0,0424	0,0497
c mol (+) / L					
Acidez	0,95	0,69	0,78	0,0699	0,0878
Ca	6,98	7,87	7,49	0,3578	0,2798
Mg	0,75	0,88	0,84	0,0295	0,0466
K	0,49 ^b	0,96 ^a	1,05 ^a	0,0600	0,0012
µg / ml					
P	7,57 ^b	13,33 ^a	16,49 ^a	1,9330	0,0444
Cu	2,19 ^b	2,12 ^b	2,70 ^a	0,1034	0,0142
Zn	0,42 ^b	0,60 ^{ab}	0,81 ^a	0,0486	0,0040
Mn	12,25	12,32	14,25	0,7738	0,1976
Fe	97,28 ^{ab}	85,41 ^b	110,0 ^a	7,7843	0,1632
CICE	9,17	10,40	10,16	0,3553	0,1031
Ca/Mg	9,55	9,11	9,31	0,1814	0,3407
Ca/K	14,51 ^a	8,81 ^b	8,21 ^b	0,316	<0,0001
Mg/K	1,39 ^a	0,99 ^b	0,89 ^b	0,0754	0,0072
Ca/Mg+K	14,58 ^a	9,48 ^b	10,90 ^b	1,2766	0,0704
%					
MO	13,05	13,42	13,66	0,6629	0,8158
C	7,57	7,73	7,92	0,3848	0,816
N	0,38	0,39	0,40	0,0191	0,794

*Probabilidad asociada al ANDEVA

Medias con letras diferentes en una misma fila presentaron diferencias significativas según la prueba Tukey (P<0,05).

En el cuadro 4, correspondiente a la localidad de la Trinidad no se observaron diferencias estadísticas por la incorporación del abono orgánico a las dosis utilizadas, para las variables: pH, Ca, Mg, P, Cu, Zn, Mn, Fe, CICE, Ca/Mg, Ca/K, Mg/K, Ca/Mg+K, MO, C y N. La acidez fue uno de los pocos índices de calidad del suelo que presentaron diferencias estadísticas (P=0,0554)

y como era de esperarse fue inferior cuando se dieron las incorporaciones de compost, hallándose diferencias de 0,25 c mol (+) / L y 0,35 c mol (+) / L entre el testigo y los tratamientos de 5 kg/ planta y 15 kg/ planta respectivamente, siendo el testigo superior a las dosis evaluadas. Por su parte el único nutriente que presentó diferencias estadísticas fue el K (P=0,0058) encontrando diferencias de 0,38 c mol (+) / L y 0,67 c mol (+) / L a los 5 kg/ planta y 15 kg/ planta respectivamente en relación al testigo.

Cuadro 4. Análisis químico del suelo (n=4), según dosis de compost. Trinidad de Dota, San José.

Elemento	Compost (kg/ planta)			Error estándar	*Probabilidad
	0	5	15		
pH	5,26	5,36	5,39	0,0317	0,0523
c mol (+) / L					
Acidez	0,99 ^a	0,74 ^{ab}	0,64 ^b	0,0834	0,0554
Ca	4,69	6,23	7,54	1,1268	0,2772
Mg	0,80	1,07	0,96	0,0550	0,0339
K	0,56 ^b	0,94 ^{ab}	1,23 ^a	0,0909	0,0058
µg / ml					
P	12,04	19,11	17,44	2,1474	0,1272
Cu	7,63	6,34	7,02	0,3099	0,0689
Zn	1,03	1,31	1,15	0,1828	0,5936
Mn	8,30	9,09	9,07	0,5762	0,5725
Fe	120,21	123,57	126,48	5,3417	0,7219
CICE	7,05	8,98	10,36	1,0921	0,1783
Ca/Mg	5,70	5,88	8,54	1,4934	0,3820
Ca/K	8,47	8,53	7,79	1,8213	0,9508
Mg/K	1,44	1,49	0,93	0,2249	0,2305
Ca/Mg+K	10,12	10,10	8,44	1,8287	0,7665
%					
MO	15,19	15,16	15,23	0,2155	0,9793
C	8,81	8,79	8,83	0,1252	0,9786
N	0,44	0,44	0,44	0,0060	0,9355

*Probabilidad asociada al ANDEVA

Medias con letras diferentes en una misma fila presentaron diferencias significativas según la prueba Tukey ($P < 0,05$).

5.1.1.2. Indicadores físicos de la calidad del suelo

En el cuadro 5 se observa que hubo valores más altos de Dap en la Trinidad que en Luchita.

Cuadro 5. Densidad aparente (Dap) en ambas localidades de estudio

Localidad	Luchita	Trinidad
Densidad aparente (g/cm ³)	0,55	0,65

5.1.1.3. Indicadores microbiológicos de la calidad del suelo

Unidades formadoras de colonias

En las figuras 6, 7 y 8 se observa que tanto para la Luchita como para la Trinidad, no hubo una respuesta significativa del abono orgánico en las dosis utilizadas, para las unidades formadoras de colonias en el suelo (UFC). En promedio la cantidad de colonias de actinomicetos fue de 11730740,3 UFC/g de suelo para la Luchita y de 12150522 UFC/g de suelo para la Trinidad, por su parte la media de las colonias de bacterias fue 443333 UFC/g de suelo y de 368217,333 UFC/g de suelo para la Luchita y Trinidad respectivamente, mientras que el promedio de colonias de hongos fue de 128889 UFC/g de suelo para la Luchita y de 276101 UFC/g de suelo en la Trinidad.

La localidad de la Trinidad fue en términos generales ligeramente más rica en microorganismos, donde se obtuvieron promedios de actinomicetos ($P=0,5264$) y hongos ($P=0,1124$) levemente mayores que los de la Luchita, sin embargo esta última localidad presentó un leve aumento de las UFC correspondientes a bacterias ($P=0,5334$) en comparación con la Trinidad (anexo 2, cuadros A4 y A5).

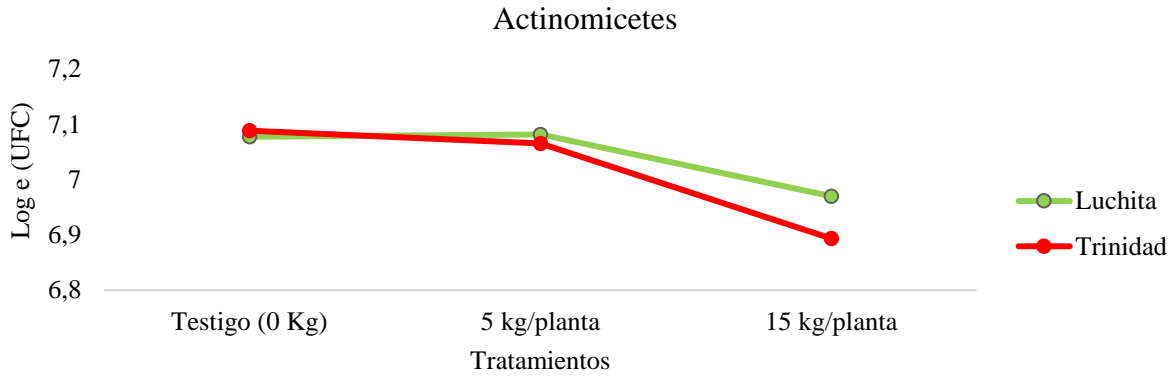


Figura 6. Efecto del compost sobre los actinomicetes del suelo, evaluados por el método de dilución seriada (10^{-4}), en ambas localidades.

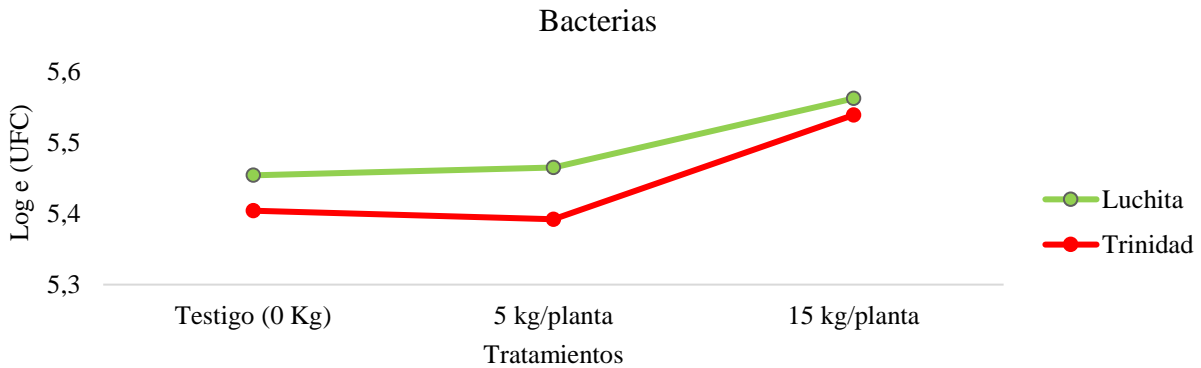


Figura 7. Efecto del compost sobre las bacterias del suelo, evaluados por el método de dilución seriada (10^{-4}), en ambas localidades.

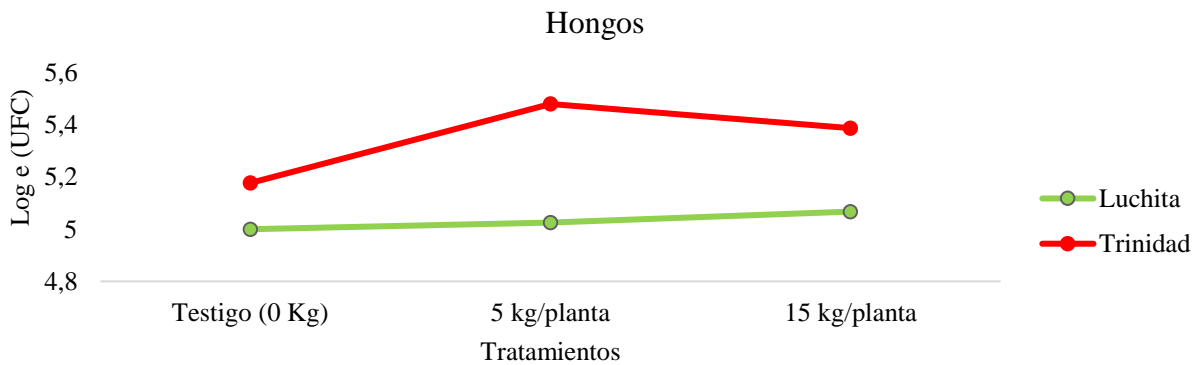


Figura 8. Efecto del compost sobre los hongos del suelo, evaluados por el método de dilución seriada (10^{-4}), en ambas localidades.

Biomasa y respiración microbiana

En los cuadros 6 y 7 se observa que tanto para la Luchita como para la Trinidad, no hubo una respuesta significativa del abono en las dosis utilizadas, para los indicadores microbiológicos del suelo. En promedio la biomasa microbiana fue de 334,33 $\mu\text{g C-CO}_2/\text{g suelo}$ para la Luchita y de 243,7 $\mu\text{g C-CO}_2/\text{g suelo}$ para la Trinidad, por su parte la media de la respiración microbiana fue de 277 $\mu\text{g C-CO}_2/\text{g suelo/día}$ para la Luchita y 136 $\mu\text{g C-CO}_2/\text{g suelo/día}$ para la Trinidad. Siendo en general la localidad de la Trinidad la que presentó los menores indicadores microbiológicos de suelo.

Cuadro 6. Efecto del compost, sobre indicadores microbiológicos de suelo (n=4). Luchita del Guarco, Cartago.

Compost (Kg/ planta)	Biomasa ($\mu\text{g C-CO}_2/\text{g suelo}$)	Respiración ($\mu\text{g C-CO}_2/\text{g suelo/día}$)
0	318	303
5	327	227
15	358	301
Error estándar	30,77	31,75
*Probabilidad	0,6540	0,2365

*Probabilidad asociada al ANDEVA

Cuadro 7. Efecto del compost, sobre indicadores microbiológicos de suelo (n=4). Trinidad de Dota, San José.

Compost (Kg/ planta)	Biomasa ($\mu\text{g C- CO}_2/\text{g suelo}$)	Respiración ($\mu\text{g C- CO}_2/\text{g suelo/día}$)
0	224	135
5	247	145
15	260	128
Error estándar	19,64	8,03
*Probabilidad	0,4715	0,371

*Probabilidad asociada al ANDEVA

Tasa de mineralización del nitrógeno

En los cuadros 8 y 9 no se observan que para ninguna de las localidades haya una respuesta significativa del abono orgánico en las dosis utilizadas, esto en cuanto a la tasa de mineralización del N en el suelo. En promedio la tasa de mineralización del N en localidad de la Luchita fue de $0,88 \mu\text{g g}^{-1}\text{día}^{-1}$. Mientras que en la Trinidad la tasa promedio de mineralización del N fue de $0,78 \mu\text{g g}^{-1}\text{día}^{-1}$. Siendo en términos generales la localidad de la Trinidad la que presentó las menores tasas de mineralización del N en el suelo.

Cuadro 8. Efecto del compost, sobre la tasa de mineralización del N en el suelo (n=8). Luchita del Guarco, Cartago.

Compost (Kg/ planta)	N min ($\mu\text{g g}^{-1}\text{día}^{-1}$)
0	1,05
5	0,71
15	0,89
Error estándar	0,1719
*Probabilidad	0,4118

*Probabilidad asociada al ANDEVA

Cuadro 9. Efecto del compost, sobre la tasa de mineralización del N en el suelo (n=8). Trinidad de Dota, San José.

Compost (Kg/ planta)	N min ($\mu\text{g g}^{-1}\text{día}^{-1}$)
0	1,02
5	0,78
15	0,54
Error estándar	0,1598
*Probabilidad	0,1859

*Probabilidad asociada al ANDEVA

5.1.2. Fase experimental en invernadero

5.1.2.1. Calidad del abono

Bioensayo para evaluar el aporte de nutrientes del abono orgánico

En los cuadros 10 y 11 se presentan los resultados de la evaluación indirecta del aporte de nutrimentos del abono orgánico, realizada mediante un bioensayo con plantas indicadoras de maíz. En dichos cuadros se puede observar el contraste entre aplicar el abono usado en campo y el no aplicarlo (testigo), además la comparación de dicho abono con tres abonos diferentes para valorar su aporte al crecimiento de las plantas.

Cuando se utilizó el suelo de la Luchita se presentaron diferencias ($P= 0,0271$) entre tratamientos para todas las variables, a excepción del peso fresco de raíz ($P= 0,2919$). Entre abonos, el abono usado en campo obtuvo el menor peso fresco de follaje ($P<0,05$), también el menor peso seco de follaje, al compararse los abonos 1 y 2 ($P<0,05$) y no difirió del abono 3 ($P>0,05$) para esta variable.

No hubo diferencias ($P>0,2919$) en peso fresco de raíz entre abonos; sin embargo, con el abono usado en campo se obtuvo el menor peso seco de raíz, pero únicamente con diferencia significativa ($P<0,05$) respecto al abono 2. La altura de las plantas con abono usado en campo no difirió ($P>0,05$) respecto a los otros abonos, aunque también presentó el menor (cuadro 10).

Respecto al peso húmedo del follaje de las plantas de maíz sembradas en suelo únicamente (testigo) con la adición de un 10% del abono usado en campo, se obtuvo un incremento de 41% pero dicha respuesta no fue significativa ($P>0,05$). Por el contrario, los incrementos de follaje húmedo de los abonos 1, 2 y 3 de 152, 141 y 110 % fueron significativos ($P<0,05$).

El peso seco del follaje presentó un incremento de 162% ($P<0,05$) cuando se agregó el abono usado en campo, así como un 474 % ($P<0,05$), 608 % ($P<0,05$) y 179 % ($P<0,05$) cuando se agregó los abonos 1, 2 y 3 respectivamente, en relación al testigo. Respecto al testigo, el peso

fresco y seco de raíz no varió ($P>0,05$) con la adición del abono usado en campo, ni varió ($P>0,05$) con la adición de los otros tres abonos. Pese a que todos los abonos incrementaron la altura de las plantas de maíz respecto al testigo, el único incremento significativo se presentó con el abono 1 (cuadro 10).

Cuadro 10. Valores medios ($n=4$) de follaje, raíz y altura de plantas de maíz ($n=4$) según sustrato de siembra en macetas y mantenidas en ambiente protegido. Suelo colectado en la Luchita del Guarco, Cartago.

Sustrato (relación 1/9)	Peso de follaje (g)		Peso de raíz (g)		Altura (cm)
	Húmedo	Seco*	Húmedo	Seco*	
Abono 1 /suelo	27,20 ^a	11,20 ^b	4,77	0,90 ^{ab}	75,72 ^a
Abono 2 / suelo	26,00 ^a	13,80 ^a	6,17	1,50 ^a	71,41 ^{ab}
Abono 3 / suelo	22,72 ^a	5,45 ^c	5,02	1,00 ^{ab}	68,44 ^{ab}
Abono usado en campo / suelo	15,20 ^b	5,10 ^c	4,60	0,77 ^b	64,46 ^{ab}
Testigo (100 % Suelo)	10,80 ^b	1,95 ^d	5,00	0,87 ^{ab}	59,06 ^b
Error estándar	1,13	0,58	0,53	0,15	3,12
Probabilidad**	<0,0001	<0,0001	0,2919	0,0271	0,0178

*Se refiere al peso después de secar las muestras a 60 °C en una estufa.

**Probabilidad asociada al ANDEVA

Medias con letras diferentes en una misma columna presentaron diferencias significativas según la prueba Tukey ($P<0,05$).

Los resultados del bioensayo con el suelo de la Trinidad se muestran en el cuadro 11. Se presentaron diferencias ($P=0,0418$) entre los tratamientos para todas las variables, a excepción del peso seco de raíz ($P=0,0802$). Entre los abonos evaluados, el abono usado en campo presentó el menor peso húmedo de follaje, difiriendo de los abonos 1 y 2 ($P<0,05$), pero no respecto al 3 ($P>0,05$). Pese a que con el abono usado en campo se obtuvo el menor peso seco de follaje no se detectaron diferencias significativas con los otros abonos. El peso húmedo de raíz también fue el más bajo con el abono usado en campo respecto a los otros abonos, pero la diferencia fue solo significativa ($P<0,05$) con el abono 1. Entre abonos no se presentó diferencias significativas para peso seco de raíz y altura de las plantas (cuadro 11).

Respecto al testigo, donde las plantas de maíz se sembraron en suelo de la Trinidad, la adición de un 10% del abono usado en campo a dicho suelo incrementó el peso follaje húmedo en un 68%, follaje seco en 130% y altura en 53% y contrariamente redujo el peso de raíz (húmedo y seco), sin embargo en todos los casos las diferencias no fueron significativas. Respecto al testigo, la adición de los abonos 1, 2 y 3 incrementaron ($P<0,05$) el peso húmedo del follaje en 324, 230 y 203% respectivamente. El peso seco del follaje se incrementó en un 760, 674 y 230% con la incorporación respectiva de los abonos 1, 2 y 3, sin embargo el único incremento significativo ($P<0,05$) fue con el abono 1.

Con el abono usado en campo se redujo en un 50% el peso húmedo de la raíz al compararlo con el peso obtenido con el testigo, pero la diferencia no fue significativa, de igual forma con los abonos 2 y 3 se obtuvo menor peso húmedo de raíz (31 y 36% respectivamente) respecto al testigo, sin embargo las diferencias tampoco resultaron significativas. Por el contrario, con el abono 1 se obtuvo un incremento ($P<0,05$) de 67% en peso húmedo de raíz respecto al testigo. Ninguno de los abonos presentó diferencias significativas respecto al testigo en la variable peso seco de raíz ($P>0,05$).

El abono usado en campo incrementó la altura de las plantas en un 53% respecto al testigo, pero dicho incremento no fue significativo, mientras que si hubo diferencias significativas ($P < 0,05$) en los incrementos obtenidos con los abonos 1, 2 y 3 respecto al testigo, los cuales fueron de 94, 94 y 83%, respectivamente (cuadro 11).

Cuadro 11. Valores medios ($n=4$) de follaje, raíz y altura de plantas de maíz ($n=4$) según sustrato de siembra en macetas y mantenidas en ambiente protegido. Suelo colectado en la Trinidad de Dota, San José.

Sustrato (relación 1/9)	Peso de follaje (g)		Peso de raíz (g)		Altura (cm)
	Húmedo	Seco*	Húmedo	Seco*	
Abono 1 /suelo	16,12 ^a	4,30 ^a	7,87 ^a	1,95	58,30 ^a
Abono 2 / suelo	12,55 ^a	3,87 ^{ab}	3,25 ^{ab}	0,60	58,28 ^a
Abono 3 / suelo	11,50 ^{ab}	1,65 ^{ab}	3,00 ^{ab}	0,40	54,94 ^a
Abono usado en campo / suelo	6,37 ^{bc}	1,15 ^{ab}	2,35 ^b	0,50	46,00 ^{ab}
Testigo (100 % Suelo)	3,80 ^c	0,50 ^b	4,72 ^{ab}	0,87	29,98 ^b
Error estándar	1,40	0,79	1,23	3,86	3,86
Probabilidad**	<0,0001	0,0139	0,0418	0,0802	0,0005

*Se refiere al peso después de secar las muestras a 60 °C en una estufa.

**Probabilidad asociada al ANDEVA

Medias con letras diferentes en una misma columna presentaron diferencias significativas según la prueba Tukey ($P < 0,05$).

Por otro lado en el cuadro 12 se presenta los promedios de absorción total de cada elemento por tratamiento de las plantas de maíz sembradas con el suelo de la Luchita. Se observó que el abono 2 difirió del resto de sustratos ($P < 0,05$), mostrando ser el abono que dispuso mayor cantidad de nutrimentos a las plantas modelo.

La cantidad de nutrimentos extraídos en las plantas modelo, cuando se utilizó el compost usado en campo presentó valores similares que el abono 3 ($P > 0,05$), a excepción de Ca y B cuyos valores fueron superiores al abono 3 ($P < 0,05$). El tratamiento testigo (solo suelo) presentó los

menores valores de nutrientes absorbidos por las plantas de maíz, diferenciando del resto de tratamientos con enmiendas de abonos orgánicos ($P>0,05$). Sin embargo, no se presentaron diferencias entre el tratamiento testigo y el abono usado en campo para Cu y Mn ($P>0,05$), tampoco para los elementos Ca, Mg, Zn, Mn y B entre el testigo y el abono 3 ($P>0,05$).

Cuadro 12. Absorción total de nutrientes (parte aérea) de maíz ($n=4$), basadas en el análisis químico foliar de plántulas sembradas en sustratos de abono orgánico y suelo en proporción 1:9, bajo condiciones de ambiente protegido. Luchita del Guarco, Cartago.

Elemento	Abono 1	Abono 2	Abono 3	Abono usado en campo	Testigo (suelo)	Error estándar	*Probabilidad
mg/ pote*							
N	171,36 _b	220,8 ^a	75,21 ^c	78,03 ^c	24,18 ^d	8,49	<0,0001
P	127,68 _b	178,02 ^a	46,87 ^c	44,88 ^c	17,55 ^d	6,07	<0,0001
K	823,20 _b	1029,48 ^a	408,75 ^c	336,60 ^c	94,57 ^d	42,76	<0,0001
Ca	87,36 ^b	110,40 ^a	31,06 ^d	54,06 ^c	23,59 ^d	4,04	<0,0001
Mg	35,84 ^a	40,02 ^a	14,71 _{bc}	17,34 ^b	8,19 ^c	1,66	<0,0001
Cu	0,56 ^b	0,69 ^a	0,16 ^c	0,15 ^{cd}	0,05 ^d	0,02	<0,0001
Zn	4,81 ^a	5,38 ^a	1,58 ^{bc}	1,68 ^b	0,78 ^c	0,20	<0,0001
Mn	9,40 ^a	7,31 ^b	4,57 ^c	5,20 ^c	4,27 ^c	0,46	<0,0001
Fe	16,12 ^b	20,97 ^a	7,84 ^c	9,07 ^c	2,67 ^d	0,84	<0,0001
B	0,82 ^a	0,92 ^a	0,30 ^c	0,52 ^b	0,15 ^c	0,03	<0,0001

*Cada pote constó de 4 plántulas de maíz.

**Probabilidad asociada al ANDEVA

Medias con letras diferentes en una misma columna presentaron diferencias significativas según la prueba Tukey ($P<0,05$).

De esta manera se observó en el cuadro 12 que para el caso del N los abonos 1, 2 y 3 presentaron una diferencia de 147,18; 196,62 y 51,03 mg de N por pote, respectivamente en comparación al testigo, mientras que el abono usado en campo presentó una diferencia respecto al testigo de 53,85 mg de N por pote. Para el P los abonos 1, 2 y 3 presentaron una diferencia del 110,13; 160,47 y 29,32 mg de P por pote en comparación al testigo, respectivamente, mientras que con el abono usado en campo se presentó una diferencia respecto al testigo de 27,33 mg de P por pote. En el caso del K, fue el macronutriente, donde se dieron las diferencias más abruptas, siendo los abonos 1, 2 y 3 los que mostraron mayores discrepancias con 728,63; 934,91 y 314,18 mg de K más por pote respectivamente, en comparación al testigo, mientras que el abono usado en campo presentó 242,03 mg de K más por pote en comparación al testigo.

Por su parte los macronutrientes secundarios, representados por el Ca y Mg, siguieron la misma tendencia de los demás elementos, de esta forma el Ca en los abonos 1, 2 y 3 presentó una diferencia del 63,77; 86,81 y 7,47 mg de Ca por pote, respectivamente, mientras que con el abono usado en campo presentó 30,47 mg más de Ca por pote en comparación al testigo. Mientras que para el Mg las diferencias fueron de 28,65; 32,63 y 6,52 mg de Mg por pote para los abonos 1, 2 y 3 respectivamente y de 9,15 mg más de Mg por pote para el abono usado en campo, todos con relación al testigo.

Del mismo modo los micronutrientes evaluados, (Cu, Zn, Mn, Fe y B), continuaron con el patrón antes descrito, siendo el Cu el que presentó mayor desigualdades, donde los abonos 1, 2 y 3 mostraron una diferencia de 0,51; 0,64 y 0,11 mg de Cu por pote respectivamente, en comparación al testigo, mientras que con el abono usado en campo presentó 0,10 mg más de Cu por pote, en comparación al testigo. Para el Zn los abonos 1, 2 y 3 presentaron una diferencia de 4,03; 4,60 y 0,8 mg de Zn por pote respectivamente, mientras que con el abono usado en campo presentó 0,90 mg más de Zn por pote, en comparación al testigo. Para el Mn los abonos 1, 2 y 3 presentaron una diferencia de 5,13; 3,04 y 0,30 mg de Mn por pote respectivamente, mientras que con el abono usado en campo presentó un 0,93 mg más de Mn por pote, en comparación al testigo. Para el Fe los abonos 1, 2 y 3 presentaron una diferencia de 13,45; 18,30 y 5,17 mg de Fe por pote respectivamente, mientras que con el abono usado en campo presentó 6,40 mg más de

Fe por pote, en comparación al testigo. Por último el B presentó diferencias de 0,67; 0,77 y 0,15 mg de Fe por pote para los abonos 1, 2 y 3 respectivamente y de un 0,37 mg más de B por pote para el abono usado en campo, todos con relación al testigo.

Cuadro 13. Absorción total de nutrimentos (parte aérea) de maíz (n=4), basadas en el análisis químico foliar de plántulas sembradas en sustratos de abono orgánico y suelo en proporción 1:9, bajo condiciones de ambiente protegido. Trinidad de Dota, San José.

Elemento	Abono 1	Abono 2	Abono 3	Abono usado en campo	Testigo (suelo)	Error estándar	Probabilidad
mg / pote*							
N	40,85	42,63	16,83	13,34	5,5	8,50	0,0224
P	33,97 ^{ab}	43,40 ^a	11,72 ^{ab}	6,56 ^b	2,30 ^b	8,33	0,0117
K	281,22 ^a	275,13 ^a	115,01 ^{ab}	72,80 ^{ab}	27,0 ^b	55,61	0,0143
Ca	21,93 ^{ab}	25,96 ^a	6,9 ^{ab}	6,9 ^{ab}	3,30 ^b	5,05	0,0199
Mg	9,03	8,52	3,96	2,76	1,55	1,74	0,0246
Cu	0,21 ^{ab}	0,31 ^a	0,21 ^{ab}	0,11 ^{ab}	0,02 ^b	0,05	0,038
Zn	1,07 ^{ab}	1,20 ^a	0,39 ^{ab}	0,28 ^{ab}	0,10 ^b	0,23	0,0155
Mn	4,73	4,72	1,91	1,69	2,06	0,97	0,8007
Fe	26,74 ^a	19,53 ^{ab}	6,35 ^b	6,00 ^b	1,29 ^b	4,26	0,0036
B	0,30 ^{ab}	0,32 ^a	0,15 ^{ab}	0,10 ^{ab}	0,04 ^b	0,06	0,0265

*Cada pote constó de 4 plántulas de maíz.

**Probabilidad asociada al ANDEVA.

Medias con letras diferentes en una misma columna presentaron diferencias significativas según la prueba Tukey (P<0,05).

Al igual que el caso anterior en el cuadro 13, se muestran las diferencias en la extracción de nutrimentos por parte de las plantas indicadoras, según el abono evaluado, dichas diferencias estuvieron estrechamente correlacionadas con los parámetros físicos (pesos secos y frescos de follaje y raíz, así como la altura) anteriormente descritos en la calidad del abono. En general se observó que las plantas modelos respondieron de mejor forma (en cuanto crecimiento y desarrollo) en los tratamientos con los abonos 1 y 2 (siendo ligeramente superior este último que el abono 1). También estos abonos presentaron mayor disponibilidad de nutrimentos que el resto de tratamientos, mientras que los tratamientos con los abonos 3, el abono usado en campo y testigo (sin abono) para el suelo de Trinidad, fueron los peor ubicados en términos de disponibilidad nutricional.

En el cuadro 13 no se observaron diferencias estadísticas al momento de incorporar los abonos para los macronutrimentos N, ni Mg, mientras que para P los abonos 1, 2 y 3 mostraron una diferencia de 31,67; 41,1 y 9,42 mg de P por pote respectivamente, en relación al testigo, mientras que el abono usado en campo presentó 4,26 mg más de P por pote en comparación al testigo. Para K al igual que en la Luchita fue donde se presentaron las mayores diferencias estadísticas entre los tratamientos evaluados, en el que los abonos 1, 2 y 3 presentaron una diferencia de 254,22; 248,13 y 88,01 mg de K por pote respectivamente, en relación al testigo, mientras que el abono usado en campo presentó 45,8 mg más de K por pote en comparación al testigo. Por su parte el Ca, (el otro macronutriente secundario) presentó diferencias del 18,63; 22,63 y 3,6 mg de Ca por pote para los abonos 1, 2 y 3 respectivamente, en relación al testigo, mientras que el abono usado en campo presentó 3,6 mg más de Ca por pote en comparación con el testigo.

En el caso de los micronutrientes ni el Mn, ni el Zn presentaron diferencias estadísticas, mientras que el Cu con los abonos 1, 2 y 3 mostró diferencias del 0,19, 0,29 y 0,19 mg más de Cu por pote respectivamente, en relación al testigo, mientras que el abono usado en campo presentó un 0,09 mg más de Cu por pote, en comparación al testigo. Para el Fe los abonos 1, 2 y 3 presentaron una diferencia de 25,45, 18,24 y 5,06 mg más de Fe por pote respectivamente, en relación al testigo, mientras que el abono usado en campo presentó un 4,71 mg más de Fe por pote, en comparación

al testigo. Finalmente el B presentó diferencias de 0,26, 0,28 y 0,11 mg más de B por pote para los abonos 1, 2 y 3 respectivamente en relación al testigo y de 0,06 mg más de B por pote para el abono usado en campo en comparación al testigo.

5.2. Variables evaluadas en la parte aérea

5.2.1. Fase experimental en campo con plantas de mora

5.2.1.1. Dinámica de nutrimentos en el follaje

En los cuadros 14 y 15 se observa que no se encontraron diferencias estadísticas significativas por la incorporación del abono orgánico en las dosis utilizadas, para ninguna de las variables en la parte aérea. En promedio el % N fue de 2,37 para la Luchita y de 1,82 para la Trinidad, el promedio del % P para la Luchita fue de 0,59 y de 0,57 para la Trinidad, por su lado la media del % K fue de 2,22 para la Luchita y 2,07 de para la Trinidad, el promedio del % Ca fue de 1,15 para la Luchita y de 0,93 para la Trinidad, mientras la media del % Mg fue de 0,22 y 0,23 para la Luchita y la Trinidad, respectivamente.

De igual forma los micronutrimentos mostraron la misma tendencia de los anteriores macronutrimentos, donde tampoco se observaron diferencias estadísticas significativas para Zn cuyo promedio fue de 11,84 mg / Kg para la Luchita y de 10,17 mg / Kg para la Trinidad, el Mn mostro promedios de 213,84 mg / Kg para la Luchita y de 205,0 mg / Kg para la Trinidad, para el Fe la media fue de 74,0 mg / Kg para la Luchita y de 106,75 mg / Kg para la Trinidad, finalmente el B mostro promedio de 14,16 mg / Kg y de 23,12 mg / Kg. Siendo en términos generales la localidad de la Luchita la que presentó los mayores indicadores químicos de nutrición a nivel de la parte aérea.

Cuadro 14. Elementos a nivel foliar de mora (*Rubus adenotrichos*) (n=4), según dosis de compost. Luchita del Guarco, Cartago.

Elemento	Compost (kg/planta)			Error estándar	*Probabilidad
	0	5	15		
	%				
N	2,42	2,35	2,34	0,0082	0,7588
P	0,59	0,60	0,58	0,0217	0,7854
K	2,22	2,24	2,22	0,0394	0,9357
Ca	1,15	1,11	1,18	0,0581	0,7018
Mg	0,22	0,22	0,22	0,0086	0,9404
	mg / Kg				
Cu	12,88	12,00	11,5	0,1998	0,0078
Zn	11,88	11,88	11,75	0,5385	0,9822
Mn	220,88	202,50	215,13	13,935	0,6547
Fe	62,50	72,63	86,88	15,705	0,5749
B	13,76	14,19	14,54	0,2966	0,2580

*Probabilidad asociada al ANDEVA

Cuadro 15. Elementos a nivel foliar de mora (*Rubus adenotrichos*) (n=4), según dosis de compost. Trinidad de Dota, San José.

Elemento	Compost (kg/planta)			Error estándar	*Probabilidad
	0	5	15		
	%				
N	1,85	1,83	1,79	0,0732	0,8431
P	0,51	0,60	0,59	0,3046	0,1593
K	1,99	2,11	2,11	0,059	0,3419
Ca	0,87	0,95	0,98	0,0406	0,2383
Mg	0,23	0,24	0,23	0,0079	0,4253
	mg / Kg				
Cu	11,63 ^a	10,75 ^{ab}	9,63 ^b	0,5120	0,0846
Zn	10,25	10,38	9,88	0,2857	0,4807
Mn	209,38	185,88	219,38	11,23	0,1771
Fe	93,50	107,0	119,75	8,86	0,1927
B	23,31	21,80	24,24	0,6357	0,0881

*Probabilidad asociada al ANDEVA

5.2.1.2. Características químicas de la fruta

En los cuadros 16 y 17 se muestra que tanto para la Luchita como para la Trinidad, no hubo una respuesta significativa del abono orgánico en las dosis utilizadas, para los indicadores de calidad de fruta. En general la media de la humedad en fruta, siempre se mantuvo constante a lo largo de los meses de evaluación y fue del 84% en la Luchita y del 80% en la Trinidad, por su lado la media del pH fue de 2,70 en la Luchita y de 2,59 en la Trinidad, este último índice en estrecha relación con la acidez total que mostró promedios de 2,24 g ácido málico/100g y 2,51 g ácido málico/100g para la Luchita y la Trinidad respectivamente.

Los grados brix fueron en promedio 9,6 en la Luchita y de 13,6 en la Trinidad. Para tener una mejor noción de la cantidad de sólidos solubles en comparación con la acidez, lo mejor es expresar este último, en términos de base seca, dado que los factores de dilución pueden ocasionar diferencias erróneas entre estos indicadores. Por lo que para este tipo de comparación (brix vs acidez) se obtuvieron promedios de 13,97 % de acidez para la Luchita y de 12,56 % de acidez para la Trinidad, ambos en base seca.

Por último los polifenoles siguieron la misma tendencia de los demás parámetros evaluados en fruta y no mostraron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre tratamientos. La media de antocianinas para la Luchita fue de 98,7 mg cianidin-3-glucosido/100g y para la Trinidad de 107,0 mg cianidin-3-glucosido/100g. En los elagitaninos el promedio fue de 266 mg ácido elágico/100g y 348 mg ácido elágico/100g para la Luchita y la Trinidad respectivamente. En términos generales hubo mayor porcentaje de humedad y acidez en base seca en las frutas colectadas en la Luchita, mientras que en la localidad de la Trinidad se presentaron los restantes índices con los valores más altos, siendo así las frutas de la Trinidad las que expresaron mayor cantidad de sólidos solubles (grados ° brix) y concentración de polifenoles (elagitaninos y antocianinas).

Cuadro 16. Efecto del compost sobre los indicadores de calidad de fruta de mora (*Rubus adenotrichos*) (n=4). Luchita del Guarco, Cartago.

Compost (Kg/planta)	Humedad (%)	pH	Acidez total (g ácido málico/100g)	Brix	Antocianinas (mg cianidin-3-glucosido/100g)	Elagitaninos (mg ácido elágico/100g)
0	84	2,67	2,22	9,91	93	270
5	84	2,70	2,27	9,54	102	267
15	84	2,72	2,22	9,35	101	261
Error estándar	0,3077	0,0105	0,1532	0,2095	3,1798	9,26
*Probabilidad	0,6996	0,0283	0,5985	0,2378	0,1886	0,7987

*Probabilidad asociada al ANDEVA

Cuadro 17. Efecto del compost sobre los indicadores de calidad de fruta de mora (*Rubus adenotrichos*) (n=4). Trinidad de Dota, San José.

Compost (Kg/planta)	Humedad (%)	pH	Acidez total (g ácido málico/100g)	Brix	Antocianinas (mg cianidin-3-glucosido/100g)	Elagitaninos (mg ácido elágico/100g)
0	80	2,55	2,53	13,23	111	353
5	80	2,61	2,48	13,41	106	342
15	80	2,60	2,53	14,26	104	348
Error estándar	0,4806	0,0164	0,0158	0,3534	11,18	26,27
*Probabilidad	0,7606	0,0947	0,6434	0,1710	0,8883	0,9567

*Probabilidad asociada al ANDEVA

5.3. Variables agroclimáticas

En las figuras 9, 10 y 11 se observa que entre las localidades evaluadas hubo diferencias significativas para las variables: Temperatura, humedad relativa y radiación fotosintéticamente activa (PAR), donde se muestra que la zona de la Luchita presentó valores mayores de temperatura y humedad relativa, más no así de radiación fotosintéticamente activa, dado que la localidad de la Trinidad fue la que presentó mayor PAR, durante los periodos de cosecha (febrero, marzo y abril). En promedio la temperatura para la localidad de la Luchita fue de 16,66 °C y de 14,98 °C para la Trinidad, por su parte la media de la humedad relativa para la Luchita fue de 92,67% y de 85,21% para la Trinidad, mientras que el promedio del PAR fue de 258,44 mmol m⁻² s⁻¹ para la Luchita y de 331,81 mmol m⁻² s⁻¹ para la Trinidad.

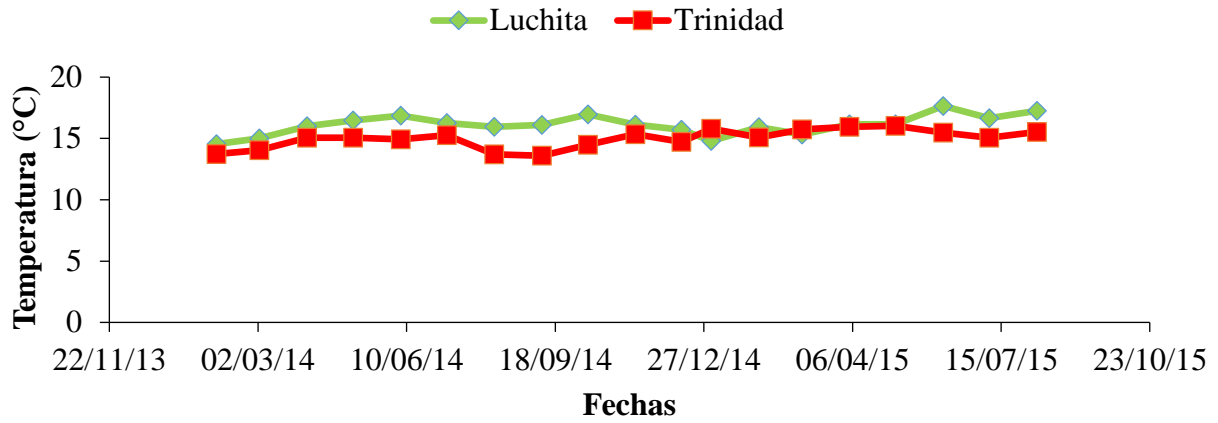


Figura 9. Temperatura media mensual por localidad, durante el periodo de estudio 2014-2015.

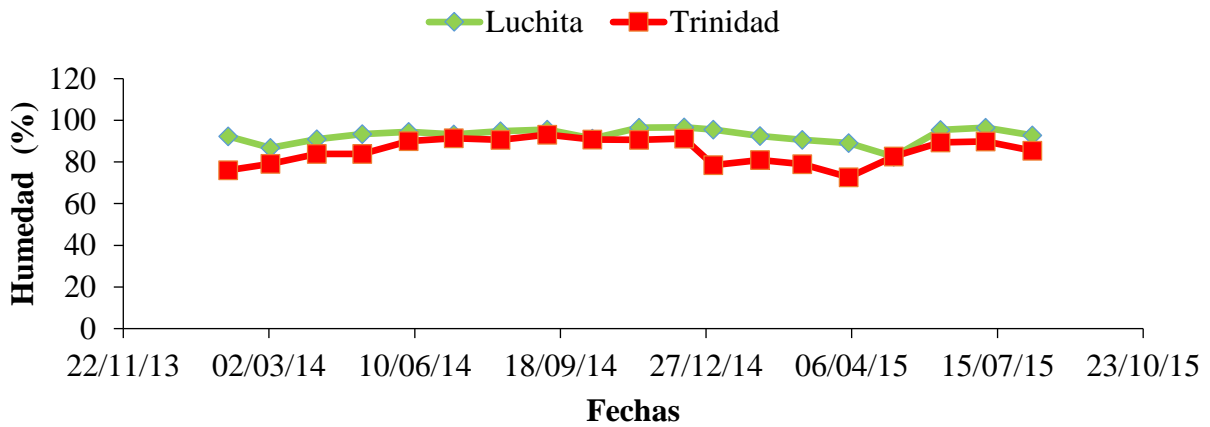


Figura 10. Humedad relativa media mensual por localidad, durante el periodo de estudio 2014-2015.

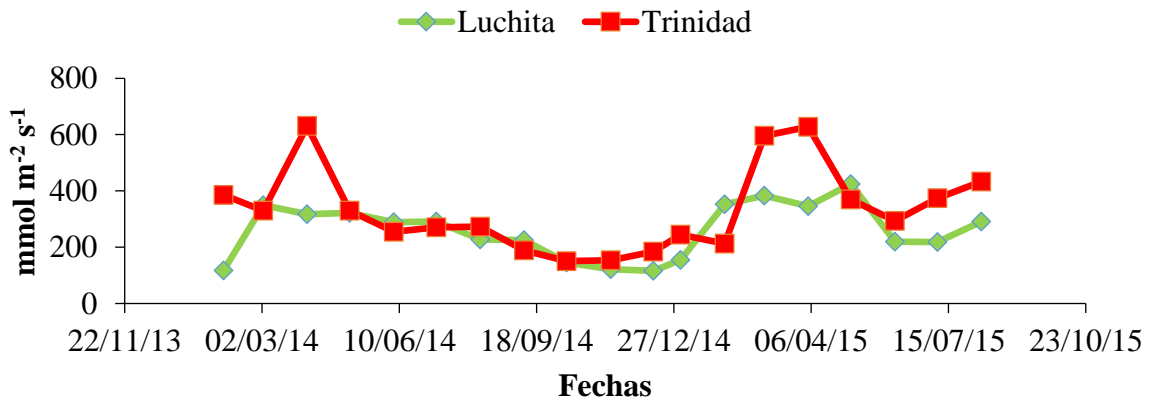


Figura 11. Radiación fotosintéticamente activa media mensual por localidad, durante el periodo de estudio 2014-2015.

5.3.1. Relación entre polifenoles y condiciones agroclimáticas

En las siguientes figuras se muestra la posible relación entre los polifenoles y las condiciones agroclimáticas, durante los periodos de cosecha (febrero, marzo y abril) de los años 2014 y 2015.

En la figura 12 se observa que no hubo mayor relación entre las antocianinas y la temperatura, dado que en ninguna de las localidades estudiadas se mostraron diferencias significativas para el mencionado compuesto bioactivo, a pesar de las diferencias en temperatura entre las zonas. Por otro lado en la figura 13 se observa que hubo diferencia significativa en la suma de elagitaninos entre las localidades evaluadas, además también se observa que existió una tendencia hacia el alza en los elagitaninos cuando la temperatura disminuye.

La figura 14 evidencia que tampoco hubo relación entre las antocianinas y la humedad relativa, dado que no se mostraron diferencias significativas en dicho compuesto fenólico, a pesar de la marcada diferencia de humedades relativas entre las localidades, mientras que en la figura 15 al igual que en la figura 13 se observaron diferencias significativas en la suma de elagitaninos entre las localidades evaluadas, además se percibió que los elagitaninos respondieron positivamente ante un estímulo en la humedad relativa, ya que a menor humedad relativa, mayor concentración de ácido elálgico se acumulaba en los frutos de mora.

Continuando con la tendencia de las relaciones anteriormente mencionadas, se observa en la figura 16 las antocianinas tampoco respondieron de manera positiva ante cambios en la radiación fotosintéticamente activa, dado que en ninguna de las localidades se logró percibir diferencias significativas en la concentración de antocianinas a pesar de las marcadas diferencias del PAR entre las zonas de estudiadas. Por último se observa en la figura 17 que al igual que en las figuras 13 y 15 se observaron diferencias significativas en la suma de elagitaninos entre las localidades evaluadas, aparte de ello también se observó que los elagitaninos respondieron de forma positiva ante cambios en la radiación fotosintéticamente activa, dado que estos tienden a aumentar conforme crece el PAR.

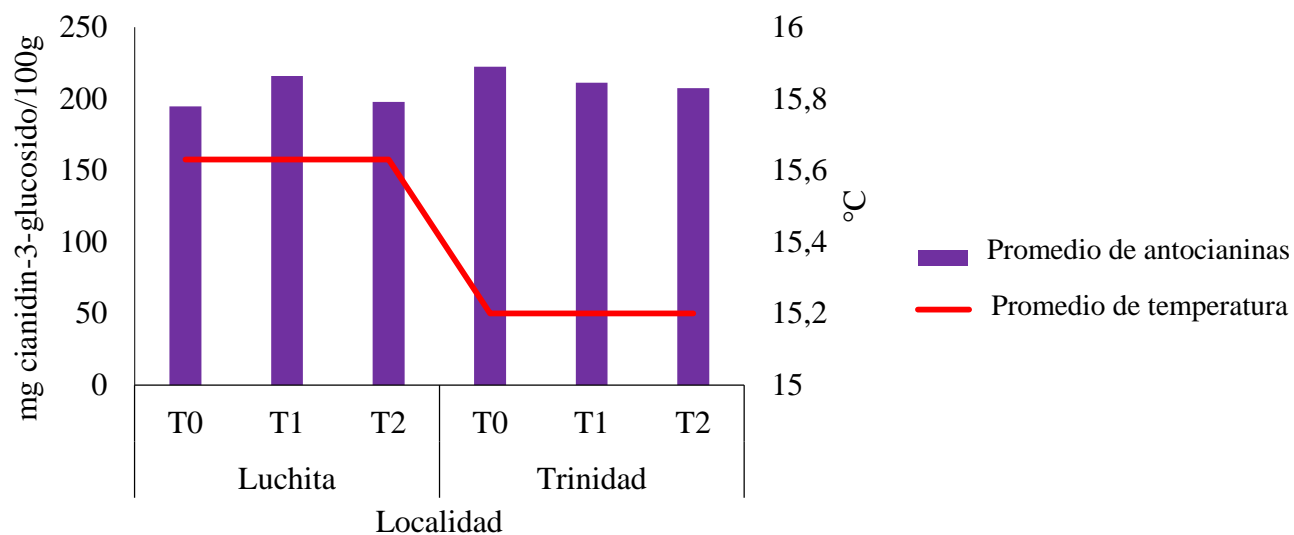
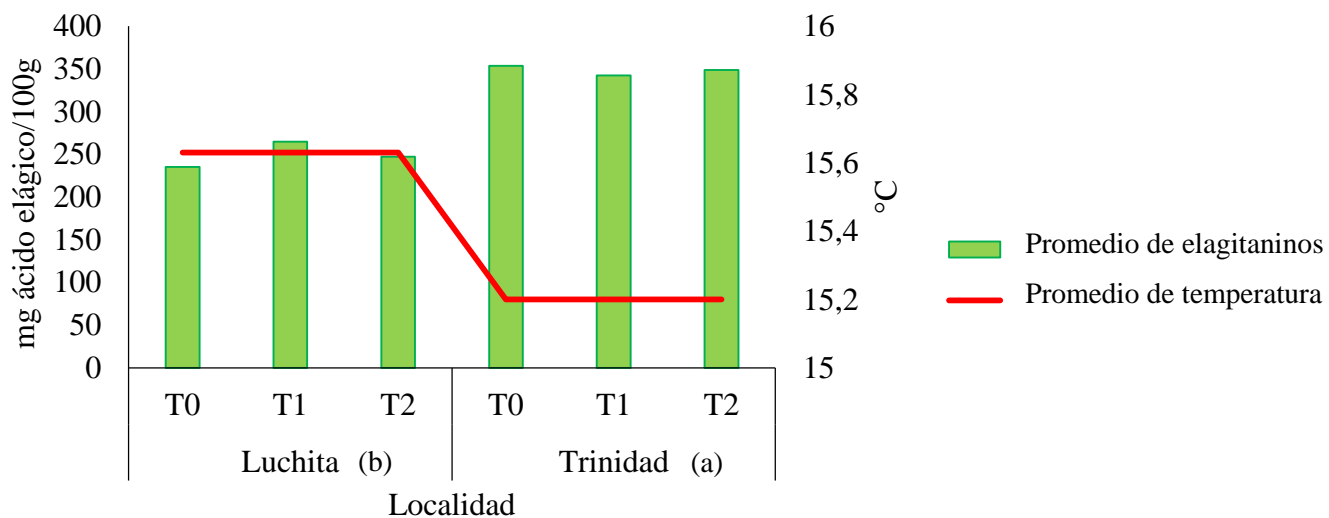


Figura 12. Relación entre la concentración de antocianinas expresada en mg de cianidin 3-glucosido/100g y la temperatura (°C) en dos localidades.



Medias con letras diferentes muestran diferencias significativas entre localidades y localidades, según la prueba Tukey ($P < 0,05$).

Figura 13. Relación entre la concentración de elagitaninos expresada en mg ácido elágico/100g y la temperatura (°C) en dos localidades.

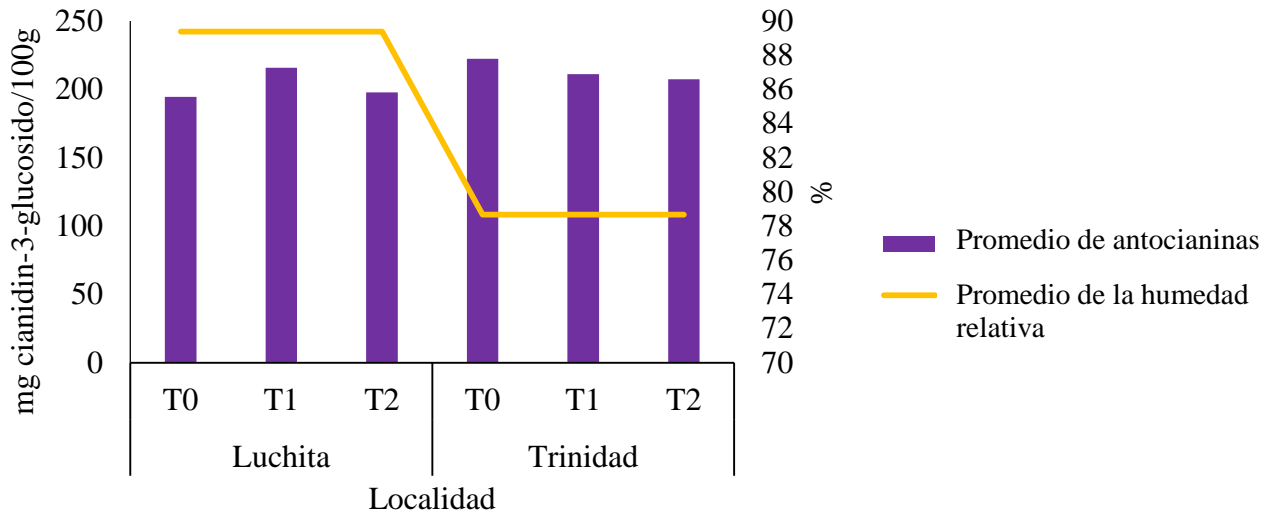
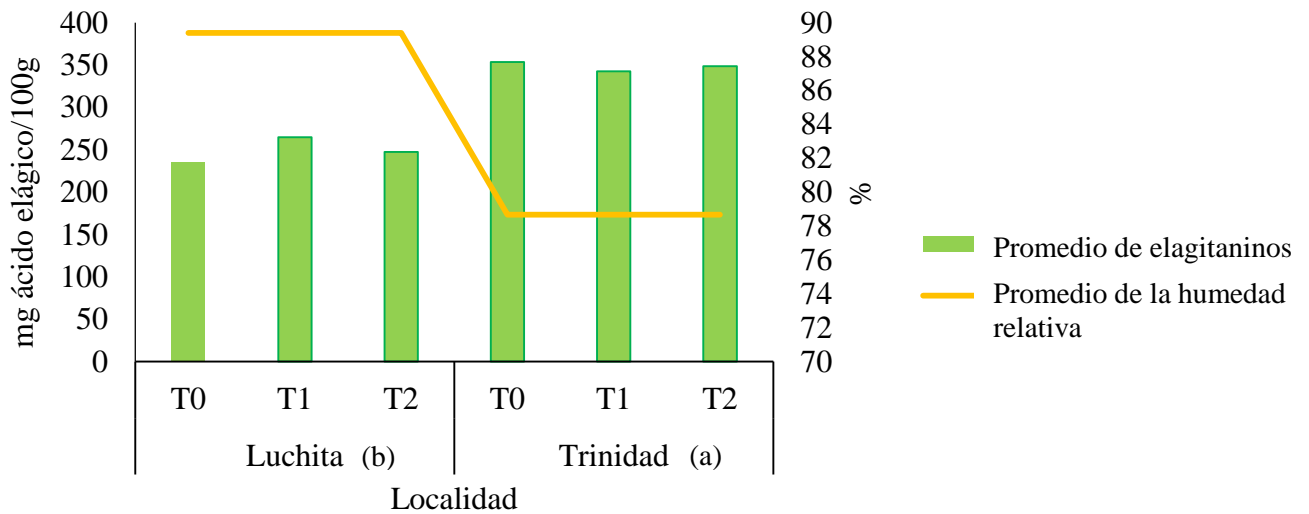


Figura 14. Relación entre la concentración de antocianinas expresada en mg de cianidin 3-glucosido/100g y la humedad relativa (%) en dos localidades.



Medias con letras diferentes muestran diferencias significativas entre localidades, según la prueba Tukey ($P < 0,05$).

Figura 15. Relación entre la concentración de elagitaninos expresada en mg ácido elágico/100g y la humedad relativa (%) en dos localidades.

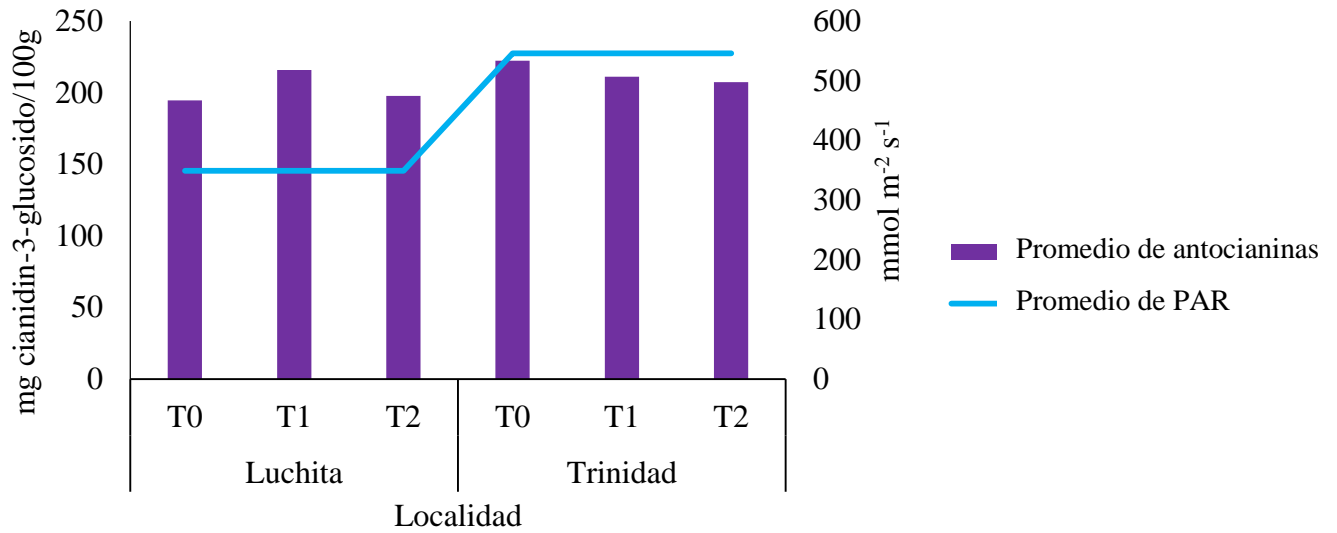
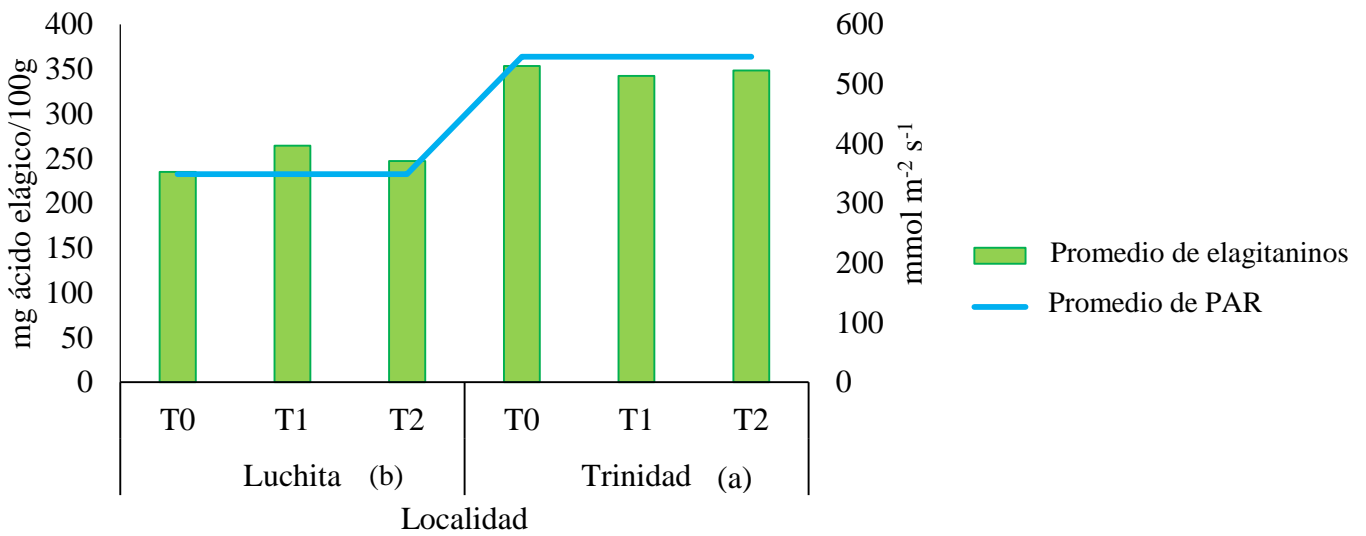


Figura 16. Relación entre la concentración de antocianinas expresada en mg de cianidin 3-glucosido/100g y la radiación fotosintéticamente activa ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en dos localidades.



Medias con letras diferentes muestran diferencias significativas entre localidades, según la prueba Tukey ($P < 0,05$).

Figura 17. Relación entre la concentración de elagitaninos expresada en mg ácido elálgico/100g y la radiación fotosintéticamente activa ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en dos localidades.

5.3.2. Relación entre el déficit de presión de vapor, Condiciones agroclimáticas y Polifenoles

En la figura 18 se observa que existe una relación positiva entre la radiación fotosintéticamente activa y el déficit de presión de vapor (DPV), dado que ante aumentos en el PAR se perciben igualmente aumentos en el DPV, principalmente en la localidad de la Trinidad. En la figura 19 se aprecia que también existe una relación positiva entre la temperatura y el DPV, ya que conforme aumenta la primera, el DVP tiende a crecer igualmente, dicha interacción fue más notoria en la localidad de la Trinidad entre un año y el siguiente.

La figura 20 muestra que también existe una relación positiva entre el DPV y las antocianinas, ya que ante aumentos en el déficit de presión de vapor la concentración de antocianinas tiende a aumentar en las frutas de mora. Por otro lado en la figura 21 se evidencian diferencias significativas entre las localidades evaluadas y entre los años de cosecha, principalmente en la Trinidad, además se muestra que hubo una relación negativa entre el DPV y los elagitaninos, dado que la concentración de estos últimos disminuyó conforme aumentaba el déficit de presión de vapor, dicha situación fue más notoria en la localidad de la Trinidad entre un año y el siguiente.

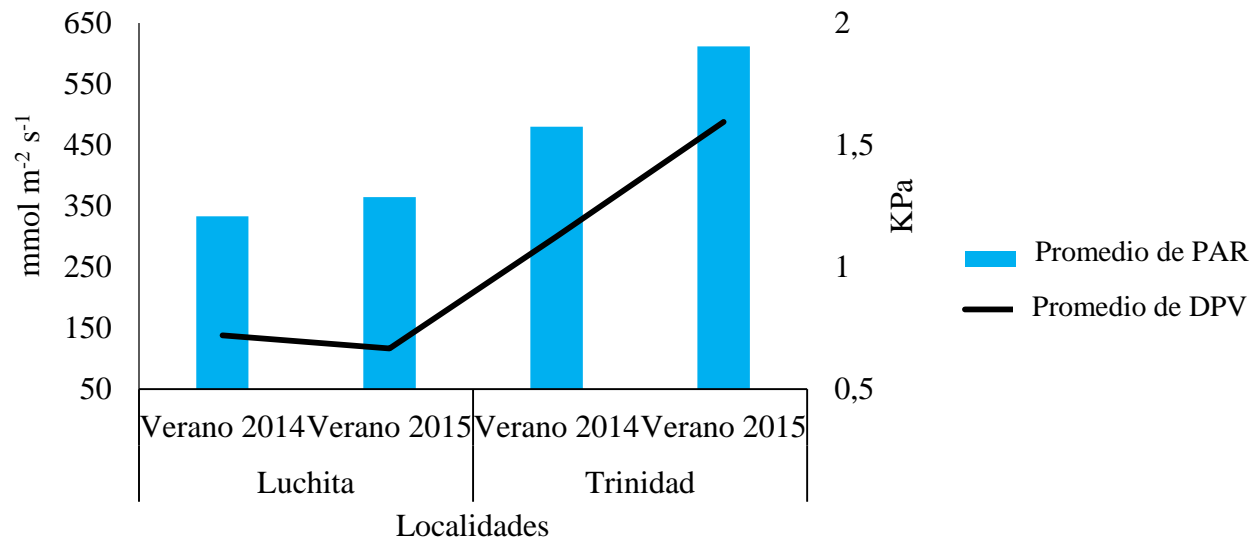


Figura 18. Relación entre la radiación fotosintéticamente activa (PAR) expresada en $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y el déficit de presión de vapor (KPa) en dos localidades y periodos de cosecha.

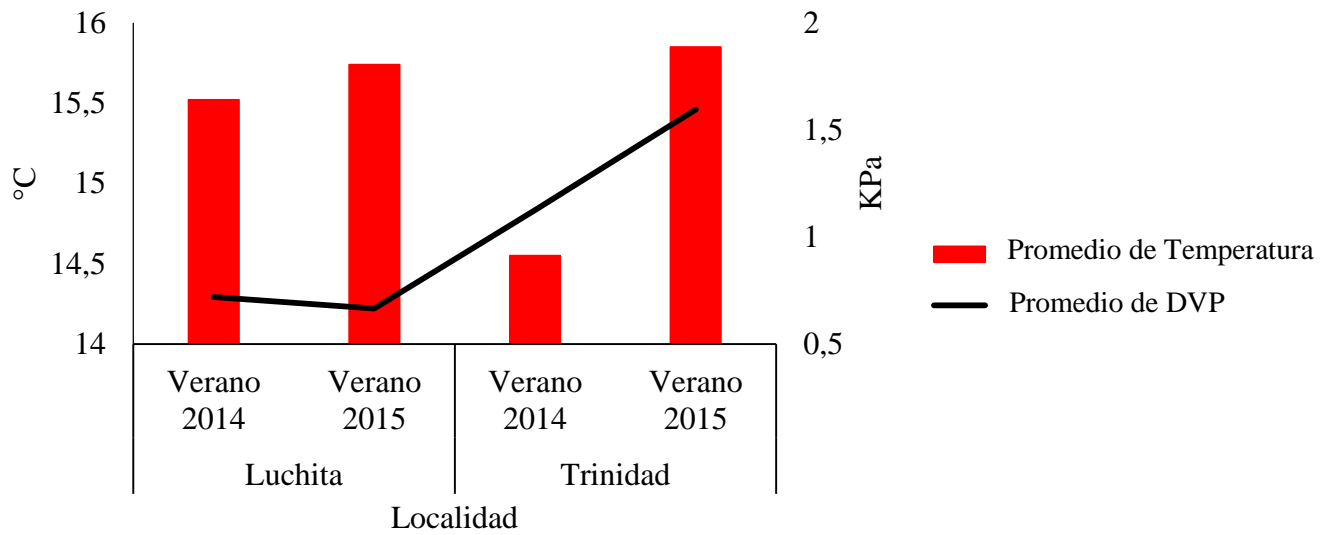


Figura 19. Relación entre la temperatura expresada en grados $^{\circ}\text{C}$ y el déficit de presión de vapor (KPa) en dos localidades y periodos de cosecha.

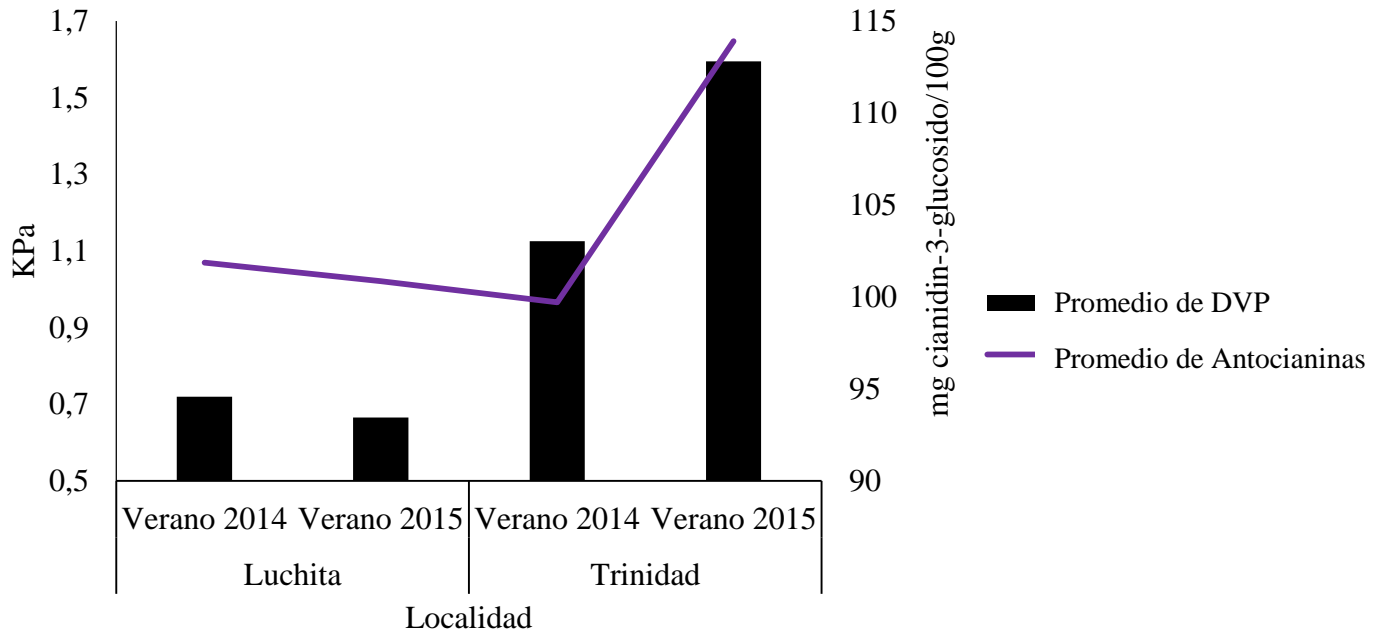
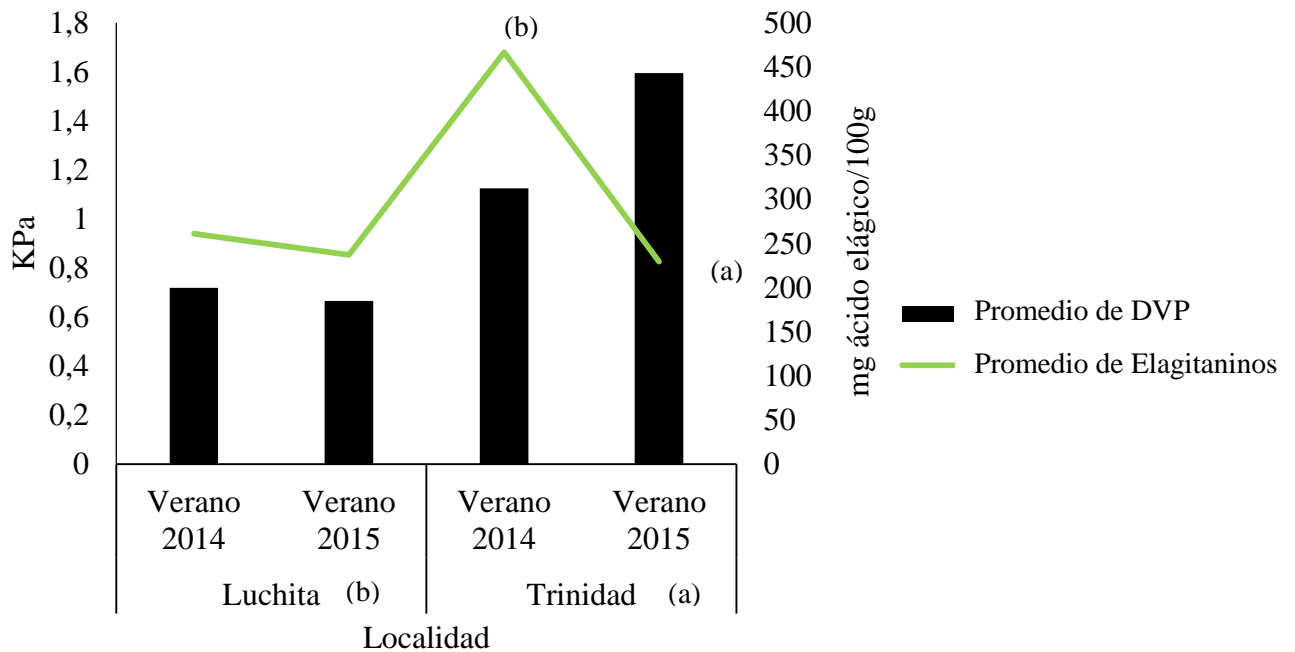


Figura 20. Relación entre el déficit de presión de vapor expresado en KPa y la concentración de antocianinas (mg de cianidin 3-glucosido/100g) en dos localidades.



Medias con letras diferentes muestran diferencias significativas entre localidades y años de cosecha, según la prueba Tukey ($P < 0,05$).

Figura 21. Relación entre el déficit de presión de vapor expresado en KPa y la concentración de elagitaninos (mg ácido elágico/100g) en dos localidades.

VI. DISCUSIÓN

6.1. Indicadores de la calidad del abono y el suelo

6.1.1. Fase experimental en campo

6.1.1.1. Indicadores químicos de la calidad del suelo

En general ambas zonas de estudio se caracterizaron por mostrar incrementos en el pH de los suelos por la adición del abono en sus diferentes dosis, situación que según Orozco (2011), se evidencia a través de una mejoría en la fertilidad de los suelos, gracias al también incremento en las concentraciones de Ca, Mg y K. La localidad de la Luchita mostró en términos generales valores de pH en el suelo más bajos y por ende presentó mayor acidez en el suelo que la Trinidad, siendo esta última la localidad que sufrió mayores variaciones en los valores de pH, dado que según Tambone *et al.* (2007), es posible que una menor capacidad amortiguadora o capacidad de tampón, así como un mayor reciclaje de bases intercambiables en respuesta a la adición del abono, provoque mayor cambios en el pH.

Asimismo, a pesar de que las dos zonas presentaban valores superiores de 0,5 c mol (+) / L de acidez intercambiable (Al^{+3} y H^{+}) que según Molina (2001), evidencian problemas de acidez producto de la solubilidad del Al^{+3} , la disminución en las concentraciones de esta variable, en ambas localidades puede estar relacionada con el aumento en el pH y el aporte de bases (Ca, Mg y K) (cuadros 7 y 8) como respuesta a la incorporación del compost que al igual que otros abonos, se caracteriza por disminuir el efecto de la acidez y la fitotoxicidad del Al^{+3} , en suelos ácidos, donde generalmente se cultiva la mora .

Ligado a lo anterior, los resultados en las bases catiónicas mostraron respuestas positivas ante la adición del abono al suelo, donde tanto el Ca, como el Mg, K y la CICE presentaron en ambas zonas mejores resultados comparando tanto el tratamiento de 5 kg/planta, como el de 15 kg/planta de abono con el testigo (0 kg/planta), lo cual coincide con los estudios de Orozco (2011) y Bertsch (2003), donde señalan que los abonos orgánicos favorecen la CICE y el aumento de las bases catiónicas. También basado en las relaciones catiónicas, hubo antagonismo

del Ca con el Mg, principalmente en la Luchita, el resto estuvo de relaciones catiónicas se mantuvo en equilibrio.

Además, se evidenció que a mayores dosis de abono (mayor volumen), no necesariamente se obtienen mayores valores de pH, este escenario se reflejó notoriamente en la Luchita, donde la dosis de 15 kg/planta de abono mostró valores de pH inferiores a los de las dosis de 5 kg/ planta, esta condición pudo darse por la pérdida de nutrientes dado el grado de pendiente (>50%) que como producto de la aleatoriedad del experimento de algunas unidades experimentales (15 kg/ planta) quedaban en zonas difíciles de acceder por lo que la distribución del abono no siempre quedaba uniformemente distribuida y posiblemente parte del abono era perdido, la otra situación que pudo presentarse era que ante mayor volumen de abono, también se podría dar mayor acumulo de grupos ácidos presentes en la materia orgánica, provocando que no se dieran los aumentos en los valores deseados. Relacionado a lo anterior, la localidad de la Trinidad no mostró este escenario, dado que esta zona una escasa pendiente lo cual permitía hacer una distribución uniforme de todos los tratamientos, además de una mejor y mayor accesibilidad a las zonas de muestreo.

Por otro lado, la concentración de P en el suelo respondió satisfactoriamente a la adición del abono en ambas dosis evaluadas y en las dos zonas, sin embargo destaca un mayor aumento en la localidad de la Trinidad. Lo anterior, puede relacionarse con lo mencionado por Sánchez (1981), ya que al aumentar el pH se disminuye la capacidad de fijación de P, debido a que los óxidos e hidróxidos de Fe y Al que no forman complejos insolubles con el fosfato, aumentan la concentración de P en la solución del suelo, sin embargo cabe destacarse que eso suele suceder en suelos altamente meteorizados como los Ultisoles y Alfisoles y no en Inceptisoles.

Por su parte las concentraciones de Cu, se presentaron dentro de los parámetros óptimos (2-20 mg / L) (Bertsch 2003) esto en ambas localidades, a pesar de que según Molina (1999), la materia orgánica forma complejos muy estables con el Cu, lo que induce a una baja movilidad ese elemento en el suelo y por ende una baja disponibilidad del mismo para las plantas, sin

embargo cabe destacar que en la Trinidad la concentración de este nutrimento fue mayor. La concentración del Zn en los suelos de ambas localidades, mostró un ligero efecto positivo a la incorporación de abono en sus distintas dosis, sin embargo este aumento no fue suficiente, ya que en ninguno de los casos superó los 3 mg / L (Bertsch 2003), dichos resultados concuerdan con Molina (1999), el cual indica que el Zn es el micronutriente que con mayor frecuencia se encuentra deficiente en los suelos del país. Además Sánchez (1981), señala que es posible que la disminución en la disponibilidad de Zn en el suelo, es provocado por el incremento del pH, producto de la aplicación de abonos orgánicos, los cuales aportan altas concentraciones de bases al suelo.

El Mn, que puede ser riesgoso a niveles elevados y que presenta una interacción de antagónico con el Zn y Fe según Kass (1996), no mostró valores altos (>50 mg / L) (Bertsch 2003) que pudiesen provocar algún riesgo de toxicidad para las plantas de mora, ni tampoco antagonismo con los nutrientes antes mencionados, esto para ambas zonas de estudio. El Fe en general fue muy alto (>100 mg / L) en ambas localidades, lo cual explica en gran parte la acidez de las dos zonas. Destaca la localidad de la Trinidad que presentó las mayores concentraciones de Fe, las cuales siempre superiores al rango óptimo (10-100 mg / L) (Bertsch 2003). Además dichas concentraciones de Fe, pueden ser atribuidas tanto por cantidades aportadas por el suelo nativo y en menor medida por aportes del abono.

Por su parte la relación catiónica Ca/Mg, mostró desbalances en ambas zonas, presentando excesos de Ca, lo que afecta la absorción de Mg, siendo mayor estos desbalances en la Luchita que en la Trinidad. La relación Ca/K mostró balances entre los cationes a lo largo del estudio para ambas localidades, mientras que la relación de bases Mg/K, presentó desbalances para ambas zonas, mostrando excesos de K con respecto al Mg, principalmente en la Luchita, por la aplicación tanto de 5 kg/ planta, como de 15 kg/ planta. Finalmente la relación Ca/Mg+K también fue siempre mayor en la Luchita que en la Trinidad, presentando balances muy ajustados, con excepción de la dosis 5 kg/ planta en la Luchita y de 15 kg/ planta en la Trinidad, con un desbalance en esta relación, debido a las bajas concentraciones de Mg en estas parcelas.

Por otra parte la materia orgánica (MO) fue bastante elevada en ambas zonas. En las localidades de estudio se mostraron en promedio un 13,37% y 15,19% de MO para la Luchita y la Trinidad respectivamente. Se esperaba que las lluvias y la pendiente influyan en menores contenidos de materia orgánica en el suelo. Se puede decir también que hubo mayor MO en la Trinidad, porque en esta zona anteriormente al “moral” fue un potrero y muchas raicillas pequeñas forman parte de los primeros 20 cm de suelo y posiblemente estos influyeron en la determinación de este análisis, dado que por su tamaño es imposible descartarlos a todos.

Dado lo anterior, se interpreta que la relación C/N también es alta (>20) ya que en promedio el % C fue de 7,74 para la Luchita y 8,81 para la Trinidad, mientras que para el % N fue de 0,39 y de 0,44 para la Luchita y la Trinidad correspondientemente, siendo así la relación C/N para la Luchita de 19,84:1 y de 20,02:1 para la Trinidad. Lo anterior demuestra que hubo inmovilización del N ya que la relación C/N fue alta (cerca a 20:1) en las dos localidades y que los microorganismos utilizan el N mineral del suelo, al no aportarlo el sustrato provocando el cese de la nitrificación.

En particular, los abonos orgánicos no solo confieren una ventaja por la disponibilidad nutricional que estos ofrecen, sino que también parte del C producto del proceso de descomposición de la materia orgánica de los abonos, es liberado en forma de CO₂. Esa liberación de CO₂ promueve un aumento en la actividad de la enzima rubisco como carboxilasa, y como se explicará más adelante, esta es una de las materias primas para que se den las reacciones que dan origen a las antocianinas y elagitaninos, por lo que lo lento del proceso con el que el compost se incorporó al suelo, permite explicar porque los polifenoles no fueron afectados por ningún tratamiento evaluado (Feldman 2005, Hackman *et al.* 2008, Schijlen *et al.* 2004).

6.1.1.2. Indicadores físicos de la calidad del suelo

Tanto para la Luchita como para la Trinidad los valores de densidad aparente (Dap) estuvieron por debajo de los parámetros establecidos por Alvarado y Forsythe (2005), ya que en Costa Rica la Dap de suelos Inceptisoles oscila entre 0,67 y 1,79 g/cm³. En relación a lo anterior Bertsch (2003), menciona que diferencias en la Dap de suelos del mismo orden, se dan por tipo de textura que estos presentan ya que en suelos mayoritariamente arenosos, pero con altos porcentajes de materia orgánica (como lo es el caso de ambas localidades), provocan una mejoría en la estructura de los suelos disminuyendo la Dap y el aumentando espacio poroso. Según, Alvarado y Forsythe (2005), la ocurrencia de relieves inclinados, en suelos Inceptisoles como en la Luchita, con pendientes que fluctúan entre el 30-60% limitan la mecanización por lo que la presencia de pisos de arado con Dap elevada, son poco frecuentes.

Al respecto Agüero y Alvarado (1983), mencionan que valores altos de Dap en suelos Inceptisoles son comúnmente producto del pisoteo constante del ganado, situación que afecta negativamente el desarrollo del sistema radical de los cultivos y en muchos casos reduce la velocidad de infiltración, con el consecuente incremento en la tasa de erosión de estos suelos. Esto explica mucho por qué en la Trinidad la Dap fue mayor que en la Luchita, dado que en la Trinidad como parte del manejo complementario de plantas arvenses, se suele dejar ingresar ganado a la plantación (moral), lo cual puede influir para que se dieran valores de Dap mayores que los de la Luchita. Por otro lado en la Luchita, debido a lo pronunciado de la pendiente esa práctica artesanal para el manejo de malezas es muy complicada, provocando valores de Dap poco variables y menores al compararlos con los de la Trinidad.

6.1.1.3. Indicadores microbiológicos de la calidad del suelo

Unidades formadoras de colonias

El funcionamiento de los suelos depende en gran medida del papel que jueguen los microorganismos en mantener la fertilidad y ciclaje de nutrientes en los ecosistemas, mediante procesos como: la descomposición de la materia orgánica, intervención en los ciclos de distintos elementos, procesos de formación de suelo e incluso inhibición de enfermedades que se difunden a través del suelo (McGill *et al.* 1986, Garbeva *et al.* 2004). Los actinomicetes, que son microorganismos aerobios capaces de sobrevivir con poca humedad y participan en la descomposición de celulosa y lignina (Benzing 2001); en su mayoría son saprofitos y proliferan más con un mayor contenido de materia orgánica, especialmente cuando está en sus últimas etapas de descomposición (Coyne 2000). En las zonas de estudio se presentaron considerables cantidades de colonias de actinos, siendo más notorios en la Trinidad y ligados principalmente a sus altos porcentajes de materia orgánica que como se mencionó antes, fueron mayores en esa zona. La situación con hongos siguió la misma tendencia relacionando su mayor presencia en la Trinidad, precisamente por su mayor contenido de materia orgánica. Mientras que las poblaciones de bacterias que fueron ligeramente superiores en la Luchita pudieron ser afectadas favorablemente por una mayor disponibilidad de N, Ca y Mg.

Por otro lado, para ninguna de las localidades estudiadas se mostraron diferencias en el número de UFC/g de suelo, según los tratamientos evaluados, pero si se observó al compararse entre las zonas de estudio, que la localidad de la Trinidad mostró una leve abundancia en microorganismos superior que la Luchita, quizás por una mayor disponibilidad de materia orgánica, lo que concuerda con los estudios de Acuña (2006), donde destaca que este tipo de propiedades favorece la actividad microbiana en el suelo.

Biomasa y respiración microbiana

La biomasa microbiana es un componente vivo y dinámico, además de otro indicador de suma importancia para determinar la calidad de los suelos. La biomasa microbiana según Chander y Brookes (1991), es mayor en sistemas agroforestales en los cuales la materia orgánica influye de manera directa en los resultados. Esto definitivamente confirma porque en ambas localidades los valores de biomasa microbiana fueron altos, considerando que tanto para la Luchita (13%) como para la Trinidad (15%) el porcentaje de materia orgánica fue alto (>10), donde se puede concluir igualmente para ambas zonas que la biomasa, aunque no presentó diferencias estadísticas entre tratamientos, sí tuvo una tendencia hacia el incremento ante la aplicación de las dosis de abono, esto debido al acumulo de materia orgánica producto de la incorporación del compost.

Por su parte, la respiración microbiana del suelo, que es el proceso mediante el cual los microorganismos generan la energía para el crecimiento y mantenimiento microbiano, mostró valores inusualmente altos para ambas zonas (entre 277 y 136 $\mu\text{g C-CO}_2 / \text{g suelo/día}$), mostrando estabilidad y equilibrio en la actividad microbiana. Según Adachi *et al.* (2006), suelos húmedos, sin llegar a la inundación, favorecen la actividad microbiana, mientras que suelos más secos influyen en una menor actividad microbiana. Lo anterior permite explicar porque en términos generales la localidad de la Luchita obtuvo mayores valores en los indicadores microbiológicos al compararse con la Trinidad, dado que la humedad (Figura 10) fue un factor clave que estimuló, tanto a la respiración como a la biomasa microbiana.

Además de la humedad, la respiración puede verse afectada por el uso de herbicidas los cuales tienen un efecto inhibitorio sobre los microorganismos del suelo, lo que se traduce en una reducción de la respiración y la biomasa microbiana, sin embargo el herbicida glifosato (i.a. del Roundup), según Busse *et al.* (2001), puede ser capaz de estimular la respiración microbiana afectando los procesos metabólicos de los microorganismos, aumentando la respiración microbiana que puede estar asociada a una mayor actividad biológica, debido a que los microorganismos pueden estar degradando el herbicida antes mencionado. Aunado a lo anterior Ratcliff *et al.* (2006), mencionan que ese aumento logra ser de tres a cuatro veces mayor en suelos con la aplicación de herbicidas que en suelos donde no hay aplicaciones. Tomando en

cuenta lo anterior y sabiendo que por condiciones como la pendiente y facilidad para eliminar problemas de plantas arvenses en la localidad de la Luchita, es usual ver que los productores utilicen herbicidas como una herramienta complementaria cuando realizan sus podas en moras, alterando de esta forma el pH del suelo con su uso y provocando variaciones en las comunidades de microorganismos presentes. Mientras que en la Trinidad por ser terrenos menos empinados, los productores realizan esta labor de forma manual e incluso con ayuda de animales de pastoreo que rondan las plantas y eliminan malezas, sin necesidad de utilizar ningún herbicida.

De acuerdo a Das y Mukherjee (2000), existen microorganismos sensitivos y no sensitivos a los plaguicidas. Cuando se provoca la muerte de microorganismos por agentes externos como plaguicidas se induce a que estos se incorporen al pool de la materia orgánica, los nutrimentos que de ellos (microorganismos) provienen deben pasar por el proceso de mineralización, para poder aportar N y P minerales, los cuales quedan a disponibilidad de las plantas o bien pueden ser aprovechados por los microorganismos no sensitivos. Dicho escenario pudo darse en la Luchita y ser la respuesta ante el incremento de poblaciones bacterianas en esa localidad (figura 7).

Tasa de mineralización

La mineralización al igual que la humificación de la materia orgánica del suelo, son procesos que inciden de manera directa en el ciclo de C y disponibilidad de N, P y S, así como en todas las transformaciones en las que interviene la biomasa microbiana, por lo que la actividad microbiana tiene gran importancia para los procesos biológicos y bioquímicos que ocurren en los suelos ya que influyen directamente en la transformación de nutrientes y por ende es responsable de los procesos antes mencionados (Trasar-Cepeda *et al.* 2000, Trasar-Cepeda *et al.* 2008).

Relacionado a lo anterior una mayor cobertura vegetal se relaciona con una mayor deposición de residuos vegetales, pero no necesariamente con una mayor tasa de mineralización, porque si el material es muy lignificado, la descomposición es muy lenta, o si las condiciones edafoclimáticas no son favorables, la mineralización también es afectada. Lo anterior puede ser la causa por la que no se observaron mayores diferencias entre los tratamientos evaluados. Sin embargo, la estabilidad (de los valores de materia orgánica) resulta a costa de un menor efecto catalizador en el reciclado de nutrientes, por lo que la biomasa en ambas zonas de estudio tiene más función de reservorio que de fuente de elementos minerales, por lo que el reciclaje o transformación de nutrientes es lento, así como la descomposición de la materia orgánica (Lacasta *et al* 2006).

En particular entre las localidades se observaron leves diferencias que otorgan a la Luchita una mayor tasa de mineralización del N respecto a la Trinidad, esto puede ser explicado porque la disponibilidad del N en el suelo, está asociada a la tasa de descomposición y esta depende de la temperatura, humedad y aireación condiciones que varían según la elevación. Al respecto Tanner (1985) y Marrs *et al.* (1988), han encontrado una correlación positiva y altamente significativa entre la altitud y el contenido de carbono en suelos. Ese incremento de la MO con la altitud está asociado a una disminución de la temperatura, fundamentalmente para las regiones altas superiores a 3.000 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m), mientras que para los suelos ubicados a 1.500-2.000 m.s.n.m, los factores determinantes se relacionan con la disminución gradual de la temperatura y el aumento de la precipitación, por lo que ante aumentos de carbono en suelos, producto de mayores elevaciones y menores tasas de descomposición, provocan que los

contenidos de N tiendan a disminuir, lo cual permite demostrar porque se dieron diferencias en las tasas de mineralización entre las dos zonas de estudio.

Tomando en cuenta lo anterior es posible que en suelos más permeables, probablemente como el de la Luchita el rendimiento aeróbico es más rico y es posiblemente una de las causas de una mayor mineralización en esa zona que en la Trinidad. Aunado a esto, Kitayama (1996) y Marrs *et al.* (1988), indicaron que un incremento significativo en la mineralización se da cuando el aumento de la temperatura está acompañado con una disminución en la humedad del suelo, por lo que considerando esto y sabiendo que la temperatura en la Luchita aumentó, durante las fechas de los análisis es posible que la humedad en el suelo disminuyera y fuese otra causa que provoco en esa localidad una mayor tasa de mineralización.

6.1.2. Fase experimental en invernadero

6.1.2.1. Calidad del abono

El aporte del abono usado en campo respecto al testigo fue muy poco y se vio reflejado con contundencia al compararse este con otros abonos, evidenciando su bajo rendimiento para estimular el crecimiento de las plantas, dicha situación lo califica como un abono de baja calidad, principalmente porque el peso del follaje seco y húmedo, así como en la altura de las plantas indicadoras en el bioensayo fue siempre superior en los abonos 1 y 2 en comparación al abono usado en campo para ambas localidades, situación que puede ser atribuida en primera instancia al material con el cual estuvieron hechos los abonos utilizados para el bioensayo.

Lo anterior dado que Salas y Ramírez (2001), demostraron que sustratos que contengan broza de café entre sus materiales de elaboración, como lo es el caso del abono usado en campo, tienden a mostrar menores pesos secos en el follaje y menores biomásas microbianas, por lo que el crecimiento de microorganismos en presencia de un exceso de carbono es bastante limitado, dado que la disponibilidad de otros nutrientes en el sustrato de siembra es muy pobre. Esto en gran parte se debe a que este tipo de abono por lo general presenta también mucho material grueso (>0,5 cm) como piedras, los cuales limitan su calidad ya que sus materiales se convierten en grandes agregados que son difíciles de descomponer por los microorganismos. Además el abono usado en campo presentó altos porcentajes de humedad, al compararlo con el resto de abonos, situación que llegó agravar el escenario con los agregados y con el hecho de que pueden ocurrir procesos de fermentación que limitaron aún más la calidad del abono. Todo lo anterior eventualmente repercute en la disponibilidad de nutrientes que el abono pueda suministrar a la planta y por ende demostrando que los abonos hechos con broza de café son muy deficientes para el buen desarrollo de la planta. Lo idóneo para estos de abonos es complementarlos con otros nutrientes principalmente N y P, esto para mejorar su calidad y rendimiento.

Acorde a lo anterior el análisis de la absorción total de nutrimentos en el follaje de maíz, evidenció que los abonos 1 y 2 siguieron siendo aquellos que presentaron mejor respuesta en cuanto a crecimiento y desarrollo. Esto pudo deberse a que el sustrato del abono usado en campo haya tenido una relación C/N muy alta en comparación con los abonos 1 y 2 y eso hubiese causado que los microorganismos especializados en descomponer los materiales más difíciles tardarán más en su labor, según Schweizer *et al.* (2004), ya que sustratos con relaciones C/N > a 20 pueden contribuir al aumento del humus causando acumulación del mismo sobre el mantillo (en el campo) y que su proceso de incorporación al suelo no fuera el idóneo, liberando nutrimentos de manera muy lenta y a muy largo plazo.

Otro factor que pudo haber afectado de manera negativa la disponibilidad de nutrimentos por parte del abono usado en campo es la labilidad, ya que al contener materiales gruesos (broza y cachaza) e incluso que no estuvieran completamente integrados al sustrato, afectan la velocidad de mineralización con la que los nutrimentos puedan ser accesibles a la planta. Además se sabe (Schweizer *et al.* 2004), que la conductividad eléctrica es otro parámetro importante a considerar para determinar la calidad de un abono y tomando en cuenta que el sustrato usado en campo está conformado por residuos de café que según, Leal y Madriz (1998) son ricos en potasio y otros iones solubles, es de esperar que tuviese un ligero aumento en la conductividad eléctrica y la capacidad de intercambio catiónico (CIC), las cuales son medidas factibles a determinar, según el uso que se les dé a los abonos.

Por otro lado, El abono usado en campo tampoco, demostró estabilidad en el abastecimiento y disponibilidad nutrimental, ya que al haberse realizado un análisis químico del contenido total de sus elementos, se manifestó que su contenido nutricional difirió en ambas localidades (anexo 8, cuadros A 19 y A 20).

En particular al comparar no solo por abonos y sus capacidades para suministrar nutrientes a la planta, sino que también de manera individual por cada suelo de las localidades estudiadas, se reveló que hay un mayor crecimiento y desarrollo de las plantas de la Luchita que las de la Trinidad y esto pudo deberse en gran parte a la capacidad de aireación, que estos suelos poseen y el reciclaje de nutrientes que como se discutirá adelante es mayor en suelos boscosos que agroforestales, principalmente por los componentes vivos y dinámicos del suelo (biomasa microbiana), así como la actividad biológica del mismo (respiración microbiana). Los suelos de ambas localidades tienen texturas iguales (franco-arenosas), sin embargo estos poseían diferencias muy notorias en cuanto a humedad principalmente, siendo la localidad de la Luchita la que presentó suelos con mejores características hídricas, mientras que en la Trinidad se tenían suelos muy secos y que posiblemente estuvieran por debajo de los índices necesarios para el actuar de los microorganismos, lo cual estaría estrechamente relacionado con los valores en los índices microbiológicos anteriormente explicados en su apartado correspondiente.

Tomando en cuenta lo anterior, se puede señalar que ante alteraciones imperceptibles en el metabolismo (crecimiento) de las plantas, debido al escaso efecto de la aplicación de abonos de baja calidad, la producción de metabolitos secundarios como polifenoles se ven restringidos, dado que como se explicará más adelante, las rutas metabólicas y los componentes necesarios para la elaboración de productos secundarios en las plantas como: aminoácidos, nucleótidos, azúcares y lípidos, son dependientes de una buena una fuente y biodisponibilidad de nutrimentos, según Ávalos y Pérez (2009) los cuales en una deficiente fertilización son limitados (anexo 10, cuadros A 26 y A 27).

- 6.2.** Variables evaluadas en la parte aérea
- 6.2.1.** Fase experimental en campo con plantas de mora
- 6.2.2.** Dinámica nutricional en el follaje

La interpretación de los resultados en el follaje, se realizó comparando los valores obtenidos en ambas localidades con la tabla de valores foliares estándar, previamente establecida por Buchway *et al.* (2008) (anexo 9, cuadro A22), lo anterior, dado que en el país no se cuenta con la información apropiada de nutrimentos a nivel foliar para el cultivo de mora. Según Legaz *et al.* (1995), el nivel crítico en los análisis foliares, indica que la planta no está absorbiendo de forma satisfactoria los nutrimentos requeridos por la misma, por lo que podrían producirse alteraciones en el desarrollo vegetativo, rendimiento, tamaño y calidad de la fruta.

Abordando lo mencionado por Buchway *et al.* (2008), el K, Ca y Cu no presentaron deficiencias ni excesos a nivel foliar, respecto al punto crítico propuesto en la tabla estándar, por lo que se puede decir que estos nutrimentos cuentan con el grado de abastecimiento y disponibilidad nutrimental de los que puede disponer la planta en el suelo, esto para ambas localidades. El N por su parte se encontró por debajo del nivel crítico en la Trinidad, lo cual podría explicar por qué se da un crecimiento más lento en las plantas de esa localidad, lo cual se evidenciaría aún más si se hubiese comparado la relación del vástago con la raíz, ya que la deficiencia de N según Sánchez (2010), restringe la ramificación y el crecimiento de la raíz, además el hecho de que solo se halla logrado colectar una cosecha por año en esa zona es otra muestra de la deficiencia de N, el cual provoca que el rendimiento y la calidad de la mora se reduzcan significativamente.

El Mn se halló por encima del nivel medio en ambas localidades y en todas las dosis evaluadas a excepción de la dosis de 5 Kg/planta en la Trinidad en cuyo caso estuvo en un rango óptimo. Por otro lado el Zn se presentó por debajo de su nivel crítico con la dosis de 15 Kg/planta en la Trinidad. Cabe destacar que el Cu en ambas zonas de estudio presentó valores superiores en el tratamiento testigo con respecto a las dosis de abono evaluadas, siendo notoriamente significativas dichas diferencias en la Trinidad; esto pudo darse porque la disponibilidad del cobre disminuye (cuadros 13 y 14) al aumentar el pH en el suelo (cuadros 3 y 4), además tal

como se mencionó anteriormente las concentraciones de Cu en el suelo se presenta en forma quelatada como cobre orgánico a través de grupos carboxílicos y fenólicos de la materia orgánica, formando complejos muy estables y poco disponibles para la planta, sin embargo su absorción en ambas localidades pudo ser a través de hidróxidos de hierro y la misma materia orgánica (cuadros 3 y 4). Por su parte el P mostró excesos en ambas localidades. Cabe destacar que según Sánchez (2010), este es un nutrimento que cuando está en abundancia, provoca disminuciones en el tamaño de los frutos, dicha situación podría responder porque los frutos colectados en la Trinidad eran proporcionalmente más pequeños que en la Luchita.

El Mg mostró deficiencias en ambas localidades, situación que posiblemente esté ligada a las condiciones ácidas propias de los suelos en las zonas de estudio, que eventualmente pudieron limitar su absorción, su accionar en el metabolismo de la planta, según lo explica Sánchez (2010) comprende ser el medio de transporte de energía, aparte que es un componente estructural de la molécula de clorofila y que como se explicará más adelante, todo aquel factor que intervenga en el proceso fotosintético, capta la atención, dada su importancia para formar metabolitos secundarios, a partir de sus subproductos. El B estuvo por encima del nivel crítico en las dosis de 15 Kg/planta y en el testigo en la Trinidad, pero en la Luchita sus índices estuvieron por debajo del nivel crítico en todos los tratamientos, sin embargo su papel no trasciende en importancia ya que según Villalobos (2001), es un elemento más estructural y utilizado por la planta para la síntesis de pared celular y transporte de carbohidratos y no tanto para la elaboración de metabolitos secundarios, por lo que su significancia en la producción de polifenoles queda en segundo plano, sin embargo este es un nutrimento de gran importancia desde la etapa floral hasta el llenado del fruto que en circunstancias donde se halle en concentraciones muy bajas puede inducir a la malformaciones de las drupas en el fruto.

De igual forma el bioensayo realizado también mostró que el crecimiento y desarrollo de las plantas en las zonas de estudio, está estrechamente relacionado a la capacidad de aireación y humedad que esos suelos poseen, promoviendo en el caso concreto de la Luchita, mejores condiciones para que se diera la mineralización, lo que provocó que la planta tuviera mayor

accesibilidad a los nutrientes y por ende una mayor concentración de los mismos en las hojas de las plantas muestreadas en esa localidad.

Complementario al análisis foliar hecho, mediante métodos estáticos como nivel crítico y rango de suficiencia anteriormente explicados, se realizó una desviación del óptimo porcentual (DOP) (anexo 9, cuadro A 24 y A 25), propuesto por Montañés *et.al* (1991), el cual permitió de manera sencilla, versátil y confiable obtener índices de deficiencias y excesos de cada elemento analizado a nivel foliar, de esta manera se obtuvo finalmente que para la localidad de la Luchita, el orden de requerimiento nutrimental fue $B > Zn > Mg > N > K$, mientras que para la Trinidad fue $Zn > N > B > Mg > K$, por lo que para un eventual plan de fertilidad para dichas zonas es de suma importancia prestar atención a los anteriores nutrimentos. Por otro lado el DOP, también permitió obtener el índice de desbalance nutrimental (IDN), el cual logró demostrar que el cultivo de mora no presentó en ninguna de las localidades estudiadas gran susceptibilidad a pérdidas del rendimiento por el ataque de plagas y enfermedades, dado que sus valores estuvieron cercanos a cero.

6.2.3. Fruta

La interpretación de los datos obtenidos a partir de los frutos de mora debe realizarse según Alibhai y Stallings (2001), partiendo del hecho que los metabolitos secundarios (polifenoles) son derivados de metabolitos primarios (aminoácidos), los cuales son obtenidos como subproductos de procesos elementales como fotosíntesis y respiración (glucólisis y ciclo de Krebs) y afectados por factores externos como: la radiación solar, concentración de CO₂, temperatura, estrés hídrico y nutrición mineral. En particular según (Knaggs 2003) y Anderson (2005), la radiación solar y ultravioleta es un factor ambiental que se ha ligado constantemente a la formación de polifenoles y esto sucede porque se le asocia con el proceso fotosintético, en función a la fijación de CO₂, la biosíntesis de asimilados, así como la utilización de agua y energía en forma de ATP y NADH.

A propósito Anderson (2005), menciona que cuando se da un aumento en la irradiación asociado al también aumento en la asimilación de CO₂ se reduce la conductancia estomática y en consecuencia se provoca una crecida de la eficiencia en el uso del agua y la energía proveniente de la radiación solar. Por otro lado Mendez *et al.* (1999), indican que cuando hay una mayor elevación, también hay mayor radiación ultravioleta (mayor cantidad de días claros) y dicha situación provoca fluctuaciones en la tasa fotosintética y cambios en general en el proceso fotosintético. Lo anterior permitiría responder porque en términos generales, en la localidad de la Trinidad hubo mayor concentración de polifenoles (antocianinas y ácido elálgico), lo anterior siguiendo el criterio de formación de metabolitos secundarios, dado que ante una mayor radiación solar (figura 11) y menor humedad (figura 10), aumenta la eficiencia con que la planta utiliza su disponibilidad de agua y la absorción de luz, provocando una fluctuación en la concentración polifenoles cuando estas condiciones se presentan y siendo estables en ausencia de las mismas.

Por otro lado, de acuerdo a lo indicado por Dewick (2009), la relación del agua y la luz en la planta es muy estrecha y tomando en cuenta que la irradiación toma un papel trascendental en la formación de polifenoles, es que se hace necesario entender que sucede cuando se tiene un déficit hídrico. Cuando se tiene falta de agua en el sistema (planta), alta radiación solar y bajas

temperaturas como en la Trinidad (figuras 11 y 9) se puede sufrir de efectos deletéreos en la fotosíntesis. El anterior efecto favorece una relación $\text{NADPH}_2/\text{NADP}$ alta, ya que los estomas al estar cerrados impiden el ingreso de CO_2 atmosférico lo que consecuentemente disminuye el uso de NADPH_2 en el ciclo de Calvin y provoca su acumulación, así como produce la formación de sustancias tóxicas originadas del oxígeno que se derivan del O_2 molecular, procedentes de la escisión de la molécula de agua en el fotosistema II (FSII).

Durante las anteriores reacciones fotoquímicas que finalmente conllevan a la fotoinhibición y la desintoxicación de las formas dañinas de oxígeno a través de la fotorespiración, se da a la vez la formación de moléculas secundarias como lo son las derivadas de Acetil CoA (entre ellas los polifenoles), donde se utiliza el exceso NADPH_2 (causado por un déficit hídrico y falta de CO_2) que finalmente da pie a la reducción de APG (ácido 3- fosfoglicérico). Como se mencionó antes los polifenoles son considerados metabolitos secundarios y provenientes de procesos fundamentales como la fotosíntesis (que provee la radiación necesaria para incitar a concentraciones altas de polifenoles) y glucólisis (que provee de Acetil CoA, enzima fundamental en la formación de metabolitos secundarios), por lo que cualquier condición propia o ajena al sistema de producción que cambie las condiciones agroclimáticas idóneas para que estos procesos fisiológicos se den, afecta de manera directa la concentración de polifenoles que al final son el resultado de muchas reacciones que se originan de un exceso de luz (alta irradiación) o falta de humedad (déficit hídrico) (figuras 18 y 19) que en extremas condiciones (altos valores de DVP) (figuras 20 y 21) se puede inducir a disminuciones en el rendimiento y tamaño de los frutos, así como fluctuaciones en metabolitos secundarios (Muñoz *et al.* 2002).

Aunado a lo anterior, Dewick (2009) también sugiere que al aumentar las temperaturas y aumentar la concentración de CO_2 , se favorece la fotorespiración y la enzima rubisco se vuelve menos dependiente de la temperatura, lo que provoca una menor eficiencia en la producción energética (ineficiencia en la fotosíntesis) y puede causar un efecto deletéreo en la enzima, ante esa situación es posible que la planta prefiera invertir en carbohidratos y no en compuestos secundarios por lo que la concentración de polifenoles podría disminuir. Misma reacción es causada por la exposición de las hojas a jornadas continuas de lluvia, las cuales pueden reducir al

50% su tasa fotosintética, causando un efecto inverso al del estrés hídrico y provocando que las posibilidades de producir metabolitos secundarios se reduzcan, dicha situación permite descifrar porque en la localidad de la Luchita se presentaron menores concentraciones de antocianinas y elagitaninos, dado que en esa zona siempre se presentaron mayores porcentajes de humedad relativa, por lo que se puede deducir que allí hubo mayor posibilidad de precipitaciones y por ende menor producción de polifenoles (Mendez *et al.* 1999).

Sumado a lo descrito anteriormente Kataoka y Beppu (2004), mencionan que el aumento en la irradiación favorece el desarrollo de antocianinas, dado que ante incrementos en la radiación se estimula la actividad sintética de aminoácidos esenciales en la formación de compuestos fenólicos como la fenilalanina, a propósito Christie *et al.* (1994), alude que las antocianinas incrementan cuando se dan condiciones de estrés como: vernalización o estrés por frío, deficiencia de nutrientes (en especial de P) y deficiencia de agua (déficit hídrico). Dichas condiciones pueden explicar porque aunque no fueran significativos, se dieron aumentos en la concentración de antocianinas especialmente en la localidad de la Trinidad (figura 20), cuando se presentaron altos valores de radiación fotosintéticamente activa (figura 18) e incrementos en la temperaturas (figura 19), dado que esos factores influyeron de manera directa en el aumento del déficit de presión de vapor y este a su vez en el déficit hídrico, siendo esta la principal condición que se dio para estimular el aumento en la concentración de antocianinas de un año a otro en la Trinidad, ya que si bien la temperatura en términos generales disminuyó de un año a otro en particular en la Trinidad, esta diferencia fue de tan solo un grado °C, insuficiente para considerarla como vernalización, según Castellarin *et al.* (2007), mientras que la disponibilidad de nutrientes en el suelo y a nivel foliar demostró ser para ambas localidades suficiente para abastecer las necesidades fisiológicas de la planta en especial del P, nutriente que puede condicionar la concentración de antocianinas y fue particularmente alto en ambas zonas por lo que tampoco pudo ser el causante de dichos incrementos en los flavonoides de mora en la Trinidad.

Por otro lado en relación a las demás variables evaluadas en frutos de mora, los resultados demostraron que el porcentaje de humedad, pH, acidez y grados brix, no presentaron mayores

cambios en sus valores tanto en la Luchita como en la Trinidad, ante la incorporación del abono a las dosis evaluadas. Al respecto Yanyun (2007), menciona que las bajas temperaturas durante las noches y la presencia de días soleados, favorecen el pH, los sólidos solubles y reducen la acidez, lo cual concuerda en parte con los resultados obtenidos en esta investigación, dado que en términos generales la presencia de temperaturas nocturnas más bajas y días con mayor radiación se mantuvieron en la localidad de la Trinidad, sin embargo estas condiciones posiblemente influyeron únicamente para la variable grados brix (sólidos solubles), ya que tanto el pH como la acidez en frutos de mora, no sufrieron cambios significativos por las condiciones ambientales arriba indicadas.

Asociado a lo anterior Turner y Jones (1980), señalan que una menor disponibilidad de agua (posiblemente causado por días muy soleados y noches muy frías), provoca que la planta lleve a cabo un ajuste osmótico, respuesta fisiológica que le permite acumular solutos (como sólidos solubles) activamente y le facilita el mantener un potencial de turgencia alto a pesar del descenso en el potencial hídrico, situación que probablemente sucedió estacionalmente en este estudio y que concuerda con lo citado por Dewick (2009), anteriormente mencionado y con la investigación realizada por Orozco (2011).

6.3. Relación entre abono, suelo, clima y fruta

Al comparar y relacionar las variables evaluadas, se alcanza entender que el compost no logró un efecto sobre el suelo y tampoco sobre los polifenoles, lo cual se podría explicar porque: Las condiciones ambientales predominantes en ambas zonas de estudio (elevación, temperatura, humedad relativa y precipitación), no favorecieron la integración del compost en los suelos, tal como se explica en la sección dedicada a la mineralización del nitrógeno. Además el abono usado en campo no fue de buena calidad, situación que fue comprobada en el bioensayo, así como en el análisis foliar de la mora abonada. A pesar de ello, cabe destacar que elementos como K y P, así como micronutrientes metálicos como Cu, Fe y Zn, presentaron aumentos en el suelo, producto de la incorporación del abono por lo que sería interesante para posibles estudios futuros descartar o comprobar si existe relación entre esos nutrientes y la producción de polifenoles.

También se observó que ante estimulaciones agroclimáticas propias de una zona como: la disminución en la temperatura (figura 9) y la humedad relativa (figura 10), así como aumentos en la radiación fotosintéticamente activa (figura 11) y la elevación (cuadro 2) conllevan, según Mendez *et al.* (1999) a una mayor exposición a la radiación ultravioleta, condición que puede inducir a una mayor concentración de metabolitos secundarios, según lo menciona Jia Guo *et al.* (2008), siendo las anteriores condiciones, factores que pueden justificar el aumento en particular de la concentración de ácido elágico (elagitaninos) en frutos de mora criolla costarricense (*Rubus adenotrichos*). Además cabe resaltar que parámetros como el índice de déficit de presión de vapor (DPV), el cual es un indicativo de déficit hídrico según López *et al.* (2009), puede igualmente influir en el comportamiento de los compuestos biológicamente activos en los frutos de moras criollas costarricenses, provocando aumentos en unos (antocianinas) (figura 20) y disminuciones en otros (elagitaninos) (figura 21).

VII. CONCLUSIONES

- 1) Las dosis de compost aplicadas en ambas localidades no manifestaron mayor efecto sobre las propiedades químicas en frutas de mora. Además el abono utilizado en el campo mostró ser una escasa fuente de fertilización, dado que sus resultados no presentaron significancia en relación al testigo.
- 2) El uso del compost no incrementó la actividad microbiana del suelo en ninguna de las localidades evaluadas y dicha actividad tampoco influyó en la concentración en la concentración de polifenoles en frutos de mora.
- 3) Las concentraciones foliares de los nutrimentos en las plantas de mora no presentaron significancia con el uso de diversas dosis de compost en ninguna de las localidades, dichas concentraciones tampoco mostraron relación con el contenido de compuestos biológicamente activos en frutos.
- 4) La caracterización del compost (mediante el bioensayo), mostró que hubo mayor respuesta de la incorporación de los abonos en el suelo de la Trinidad respecto al de la Luchita, debido a la menor fertilidad del suelo de la Trinidad. También este ensayo permitió revelar que el abono usado en campo presentó una biodisponibilidad de nutrimentos relativamente pobre en los suelos de ambas localidades.
- 5) Los elagitaninos en la localidad de la Trinidad mostraron ser afectados por condiciones agroclimáticas propias de la zona, como: elevación, radiación fotosintéticamente activa, temperatura, humedad relativa y probablemente mayor proporción de radiación ultravioleta, todos factores que pueden inducir estrés en las plantas.
- 6) En la Trinidad la concentración de antocianinas mostró un incremento, aunque no significativo, provocado por el déficit hídrico, el cual depende a su vez de la temperatura, humedad relativa y el déficit de presión de vapor, más no así por los demás factores agroclimáticos evaluados tales como: elevación y radiación fotosintéticamente activa.

VIII. RECOMENDACIONES

- 1) Es necesario evaluar la calidad de diferentes tipos de abonos previo a establecer un ensayo en campo, esto permitirá tener la una noción de la actividad del mismo dentro del ecosistema específico en el cual se ira aplicar.
- 2) A pesar de que no hubo una respuesta positiva con la aplicación de dosis de compost, sobre la concentración de polifenoles en frutos de mora, cabe destacar que elementos como: K, P, Cu, Fe y Zn aumentaron significativamente en el suelo con su uso, por lo que es preciso realizar investigaciones dirigidas a relacionar y comprobar si existe afinidad entre estos nutrientes y los polifenoles.
- 3) Considerando el escaso aporte nutricional del compost utilizado en esta investigación y conociendo que elementos como, K y P se relacionan directamente con el proceso fotosintético y este a su vez con la concentración de polifenoles, se vuelve necesario replicar dicho experimento en campo, pero con otro abono que puede ser un bocashi, dados sus resultados en el bioensayo.
- 4) Se deben hacer estudios adicionales que ayuden a dilucidar la posible relación entre la elevación, la radiación fotosintéticamente activa (PAR), la temperatura, así como la humedad relativa con los elagitaninos en frutos de mora criolla costarricense.
- 5) Es conveniente realizar investigaciones que comprueben la relación entre el índice de déficit de presión de vapor (DPV) y los polifenoles presentes en las moras criollas costarricenses para determinar cuál o cuáles factores son afectados para que se den aumentos en las antocianinas conforme aumenta el DPV y disminución en los elagitaninos conformen aumenta dicho índice.
- 6) Con miras a futuras investigaciones y reconociendo que los metabolitos secundarios en moras criollas costarricenses, son afectados por condiciones agroclimáticas, es necesario considerar otros factores ambientales que podrían relacionarse con los polifenoles en dicho cultivo, tales como: precipitación, radiación ultravioleta, índice de estrés hídrico y concentración de CO₂ en la atmosfera, todos componentes externos que influyen en el proceso fotosintético y que a su vez intervienen en la formación de compuestos biológicamente activos.

IX. LITERATURA CITADA

Acosta, Ó; Vaillant, F; Cozzano, S; Mertz, C; Pérez, A; Castro, M. 2010. Phenolic content and antioxidant capacity of tropical highland blackberry (*Rubus adenotrichus* Schltdl.) during three edible maturity stages. **In:** Journal of Agricultural and Food Chemistry. 119:1497–1501.

Acuña, O; Peña, W; Serrano, E; Pocasangre, L; Rosales, F; Delgado, E; Trejos J; Segura, A. 2006. La importancia de los microorganismos en la calidad y salud de los suelos. **En:** Reunión anual internacional de la Asociación para la Cooperación y la Investigación sobre el Banano en el Caribe y América Tropical. Santa Catarina, Brasil. Consultado 10 de set. 2015. Disponible en http://musalit.inibap.org/pdf/IN060651_es.pdf.

Adachi, M; Bekku, Y; Rashida, W; Okuda, T; Koizumi, H. 2006. Differences in soil respiration between tropical ecosystems. **In:** Applied Soil Ecology. 34:258-265.

Agüero, J.M; Alvarado, A. 1983. Compactación y compactibilidad de suelos agrícolas y ganaderos de Guanacaste, Costa Rica. Agronomía Costarricense. 7:23-27.

Anderson, J. 1982. Soil respiration. **In:** Page, A.L, R.H Miller (Eds). Methods of soil analysis, Part 2, Chemical and microbiological properties. American Society of Agronomy, Madison, WI. 831-871 p.

Anderson, J; Ingram, J.1993. Tropical soil biology and fertility: a Handbook of Methods. CAB International, Wallingford, UK.

Anderson, K. 2005. Detection of novel enzyme intermediates in PEP- utilizing enzymes. **In:** Archives of Biochemistry and Biophysical. 433:47-58.

Alegre, J; Pashanasi, B; Arévalo, L; Palm, C. 2001. Efecto del manejo del suelo sobre las propiedades biológicas del suelo en los trópicos húmedos del Perú. **En:** XV Congreso Latinoamericano y V Cubano de la Ciencia del Suelo. Centro de Convenciones Plaza América, Varadero, Cuba. Boletín 4. 60 p.

Ali, L; Alsanus, B; Rosberg, A; Svensson, B; Nielsen, T; Olisson, M. 2012. Effects of nutrition strategy on the levels of nutrients and bioactive compounds in blackberries. **In:** European Food Research Technology. 234:33-44.

Alibhai, M; Stallings W. 2001. Closing down on glyphosate inhibition-with a new structure for drug discovery. **In:** Proceedings of the National Academy of Science, USA. 98:2944-2946.

Alvarado, A; Forsythe W. 2005. Densidad aparente en suelos de Costa Rica. *Agronomía Costarricense*. 29:85-94.

AOAC, 1999. Official methods of analysis 16a ed. Métodos 932.12, 945.06 y 981.12. Association of Official Analytical Chemists. Maryland, USA.

AOAC. 2005. Official Methods of Analysis 18a ed. Métodos 920.151 y 942.15. Association of Official Analytical Chemists. Maryland, USA.

Arvanitoyannis, S; Van Houwelingen, H. 2005. Functional Foods: A survey of health claims, pros and cons, and current legislation. *Critical reviews in food science and nutrition*. 45:385-404.

Ávalos, A; Pérez, E. 2009. Metabolismo secundario de plantas. **En:** *Reduca (Biología)*. Serie Fisiológica Vegetal. 2:119-145.

Avello, M; Suwalsky, M. 2006. Radicales libres, Antioxidantes Naturales y Mecanismos de Protección. **In:** Atenea Concepción. 494:161-172.

Aviram, M; Dornfeld, L; Rosenblat, M; Volkova, N; Kaplan, M; Coleman, R; Hayer, T; Presser, D; Fuhrmon, B. 2000. Pomegranate Juice Consumption Reduces Oxidative Stress, Atherogenic Modifications to LDL, and Platelet Aggregation: Studies in Humans and in Atherosclerotic Apolipoprotein E-deficient Mice. **In:** American Society for Clinical Nutrition. 71:1062-1076.

Bakkalbasi, E; Menten, Ö; Artik, N. 2009. Food Ellagitannins: Occurrence, effects of processing and Storage. **In:** Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 49:283-298.

Balota, E.L; Andrade D.S; A, Colozzi Filho. 1996. Avaliações microbiológicas em sistemas de preparo do solo e sucessão de culturas. I Congresso Brasileiro de Plantio Direto para uma Agricultura Sustentável. Ponta Grossa, Brasil. **In:** Resumos expandidos. 9-11 p.

Beckman, C.H; 2000. Phenolic-storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defense responses in plants? *Physiology Molecular*. **In:** *Plant Pathology*. 57:101-110.

Belitz, H; Grosch, W. 1997. Química de los alimentos. Zaragoza, ES. Segunda edición. Acribia. 725-796 p.

Benvenuti, S; Pellati, F; Melegari, M; Bertelli, D. 2004. Polyphenols, Anthocyanins, Ascorbic Acid, and Radical Scavenging Activity of *Rubus*, *Ribes* and *Aronia*. **In:** *Journal of Food Science*. 69:164-169.

Benzing, A. 2001. Agricultura Orgánica- fundamentos para la region andina. Neckar-Verlag, Villingen- Schwenningen, Alemania. 682 p.

Berg, B; Laskowski, R. 2005. Litter decomposition: A guide to carbon and nutrient turnover. (Eds. B. Berg & R. Laskowski). Academic Press, New York, USA. 448 p.

Berli, F; D'Angelo, J; Cavagnaro, B; Bottini, R; Wuilloud, R; Silva, M.F. 2008. Phenolic composition in grape (*Vitis vinifera* L. cv. Malbec) ripened with different solar UV-B radiation levels by capillary zone electrophoresis. **In:** Journal of Agricultural and Food Chemistry. 56:2892-2898.

Berli, F.J; Moreno, D; Piccoli, P; Hespanhol, V.L; Silva, M.F; Bressan, S.R; Cavagnaro, J.B; Bottini, R. 2010. Abscisic acid is involved in the response of grape (*Vitis vinifera* L. cv. Malbec) leaf tissues to ultraviolet-B radiation by enhancing ultraviolet-absorbing compounds, antioxidant enzymes and membrane sterols. **In:** Plant Cell Environmental. 33:1-10.

Bertsch, F. 1995. La fertilidad de los suelos y su manejo. San José, CR. Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo (ACCS). 157 p.

Bertsch, F. 2003. Consideraciones sobre el uso de los abonos orgánicos como suplidores de nutrimentos. **En:** Abonos orgánicos: Principios, aplicaciones e impacto en la agricultura. San José, CR.: CATIE. 163-178 p.

Bloem, J; Schouten A. J; Soren, J; Sorensen, M. R; Van der Werf, A; Bruere M. 2005. Monitoring and evaluating soil quality. Microbiological Methods for Evaluating soil Quality. (Eds. J. Bloem, D. W. Hopkins, A. Benedetti). **In:** CABI Publishing. 23-49 p.

Brady, N.C; Weil, R.R.1999. The nature and properties of soils. New Jersey, United States of America. Editorial Prentice Hall, Upper Saddle River. 960 p.

Brinson, M.M. 1977. Decomposition and nutrient exchange of litter in an alluvial swamp forest. **In:** Ecology. 58:601.

Brookes P.C; Aciego J.C; Wu Y; Xu J. 2011. Microbial indicators of soil quality in upland soils. Molecular Environmental Soil Sciences at the Interfaces of the Earth's Critical Zone. **In:** Defining Soil Quality for a Special Environment. 35:3-21.

Buchway, L; Pritts, M; Handley, D. 2008. Raspberry and blackberry production guide. For the Northeast, Midwest, and Eastern Canada. **In:** Natural Resource, Agriculture, and Engineering Service (INRAES). Ithaca, New York. 156 p.

Bulluck, L; Brosiud, M; Evanylo, G; Ristaino, J. 2002. Organic and Synthetic Fertility Amendments Influence Soil Microbial, Physical and Chemical Properties on Organic and Conventional Farms. **In:** Applied Soil Ecology. 19:147-160.

Busse, M; Ratcliff, A; Shestak, C; Powers, R. 2001. Glyphosate toxicity and the effects of long-term vegetation control on soil microbial communities. **In:** Soil Biology & Biochemistry. 33:1777-1789.

Castañeda, A; Pacheco M.L; Paéz, M.E; Rodríguez, J.A; Galán, C.A. 2009. Chemical studies of anthocyanins: a review. **In:** Food Chemistry. 113:859-871.

Castellarin, S; Matthews, M; Gaspero, G; Gambetta, G. 2007. Water deficits accelerate ripening and induce changes in gene expressions regulating flavonoid biosynthesis in grape berries. *Planta*. 227: 101-112.

Castonguay, A; Gali, H.; Perchellet, E; Gao, X; Boukharta, M; Jalbert, G; Okuda, T; Yoshida, T; Hatano, T; Perchellet, J. 1997. Antitumorigenic and Antipromoting Activities of Ellagic Acid, Ellagitannins, and Oligomeric Anthocyanin, and Proanthocyanin. *International Journal of Oncology*. 10:367-373.

Castro, J.J; Cerdas, M.M. 2005. Mora (*Rubus* sp.): Cultivo y Manejo Poscosecha. Ministerio de Agricultura y Ganadería UCR CNP, San José, Costa Rica. Consultado 8 may. 2014. Disponible en http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_ciencia/manual_mora_indice.html

Castro, A; Henríquez, C; Bertsch, F. 2009. Capacidad de suministro de N, P y K de cuatro abonos orgánicos. **En:** *Agronomía Costarricense*. 33:31-43.

Cerdas, M; Montero, M. 1992. Diagnóstico Preliminar del Manejo Postcosecha de la Mora (*Rubus* sp.) en Santa María de Dota y el Guarco. **En:** *Agronomía Costarricense*. 16:257-263.

Céspedes, V; Benach, A; Picado, M. 2008. Mapeo de actividades y sectores productivos agropecuarios Costa Rica. San José, CR. Sector Agropecuario Costa Rica. 485p.

Chander, K; Brookes, P.1991. Is the dehydrogenase activity assay invalid as a method to estimate microbial activity in copper-contaminated soils?. **In:** *Soil Biology and Biochemistry*. 23:909-915.

Christie P; Alfenito, M; Walbot, V. 1994. Impact of low temperature stress on general phenylpropanoid and anthocyanin pathways: Enhancement of transcript abundance and anthocyanin pigmentation in maize seedlings. *Planta*. 194. 541-549.

Clapperton, M.J. 2003. Increasing soil biodiversity through Conservation Agriculture – Managing the soil as a habitat. **En:** II Congreso Mundial sobre Agricultura Conservacionista. Proceedings 2003.136-145 p.

Coyne, M. 2000. Microbiología de suelos: un enfoque exploratorio. Paraninfo. Madrid, ES. 416 p.

Cozzano, S. 2007. Impacto del proceso de microfiltración tangencial sobre el valor de la mora (*Rubus* spp.) como alimento funcional. Tesis Maestría en Ciencia de los Alimentos. Escuela Tecnología de Alimentos. Universidad de Costa Rica, San Jose, CR. 82 p.

Coutinho, J. 2001. Efeito da secagem e re-humedecimento do solo: modelos cinéticos de estimativa do N mineralizável. **En:** Congreso Latinoamericano y Cubano de la Ciencia del Suelo.

Das, A; Mukherjee. 2000. Influence of insecticides on microbial transformation of nitrogen and phosphorus in Typic Orchaqualf soil. In: *Journal of Agriculture. Food Chemistry*. 48:3728-3732.

Decaëns, T; Jiménez, J.J; Barros, E; Chauvel, A; Blanchart, E; Fragoso, C; Lavelle, P. 2004. Soil macrofaunal communities in permanent pastures derived from tropical forest or savanna. **In:** *Agriculture, Ecosystems and Environment*.103:301.

Dewick, P. 2009. Medicinal Natural products: a biosynthetic approach. 3rd ed. Wiltshire, Great Britain. John Wiley & Sons Ltd. 539 p.

Díaz Romeu, R; Hunter A. 1978. Metodología de muestreo de suelos, análisis químico de suelos, tejido vegetal e investigación en invernadero. Turrialba, Costa Rica. CATIE. 68 p.

Didden, W; Marinissen, J; Vreeken-Buijs, M; Burgers, S; de Fluiter, R; Geurs, M; Brussaard, L. 1994. Soil meso- and macrofauna in two agricultural systems: factors affecting population dynamics and evaluation of their role in carbon and nitrogen dynamics. **In:** Agriculture, Ecosystems and Environment. 51:171.

Doran, J.W; M Zeiss. 2000. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. **In:** Agronomy & Horticulture.15.

Dugo, P; Mondello, L; Errante, G.; Zappia, G; Dugo, G. 2001. Identification of Anthocyanins in Berries by Narrow-bore High performance Liquid Chromatography with Electrospray Ionization Detection. **In:** Journal of Agricultural and Food Chemistry. 49:3987-3992.

Edwards, C.A. 2000. Earthworms. Chapter 8. (Ed.) Soil and Water Conservation Society. Soil Biology Primer. Ankeny Iowa, USA.

Erhart, E; Hartl, W. 2010. Compost use in organic farming. Consultado 8 may. 2014. Disponible en <http://www.siduna.una.ac.cr:2087/content/p3783v44n5010g1x/fulltext.pdf>

Feijoo, A; Zúñiga, M.C; Quintero, H; Lavelle, P. 2007. Relaciones entre el uso de la tierra y las comunidades de lombrices en la cuenca del río La Vieja, Colombia. **En:** Pastos y Forrajes. 30:235.

Feldman, K. 2005. Recent progress in ellagitannins chemistry. **In:** *Phytochemistry Review*. 66:1984-2000.

Flores, D; Montero, A; Orozco R; Argüello, F. (Eds.). 2003. Memoria: Primer foro - Taller Nacional sobre cultivo de mora (*Rubus* spp.). Primer foro – Taller Nacional sobre cultivo de mora (*Rubus* spp.), El Empalme, Costa Rica, Instituto Tecnológico de Costa Rica: Centro de Información Tecnológica. 22-23 p.

Flores, D; Arguello, F. 2005. Cultivo de la Mora: Innovaciones tecnológicas. Editorial Tecnológica de Costa Rica. Costa Rica 176 p.

Food and Agriculture Organization. 2002. Conservación de los recursos naturales para una Agricultura sostenible. Consultado 8 may. 2014. Disponible en <http://ftp.fao.org/agl/agll/docs/sb78s.pdf>

Forsythe, W; Diaz-Romeu, R. 1969. La densidad aparente del suelo y la interpretación de análisis de laboratorio para el campo. Turrialba. 19:128-131.

Forsythe, W. 1980. Física de suelos: manual de laboratorio. 2ª reimpresión. San José, CR, IICA. 212 p.

Galili, G and Hofgen, R. 2001. Metabolic engineering of amino acids and storage proteins in plants. **In:** *Metabolic Engineering* 4:3-11.

Garbeva, P; van Veen, J; van Elsas. 2004. Microbial diversity in soil: Selection of Microbial Populations by Plant and Soil Type and Implications for Disease Suppressiveness. *Annual Review Phytopathology*. 42:234-70.

Gassen, D.N. 1999. Os insetos e a fertilidade de solos. **In:** Fertilidade do Solo em Plantio Direto. Resumos de Palestras do III Curso sobre aspectos básicos de fertilidade e microbiologia do solo em plantio direto. Passo Fundo, Brasil. 70-89 p.

Ghordani, R; Koocheki, A; Brandt, K; Wilcockson, S; Leifert, C. 2010. Organic Agricultural and Food Safety and Nutritional Quality Issues. Consultado 8 may.2014. Disponible en <http://www.springerlink.com/content/1216884n02855002/fulltext.pdf>.

Giller, K; Wilson, K. 1991. Nitrogen fixation in tropical cropping systems. **In:** CAB International. Wallingford, U.K. 313 p.

Gomiero, T; Paoletti, M. 2008. Organic and sustainable Agriculture and Energy Conservation. Consultado 10 may. 2014. Disponible en <http://www.springerlink.com/content/1821r7378t;4475r/fulltext.pdf>.

Gould, K.S; Mckelvie, J; Markham, K.R. 2002. Do anthocyanins function as antioxidants in leaves? Imaging of H₂O₂ in red and green leaves after mechanical injury. **In:** Plant Cell Environmental. 25:1261-1269.

Greenwald, R. 1990. Current approaches to the development of oxygen radical scavengers. **In:** Drugs of Today. 26:299-307.

Hackman, R; Pologruto, J; Zhu, Q; Sun, B; Fujii, H; Keen, C. 2008. Flavanols: digestion, absorption and bioactivity. **In:** Phytochemistry Review. 7:195-208.

Hargreaves, J; Adl, S; Warman, P; Ruparsinghe, H. 2008. The effects of organic amendments on mineral element uptake and fruit quality of raspberries. **In:** Plant Soil. 308:213-226.

Hassink, J; Neutel, A.M; De Ruiter, P.C. 1994. C and N mineralization in sandy and loamy grass land soils: the role of microbes and microfauna. **In:** Soil Biology and Biochemistry. 26:1565.

Havsteen, B.H. 2002. The Biochemistry and Medical Significance of the Flavonoids. **In:** Pharmacology & Therapeutics. 96:67-202.

Heal, O.W; Anderson, J.M; Swift, M.J. 1997. Plant litter quality and decomposition: an historical overview. Driven by nature: Plant litter quality and decomposition. (Cadish, G. and Giller, K.E., Eds.). **In:** CAB Internacional. Wallingford, U.K. 3 p.

Henríquez, C; Calbalceta, G. 1999. Guía práctica para el estudio introductorio de los suelos con un enfoque agrícola. San José, CR. Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo (ACCS). 112 p.

James, N. 1958. Soil extract in soil microbiology can. **In:** Journal of microbial. 4:363-370.

Jia Guo; Woong Han; Myeong Wang. 2008. Ultraviolet and environment stresses involved in the induction and regulation of anthocyanin biosynthesis: A review. **In:** African Journal of Biotechnology. 7:4966-4972.

Kass, D. 1996. Fertilidad de suelos. San José, CR. EUNED. 227 p.

Kataoka, I; Beppu, K. 2004. UV Irradiance Increases Development of Red Skin Color and Anthocyanins in “Hakuho” Peach. **In:** Horticulture Science. 39:1234-1237.

Kaur, C Kapoor, H. 2001. Antioxidant in fruit and vegetables- the millennium's health. **In:** Journal of Food Science and Nutrition. 36:703-725.

Keller, M.; Torres-Martinez, N. 2004. Does UV radiation affect wine grape composition?. **In:** Acta Horticulture. 640:313-319.

Kitayama, K. 1992. An altitudinal transect study of the vegetation on Mount Kinabalu. **In:** Vegetation. 102:149-171.

Kitayama, K.1994. Biophysical condition of the montane In: Tropical Montane Cloud Forest (eds L. S. Hamilton O. Juvik & F.N. Scatena). **In:** Springer- Verlag, New York. 183-193 p.

Kitayama, K.1996. Soil nitrogen dynamic along a gradient of long-term soil development in a Hawaiian wet montane rainforest. **In:** Plant and Soil. 183:253-262.

Kitayama, K; Ichiro, A; Majalap, L; Masahiko, O.1998. Soil nitrogen mineralization rates of rainforest in a matrix of elevation and geological substrates on Mount Kinabalu, Borneo. **In:** Ecological Research. 13:301-312.

Knaggs, A. 2003. The biosynthesis of shikimate metabolites. **In:** Natural Product Report 20:119-136.

Kolb, C.A; Käser, M.A; Kopecký, J; Zotz, G; Riederer, M; Pfündel, E.E. 2001. Effects of natural intensities of visible and ultraviolet radiation on epidermal ultraviolet screening and photosynthesis in grape leaves. **In:** Plant Physiology. 127:863-875.

Kononova, M.M. 1975. Humus of virgin and cultivated soils. **In:** Soil components (1). (Ed. J.E. Gieseking). Springer-Verlag. Nueva York. 475 p.

Kuskoski, E.M; Asuero, A.G; Troncoso, A.M; García-Parilla, M.C.; Fett, R. 2004. Actividad Antioxidante de Pigmentos Antocianicos. **In:** Revista Brasileña de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 24:691-693.

Lacasta, C; Benítez; Maire, N; Meco, R. 2006. Efecto de la textura del suelo sobre diferentes parámetros bioquímicos. **In:** VII Congreso SEAE: Agricultura y Alimentación Ecológica. Toledo, España.

Lavelle, P. 1997. Faunal activities and soil processes: Adaptative strategies that determine ecosystem function. **In:** Advances Ecological Research. 24:9.

Leal, N; Madriz de Cañizales, C. 1998. Compostaje de residuos orgánicos mezclados con roca fosfórica. *Agronomía Tropical*. 48:335-357. (En línea). Consultado 13 abr. 2016. Disponible en <http://www.redpav-fpolar.info.ve>

Legaz, F; Sernam, M; Ferrer, P; Cebolla, V; Mullo, P. 1995. Análisis de hojas, suelo y agua para el diagnóstico nutricional de plantaciones de cítricos, procedimiento de toma de muestras. Consejería de agricultura. Pesca y Alimentación de Valencia, España. 26 p.

Lester, G.E; F. Eischen. 1996. Beta-carotene content of postharvest orange-fleshed muskmelon fruit: Effect of cultivar, growing location and fruit size. **In:** Plant Foods Human Nutrition. 49:191-197.

Lohachoompol, V; Srzednicki, N; Craske, J. 2004. The Change of Total Anthocyanins in Blueberries and Their Antioxidant Effect After Drying and Freezing. **In:**Journal of Biomedicine and Biotechnology. 5:248 -252.

Lovieno, P; Morra, L; Leone, A; Pagano, L; Afani, A. 2009. Effect of organic and mineral fertilizers on soil respiration and enzyme activities of two Mediterranean horticultural soils. **In:** Biology and Fertility of Soils. 45:55-561.

Mañach, C; Scalbert, A; Morand, C; Rémésy, C; Jiménez, L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. American Journal of Clinical Nutrition. 79:72-747.

Malavolta, E. 1992. ABC da análise de solos e folhas. São Paulo, Brazil. 124 p. Mañach, C., A; Scalbert, C; Morand, C. Rémésy; L. Jiménez. 2004. Polyphenols: Food sources and bioavailability. **In:** American Journal Clinical Nutrition. 79:727-747.

Marrs, R; Proctor, J; Heaney, A; Mountford, D.1988. Changes in soil nitrogen mineralization and nitrification along an altitudinal transect in tropical rain in Costa Rica. **In:** Journal of Ecology 76:466-482.

Martín, A; Lavelle, P. 1992. Effect of soil organic matter quality on its assimilation by millsonia anomala, a tropical geophagous earthworm. **In:** Soil Biology and Biochemistry. 24:1535.

Martín, G; Rivera, R. 2004. Dinámica de la mineralización del nitrógeno de la *Canavalia ensiformis* en un suelo Ferralítico Rojo de la Habana. **En:** III Taller de Sistemas Integrados de Nutrición de las Plantas. Congreso Científico del INCA. 25:89-96.

Martinez, I.; Periago, M.J., Ros, G. 2000. Significado Nutricional de los Compuestos Fenólicos de la Dieta. **In:** Assembly on Literature For Adolescents. 50:5-18.

Martius, C; Höfer, H; García, M.V.B; Römbke, J; Hanagarth, W. 2004. Litter fall, litter stocks and decomposition rates in rainforest and agroforestry sites in central Amazonia. Nutrient cycling in Agroecosystems. Kluwer Academic Publishers. The Netherlands. 137 p.

McGill, W; Cannon, K; Robertson, J; Cook, F. 1986. Dynamic of soil microbial biomass and water-soluble organic C in Breton L after 50 year of cropping to two rotation. Journal of Soil Science. 66:1-9.

Méndez, M; Gwynn, J; Manetas, Y. 1999. Enhanced UV-B radiation under field conditions increases anthocyanin and reduces the risk of photoinhibition but does not affect growth in the carnivorous plant *Pinguicula vulgaris*. New Phytologist. 144. 275-282.

Meléndez, G. 2003. Residuos orgánicos y materia orgánica del suelo. Centro de Investigaciones Agronómicas **En:** Taller de abonos orgánicos. CATIE-CANIAN-Universidad de Costa Rica 25 p.

Melgarejo, M.; Ballester, M; Bendeck, L. (1997). Evaluación de algunos parámetros fisicoquímicos y nutricionales en humus de lombriz u composta derivados de diferentes sustratos. **En:** Revista Colombiana de Química. 26:2.

Mertz, C; Cheynier, V; Gunata, Z; Brat, P. 2007. Analysis of Phenolic Compounds in Two Blackberry Species (*Rubus glaucus* and *Rubus adenotrichus*) by High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection and Electrospray Ion Trap Mass Spectrometry. **In:** Journal of Agricultural and Food Chemistry. 55:8816-8824.

Mertz, C; Gancel A.L; Gunata, Z; Alter, P; Dhuique-Mayer, C; Vaillant, F; Perez A.M; Ruales, J; Brat, P. 2009. Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity of three tropical fruits. **In:** Journal of Food Composition and Analysis. 22:381-387.

Mills, H; Benton, J. 1997. Plant Analysis Handbook II: A Practical Sampling, Preparation, Analysis, and Interpretation Guide. Micro- Macro Publishing, Inc. Georgia, USA. 415 p.

Montañés, L; Heras, L; Sanz, M. 1991. Desviación del óptimo porcentual (DOP): Nuevo índice para la interpretación del análisis vegetal. Estación experimental de Aula. Zaragoza, España. 20:93-107.

Molina, E. 1999. Fertilización y nutrición de naranja en Costa Rica. **En:** XI Congreso Nacional Agronómico y III Congreso Nacional de Suelos. San José, Costa Rica. 291-303 p.

Molina, E. 2001. Manejo de la acidez y encalado de los suelos. **En:** Memoria: Fertilidad de suelos y Manejo de la Nutrición de Cultivos en Costa Rica. Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 136 p.

Mora, F. M. 2006. Análisis del Mercado de Mora Fresca. Consejo Nacional de la Producción: Servicio de información de mercados. Boletín no. 1. Consultado 8 may. 2014. Disponible en <http://www.mercanet.cnp.go.cr>

Moyer, R. A.; Hummer, K. E.; Finn, C. E.; Frei, B.; Wrolstad, R. E. 2002. Anthocyanins, Phenolics, and Antioxidant Capacity in Diverse Small Fruits: *Vaccinium*, *Rubus*, and *Ribes*. **In:** Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50:519-525.

Muñoz, P; Antón, A; Montero, J. 2002. Reducción de la necrosis apical (Blossom-End Rot) en cultivo de tomate en invernadero mediante el control de la humedad ambiental. **In:** Institut de Recerse i Tecnologia Agroalimentaries. 10:331-336.

Murphy, D; Recous, S; Stockdale, E; Fillery, I; Jensen, L; Hatch, D; Goulding, K. 2003. Gross nitrogen fluxes in soil: theory, measurement and application of N-15 pool dilution techniques. **In:** Advances in agronomy. 79:69-118.

Nach, DL; Dieterle, J.V. 1976. Flora of Guatemala. Chicago, US, Chicago Natural History Museum. Fieldiana Botany. 472-480 p.

Nijveldt R; Van Nood, E; Van Hoorn, D; Boelens, P; Van Norren, K; Van Leeuwen, P. 2001. Flavonoids: a Review of Probable Mechanism of Action Potential Applications. **In:** Journal of Clinical Nutrition. 74:418-425.

López, R; Arteaga, R; Vásquez, M; López, I; Sanchez, I. 2009. Índice de estrés hídrico como un indicador del momento de riego en cultivos agrícolas. In: Agricultura técnica en México. 35:97-111.

Oliveira, C; A.C. Silva Ferreira, M; Mendes Pinto, T; Hogg, F. Alves; P. Guedes de Pinho. 2003. Carotenoid compounds in grapes and their relationship to plant water status. **In:** Journal of Agriculture and Food Chemistry. 51:5967-5971.

Opperman, M; Wood, M; Harris, P; Cherrett, C. 1993. Nematode and nitrate dynamics in soils treated with cattle slurry. **In:** Soil Biology and Biochemistry. 25:19.

Orduña, R. 2010. Climate change associated effects on grape and wine quality and production. **In:** Food Reseach. 43:1844-1855.

Orozco, R. 2011. Efecto de abonos orgánicos sobre las características agronómicas, rendimiento y la calidad de fruta de la variedad de mora “Vino” (*Rubus adenotrichos* Schtl.), en dos zonas de Costa Rica. Tesis Doc. Heredia, Costa Rica. Universidad Nacional. 149 p.

Ortiz C, Hernández H, Guzmán M. Hernández L. 2010. Efecto de localidad sobre el contenido fitoquímico y capacidad antioxidante de zarzamora variedad Tupy (*Rubus eubates*). **In:** Memoria: XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Guanajuato, México mayo 2010. 31-39 p.

Orozco y Muñoz. 2011. Efecto de abonos orgánicos en las propiedades químicas del suelo y el rendimiento de la mora (*Rubus adenotrichos*) en dos zonas agroecológicas de Costa Rica, **In:** Tecnología en Marcha. 1:16-31.

Palamada. J; Kehrer, J. 1992. Inhibition of Protein Carbonyl Formation and Lipid Peroxidation by Glutathione in Rat Liver Microsomes. **In:** Biochemistry and Biophysics. 293:103-109.

Palm, C; Swift, M; Barois, I. 2001. Un enfoque integrado para el manejo biológico de los suelos. **En:** XV Congreso Latinoamericano y V Cubano de la Ciencia del Suelo. Centro de Convenciones Plaza América, Varadero, Cuba. Boletín 4.60 p.

Ratcliff, A; Busse, M; Shestak, C. 2006. Chances in microbial community structure following herbicide (glyphosate) additions to forest soils. **In:** Applied Soil Ecology. 34:114-124.

Rekhi, R; Bajwa, M.1994. Effects of urea application timing on ammonia volatilization in green manure amended wetland rice soil. **In:** International Rice Research Notes. 19:1.

Reyes J; Gad, G; Martínez, R; Lila, M. 2005. Antioxidant Capacity of Fruit Extracts of Blackberry (*Rubus* sp.) Produced in Different Climatic Regions. Journal of Food Science. 70:7.

Rivera, R; Martín G; Pérez D. 1999. Efecto de la temperatura sobre la mineralización del nitrógeno de dos especies de abonos verdes en suelo Ferralítico Rojo. **En:** Cultivos Tropicales. 20:15-19.

Roubelakis, K.A; Kliewer, W.M. 1986. Effects of exogenous factors on phenylalanine ammonia-lyase activity and accumulation of anthocyanins and total phenolics in grape berries. American Journal of Enology and Viticulture. 37:275-280.

Salas, E; Ramírez, C. 2001. Bioensayo microbiano para estimar los nutrimentos disponibles en los abonos orgánicos: calibración en el campo. Agronomía Costarricense 25:11-23.

Salisbury, F.B; Ross, C. 1994. Fisiología vegetal. 4ta. ed. Grupo Editorial Iberoamérica. México. 759 p.

Sánchez, P. 1981. Suelos del trópico: características y manejo. Traducido al español: Edilberto Camacho. 1° ed. IICA, San José, Costa Rica. 634 p.

Sánchez, P. 2010. Nutrición de Zorzamora. El Manual de Nutrición de Zorzamora. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas. Consultado 13 abr. 2016. Disponible en <http://www.promet@colpos.mx>

Schijlen, E; de Vos, C; van Tunen, A; Bovy, A. 2004. Modification of flavonoid biosynthesis in crop plant. **In:** *Phytochemistry Review*. 65:2631-2648.

Schreiner, M; Mewis, I; Huyskens-Keil, S; Jansen, M.A; Zrenner, R; Winkler, J.B; O'Brien, N; Krumbein, A. 2012. UV-B-induced secondary plant metabolites—Potential benefits for plant and human health. *Critical Review Plant Science*. 31:229–240.

Schultz, H.R.; Jones, G.V. 2010. Climate induced historic and future changes in Viticulture. *Journal Wine Research*. 21:137-45.

Schweizer, S; Salas, E; Vargas, A. 2004. Caracterización de abonos orgánicos utilizando técnicas físicas, químicas y biológicas. *Alcances Tecnológicos. Agronomía costarricense*. 1: 31-41.

Shahidi, F; Marian, N. 2003. *Phenolics in Food and Nutraceuticals*. Editorial CRC Press: Boca Raton, Florida, USA.

Singh, K.P. 1969. Studies in decomposition of leaf litter of important trees of tropical deciduous forest at Varanasi. **In:** *Tropical Ecology*. 20: 292.

Siriwoharn, T; Wrolstad, R.E; Finn, C.E; Pereira, C.B. 2004. Influence of Cultivar, Maturity, and Sampling on Blackberry (*Rubus L. Hybrids*) Anthocyanins, Polyphenolics, and Antioxidant Properties. **In:** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52:8021-8030.

Solórzano, J; Alvarado, G. 2002. Efecto de varios abonos orgánicos y el encalado en el contenido nutricional de un inceptisol cultivado con mora, variedad Vino en la Cima de Dota, Costa Rica. **In:** *Materia orgánica: características y uso de insumos orgánicos en suelos de Costa Rica*. Heredia: Editorial EUNA. 65-73 p.

Soto, G. 2001. Abono orgánicos: producción y uso de compost. **En:** Fertilidad de Suelos y Manejo de la Nutrición de Cultivos en Costa Rica. Universidad de Costa Rica.

Soto, G; Muñoz, C. 2002. Consideraciones teóricas y prácticas sobre la composta, y su empleo en la agricultura orgánica. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*. 65:123-129.

Spectrum analytic Inc (sf). A Guide to Fertilizing Blueberries. (on line). Consultado 11 set. 2009. Disponible en: http://www.spectrumanalytic.com/support/library/rft/A_Guide_to_Fertilizing_Bluberries.htm.

Stevens, R; Laughlin, R; Malone, J. 1998. Soil pH affects the processes reducing nitrate to nitrous oxide and di-nitrogen. *In Soil Biology and Biochemistry*. 30:8-9.

Strik, B; Clark, J; Finn, C.H, Bañados, M.P. 2007. Blackberry Worldwide Production. **In Hortecology**. 17:205-213.

Tambone, F; Genevini, P; Adami, F. 2007. The effects of Short-Term Compost Application. **In:** Soil Chemical Properties and Nutritional Status of Maize Plant. *Compost Science and Utilization*. 15:176-183.

Tanner, E.1985. Jamaican montane forest: nutrient capital and cost of growth. **In:** *Journal of Ecology*. 73:553-568.

Texeira, F; Campos, O; Coser, A. 2003. Utilization of plant height and ground cover and its association for estimating forage availability in an elephant grass pasture. *University Rural*. **In:** *Ser Ciência da vida*. 22:5-22.

Thiers, P. 2005. Using Global Organic Market to Pal for Ecologically Based Agricultural Development in China. **In:** *Agricultural Human Value*. 22:3-15.

Thornalley, P; Vasak, M. 1985. Possible Role for Metallothione in Protection against Radiation-induced Oxidative Stress. Kinetics and Mechanism of its Reaction with Superoxide and Hydroxyl Radicals. **In:** *Biochimica et Biophysica Acta*. 827:36-44.

Tian, G; Brussaard, L; Kang, B.T; Swift, M.L. 1997. Soil fauna-mediated decomposition of plant residues under constrained environmental and residue quality conditions. Driven by nature: plant litter quality and decomposition. (G. Cadish & K.E. Giller, Eds.). **In:** CAB International. Wallingford, UK. 125 p.

Trasar-Cepeda, C; Leirós, M; Seoane, S; Gil- Sotres, F. 2000. Limitations of soil enzymes as indicators of soil pollution. *Soil Biology and Biochemistry* 28:1867-1875.

Trasar-Cepeda, C; Leirós, M; Seoane, S; Gil- Sotres, F. 2008. Modification of biochemical properties by soil use. *Journal of Science and Plant Nutrition*. 8:53-60.

Turner, N; Jones, M. 1980. Turgor maintenance by osmotic adjustment: a review and evaluation. Pp 87-103 **In:** N.C Turner y J.P Kramer (ed). *Adaptation of plant to water and high temperature stress*. Wiley Interscience, New York. 87-103 p.

Vance, E; Brookes, P; Jenkinson, D. 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*. 19:703-707.

Villalobos, E. 2001. *Fisiología de la producción de los cultivos tropicales*. Editorial de la Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

Visser, S; Parkinson; D. 1992. Soil biological criteria as indicators of soil quality: Soil microorganisms. **In:** American Journal of Alternative Agriculture. 7:33-37.

Wada, L; Ou, B. 2002. Antioxidant Activity and Phenolic Content of Oregon Cranberries. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50: 3495-3500.

Wang, H; Cao, G; Prior, R. L. 1996. Total Antioxidant Capacity of Fruits. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 44:701-705.

Wang, H; Cao, G; Prior, R. L. 1997. Oxygen Radical Absorbing Capacity of Anthocyanins. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 45:304-309.

Wang, S; Lin, H. 2000. Antioxidant Activity in Fruits and Leaves of Blackberry, Raspberry, and Strawberry Varies with Cultivar and Developmental Stage. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 48:140-146.

Warcup, J. 1950. The soil plate method for isolation of fungi from soil. Nature.166:177-118.

Weaver, F; Angle, J; Bottomley, P. 1994. Methods of soil analysis. Part Microbiological and biochemical properties. **In:** Soil Science Society of American Book Series. USA.1121p.

Weaver, F; Angle, J; Bottomley, P. 1994. Methods of soil analysis. II Part. Microbiological and biochemical properties. Soil Science Society of American Book Series. USA.1121 p.

Weiss, D. 2000. Regulation of flower pigmentation and growth: Multiple signaling pathways control anthocyanin synthesis in expanding petals. **In:** Plant Physiology. 110:152-157.

Williamson, G; Manach, C. 2005. Bioavailability and Bioefficacy of Polyphenols in Humans. II Review of 93 intervention studies. **In:** American Journal of Clinical Nutrition. 81:55-243.

Winkel, S.B. 2001. Flavonoid biosynthesis: A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. **In:** Plant Physiology. 126:485-493.

Yan, X; Gong, P. 2010. The Role of Chemical and Organic Fertilizer on yield, yield variability and Carbon Sequestration– Results of a 19-year experiment. **In:** Plant Soil. 331:471-480.

Yanyun, Z. 2007. Berry fruit: Value- added products for health promotion. Taylor y Francis group. Boca Ratón, Florida, USA. 430 p.

Zibilske, L.M. 1994. Carbon Mineralization. Methods of Soil Analysis, Part 2. **In:** Microbiological and Biochemical Properties. 5:857-858.

ANEXOS

Anexo 1. Información Climatológica.

Cuadro A1. Valores promedio mensuales de temperatura, humedad relativa y radiación fotosintéticamente activa (PAR) por localidad.

Mes	Localidad	Tem °C	Hum %	mmol m ⁻² s ⁻¹
Febrero 2014	Luchita	14,54	92,33	117,42
Marzo 2014	Luchita	15,02	86,83	348,80
Abril 2014	Luchita	16,01	90,95	317,39
Mayo 2014	Luchita	16,46	93,45	321,93
Junio 2014	Luchita	16,85	94,45	288,50
Julio 2014	Luchita	16,27	93,26	290,95
Agosto 2014	Luchita	15,94	94,82	227,37
Setiembre 2014	Luchita	16,11	95,49	224,89
Octubre 2014	Luchita	16,96	91,30	145,83
Noviembre 2014	Luchita	16,13	96,39	122,25
Diciembre 2014	Luchita	15,71	96,64	116,12
Enero 2015	Luchita	14,81	95,50	154,30
Febrero 2015	Luchita	15,91	92,41	352,24
Marzo 2015	Luchita	15,31	90,65	383,13
Abril 2015	Luchita	16,16	89,07	345,68
Mayo 2015	Luchita	16,16	82,52	424,71
Junio 2015	Luchita	17,65	95,46	219,18
Julio 2015	Luchita	16,65	96,44	218,38
Agosto 2015	Luchita	17,24	92,84	291,34
Febrero 2014	Trinidad	13,72	76,00	385,59
Marzo 2014	Trinidad	14,04	79,14	329,65
Abril 2014	Trinidad	15,06	83,92	630,79
Mayo 2014	Trinidad	15,06	83,92	330,40
Junio 2014	Trinidad	14,93	89,99	254,99
Julio 2014	Trinidad	15,26	91,36	270,90
Agosto 2014	Trinidad	13,71	90,60	272,52
Setiembre 2014	Trinidad	13,59	93,12	188,38
Octubre 2014	Trinidad	14,49	90,74	150,67
Noviembre 2014	Trinidad	15,36	90,56	154,12
Diciembre 2014	Trinidad	14,71	91,20	184,54
Enero 2015	Trinidad	15,80	78,50	245,01
Febrero 2015	Trinidad	15,08	80,98	212,92
Marzo 2015	Trinidad	15,75	78,91	595,67
Abril 2015	Trinidad	15,95	72,70	627,89
Mayo 2015	Trinidad	16,03	82,66	369,22
Junio 2015	Trinidad	15,47	89,36	293,58
Julio 2015	Trinidad	15,07	89,90	374,49
Agosto 2015	Trinidad	15,53	85,44	432,99

Anexo 2. Unidades Formadoras de Colonias.

Cuadro A2. Cantidad de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por gramo de suelo, según época de evaluación y tratamientos en la Luchita del Guarco.

Mes	Organismo	Tratamiento	10 ⁻⁴ UFC/g
Agosto 2014	Hongos	T0	170000,00
		T1	130000,00
		T2	213333,33
	Bacterias	T0	653333,33
		T1	746666,67
		T2	776666,67
	Actinos	T0	11593333,33
		T1	49626666,67
		T2	10950000,00
Febrero 2015	Hongos	T0	93333,33
		T1	190000,00
		T2	166666,67
	Bacterias	T0	236666,67
		T1	156666,67
		T2	256666,67
	Actinos	T0	16193333,33
		T1	15336666,67
		T2	12630000,00
Agosto 2015	Hongos	T0	76666,67
		T1	63333,33
		T2	56666,67
	Bacterias	T0	403333,33
		T1	370000,00
		T2	390000,00
	Actinos	T0	9786666,67
		T1	10220000,00
		T2	6460000,00

Cuadro A3. Cantidad de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por gramo de suelo, según época de evaluación y tratamientos en la Trinidad de Dota.

Mes	Organismo	Tratamiento	10 ⁻⁴ UFC/g
Agosto 2014	Hongos	T0	173333,33
		T1	296666,67
		T2	276666,67
	Bacterias	T0	396666,67
		T1	356666,67
		T2	666666,67
	Actinos	T0	10776666,67
		T1	7840000,00
		T2	9743333,33
Febrero 2015	Hongos	T0	143333,33
		T1	246666,67
		T2	143333,33
	Bacterias	T0	90000,00
		T1	96666,67
		T2	140000,00
	Actinos	T0	14630000,00
		T1	16366666,67
		T2	9370000,00
Agosto 2015	Hongos	T0	283333,33
		T1	470000,00
		T2	463333,33
	Bacterias	T0	453333,33
		T1	570000,00
		T2	516666,67
	Actinos	T0	13020000,00
		T1	13176666,67
		T2	14016666,67

Cuadro A4. Efecto del compost, sobre las unidades formadores de colonias de las poblaciones de microorganismos (n=3) presentes en la Luchita del Guarco, Cartago.

Tratamiento	Acinomicetes		Bacterias		Hongos	
	Log _e (UFC)	*UFC 10 ⁻⁴	Log _e (UFC)	*UFC 10 ⁻⁴	Log _e (UFC)	*UFC 10 ⁻⁴
0	7,08	12524444	5,45	431111	5,00	113333
5	7,08	12654444	5,46	424444	5,03	127778
15	6,97	10013333	5,56	474444	5,07	145556
Error estándar	0,0290	736073	0,0710	35349	0,0830	25647
**Probabilidad	0,0547	0,0757	0,5334	0,5836	0,8475	0,6894

*Medias de los datos observados y UFC=Unidades formadores de colonias por gramo de suelo seco.

**Probabilidad asociada al ANDEVA.

Cuadro A5. Efecto del compost sobre las unidades formadores de colonias de las poblaciones de microorganismos (n=3) presentes en la Trinidad de Dota, San José.

Tratamiento	Acinomicetes		Bacterias		Hongos	
	Log _e (UFC)	*UFC 10 ⁻⁴	Log _e (UFC)	*UFC 10 ⁻⁴	Log _e (UFC)	*UFC 10 ⁻⁴
0	7,09	12947122	5,40	322430	5,18	196081
5	7,07	12461111	5,39	341111	5,48	337778
15	6,89	11043333	5,54	441111	5,39	294444
Error estándar	0,126	1342108	0,036	32736	0,086	46750
**Probabilidad	0,5264	0,6089	0,0513	0,0855	0,1124	0,1734

*Medias de los datos observados y UFC=Unidades formadores de colonias por gramo de suelo seco.

**Probabilidad asociada al ANDEVA.

Anexo 3. Géneros de Hongos hallados en ambas localidades.

Cuadro A6. Géneros de hongos hallados en ambas localidades.

Localidad	Género
Luchita	<i>Aspergillus</i>
	<i>Cladiosporium</i>
	<i>Fusarium</i>
	<i>Gliocladium</i>
	<i>Micelio estéril</i>
	<i>Mucor</i>
	<i>Paecilomyces</i>
	<i>Penicillium</i>
	<i>Phoma</i>
	<i>Rhizopus</i>
	<i>Trichoderma</i>
	<i>Verticillium</i>
Trinidad	<i>Cladiosporium</i>
	<i>Fusarium</i>
	<i>Aspergillus</i>
	<i>Gliocladium</i>
	<i>Micelio estéril</i>
	<i>Mortierella</i>
	<i>Mucor</i>
	<i>Paecilomyces</i>
	<i>Penicillium</i>
	<i>Phoma</i>
	<i>Rhizopus</i>
	<i>Trichoderma</i>
<i>Verticillium</i>	

Anexo 4. Géneros de Bacterias hallados en ambas localidades.

Cuadro A7. Géneros de bacterias hallados en ambas localidades.

Localidad	Género
Luchita	<i>Pantoea</i>
	<i>Pectobacterium</i>
	<i>Pseudobacterium</i>
	<i>Xanthomonas</i>
Trinidad	Ácido bórax
	<i>Pantoea</i>
	<i>Pectobacterium</i>
	<i>Pseudobacterium</i>
	<i>Pseudosporium</i>
	<i>Xanthomonas</i>

Anexo 5. Resúmenes de análisis de varianza

Cuadro A8. Resumen del análisis de varianza, según probabilidades para los indicadores químicos de la calidad del suelo de la Luchita del Guarco, de acuerdo al procediendo Proc mixed de SAS 9.4 para análisis de medias repetidas en el tiempo.

F.V	Probabilidad																	
	Variables																	
	pH	Aci dez	Ca	Mg	K	P	Cu	Zn	Mn	Fe	CIC E	Ca/ Mg	Ca/ K	Mg/ K	Ca+M g/K	MO	C	N
Repetición	0,46 30	0,54 78	0,0 032	0,0 001	0,4 74	0,2 73	0,00 23	0,24 4	0,10 46	0,3 421	0,0 013	0,00 13	0,00 4	0,0 432	0,901 2	0,50 2	0,50 22	0,48 64
Tratamiento	0,04 97	0,08 78	0,2 798	0,0 466	0,0 012	0,0 444	0,01 42	0,00 4	0,19 76	0,1 632	0,1 031	0,34 07	<0,0 001	0,0 072	0,070 4	0,81 58	0,81 6	0,79 4
Evaluación	<0,0 001	0,00 06	0,0 006	0,0 001	0,0 027	0,0 002	<0,0 001	<0,0 001	<0,0 001	0,0 069	0,0 008	0,00 02	<0,0 001	0,0 083	0,000 3	<0,0 001	<0,0 001	<0,0 001
Tratamiento*E valuación	0,00 21	0,82 49	0,8 465	0,9 933	0,0 815	0,5 735	0,90 17	0,09 98	0,07 49	0,5 556	0,8 738	0,02 15	0,00 33	0,0 001	<0,00 01	0,60 03	0,60 48	0,58 13

Cuadro A9. Resumen del análisis de varianza, según probabilidades para los indicadores químicos de la calidad del suelo de la Trinidad de Dota, de acuerdo al procediendo Proc mixed de SAS 9.4 para análisis de medias repetidas en el tiempo.

F.V	Probabilidad																	
	Variables																	
	pH	Acidez	Ca	Mg	K	P	Cu	Zn	Mn	Fe	Cl CE	Ca/ Mg	Ca/ K	Mg /K	Ca+ Mg/ K	MO	C	N
Repetición	0,42 16	0,1 107	0,2 808	0,04 13	0,0 889	0,07 23	0,05 34	0,02 47	0,68 38	0,91 64	0,2 607	0,3 254	0,4 462	0,4 624	0,532 5	0,35 52	0,35 4	0,38 62
Tratamiento	0,00 523	0,0 554	0,2 772	0,03 39	0,0 058	0,12 72	0,06 89	0,59 36	0,57 25	0,72 19	0,1 783	0,3 82	0,9 508	0,2 305	0,766 5	0,97 93	0,97 86	0,93 22
Evaluación	<0,0 001	0,0 016	0,0 346	<0,0 001	0,0 042	<0,0 001	<0,0 001	<0,0 001	<0,0 001	<0,0 001	0,1 009	0,6 425	0,3 856	0,2 157	0,375 8	<0,0 001	<0,0 001	<0,0 001
Tratamiento* Evaluación	0,00 12	0,3 387	0,2 26	0,10 12	0,1 484	0,39 42	0,81 96	0,68 46	0,73 37	0,54 64	0,1 981	0,4 101	0,2 848	0,1 563	0,318	0,06 76	0,06 83	0,13 91

Cuadro A10. Resumen del análisis de varianza, según probabilidades para las variables de biomasa microbiana y respiración microbiana de la Luchita del Guarco, de acuerdo al procediendo Proc mixed de SAS 9.4 para análisis de medias repetidas en el tiempo.

F.V	Probabilidad	
	Variables	
	Biomasa microbiana	Respiración microbiana
Repetición	0,0344	0,0335
Tratamiento	0,654	0,2365
Evaluación	0,0027	<0,0001
Tratamiento*Evaluación	0,9085	0,9445

Cuadro A11. Resumen del análisis de varianza, según probabilidades para las variables de biomasa microbiana y respiración microbiana de la Trinidad de Dota, de acuerdo al procediendo Proc mixed de SAS 9.4 para análisis de medias repetidas en el tiempo.

F.V	Probabilidad	
	Variables	
	Biomasa microbiana	Respiración microbiana
Repetición	0,371	0,001
Tratamiento	0,4715	0,371
Evaluación	<0,0001	0,0001
Tratamiento*Evaluación	0,4895	0,858

Cuadro A12. Resumen del análisis de varianza como probabilidades, según evaluación de muestras foliares de la Luchita del Guarco, de acuerdo al procediendo Proc mixed de SAS 9.4 para análisis de medias repetidas en el tiempo.

F.V	Probabilidad									
	Variables									
	N	K	P	Ca	Mg	Cu	Zn	Mn	Fe	B
Repetición	0,7611	0,0875	0,3193	0,1320	0,1018	0,0006	0,3876	0,1580	0,6104	0,1099
Tratamiento	0,7558	0,9357	0,7854	0,7018	0,9404	0,0078	0,9822	0,6547	0,5749	0,2580
Evaluación	<0,0001	0,0797	0,0009	0,0005	0,3410	<0,0001	0,0005	0,0149	0,0074	0,0015
Tratamiento*Evaluación	0,8832	0,6905	0,9418	0,7889	0,7479	0,5094	0,6745	0,2654	0,3978	0,5404

Cuadro A13. Resumen del análisis de varianza como probabilidades, según evaluación de muestras foliares de la Trinidad de Dota, de acuerdo al procediendo Proc mixed de SAS 9.4 para análisis de medias repetidas en el tiempo.

F.V	Probabilidad									
	Variables									
	N	K	P	Ca	Mg	Cu	Zn	Mn	Fe	B
Repetición	0,9705	0,6261	0,4005	0,1782	0,2245	0,1738	0,3895	0,0179	0,0620	0,0936
Tratamiento	0,8431	0,3419	0,1593	0,2383	0,4253	0,0846	0,4807	0,1771	0,1927	0,0881
Evaluación	<0,0001	0,0001	0,0623	0,0005	0,0468	0,5699	<0,0001	0,0003	<0,0001	0,0003
Tratamiento*Evaluación	0,4684	0,4365	0,0072	0,9628	0,3064	0,3844	0,4871	0,5212	0,2472	0,6055

Cuadro A14. Resumen del análisis de varianza, según probabilidades para las variables de humedad, pH, acidez total, brix, antocianinas y elagitaninos de la Luchita del Guarco, de acuerdo al procediendo Proc mixed de SAS 9.4 para análisis de medias repetidas en el tiempo.

F.V	Probabilidad					
	Variables					
	Humedad	pH	Acidez total	Brix	Antocianinas	Elagitaninos
Repetición	0,484	0,1037	0,2268	0,8508	0,7321	0,3687
Tratamiento	0,6996	0,0283	0,5985	0,2378	0,1886	0,7987
Evaluación	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0017	0,5743	0,0048
Tratamiento*Evaluación	0,5817	0,1293	0,9313	0,595	0,6355	0,0067

Cuadro A15. Resumen del análisis de varianza, según probabilidades para las variables de humedad, pH, acidez total, brix, antocianinas y elagitaninos de la Trinidad de Dota, de acuerdo al procediendo Proc mixed de SAS 9.4 para análisis de medias repetidas en el tiempo.

F.V	Probabilidad					
	Variables					
	Humedad	pH	Acidez total	Brix	Antocianinas	Elagitaninos
Repetición	0,4510	0,0379	0,0508	0,0762	0,7871	0,4966
Tratamiento	0,7606	0,0947	0,6434	0,1710	0,8883	0,9567
Evaluación	0,7145	0,0085	<0,0001	0,0020	0,1002	<0,0001
Tratamiento*Evaluación	0,8763	0,0665	0,8128	0,4468	0,5925	0,8253

Anexo 6. Cálculos realizados.

Cálculos utilizados para determinar las UFC/gs

$$\text{UFC/gs} = X \text{ NC} * 1 / \text{FD} * 1 / V$$

Donde:

X NC = promedio del número de colonias en las cajas de una dilución.

FD = factor de dilución correspondiente a la dilución de donde se tomó la muestra con la que se inoculo las placas.

V = volumen inoculado en la placa.

Cálculos utilizados para determinar la biomasa microbiana del Carbono.

$$\text{Biomasa C} = (\text{Fc} - \text{Ufc}) / \text{Kc}'$$

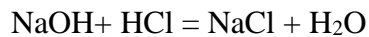
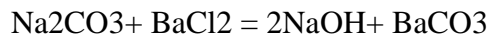
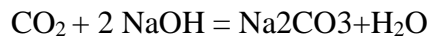
Donde:

Fc = Es el CO₂ producido por el suelo fumigado.

Ufc = Es el CO₂ producido por el suelo no fumigado.

Kc' = Es la fracción de la biomasa del Carbono mineralizada a CO₂.

Principio químico para determinar la respiración microbiana.



*La cantidad de NaOH inicialmente presente, menos la cantidad remanente al final del periodo de incubación, se utiliza para documentar la cantidad de CO₂ involucrado por el suelo, que entra en la solución y reacciona con el NaOH.

Cálculos utilizados para determinar la respiración microbiana.

$$(B-M) * N \text{ HCl} * (44/2) * (10/2) * 100(25 \text{ as/ah})$$

Donde:

B = Volumen de la solución de HCl utilizada en la valoración

M = Volumen de la solución de HCl utilizada en las muestras

N = Normalidad del HCl utilizado para valorar (0,1 N)

As = Suelo seco

Ah = Suelo húmedo

Cálculos utilizados para determinar la acidez titulable

$$\% \text{ Acidez} = \frac{(\text{ml} * \text{molaridad}) \text{NaOH} * \text{Factor}}{\text{masa de la muestra (g)}} * 100$$

Donde:

ml_{NaOH}: es el gasto de NaOH, corregido por el consumo de blanco (testigo)

M_{NaOH}: es la concentración del NaOH (mol/L)

Factor: 0,067 (g de ácido málico/100 g de muestra)

Cálculos utilizados para determinar la humedad en frutos de mora

$$\% \text{ Humedad} = \frac{MCM - MCMS}{MCM - MC} * 100$$

Donde:

MC = Masa de capsula vacía.

MCM = Masa de capsula + muestra

MCMS = Masa de capsula + muestra seca.

Cálculos utilizados para determinar los grados Brix en frutos de mora

En el caso de frutas con mucha acidez como las de mora criolla fue necesario corregir el valor de grados brix para lo cual se aplicó la siguiente formula:

$$^{\circ}\text{Brix} = (^{\circ}\text{Brix} + 0,0012) + 0,019 * [(Acidez - 0,0004) * (Acidez)^2]$$

Cuadro A16. Determinación de los grados Brix, con respecto al índice de refracción.

Grados Brix	n _D ²⁰
0	
5	1,34026
10	1,34782
15	1,35568
20	1,36384
25	1,37233
30	1,38115
35	1,39032
40	1,39986
45	1,40987
50	1,42009
55	1,43080
60	1,44193
65	1,45348
70	1,46546
75	1,47787
80	1,49071
85	1,50398

*n_D²⁰: índice de refracción.

Cálculos utilizados para determinar el índice de desviación del óptimo porcentual (DOP) y el índice de desbalance nutrimental (IDN)

$$\text{Índice DOP} = \frac{A-a}{a} * 100$$

Donde:

A = Análisis foliar (laboratorio).

a = Norma DOP (media del rango de suficiencia) (ver anexo 9, cuadro A24 y A25).

$$\text{IDN} = \text{IN} + \text{IP} + \text{IK} + \text{ICa} + \text{IMg} + \text{IFe} + \text{IMn} + \text{IZn} + \text{ICu} + \text{IB}$$

Donde:

IN = Índice del nitrógeno, según índice del DOP.

IP = Índice del fósforo, según índice del DOP.

IK = Índice del potasio, según índice del DOP.

ICa = Índice del calcio, según índice del DOP.

IMg = Índice del magnesio, según índice del DOP.

IFe = Índice del hierro, según índice del DOP.

IMn = Índice del manganeso, según índice del DOP.

IZn = Índice del zinc, según índice del DOP.

ICu = Índice del cobre, según índice del DOP.

IB = Índice del boro, según índice del DOP.

Cálculos utilizados para determinar el Déficit de Presión de Vapor (DPV)

$$\text{Presión de vapor del aire saturado (e}_s\text{)} = 6,108 * \exp \left[\frac{17,27 * T_s}{T_s + 237,3} \right]$$

Donde:

T_s: Temperatura del aire.

$$\text{Presión de vapor del aire (e)} = e_s * \text{HR}$$

Donde:

HR: Humedad Relativa.

$$\text{DPV} = (e_s - e)$$

Anexo 7. Síntesis de metodología empleada para los análisis químicos y físicos de suelo.

Cuadro A17. Resumen de las metodologías empleadas para el análisis químico y físico de muestras de suelo cultivado con mora (*Rubus adenotrichos* var. Vino).

Análisis	Metodología	Referencia Bibliográfica
Químico completo (Determinación de pH, acidez, Ca, Mg, K, P, Cu, Zn, Mn y Fe)	Extracciones de KCl y Olsen Modificado	Díaz Romeo., R. Hunter; A. 1982. Metodología de muestreo de Suelos, Análisis Químico de Suelos y Tejido Vegetal y de Investigación en Invernadero. CATIE. Turrialba Costa Rica. 62 p.
Materia orgánica	Walkley & Black	Díaz Romeo., R. Hunter; A. 1982. Metodología de muestreo de Suelos, Análisis Químico de Suelos y Tejido Vegetal y de Investigación en Invernadero. CATIE. Turrialba Costa Rica. 62 p.
Textura	Hidrómetro de Bouyoucos	Briceño A. J. y Pacheco R; 1984. Métodos Analíticos para el estudio de Suelos y Plantas. Editorial de la Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. 137 p
pH en agua	Potenciómetro	Jackson, M.L. 1958. Soil Chemical Analysis. Prentice Hall Inc. Englewood Cliffs, N.J. 38-49 p.
Densidad aparente	Cilindro Muestreador	Sampat A., 1979. Física de Suelos, Principios y Aplicaciones. Editorial Limusa. México. 351 p.
Nitrógeno	Micro Kjeldhal	Briceño A. J. y Pacheco R; 1984. Métodos Analíticos para el estudio de Suelos y Plantas. Editorial de la Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. 137 p

Fuente: INISEFOR, Universidad Nacional.

Anexo 8. Composición química del abono usado en campo

Cuadro A18. Contenido total de elementos mayores y menores en el abono aplicado en las parcelas experimentales.

Parámetro	Compost usado en campo
pH en agua	7,3
	(%)
Humedad	44
MO	13,8
N	1,14
C	8
C/N	7,0
P	0,35
S	0,14
K	0,61
Ca	0,72
Mg	0,17
	(mg/kg)
Fe	49259
Cu	116
Zn	105
Mn	627
B	69

Fuente: Orozco (2011).

Cuadro A 19. Análisis químico hecho al compost aplicado en la Luchita del Guarco, Cartago.

Elemento	Compost usado en campo
(%)	
N	0,62
P	1,44
K	1,20
Ca	1,96
Mg	0,11
µg / ml	
Cu	129
Zn	29,5
Mn	377
Fe	2980
mg/L	
B	32,55

Fuente: INISEFOR.

Cuadro A 20. Análisis químico hecho al compost aplicado en la Trinidad de Dota, San José.

Elemento	Compost usado en campo
(%)	
N	0,58
P	1,57
K	1,30
Ca	2,30
Mg	0,12
µg / ml	
Cu	64,5
Zn	27,5
Mn	381,5
Fe	3133,5
mg/L	
B	26,45

Fuente: INISEFOR.

Cuadro A 21. Propiedades físicas y físico-químicas de abonos orgánicos

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

Fuente: Salas y Ramírez (2001).

n.d = no determinado.

Identificación de abonos orgánicos: 01 Lombricompost de estiércol vacuno y de caballo (tres meses de proceso); 02 Lombricompost de cerdaza con heno, lirio, burucha, polvo de maíz; 03 Bocashi con gallinaza, semolina, carbón molino, melaza, cascarilla de arroz, tierra de bosque (proceso 15 días y almacena 16) 04; Lombricompost de broza de café (tres meses, almacenaje 20 días) 05; Compost de estiércol de vacuno y caballar y desecho de pacas (seis semanas de compostaje) 06; Lombricompost de estiércol vacuno, caballar y desecho de pacas 07; Abono orgánico de burucha y cerdaza (proceso cuatro semanas) 08; Abono orgánico de burucha y cerdaza, heno, polvo de maíz, efluente de biodigestor (proceso cuatro semanas) 09; Lombricompost con cerdaza, lirio, granza, bagazo y burucha 10; Abono orgánico con pulpa de café, cachaza y carbón 11; Lombricompost de broza de café y cachaza (proceso seis meses) 12; Bocashi de gallinaza (75%), granza, carbón de caña, semolina y miel (proceso 30 días) 13; Bocashi de gallinaza con caña picada, carbón, microorganismos y miel (proceso tres semanas, almacenamiento seis meses) 14; Compost con pulpa de café con bagazo (proceso tres meses) 15; Lombricompost de pulpa de café con miel (proceso tres meses) 16; Lombricompost de broza de café

Anexo 9. Requerimientos nutricionales del cultivo de mora a nivel foliar.

Cuadro A 22. Concentraciones adecuadas de macro y micronutrientes en hojas de mora.

Nutriente	Deficiente por debajo de	Suficiente	Exceso
(%)			
N	1,9	2,0-3,0	4,0
P	0,20	0,25-0,40	0,50
K	1,3	1,5-2,5	3,5
Ca	0,5	0,6-2,0	2,5
Mg	0,25	0,6-0,9	1,0
S	0,35	0,4-0,6	0,8
(ppm)			
B	23	30-70	90
Fe	40	60-250	350
Mn	35	50-200	350
Cu	3	6-20	30
Zn	10	20-50	80

Fuente: Buchway *et al.* (2008).

Cuadro A 23. Normas de DOP para (*Rubus spp.*).

Elemento	Norma DOP
N	3,5
P	0,4
K	3
Ca	0,75
Mg	0,35
Fe	50
Mn	50
Zn	20
Cu	7
B	40

Fuente: Montañés *et al.* (1991).

Cuadro A 24. Desviación del óptimo porcentual y el índice de desbalance nutrimental en la Luchita.

Tratamiento	0 Kg/ha planta		5Kg/ha planta		15Kg/ha planta	
Elemento	Análisis foliar	Índice DOP	Análisis foliar	Índice DOP	Análisis foliar	Índice DOP
N	2,42	-0,31	2,35	-0,33	2,34	-0,33
P	0,59	0,48	0,6	0,50	0,58	0,45
K	2,22	-0,26	2,24	-0,25	2,22	-0,26
Ca	1,15	0,53	1,11	0,48	1,18	0,57
Mg	0,22	-0,37	0,22	-0,37	0,22	-0,37
Cu	12,88	0,84	12	0,71	11,5	0,64
Zn	11,88	-0,41	11,88	-0,41	11,75	-0,41
Mn	220,88	3,42	202,5	3,05	215,13	3,30
Fe	62,5	0,25	72,63	0,45	86,88	0,74
B	13,76	-0,66	14,19	-0,65	14,54	-0,64
IDN		7,53		7,2		7,71

Cuadro A 25. Desviación del óptimo porcentual y el índice de desbalance nutrimental en la Trinidad.

Tratamiento	0 Kg/ha planta		5Kg/ha planta		15Kg/ha planta	
Elemento	Análisis foliar	Índice DOP	Análisis foliar	Índice DOP	Análisis foliar	Índice DOP
N	1,85	-0,47	1,83	-0,48	1,79	-0,49
P	0,51	0,28	0,6	0,50	0,59	0,48
K	1,99	-0,34	2,11	-0,30	2,11	-0,30
Ca	0,87	0,16	0,95	0,27	0,98	0,31
Mg	0,23	-0,34	0,24	-0,31	0,23	-0,34
Cu	11,63	0,66	10,75	0,54	9,63	0,38
Zn	10,25	-0,49	10,38	-0,48	9,88	-0,51
Mn	209,38	3,19	185,88	2,72	219,38	3,39
Fe	93,5	0,87	107	1,14	119,75	1,40
B	23,31	-0,42	21,8	-0,46	24,24	-0,39
IDN		7,22		7,20		7,99

Anexo 10. Macro y micronutrientos en el cultivo de mora (*Rubus* spp).

Cuadro A 26. Principales macronutrientos y función.

Macronutriente	Función
Nitrógeno (N)	Formación de tallos y hojas. Componente de la clorofila, ácidos nucleicos (ADN y ARN) y proteínas.
Fosforo (P)	Participa en la fotosíntesis y en la respiración. Favorece la formación de raíces, floración abundante, calidad de la fruta. Componente estructural de proteínas, enzimas y ácidos nucleicos.
Potasio (K)	Importante en la fotosíntesis, producción, transporte y almacenamiento de azúcares.
Calcio (Ca)	Componente de la pectina presente en la pared celular.
Magnesio (Mg)	Participa en la fotosíntesis, contribuye en el transporte de P, favorece la síntesis de azúcares.
Azufre (S)	Componente estructural de aminoácidos y proteínas, cataliza la producción de clorofila.

Fuente: Mills y Benton 1996, Castro y Cerdas 2005, Bushway *et al.* 2008, Spectrum Analytic Inc 2008.

Cuadro A 27. Principales micronutrientos y función.

Macronutriente	Función
Boro (B)	Mantenimiento de balance de azúcares, formación de proteínas y propiedades de pared celular.
Cobre (Cu)	Participa en la fotosíntesis y respiración. Forma parte de carbohidratos y proteínas.
Manganeso (Mn)	Contribuye a la acumulación de CO ₂ para la fotosíntesis, síntesis de clorofila, formación de riboflavina, ácidos ascórbico y carotenos.
Hierro (Fe)	Participa en la respiración, transferencia de energía, es constituyente de proteínas y enzimas.
Zinc (Zn)	Contribuye en la formación de clorofila, carbohidratos y desarrollo radical.

Fuente: Mills y Benton 1996, Castro y Cerdas 2005, Bushway *et al.* 2008, Spectrum Analytic Inc 2008.