

# Guía de diagnóstico de la calidad y salud de suelos bananeros

FE Rosales, LE Pocasangre, J. Trejos,  
E. Serrano, W. Peña

Editor: Franklin E Rosales, PhD



## Agradecimientos

Bioversity International, Programa de Cultivos para Mejorar Medios de Vida (CfL), para América Latina y el Caribe (antes INIBAP-LAC), y la Red de Investigación y Desarrollo de Plátano y Banano para América y el Caribe (MUSALAC), agradecen a todas las instituciones y personas que directa o indirectamente colaboraron en el desarrollo y logros alcanzados por el proyecto “Innovaciones tecnológicas para el manejo y mejoramiento de la calidad y salud de suelos bananeros de América Latina y el Caribe”.

El número de personas que colaboraron directamente fue, en algunas etapas del proyecto, superior a 70, sin contar a los dueños y personal de las 38 fincas que participaron en el mismo, ni las varias decenas de estudiantes que ayudaron en la conducción de los trabajos de campo y laboratorio durante los 3 años de vida del proyecto. Por lo tanto, nuestras disculpas adelantadas por la omisión de los nombres de la gran mayoría de ellas en esta pequeña nota de agradecimiento.

Primeramente agradecemos a FONTAGRO por el financiamiento principal del proyecto y la cofinanciación de esta publicación.

A los institutos y organizaciones miembros del Consorcio y a sus Directores o Responsables del proyecto: CATIE, Costa Rica (Dr. Pedro Ferreira); CORBANA, Costa Rica (Dr. Jorge Sandoval); IDIAF, República Dominicana (Ing. Rafael Pérez Duverge); IDIAP, Panamá (Ing. Benjamin Name); INIA-CENIAP, Venezuela (Dr. Prudencio Chacón).

A la Universidad de Costa Rica (UCR-CIMPE) por el apoyo prestado por el Dr. Javier Trejos y su grupo, por su invaluable apoyo en el diseño, análisis matemático de los datos del diagnóstico y estimación de los Índices de Calidad y Salud de suelo para los 4 países socios del proyecto.

Al Comité Internacional del proyecto (ad hoc) por sus muchas horas de trabajo para poder concretar las ideas originales, que hicieron posible el desarrollo del proyecto y su posterior análisis de resultados. Especialmente al Dr. Tony Pattison (QDPI, Australia), quien estuvo desde un inicio y compartió con el Equipo Central unos 6 meses de sus estudios en Costa Rica; al Dr. Richard Sikora (U Bonn, Alemania) por sus incontables ideas y motivación, así como por los muchos estudiantes enviados para trabajar en el proyecto; y al Dr. Eduardo Delgado, quien también nos acompañó directamente por 2 años en Costa Rica cedido en préstamo por el INIA-CENIAP.

Al Ing. David Brown, Bioversity-Costa Rica, por el desarrollo del software (“SiDiCaSS”) de la Guía de Diagnóstico, que permite su uso (sin necesidad de apoyo especializado) por cualquier usuario que pueda realizar la colecta de datos en fincas bananeras.

A todos los productores y productoras que nos prestaron sus fincas para el desarrollo de las principales actividades, sin las cuales no hubiese sido posible el logro de las metas y consecución de los productos obtenidos por el proyecto, que esperamos puedan ayudar a fortalecer y desarrollar el sector bananero en una manera más eficiente y respetuosa con el ambiente.

# Contenido

1. Antecedentes.....	1
Sobre el proyecto y sus socios .....	1
Presentación de la guía .....	2
2. Introducción.....	3
3. Descripción del proceso para el diseño de la guía de diagnóstico y de los estudios utilizados para la elaboración de la misma .....	5
Prueba del diagnóstico.....	5
¿Cómo se hizo el trabajo?.....	7
Diagnóstico.....	7
4. Proceso matemático para la elaboración del Índice .....	9
5. Guía del usuario.....	12
¿Cómo hacer el diagnóstico en el campo?.....	12
Fase I - Pre-diagnóstico.....	12
Fase II - Diagnóstico .....	15
¿Cómo estimar el Índice de su finca? .....	24
Sistema para el Diagnóstico de la Calidad y Salud de Suelos (SiDiCaSS).....	24
¿Qué obtenemos al final del proceso? .....	24
Realizar un diagnóstico nuevo .....	24
Realizar una consulta simple .....	27
Realizar una consulta múltiple .....	28
6. Bibliografía y lecturas recomendadas .....	31
7. Glosario.....	35
8. Anexo 1.....	39
Protocolos .....	41

# 1. Antecedentes

## Sobre el proyecto y sus socios

A pesar de la aplicación de técnicas avanzadas e insumos de alto costo en las plantaciones comerciales de banano de América Latina y el Caribe (ALC), incluyendo el uso intensivo de agroquímicos, se ha registrado en los últimos 15 años una reducción considerable en la producción y productividad debido al cambio y deterioro de los factores físicos, químicos y principalmente biológicos del suelo. Muchas fincas han sido abandonadas o han tenido que salir del negocio de producción de bananos por su baja productividad y competitividad. Debido a esta problemática, se inició a principios del 2003 una gestión para el mejoramiento del sistema radical del banano. El INIBAP, en asocio con CORBANA, realizó un Simposio Internacional “Sistema radical del banano: hacia un mejor conocimiento para su manejo productivo”, en San José, Costa Rica, en noviembre 2003. La información y las conclusiones allí generadas sirvieron de base para la elaboración de un proyecto que se considera pionero de una iniciativa regional tendiente a la disminución del problema antes mencionado.

La presente “*Guía de Diagnóstico de la Calidad y Salud de Suelos Bananeros*” está basada en estudios y experiencias de técnicos y científicos asociados al Proyecto “Innovaciones tecnológicas para el manejo y mejoramiento de la calidad y salud de suelos bananeros de América Latina y el Caribe” financiado por **FONTAGRO** (Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria) y coordinado por BIOVERSITY INTERNATIONAL (antes conocida como la Red Internacional para el Mejoramiento del Banano y el Plátano, **IPGRI-INIBAP**), actuando como Ejecutor Principal.

Los socios principales del proyecto fueron: el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (**CATIE**), Costa Rica; la Corporación Bananera Nacional (**CORBANA**), Costa Rica; el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (**INIA-CENIAP**), Venezuela; el Instituto de Investigaciones Agropecuarias de Panamá (**IDIAP**), Panamá; y el Instituto Dominicano de Investigaciones Agrícolas y Forestales (**IDIAF**), República Dominicana. También actuó como colaborador principal la Universidad de Costa Rica (**UCR**), con un rol preponderante en el proceso de la elaboración matemática del *Índice de Calidad y Salud de Suelos*. En un periodo dado del proyecto, estuvieron incorporados al mismo más de 70 personas entre asesores y ejecutores.

El proyecto fue ejecutado durante el periodo comprendido entre 2005-2008 en cuatro países de ALC (Costa Rica, Panamá, la República Dominicana y Venezuela) en donde se estudiaron 38 fincas bananeras con diferentes manejos y propósitos (exportación convencional, exportación de banano orgánico, venta mercado local; pequeñas, medianas y grandes).

## Presentación de la guía

Durante el estudio de las 38 fincas antes mencionadas, se evaluaron 72 indicadores del estado físico, químico y biológico del suelo, buscando identificar aquellos capaces de distinguir los contrastes en producción entre fincas evaluadas, así como los contrastes dentro de una finca dada. Una vez finalizada la actividad de diagnóstico en los cuatro países socios del proyecto, los datos colectados fueron organizados y analizados por un grupo de matemáticos, agrónomos, biólogos, químicos, entre otros. De esta forma se llegó a un Conjunto Mínimo de Datos (**CMD**), considerado como el conjunto de variables que discrimina mejor la diferencia entre sitios **de buena producción y de baja producción**, utilizando el menor número de indicadores. Como uno de los productos de este proyecto se logró determinar un Índice de Calidad y Salud de Suelos (**ICSS**) para cada uno de los países participantes y para cada una de las 38 fincas estudiadas, y con esa información se diseñó la *Guía de Diagnóstico de Calidad y Salud de Suelos Bananeros* que ahora se presenta.

Como se puede apreciar en el documento, la versión actual de la Guía es un largo proceso de prueba y error. Estamos conscientes de que la Guía puede ser mejorada a través de su uso sistemático en nuevas localidades, por lo que es nuestra intención y esperanza que otros grupos de investigación de la comunidad científica internacional se unan a esta tarea para lograr producir versiones mejoradas de la misma. Para este propósito se tiene documentado el proceso y las enseñanzas aprendidas en la elaboración de la presente guía, especialmente la parte concerniente a los cálculos matemáticos, así como también una base de datos de todos los estudios realizados.

El documento cuenta con una estructura sencilla donde se presentan las principales actividades de campo necesarias para poder hacer el diagnóstico de una finca bananera. Se discuten también una serie de temas que reflejan el pensamiento y la lógica del porque la escogencia primaria de los indicadores que sustentan la base de la guía. Los anexos complementan el esfuerzo de dar a conocer el contenido y la esencia de la guía en una forma comprensible al lector.

El uso principal de esta Guía está pensado para Agentes de Extensión Agrícola, Agentes proveedores de servicios agrícolas del sector bananero que asisten a productores de todo tipo y también es ideal para productores y personal técnico de fincas grandes y medianas que diseñan sus propias alternativas de producción y solución de problemas en ALC. El uso a nivel de investigación también sería apropiado tanto para el mejoramiento de la Guía *per se*, como para estudios específicos en los que se desea monitorear los cambios en el sistema productivo del banano.

## 2. Introducción

Históricamente las fincas bananeras se establecieron en áreas que sostenían bosques tropicales, los cuales son ecosistemas naturales donde las relaciones equilibradas entre sus componentes producen un ambiente eficiente, estable y con una alta capacidad de resistencia al cambio. El monocultivo y uso intensivo de insumos provocó cambios sustanciales en este ambiente como la disminución de la biodiversidad, la pérdida del recurso suelo por erosión, y desequilibrios entre los componentes químicos, físicos y biológicos de los suelos.

La alta carga contaminadora del polietileno en los suelos bananeros, el uso intensivo de biocidas para el combate de nematodos, Sigatoka negra y otras plagas y enfermedades, así como la aplicación de dosis de fertilizantes por encima de la capacidad de extracción del cultivo, constituyen elementos de manejo críticos que definitivamente han deteriorado los suelos donde actualmente se desarrolla la industria bananera en ALC. Por ejemplo, la productividad de las plantaciones bananeras en Panamá y Costa Rica ha mostrado oscilaciones considerables durante la última década (FAO 2004). Por el contrario, en sistemas manejados orgánicamente, que se caracterizan por el uso limitado de insumos agrícolas, la producción bananera se ha mantenido estable durante los últimos diez años (Serrano, 2003). Asimismo, se ha determinado que los sistemas de producción orgánica presentan una mayor actividad biológica y mayor supresividad sobre patógenos asociados al sistema radical que los suelos manejados convencionalmente (Pocasangre, 2003; Meneses, *et al.* 2003). Este resultado en términos económicos representa una ventaja para el agricultor así como un beneficio directo para mantener la salud y calidad de los suelos.

Actualmente, los métodos utilizados para medir la capacidad o potencial productivo de un suelo para el cultivo de banano, se basan principalmente en el estudio de las propiedades físicas y químicas del mismo y de sus relaciones con algunas características especiales como la topografía y las condiciones climáticas predominantes. Por lo general, estos métodos raramente consideran los niveles o estado de la salud del suelo y no son suficientes para explicar las complejas interacciones del suelo y su rizósfera (Pattison, 2004).

Dentro del proyecto financiado por FONTAGRO y el Consorcio conformado por Bioversity y sus asociados, se tuvo el consenso de que a partir de una clara definición de la calidad y la salud de los suelos bananeros podría diagnosticarse con precisión, a través de indicadores relevantes y reproducibles, el impacto del manejo del suelo sobre la sostenibilidad del sistema de producción de banano. Para esto el uso de una guía de diagnóstico daría la posibilidad de identificar, diseñar y validar alternativas tecnológicas apropiadas para *restaurar el equilibrio natural de los suelos en beneficio de una producción sostenible y de alta calidad de vida social y económica para la población de nuestros países*. Este último factor ha sido poco estudiado e investigado, pero se considera fundamental para resolver la problemática del agotamiento y baja productividad de las plantaciones, ya que se tiene evidencia de la rela-

ción directa entre la reducción de la productividad y la pérdida de la calidad y salud del suelo, por el impacto adverso del sistema convencional de producción (Gauggel *et al*, 2003; Pattison, 2003).

Por lo anteriormente expresado, el proyecto tuvo como uno de sus objetivos el contribuir a recuperar o mantener la productividad de las plantaciones bananeras, basado en el mejoramiento de las características físicas, químicas y principalmente biológicas del suelo, considerando que para superar el problema que representa la pérdida de productividad del cultivo de banano, era necesario adoptar y adaptar prácticas y sistemas de cultivo que consideraran las relaciones del suelo, planta y la biota asociada a la rizósfera. Por lo cual se *enfocó en desarrollar una Guía que ayudaría a diagnosticar la calidad y salud de suelos bananeros y permitiría caracterizar los diferentes grados de degradación de los mismos*, y también serviría para facilitar el diseño de las recomendaciones técnicas para la recuperación y mantenimiento de la producción y la productividad de los suelos bananeros de América Latina y el Caribe.

### 3. Descripción del proceso para el diseño de la guía de diagnóstico y de los estudios utilizados para la elaboración de la misma

El proceso del Diagnóstico de donde se origina la guía actual, se subdividió en dos grandes secciones (Figura 1). La primera llamada “*Pre-diagnóstico*” tuvo por finalidad obtener el historial de la finca, basado en entrevistas con los productores, colección de información secundaria y verificación *in situ* de la situación productiva de la finca a través de la aplicación de indicadores de producción. La segunda sección es el “*Diagnóstico*” *per se*, el cual usó a las “mini-calicatas” como medio para la obtención de los datos de campo, aplicando y midiendo todos los indicadores o variables para el estudio de la parte física, química y biológica del suelo.

#### Prueba del diagnóstico

Después de conceptualizar el propósito del diagnóstico e identificar y seleccionar (de una larga lista de candidatos) los indicadores y sus protocolos de extracción y/o medición, se procedió a una prueba de campo en Costa Rica. Conocedores de la variabilidad existente en los suelos, en el manejo de las fincas, en el clima y en otras variables que afectan o podrían afectar el desempeño de cada uno de los indicadores, así como una buena interpretación de los datos, se acordó hacer el estudio en tres diferentes tipos de fincas. Las fincas a estudiar deberían ser contrastantes en producción: fincas con producción buena, regular y pobre para los estándares comerciales de Costa Rica. También deberían ser fincas con un historial de manejo agronómico y climático tan largo como fuese posible, pero no menor de tres años de producción. Dentro de cada finca tipo se identificó también tres sitios de producción contrastante (bueno, regular y pobre). De esta manera los indicadores podrían ser medidos y evaluados por su calidad discriminativa de los tres ambientes productivos a nivel macro (diferencias entre fincas) y a nivel micro (diferencias dentro la misma finca). Este proceso se replicó dos veces para un total de seis fincas.

Luego de la prueba en Costa Rica se procedió con el diagnóstico en tres países más: la República Dominicana, Venezuela y Panamá. En cada uno de ellos se hicieron por lo menos nueve fincas siguiendo los mismos protocolos usados en Costa Rica, pero con algunas mejoras orientadas a asegurar la colección de datos en la manera más precisa posible. Así se eliminó el sitio de “producción regular” en cada finca, ya que lo “regular” era más difícil de identificar que lo “bueno” y lo “pobre”, en lo que se refiere a producción. Los protocolos de campo y de laboratorio usados fueron los mismos en todos los países.

Una vez obtenidos los resultados, se procedió a evaluar el comportamiento de cada uno de los indicadores en su habilidad de “indicar” o discriminar las diferencias en la calidad y salud de los suelos de las fincas bajo estudio tomando como base de comparación los sitios de “buena” y de “baja” producción. Estos datos fueron ordenados y sistematizados por un grupo de matemáticos de la Universidad de Costa

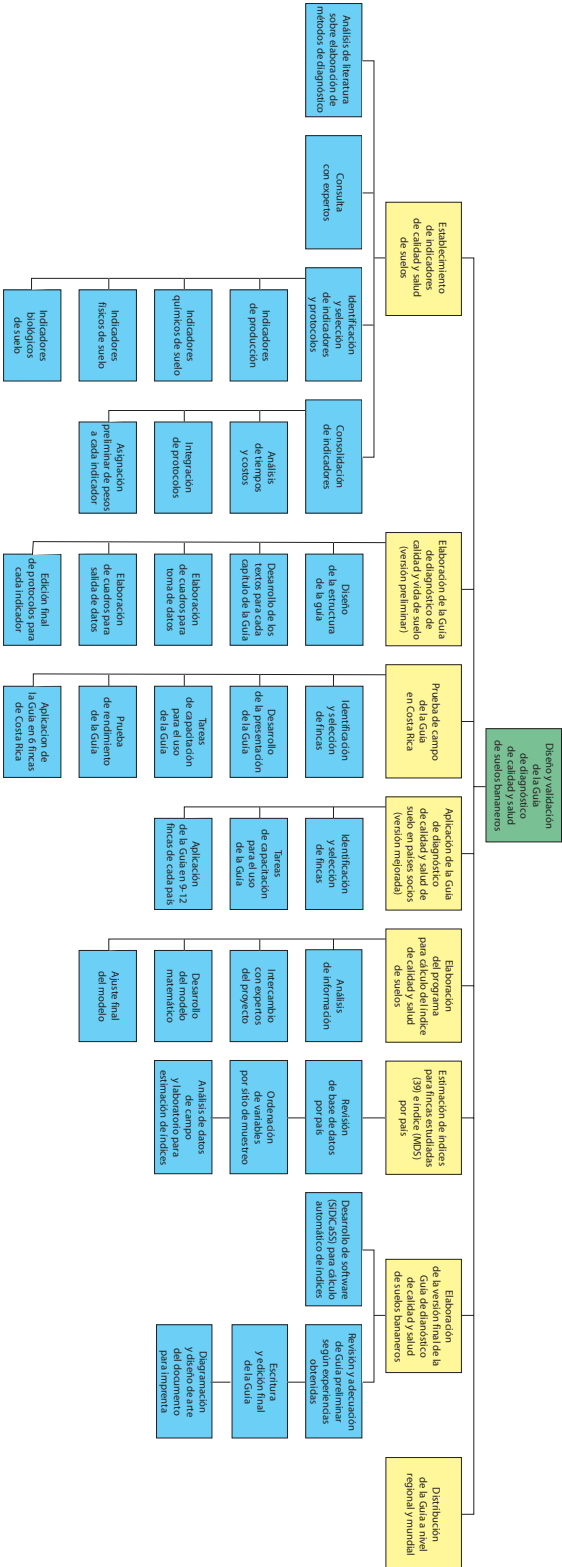


Figura 1. Proceso para diseño, prueba, validación y elaboración de la Guía de Diagnóstico.

Rica que tuvieron la tarea de desarrollar un programa para la estimación de un Índice que reflejará **la Salud y Calidad del suelo**, cuya expresión fuese numérica así como gráfica, para una más fácil comprensión de los resultados integrando todos los indicadores (ver sección: **Proceso matemático de elaboración del Índice**). La ordenación y análisis de los datos colectados permitió eliminar y/o corregir indicadores que no tenían la sensibilidad de discriminar situaciones diferentes de calidad y salud de los suelos. Con base en todos estos trabajos se construyó un índice final para cada finca y para cada uno de los países socios del proyecto.

## ¿Cómo se hizo el trabajo?

El pre-diagnóstico fue la herramienta determinante para identificar el historial de manejo de la finca, así como de los sitios contrastantes en producción; ambos datos son indispensables en el análisis final del estado de “salud” de los suelos de las fincas estudiadas. Sitios que no correspondían a las categorías de **buena producción** y de **pobre producción**, respecto a parámetros de cada país y de cada finca, fueron eliminados y sustituidos por otros sitios que sí tenían los contrastes bien definidos. Esto último era importante para que el análisis de comparación de eficiencia de los indicadores fuese lo más preciso posible y con el mínimo de variabilidad dentro de una misma finca. Los sitios escogidos fueron marcados (físicamente y con el sistema de información geográfica - SIG) en la finca como paso previo a la apertura de las mini-calcatas. La fase de **pre-diagnóstico** consistió básicamente de las siguientes actividades:

- Entrevista con el productor con el fin de conocer su versión sobre la productividad y problemas afines de su finca. Recopilación de información secundaria que ayudase a entender el problema, especialmente el manejo que puede haber llevado a la finca a la situación actual de producción (Anexo 1, Protocolo 1).
- Identificación de las áreas de producción buena y pobre, por el productor.
- Comprobación *in situ* de la producción de los sitios identificados por el productor.
- Selección definitiva de los sitios de muestreo, basados en los datos de producción potencial y de vigor obtenidos en la finca.
- Ubicación de los sitios de muestreo según el tamaño de la finca.

## Diagnóstico

En cada una de los dos sitios antes identificados en fincas medianas y grandes, se demarcaron cuatro hectáreas como población de referencia para los estudios de campo y se abrieron cuatro “mini-calcatas” (una por hectárea), para un total de 8 por finca estudiada. En fincas pequeñas con menos de 4 hectáreas de producción se utilizó únicamente un sitio de muestro por área contrastante; es decir una minicalcata por sitio “bueno” o “pobre” en lugar de cuatro.

En cada sitio de muestreo, el trabajo en campo se inició generalmente con la prueba de infiltración (método de doble anillo) y se procedió a realizar la minicalicata con las siguientes actividades:

- Identificación de horizontes (mínimo 3).
  - a. Descripción cualitativa (física) de los horizontes.
  - b. Toma de muestras para los tres horizontes (análisis físicos y químicos).
- Toma de los datos de las pruebas de infiltración.
- Determinación de la profundidad efectiva.
- Toma de muestras biológicas superficiales (micro, meso y macro fauna).
- Envío de muestras propiamente identificadas al laboratorio.
- Organización de la información de campo y datos provenientes de los laboratorios.

La última actividad de campo del diagnóstico fue la toma de muestras biológicas superficiales (micro, meso y macro fauna). Para mayores detalles sobre el proceso utilizado en los estudios del proyecto se recomienda la lectura de la Guía versión preliminar (2005)<sup>1</sup> y sus anexos.

---

<sup>1</sup> “Guía de Diagnóstico de la Calidad y Salud de Suelos Bananeros” (Versión Preliminar). Proyecto FONTAGRO. [www.suelosbananeros.catie.ac.cr](http://www.suelosbananeros.catie.ac.cr)

## 4. Proceso matemático para la elaboración del Índice

Con el fin de construir un índice matemático que ayudara a describir la calidad y salud de suelos bananeros, se utilizaron los datos provenientes del diagnóstico en los cuatro países antes mencionados: Costa Rica, Panamá, República Dominicana y Venezuela (ver sección anterior). El número de indicadores estudiados originalmente fue de 69, mas 3 variables para la estimación de producción; variando el número de indicadores (con un mínimo de 44) según cada país. En cada sitio *se estimó la producción con 3 variables agronómicas: número de manos, circunferencia de la planta madre y altura del hijo de sucesión*.

En Costa Rica se estudiaron 6 fincas comerciales; en Panamá 11 fincas, en la República Dominicana 12 fincas (8 orgánicas y 4 convencionales) y en Venezuela 9 fincas (6 de ellas para el mercado de exportación y 3 para el mercado local). Cada finca fue dividida generalmente en dos sectores: el sitio de producción “buena” y el sitio de producción “pobre” (ver sección anterior); esta clasificación inicial fue corroborada posteriormente mediante un análisis discriminante. En la República Dominicana se separaron los análisis para las fincas orgánicas y las convencionales.

Para cada país, se procedió a revisar la base de datos, los cuales se ordenaron en un cuadro por sitios de muestreo (filas) y por variables o indicadores (columna), con todas las variables cuantitativas. Luego de realizar ciertas estadísticas descriptivas básicas, se depuraron los archivos.

La selección de los indicadores más significativos se hizo, en primer lugar, con base en regresiones lineales paso a paso (tanto hacia delante como hacia atrás), utilizando la producción (las 3 variables antes mencionadas) como indicador a explicar. Seguidamente, se procedió a realizar un análisis en componentes principales (ACP) con el objetivo de describir las principales relaciones entre las variables (a través de los círculos de correlaciones), entre los sitios de muestreo (a través de los planos principales) y entre variables y sitios de muestreo. Este procedimiento, junto con la clasificación automática de las variables permitió encontrar agrupaciones de indicadores que tenían un mismo comportamiento sobre el conjunto de sitios de muestreo. La combinación de planos principales (con la proyección de las calicatas de sitios buenos y pobres) y los círculos de correlaciones (con la proyección de las variables descriptivas) permitió obtener una primera asociación entre los sitios (buenos y pobres) y los indicadores de calidad y salud del suelo. Los análisis de componentes principales mostraron total coherencia entre los indicadores utilizados y los indicadores de producción.

Usando los resultados de los cuatro tipos de regresiones antes mencionados y del análisis de componentes principales, se buscó un consenso entre los distintos tipos de análisis para hallar los indicadores más explicativos de la producción. Así, se retornaron las variables de los 5 modelos que se repetían más frecuentemente, como las que mejor explicaban la producción. Es decir, aquéllas que por consenso podían hacer una mejor distinción entre sitios de “buena producción” y sitios de “pobre produc-

ción”. Se analizó si este conjunto de variables representaba a todos los grupos que se habían obtenido en la clasificación automática; cuando fue necesario, se hicieron algunos cambios para tener representatividad de todos los grupos. También se examinó la independencia entre los indicadores retenidos, para estar seguros de que no hubiese redundancias entre ellos; en caso de haberlas, se eliminaron algunos.

Con base en los anteriores análisis, se seleccionaron los *indicadores más explicativos*, que forman el Conjunto Mínimo de Datos (*Minimum Data Set, MDS*), selección que fue revisada mediante análisis de conglomerados, o clasificación automática, mostrándose la pertinencia de las variables escogidas, así como su independencia. También se utilizó el juicio de expertos, con la apreciación en los diferentes campos afines al proyecto.

Cada indicador del CMD, entró en el índice matemático con un peso y una curva de respuesta. El *peso* fue estimado a partir de la importancia del indicador correspondiente en las primeras componentes principales del análisis con las variables del CMD. Por su parte, *la curva de respuesta* se construyó a partir de la opinión de los especialistas en la materia, según los rangos teóricos establecidos por ellos, contrastados con los rangos observados en los datos. Así, se obtuvo un índice que describe la calidad del suelo para cada país a partir de unos pocos indicadores, teniendo también dos tipos de representaciones gráficas.

*Se define entonces el índice de calidad y salud de suelos bananeros, con la forma:*

$$\text{Índice} = \sum_{i=1}^K \text{peso}_i f_i(x_i)$$

donde **K** es el número de indicadores en el CMD, **peso<sub>i</sub>** es el peso del indicador *i*, **f<sub>i</sub>** es la curva de respuesta que corresponde al indicador *i*, y **x<sub>i</sub>** es el valor del indicador *i* del lugar que se quiere evaluar. Es decir, para cada valor de los indicadores  $x_1, x_2, \dots, x_K$  del CMD el Índice tiene un valor entre 0 y 1, interpretándose el 1 como la mejor calidad y salud de dicho suelo.

De esta forma se llegó a un Conjunto Mínimo de Datos para cada país (Cuadro 1), considerado como el conjunto de variables que discrimina mejor la diferencia entre sitios de buena y pobre producción, poseyendo el menor número de indicadores. Se obtuvo un índice por país, excepto en el caso dominicano en que se obtuvieron dos índices, uno para las fincas orgánicas y otro para las fincas convencionales.

Cuadro 1. Indicadores de calidad y salud de suelos bananeros seleccionados (CMD) por país socio del proyecto

Costa Rica	Panamá	República Dominicana (Orgánico)	República Dominicana (Convencional)	Venezuela
pH	pH	pH	pH	pH
Acidez intercambiable	Ca	Ca	Na	Mg
P	K	Ca/K	P	Cu
Ca/Mg	MO	MO	Mg/K	% arena
Mg/K	% arena	% arena	% saturación Ca	Resistencia a la penetración
Retención de fosfatos	Respiración microbiana	Infiltración de agua	% arena	Respiración microbiana
Porosidad	Índice mineralización	Respiración microbiana	Resistencia a la penetración	Biomasa MO
Infiltración de agua	Peso Radical	Peso Radical	Peso Radical	Peso Radical
Bacterias	<i>Radopholus similis</i>	<i>Helicot. multicinctus</i>	NVL bacteriófagos	Total NVL
Hongos	Total NVL	Fusarium	NVL predadores	NVL bacteriófagos
Índice de mineralización	% fitonematodos	Otros hongos	Otros hongos	<i>Trichoderma</i>
Peso radical	<i>Trichoderma</i>			
<i>Radopholus similis</i>	Total familias microartrópodos			
Géneros NVL				
% fitonematodos				
NVL fungívoros y NAP				
Total animales MA				

## 5. Guía del usuario

### ¿Como hacer el diagnóstico en el campo?

Esta sección pretende guiar al lector paso a paso, recorriendo todas las actividades de campo hasta llegar a obtener la información necesaria para alimentar el programa que haría los cálculos del Índice de la Calidad y Salud de Suelos. No se entra en los detalles técnicos de los protocolos o de los indicadores, ya que cada uno de ellos esta explicado en el Anexo 1. El proceso es lógico y esta estructurado tomando en cuenta el ahorro de tiempo y de personal, así como de todos los recursos de apoyo logístico (Figura 2).

#### Fase I - Pre-diagnóstico

**Historia de la finca.** El primer paso del pre-diagnóstico es obtener el historial de la finca. Este es sumamente importante, especialmente cuando el diagnóstico lo utiliza un agente de servicio o extensión agrícola quien no está enterado de todos los detalles de manejo de las fincas a las cuales presta sus servicios. El historial se obtiene a través de un diálogo con el productor ayudado por un formato de encuesta (Anexo 1, Protocolo 1) que incluye temas sobre el manejo agronómico y comportamiento histórico productivo de la finca, cultivares usados, población o densidad de siembra, producción por hectárea, número de pariciones por semana, retornos, otros. También se indaga sobre el manejo y calidad del agua de riego (si existe), programa de fertilización (últimos 3 años como mínimo), problemas y prácticas fitosanitarias de la finca (Sigatoka, nematodos, insectos, malezas) y se colecta información disponible tales como: mapas de suelos, riego y/o drenaje, análisis de suelo y foliares (últimos 3 años como mínimo) y datos climatológicos (precipitación y temperatura semanal, si es posible). En general se trata de obtener en una forma ordenada una idea de la producción (biomasa total en peso de racimo), productividad (cajas/ha/año), manejo, edad de la finca, recursos de la finca, y el o los problemas fundamentales de la finca según el criterio del productor.

El siguiente paso es la **identificación** dentro de la finca de **dos sitios** de muestreo: uno con **producción “buena”** y otro con **producción “pobre” (B y P)**, según el criterio del productor. Se recorren las áreas potenciales de trabajo sin abrir las calicatas. Se define la zona de trabajo de donde se tomarán los datos o muestras para cada uno de los indicadores. Esta estrategia permite inferir sobre toda la finca estudiando áreas contrastantes previamente determinadas. Considerando que los usuarios de esta guía serán muy diversos en cuanto al tamaño de las fincas, se procede hacer las siguientes recomendaciones para determinar el número de sitios de muestreo. Estas sugerencias están basadas en la experiencia adquirida durante el proyecto, el cual tomó como base de partida el tamaño promedio de las fincas de exportación de América Latina, y se determinó un área de muestreo de 4 hectáreas por sitio contrastante (B y P), con 4 puntos de muestreo de una hectárea cada uno. Este tamaño es equivalente a un 5-10 % de la finca.

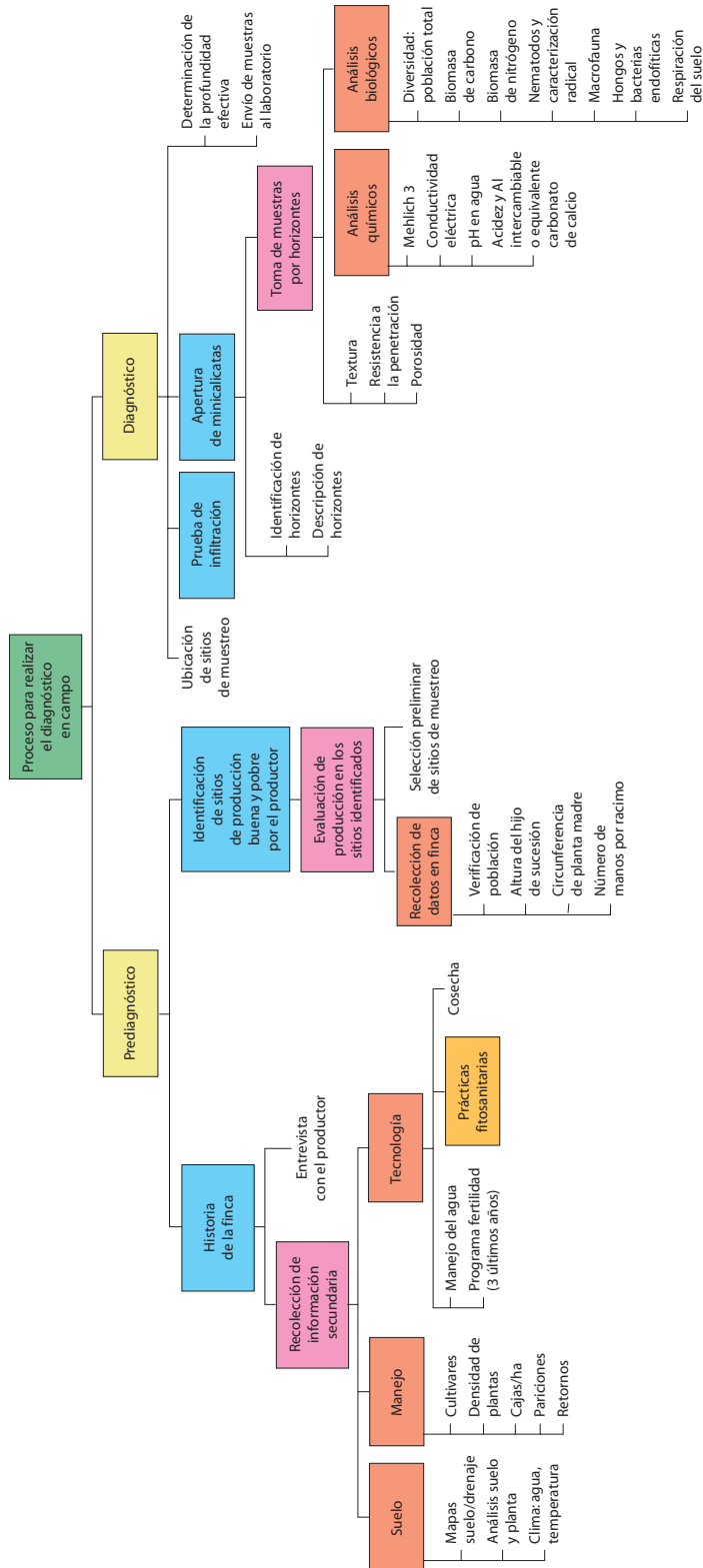


Figura 2. Proceso para realizar el diagnóstico en el campo.

En el caso que las fincas a estudiar tengan un tamaño menor al de 10 hectáreas, se recomienda únicamente tomar un punto de muestreo en el sitio “bueno” y uno en el sitio “pobre”. Si la finca está dentro del rango de 10 a 25 hectáreas, se recomienda dos puntos de muestreo por sitio. En fincas con 25 a 50 hectáreas, se harían 3 puntos por sitio “bueno” y 3 por sitio “pobre”. Fincas con más de 50 hectáreas se diagnosticarían con 4 puntos de muestreo en los sitios de producción buena y 4 en los de producción pobre.

En esta área escogida por el productor, se efectúa un reconocimiento de suelos usando un barreno holandés con el objetivo de identificar la unidad de suelos más común en ese sitio. La profundidad sugerida para la toma de muestras es de 100 cm. En cada barrenada se medirá únicamente: la **textura**, mediante el tacto; el **drenaje interno** por la presencia de moteados y la **profundidad efectiva**. El número de muestras o barrenazos depende de la variabilidad de los suelos presentes. Se inicia con el procedimiento normal de 5 muestras ubicadas en **equis (X)** en una hectárea (en el centro y en las cuatro esquinas) y si hay mucha variabilidad se aumenta el número de muestras (3-4) hasta encontrar el tipo de suelo más común en el área.

En los sitios antes identificados, se delimitan y marcan parcelas de 20 x 50 metros cada una (o en forma de cuadrado), correspondiente a 1000 m<sup>2</sup>, donde **se calcula la densidad poblacional** y luego **se identifican 20 plantas con racimo** de las últimas tres cintas (semanas) próximas a cosecha, para la determinación de los parámetros de vigor o frondosidad (Anexo 1, Protocolo 2). Si no se encuentran las 20 plantas dentro de los 1000 m<sup>2</sup> se puede completar la cantidad con plantas vecinas que estén en completa competencia. Así, en las fincas más grandes (con 4 hectáreas de muestreo por sitio) se evalúan 80 plantas cercanas a la cosecha en el sitio “bueno” e igual cantidad en el sitio “pobre”.

En las otras fincas de menor tamaño se tomarían muestras en múltiplos de 20 plantas por sitio. Así tendríamos que en las más pequeñas se estudiarían únicamente 20 plantas en cada sitio (B y P); las fincas con 25 hectáreas se tendrían 40 plantas por sitio bueno y 40 por sitio pobre; y así consecutivamente siguiendo las indicaciones antes mencionadas.

A las plantas seleccionadas se les tomarán datos de: **Número de manos, circunferencia de la planta madre y altura del hijo de sucesión** (Anexo 1, Protocolo 2). Estos tres parámetros están altamente correlacionados con producción o vigor de la plantación. Los sitios “buenos” y “pobres” se comparan entre sí con los promedios obtenidos de los datos colectados, para constatar si la apreciación hecha en forma visual por el productor es correcta o no.

El muestreo en diferentes zonas es una estrategia para ahorrar recursos estudiando una parte del todo y poder hacer recomendaciones de manejo diferentes si ese fuera el caso. Además nos permite verificar la calidad de los datos o análisis al comparar dos sitios contrastantes entre sí. Por ejemplo, si los análisis nos muestran que no hay diferencias entre sitios “bueno” y “pobre” o que el sitio “bueno” está peor que

el sitio “pobre”, entonces podríamos inferir que hay un error en ellos y tratar de corregirlo; esto no sería posible si tuviésemos un solo sitio de muestro en la finca. Si se nota que los sitios difieren en dos o tres de los indicadores de producción analizados, nos indicaría que hemos seleccionado correctamente las áreas a estudiar, ya que muestran valores contrastantes de acuerdo a la definición de sitios con “buena” y “pobre” producción.

Es posible que el muestreo del pre-diagnóstico, indique que no hay problemas en la producción *per se*, pero que podría haberlos en el manejo de la cosecha y poscosecha o en la utilización del área disponible para una población adecuada. Por este último punto es que se verifica la población real, que nos permite constatar el espacio vital de producción que podría estar afectado por una sobredimensión en los canales de drenaje, caminos de acceso y otros tipos del uso de la tierra.

*Si se constata que los datos del agricultor coinciden con los datos de verificación en campo, entonces se procede a ubicar los sitios para el Diagnóstico per se. Este es el producto final y uno de los propósitos del pre-diagnóstico.*

*La verificación se hace con los indicadores de producción antes de hacer las calicatas o cualquiera otra experimentación.*

## **Fase II - Diagnóstico**

De acuerdo a la experiencia obtenida en el proyecto, se sugiere realizar el proceso de diagnóstico en un orden cronológico, para lo cual se listan los tres principales pasos. *El primer paso es el del pre-diagnóstico* (anteriormente explicado), que colecta información secundaria, realiza el “pre-estudio” de suelos, toma datos de producción en la finca y analiza la información colectada, previo a la excavación de calicatas. *El segundo paso es el de apertura de las minicalicatas*, en los sitios determinados por el pre-diagnóstico. Las “minicalicatas” o excavaciones, es el proceso metodológico que nos permite la captación de los datos de campo, a través de la aplicación y medición de todos los indicadores para el estudio de la parte física, química y biológica del suelo. *Finalizadas las calicatas se procede a la toma de las muestras compuestas para los análisis biológicos*. Estas, a diferencia de las muestras para las características físicas y químicas, necesitan ser procesadas a la mayor brevedad posible por lo que es aconsejable tomarlas en un mismo día.

### **Estudios Físico - Químicos del suelo**

En los sitios escogidos, en la banda de fertilización de las plantas de banano recién florecidas, se abren las minicalicatas con una dimensión de 60 cm X 60 cm X 60 cm, de largo, ancho y profundidad, respectivamente. Las Figuras 3 y 4 ilustran una minicalicata.



Figura 3. Muestreo de densidad aparente en la banda de fertilización usando una minicalicata.



Figura 4. Vista general de una calicata: a) identificación de horizontes, b) prueba de compactación, c) toma de muestras para análisis.

Se estimó como adecuado la apertura y estudio de tres calicatas por día. De esta manera la implementación del diagnóstico, en el cual se consideran 8 minicalicatas por finca (para las fincas mas grandes), se tomaría 3-4 días efectivos de trabajo con un equipo de 3 personas; una de ellas es el Agrónomo especialista en suelos y dos ayudantes especializados. El protocolo a seguir para las mediciones de cada uno de los indicadores, tanto a nivel de campo como de laboratorio, se encuentran en el Anexo 1, por lo que a continuación se describen únicamente los pasos a seguir en el campo (en forma general, ordenada y lógica), para la adecuada implementación del diagnóstico.

La lógica y la práctica sugieren que el primer paso en la implementación del diagnóstico sería la prueba de infiltración y que la última actividad en la finca sería la toma de las muestras para las determinaciones biológicas, nematodos y caracterización radical.

Para medir la *infiltración básica* se usará el **método de doble anillo** (Anexo 1, Protocolo 8). Se requiere de una tabla de madera y mazo golpeador, así como un cronó-

metro. Se hacen 3 o 4 mediciones que sean similares para determinar la infiltración básica del suelo. La Figura 5 ilustra la prueba de infiltración.



Figura 5. Prueba de infiltración mediante el método de doble anillo.

Una vez instalados los anillos para las pruebas de infiltración se procede a la apertura de las minicalcatas y se identifican y describen los horizontes del suelo al alcanzar los 60 cm de profundidad. Se describen tres como base y un máximo de cuatro. Los parámetros de los horizontes no son en sí indicadores de calidad y salud del suelo, pero ayudarán a determinar el potencial productivo de la finca y a determinar las alternativas de producción más apropiadas para el mejoramiento de la misma. La determinación de la **textura** y de la **densidad aparente** sería entonces el siguiente paso de la lista.

La **textura** se determina al tacto en el campo y para el análisis de laboratorio se sugiere hacerlo por el método de *Bouyoucos*, que permite la separación de las partículas del suelo en arena, limo y arcilla. Este procedimiento se debe hacer en los 3 horizontes ya determinados. Si no hay experiencia de hacerlo al tacto, se recomienda hacerlo únicamente en el laboratorio. El hacerlo al tacto causa la destrucción de los micros agregados, lo que ayuda a determinar y clasificar mejor el suelo. El *Porcentaje de Arena* es uno de los cuatro indicadores finales seleccionados dentro del grupo de la parte física del suelo.

La **densidad aparente** es la relación del peso del suelo seco por el volumen conocido de un cilindro de metal en  $\text{g cm}^{-3}$  (Forsythe, W. 1985). Es un indicador que fue estudiado pero no seleccionado. El protocolo para su estimación se incluye en el Anexo 1 (Protocolo 7), ya que se usa para el cálculo de *Porosidad* que sí es un indicador del CMD final.

La fertilidad es uno de los parámetros de calidad de suelos más importante y se estima usando la solución extractora **“Mehlich 3”** que nos permite determinar los contenidos intercambiables de *Ca, Mg, K, P, Fe, Cu, Zn, Mn y Na* (Mehlich, A. 1984) (Anexo 1, Protocolo 3).

El *pH* se mide en agua a 1:2.5 lo cual es estándar usando el método de Maclean (Anexo 1, Protocolo 4).

**Resistencia a la penetración.** Se utiliza el penetrómetro en las tres profundidades u horizontes de la calicata y se mide 5 veces en cada uno de ellos. En los países en donde se pueda realizar la prueba de resistencia al corte, se sugiere utilizarla ya que es complementaria a la del penetrómetro (Anexo 1, Protocolo 11).

**Acidez y aluminio intercambiable.** Es una determinación de laboratorio con una pequeña cantidad de suelo y con una misma extracción se hacen los dos elementos. La determinación de acidez se hará únicamente en suelos con problemas conocidos de acidez. En suelos calcáreos se hará carbonato de calcio, ya que ambos problemas son excluyentes. El método usado será el de extracción con KCl. La calicata puede dar información sobre problemas de carbonato de calcio directamente, lo que nos ayuda a decidir (en caso de desconocerse el problema) si se hace cual o tal determinación (Anexo 1, Protocolo 6).

Al final de toda la actividad de campo generada con la apertura de las minicalicatas para el diagnóstico en la finca, se toman las muestras para las determinaciones biológicas, nematodos y caracterización radical. Esto facilita la recolección por parte de los encargados de estas muestras, ya que los sitios están fácilmente identificados en las fincas y las muestras se toman en el área adyacente inmediata de cada calicata, lo que además permite hacer comparaciones directas (componentes físico-químicos) de estos mismos sitios con el componente microbiológico.

### ***Estudios Biológicos del Suelo***

La actividad biológica del suelo se encuentra muy relacionada con las características físicas y químicas del mismo, así como a la presencia de un determinado cultivo, por lo que se debe estudiar de forma conjunta. Esta compleja relación de interdependencia se mantiene gracias a un intercambio de factores entre plantas, suelo, microorganismos y aspectos abióticos. Las plantas aportan minerales y compuestos orgánicos y a la vez reciben de los microorganismos simbiotes y asociados, sales minerales, auxinas, giberelinas, citoquininas, vitaminas y aminoácidos. Asimismo, muchos microorganismos del suelo son promotores de crecimiento en las plantas y algunos de ellos ayudan en la fitoprotección contra el ataque de patógenos, por medio de diversos mecanismos tales como antibiosis, antagonismo, parasitismo, competición por los nutrientes exudados por la planta y resistencia sistémica inducida o adquirida. También los microorganismos del suelo juegan un papel muy importante en el aporte directo de nutrientes, solubilización de elementos, degradación de materia orgánica y de otros compuestos para que los elementos queden disponibles

para las plantas. La actividad de los microorganismos puede reflejarse en la mejora de las propiedades físicas y químicas del suelo. Se observa un aumento en el contenido de materia orgánica, en la capacidad de infiltración y retención de agua, capacidad de intercambio catiónico, en la profundidad y porosidad del suelo, en la longitud y volumen radicular y también reduce la compactación del suelo.

La literatura documenta la tendencia de que a mayor acidez del suelo mayor es el número de las poblaciones de hongos y viceversa. En el análisis de poblaciones totales, se identificarán también patógenos y si se encuentran altas poblaciones de estos microorganismos serán otro indicativo de un suelo enfermo. Un indicador de buena calidad de salud del suelo es la cantidad de *Trichoderma*, *Metarhizium* y cepas no patogénicas de *Fusarium*, que son hongos benéficos.

Los microorganismos del suelo pueden estudiarse utilizando una batería de procedimientos de microbiología clásica, pero hasta ahora no se han empleado todas las técnicas de manera coordinada por lo que se necesita información más coherente sobre las técnicas microbiológicas del suelo. En cualquier caso, los estudios realizados en el campo permiten llegar a predicciones simples sobre las dinámicas de las poblaciones microbianas del suelo bajo diferentes sistemas de manejo agrícola y sobre su influencia en los procesos de descomposición de material orgánico.

### Proceso de la toma de muestras para los análisis microbiológicos

Como se explicó anteriormente, al finalizar la actividad con las calicatas, se procede a la toma de muestras para los análisis microbiológicos. Todos los protocolos para los indicadores que se presentan a continuación, se encuentran detallados en el Anexo1. El muestreo de nematodos es la guía principal para esta actividad, ya que en el mismo sitio adyacente a la planta donde se muestrean las raíces se toman las muestras para los análisis microbiológicos (Figura 6). Una vez identificada la posición exacta de las calicatas en la finca se toman las muestras según se describe



Figura 6. Proceso de toma de muestra de biológicos: a) agujero, b) toma de muestra con el barreno holandés, c) identificación de la muestra.

continuación:

- a. Macrofauna.** Se selecciona un área de 40 cm x 40 cm, entre el hijo de sucesión y la planta madre. Posteriormente con una pala se raspa la superficie del suelo profundizando hasta 5 cm. Luego se concentra el suelo raspado más la hojarasca presente y se toma una muestra de aproximadamente 1 Kg de suelo. La muestra se identifica con la ubicación de la calicata.
- b. Microbiológicos.** Se toma una muestra compuesta de 10 sub-muestras por sitio (calicata) a 30 cm de profundidad. Esta se hace al mismo tiempo que se colectan las muestras para nematodos de vida libre, que se explica mas adelante.
- c. Determinación de nematodos de vida libre.** Se usará la técnica de identificación de Baermann modificado clásico. Esta técnica mide la diversidad y cantidad de nematodos de vida libre y posteriormente se pueden calcular los porcentajes según grupos tráficos (Protocolo 16). Para este indicador se requieren 250 g por muestra y se tomarán 10 muestras por sitio (calicata). Las muestras se deben tomar a 30 cm de profundidad.
- d. Diversidad y cantidad de nematodos fitoparásitos.** El método utilizado para su determinación será el de macerado y filtrado, usando 25 g de raíces por muestra por calicata (Protocolo 15).

### ***Poblaciones totales de microorganismos mediante recuento directo viable en plato***

El recuento de microorganismos puede ser una herramienta importante para comparar sistemas de manejo agrícola, la aplicación de enmiendas o el uso de plaguicidas. Permite la determinación de grupos funcionales de microorganismos que proporcionan información importante del sistema bajo estudio y que pueden ser utilizados como indicadores de manejo (ej. presencia de patógenos, fijadores de nitrógeno, etc.). Otra ventaja que presenta su uso es que los aislamientos bacterianos pueden conservarse en el laboratorio, identificarse y utilizarse para otros estudios. Permite además, utilizando los medios de cultivo adecuados, el seguimiento de microorganismos introducidos al ambiente (bio-fertilizantes, agentes de control biológico, otros). A continuación se describen algunos de los grupos funcionales utilizados en este tipo de análisis.

- a. Bacterias aerobias.** Estas participan en los procesos de descomposición de residuos, formación de agregados, interacciones con plantas y otros microorganismos. Si bien la mayoría son aerobias, algunas toleran condiciones de poca disponibilidad de oxígeno.
- b. Hongos.** Los hongos se encuentran principalmente en suelos bien aireados. Algunos son patógenos de plantas, otros son importantes por degradar compuestos orgánicos como celulosa, lignina y pectina. Favorecen la estructura del suelo al unir las partículas para formar agregados estables. Los hongos toleran

generalmente pH ácidos.

Con la determinación de la población microbiológica total (microflora) se puede conocer los grandes grupos de la comunidad microbiológica antes mencionados: bacterias y hongos; dando una buena apreciación de la diversidad que existe en el área muestreada. La diversidad efectiva o potencial antagonista es de mayor interés, pero ésta se mide específicamente en algunos indicadores que se describen más adelante donde se estudia este potencial antagonista (especialmente en los nematodos) y requiere de mucho más trabajo y análisis, lo que aumentaría considerablemente el costo del diagnóstico. Este indicador refleja además el espectro o grado de sensibilidad sobre poblaciones totales. Nos ayuda a ubicar qué poblaciones existen, para asociarlos con suelos y condiciones edafológicas. Además de la determinación de población total, se puede tener una buena idea acerca de géneros dominantes, ya que existen índices de relación entre hongos y bacterias. Un parámetro asociado a estas variables es la biomasa microbiana.

La determinación de la *biomasa microbiana* ha cobrado importancia en los últimos años debido al papel de los microorganismos en el reciclaje e inmovilización de nutrientes. Esta fracción contiene de 11 a 13% del C total del suelo y hasta el 5% del N total, por lo que puede generar nutrientes en cantidades suficientes para llenar las demandas de las plantas.

El método de fumigación-extracción es el mayormente empleado y se basa en exponer la muestra de suelo a una incubación con cloroformo. Este compuesto destruye las membranas de los microorganismos y los contenidos celulares (C, N, P, S) se liberan al suelo de donde pueden ser extraídos y evaluados, sobre todo el C de la biomasa microbiana del suelo. Esta determinación es útil en investigaciones en las que se quiere estudiar el efecto de la labranza, de aplicación de residuos, la rotación de cosechas y el tipo de suelo sobre el C orgánico. Puede utilizarse como un indicador de toxicidad.

Con los valores obtenidos de **C-biomasa** microbiana y del **C-total asociado a la materia orgánica**, se calcula el índice de biomasa de la materia orgánica (Anexo1, Protocolo 13).

- c. **Biomasa de Carbono.** Esta medida nos indica la cantidad de C microbiano en el suelo. Se determina en el laboratorio a través del procedimiento de fumigación-extracción. Luego se procede con los métodos comunes para la determinación de C-total, y la cantidad se calcula por diferencia de todas las poblaciones del suelo. El protocolo requiere muestras de 200 g obtenida en los primeros 20 o 30 cm del perfil del suelo. Esta es una estimación del carbono activo proveniente de la biomasa de los microorganismos en el suelo. La microflora está compuesta en su mayor proporción por C y N, por ello al medir estos elementos esenciales o el ciclaje, se sabe cuánto permanece inmovilizado o disponible en el suelo. De esta forma se puede estimar cuánto usa la planta, cuánto se descompone en el suelo y cuánto queda disponible de nuevo en el suelo para la planta.

**d. Respiración microbiana.** Debido al papel de los microorganismos en la descomposición de residuos, la medida de actividad biológica puede ser un indicador valioso del efecto del manejo del sistema sobre la población microbiana del suelo. Algunas de las técnicas utilizadas reflejan la actividad de individuos o grupos de organismos específicos, mientras que otras se refieren a la actividad total de la biota del suelo. Entre las primeras técnicas se encuentran la medición en el suelo de la actividad de diferentes enzimas como la catalasa, hidrolasa, proteasa y ureasa. La actividad total de la población microbiana del suelo puede determinarse también mediante la técnica de respiración, que refleja la actividad biológica de la microbiota del suelo. Las células microbianas oxidan materiales reducidos (carbohidratos) produciendo elementos y compuestos disponibles, como el  $\text{CO}_2$ . Dicha actividad puede evaluarse al medir el  $\text{CO}_2$  producido o el oxígeno consumido como resultado del metabolismo de los microorganismos. La técnica más simple se basa en incubar el suelo libre de raíces en jarras de vidrio y de boca ancha herméticamente cerradas durante 10 días (Anexo 1).

La determinación de este parámetro nos indica la actividad de la microflora, mediante la degradación de residuos de plantas, exudados y de materia orgánica del suelo. Debe tenerse claro que una alta tasa de respiración microbiana no necesariamente significa un resultado positivo, ya que si el sistema evaluado no tiene un aporte adecuado de nutrientes, puede ocurrir pérdida de C que lleve a un empobrecimiento del mismo.

*Índice de mineralización.* Se refiere al cálculo de la cantidad de C- $\text{CO}_2$  que se relaciona con el **C total** de la material orgánica, de donde se obtiene la proporción de la MO que es lábil o mineralizable. Es decir, se calcula el **índice de mineralización** del suelo.

**e. Determinación de microartrópodos.** Los organismos del suelo se definen generalmente por su papel ecológico de “descomponedores”. Entre ellos la mesofauna, constituida por organismos que varían entre 0.1 y 2 mm, juega un papel importante en la transformación de la materia orgánica del suelo, el reciclaje de nutrientes de las plantas, y el mejoramiento de las propiedades físicas del suelo. La mesofauna incluye los ácaros, los colémbolos, los enquistados y los isópteros. Los ácaros y los colémbolos, llamados también “microartrópodos”, son típicos del sistema trófico llamada “mesotrofo”. De hecho, ellos son organismos confinados a los macroporos del suelo o al interior de los residuos orgánicos, ahí donde crecen de preferencia las poblaciones fúngicas.

La toma de muestras se realiza mediante un raspado de 5 cm de profundidad en un cuadro de 40 x 40 cm, como se explicó anteriormente. Los resultados se obtienen en 6 días. La identificación nos da una salida de colémbolos, ácaros, hormigas, etc. Se identifican con una clave dicotómica (grupos y cantidad). El

indicador final seleccionado de este grupo de variables estudiadas fue el *Total de familias microartrópodos*.

- f. Hongos endofíticos.** Son hongos que colonizan los tejidos internos de una planta sin causar ningún proceso patogénico en la misma. Cuando la colonización de los órganos y tejidos de la planta confiere una protección al ataque de patógenos, se les denominan Hongos Endofíticos Mutualistas. Existen numerosos trabajos de investigación en los cuales los hongos endofíticos han sido usados como agentes biológicos de control de patógenos de plantas, así como por generar procesos de inducción de resistencia. En el caso particular de banano, está bien documentado que hongos endofíticos pueden reducir significativamente la población de nematodos en el sistema radical, así como mejorar el peso radical y porcentaje de raíz funcional.

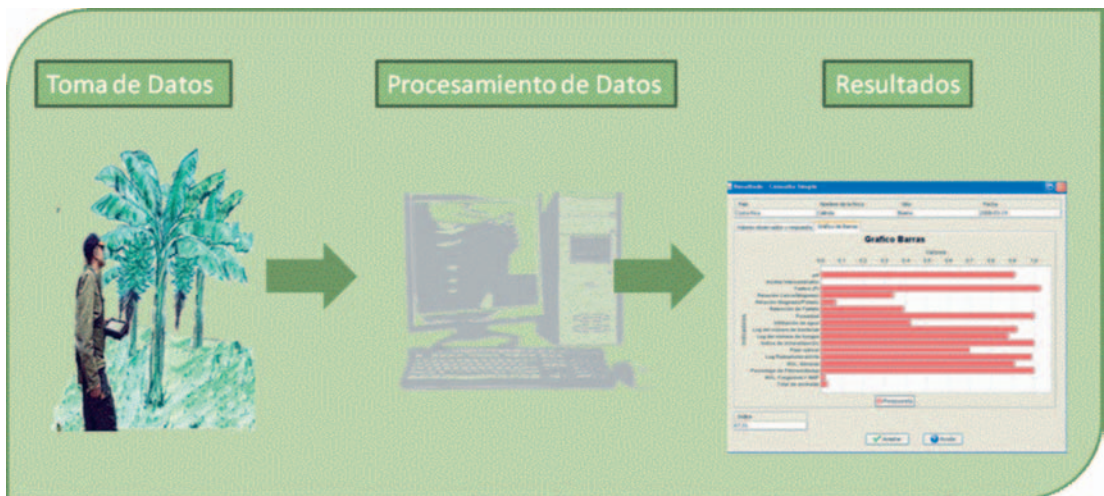
El aislamiento de los hongos endofíticos consiste en la selección de plantas superiores de las cuales se obtiene 10 g de raíces sanas, las cuales son sometidas a un proceso de esterilización superficial en Hipoclorito de Sodio al 2.5% por 3 minutos. Posteriormente, segmentos de raíces de 1 cm de longitud son disecados longitudinalmente y son cultivados en PDA al 10%. Con este protocolo se obtienen los datos para los indicadores finales *Trichoderma*, *Fusarium* y *Otros Hongos*. Más detalles del proceso de aislamiento se encuentran en el Anexo 1, Protocolo 17.

## ¿Como estimar el Índice de su finca?

### Sistema para el Diagnóstico de la Calidad y Salud de Suelos (SiDiCaSS)

Como un apoyo para productores de fincas medianas y grandes, técnicos de fincas bananeras, así como para extensionistas u otros agentes de cambio, usuarios principales de la Guía de Diagnóstico de Calidad y Salud de Suelos Bananeros, se desarrolló un software (**SiDiCaSS**) que realiza los cálculos necesarios para determinar el índice de la finca objeto del análisis.

En términos generales un usuario, luego de seguir los protocolos de la Guía de Diagnóstico y realizar los respectivos análisis de laboratorio y campo (ver protocolos en Anexo 1), obtendría un conjunto de datos los cuales podrán ser introducidos directamente en la computadora usando el programa **SiDiCaSS**. El software calculará automáticamente un conjunto de valores de respuesta para los datos observados y estimará el Índice de calidad y salud del suelo.



## ¿Que obtenemos al final del proceso?

Una vez instalado el programa **SiDiCaSS** en la computadora del usuario, el software permite realizar tres actividades principales:

### Realizar un diagnóstico nuevo

Cada vez que se necesite un *nuevo diagnóstico*, el usuario deberá ingresar los datos para realizar los cálculos necesarios y así poder obtener los valores de respuesta y el índice de calidad y salud del suelo para esa finca en particular. El programa utiliza como referencia y base de consulta, los datos de las fincas analizadas en el proyecto Innovaciones Tecnológicas para el Mejoramiento de la Calidad y Salud de Suelos Bananeros en América Latina, mencionados al inicio de este documento.

Dependiendo del país en que se encuentre la finca a ser diagnosticada, se utilizará un conjunto determinado de indicadores físicos, químicos y biológicos, conocido como CMD (Conjunto Mínimo de Datos), que comprende los datos mínimos requeridos para realizar el análisis. Si la finca de interés se encuentra en alguno de los países que participaron en el proyecto (Costa Rica, Panamá, República Dominicana y Venezuela) el usuario deberá utilizar el CMD que corresponda, ingresando únicamente los datos que conforman dicho CMD (Cuadro 1).

Por lo tanto, un usuario podría utilizar para el análisis de su finca un máximo de 17 indicadores en Costa Rica, 13 en Panamá y 11 en el caso de la República Dominicana y Venezuela. Cabe destacar que en la República Dominicana, aunque el número de indicadores es igual tanto para fincas de producción orgánica como para las de producción convencional, el conjunto CMD es diferente para cada situación.

Si la finca por diagnosticar se encuentra en un país distinto a los 4 antes mencionados, por ejemplo Ecuador, Honduras, Guatemala, otros, se utilizará un conjunto de 17 indicadores “esenciales”. Este sería el número mínimo de indicadores a ser utilizado y el programa no funcionará si no se ingresan todos los datos. Sin embargo, por ser un nuevo país del cual no se tiene referencias de este tipo de estudio, se recomienda “fuertemente” que además de estos 17 indicadores “esenciales” se utilicen también los 7 indicadores “altamente recomendados” y se le brinda además la posibilidad de incluir 4 indicadores más que puede seleccionar de una lista de 13 “opcionales” (Cuadro 2). En el caso de los indicadores “altamente recomendados” y “opcionales”, el programa le permite activar de 1 a 7 indicadores en el primer grupo y un máximo de 4 en el segundo grupo. Por lo tanto, en la situación de un país nuevo, el usuario podría utilizar en el análisis de su finca hasta un máximo de 28 indicadores (17 “esenciales”, 7 “altamente recomendados” y 4 “opcionales”).

Luego de identificar el CMD apropiado y de seguir fielmente cada uno de los protocolos para la colecta de muestras e información de campo, el usuario recibirá por parte del laboratorio un conjunto de datos, que deberá **introducir en el software tal y como se los proporciona el laboratorio**, salvo alguna indicación especial. Una vez introducidos los datos en el sistema, éste realizará los cálculos necesarios y obtendrá el conjunto de valores de respuesta, el Índice de calidad y salud de suelos para cada sitio (clasificado como bueno o pobre) de una finca, así como un Índice General de la misma. El programa identifica, como parte del proceso de cálculo del Índice, los factores críticos que más están afectando la producción y que serían las prioridades a solventar en un sistema de manejo de finca. Estos datos a su vez pasarán a ser parte de la base de datos de consulta que mantiene el software, lo cual quiere decir que el usuario podrá analizarlos posteriormente mediante una **consulta simple** o como parte de una **consulta múltiple**, como se explica más adelante.

Los índices calculados por el programa, tanto de la finca como de los sitios (bueno y pobre) dentro de una finca, tienen un valor entre 0 y 1, interpretándose el 1 como la mejor calidad y salud de dicho suelo. En el caso de una finca en particular, de un sitio dado o de un indicador específico, se interpreta que un valor superior a 0.5 es

Cuadro 2. Lista general de indicadores de calidad y salud de suelos utilizados por el SiDiCaSS.

INDICADORES	Esenciales (obligatorios)	Altamente recomendados	Opcionales
QUIMICOS			
pH	✓		
Acidez intercambiable		✓	
Calcio (Ca)	✓		
Potasio (K)			✓
Fósforo (P)	✓		
Cobre (Cu)			✓
Magnesio (Mg)			✓
Sodio (Na)			✓
Relación Ca/Mg			✓
Relación Ca/K			✓
Relación Mg/K	✓		
Porcentaje saturación Ca			✓
Materia Orgánica	✓		
Retención de fosfatos		✓	
FISICOS			
Porosidad		✓	
Infiltración del agua	✓		
Porcentaje de arena	✓		
Resistencia a la penetración	✓		
BIOLOGICOS			
Número de bacterias			✓
Número de hongos		✓	
Índice de mineralización	✓		
Peso radical	✓		
<i>Radopholus similis</i>	✓		
Número géneros nematodos de vida libre		✓	
Porcentaje fitonematosos	✓		
Suma nematodos de vida libre fungívoros y NAP			✓
Total animales microartrópodos			✓
Nematodos vida libre bacteriófagos	✓		
Nematodos vida libre (NVL) predadores			✓
Otros hongos	✓		
Respiración microbiana a los 10 días	✓		
<i>Helicotylenchus multicinctus</i>			✓
<i>Fusarium</i>		✓	
Total nematodos de vida libre	✓		
Biomasa de la materia orgánica		✓	
<i>Trichoderma</i>	✓		
Total familias microartrópodos			✓

aceptable y que todo lo que esté bajo este valor necesita acción inmediata para su recuperación.

### Realizar una consulta simple

Mediante una *consulta simple* el usuario podrá ver la información correspondiente a una finca (sitios bueno y pobre) en una fecha determinada. El software le permitirá ver los valores observados para cada uno de los indicadores correspondientes, los valores de respuesta a dichos valores observados, así como el índice de calidad y salud del suelo de la finca y de cada sitio (B y P).

Esta funcionalidad le permite al usuario, además de poder visualizar los resultados de su finca, consultar los resultados obtenidos en cada una de las fincas (sitios bueno y pobre) involucradas en el proyecto “*Innovaciones Tecnológicas para el Mejoramiento de la Calidad y Salud de Suelos Bananeros en América Latina*”. Así el software sirve como una base de datos de consulta inicialmente con 38 fincas, cada una dividida en sitio bueno y pobre, por lo que el usuario estará en capacidad de consultar un total de 76 índices (38 x 2) con sus respectivos valores de respuesta.

Toda esta información se presenta en forma numérica, pero además, se proporciona un gráfico de barras para los valores de respuesta, como se observa a continuación.

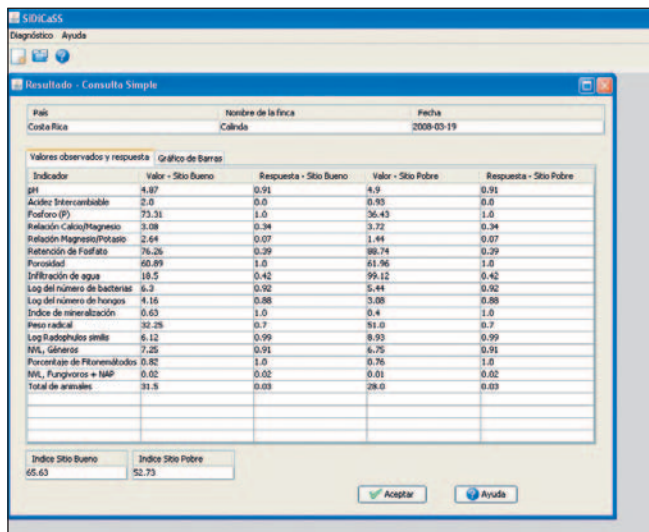


Figura 7. SiDiCaSS, hoja de resultados, consulta simple.

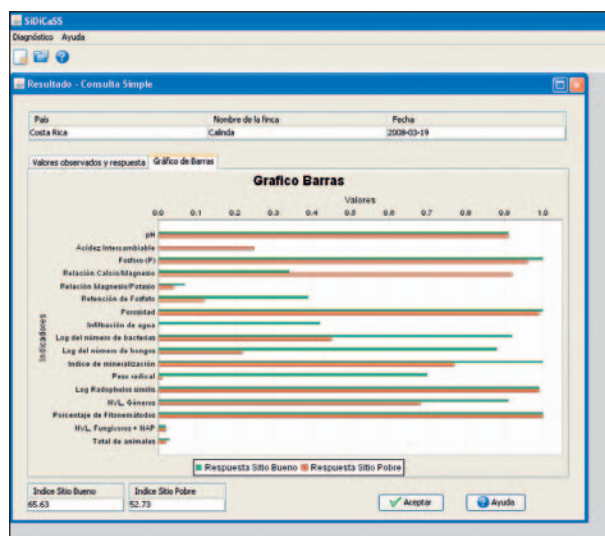


Figura 8. SiDiCaSS, gráfico de barras, consulta simple.

## Realizar una consulta múltiple

En la modalidad de consulta múltiple, el usuario puede analizar la información de una misma finca en hasta 7 diferentes momentos (fechas). Esto es importante para poder visualizar los cambios o mejoras en el índice de una finca, índice de cada sitio (Bueno y Pobre), o de cada uno de los factores críticos, a través del tiempo.

Además el programa brinda la posibilidad de consultar diferentes fincas, hasta un máximo de siete a la vez, visualizando en forma separada el Índice general, así como el Índice de calidad del suelo para los sitios de producción “buena” y “pobre”. Al igual que en la modalidad de Consulta Simple, el programa permite visualizar también cada uno de los factores críticos en ambos sitios (B y P) de 7 fincas a la vez. Para esto el software proporciona gráficos de barras comparativas tal y como se puede apreciar en la Figura 10.

Esta última modalidad es muy útil para extensionistas o agentes de cambio que atienden varios productores a la vez, ya que les permite comparar efectos del uso de ciertas tecnologías o productos sobre el comportamiento de un indicador en particular.

En resumen podemos indicar que en el modo de consulta múltiple, el usuario tiene las opciones de:

- Comparar el índice general de una finca en 7 diferentes fechas.
- Comparar el índice de ambos sitios (Bueno y Pobre) de una misma finca para 7 diferentes fechas.
- Realizar comparaciones por factor crítico (indicadores) de una finca en 7 diferen-

tes fechas.

- Comparar el índice general de 7 diferentes fincas.
- Comparar el índice de ambos sitios (Bueno y Pobre) de 7 diferentes fincas.
- Realizar comparaciones por factor crítico de 7 diferentes fincas.

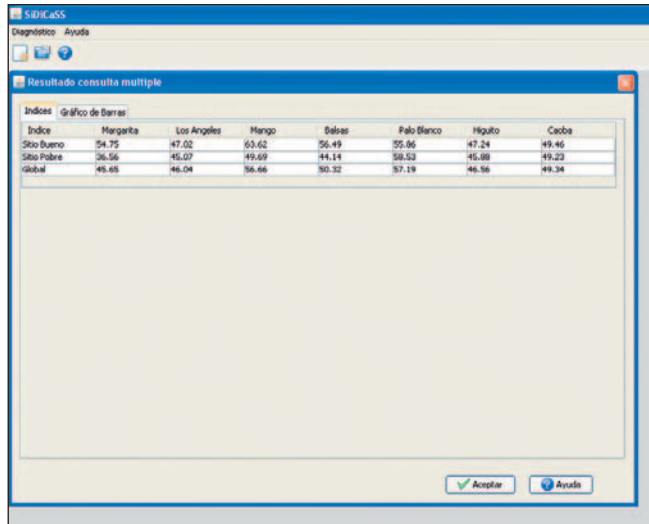


Figura 9. SiDiCaSS, hoja de resultados, consulta múltiple.

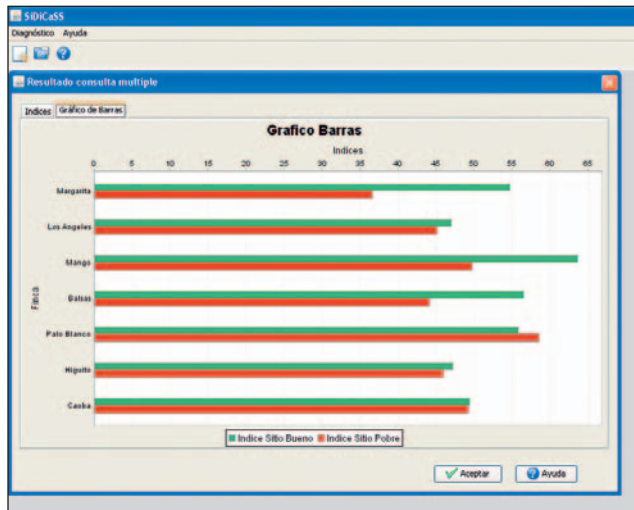


Figura 10. SiDiCaSS, gráfico de barras, consulta múltiple.

### ***Disponibilidad***

El software es un producto sin fines comerciales o un “Bien Publico Regional”, por lo que está disponible de forma gratuita para todas las personas que lo consideren de utilidad, sean dueños de fincas, capataces o administradores de fincas, extensionistas, otros.

Este software es del tipo aplicación de escritorio, es decir, se instala en la computadora del usuario y se ejecuta en la misma. El software ha sido desarrollado sobre la plataforma Java SE 6, por lo que además de poder utilizarse en computadoras con el sistema operativo Microsoft Windows, puede ejecutarse también en computadoras con el sistema operativo UNIX y el resto de sus variantes (Linux, Solaris, etc.)

### ***Guía del usuario***

El software (CD adjunto) cuenta con una guía para el usuario, donde podrá encontrar información detallada (paso a paso) de cómo utilizarlo y de cómo aprovechar al máximo cada una sus funcionalidades. Dicha guía está incluida en el paquete de instalación por lo que todos los usuarios podrán tener acceso a ella.

## 6. Bibliografía y lecturas recomendadas

- ALEF, K. and NANNIPIERI, P. (1995). *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. Academic Press, London.
- ANDERSON, J. P. and DOMSCH, K. H. (1975). Measurement of bacterial and fungal contribution to respiration of selected agricultural and forest soils. *Canadian Journal of Microbiology*, 21: 314-322.
- ARAYA, M., CENTENO, M. y CARRILL, W. (1999). Metodología para la extracción de nematodos de las raíces de banano (*Musa sp. AAA*). CORBANA. Guía de laboratorio. 16 p.
- ATLAS, R. and BARTHA, R. (2002). *Ecología microbiana y microbiología ambiental*. 2ª ed. Trad. Español. Addison Wesley, Madrid. pp 250-261.
- BOUYOUCOS, G.L. (1951). Recalibration of hydrometer method for making mechanical analysis of soil. *Agronomy Journal*, 43(9):434-438.
- BROOKES, P., LANDMAN, A., PRUDEN, G. and JENKINSON, I. (1985). Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen. A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology Biochem.* 17: 837-842.
- DORAN, J.W. and PARKIN, T.B. (1994). Defining and assessing soil quality. *In: Defining Soil Quality for a sustainable Environment*. Doran, J.W., Coleman, D.C. Bezdicek, D.F., and Steward, B.A. (eds). Soil Science Society of America, Inc., Madison, pp. 3-21.
- DORAN, J. W., COLEMAN, D. C., BEZDICEK, D. F. and STEWART, B. A. (1994). Defining soil quality for a sustainable environment. SSSA Sp. Pub. 35, Madison. 244 p.
- DORAN J. W. and JONES, A. J. (eds). (1996). *Methods for assessing soil quality*. Soil Science Society of America, Inc. Madison, USA. Pub. 49, 410 p.
- FAO. (2004). Faostat. Estadísticas sobre la productividad, área sembrada y rendimientos de bananos en Latinoamérica. [www.faostat.fao.org](http://www.faostat.fao.org).
- GARCÍA, C., GIL-SOTRES, F., HERNÁNDEZ, T. y TRASAR-CEPEDA, C. (2003). Técnicas de análisis de parámetros bioquímicos en suelos: medida de actividades enzimáticas y biomasa microbiana. Mundi-Prensa, Madrid. 371 p.
- GAUGGEL, C.A., SIERRA, F., and ARÉVALO, A. (2003). The problems of banana root deterioration and their impact on production: production experience in Latin America. *In: Turner D.W. and F.E. Rosales (eds). 2005. Banana Root System: towards a better understanding for its productive management: Proceedings of an international symposium/Sistema radical del Banano: hacia*

un mejor conocimiento para su manejo productivo: Memorias de un simposio internacional. International Network for the Improvement of Banana and Plantain, Montpellier, France. INIBAP ISBN: 2-910810-61-5.

- GREGORICH, E., WREN, G., VSZONEY, P. and KACHANOSKY, R. (1990). Calibration of a rapid direct chloroform extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology Biochem.* 22:1009-1011.
- JENKINSON, D. S. and LADD, J. N. (1981). Microbial biomass in soils: measurement and turnover. *In: E. A. Paul & J. N. Ladd (eds), Soil Biochemistry Vol. 5.* Marcel Dekker, New York, pp. 415-417.
- MALDENKE, A. (1994). Arthropods. *In: Methods of soil analysis. Part 2: Microbiological and biochemical properties.* R. Weaber *et al.* (eds) Soil Science Society of America Madison, WI. P. 517-527.
- McBRIDE, M. B. (1994). *Environmental chemistry of soils.* Oxford University Press, New York, pp. 308-318.
- MENÉSES, A., POCASANGRE, L.E., SOMARRIBA, E., RIVEROS, A.S., y ROSALES, F.E. (2003). Diversidad de hongos endofíticos y abundancia de nematodos en plantaciones de banano y plátano de la parte baja de los territorios indígenas de Talamanca. *Agroforestería de las Américas.* 10(37):59-62.
- NANNIPIERI, P. C. (1984). Microbial biomass and activity measurements in soil: ecological significance. *Curr. Persp. Microb. Ecol.,* Washington, D. C. 515-521 pp.
- NATIONAL SOIL SURVEY CENTER (NSSC). (1996). Indicators for Soil Quality Evaluation. Soil Quality Information Sheet. USDA. Natural Resources Conservation Service, Washington, D.C.
- NEHER, D.A. (2002). Role of nematodes in soil health and their use as indicators. *Journal of Nematology,* 33(4):161-168.
- NIELSEN, M.N and WINDING, A. (2002). Microorganisms as Indicators of Soil Health. National Environmental Research Institute NERI, Denmark. Technical Report No. 388.
- ODUM, E. (1985). Trends expected in stressed ecosystems. *BioScience,* 35: 419-422.
- ROSALES, F.E., POCASANGRE, L.E., TREJOS, J., SERRANO, E., ACUÑA, O., SEGURA, A., DELGADO, E., PATTISON, P., RODRÍGUEZ, W. y STAVER, C. (2006). Guía para el Diagnóstico de la calidad y la salud de suelos bananeros. XVII Reunión Internacional de ACORBAT. 15-20 de octubre, 2006. Joinville-Santa Catarina, Brasil.

- ROSS, S. (1989). Soil processes: a systematic approach. Chap. & Hall, London. 39-45, 62-80 pp.
- PANKHURST, C.E., DOUBE, B.M. and GUPTA, V.V.S.R. (1997). Biological indicators of soil health: Synthesis. *In: Biological indicators or Soil Health*. Pankhurst, C.E., Doube, B.M. and Gupta, V.V.S.R. (Eds). CAB International, 419-435.
- PARKINSON, D. *et al.* (1994). Filamentous Fungi. *In: Methods of soil analysis. Part 2: Microbiological and biochemical properties*. R. Weeber *et al.* (eds) Soil Science Society of America. Madison, WI p. 329-335.
- PATTISON, T., SMITH, L., MOODY, P., ARMOUR, A., BADCOCK, K., COBON, J. RASIAH, V., LINDSAY, S. and GULLINO, L. (2003). Banana Root and Soil Health Project – Australia. *In: Turner D.W. and F.E. Rosales (eds). 2005. Banana Root System: towards a better understanding for its productive management: Proceedings of an international symposium/Sistema radical del Banano: hacia un mejor conocimiento para su manejo productivo: Memorias de un simposio internacional. International Network for the Improvement of Banana and Plantain, Montpellier, France. INIBAP ISBN: 2-910810-61-5. p. 67-72.*
- PATTISON, T., BADCOCK, K., LINDSAY, S. ARMOUR, A., VELUPILLAI, R., MOODY, P., SMITH, L., GULLINO, L. and COBON, J. (2004). Banana root and soil health project – field workbook. Department of Primary Industries and Fisheries, Queensland, Australia. 15 p.
- POCASANGRE, L.E., SIKORA, R.A., VILICH, V. and SCHUSTER, R-P. (2000). Survey of banana endophytic fungi from Central America and screening for biological control of *Radopholus similis*. *Acta Horticulturae*, 531: 283-289.
- POCASANGRE, L.E. (2002). Mejoramiento biológico de vitroplantas de banano mediante la utilización de hongos endofíticos para el control del nematodo barrenados (*Radopholus similis*). 33-39 pp. *In: Memorias Taller Inducción de Resistencia y uso de tecnologías limpias para el manejo de plagas en plantas*. Riveros, A.S. y Pocasangre, L.E. (eds). 27-30 agosto. CATIE, Turrialba, Costa Rica.
- PORTA, J., LÓPEZ, M. y ROQUERO, C. (2003). Edafología: para la agricultura y el medio ambiente. 3ª edición, Mundi-Prensa. Madrid, España.
- SERRANO, E. (2003). Relación entre los contenidos de raíz funcional y la productividad de banano en Costa Rica. *In: Turner D.W. and F.E. Rosales (eds). 2005. Banana Root System: towards a better understanding for its productive management: Proceedings of an international symposium/Sistema radical del Banano: hacia un mejor conocimiento para su manejo productivo: Memorias de un simposio internacional. International Network for the Improvement of Banana and Plantain, Montpellier, France. INIBAP ISBN: 2-910810-61-5. p. 28.*

- SHANNON, C. and WEAVER, W. (1949). The mathematical theory of communication. University of Illinois Press, Urbana, Illinois, USA.
- STEVENSON, F. J. (1991). Organic matter-micronutrient reactions in soil. *In: Micronutrients in agriculture*, 2nd edition, SSSA Book series, N° 4. Ch. 6. USA. 145-186 pp.
- TARTE, R. L. (2000). Soil microbiology. 2nd ed. John Wiley & Sons, New York, USA.
- TRASAR, M. C., LEIRÓS, M. C. and GIL, F. (2000). Biochemical properties of acid soils under climax vegetation (Atlantic Oakwood) in an area of the European temperate humid zone (Galicia, NW Spain): Specific parameters. *Soil Biology & Biochemistry*, 32: 747-755.
- TORSVIK, V., SORHEIM, R. and GOKSOYR, J. (1996). Total bacteria diversity in soil and sediment communities – A review. *Journal of Industrial Microbiology* 17:170-178.
- TURNER D.W. and F.E. ROSALES (eds). (2005). Banana Root System: towards a better understanding for its productive management: Proceedings of an international symposium/Sistema radical del Banano: hacia un mejor conocimiento para su manejo productivo: Memorias de un simposio internacional. International Network for the Improvement of Banana and Plantain, Montpellier, France. INIBAP ISBN: 2-910810-61-5.
- WHITE, R. E. (1997). Principles and practice of soil science: the soil as a natural resource. 3rd ed. Blackwell Science, U. K., pp. 126-221.
- USDA. (2004). Soil Guide. <http://soils.usda.gov>.
- ZUBERER, D. (1994). Recovery and enumeration of viable bacteria. *In: Methods of soil analysis. Part 2: Microbiological and biochemical properties.* R. Weaver *et al.* (eds) Soil Science Society of America Madison, WI p. 119-133.

## 7. Glosario

### Indicadores químicos

#### Acidez intercambiable (EA)

Hidrógeno  $[H^+]$  y aluminio  $[Al^{+3}]$  intercambiables retenidos en los coloides del suelo por fuerzas electroestáticas.

#### Bases intercambiables (Ca, Mg y K)

Ca= calcio, Mg= magnesio y K= potasio, son los cationes de intercambio en el suelo extraídos en la solución Mehlich 3, que representa la fracción intercambiable para las plantas de estos elementos que es distinto a la fracción soluble en agua en pasta saturada.

#### Materia orgánica total

Es el porcentaje total del material orgánico oxidable del suelo obtenido por el método de digestión húmeda. La materia orgánica también se puede expresar como carbono orgánico total (MO = C-total x 1.724).

#### P y Cu

P= fósforo (fosfato  $P_2O_5$ ) Cu= cobre (catión) extraídos en la solución Mehlich 3

#### pH del suelo

$$\text{Potencial del Hidrógeno} = \log \frac{1}{[H^+]}$$

El pH del suelo es una medida de la acidez o alcalinidad y está determinada por la actividad del catión  $[H^+]$  y el anión  $[OH^-]$  en el suelo. Afecta la disponibilidad de nutrientes para la planta, la actividad de microorganismos, y la solubilidad de minerales en el suelo. Los principales factores que lo modifican son la temperatura y la intensidad de la lluvia quienes influyen la lixiviación y la mineralización de los suelos. La acidez es generalmente asociada con tierras lixiviadas; la alcalinidad generalmente ocurre en regiones secas. Algunas prácticas agrícolas como encalado o adición de fertilizantes amoniacales alteran el pH del suelo.

#### Relaciones entre bases intercambiables (Ca/Mg, Mg/K y Ca/K)

Son cocientes aritméticos entre las bases intercambiables en el suelo, Ca/Mg= relación calcio/magnesio, Mg/K= relación magnesio/potasio y Ca/K= relación calcio/potasio.

#### Retención de fosfatos

Es el porcentaje de fosfatos retenidos en los coloides del suelo, haciendo pasar una solución de concentración conocida ( $1000 \text{ mg L}^{-1}$ ) de fosfatos por una colum-

na de suelo.

## **Indicadores físicos**

### **Infiltración de agua**

Es la entrada de agua en el suelo; ocurre en la superficie del suelo y tiene dirección vertical hacia abajo. La velocidad de infiltración determina la cantidad de agua de escurrimiento superficial y con ello el peligro de erosión hídrica.

### **Porosidad**

Es el índice del volumen relativo de poros en el suelo. Se determina por la ecuación:  $n=100*(1-(\text{densidad aparente}/\text{densidad real}))$ .

### **Porcentaje de arena**

Es uno de los componentes de la textura del suelo (los otros dos son el limo y la arcilla), corresponde a las partículas cuyo diámetro oscila entre 0.05 a 2.0 mm.

### **Resistencia de penetración (compactación)**

La resistencia de penetración es una medida de la facilidad con la que un objeto puede introducirse al suelo. Da una indicación del impedimento de las raíces para penetrar las capas del suelo y puede usarse para comparar tipos de suelo o fincas, también puede usarse por determinar zonas de compactación o capas de suelo muy denso.

La compactación de los suelos es causada principalmente por pisoteo de animales, uso de maquinaria y tráfico de trabajadores. La resistencia de penetración depende fuertemente de la humedad del suelo; por consiguiente la humedad de suelo debe anotarse al tomar una medida. La resistencia de penetración es mejor determinada cuando la tierra está en capacidad del campo.

## **Indicadores biológicos**

### **Actinomiceto**

Grupo de bacterias que forman filamentos ramificados, responsables generalmente de la nitrificación de la materia orgánica del suelo.

### **Actividad microbiana**

Es el conjunto de procesos metabólicos de las poblaciones microbianas en el suelo.

### **Agente biológico de control**

Microorganismo usado como supresor de un patógeno en cuestión.

## **Aislamiento**

Separación de un patógeno de su hospedante y cultivado en un medio de cultivo.

## **Cepa**

Progenie de un aislamiento en un cultivo puro.

## **Cepa no patogénica de *Fusarium***

Es un aislamiento del hongo *Fusarium* que no produce un proceso patogénico en la planta huésped. Normalmente las cepas no patogénicas son antagonistas de patógenos del suelo.

## **Hongos endofíticos**

Son hongos que colonizan los órganos internos de una planta sin causar daños visibles en el huésped.

## **Hongos endofíticos mutualistas**

Grupo de hongos que cuando colonizan los órganos de la planta huésped, le confiere una resistencia al ataque de patógenos o de un factor abiótico adverso.

## **Índice**

Cálculo que relaciona dos o más parámetros que indicarán un comportamiento o condición determinada.

## **Materia orgánica lábil**

Es la proporción de carbono fácilmente mineralizable de la materia orgánica, mediante la actividad microbiana.

## **Mineralización**

Procesos de transformación de compuestos orgánicos a formas inorgánicas o asimilables, mediante la acción de microorganismos sobre el sustrato orgánico.

## **Necrosis**

Tejido u órgano muerto o podrido debido a la acción de un patógeno.

## **Nematodos fitoparásitos**

Son animales pluricelulares que normalmente son microscópicos y se alimentan de la planta hospedera. Dependiendo de su hábito parasitario se clasifican en endoparásitos y ectoparásitos.

### **Nematodos de vida libre**

Son nematodos que viven en el suelo y participan en el reciclaje de nutrientes y dependiendo de su hábito alimentario se clasifican en: fungívoros, bacterívoros, omnívoros, predadores y fitoparásitos.

### **Nematodos asociados a plantas**

Son nematodos que han sido relacionados con una planta hospedera, pero que no causan daños severos como los fitoparásitos.

### **Peso radical**

Es el peso del sistema radical de una muestra extraída de una planta y expresado en gramos. Es un término algunas veces usado como sinónimo de Raíz Total.

### **Raíz funcional**

Es el porcentaje de raíces que cumplen con su función fisiológica de anclaje, absorción de nutrientes, transporte de agua y minerales, y normalmente no presentan mayores daños causados por patógenos.

### **Rizósfera**

Se refiere al suelo que está circunscrito o adherido a las raíces y es la región donde se produce la mayor actividad microbiológica, la interacción suelo-planta-microorganismos y donde se liberan sustancias que pueden ejercer supresión de patógenos y/o promoción de crecimiento de la planta.

### **Saprófito**

Organismo que obtiene sus nutrimentos de materia orgánica muerta o en proceso de descomposición. Los organismos saprófitos, normalmente no causan eventos patogénicos.

# ANEXO 1

## Contenido

PROTOCOLO 1. Encuesta sobre nivel tecnológico y manejo agronómico de las fincas.....	43
PROTOCOLO 2. Metodología para estimar la productividad potencial (vigor o frondosidad) de una plantación de banano .....	48
PROTOCOLO 3. Determinación en el suelo de Ca, Mg, K, P, Fe, Cu, Zn, Mn, y Na extraíbles en Mehlich 3 .....	51
PROTOCOLO 4. Determinación de pH en una muestra de suelo con una relación 1: 2.5 agua/suelo.....	52
PROTOCOLO 5. Determinación de retención de fosfatos.....	52
PROTOCOLO 6. Determinación de acidez y aluminio en suelos .....	53
PROTOCOLO 7. Determinación de densidad aparente, densidad de partículas y porosidad.....	54
PROTOCOLO 8. Determinación de la infiltración básica en una plantación establecida de banano .....	56
PROTOCOLO 9. Determinación de la materia orgánica en el suelo... ..	57
PROTOCOLO 10. Método de Bouyoucos .....	58
PROTOCOLO 11. Determinación de la resistencia a la penetración.....	58
PROTOCOLO 12. Determinación de poblaciones de microorganismos del suelo mediante técnicas de recuento directo .....	59
PROTOCOLO 13. Cantidad y actividad metabólica de los microorganismos.....	62
PROTOCOLO 14. Respiración microbiana del suelo.....	66
PROTOCOLO 15. Extracción de nematodos de las raíces del banano .....	73
PROTOCOLO 16. Extracción de nematodos del suelo .....	75
PROTOCOLO 17. Aislamiento de hongos endofíticos del sistema radical del banano .....	76
PROTOCOLO 18. Determinación de microartrópodos del suelo .....	78

# PROTOCOLO 1

## Encuesta sobre nivel tecnológico y manejo agronómico de las fincas

**Objetivo:** Recopilar información histórica sobre el nivel tecnológico y manejo agronómico de las fincas bananeras que contribuya a identificar factores limitantes de la producción.

### Nivel de información y selección del entrevistado

La información debe incluir datos históricos de los últimos tres años (como mínimo) y debe ser suministrada preferiblemente por el propietario de la finca, el gerente de producción u otro nivel de jerarquía, siempre y cuando se asegure que es la persona que tiene información precisa sobre el manejo de la finca.

*Nota: Este fue el formato usado por el proyecto y sirve aquí únicamente como un ejemplo en caso de que su uso sea necesario.*

### 1. Objetivo productivo de la finca

Actividad económica	Seleccione
Producción convencional para el mercado internacional	
Producción convencional para el mercado local	
Producción orgánica para el mercado internacional	
Producción orgánica para el mercado local	
Ninguna de las anteriores	
Indicar:	

### 2. Cultivar y años de cultivo

Cultivares	Edad de la plantación	Área (ha)

**3. Datos históricos sobre el suelo** (únicamente marcar lo que está disponible)

Información disponible	Indicar tipo y disponibilidad
Mapa semi-detallado de capacidad de uso del suelo	
Mapa detallado de capacidad de uso del suelo	
Mapa con ubicación de infraestructura de riego y drenaje	
Sistema de muestreo de suelos para determinar la fertilidad	
Datos históricos de los análisis químicos de los suelos	
Sistema de muestreo foliar para determinar el nivel nutricional	
Datos históricos de los análisis foliares	

**4. Historial climático de la finca** (si es posible, obtenga los valores climáticos de temperatura y precipitación semanal de los últimos tres años. Esta información es para análisis en la oficina y no para llenar la encuesta)

Indicador	Valor
Zona de vida (Holdridge)	
Temperatura máxima (grados Celsius)	
Temperatura mínima	
Temperatura promedio	
Precipitación promedio anual (mm)	
Radiación global (indicar unidad)	
Otros:	

**5. Indicadores de productividad** (si se usa más de un cultivar en forma sistemática, con áreas definidas y no en mezcla, llenar esta sección tantas veces como sea necesario)

Indicador	Valor
Cultivar	
Población (plantas/ha)	
Número de manos por racimo (sin desmane)	
Peso del racimo (kg)	
Velocidad de retorno	
Tasa de floración por semana	
Recobro (%)	
Principales fuentes de desperdicio	
Cajas/racimo	
Producción por hectárea (indicar unidad)	

**6. Manejo de la fertilidad del suelo**

Indicador	Si	No	Fórmula	Ciclos/ año	Kg/ha/año
Fertilizantes					
Fertilizantes foliares					
Materia orgánica (indicar tipo)					
Encalado					
Otros:					

## 7. Manejo fitosanitario

Indicador	Si	No	Ingrediente activo/ha	Ciclos/ año	Kg/ha/año
Fungicidas sistémicos					
Fungicidas protectores					
Herbicidas pos-emergentes					
Herbicidas pre-emergentes					
Nematicidas organofosforados					
Nematicidas carbamatos					
Insecticidas					
Insecticidas en fundas					
Plaguicidas orgánicos					
Prácticas culturales de manejo de enfermedades					
Prácticas culturales de manejo de insectos					
Prácticas culturales de manejo de malezas					
Prácticas culturales de manejo de nematodos					

## 8. Manejo de agua

Riego y drenaje	Indicar el tipo
Sistema de riego	
Sistema de drenaje	
Fuente del agua para el riego	
Dispone información sobre la calidad del agua. Indicar factores críticos si los hay	

## 9. Cosecha y empaque

Sistema	Indicar
Método para estimar la cosecha	
Momento de realizar el desmane	
Tipo de desmane	
Utiliza desflore en el campo	
Efectúa “desdede” del racimo	
Cuántas manos “desdeda”	
Momento de realizar el desbacote o desbellote	
Utiliza esponjas entre las manos	
Utiliza “daipas”	
Cómo acarrea la fruta hasta la empacadora	
Cuál es la edad de cosecha	
Cuál es el grosor mínimo de corta del dedo central de la segunda mano	
Cuál es el grosor mínimo de corta del dedo central de la última mano	
Cuál es el largo mínimo de corta del dedo central de la segunda mano	
Cuál es el largo mínimo de corta del dedo central de la última mano	

## **Protocolo 2**

### **Metodología para estimar la productividad potencial (vigor o frondosidad) de una plantación de banano**

#### **Materiales necesarios**

1. Una cinta métrica de 50 m de longitud
2. Un contador manual
3. Estacas de madera de 1m de altura
4. Una regla de campo para medir la altura de las plantas
5. Una cinta métrica de sastre
6. Una sección de piola o cordel de 200 m de largo
7. Una tabla de campo
8. Pintura de spray
9. Lápices

#### **Destrezas necesarias del personal que realiza el trabajo**

1. Habilidad para realizar estimación de la densidad poblacional.
2. Habilidad para realizar el recuento del número de manos de un racimo en la planta.

#### **Metodología**

1. Con las indicaciones del productor se seleccionan (si es una persona ajena a la propiedad, por ejemplo agente de extensión o técnico de servicios agropecuarios) dos sitios de la finca, una representando “buena” productividad o vigor y la otra “pobre” productividad.
2. Cada sitio (buena y pobre productividad) será dividido en áreas de muestreo de aproximadamente 1 hectárea; el número dependerá del tamaño de la finca. En el caso que las fincas a estudiar tengan un tamaño menor al de 10 hectáreas, se recomienda únicamente tomar un área de muestreo en el sitio “bueno” y uno en el sitio “pobre”. En fincas de 10 a 25 hectáreas, se recomienda dos áreas de muestreo por sitio. Si la finca tiene entre 26 a 50 hectáreas, se harían 3 áreas por sitio “bueno” y 3 por sitio “pobre”. Fincas con más de 50 hectáreas se diagnosticarían con 4 puntos de muestreo en los sitios de producción buena y 4 en los de pobre producción o vigor.

3. En cada área de muestreo trace una sub-parcela de 1000 m<sup>2</sup> ya sea en forma cuadrada o rectangular, marque sus vértices con estacas y con una cuerda trace el perímetro de la sub-parcela.
4. Realice un recuento del total de las plantas presentes en la sub-parcela seleccionada utilizando un contador manual y colocando etiquetas adhesivas, pintura o bien sellos de banano en cada planta en la medida que estas sean contabilizadas. Esta etiqueta deberá ser colocada en el pseudotallo de las plantas y siempre en dirección al cable o bien hacia un punto cardinal fijo, a efecto de poder verificar en forma sencilla que todas las plantas hayan sido contadas. Puede usar cualquier otro método de conteo de plantas según su preferencia.

Calcule la población del área multiplicando el número de plantas encontrados en la sub-parcela por 10. Anote el dato en el formato provisto para este propósito (ver más adelante).

*Nota 1: Este es un solo número por sub parcela; los siguientes datos son medidas de hasta 20 plantas por sub parcela.*

5. En cada sub-parcela identifique veinte plantas con racimos a ser cosechados en las próximas tres semanas (tres colores de cinta). No es recomendable considerar edades de racimos que estén siendo cosechados en la semana que se realiza el pre-diagnóstico, toda vez que algunas de esas frutas pudieron haber sido cosechadas antes de la evaluación.
6. De cada una de las veinte plantas señaladas en el punto anterior, haga un recuento del número de manos por racimo, mida la circunferencia del pseudotallo de la planta madre a un metro de altura sobre la superficie del suelo, y la altura del hijo de sucesión (al frente del mismo y realizando la medida desde el nivel del suelo hasta la inserción del pseudopecíolo de la última hoja expandida con la hoja candela). Estas tres variables nos darán el estimado de vigor o productividad del área de estudio ya que están altamente correlacionadas con la producción *per se*.

*Nota 2: En caso de que no sea posible obtener las veinte plantas en la sub-parcela puede utilizar plantas circunvecinas ubicadas fuera del área.*

7. Obtenga el grado de vigor o frondosidad de acuerdo con los siguientes criterios:

Parámetro	Frondosidad		
	Baja	Media	Alta
Número de manos por racimo	< 6	6-8	> 8
Circunferencia del pseudotallo	< 80 cm	80-90 cm	> 90 cm
Altura del hijo	< 2.0 m	2.0 a 2.5 m	> 2.5 m

### Ejemplo de Cuadro para toma de datos de Vigor o Frondosidad

Tipo de Vigor o Frondosidad 1=Alta 2=Baja

Planta	Repetición	Tipo de vigor	Número manos	Circ. madre	Altura de hijo
1	1	1			
2	1	1			
3	1	1			
4	1	1			
5	1	1			
6	1	1			
7	1	1			
8	1	1			
9	1	1			
10	1	1			
11	1	1			
12	1	1			
13	1	1			
14	1	1			
15	1	1			
16	1	1			
17	1	1			
18	1	1			
19	1	1			
20	1	1			

## PROCOLO 3

### Determinación en el suelo de Ca, Mg, K, P, Fe, Cu, Zn, Mn, y Na extraíbles en Mehlich 3

#### Materiales

1. Equipo Hunter de Extracción (Custom Laboratories) incluyendo extractor y bandejas
2. Equipo de plasma Optima 3000 de Perkin Elmer
3. Solución extractora Mehlich 3 (0.2 M  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , 0.25 M  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , 0.015 M  $\text{NH}_4\text{F}$ , 0.013 M  $\text{HNO}_3$ , 0.001 M EDTA)
4. Patrón que incluya concentraciones conocidas de Ca, Mg, K, P, Fe, Cu, Zn, Mn y Na en una matriz de Mehlich 3
5.  $\text{HNO}_3$  1% (solución limpiadora)
6. Molino de suelos con tamiz de 2 mm

#### Metodología

La muestra de suelo se seca a 45 °C hasta peso constante. Posteriormente se muele y se tamiza utilizando una malla que permita un tamaño de partícula máximo de 2 mm. Se colocan 2.5 ml de suelo en uno de los recipientes de la bandeja de extracción. Posteriormente se agregan 25 ml de la solución Mehlich 3, se agita por 5 minutos y se filtra. Al filtrado sin diluir se le determinan los elementos deseados en un equipo de plasma.

Este protocolo, además de darnos la información de todos los elementos aquí mencionados, nos permite calcular las *relaciones Ca/Mg, Ca/K, Mg/K y % de saturación de Ca*.

#### Referencia

- MEHLICH, A. (1984). Mehlich 3 Soil test extractant: A modification of Mehlich 2 ex-tractant. Communications in Soil Science Plant Analysis 15(12) pp 1409-1416.

## **PROTOCOLO 4**

### **Determinación de pH en una muestra de suelo con una relación 1: 2.5 agua/suelo**

#### **Materiales y equipo**

1. Agitador horizontal
2. Bandeja de extracción
3. Medidor de pH (“Peachímetro”)
4. Agua desionizada como solución extractora
5. Soluciones buffer pH 4 y pH 7
6. Molino de suelos con tamiz de 2mm

#### **Metodología**

La muestra de suelo se seca a 45 °C hasta peso constante. Posteriormente se muele y se tamiza utilizando una malla que permita un tamaño de partícula máximo de 2 mm. Con una cuchara se colocan 10 ml de suelo en la bandeja extractora y se le agregan 25 ml de agua desionizada. Se agita durante 5 minutos a 100 ciclos por minuto. Se deja descansar por 20 minutos. Se agita brevemente y se lee el pH.

#### **Referencia**

ROMEU-DÍAZ, R. y HUNTER, A. (1978). Metodología de muestreo de suelos, análisis químico de suelos y tejido vegetal y de investigaciones en invernadero. Turrialba, Costa Rica: CATIE. 62 p.

## **PROTOCOLO 5**

### **Determinación de retención de fosfatos**

En este caso, por razones de espacio, se identifica únicamente la cita bibliográfica del proceso indicado.

BLAKEMORE, L.C., SEARLE, P.L. and DALY, B.K. (1981). Methods for chemical analysis for soils. New Zealand Soil Bureau Scientific report 10<sup>a</sup>.

## PROCOLO 6

### Determinación de acidez y aluminio en suelos

#### Materiales

1. Agitador horizontal
2. Bandeja de extracción
3. KCl 1 M como solución extractora
4. Fenolftaleína
5. KF 4 %
6. NaOH 0.01 M
7. HCl 0.01 M
8. Molino de suelos con tamiz de 2mm

#### Metodología

La muestra de suelo se seca a 45 °C hasta peso constante. Posteriormente se muele y se tamiza utilizando una malla que permita un tamaño de partícula máximo de 2 mm. Con una cuchara especial se miden 2.5 ml de suelo y agregue 25 ml de KCl 1M. Se agita durante 30 minutos a 200 ciclos por minuto, se deja reposar por 10 minutos y se filtra.

Del extracto en KCl 1 M se toman 10 ml, se agregan dos gotas de fenolftaleína y se titula con hidróxido de sodio 0.01 M hasta obtener un color rosado pálido. Basado en el volumen consumido de hidróxido de sodio se determina la acidez.

Al líquido sobrante de la titulación con hidróxido de sodio se le agregan 2.5 ml de KF al 4%. Se retitula con HCL 0.01 M hasta la desaparición total del color rosado. Con el volumen consumido de HCl se determina el aluminio presente.

#### Referencia

MOTTA DE MUÑOZ, B., RODRÍGUEZ, C., MONTERO, H., MARULANDA, J., CORREA, A. y BENDECK, M. (1990). Métodos analíticos del laboratorio de suelos. Bogotá, Colombia: IGAC. 502.

## PROTOCOLO 7

### Determinación de densidad aparente, densidad de partículas y porosidad

#### 7.1 Densidad aparente

##### Materiales

1. Manubrio para introducir cilindros de volumen conocido “Martinelli”
2. Cilindros de metal de volumen conocido
3. Cobertores de plástico para cilindros de volumen conocido
4. Marco de caladora con cuerda fina de guitarra
5. Marcadores con tinta indeleble

##### Metodología

En los diferentes sitios escogidos dentro de la finca, en la banda de fertilización de plantas de banano recién florecidas se abrirán fosas (minicalcatas) con las siguientes dimensiones; 60 cm ancho X 60 cm largo X 60 cm fondo. En los tres primeros horizontes genéticos del suelo Ap, BW1 y BW2, se tomarán muestras para la determinación de la densidad aparente, introduciendo con la ayuda del “Martinelli” cilindros de metal de volumen conocido en cada horizonte (ver figura a continuación). Estos se tapan con los cobertores plásticos y se trasladan al laboratorio. En el laboratorio se secan en el horno de suelos a 105 °C por 24 horas. Se deja enfriar el suelo y se pesa. La densidad aparente es la relación del peso del suelo seco/volumen conocido del cilindro de metal en  $\text{g cm}^{-3}$ .



##### Referencia

FORSYTHE, W. (1985). Física de Suelos: manual de laboratorio. 1ª ed. 2ª reimpresión. San José C.R. IICA. 212 p.

## 7.2 Densidad de partículas

A diferencia de la densidad aparente, la densidad real o de partículas corresponde a la masa de los sólidos dividido entre el volumen de los mismos y es un valor menos variable que la densidad aparente. Se determina midiendo el volumen desplazado de líquido por una masa conocida de suelo en un frasco de volumen conocido.

### Materiales

1. Balones aforados de 250 ml
2. Balanza con precisión de 0.1 g
3. Espátulas, embudos, termómetros
4. Estufa de hasta 110 °C
5. Pedazo de tela, varillas de vidrio, gotero y plantilla para calentar

### Metodología

Debido a que la densidad de partículas se determina indirectamente midiendo el volumen que ocupa el suelo dentro de un volumen conocido, es necesario conocer exactamente qué volumen tiene el frasco que se va a utilizar como referencia. Pese 100 g de suelo seco a 110 °C, colóquelo con la ayuda de un embudo en un balón aforado de 250 ml limpio y seco. Agregue 100 ml de agua hervida previamente, y caliente en la plantilla el balón con el suelo y el agua y deje hervir por unos minutos con el objetivo de sacar el aire de las partículas de suelo. Deje enfriar y termine de aforar a la marca, utilice la tela para tomar el balón. Pese el balón y tome la temperatura. El cálculo se realiza de acuerdo con el procedimiento descrito por Henríquez y Cabalceta en 1999.

### Referencia

HENRÍQUEZ, C. y CABALCETA, G. (1999). Guía práctica para el estudio introductorio de los suelos con un enfoque agrícola. 1ª ed., San José CR: ACCS. 112 P

## 7.3 Porosidad

La porosidad total se refiere a todo el espacio que no está ocupado por la fracción sólida (mineral u orgánica), indiferentemente si este espacio está ocupado por aire o agua en el momento del muestreo. Se puede expresar como porcentaje mediante la siguiente ecuación:  $(1 - D_a/D_p) \times 100$ .

## PROTOCOLO 8

### Determinación de la infiltración básica en una plantación establecida de banano

#### Materiales

1. Dos juegos de anillos de 30 y 45 cm de diámetro con 25 cm de altura, contru-  
idos con lámina de acero inoxidable de 1/8 de pulgada de grosor en la pared con  
borde “biselado” para facilitar penetración en el suelo
2. Recipientes plásticos con capacidad de 17 L de agua
3. Mazo y trozo de madera
4. Cronómetro y tabla para anotar

#### Metodología

En plantas cercanas a los sitios donde se realizarán las mini-calicatas, se coloca un juego de doble anillo próximo al hijo de sucesión y otro en la entre calle como se observa en la Figura 1. Utilizando el mazo golpeador y el trozo de madera, ambos anillos se introducen en el suelo entre 10 y 15 cm, asegurando que quedan nivela-  
dos. Los cilindros deben llenarse con agua, con el cuidado que ésta no pase de un cilindro a otro. En el centro de la cara interna del cilindro de menor diámetro debe marcarse una franja de 2 cm de amplitud. La anotación que debe hacerse es el tiempo que tarda en bajar el agua en esos 2 cm. La prueba concluye cuando se obtienen tres lecturas muy parecidas seguidas. El valor de infiltración básica se reporta en  $\text{cm hr}^{-1}$ .



Figura 1. Prueba de infiltración básica en la banda y la entre calle de una plantación de banano con la metodología de doble anillos.

## Referencia

- ILRI (International Institute for Land Reclamation and Improvement). (1977). Principios y aplicaciones del drenaje: Estudios e investigaciones. Edición 16. Wageningen, Holanda. III volumen.
- MOTTA de MUÑOZ, B., RODRÍGUEZ, C., MONTERO, H., MARULANDA, J., CORREA, A. y BENDECK, M. (1990). Métodos analíticos del laboratorio de suelos. Bogotá, Colombia: IGAC. 502.

# PROTOCOLO 9

## Determinación de la materia orgánica en el suelo

### Materiales:

1. Balanza con capacidad mínima de medición de 0.001 g
2. Espectrofotómetro Lambda 1A
3. Extractor de gases
4. Dos dispensadores de 10 ml
5. Erlenmeyers de 125 ml
6. Balones aforados de 100 ml
7. Pipetas 10 ml
8. Molino de suelo con tamiz de 2 mm

### Metodología:

La muestra de suelo se seca a 45 °C hasta peso constante. Posteriormente se muele y se tamiza utilizando una malla que permita un tamaño de partícula máximo de 2 mm. Se pesa 0.5 g de suelo en un Erlenmeyer de 125 ml, agregue 10 ml de dicromato de potasio 0.167 M y 10 ml de ácido sulfúrico concentrado. Se agita y se deja enfriar durante dos horas. Se trasvasa la digestión a un balón aforado de 100 ml. Se agita y se lleve a aforo con agua desionizada y/o destilada. Para determinar la materia orgánica se lee la absorbancia del Cr<sup>3+</sup>.

## **PROTOCOLO 10**

### **Método de Bouyoucos**

Mediante este procedimiento se determina la proporción de arena, limo y arcilla que existe en una muestra de suelo.

#### **Materiales y equipo**

1. Cilindros de sedimentación, botellas o vasos de agitación, termómetro
2. Agitador vertical o licuadora de suelos, estufa a 110 °C
3. Hidrómetro ASTM-152H
4. Reactivos hexametafosfato de sodio, carbonato de sodio y alcohol amílico

#### **Metodología**

Pese 40 g de muestra secada al horno a 110 °C por 24 horas y tamizada por malla de 2 mm. Coloque la muestra en una botella de agitación, agregue 200 ml de agua y 10 ml de solución dispersante y licúe por 10 minutos. Transvase al cilindro de sedimentación y afore con el hidrómetro dentro del cilindro. Tape el cilindro y agite vigorosamente por 30 segundos; agregue el alcohol, y lea a los 40 segundos el hidrómetro y el termómetro. La siguiente lectura se efectúa a las dos horas. Realice el cálculo de acuerdo con la metodología informada por Forsythe, 1985.

#### **Referencia**

FORSYTHE, W. (1985). Física de Suelos: manual de laboratorio. 1ª ed. 2ª reimpresión. San José C.R.: IICA. 212 p.

## **PROTOCOLO 11**

### **Determinación de la resistencia a la penetración**

#### **Materiales**

1. Penetrómetro de mano Chatillon®
2. Tabla para anotar

#### **Metodología**

En los diferentes sitios escogidos dentro de la finca, en la banda de fertilización de plantas de banano recién florecidas se abrirán fosas (minicalcatas) con las siguientes dimensiones; 60 cm ancho X 60 cm largo X 60 cm fondo. En los tres primeros horizontes genéticos del suelo Ap, B1 y B2 se tomarán por triplicado lecturas con

el penetrómetro Chatillon®. Esto se realiza introduciendo 0.5 cm de la punta del penetrómetro en cada horizonte.

## Referencia

BRADFORD, J.M. (1986). Penetrability. *In: Methods of soil analysis. Part 1 Physical and Mineralogical methods.* Ed. by A. Klute, 2 ed. Madison, WI 53711, USA. American Society of Agronomy. Agronomy Monograph No.9, pp. 463-493.

# PROTOCOLO 12

## Determinación de poblaciones de microorganismos del suelo mediante técnicas de recuento directo

### Introducción

Esta metodología permite conocer la cantidad de diferentes microorganismos (principalmente bacterias, actinomicetos y hongos) que se encuentran en los suelos sometidos a varias formas de manejo. Tomando en consideración que los microorganismos del suelo son muy sensibles a ligeros cambios, la técnica de recuento directo nos sirve como un buen bioindicador de salud y calidad de suelos, en cuanto a la cantidad de comunidades microbianas.

El método de recuento en placa se utiliza muy a menudo para contar sólo las células viables (capaces de dividirse), de allí que el resultado se expresa como unidades formadoras de colonias (u.f.c.) por unidad de volumen o masa de suelo muestreada, ya que la teoría indica que una colonia proviene de la división de una sola célula.

En el método de placa extendida, una muestra pequeña de suelo diluida (generalmente 0.1 ml) se extiende sobre la superficie de la placa con un medio de cultivo selectivo para el microorganismo a aislar y se incuba hasta que las colonias sean visibles a simple vista.

Para minimizar errores al calcular el tamaño de la población, se ha determinado prácticamente que debe haber entre 30 y 300 colonias por placa de cultivo. Es por ello que para suspensiones densas es necesario realizar varias diluciones del cultivo microbiano.

### Metodología

#### *Preparación de materiales:*

El procesamiento de muestras para análisis microbiológico debe realizarse en condiciones de esterilidad para lo cual se debe, en primer lugar, limpiar el área de trabajo (cámara de transferencia y mesas) con algún producto desinfectante. Se recomienda utilizar en todo momento aspersores con alcohol.

1. Preparar placas de Petri con 20 ml de medio agar nutritivo para bacterias y actinomicetos y 20 ml de medio agar-papa dextrosa para hongos.
2. Esperar que el medio solidifique y luego secar las placas invertidas a temperatura ambiente.
3. Preparar y rotular tubos de ensayo de 15 ml con tapa de rosca para realizar diluciones seriadas al décimo, desde  $10^{-2}$  hasta  $10^{-5}$ .
4. Colocar en cada tubo 9.0 ml de agua destilada y autoclavar a  $121\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 20 minutos, de tal manera que se asegure la asepsia.
5. Preparar botellas de 100 ml con tapa de rosca y rotularlas con la dilución de  $10^{-1}$ .
6. Colocar en cada botella 90 ml de agua destilada y autoclavar a  $121\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 20 minutos.
7. Esterilizar puntas para micro pipetas de 0.1 y 1.0 ml.

#### **Procesamiento de la muestra:**

1. Pesar 10 g de la muestra de suelo de campo previamente tamizada (por 2 mm) y homogenizada, y colocarla en la botella con los 90 ml de agua esterilizada, agitar hasta suspensión total del suelo. Agregar al tubo rotulado  $10^{-2}$  una cantidad de 1.0 ml de una solución de la botella. Descartar la punta de la pipeta y homogenizar en agitador.
2. Con una nueva punta tomar 1.0 ml del tubo anterior y adicionarlo en el tubo rotulado  $10^{-3}$ . Repetir los pasos anteriores para éste y los demás tubos marcados con las otras diluciones.
3. Colocar 0.1 ml de cada tubo marcado con las diluciones  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$  por duplicado en placas de Petri con medio agar papa dextrosa y esparcir sobre toda la superficie.
4. Colocar 0.1 ml de cada tubo marcado con las diluciones  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$  por duplicado en placas de Petri con medio agar nutritivo y esparcir sobre toda la superficie.
5. Incubar las placas sembradas a temperatura de  $26\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 3 y 5 días hasta observar completo crecimiento de los microorganismos.
6. Realizar el recuento de los microorganismos en aquellas placas que tengan entre 30 y 300 unidades formadoras de colonias (u.f.c.) por gramo de suelo.
7. El tamaño de la población se calcula con la siguiente fórmula:

$$\text{ufc/ml} = N / A \times \text{dil}$$

donde: **ufc**: unidades formadoras de colonias

**N:** número promedio de colonias obtenidas para una dilución dada.

**A:** volumen (ml) o masa del inóculo

**dil:** dilución

## Referencias

SEELEY, H.W.Jr., VANDERMARK, P.J. and LEE, J.J. (1991). *Microbes in action. A laboratory manual of microbiology.* 4a ed. Cap. V. Editores W. H. Freeman and Company.

BROCK, T.D., SMITH, D.W. and MADIGAN, M.T. (1993). "Microbiología" 6a ed. Prentice Hall Hispanoamericana S.A., México.

WEAVER, F., ANGLE, J. and BOTTOMLEY, P. (1994). *Methods of Soil Analysis. Part 2. Microbiological and Biochemical Properties.* Number 5. Soil Science Society of American Book Series. USA. 1121 p.

## ANEXO

### MEDIOS DE CULTIVO PARA MICROORGANISMOS

Agar Papa Dextrosa

Papas peladas	300 g
Dextrosa	10 g
Agar	20 g
Agua	1 L

Las papas previamente lavadas y peladas se pican y colocan en un recipiente con el litro de agua para hervirlas durante 1 hora y posteriormente colar.

A la suspensión se le adicionan los demás ingredientes y se pone a agitar en un agitador calentador hasta ebullición. Luego se autoclava por 20 minutos.

AGAR NUTRITIVO

Peptona	5 g
Extracto de carne	3 g
Agar	20 g
Agua	1 L

## PROTOCOLO 13

### Cantidad y actividad metabólica de los microorganismos

#### Protocolo de campo

##### *Toma y preparación de las muestras*

La toma de muestras de suelos se realiza en un día con óptimas condiciones de humedad del suelo a capacidad de campo, es decir que el ambiente esté ni muy seco ni muy húmedo; preferentemente por la mañana.

Las muestras de suelo se recolectan al azar o en zigzag en los sitios ya establecidos por el pre-diagnóstico, de tal manera que se pueda obtener una media representativa. Se realiza con barreno o palín de recolección a nivel superficial (0-20 cm), abarcando la zona situada en el entorno de las plantas o del sitio de interés. Debe anotarse algunos datos de las mismas, tales como: la fecha y hora de recolección, el número de registro, topografía, condiciones de agua, tratamientos previos como la fertilización u otros agroquímicos, prácticas de conservación y otras observaciones que se consideren importantes.

Las muestras son transportadas al laboratorio en bolsas de polietileno isotérmicas, selladas y codificadas, de preferencia en doble bolsa, especialmente cuando el traslado al laboratorio toma más de 12 horas. Las bolsas se transportan en cajas plásticas herméticamente cerradas, con el objeto de evitar pérdidas de humedad de campo y modificación de la temperatura. En el laboratorio, son tamizadas tal como vienen de campo por mallas de acero inoxidable de 400 micras (4 mm), se almacenan en bolsas o recipientes plásticos cerrados herméticamente y a 4 °C (cámara de refrigeración), de modo que se conserven las propiedades biológicas del suelo (García *et al.*, 2003); el uso de la técnica al vacío podrá mejorar la conservación de la muestra hasta su análisis.

Durante el análisis del suelo, se determina la humedad con una muestra de aproximadamente 5 g de suelo en la estufa a 105 °C, durante 24 horas. Si el suelo que viene del campo es muy orgánico debe comprobarse la constancia de peso dejando el suelo en la estufa otras 24 horas y pesando de nuevo (Gutián y Carballas, 1976). Se debe conservar los valores calculados en gramos de suelo húmedo y seco, ya que se utiliza para otros cálculos en actividad microbiana.

##### *Materiales utilizados para el muestreo:*

1. Muestra de suelo 200 – 500 g
2. Ficha de campo, papel y lápiz
3. Bolsas isotérmicas para el transporte de muestras de suelos desde el campo
4. Palín o barreno

5. Cámara de refrigeración y hielera
6. Estufa 110 °C
7. Crisoles pequeños de porcelana
8. Malla de acero inoxidable de 4 mm (400  $\mu\text{m}$ )

### Protocolo de laboratorio

Entre las propiedades biológicas importantes para la evaluación general de las actividades microbianas en el suelo, está el determinar la cantidad de biomasa microbiana y su actividad respiratoria.

#### • *Biomasa microbiana: Carbono*

La biomasa microbiana es el componente más activo del suelo (Isam, 1990), forma parte del “pool” de la materia orgánica y cumple una función muy importante en el humus, ya que interviene en los procesos de mineralización de nutrientes (Duchaufour, 1984); por ello, algunos autores afirman que puede ser empleada como índice de comparación entre sistemas naturales, agrícolas o como indicador de las variaciones sufridas en el equilibrio de un suelo debido a la presencia de agentes nocivos (Powlson *et al.*, 1987; Doran *et al.*, 1994).

La biomasa microbiana representa entre el 0.3 y el 6.9 % de la materia orgánica del suelo y está constituida por todos los organismos vivos de tamaño menor de  $5 \cdot 10^3 \mu\text{m}^3$ , los cuales aproximadamente un 50 % corresponden a hongos y un 30 % a bacterias y actinomicetos, en un suelo ideal, siendo las bacterias los microorganismos que realizan mayor actividad en la biomasa edáfica (Jenkinson y Ladd, 1981; Pelczar *et al.*, 1981); sin embargo, la contribución relativa de cada grupo microbiano a la biomasa total del suelo es muy variable, fundamentalmente depende del tipo de suelo y, dentro de un mismo suelo, de factores ambientales (Ross *et al.*, 1981).

**La determinación de la biomasa microbiana es realizada por la técnica de fumigación-extracción** (Vance *et al.*, 1987), donde se provoca la muerte de la microbiota del suelo con cloroformo y se realiza la extracción del carbono o del nitrógeno liberado. La determinación del C asociado a los microorganismos se estima por diferencia con muestras sin tratamiento de fumigación (Alef y Nannipieri, 1995; García *et al.*, 2003).

#### *Tratamientos de las muestras:*

Una muestra de 10 gramos de suelo húmedo (< 4 mm) se somete a un tratamiento de fumigación con un compuesto volátil y tóxico para los microorganismos. La muestra se coloca dentro de desecadores con vacío durante 30 minutos y con atmósfera saturada en cloroformo (libre de alcohol), la cual es mantenida durante 24 horas a 25 °C (temperatura ambiental). Posteriormente, se permite que se volatilice el cloroformo dejando ligeramente abierta la llave de paso del desecador durante

una hora y bajo campana extractora.

Adicionalmente, se prepara una muestra del mismo suelo pero sin tratamiento de fumigación ni incubación. En ambos casos, muestras fumigadas y no fumigadas, el proceso se realizan por triplicado.

### **Extracción:**

A la muestra de cada tratamiento se le añade 40 ml del extractante  $K_2SO_4$  0.5 N, se agita durante 30 minutos, se centrifuga a 4500 r.p.m. durante 5 minutos y se filtra el sobrenadante.

### **Materiales**

1. Campana extractora
2. Balanza granataria
3. Desecador con adaptador para vacío
4. Mangueras para conexiones al vacío
5. Prensas para mangueras
6. Bomba de vacío
7. Centrífuga
8. Agitador automático
9. Balones aforados de fondo plano para 1 y 2 litros
10. Vasitos pequeños de vidrio (3)
11. Papel filtro
12. Embudos
13. Cloroformo libre de etanol
14.  $K_2SO_4$

### **• Determinación del C asociado a la biomasa microbiana**

La determinación del C-biomasa se realiza tomando del extracto filtrado 5 ml de alícuota, que se lleva a sequedad a 60 °C durante 10 horas. Una vez secas las muestras, se les añade 10 ml de  $H_2SO_4$ , 5 ml de  $K_2Cr_2O_7$  0.2 N. y se someten a 110 °C durante 90 minutos en un bloque calentador o baño seco (batería de digestión) bajo campana. Además de estas muestras con suelo, se debe preparar un tratamiento control (*blanco*), con las mismas cantidades de extractante y reactivos pero sin suelo.

Posteriormente, el contenido de los tubos se trasvasa a matraces y se les añade un poco de agua destilada (100 ml aprox.), se adicionan 2 o 3 gotas de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  y se valora con *Sal de Mohr* de concentración conocida ( $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.2 N). La *Sal de Mohr* es valorada con  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  de concentración exactamente conocida, añadiendo agua destilada, 3 gotas de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  y 2 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , realizándose esta valoración cada vez que se valoren las muestras. Las valoraciones se realizan a través de un analizador automático para carbonos con electrodo selectivo de redox o bien, en el caso de titulaciones con probeta, se recomienda el indicador difenilamina. Para los cálculos se utiliza la siguiente relación:

$$\text{C liberado} = (\text{B} - \text{M}) \times \text{N} \times 3 \times \text{A} \times 100 / 10 \text{ ss/sh}$$

donde:

C liberado = mg C · 100 g<sup>-1</sup> suelo seco a 105 °C.

B = volumen de *Sal de Mohr* gastada por los blancos

M = volumen de *Sal de Mohr* gastada por las muestras

N = normalidad de la *Sal de Mohr* utilizada para valorar

A = alícuota del extracto (40/5)

ss/sh = relación de suelo seco a 105 °C y suelo húmedo (en gramos)

La diferencia entre los valores obtenidos en las muestras fumigadas y las no fumigadas (C liberado), corresponden al incremento de carbono que se libera por la muerte de los microorganismos. A este incremento se le denomina flujo de carbono, y para el cálculo del C asociado a la biomasa se divide el resultado obtenido por el factor **0.45** (Vance *et al*, 1987), cuyos valores de salida es **mg C-biomasa /100 g suelo seco**.

## Materiales

1. Pipetas
2. Baño seco o batería de digestión para microbiología
3. Tubos de ensayo Pyrex para digestión
4. Matraces pequeños de 100 y 50 ml
5. Balones aforados de fondo plano para 1 y 2 litros
6. Gotero
7. Balanza granataria
8. Bureta de 50 ml o Analizador C automático

9.  $\text{H}_2\text{SO}_4$
10.  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$
11.  $\text{H}_3\text{PO}_4$
12.  $\text{H}_2\text{O}$  destilada
13. Indicador Difenilamina
14. Sal de Mohr:  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

### **Índice de biomasa de la materia orgánica**

La determinación de la biomasa de la materia microbiana es parte del total de componentes que existe en la materia orgánica del suelo. Es por ello que se calcula la relación que existe entre el contenido de C-biomasa microbiana (en gramos de carbono) y el valor total de la materia orgánica (en gramos de carbono), es decir:

$$\% \text{ biomasa en materia orgánica} = \frac{\text{g C - biomasa microbiana}}{\text{g C - total (M.O.)}} \times 100$$

## **PROCOLO 14**

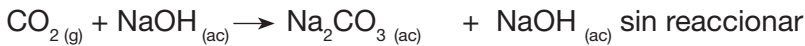
### **Respiración microbiana del suelo**

La actividad microbiana del suelo puede ser estimada indirectamente por la determinación de la respiración basal. Esta consiste en determinar el consumo de  $\text{O}_2$  en el medio o bien la concentración de  $\text{CO}_2$  desprendido (función de la actividad biológica y del contenido del suelo en carbono orgánico fácilmente mineralizable), y que es capturado en álcali (NaOH) durante un periodo de incubación bajo condiciones ambientales óptimas (Parkinson, 1981; Alef y Nannipieri, 1995; García *et al.*, 2003).

El primer paso consiste en efectuar un montaje de medios (muestra de suelo por triplicado), utilizando frascos de vidrio de boca ancha provisto de cierre hermético. En el recipiente, se introduce otro recipiente pequeño de vidrio con una muestra de 25 g del suelo húmedo y un vial con 10 ml de NaOH 0.1 N. Dentro del mismo frasco de boca ancha se añaden 25 ml de agua destilada, de tal manera que el suelo mantenga la humedad necesaria durante la incubación. El recipiente con sus componentes se mantiene en óptimas condiciones, es decir a 25 °C, en una cámara incubadora y durante 10 días; además, se hace un segundo montaje con NaOH pero sin suelo (muestra considerada blanco o control).

Si se quiere conocer la evaluación de la respiración, la solución de NaOH se cambia periódicamente, los días 1°, 2°, 4°, 7° y 10° de la incubación, y en esa solución que

estuvo expuesta al suelo se valora la concentración de  $\text{CO}_2$  capturado. Si el interés es sólo conocer el valor total de respiración, la trampa básica es cambiada al 5° y 10° día, o se utiliza una mayor concentración del NaOH. Para la determinación se procede tomando una alícuota de 2 ml de cada tratamiento a la que es añadida un poco de agua destilada (5-10 ml aprox.). Químicamente lo que ocurre es:



Previamente a la titulación, se adiciona 1 ml de  $\text{BaCl}_2$  al 20 %, para que los carbonatos que se pueden haber formado precipiten en forma de  $\text{BaCO}_3$  :



La técnica implica calcular la cantidad de NaOH que queda sin reaccionar en el proceso de respiración (exceso), valorando con HCl 0.1 N en un analizador de C automático, eliminando así el posible error subjetivo, o bien con bureta utilizando además timolftaleína o fenolftaleína como indicador. El  $\text{CO}_2$  desprendido por el suelo se calcula como diferencia entre el valor de titulación de un blanco sin suelo (NaOH) y el de cada muestra expuesta a la actividad microbiana (  $\text{NaOH} + \text{CO}_2_{[\text{suelo}]}$  ).

El cálculo de la cantidad de  $\text{CO}_2$  desprendido de la mineralización utiliza la siguiente ecuación:

$$\text{CO}_2 = (\text{B} - \text{M}) \times \text{NHCl} \times \text{Peq} \times \text{A} \times 100 / [ 25 (\text{ss/sh}) ]$$

donde:

$$\text{CO}_2 = \text{mg CO}_2 \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{ de suelo seco a } 105 \text{ }^\circ\text{C}$$

B = volumen de HCl consumido por el blanco

M = volumen de HCl consumido por la muestra

NHCl = Concentración o normalidad exacta del ácido clorhídrico

Peq = Peso equivalente del  $\text{CO}_2$  emitido (44/2)

A = alícuota de la muestra expuesta al suelo (10/2)

ss/sh = relación de suelo seco a 105 °C y suelo húmedo (en gramos)

Los valores deben ser reportados como la sumatoria de respiración en unidades de  $\text{mg CO}_2 / 100\text{g}$  suelo seco. La cantidad depende de factores ambientales, el manejo y tipos de suelos.

## Materiales:

1. 3 frascos de vidrio de boca ancha con cierre hermético, por muestra de suelo
2. 3 recipientes de vidrio pequeños para contener muestras de suelo
3. 3 viales pequeños de plástico
4. Cámara de incubación
5. Termómetro
6. Balones aforados de fondo plano para 1 y 2 litros
7. Bureta o Analizador de C automático
8. Vasos pequeños de precipitados
9. NaOH
10. HCl
11. H<sub>2</sub>O destilada

## Índice de mineralización

En la materia orgánica ocurren varios procesos químicos y biológicos, entre los que se destaca la mineralización a través de la producción de CO<sub>2</sub> durante un periodo determinado.

En la materia orgánica ocurren varios procesos químicos y biológicos, entre los que se destaca la mineralización a través de la producción de CO<sub>2</sub> durante un periodo determinado. Si tomamos en cuenta que en la materia orgánica el mayor contenido es en carbonos, la proporción de C-CO<sub>2</sub> producido por la respiración microbiana en función al C-Total de la materia orgánica corresponde al índice de mineralización del suelo. Así, los valores de C-CO<sub>2</sub> son calculados a partir de la respiración microbiana (CO<sub>2</sub> emitido en 10 días) en unidades de gramos C-CO<sub>2</sub> /100 g de suelo seco, divididos por el valor de materia orgánica en gramos C-Total / 100g suelo seco.

Es decir:

$$\% \text{ Índice de mineralización} = \frac{\text{g CO}_2 \text{ (respiración)}}{\text{g C total (M.O.)}} \times 100$$

Sus valores medios y comunes oscilan en un rango de 0.3 a 1.2 %, dependiendo de la agroclimatología de la plantación y el tipo de manejo.





Valores de (C o N) de Biomasa microbiana del suelo Finca \_\_\_\_\_ ( mg · 100 g<sup>-1</sup>)

Flujo = valores medios de No fumigados – Fumigados (suelos fumigados con CHCl<sub>3</sub>)

\* C o N = flujo / factor 0,45 (Vance *et al.*, 1987; Brookes *et al.*, 1985; Jenkinson, 1988).

*Ejemplo:*

Código Finca	Nº Suelo	No Fumigados	Sí Fumigados	Flujo	Biomasa
		(mg · 100 g <sup>-1</sup> )			
CARTB-R 1	1	51.3	146.7	95.3	211.9
CARTB-R 2	2	13.4	100.6	87.2	193.8
CARTB-R 3	3	12.9	103.0	90.2	200.4
CARTB-R 4	4	23.2	131.4	108.2	240.4
CARTM-R 1	5	53.5	76.8	23.4	52.0
CARTM-R 2	6	45.7	97.9	52.2	116.0
CARTM-R 3	7	33.1	105.8	72.7	161.6
CARTM-R 4	8	26.2	78.6	52.4	116.5
CARTP-R 1	9	31.5	75.6	44.1	98.0
CARTP-R 2	10	19.7	72.3	52.5	116.8
CARTP-R 3	11	69.5	97.3	27.8	61.8
CARTP-R 4	12	68.8	89.4	20.6	45.8

Valores de C de Biomasa microbiana del suelo Finca Cartagena (  $\text{mg} \cdot 100 \text{g}^{-1}$  )

Flujo = valores medios de No fumigados – Fumigados (suelos fumigados con  $\text{CHCl}_3$ )

\* C-biomasa microbiana = flujo / factor 0,45 (Vance *et al.*, 1987).

## Biodiversidad

Código finca CARTAGENA	Identificación muestra	Nº Bacterias	Nº Hongos	Nº Actinomicetos
		( u.f.c · g <sup>-1</sup> suelo)		
CARTB-R 1	1	3200	40	1500
CARTB-R 2	2	4500	35	1200
CARTB-R 3	3	3000	50	1000
CARTB-R 4	4	2800	40	800
CARTM-R 1	5	1600	20	450
CARTM-R 2	6	1200	15	600
CARTM-R 3	7	1000	10	700
CARTM-R 4	8	1100	12	500
CARTP-R 1	9	400	5	200
CARTP-R 2	10	300	4	100
CARTP-R 3	11	200	7	50
CARTP-R 4	12	350	9	120

Para el análisis estadístico los datos se transforman a logaritmo<sub>10</sub>

## PROTOCOLO 15

### Extracción de nematodos de las raíces del banano

#### Materiales

1. Pala ó palín
2. Metro
3. Bolsas plásticas
4. Hielera
5. Cuchillo
6. Escalpelo ó tijeras
7. Balanza ó pesa
8. Licuadora comercial
9. Cribas (tamices) de 250, 106 y 25  $\mu\text{m}$
10. Beaker de 250 ml
11. Microscopio

#### Metodología

Se seleccionan 5 plantas recién florecidas que tengan hijos de sucesión de 1.2 a 1.8 m de altura. En cada planta, a 10 cm frente al hijo de sucesión, se hace una minicalicata; excavación de 13 cm de largo, 13 cm de ancho y 30 cm de profundidad. Se colectan las raíces provenientes de la minicalicata en bolsas plásticas bien identificadas. Las raíces de las 5 plantas se mezclan para conformar una muestra compuesta. Las muestras deben ser almacenadas a una temperatura de 8 a 10 °C.

Posteriormente, en condiciones de laboratorio, las raíces se lavan con agua potable para remover el suelo y los residuos. Seguidamente, con un cuchillo o una tijera, se separan las raíces funcionales y no funcionales. Raíces funcionales son aquellas de color blanco o crema, a veces con coloraciones café rojizo, pero sin tejido necrosado. Raíces no funcionales son aquellas de color negro con tejido necrosado. Luego las raíces funcionales y no funcionales se pesan por separado.

Posteriormente los segmentos de las raíces funcionales (únicamente) se homogenizan en una bolsa plástica agitando manualmente. De esta bolsa, se toman 5 veces 5 g de raíces hasta obtener un total de 25 g de raíces funcionales. De esta muestra de 25 g, se extraen los nematodos de la siguiente manera: primero se colocan los 25 g de raíces funcionales en la licuadora y se adhieren 300 ml de agua potable. Se licuan las raíces a baja velocidad por 10 segundos y luego en alta por 5 segundos.

Seguidamente, la solución del licuado se tamiza en un juego de cribas superpuestas de arriba hacia abajo de 250, 106 y 0.25  $\mu\text{m}$  (60, 140 y 500 Mesh). Se lava la criba de 250  $\mu\text{m}$  por 2 minutos y la de 106  $\mu\text{m}$  por 1 minuto. El contenido de la criba de 0.25  $\mu\text{m}$  se recolecta en un beaker. La solución se afora a 200 ml de suspensión, se homogeniza y se toma una alícuota de 4 ml para leer 2 ml efectivos de esta alícuota.

Se identifican y cuentan los nematodos presentes en los 2 ml en un microscopio. El valor obtenido en la lectura de los 2 ml se multiplica por 400 y equivale al número de nematodos en 100g de raíces.

Con este procedimiento se obtienen los datos para el cálculo de los indicadores: logaritmo de *Radopholus similis* y Peso Radical.

## Referencias

ARAYA, M. (2002). Metodología utilizada en el laboratorio de CORBANA S.A. para la extracción de nematodos de las raíces de banano (*Musa AAA*) y Plátano (*Musa AAB*).

SPEIJER, P.R. and DE WAELE, D. (1997). Screening of *Musa* Germplasm for resistance and tolerance to nematodes. INIBAP Technical Guidelines. Montpellier, France.

## Ejemplo de Cuadro de Salida para Fitonematodos

Finca:

Responsable:

Localización	TRAT	REP	RT	RF	% RF	R.s.	H.m.	Tot.Nem.
<b>Sitio Bueno</b>								
12 D T2	1	1	23	20	87	0	0	0
3 C T2	1	2	53	47	89	2400	0	2400
5 B T52	1	3	33	31	94	11200	0	11200
1D T49 A	1	4	27	24	89	1600	0	1600
<b>Sitio Pobre</b>								
5 A T43	3	1	56	45	80	12400	2000	14400
5 D T 3	3	2	54	46	85	19200	1200	20400
5 B T12	3	3	85	77	91	1600	0	1600
7A T52	3	4	67	61	91	8400	0	8400

## PROCOLO 16

### Extracción de nematodos del suelo

#### Materiales

1. Palín Holandés
2. Bolsas plásticas
3. Hielera
4. Tamices de 2 mm y 25  $\mu$ m
5. Balanza o pesa
6. Filtro de leche
7. Papel toalla o kleenex
8. Tamiz plástico u objeto con rejillas de aproximadamente 2 mm
9. Contenedor plástico
10. Beaker de 30 ml

#### Metodología

Se elige una planta de banano recién florecida y que tenga un hijo de sucesión de 1.2 a 1.8 m de altura. A 10 cm frente al hijo de sucesión se hace una excavación con el palín Holandés de 15 cm de profundidad. Se introduce el palín de dos a tres veces en el mismo hoyo para obtener aproximadamente 1 kilogramo de suelo por punto de muestreo el cual se deposita en una bolsa plástica. Todas las muestras deben ser debidamente identificadas. Se transportan las bolsas con suelo al laboratorio en una hielera.

En condiciones de laboratorio, el suelo se pasa por un tamiz de 2 a 4 mm para remover partículas grandes. Los nematodos se extraen usando el método de Baermann modificado. Se pesan 250 g del suelo tamizado y se colocan sobre un filtro (papel toalla, o kleenex) que está sobrepuesto en un tamiz de 2 mm dentro un contenedor. Luego se le agrega agua potable al contenedor hasta que llegue al nivel donde empieza el suelo. El suelo debe estar completamente húmedo, no sumergido. Transcurridas 48 horas, se filtra el agua del contenedor por un tamiz de 25  $\mu$ m para coleccionar los nematodos de la solución y luego se transfiere la solución de nematodos a un beaker y se afora hasta 10 ml. Se toman alícuotas para identificar y clasificar según su familia a los primeros 100 nematodos encontrados. Cada familia tiene un número asignado en el índice de madurez para describir la salud del suelo. Los nematodos de vida libre y los fitonematodos se analizan en índices diferentes.

## Referencias

- BONGERS, T. (1990). The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. *Oecologia*. 83:14-19.
- SHURTLEFF, M.C. and AVERRE III, C.W. (2000). Diagnosing plant diseases caused by nematodes. Amer. Phytopathological Society.
- SPEIJER, P.R. and DE WAELE, D. (1997). Screening of Musa Germplasm for resistance and tolerance to nematodes. INIBAP Technical Guidelines. Montpellier, France.

## PROTOCOLO 17

### Aislamiento de hongos endofíticos del sistema radical del banano

#### Materiales

1. Muestra de raíces de banano (25 g)
2. Medio de cultivo PDA 10%
3. Hipoclorito de Sodio 2.5%
4. Agua destilada estéril (2 litros)
5. Papel toalla estéril
6. Contenedores de 250 ml estériles
7. Pinzas de disección
8. Bisturís
9. Cámara de incubación con control de temperatura

#### Metodología

El método de aislamiento de hongos endofíticos de banano consiste en la desinfección superficial de segmentos de raíces, los cuales son obtenidos de las minicalicatas utilizadas para el muestreo de nematodos, practicada en plantas recién florecidas. La muestra de raíces es lavada 3 veces con agua de potable. Posteriormente se seleccionan raíces sanas, que no presentan daños visuales causados por nematodos o patógenos del suelo.

Seguidamente bajo condiciones estériles en una cámara de flujo laminar, se cortan segmentos de raíces de aproximadamente 2 cm de longitud. Estos segmentos son sumergidos en una solución de Hipoclorito de Sodio al 2.5 % por 3 minutos. Posteriormente los segmentos son lavados 3 veces en agua estéril. Cada lavado es de

aproximadamente 3 minutos. Luego, los segmentos de raíz se cortan longitudinalmente, se eliminan los extremos y se colocan en papel toalla estéril para eliminar los residuos de agua. Finalmente cinco segmentos son cultivados en un plato Petri que contiene PDA 10%. Tres días después del cultivo, los crecimientos de micelio de los hongos endofíticos son subcultivados en PDA 100% para lograr la purificación de los aislados. La figura 1 ilustra el protocolo de aislamiento de hongos endofíticos de raíces de banano.

Con este protocolo se obtienen los datos para los indicadores *Trichoderma*, *Fusarium* y Otros Hongos.

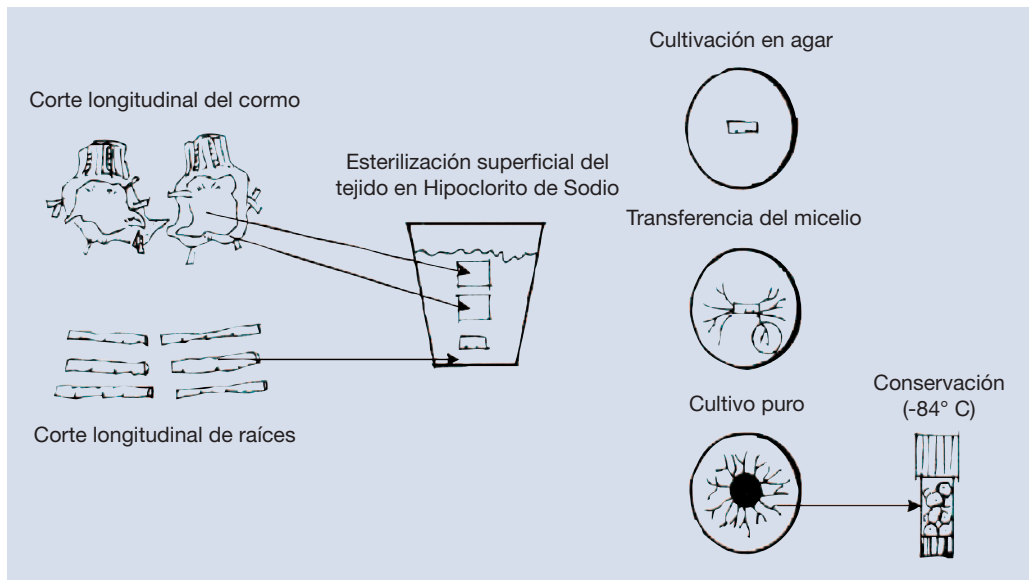


Figura 1. Aislamiento de hongos endofíticos de tejidos internos de raíz de banano.

## Referencia

POCASANGRE, L.E., SIKORA, R. A., VILICH, V. and SCHUSTER, R-P. (2000). Survey of banana endophytic fungi from Central America and screening for biological control of *Radopholus similis*. *Acta Horticulturae*, 531: 283-289.

## PROTOCOLO 18

### Determinación de microartrópodos del suelo

#### Toma de la muestra

##### *Procedimiento:*

En el campo se toma un monolito de 100 cm<sup>3</sup> (10 x 10 x 10 cm) teniendo el cuidado de no alterarlo o disturbarlo. La muestra se pone en una bolsa plástica debidamente rotulada y marcada. Se recomienda que la muestra se procese antes de 48 horas; que se mantenga en un lugar donde no le pegue la luz del sol directamente y que sea fresco, pero no refrigerado.

##### *Separación de la fauna del suelo:*

El monolito se pone en embudo de Berlesse, por seis días con una bombilla de 25 watts y teniendo el cuidado que la muestra no se altere en su composición. La extracción de la fauna edáfica se hace por efecto del calor y la luz que obliga a los animales a bajar por el embudo hasta ser recogidos en un frasco colector que contiene alcohol de 95° al final del embudo.

Con ayuda de un estereoscopio se separa el material de las partículas de suelo y restos vegetales que cayeron. Los especímenes se colocan en frascos separados y debidamente identificados para su posterior identificación y montaje.

##### *Identificación del material:*

La identificación del material se hace con ayuda de claves dicotómicas para cada uno de los grupos encontrados. En el caso de los colémbolos se usarán las claves de los colémbolos de Norteamérica de Christiansen y Bellinger (1980), las claves de los colémbolos Mexicanos de Palacios Vargas (1983), así como el Catálogo de los Colémbolos Neotropicales de Mari Mutt y Bellinger (1990). Para los ácaros se usarán el Krantz (1978), así como claves de oribatidos.

Para algunos grupos como colémbolos y ácaros, se necesitará montar en láminas fijas series de al menos 10 especímenes. Este montaje se debe de hacer ya sea en medio de montaje permanente como Bálsamo de Canadá o semipermanente como Hoyer, dependiendo de las características morfológicas del grupo para su debida identificación. En estos grupos, la identificación se hace con microscopio de contraste de fases, pues las características de diagnóstico son muy complejas e imposibles de observar en un microscopio de disección. Con los otros, la identificación se hace con estereoscopio convencional y con material de referencia.

## Referencia

- PALACIOS-VARGAS, J.G. (1983). Catálogo de los colémbolos mexicanos. An. Esc. Nal. Cienc. Boil., Mex., 27-61-67.
- MARI MUTT, J.A and P.F. BELLINGER. (1990). A Catalog of the neotropical collembola including nearctic areas of México. Flora and Fauna Handbook N° 5. Sandhill Crane Press, Gainesville, Florida, USA, 237 p.
- CHRISTIANSEN, K and BELLINGER, P. (1980). The collembola of North America, north of the Rio Grande. Grinnell College, Grinnell. Iowa.
- KRANTZ, J. W. (1978). A manual of acarology. 2 ed. Oregon State University book stores Inc, Corvallis.