

# Agrociencia

Volumen 56, Número 3

1 de abril - 15 de mayo, 2022



**Dr. Manuel Anaya Garduño**

## DIRECTORIO

---

### DIRECTOR DE AGROCIENCIA

Said Infante Gil

### DIRECTOR ADJUNTO DE AGROCIENCIA

Fernando Carlos Gómez Merino

### SUBDIRECTORA DE AGROCIENCIA

Ana Rita Román Jiménez

### CONSEJO EDITORIAL INTERNACIONAL

Roger Austin (**Inglaterra**)

José Sarukhán Kermez (**México**)

Barry C. Arnold (**EUA**)

### COMITÉ ASESOR EDITORIAL INTERNO

Jorge Alvarado López

Jorge D. Etchevers Barra

Víctor A. González Hernández

Leopoldo E. Mendoza Onofre

José A. Villaseñor Alva

### RESPONSABLES DE LA EDICIÓN

Said Infante Gil

Fernando Carlos Gómez Merino

Ana Rita Román Jiménez

### FORMACIÓN, DISEÑO Y MAQUETACIÓN

L. Brenda Espejel Lagunas

### TRADUCTORES

Inés Enriquez

Elena Preciado Gutiérrez

Joel Castillo González

Nicolas Crossa

### COSECHADOR DE METADATOS

Moises Quintana Arévalo

### APOYO

Belem M. Villegas Contreras

Yolanda Feroso Meraz

DERECHOS DE AUTOR Y DERECHOS CONEXOS, **Volumen 56, número 3, 1 de abril - 15 de mayo, 2022**, Agrociencia es una publicación sesquimensual editada por el Colegio de Postgraduados. Carretera México-Texcoco, Km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México. CP 56230. Tel. 5959284427. [www.colpos.mx](http://www.colpos.mx). Editor responsable: **Dr. Said Infante Gil**. Reservas de Derechos al Uso Exclusivo 04-2021-031913431800-203. ISSN: 1405-3195. eISSN: 2521-9766, otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Responsable de la última actualización de este número, Dr. Said Infante Gil. Fecha de última modificación, **8 de junio del 2022**.

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación.

Toda correspondencia (información de suscripciones, ventas, publicidad, contribuciones de autores, etc.) deberá dirigirse a:

~~~~~  
Oficinas Centrales:

#### DIRECTOR DE AGROCIENCIA

Guerrero #9, Esquina Avenida Hidalgo.

56220. San Luis Huexotla. Texcoco, Estado de México

Apartado Postal 56

56230, Suc. Chapingo, Estado de México

Teléfono: 595 92 84427

[agrociencia@colpos.mx](mailto:agrociencia@colpos.mx)

<http://www.colpos.mx/agrocien/agrociencia.htm>  
~~~~~

Aviso: Los nombres comerciales citados en los artículos, notas o ensayos, de ninguna manera implica patrocinio por parte de Agrociencia, ni crítica alguna a otros productos similares.

Portada: Dr. Manuel Anaya Garduño



# AGRICULTURA

SECRETARÍA DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL

## CONTENTS ❖ CONTENIDO

Volumen 56

1 de abril - 15 de mayo, 2022

Número 3

### Biotechnology ⇌ Biotecnología

- PRODUCTION OF *Pleurotus ostreatus* CULTIVATED IN SUBSTRATES MADE FROM TWO INVASIVE WEEDS ⇌ PRODUCCIÓN DE *Pleurotus OSTREATUS* CULTIVADO EN SUSTRATOS ELABORADOS A PARTIR DE DOS ARVENSES INVASORAS  
Miroslava **Quiñóñez-Martínez**, Karina **Peña-Avilés**, Nina del Rocío **Martínez-Ruiz**, Fortunato **Garza-Ocañas**, Jesús Alejandro **Nájera-Medellín**, Martha Patricia **Olivas-Sánchez**..... 405

- ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PEPTIDES OBTAINED BY ENZYMATIC HYDROLYSIS FROM PROTEINS OF AMARANTH (*Amaranthus hypochondriacus* L.) STUBBLE ⇌ ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE PÉPTIDOS OBTENIDOS POR HIDRÓLISIS ENZIMÁTICAS DE LAS PROTEÍNAS DEL RASTROJO DE AMARANTO (*Amaranthus hypochondriacus* L.)  
Cirilo **Hipólito-Nolasco**, Ofelia **Ramírez-Isidro**, Oscar **Núñez-Gaona**, Alma Xóchil **Ávila-Alejandre**, Alejandro **Hernández-López**, María de Jesús **García-Gómez**..... 434

### Food Science ⇌ Ciencia de los Alimentos

- ANTIOXIDANT CAPACITY AND OXIDATIVE STABILITY OF AN AVOCADO BY-PRODUCT PASTE WITH AND WITHOUT SEED ⇌ CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y ESTABILIDAD OXIDATIVA DE UNA PASTA DE SUBPRODUCTO DE AGUACATE CON Y SIN SEMILLA.  
Andrés **Concepción-Brindis**, Edgar Iván **Jiménez-Ruiz**, Javier Germán **Rodríguez-Carpena**, María Teresa **Sumaya-Martínez**, Leticia Mónica **Sánchez-Herrera**, Viridiana **Peraza-Gómez**, Nathaly **Montoya-Camacho**<sup>5</sup>, Víctor Manuel **Ocaño-Higuera** ..... 451

### Animal Science ⇌ Ciencia Pecuaria

- GROWTH ANALYSIS OF WHITE CLOVER (*Trifolium repens* L.) AND INDIRECT METHODS TO ESTIMATE ITS FORAGE YIELD ⇌ ANÁLISIS DEL CRECIMIENTO DEL TRÉBOL BLANCO (*Trifolium repens* L.) Y MÉTODOS INDIRECTOS PARA ESTIMAR SU RENDIMIENTO FORRAJERO.  
Joel **Ventura-Ríos**, María de los Ángeles **Maldonado-Peralta**, Aldenamar **Cruz-Hernández**, Santiago **Joaquín-Cancino**, Adelaido Rafael **Rojas-García**..... 469

### Wildlife ⇌ Fauna Silvestre

- POPULATIONAL ATTRIBUTES OF THE CENTRAL AMERICAN RED BROCKET DEER (*Mazama temama*) IN THE SIERRA DE ZONGOLICA, VERACRUZ, MEXICO ⇌ ATRIBUTOS POBLACIONALES DEL VENADO TEMAZATE ROJO (*Mazama temama*) EN LA SIERRA DE ZONGOLICA, VERACRUZ, MÉXICO.  
Juan **Salazar-Ortiz**, Miguel **Barrera-Perales**, María Guadalupe **Bravo-Vinaja**, Ricardo **Serna-Lagunes**, Carlos de Jesús **Ocaña-Parada**, Fernando Isaac **Gastelum-Mendoza**..... 492

### Crop Science ⇌ Fitociencia

- DETERMINATION OF THE EFFECTIVE DOSE OF PHOSPHORUS IN LEMON EUCALYPTUS PLANTS (*Corymbia citriodora*) ⇌ DETERMINACIÓN DE LA DOSIS EFICIENTE DE FÓSFORO EN PLANTAS DE EUCALIPTO LIMÓN (*Corymbia citriodora*).  
José Luis **Soto-Gonzales**, Sergio **Valiengo-Valeri**, Mara Cristina **Pessôa-da-Cruz**, Rinaldo Cesar **de Paula**, José Vulfrano **González-Fernández** ..... 518

**Natural Renewable Resources ⇌ Recursos Naturales Renovables**

ECOLOGICAL REHABILITATION INDICATORS FOR ONE EUCALYPTUS REFORESTATION WITH AN OAK FOREST AS REFERENCE ⇌ INDICADORES DE REHABILITACIÓN ECOLÓGICA PARA UNA REFORESTACIÓN DE EUCALIPTO CON UN BOSQUE DE ENCINO COMO REFERENCIA.  
Cristina **Herrera-Ramos**, Amador **Rafael-de Jesús**, Dante Arturo **Rodríguez-Trejo**, Alejandro **Corona-Ambriz**, Reyes **Bonilla-Beas**<sup>†</sup> ..... 547

EFFECT OF SOIL CONSERVATION TILLAGE ON THE STRUCTURE OF EDAPHIC FAUNA COMMUNITIES ⇌ EFECTO DE LABRANZA DE CONSERVACIÓN DEL SUELO SOBRE LA ESTRUCTURA DE COMUNIDADES DE FAUNA EDÁFICA  
Félix David **Murillo-Cuevas**, Héctor **Cabrera-Mireles**, Jacel **Adame-García**, Sergio **Uribe-Gómez**, Jazmín **Villegas-Narváez** ..... 579

GREEN MANURE AS A SOIL FERTILITY AND ENVIRONMENTAL OPTION IN SEMIARID AGROSYSTEMS: MINERALIZATION RATE AND N CONTENT ⇌ ABONOS VERDES: UNA OPCIÓN PARA LA FERTILIDAD DEL SUELO Y EL AMBIENTE EN AGROSISTEMAS SEMIÁRIDOS-TASA DE MINERALIZACIÓN Y CONTENIDO DE N  
León Bartolomé **Hernández-Herrerías**, Fernando **De León-González**, Luis Manuel **Rodríguez-Sánchez**, Edgar **Barrales-Brito**, Claudia **Hidalgo Moreno**, Mariela Hada **Fuentes-Ponce** ..... 610

**Socioeconomics ⇌ Socioeconomía**

INTERVENTION AND FORECAST MODELS FOR THE PRICE PAID TO PRODUCERS OF BEE (*Apis mellifera* L.) HONEY IN MEXICO ⇌ MODELO DE INTERVENCIÓN Y PRONÓSTICO DE PRECIOS PAGADOS AL PRODUCTOR DE LA MIEL DE ABEJA (*Apis mellifera* L.) EN MÉXICO.  
Samuel **Luis-Rojas**, Roberto Carlos **García-Sánchez**, Roberto **García-Mata**, Oscar Antonio **Arana-Coronado**, Benito **Ramírez-Valverde** ..... 638

## PRODUCTION OF *Pleurotus ostreatus* CULTIVATED IN SUBSTRATES MADE FROM TWO INVASIVE WEEDS

Miroslava Quiñónez-Martínez<sup>1\*</sup>, Karina Peña-Avilés<sup>1</sup>, Nina del Rocío Martínez-Ruiz<sup>1</sup>, Fortunato Garza-Ocañas<sup>2</sup>, Jesús Alejandro Nájera-Medellín<sup>1</sup>, Martha Patricia Olivas-Sánchez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Departamento de Ciencias Químico-Biológicas. Av. Benjamín Franklin No. 4650, Zona PRONAF, Cd. Juárez, Chihuahua, México. C. P. 32315

<sup>2</sup> Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Forestales. Carretera Nacional 85 km 145, Linares, Nuevo León, México. C. P. 67700

\* Corresponding author: mquinone@uacj.mx

### ABSTRACT

The species *Pleurotus ostreatus* is an edible mushroom with a high commercial value, cultivated for its ease and adaptability in substrates based on agro-industrial waste. The plant species *Solanum elaeagnifolium* and *Salsola kali* are two invasive weeds that spread rapidly in crops, ruderal or urban areas, representing high-cost agricultural losses and environmental impact. The hypothesis of this research was that at least one of the weeds would increase the production and quality of *P. ostreatus*. The objective was to evaluate the biological efficiency and carpophore productivity of *P. ostreatus* with the use of substrates elaborated and combined from *S. elaeagnifolium* and *S. kali*. The fungal cultures were carried out with substrates generated from mixtures of weeds and using wheat straw as a control; from these combinations, seven treatments and four replicates were obtained in a completely randomized design. The carpophores obtained were measured for the width and length of the pileus and stipe, total production (g), biological efficiency (%), and proximate analysis of the harvested mushrooms was performed. Maximum production was 23.30 mushrooms, with minimum of 3.67 carpophores. The width and length of the pileus were 8.30-11.70 cm and 8.40-11.40 cm, respectively. The stipe length variable showed widths of 1.40-2.30 cm and lengths of 2.80-6.20 cm. The weights obtained were up to 358.33 g, with a minimum of 95.10 g. Proximate analysis showed carpophores with the following composition: 82.25-91.37 % moisture; 1.71 to 13.66 % ash; 15.70 to 20.93 % protein; 0.40 to 1.55 % lipids and 8.60-17.7 % dry matter. The variables evaluated showed differences ( $p \leq 0.05$ ), being the substrates made with 100 % *S. elaeagnifolium* the ones with the highest biological efficiency, carpophore production, harvest weight and nutritional value. The species *P. ostreatus* proved to be efficient in providing substrate for two weeds, as well as producing carpophores with high protein content.

**Keywords:** edible mushrooms, invasive weeds, *Salsola kali*, *Solanum elaeagnifolium*.

### INTRODUCTION

Mushroom *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Fr.) Kumm is one of the most cultivated macromycetes worldwide, ranking second only to *Agaricus bisporus* (Romero-Arenas *et al.*, 2015). This mushroom is characterized by presenting a carpophore with a fleshy

**Citation:** Quiñónez-Martínez M, Peña-Avilés K, Martínez-Ruiz NR, Garza-Ocañas F, Nájera-Medellín JA, Olivas-Sánchez MP. 2022. Production of *Pleurotus ostreatus* cultivated in substrates made from two invasive weeds. *Agrociencia*. 56(3): 405-433. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i3.2796>

**Editor in Chief:**  
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: July 31, 2021.  
Approved: April 12, 2022.  
**Published in Agrociencia:**  
May 9, 2022.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International license.



texture, pleasant taste, and odour (Sekan *et al.*, 2019). It also represents an alternative food source rich in protein, in all essential amino acids, carbohydrates, vitamins (thiamine and riboflavin) and minerals (K, Fe, Na, P and Ca) (Corrêa *et al.*, 2016).

The cultivation technique for the *P. ostreatus* mushroom is well standardized and industrialized on a wide variety of lignocellulosic substrates, has high biological efficiency (EB) (> 40 %), is low cost, and the carpophore develops rapidly and is not usually attacked by diseases and pests (Jin *et al.*, 2020). Mushrooms of the genus *Pleurotus* require substrates with sources of carbon, nitrogen and inorganic compounds, carbon being the element that this mushroom requires in greater proportion. This mushroom is efficient in degrading various cellulose, hemicellulose, lignin, and other complex carbohydrate-based substrates with ease (Koutrotsios *et al.*, 2014; Pandey and Singh, 2014; Song *et al.*, 2020).

Mexico has shown an increase in the production of *P. ostreatus* in the last fifteen years, being currently the country that contributes the largest production in Latin America (80 % of the total production) with a yield that exceeds 60 000 Mg per year (García-Calderón *et al.*, 2021). The production of this mushroom represents a profitable industry with high biotechnological potential in the country since it allows the use of various agro-industrial wastes (Sekan *et al.*, 2019), and other non-conventional materials such as seaweeds (for example, *Glacilaria* spp., *Laminaria* spp., *Sargassum* spp. and *Ulva* spp.) (Kaaya *et al.*, 2011; Hausiku and Mupamwa, 2018).

The species *Solanum elaeagnifolium* Cav. is a sub-shrubby herbaceous perennial that inhabits scrub and grassland regions from the central United States to South America, with a preference for disturbed sites, and has become a problematic species that requires control and proper management in Mexico. The rapid spread of this weed causes significant economic losses due to reduced crop yields, derived from competition (light, water, space, and nutrients), as well as higher incidence of pests and diseases (Uludag *et al.*, 2016). Nevertheless, the plant shows an interesting composition in protein, minerals, and total carbohydrates (Mellado *et al.*, 2008). On the other hand, the species *Salsola kali* L. is an annual herbaceous introduced in the American continent, distributed from Canada to central Mexico, in arid and semi-arid regions; it is considered an active allelopathic species and its propagation significantly reduces agricultural production. This species also has negative impacts on the environment, given its high level of invasiveness to crops, in addition to being a host plant for the beet leafhopper (*Circulifer tenellus*), an insect that transmits the curly top virus, a disease that affects various species of agricultural importance such as sugar beets, tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) and beans (*Phaseolus vulgaris* L.). The latter weed has protein contents in the range of 5.40 to 22.30 %, and total carbohydrates in the range 23.10 to 58.00 % (Hanif *et al.*, 2018).

The hypothesis of this study was that at least one of the weeds used as substrate would increase carpophore production and nutrient content of *P. ostreatus* compared to the use of conventional wheat (*Triticum aestivum*) straw. The objective was to evaluate the biological efficiency and productivity of *P. ostreatus* with the use of substrates

based on *S. elaeagnifolium* and *S. kali* and to evaluate their effect on the composition of harvested carpophores.

## MATERIALS AND METHODS

### Collection and preparation of substrates

*S. elaeagnifolium* and *S. kali* plants were collected from disturbed areas and vacant lots in Ciudad Juárez, Chihuahua, Mexico (31° 44' 39.7 "N 106° 26' 25.8 "W), from July to September. Preference was given to plants that were already dry. Once collected, the plants were stored in raffia sacks and transferred to the Biodiversity Laboratory of the Universidad Autónoma de Ciudad Juárez (UACJ). In parallel, duplicates of these species of weed were collected, which were contrasted with specimens from the UACJ Herbarium, and then left in safekeeping (*S. elaeagnifolium*: 0.00778; *S. kali*: 001241). Only stems of *S. elaeagnifolium* were used, while stems and leaves were used for *S. kali*. In both cases they were cut into 2 to 4 cm fragments. The wheat straw was purchased from a commercial supplier in Ciudad Juárez; proximate composition reported for these study plants is included (Table 1).

The fragments of the weeds were placed in containers with water and kept soaking for 24 hours. Subsequently, they were subjected to a pasteurization process for 2 h in 18.92 L capacity metal pots, maintaining a constant temperature of 70 °C. Once the process had elapsed, they were spread out on metal tables to accelerate cooling; when they reached room temperature, 20 g of calcium carbonate were added to reduce the growth of yeasts and bacteria during the first days of incubation (Pandey and Singh, 2014).

### Substrate inoculation and incubation

The sowing of the inoculum was carried out using sorghum grain (*Sorghum bicolor*) colonized with mycelium of *P. ostreatus* (HONCOP) and kept under refrigeration (3 – 4 °C) until use. Inoculation was carried out on surfaces disinfected with a 0.5 % sodium hypochlorite-chlorine solution.

The substrate was placed in 36 x 49 cm (2 kg) clear plastic bags and 400 g of *P. ostreatus* mycelium inoculum was applied to each replicate. For filling, a layer of substrate was placed on top of a layer of inoculum. This process was repeated until the production

**Table 1.** Proximate composition of dry residues of *Triticum aestivum*, *Solanum elaeagnifolium* and *Salsola kali* species.

|                         | Wheat straw <sup>†</sup> | <i>Solanum elaeagnifolium</i> <sup>‡</sup> | <i>Salsola kali</i> <sup>§</sup> |
|-------------------------|--------------------------|--|----------------------------------|
| Dry matter (%)          | 90.10                    | 81.40                                      | 80.20                            |
| Ash (%)                 | 11.04                    | 11.40                                      | 12.0                             |
| Lipids (%)              | 0.73                     | 2.50                                       | 2.17                             |
| Protein (%)             | 3.34                     | 15.00                                      | 21.50                            |
| Total carbohydrates (%) | 38.54                    | 32.80                                      | 48.40                            |

Source: <sup>†</sup>Romero-Arenas *et al.* (2018); <sup>‡</sup>Mellado *et al.* (2008); <sup>§</sup>Hanif *et al.* (2018).

units were completely filled and closed with the aid of a sterile rubber band. Finally, each bag was labelled with data on the substrate used, bag number and date of planting, according to the methodology described by Mleczek *et al.* (2021).

The experimental design was completely randomized with seven different treatments and four replicates for each. 1: substrate composed of 100 % *S. elaeagnifolium* (SE); 2: substrate composed of 100 % *S. kali* (SK); 3: control substrate with 100% wheat straw (PT); 4: combination substrate 50 % *S. elaeagnifolium* and 50 % *S. kali* (SE-SK); 5: combination substrate 50 % wheat straw and 50 % *S. elaeagnifolium* (PT-SE); 6: combination substrate 50 % wheat straw and 50 % *S. kali* (PT-SK); and 7: substrate composed of 1/3 of *S. elaeagnifolium*, *S. kali* and wheat straw (SE-SK-PT), respectively. Each bag with substrate was considered an experimental unit.

The production units were transferred to an incubation area in darkness, where they remained for 20 to 30 d at a temperature of 23-25 °C; these were monitored daily to detect possible sources of contamination (mold, bacteria, or insects) (Mleczek *et al.*, 2021). Once the mycelium colonized the substrates completely and the first primordia appeared, the cultures were transferred to a fruiting area where they received ten hours of illumination, temperature between 20 to 22 °C and humidity at 70-80 % (Lisiecka *et al.*, 2021). Mature carpophores were harvested with the aid of a sterilized razor, according to the protocols described by Pandey and Singh (2014), with some modifications.

#### **Determination of production parameters and their statistical analyses**

Data collection was carried out after harvesting was completed. The variables considered were quantity of harvested carpophores, total production (g) and morphometry (length and width of the pileus and stipe) of the carpophores. Statistical analysis consisted of a one-way analysis of variance (ANOVA) and a Tukey's test of means ( $p \leq 0.05$ ) to identify differences between treatments. The tests were performed with the help of the statistical package IBM SPSS ver. 25.0 (IBM, 2017). Biological efficiency (EB; capacity of mushrooms to convert a substrate into fruiting bodies) was determined for each of the treatments using the formula proposed by Díaz-Muñoz *et al.* (2019):

$$EB = \frac{\text{Total weight of fresh fruiting bodies}}{\text{Weight of the dry substrate}} \times 100$$

#### **Proximate analysis and statistical analysis**

Moisture content and dry matter were determined by the stove drying method (AOAC, 2000; 926.08), ash was determined by the muffle calcination protocol (AOAC, 2000; 935.42), protein was determined by the Kjeldhal method (AOAC, 2000; 920.123-1920), using a conversion factor of 4.38, and fat was determined by the Soxhlet method (AOAC, 2000). Total carbohydrates were determined by the difference method (AOAC, 2000; FAO, 2002). The energy calculation for the different treatments was performed using Atwater's general factor system (DFI, 2015). The tests were performed in triplicate and

about 80 to 100 g of powdered carpophores were used for each analysis. A one-way analysis of variance (ANOVA) and a Tukey's multiple means test ( $p \leq 0.05$ ) were performed to identify differences in moisture, dry matter, ash, protein, total fat, and carbohydrate composition among the seven treatments evaluated. The tests were performed in the statistical package IBM SPSS ver. 25.0. (IBM, 2017).

## RESULTS AND DISCUSSION

### Morphometric measurements

The quality properties of the mushroom have been related to the size of the carpophore, as well as that of the pileus (cap) and stipe (Owaid *et al.*, 2015). The results for the evaluation of morphometric measurements of the carpophores produced indicate differences in all cases ( $p \leq 0.05$ ). For pileus width (Figure 1A) the best response was obtained when implementing a combination of *S. elaeagnifolium* and wheat straw (PT-SE) ( $11.74 \pm 0.75$  cm); the lowest averages for pileus width were found in the SE-SK-PT combination ( $8.3 \pm 0.57$ ) ( $F = 5.80$ ; g. l. = 6;  $p \leq 0.05$ ).

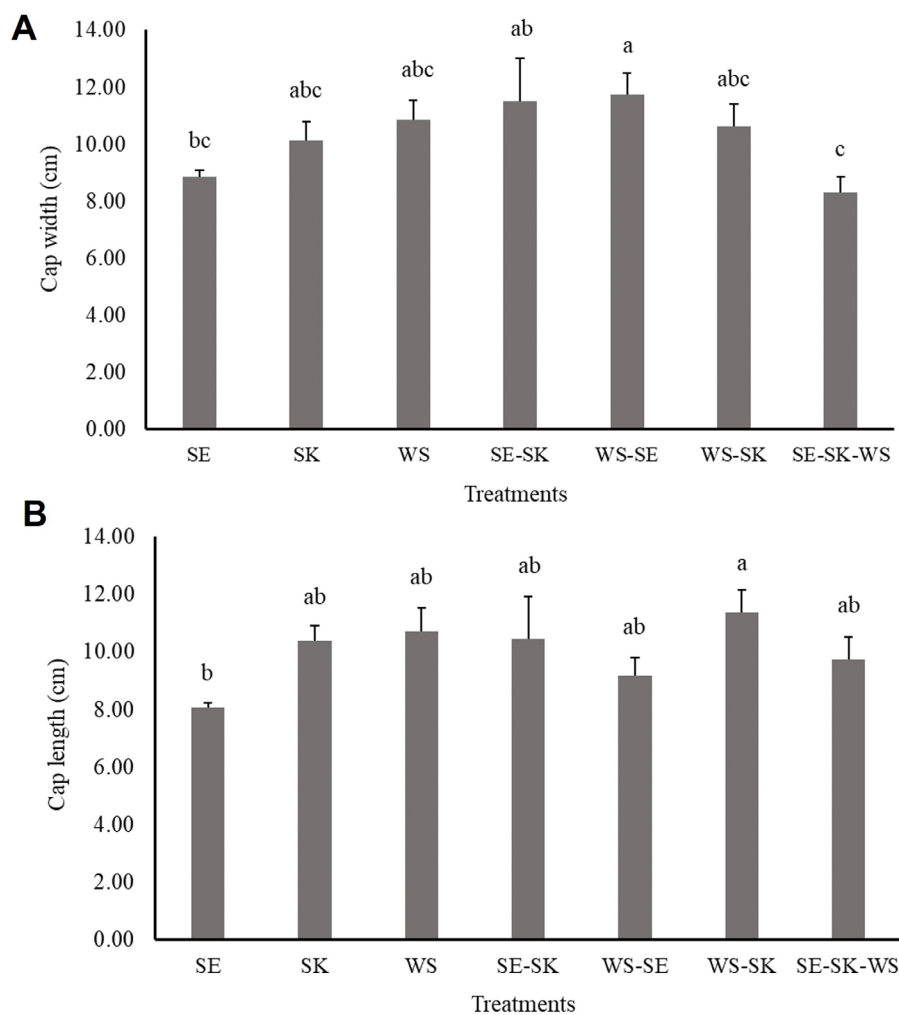
In the variable of pileus length, it can be observed that the PT-SK treatment presented a better response in length ( $11.38 \pm 0.73$  cm). The treatments SE-SK ( $10.46 \pm 1.47$  cm), PT ( $10.71 \pm 0.82$  cm), SK ( $10.40 \pm 0.51$ ) and SE-SK-PT ( $9.73 \pm 0.79$  cm) obtained a similar performance with values close to those presented by PT-SK (Figure 1B). In general, the treatments in combination with wheat straw (PT-SE; PT-SK) and those in combination with the proposed substrates (SE-SK) had the best response in the length and width of *P. ostreatus* carpophore pileus ( $F = 4.74$ ; g. l. = 6;  $p \leq 0.05$ ).

The results for the stipe measurements agreed with those reported by Jonathan *et al.* (2012a) who obtained average lengths of *P. ostreatus* carpophore stipes ranging from 4 to 8 cm using substrates based on rice stubble, cotton, and sawdust of *Milicia excelsa*. Atila (2016) reported diameter measurements of the pileus ranging from 4.64 cm to 7.28 cm, while Andries and Vasilica (2017) obtained carpophores ranging from 10 to 13.5 cm in length. Carpophores with large pileus dimensions represent a commercial attraction, as the consumer aims for larger mushrooms in the case of this species.

For stipe width (Figure 2A), the best response was presented in the SE-SK-PT treatment ( $3.30 \pm 0.39$  cm), followed by SK ( $2.3 \pm 0.15$  cm) and with the lowest values in SE ( $1.4 \pm 0.15$  cm) ( $F = 18.27$ ; g. l. = 6;  $p \leq 0.05$ ). In contrast to the width of the pileus, which was wider in the combination treatments, the values obtained for stipe width were more heterogeneous in all treatments.

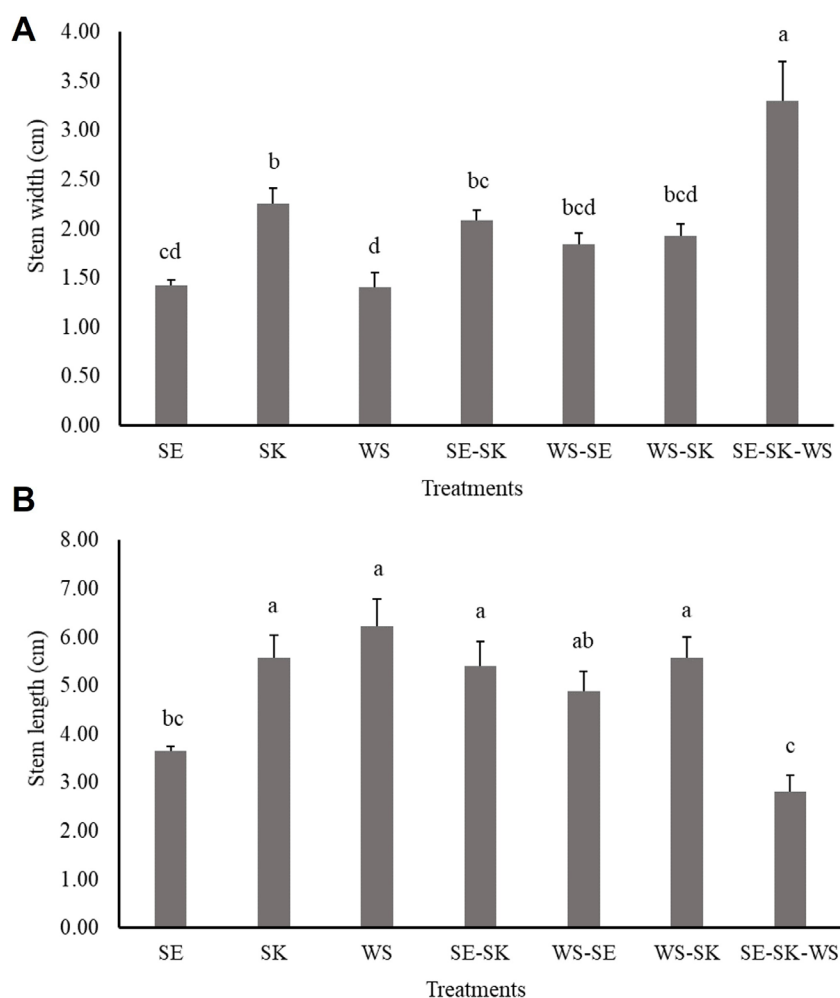
Regarding stipe length values (Figure 2B), greater homogeneity was observed, since treatments SK ( $5.57 \pm 0.47$  cm), PT ( $6.23 \pm 0.55$  cm), SE-SK ( $5.40 \pm 0.50$  cm) and PT-SK ( $5.57 \pm 0.43$ ) presented similar statistical values, while the smallest length on average was recorded in SE-SK-PT ( $2.81 \pm 0.34$  cm) ( $F = 12.66$ , g. l. = 6;  $p \leq 0.05$ ).

The length of the stipe can vary between 2.80 cm and 8.80 cm (Jonathan *et al.* (2012a), although they can also be smaller 3 cm (Andries and Vasilica, 2017). Thinning of the pileus and stipe can be caused by lack of light and faced with the presence of substances in the substrate that cannot degrade the mushroom, the carpophores tend to show abnormal growth (Aghajani *et al.*, 2018). The values reported in the present



**Figure 1.** Means for *Pleurotus ostreatus* pileus produced in the seven treatments evaluated. A: measurements of the pileus width. B: measurements of the pileus length. Different letters in columns indicate statistical differences between treatments (Tukey;  $p \leq 0.05$ ). SE: 100 % *Solanum elaeagnifolium*; SK: 100 % *Salsola kali*; PT: 100 % wheat straw (control); SE-SK: 50 % *S. elaeagnifolium* and 50 % *S. kali*; PT-SE: 50 % wheat straw and 50 % *S. elaeagnifolium*; PT-SK: 50 % wheat straw and 50 % *S. kali*; SE-SK-PT: 1/3 of *S. elaeagnifolium*, *S. kali* and wheat straw.

study for stipe length can be attributed to deficiencies in light conditions, but not to the presence of any substance in the substrate that has affected the development of the carpophores, because in the control group (PT) high values were also obtained for the length of the pileus ( $6.23 \pm 2.79$  cm) and this substrate is used in other investigations as a control, since very good yields have been obtained (Pandey and Singh, 2014). The difference in the growth pattern of morphometric variables may be related to the different chemical compositions of the substrates (Jonathan *et al.*, 2012b). The development and size of the mushroom stipe and pileus can also be affected by environmental (temperature, humidity, fresh air) and spatial conditions (Jonathan

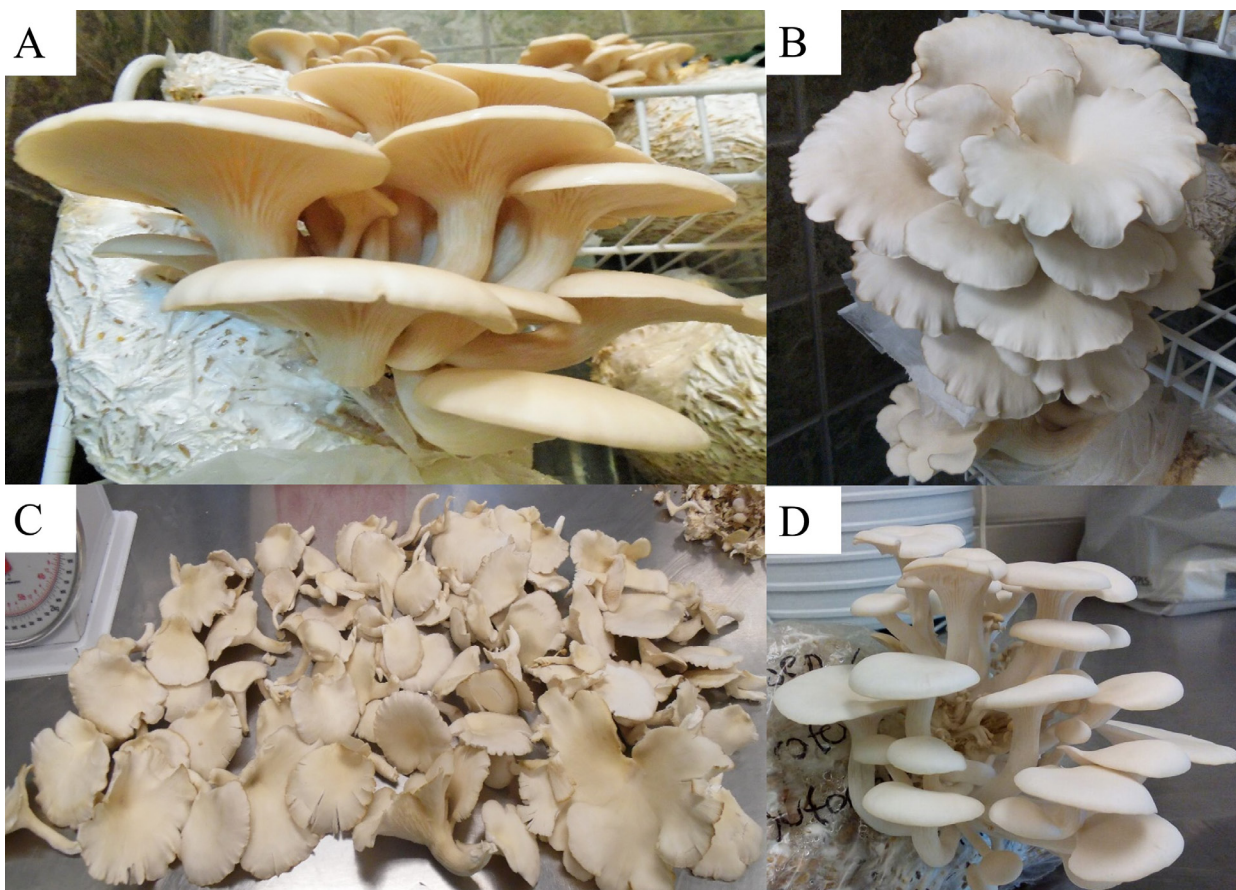


**Figure 2.** Means for *Pleurotus ostreatus* stipes produced in the seven treatments evaluated. A: measurements of stipe width. B: measurements of the stipe length. Different letters in columns indicate statistical differences between treatments (Tukey;  $p \leq 0.05$ ). SE: 100% *Solanum elaeagnifolium*; SK: 100% *Salsola kali*; PT: 100% wheat straw (control); SE-SK: 50% *S. elaeagnifolium* and 50% *S. kali*; PT-SE: 50% wheat straw and 50% *S. elaeagnifolium*; PT-SK: 50% wheat straw and 50% *S. kali*; SE-SK-PT: 1/3 of *S. elaeagnifolium*, *S. kali* and wheat straw.

*et al.*, 2012a). The latter is consistent with the treatments in which the number of carpophores produced was lower, and consequently there was more space for development, and they presented greater length and width in the stipe and pileus (Figure 3).

#### Carpophore production, mass, and biological efficiency

The results obtained for total production show differences ( $F = 8.851$ , g. l. = 6;  $p \leq 0.05$ ), with the SE treatment having the highest mass production (g) with a total of  $358.33 \pm 8.33$  g, followed by the control group PT ( $220.00 \pm 5.00$  g). Regarding the combination



**Figure 3.** Carpophores of *Pleurotus ostreatus* collected from different treatments. A: carpophores from PT treatment; B: carpophores from PT-SE treatment; C: carpophores from SE treatment; D: carpophores from PT-SK treatment. SE: 100% *Solanum elaeagnifolium*; PT: 100% Wheat straw (control); PT-SE: 50% wheat straw and 50% *S. elaeagnifolium*; PT-SK: 50% wheat straw and 50% *S. kali*.

treatments, the highest values were for the PT-SE treatment ( $186.10 \pm 61.12$  g) (Table 1). This variable is related to the number of carpophores produced, being SE the treatment that also obtained the best response in this variable. Although no studies have been conducted on *P. ostreatus* production with the proposed substrates, the results match the values reported by Moran-Arellanos *et al.* (2020), who obtained a carpophore weight ranging from 93.75 g to 187.37 g in substrates based on bean stubble, wheat straw and guaje or huaxin (*Leucaena leucocephala*) husk, although they are higher than those found with substrates based on chihua squash (*Cucurbita argyrosperma*) pulp (35 g) and guazima or pixoi (*Guazuma ulmifolia*) fruit (Moran-Arellanos *et al.*, 2020). The total yield of carpophores produced per treatment also showed differences ( $F = 7.66$ , g. l. = 6;  $p \leq 0.05$ ), with the SE treatment producing the highest amount ( $23.33 \pm 4.33$  mushrooms), the rest of the substrates had similar statistical results, ranging from  $3.67 \pm 0.67$ - $7.67 \pm 0.67 \pm 0.88$  mushrooms produced (Table 2). These results match those

**Table 2.** Total production, carpophore, and biological efficiency of *Pleurotus ostreatus* in the seven treatments evaluated.

| Treatment | Total production (g) | Effective carpophore production (n) | Biological efficiency (%) |
|-----------|----------------------|-------------------------------------|---------------------------|
| SE        | 358.33±8.33 a        | 23.33±4.33 a                        | 50.00 a                   |
| SK        | 200.00±14.43 bc      | 4.33±.33 b                          | 42.47 b                   |
| PT        | 220.00±5.00 b        | 7.67±0.88 b                         | 42.47 b                   |
| SE-SK     | 95.10±9.73 c         | 3.67±0.67 b                         | 13.41 e                   |
| PT-SE     | 186.10±61.12 bc      | 5.67±1.20 b                         | 25.85 c                   |
| PT-SK     | 109.03±8.24 bc       | 3.67±0.67 b                         | 19.56 d                   |
| SE-SK-PT  | 101.70±6.38 bc       | 4.33±0.33 b                         | 17.48 d                   |

Different letters in the same column indicate statistical differences between treatments (Tukey;  $p \leq 0.05$ ). SE: 100% *Solanum elaeagnifolium*; SK: 100% *Salsola kali*; PT: 100% wheat straw (control); SE-SK: 50% *S. elaeagnifolium* and 50% *S. kali*; PT-SE: 50% Wheat straw and 50% *S. elaeagnifolium*; PT-SK: 50% wheat straw and 50% *S. kali*; SE-SK-PT= 1/3 of *S. elaeagnifolium*, *S. kali* and wheat straw.

presented by Hoa *et al.* (2015), who reported carpophore production ranges from 2.17 to 10.32 in substrates of wood sawdust and corn stubble (*Zea mays*), obtaining the highest amount in substrates that were composed entirely of 100 % of any of these agro-industrial wastes. Andries and Vasilica (2017) harvested carpophores produced on wheat straw enriched with sunflower (*Helianthus annuus*) stubble in the range of 10.50–13.00 carpophores. In general, both authors agree that productivity depended on the type of substrate used for cultivation, as well as the strain used. The high carpophore production of the SE treatment may be due to the fact that the chemical composition of *S. elaeagnifolium* reflects that it is rich in lignocellulosic material, structural carbohydrates and crude fibre, protein, and free nitrogen extracts (Mellado *et al.*, 2008).

The EB presented ranges from 17 % in the SE-SK-PT substrate to 50 % in SE, the minimum and maximum respectively ( $F = 18.47$ ; g. l. = 6;  $p \leq 0.05$ ). In general, medium to low values are reported for the biological efficiency of *P. ostreatus* on the substrates evaluated during this study. In the composite substrates, lower EB were observed with the lowest values (25.85–12.41 %). The formation of substrates from various plant sources results in a lower biological efficiency (54.10 % in substrates of wheat straw and olive tree pruning residues (*Olea europaea*) compared to that obtained by the control group (105.00 % in wheat straw) (Abou-Fayssal *et al.*, 2020), which agrees with our results. It is important to note that the means observed in this study are higher than those observed by Díaz-Muñoz *et al.* (2019), who obtained EB less than 20 % in lignin-rich substrates based on sugarcane bagasse (*Saccharum* spp.) (16.77 %), corn stover (12.10 %), rice straw (*Oryza sativa*) (8.65 %) and grass pruning residues (9.97 %). EB can be affected by a wide variety of factors and variants present in the experiment, including the type of substrate, substrate preparation (sterilization, pasteurization), size of the container used for cultivation, presence of contaminants and pests, CO<sub>2</sub> concentration, light, temperature, pH, among others (Atila, 2016).

### Proximate analysis

The results obtained from the proximate analysis of the carpophores harvested from the six treatments and the positive control are reported as percentage of weight on dry basis (Table 3). Significant differences were found in all treatments ( $p \leq 0.05$ ).

The moisture content of harvested carpophores showed significant differences among treatments, ranging from 82.25 to 91.37 %. The highest moisture value was obtained in the carpophores of the PT treatment ( $91.37 \pm 0.04$  %), followed by the PT-SK combination treatment ( $90.84 \pm 0.08$  %), and the lowest moisture value was recorded in the carpophores of the SE-SK and SK treatment ( $86.66 \pm 0.03$  and  $82.25 \pm 0.64$  %, respectively). On the other hand, in dry matter, it was found that the SK treatment presented the highest percentages ( $17.71 \pm 1.11$  %), while SE and SE-SK-PT showed the lowest amount ( $10.40 \pm 0.10$  and  $10.30 \pm 0.07$  %, respectively) ( $F = 159.71$ , g. l. = 6;  $p \leq 0.05$ ) (Table 3). Similar results are observed in the studies of Mintesnot *et al.* (2014), who obtained moisture values from 89.38 % to 92.42% in three different strains of *P. ostreatus* on wheat straw, similarly, they recorded the lowest moisture values for treatments made with substrate based on three invasive plant species: 86.61% with *Lantana camara*; 88.06 % with *Parthenium incanum*; and 85.92 % with *Prosopis juliflora*.

Due to the difference in moisture content of the samples, ash, protein, fat, and carbohydrate data were analysed on a dry weight basis (Table 3). Results for ash content of carpophores ranged from 1.71 to 13.66 %. The highest value was obtained in the SE-SK treatment ( $13.66 \pm 0.16$  %), followed by PT-SK ( $11.56 \pm 0.13$  %). The lowest values were presented in the treatments without substrate combination, with the control PT showing the lowest value ( $1.71 \pm 0.02$  %) ( $F = 1648.29$ ; g. l. = 6;  $p \leq 0.05$ ). The ash content is related to the substrate used and gives a general idea about the mineral content of the carpophores, which is consistent with the data obtained.

Protein content ranged from 15.70 to 20.93 %; the treatment that provided carpophores with more protein was the SE-SK combination ( $20.93 \pm 0.06$  %), followed by SK ( $20.87 \pm 1.88$  %) ( $F = 20.47$ , g. l. = 6;  $p \leq 0.05$ ) (Table 3). These values fall within the range of 14 to

**Table 3.** Proximate analysis of *Pleurotus ostreatus* carpophores produced from seven evaluated treatments.

| Treatment | Moisture (%)  | Dry matter (%) | Ash* (%)      | Proteins* (%) | Lipids* (%) | Total carbohydrates* (%) |
|-----------|---------------|----------------|---------------|---------------|-------------|--------------------------|
| SE        | 89.62±0.06 c  | 10.38±0.06 d   | 5.49±0.08 d   | 20.74±0.47 ab | 0.40±0.00 f | 62.98±0.41 b             |
| SK        | 82.25±0.64 d  | 17.74±0.64 a   | 4.85±0.18 e   | 20.87±1.08 a  | 1.49±0.00 b | 55.02±1.70 d             |
| PT        | 91.37±0.04 a  | 8.62±0.04 f    | 1.71±0.01 f   | 16.64±0.33 cd | 0.59±0.00 e | 72.41±0.32 a             |
| SE-SK     | 86.66±0.03 d  | 13.33±0.03 b   | 13.66±0.09 a  | 20.93±0.03 a  | 1.02±0.01 c | 51.03±0.09 e             |
| PT-SE     | 88.91±0.05 c  | 11.09±0.05 c   | 11.10±0.15 bc | 19.36±0.27 ab | 0.70±0.00 d | 57.73±0.19 d             |
| PT-SK     | 90.84±0.08 ab | 9.15±0.08 e    | 11.56±0.08 b  | 17.53±0.09 c  | 0.99±0.00 c | 60.75±0.13 c             |
| SE-SK-PT  | 89.66±0.64 bc | 10.33±0.04 d   | 10.89±0.09 c  | 15.70±0.19 d  | 1.55±0.01 a | 61.50±0.17 c             |

Mean values ± EE. \*Data on dry weight basis of the samples. Different letters indicate significant difference between the different treatments (Tukey;  $p \leq 0.05$ ). SE: 100% *Solanum elaeagnifolium*; SK: 100% *Salsola kali*; PT: 100% wheat straw (control); SE-SK: 50% *S. elaeagnifolium* and 50% *S. kali*; PT-SE: 50% wheat straw and 50% *S. elaeagnifolium*; PT-SK: 50% wheat straw and 50% *S. kali*; SE-SK-PT: 1/3 of *S. elaeagnifolium*, *S. kali* and wheat straw.

32 % proposed by Koutrotsios *et al.* (2014). Our results are similar to those reported by Jin *et al.* (2018) who found values from 18.35 to 25.86 %, although they are lower than those presented by Li *et al.* (2017) on mushrooms grown on cottonseed (*Gossypium hirsutum*) husk and perilla (*Perilla frutescens*) stems (20.50 to 26.10 %). These differences in protein content have been directly accounted for by the type of substrate used, as a result of differences in nutrient supply and ability of the mushroom to degrade the substrate (Gupta *et al.*, 2016).

Lipid content ranged from 0.40 to 1.55 %. The highest value was found in the SE-SK-PT treatment ( $1.55 \pm 0.02$  %), followed by SK ( $1.49 \pm 0.00$  %), while the lowest was for SE ( $0.40 \pm 0.00$  %) ( $F = 2653.19$ ; g. l. = 6;  $p \leq 0.05$ ). These results were lower than those reported by Jin *et al.* (2018) on *P. ostreatus* carpophores produced on corn stubble and supplemented with plant residues, who obtained a fat range from 2.34 to 2.58%. However, the lipid content did not exceed the limit of 6% proposed for mushrooms (Carrasco-González *et al.*, 2017).

Total carbohydrate content was highest in the PT treatment ( $71.41 \pm 0.56$  %), followed by the SE treatment ( $62.98 \pm 0.72$  %), while the lowest was presented in the SE-SK treatment ( $51.03 \pm 0.16$  %) ( $F = 369.16$ , g. l. = 6;  $p \leq 0.05$ ). Using wheat straw, carbohydrate contents of 62.54 to 71.26 % were also found. This matches with those reported by Jin *et al.* (2018). Carbohydrate contents of 57 % were reported in *Pleurotus ostreatus* produced on substrates made from almond husk (*Prunus dulcis*) and nutshells up to 76% in *Pleurotus* grown on substrates made from *Pinus* spp. needles (Koutrotsios *et al.*, 2014).

Protein and carbohydrate content vary in mushroom carpophores when grown on different agro-industrial waste and alternative substrates, in addition to the type of soil and climate of the site (Rodríguez-Estrada and Pichica, 2017). Grown on a coffee (*Coffea arabica*) residue substrate, *P. ostreatus* showed a protein content between 28.6 and 29.7 %, higher values than those found in this study and with total carbohydrate contents (< 8 % of fresh basis weight) similar to those obtained in this research (6 to 8.5 % of fresh basis weight), except for the SK treatment which had the lowest water content (12.85 %) (Nieto-Juárez *et al.*, 2019).

Regarding the calculation of energy for carpophores in each treatment, the averages of this variable ranged from 32.03 to 61.49 kcal 100 g<sup>-1</sup> of sample (fresh weight basis), with significant differences ( $F = 72.10$ , g. l. = 6;  $p \leq 0.05$ ) among treatments (Table 4). SK carpophores had the highest contribution, whereas the lowest was for PT and PT-SK. The moisture content of carpophores on a fresh basis has an important effect on their energy intake because the lower the water content (as is the case of SK), the higher the dry matter that contributes to the caloric intake, in addition to the higher protein content of SK and SE. This same behaviour was observed in raw mushrooms with variable humidity from 88.3 to 92.4 % (USDA, 2022), or very wide ranges of proteins that this mushroom can present (7.3 to 53.3 %) and variation in its total carbohydrate content (50–60%) in weight in dry basis (Torres-Martínez *et al.*, 2022).

In general, in this first part of the study, the proximate composition of *P. ostreatus* carpophores indicated that substrates obtained from invasive plants such as *S. elaeagnifolium* and *S. kali* allow adequate development and growth of the fungus and

**Table 4.** Energy contribution of *Pleurotus ostreatus* carpophores produced in different treatments.

| Treatment | Energy (kcal 100 g <sup>-1</sup> ) |
|-----------|------------------------------------|
| SE        | 37.00±0.33 bc                      |
| SK        | 61.49±3.05 a                       |
| PT        | 33.89±0.20 c                       |
| SE-SK     | 42.37±0.10 b                       |
| PT-SE     | 37.38±0.24 bc                      |
| PT-SK     | 32.03±0.27 c                       |
| SE-SK-PT  | 36.77±0.18 bc                      |

Mean values ± EE. Data obtained on a fresh weight basis. Different letters indicate significant differences between treatments (Tukey;  $p \leq 0.05$ ). SE: 100% *Solanum elaeagnifolium*; SK: 100% *Salsola kali*; PT: 100% wheat straw (control); SE-SK: 50% *S. elaeagnifolium* and 50% *S. kali*; PT-SE: 50% wheat straw and 50% *S. elaeagnifolium*; PT-SK: 50% wheat straw and 50% *S. kali*; SE-SK-PT: 1/3 of *S. elaeagnifolium*, *S. kali* and wheat straw.

had an important effect on protein and mineral content. However, more studies are needed to determine its safety and toxicity and to suggest potential use for animal or human consumption.

## CONCLUSIONS

Substrates made from the invasive weeds *Solanum elaeagnifolium* and *Salsola kali* can be used effectively for the production of *Pleurotus ostreatus* carpophores. It is not recommended to use them in combination with each other or with wheat straw. The best substrate was 100 % *S. elaeagnifolium*, which produced the highest results in the production of carpophore number, biomass, morphometric variables, and biological efficiency.

In their proximate composition, *P. ostreatus* carpophores obtained from substrates with *S. elaeagnifolium* and *S. kali* showed higher dry matter content, particularly in protein and minerals compared to the conventional wheat straw-based substrate. The caloric contribution of carpophores is particularly related to their protein and carbohydrate content, given their low lipid content.

This study demonstrated that *P. ostreatus* has the ability to produce carpophores of good size and high protein content with the use of substrates from *S. elaeagnifolium* and *S. kali*, considered highly invasive weeds.

## REFERENCES

- Abou-Fayssal S, Alsanad MA, El-Sebaaly Z, Ismail AIH, Sassine YN. 2020. Valorization of olive pruning residues through bioconversion into edible mushroom *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex Fr.) P. Kumm. (1871) of improved nutritional value. *Scientifica* 2020: 3950357. <https://doi.org/10.1155/2020/3950357>
- Aghajani H, Bari E, Bahmani M, Humar M, Ghanbary MAT, Nicholas DD, Zahedian E. 2018. Influence of relative humidity and temperature on cultivation of *Pleurotus* species. *Maderas. Ciencia y Tecnología* 20 (4): 571–578. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-221X2018005004501>
- Andries V, Vasilica A. 2017. Caracterele morfo-culturale ale carpoforilor de *Pleurotus ostreatus* cultivați pe diferite substraturi celulozice. *Știința Agricolă* 2: 27–29.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2000. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 17th Ed. AOAC International. Gaithersburg, MD, USA pp: 69–88.
- Atila F. 2016. Effect of different substrate disinfection methods on the production of *Pleurotus ostreatus*. *Journal of Agricultural Studies* 4 (4): 1–14.
- Carrasco-González JA, Serna-Saldívar SO, Gutiérrez-Urbe JA. 2017. Nutritional composition and nutraceutical properties of the *Pleurotus* fruiting bodies: Potential use as food ingredient. *Journal of Food Composition and Analysis* 58: 69–81. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.01.016>
- Corrêa RCG, Brugnari T, Bracht A, Peralta RM, Ferreira I. 2016. Biotechnological, nutritional and therapeutic uses of *Pleurotus* spp. (Oyster mushroom) related with its chemical composition: A review on the past decade findings. *Trends in Food Science and Technology* 50: 103–117. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.012>
- DFI (Danish Food Informatics). 2015. Energy-The Atwater System. October 06. [http://toolbox.foodcomp.info/ToolBox\\_Atwater.asp](http://toolbox.foodcomp.info/ToolBox_Atwater.asp) (Retrieved: March 2022).
- Díaz-Muñoz K, Casanova-Guajardo M, León Torres CA, Gil Ramírez LA, Bardales-Vásquez CB, Cabos-Sánchez J. 2019. Producción de *Pleurotus ostreatus* (Pleurotaceae) ICFC 153/99 cultivado sobre diferentes residuos lignocelulósicos. *Arnaldoa* 26 (3): 1177–1184. <http://dx.doi.org/10.22497/arnaldoa.263.26322>.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 2002. Food and nutrition paper. Food energy-methods of analysis and conversion factors. *FAO Food and Nutrition Paper* 17. Roma. 87 p.
- García-Calderón ND, Ramos-López MÁ, Rubalcaba-Alejo I, Caratachea-Aguirre IL, Flores-Macías F. 2021. Adición de alfalfa deshidratada como suplemento de sustratos en la producción de *Pleurotus ostreatus*. *Revista Sociedades Rurales, Producción y Medio Ambiente* 21 (41): 77–86.
- Gupta A, Sharma S, Kumar A, Alam P, Ahmad P. 2016. Enhancing nutritional contents of *Lentinus sajor-caju* using residual biogas slurry waste of detoxified mahua cake mixed with wheat straw. *Frontiers in Microbiology* 7: 1529. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01529>
- Hanif Z, Ali HH, Rasool G, Tanveer A, Chauhan BS. 2018. Genus *Salsola*: its benefits, uses, environmental perspectives and future aspects-a review. *Journal of Rangeland Science* 8 (4): 315–328.
- Hausiku MK, Mupambwa HA. 2018. Seaweed amended rice straw substrate and its influence on health-related nutrients, trace elements, growth, and yield of edible white elm mushroom (*Hypsizygus ulmarius*). *International Journal of Agriculture and Biology* 20: 2763–2769.
- Hoang HT, Wang CL, Wang CH. 2015. The Effects of Different Substrates on the Growth, Yield, and Nutritional Composition of Two Oyster Mushrooms (*Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus cystidiosus*). *Mycobiology* 43 (4): 423–434.
- IBM (International Business Machines Corporation). 2017. *IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0*. Armonk, NY: IBM Corp. 424 p.
- Jin Z, Li Y, Ren J, Qin N. 2018. Yield, nutritional content, and antioxidant activity of *Pleurotus ostreatus* on corncobs supplemented with herb residues. *Mycobiology* 46 (1): 24–32.
- Jin Q, Hou Q, Niu T. 2020. Effect of cultivating *Pleurotus ostreatus* on substrates supplemented with herb residues on yield characteristics, substrates degradation, and fruiting bodies' properties. *Journal of Science Food Agriculture* 100: 4901–4910. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10551>
- Jonathan SG, Okon CB, Oyelakin AO, Oluranti OO. 2012a. Nutritional values of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) (Jacq. Fr.) Kumm. cultivated on different agricultural wastes. *Natural Sciences* 10: 179–186.
- Jonathan SG, Okorie AN, Garuba EO, Babayemi OJ. 2012b. Bioconversion of sorghum stalk and rice straw into value added ruminant feed using *Pleurotus pulmonarius*. *Natural Sciences* 10: 10–16.

- Kaaya GP, Kadhila-Muandingi PN, Lotfy HR, Mshigeni KE. 2012. Determination of optimum seaweed concentration for mushroom cultivation and the ability of mushrooms to absorb iodine. *African Journal of Agricultural Research* 7: 3673–3676.
- Koutrotsios G, Mountzouris KC, Chatzipavlidis I, Zervakis GI. 2014. Bioconversion of lignocellulosic residues by *Agrocybe cylindracea* and *Pleurotus ostreatus* mushroom fungi—Assessment of their effect on the final product and spent substrate properties. *Food Chemistry* 161: 127–135. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.121>
- Li H, Zhang Z, Li M, Li X, Sun Z. 2017. Yield, size, nutritional value, and antioxidant activity of oyster mushrooms grown on perilla stalks. *Saudi Journal of Biological Sciences* 24 (2): 347–354. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.10.001>
- Lisiecka J, Prasad R, Jasinska A. 2021. The Utilisation of *Pholiota nameko*, *Hypsizygus marmoreus*, and *Hericium erinaceus* Spent Mushroom Substrates in *Pleurotus ostreatus* Cultivation. *Horticulturae* 7 (10): 396. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7100396>
- Mellado M, Garcia JE, Arévalo JR, Pittroff W. 2008. Replacement value of *Solanum elaeagnifolium* for alfalfa hay offered to growing goats. *Journal of Arid Environments* 72 (11): 2034–2039. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2008.06.009>
- Mintesnot B, Ayalew A, Kebede A. 2014. Evaluation of biomass of some invasive weed species as substrate for oyster mushroom (*Pleurotus* spp.) cultivation. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 17 (2): 213–219.
- Mleczek M, Gąsecka M, Budka A, Niedzielski P, Siwulski M, Kalač P, Mleczek P, Rzymiski P. 2021. Changes in mineral composition of six strains of *Pleurotus* after substrate modifications with different share of nitrogen forms. *European Food Research Technology* 247: 245–257.
- Moran-Arellanos TM, Ortega JB, Cruz MS, Martínez VR, Martínez BC, Pech ZGH. 2020. Potencial biotecnológico de residuos vegetales para producir *Pleurotus ostreatus* en zonas rurales de Campeche. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 11 (3): 685–693. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i3.1925>
- Nieto-Juárez J, Cuzcano-Ruiz A, Reyes-López W. 2019. Estudio preliminar de la composición nutricional del hongo *Pleurotus ostreatus* cultivado en pulpa de café. *Revista de la Sociedad Química del Perú* 85 (4): 422–431. <http://dx.doi.org/10.37761/rsqp.v85i4.256>
- Owaid MN, Abed IA, I-Saeedi SS. 2015. Using of date palm fiber mixed with other lignocelluloses toward *Pleurotus ostreatus* (Higher Basidiomycetes) cultivation. *Emirates Journal of Food Agriculture* 27 (7): 556–561.
- Pandey VK, Singh MP. 2014. Biodegradation of wheat straw by *Pleurotus ostreatus*. *Cellular and Molecular Biology* 60 (5): 29–34.
- Rodríguez-Estrada AE, Pichica J. 2017. Cultivation of *Pleurotus ostreatus*. In: *Edible and Medicinal Mushrooms: Technology and Applications*. Cunha-Zied D, Pardo-Giménez A (eds.) Wiley Blackwell: Oxford, UK pp: 339–360.
- Romero-Arenas O, Martínez MA, Damián MA, Ramírez B, López-Olguín J. 2015. Producción de hongo Shiitake (*Lentinula edodes* Pegler) en bloques sintéticos utilizando residuos agroforestales. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícola* 6 (6): 1229–1238.
- Romero-Arenas O, Valencia-De Ita MA, Rivera-Tapia JA, Tella-Salgado I, Villarreal Espino-Barros OA, Damián-Huato MA. 2018. Capacidad productiva de *Pleurotus ostreatus* utilizando alfalfa deshidratada como suplemento en diferentes sustratos agrícolas. *Agricultura Sociedad y Desarrollo* 15 (2): 145–160.
- Sekan AS, Myronycheva OS, Karlsson O, Gryganskyi AP, Blume Y. 2019. Green potential of *Pleurotus* spp. in biotechnology. *Peer J*. 7: e6664. <https://doi.org/10.7717/peerj.6664>
- Song Q, Deng X, Song RQ. 2020. Expression of *Pleurotus ostreatus* laccase gene in *Pichia pastoris* and its degradation of corn stover lignin. *Microorganisms* 8 (4): 601. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8040601>
- Torres-Martínez B, Vargas-Sánchez RD, Torrescano-Urrutia GR, Esqueda M, Rodríguez-Carpena, JG, Fernández-López J, Perez-Alvarez, JA, Sánchez-Escalante A. 2022. *Pleurotus* Genus as a potential ingredient for meat products. *Food* 11 (779): 1–13. <https://doi.org/10.3390/foods11060779>
- Uludag A, Gbehouhou G, Kashefi J, Bouhache M, Bon MC. 2016. Review of the current situation for *Solanum elaeagnifolium* in the Mediterranean Basin. *EPPO Bulletin* 46: 139–147. <https://doi.org/10.1111/epp.12266>
- USDA (U.S. Department of Agriculture). 2022. Food Data Central: Mushrooms raw. <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/> (Retrieved: March 2022).

## PRODUCCIÓN DE *Pleurotus ostreatus* CULTIVADO EN SUSTRATOS ELABORADOS A PARTIR DE DOS ARVENSES INVASORAS

Miroslava Quiñóñez-Martínez<sup>1\*</sup>, Karina Peña-Avilés<sup>1</sup>, Nina del Rocío Martínez-Ruiz<sup>1</sup>, Fortunato Garza-Ocañas<sup>2</sup>, Jesús Alejandro Nájera-Medellín<sup>1</sup>, Martha Patricia Olivas-Sánchez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Departamento de Ciencias Químico-Biológicas. Av. Benjamín Franklin No. 4650, Zona PRONAF, Cd. Juárez, Chihuahua, México. C. P. 32315

<sup>2</sup> Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Forestales. Carretera Nacional 85 km 145, Linares, Nuevo León, México. C. P. 67700

\* Autor para correspondencia: mquinone@uacj.mx

### RESUMEN

La especie *Pleurotus ostreatus* es un hongo comestible y con un valor comercial alto, cultivado por su facilidad y adaptabilidad en sustratos a base de residuos agroindustriales. Las especies de plantas *Solanum elaeagnifolium* y *Salsola kali* son dos arvenses invasivas, de dispersión rápida en cultivos, zonas ruderales o urbanas que representan pérdidas agropecuarias con costo alto e impacto ambiental. La hipótesis de este trabajo de investigación fue que al menos una de las arvenses incrementa la producción y calidad de *P. ostreatus*. El objetivo fue evaluar la eficiencia biológica y productividad carpoforal de *P. ostreatus* con el uso de sustratos elaborados y combinados a partir de *S. elaeagnifolium* y *S. kali*. Los cultivos de hongos se realizaron con sustratos generados a partir de mezclas entre las arvenses y usando paja de trigo como testigo; de estas combinaciones se obtuvieron siete tratamientos y cuatro repeticiones en un diseño completamente al azar. A los carpóforos obtenidos se les midió el ancho y largo del píleo y estípite, se obtuvo la producción total (g), eficiencia biológica (%), y se realizaron análisis proximales de los hongos cosechados. La producción máxima fue de 23.30 hongos, con mínimos de 3.67 carpóforos. Para el ancho y largo del píleo se obtuvieron medidas de 8.30-11.70 cm y 8.40-11.40 cm, respectivamente. En la variable largo del estípite se presentaron anchuras de 1.40-2.30 cm y largos de 2.80-6.20 cm. Los pesos obtenidos fueron de hasta 358.33 g, con un mínimo de 95.10 g. Los análisis proximales muestran carpóforos con la siguiente composición: 82.25-91.37 % de humedad; 1.71 a 13.66 % en cenizas; 15.70 a 20.93 % en proteína; 0.40 a 1.55 % en lípidos y 8.60-17.7 % en materia seca. Las variables evaluadas mostraron diferencias ( $p \leq 0.05$ ), siendo los sustratos elaborados con 100 % de *S. elaeagnifolium* los de mayor eficiencia biológica, producción carpoforal, peso de cosecha y valor nutricional. La especie *P. ostreatus* demostró ser eficiente para disponer como sustrato a dos plantas arvenses, así como producir carpóforos con alto contenido proteico.

**Palabras clave:** Hongos comestibles, arvenses invasoras, *Salsola kali*, *Solanum elaeagnifolium*.

### INTRODUCCIÓN

El hongo *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Fr.) Kumm es uno de los macromicetos más cultivados a nivel mundial, ocupando el segundo lugar después de *Agaricus bisporus*

**Citation:** Quiñóñez-Martínez M, Peña-Avilés K, Martínez-Ruiz NR, Garza-Ocañas F, Nájera-Medellín JA, Olivas-Sánchez MP. 2022. Producción de *Pleurotus ostreatus* cultivado en sustratos elaborados a partir de dos arvenses invasoras. *Agrociencia*. 56(3): 405-433. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i3.2796>

**Editor in Chief:**  
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: July 31, 2021.  
Approved: April 12, 2022.  
**Published in Agrociencia:**  
May 9, 2022.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International license.



(Romero-Arenas *et al.*, 2015). Este hongo se caracteriza por presentar un carpóforo de textura carnosa, sabor y olor agradables (Sekan *et al.*, 2019), y además representa una fuente alimenticia alternativa rica en proteínas, todos los aminoácidos esenciales, carbohidratos, vitaminas (tiamina y riboflavina) y minerales (K, Fe, Na, P y Ca) (Corrêa *et al.*, 2016).

La técnica de cultivo para el hongo *P. ostreatus* se encuentra bien estandarizada e industrializada en amplia variedad de sustratos lignocelulósicos, tienen alta eficiencia biológica (EB) (> 40 %), es de bajo costo y el carpóforo se desarrolla con rapidez y no suelen ser atacados por enfermedades y plagas (Jin *et al.*, 2020). Los hongos del género *Pleurotus* requieren sustratos con fuentes de carbono, nitrógeno y compuestos inorgánicos, siendo el carbono el elemento que este hongo requiere en mayor proporción. Este hongo es eficiente al degradar con facilidad diversos sustratos a base de celulosa, hemicelulosa, lignina y otros carbohidratos complejos (Koutrotsios *et al.*, 2014; Pandey y Singh, 2014; Song *et al.*, 2020).

México ha mostrado un aumento en la producción de *P. ostreatus* en los últimos quince años, siendo en la actualidad el país que aporta mayor producción en América Latina (80 % de la obtención total) con un rendimiento que supera las 60 000 Mg anuales (García-Calderón *et al.*, 2021). La producción de este hongo representa una industria rentable y con alto potencial biotecnológico en el país ya que permite el aprovechamiento de diversos residuos agroindustriales (Sekan *et al.*, 2019), y otros materiales no convencionales como algas marinas (p. ej. *Glacilariopsis* spp., *Laminaria* spp., *Sargassum* spp. y *Ulva* spp.) (Hausiku y Mupamwa, 2018; Kaaya *et al.*, 2011).

La especie *Solanum elaeagnifolium* Cav. es una herbácea subarborescente perenne que habita en regiones con matorrales y pastizales desde el centro de Estados Unidos hasta Suramérica, con preferencia a lugares perturbados y se ha convertido en una especie problemática que requiere control y manejo adecuado en México. La rápida propagación de esta arvense causa pérdidas económicas importantes por la reducción del rendimiento del cultivo, derivado de la competencia (luz, agua, espacio y nutrientes), así como mayor incidencia de plagas y enfermedades (Uludag *et al.*, 2016). No obstante, la planta muestra una composición interesante en proteína, minerales y carbohidratos totales (Mellado *et al.*, 2008). Por otro lado, la especie *Salsola kali* L. es una herbácea anual introducida en el continente americano, se distribuye desde Canadá hasta el centro de México, en regiones áridas y semiáridas; es considerada una especie alelopática activa y su propagación reduce significativamente la producción agropecuaria. Esta especie también tiene impactos negativos en el ambiente, dado su alto nivel de invasividad a cultivos, además de que es planta hospedante de la chicharrita de la remolacha (*Circulifer tenellus*), insecto que transmite el virus de la punta rizada, una enfermedad que afecta a diversas especies de importancia agrícola como la propia remolacha azucarera, tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Esta última arvense presenta contenidos de proteína en el rango de 5.40 a 22.30 %, y carbohidratos totales en el rango 23.10 a 58.00 % (Hanif *et al.*, 2018).

La hipótesis de este estudio fue que al menos una de las arvenses empleadas como sustrato incrementaría la producción de carpóforos y contenido de nutrientes de *P.*

*ostreatus* en comparación con el empleo de la paja de trigo (*Triticum aestivum*) convencional. El objetivo fue evaluar la eficiencia biológica y productividad de *P. ostreatus* con el uso de sustratos a base de *S. elaeagnifolium* y *S. kali* y evaluar su efecto en la composición de los carpóforos cosechados.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Recolección y preparación de los sustratos

La recolección de plantas de *S. elaeagnifolium* y de *S. kali* se realizó en áreas perturbadas y terrenos baldíos de Ciudad Juárez, Chihuahua, México (31°44'39.7"N 106°26'25.8"W), durante los meses de julio a septiembre. Se tuvo preferencia por aquellas plantas que ya se encontraban secas. Una vez colectadas, las plantas fueron guardadas en sacos de rafia y trasladadas al Laboratorio de Biodiversidad de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez (UACJ). En paralelo, se colectaron duplicados de estas especies de arvenses, mismos que fueron contrastados con ejemplares del Herbario de la UACJ, para luego dejarse en resguardo (*S. elaeagnifolium*: 0.00778; *S. kali*: 001241). Solo se emplearon tallos de *S. elaeagnifolium*, mientras que para *S. kali* se utilizaron tallos y hojas. En ambos casos se cortaron en fragmentos de 2 a 4 cm. La paja de trigo fue adquirida de un proveedor comercial en Ciudad Juárez. En el Cuadro 1 se presenta la composición proximal reportada para estas plantas de estudio.

Los fragmentos de las arvenses se colocaron en tarjas con agua y se mantuvieron en remojo por 24 h. Posteriormente, fueron sometidas a un proceso de pasteurización por dos horas en ollas metálicas de 18.92 L de capacidad, manteniendo una temperatura constante de 70 °C. Una vez transcurrido el proceso se extendieron sobre mesas metálicas para acelerar el enfriamiento, cuando alcanzaron temperatura ambiente se agregaron 20 g de carbonato de calcio para reducir el crecimiento de levaduras y bacterias durante los primeros días de incubación (Pandey y Singh, 2014).

### Inoculación del sustrato e incubación

La siembra del inóculo se realizó utilizando grano de sorgo (*Sorghum bicolor*) colonizado con micelio de *P. ostreatus* (HONCOP) y se mantuvo en refrigeración (3-4 °C) hasta su uso. La inoculación se llevó a cabo sobre superficies desinfectadas con una solución de hipoclorito de sodio cloro al 0.5 %.

**Cuadro 1.** Composición proximal de los residuos secos de las especies *Triticum aestivum*, *Solanum elaeagnifolium* y *Salsola kali*.

|                           | Paja de trigo <sup>†</sup> | <i>Solanum elaeagnifolium</i> <sup>‡</sup> | <i>Salsola kali</i> <sup>§</sup> |
|---------------------------|----------------------------|--|----------------------------------|
| Materia seca (%)          | 90.10                      | 81.40                                      | 80.20                            |
| Cenizas (%)               | 11.04                      | 11.40                                      | 12.0                             |
| Lípidos (%)               | 0.73                       | 2.50                                       | 2.17                             |
| Proteína (%)              | 3.34                       | 15.00                                      | 21.50                            |
| Carbohidratos totales (%) | 38.54                      | 32.80                                      | 48.40                            |

Fuente: <sup>†</sup>Romero-Arenas *et al.* (2018); <sup>‡</sup>Mellado *et al.* (2008); <sup>§</sup>Hanif *et al.* (2018).

El sustrato se colocó en bolsas de plástico transparentes de 36 x 49 cm (2 kg) y se aplicaron 400 g de inóculo de micelio de *P. ostreatus* para cada repetición. Para el llenado se colocó una capa de sustrato y sobre ésta, una capa de inóculo. Este proceso se repitió hasta llenar completamente las unidades de producción, las cuales se cerraron con ayuda de una liga estéril. Por último, cada bolsa se rotuló con los datos del sustrato utilizado, número de bolsa y fecha de la siembra, de acuerdo con la metodología descrita por Mleczek *et al.* (2021).

El diseño experimental fue completamente al azar con siete tratamientos diferentes y cuatro repeticiones para cada uno: 1) Sustrato compuesto de 100 % *S. elaeagnifolium* (SE); 2) Sustrato compuesto de 100 % *S. kali* (SK); 3) Sustrato testigo con 100 % Paja de trigo (PT); 4) Sustrato de combinación 50 % *S. elaeagnifolium* y 50 % *S. kali* (SE-SK); 5) Sustrato de combinación 50 % Paja de trigo y 50 % *S. elaeagnifolium* (PT-SE); 6) Sustrato de combinación 50 % Paja de trigo y 50 % *S. kali* (PT-SK); y, 7) Sustrato compuesto por 1/3 de *S. elaeagnifolium*, *S. kali* y Paja de trigo (SE-SK-PT), respectivamente. Cada bolsa con sustrato fue considerada una unidad experimental.

Las unidades de producción se trasladaron a un área de incubación en oscuridad, donde permanecieron de 20 a 30 días a una temperatura de 23-25 °C; estas fueron monitoreadas a diario para detectar posibles focos de contaminación (mohos, bacterias o insectos) (Mleczek *et al.*, 2021). Una vez que el micelio colonizó en su totalidad a los sustratos y se observó la aparición de los primeros primordios, los cultivos se transfirieron a un área de fructificación donde recibieron diez horas de iluminación, temperatura entre 20 a 22 °C y humedad al 70-80 % (Lisiecka *et al.*, 2021). Los carpóforos maduros se cosecharon con ayuda de una navaja esterilizada, de acuerdo con los protocolos descritos por Pandey y Singh (2014), con algunas modificaciones.

#### Determinación de parámetros de producción y su análisis estadístico

La toma de datos se realizó una vez finalizada la cosecha. Las variables que se consideraron fueron: cantidad de carpóforos cosechados, producción total (g) y morfometría (largo y ancho del píleo y estípite) de los carpóforos.

El análisis estadístico consistió en un análisis de varianza (ANDEVA) de una vía y una prueba de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) para identificar diferencias entre los tratamientos. Las pruebas se realizaron con ayuda del paquete estadístico IBM SPSS ver. 25.0 (IBM, 2017).

La eficiencia biológica (EB; capacidad de los hongos de convertir un sustrato en cuerpos fructíferos), se determinó para cada uno de los tratamientos mediante la fórmula propuesta por Díaz-Muñoz *et al.* (2019):

$$EB = \frac{\text{Peso total de los cuerpos fructíferos frescos (g)}}{\text{Peso del sustrato seco (g)}} \times 100$$

#### Análisis proximal y su análisis estadístico

El contenido de humedad y materia seca se determinó por el método de secado en estufa (AOAC, 2000; 926.08), las cenizas con el protocolo de calcinación en mufla

(AOAC, 2000; 935.42), las proteínas con el método de Kjeldhal (AOAC, 2000; 920.123-1920), utilizando el factor de conversión de 4.38 y las grasas con el método de Soxhlet (AOAC, 2000). Los carbohidratos totales se determinaron por el método de diferencia (AOAC, 2000; FAO, 2002). El cálculo de energía para los diferentes tratamientos se realizó mediante el sistema de factor general de Atwater (DFI, 2015). Las pruebas se realizaron por triplicado y se empleó alrededor de 80 a 100 g de carpóforos pulverizado para cada análisis.

Se realizó un análisis de varianza de una vía (ANDEVA) y una prueba múltiple de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) para identificar diferencias entre la composición en humedad, materia seca, cenizas, proteínas, grasas totales y carbohidratos entre los siete tratamientos evaluados. Las pruebas se realizaron con ayuda del paquete estadístico IMB SPSS ver. 25.0. (IBM, 2017).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

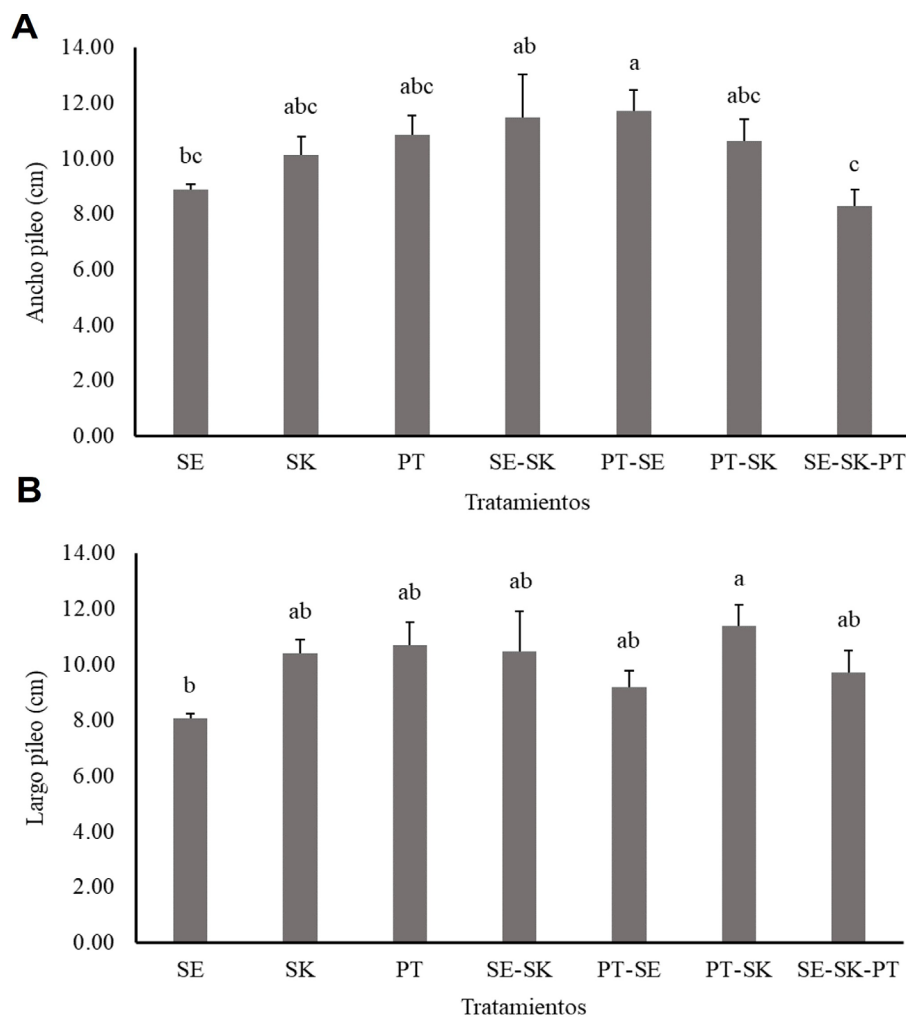
### Medidas morfométricas

Las propiedades de calidad del hongo se han relacionado con el tamaño del carpóforo, así como el del píleo (sombrero) y el estípite (Owaid *et al.*, 2015). Los resultados para la evaluación de las medidas morfométricas de los carpóforos producidos indican diferencias en todos los casos ( $p \leq 0.05$ ). Para el ancho del píleo (Figura 1A) se obtuvo la mejor respuesta al implementar una combinación de *S. elaeagnifolium* y paja de trigo (PT-SE) ( $11.74 \pm 0.75$  cm); los promedios más bajos para el ancho del píleo se encontraron en la combinación SE-SK-PT ( $8.3 \pm 0.57$ ) ( $F = 5.80$ ; g. l. = 6;  $p \leq 0.05$ ).

En la variable largo del píleo se puede observar que el tratamiento PT-SK presentó mejor respuesta en longitud ( $11.38 \pm 0.73$  cm). Los tratamientos SE-SK ( $10.46 \pm 1.47$  cm), PT ( $10.71 \pm 0.82$  cm), SK ( $10.40 \pm 0.51$ ) y SE-SK-PT ( $9.73 \pm 0.79$  cm) obtuvieron un desempeño similar con valores cercanos a los presentados por PT-SK (Figura 1B). En general, los tratamientos en combinación con paja de trigo (PT-SE; PT-SK) y los de combinación con los sustratos propuestos (SE-SK) tuvieron la mejor respuesta en la longitud y anchura del píleo del carpóforo de *P. ostreatus* ( $F = 4.74$ ; g. l. = 6;  $p \leq 0.05$ ).

Los resultados para las medidas del píleo concuerdan con lo reportado por Jonathan *et al.* (2012a), quienes obtuvieron longitudes medias del píleo de carpóforos de *P. ostreatus* que oscilaban entre los 4 a 8 cm utilizando sustratos a base de rastrojo de arroz, algodón y aserrín de *Milicia excelsa*. Atila (2016) reportó medidas del diámetro del píleo que oscilaban entre 4.64 cm y 7.28 cm, en tanto que Andries y Vasilica (2017) obtuvieron carpóforos con una longitud de entre 10 a 13.5 cm. Los carpóforos con píleo de grandes dimensiones representan un atractivo comercial, ya que el consumidor se orienta hacia hongos de mayor tamaño en el caso de esta especie.

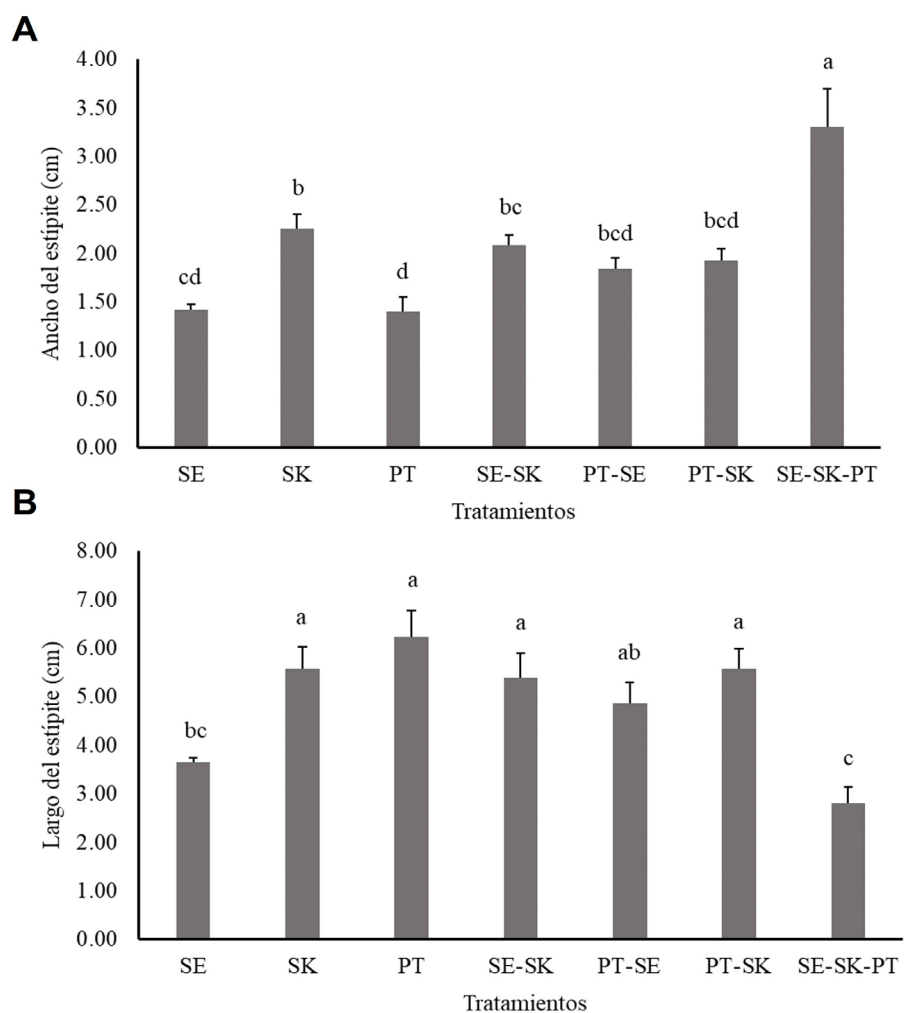
Para el ancho de estípite (Figura 2A), la mejor respuesta se presentó en el tratamiento SE-SK-PT ( $3.30 \pm 0.39$  cm), seguido por el SK ( $2.3 \pm 0.15$  cm) y con los valores más bajos en SE ( $1.4 \pm 0.15$  cm) ( $F = 18.27$ ; g. l. = 6;  $p \leq 0.05$ ). A diferencia del ancho del píleo que fueron más anchos en los tratamientos de combinaciones, en el ancho del estípite los valores obtenidos fueron más heterogéneos en todos los tratamientos.



**Figura 1.** Medias para el píleo de *Pleurotus ostreatus* producido en los siete tratamientos evaluados. A) Medidas del ancho del píleo. B) Medidas del largo del píleo. Letras diferentes sobre las columnas indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Tukey;  $p \leq 0.05$ ). SE= 100 % *Solanum elaeagnifolium*; SK= 100 % *Salsola kali*; PT= 100 % Paja de trigo (control); SE-SK=50 % *S. elaeagnifolium* y 50 % *S. kali*; PT-SE=50 % Paja de trigo y 50 % *S. elaeagnifolium*; PT-SK= 50 % Paja de trigo y 50 % *S. kali*; SE-SK-PT= 1/3 de *S. elaeagnifolium*, *S. kali* y paja de trigo.

En cuanto a los valores del largo del estípite (Figura 2B) se observó mayor homogeneidad, ya que los tratamientos SK ( $5.57 \pm 0.47$  cm), PT ( $6.23 \pm 0.55$  cm), SE-SK ( $5.40 \pm 0.50$  cm) y PT-SK ( $5.57 \pm 0.43$  cm) presentan valores estadísticos similares, mientras que la longitud más pequeña en promedio se registró en SE-SK-PT ( $2.81 \pm 0.34$  cm) ( $F = 12.66$ , g. l. = 6;  $p \leq 0.05$ ).

El del estípite puede variar entre 2.80 cm y 8.80 cm (Jonathan *et al.* (2012a), aunque también pueden ser menores 3 cm (Andries y Vasilica, 2017). El adelgazamiento del píleo y estípite puede ser provocado por falta de luz, y frente a la presencia de



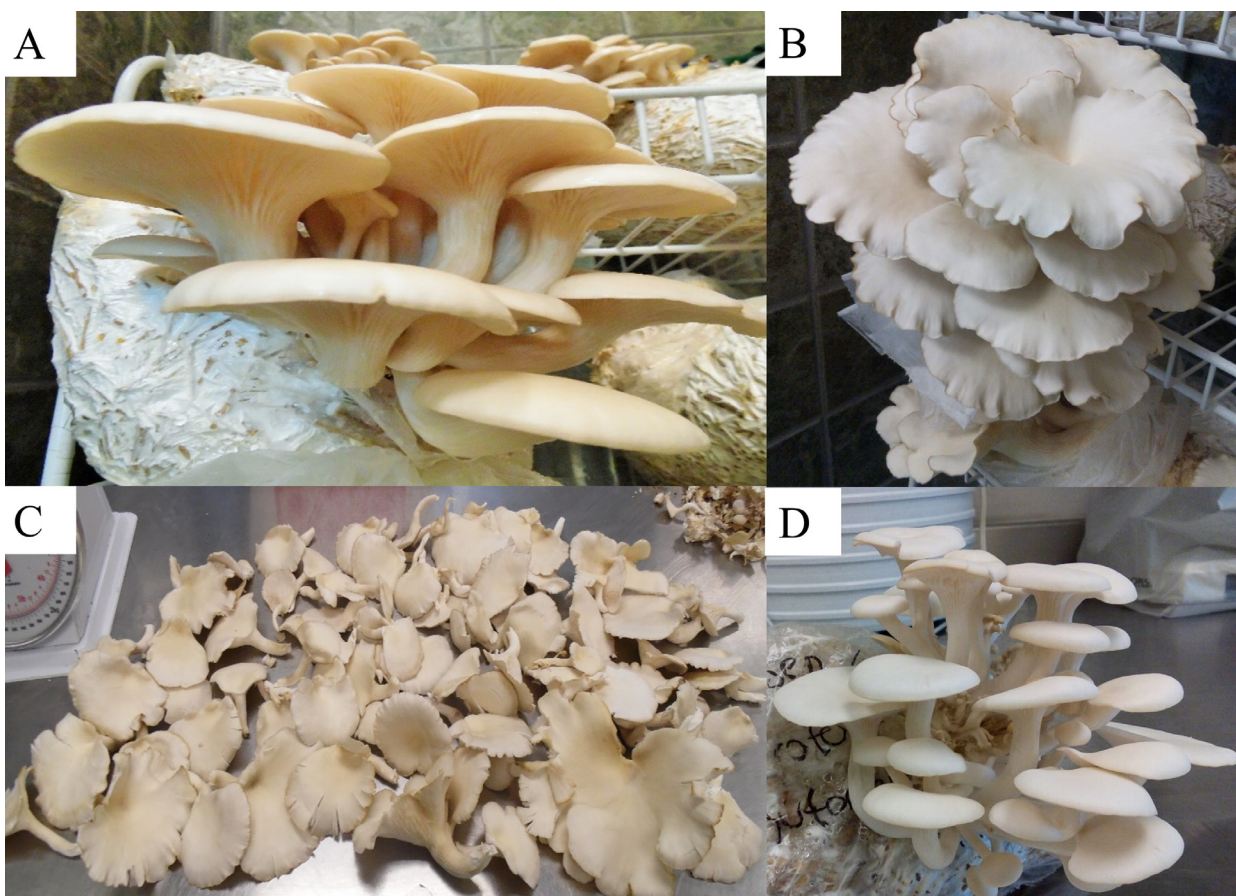
**Figura 2.** Medias para el estípite de *Pleurotus ostreatus* producido en los siete tratamientos evaluados. A) Medidas del ancho del estípite. B) Medidas del largo del estípite. Letras distintas sobre las columnas indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Tukey;  $p \leq 0.05$ ). SE= 100 % *Solanum elaeagnifolium*; SK= 100 % *Salsola kali*; PT= 100 % Paja de trigo (control); SE-SK=50 % *S. elaeagnifolium* y 50 % *S. kali*; PT-SE=50 % Paja de trigo y 50 % *S. elaeagnifolium*; PT-SK= 50 % Paja de trigo y 50 % *S. kali*; SE-SK-PT= 1/3 de *S. elaeagnifolium*, *S. kali* y paja de trigo.

sustancias en el sustrato que no pueda degradar el hongo, los carpóforos tienden mostrar crecimiento anormal (Aghajani *et al.*, 2018). Los valores reportados en el presente estudio para longitud del estípite se puedan atribuir a deficiencias en las condiciones lumínicas, pero no la presencia de alguna sustancia en el sustrato que haya afectado el desarrollo de los carpóforos, esto debido a que en el grupo testigo (PT) también se obtuvieron valores altos para el largo del píleo ( $6.23 \pm 2.79$  cm) y este sustrato es utilizado en otras investigaciones como testigo, pues se han obtenido muy buenos rendimientos (Pandey y Singh, 2014).

La diferencia en el patrón de crecimiento de las variables morfológicas puede estar relacionada con las diferentes composiciones químicas de los sustratos (Jonathan *et al.*, 2012b). El desarrollo y tamaño del estípite y píleo del hongo también pueden ser afectados por condiciones ambientales (temperatura, humedad, aire fresco) y de espacio (Jonathan *et al.*, 2012a). Esto último concuerda con los tratamientos en los que el número de carpóforos producidos fue más bajo, por consecuencia hubo mayor espacio para el desarrollo y presentaron mayor longitud y anchura en el estípite y píleo (Figura 3).

#### Producción carpóforal, en masa y eficiencia biológica

Los resultados obtenidos para la producción total muestran diferencias ( $F = 8.851$ ,  $g.l. = 6$ ;  $p \leq 0.05$ ), siendo el tratamiento SE el que obtuvo la mayor producción en masa (g) con un total de  $358.33 \pm 8.33$  g, seguido del grupo testigo PT ( $220.00 \pm 5.00$  g). En cuanto a los tratamientos de combinaciones, los valores más altos fueron para el



**Figura 3.** Carpóforos de *Pleurotus ostreatus* colectados de distintos tratamientos. A) Carpóforos del tratamiento PT; B) Carpóforos del tratamiento PT-SE; C) Carpóforos del tratamiento SE; D) Carpóforos del tratamiento PT-SK. SE= 100 % *Solanum elaeagnifolium*; PT= 100 % Paja de trigo (control); PT-SE=50 % Paja de trigo y 50 % *S. elaeagnifolium*; PT-SK= 50 % Paja de trigo y 50 % *S. kali*.

tratamiento PT-SE ( $186.10 \pm 61.12$  g) (Cuadro 1). Esta variable está relacionada con el número de carpóforos producidos, siendo SE el tratamiento que también obtuvo la mejor respuesta en esta variable. Si bien no se han realizado estudios en producción de *P. ostreatus* con los sustratos propuestos, los resultados concuerdan con los valores reportados por Moran-Arellanos *et al.* (2020), quienes obtuvieron un peso carpoforal que oscilaba entre los 93.75 g a 187.37 g en sustratos a base de rastrojo de frijol, paja de trigo y cascarilla de guaje o huaxin (*Leucaena leucocephala*), aunque son superiores a los encontrados con sustratos a base de pulpa de calabaza chihua (*Cucurbita argyrosperma*) (35 g) y fruto de guazima o pixoi (*Guazuma ulmifolia*) (Moran-Arellanos *et al.*, 2020). La producción total de carpóforos producidos por tratamiento también mostró diferencias ( $F = 7.66$ , g. l. = 6;  $p \leq 0.05$ ), siendo el tratamiento SE el que mayor cantidad produjo ( $23.33 \pm 4.33$  hongos), el resto de los sustratos tuvieron resultados estadísticos similares, en un rango de  $3.67 \pm 0.67$ - $7.67 \pm 0.88$  hongos producidos (Cuadro 2). Estos resultados concuerdan con lo presentado por Hoa *et al.* (2015), quienes reportaron rangos de producción carpoforal de 2.17 a 10.32 en sustratos de aserrín de madera y rastrojo de maíz (*Zea mays*), obteniendo la mayor cantidad en los sustratos que estaban compuestos en su totalidad por el 100 % de alguno de estos desechos agroindustriales. Andries y Vasilica (2017) cosecharon los carpóforos producidos en paja de trigo enriquecida con rastrojo de girasol (*Helianthus annuus*) en un rango de 10.50-13.00 carpóforos. En general ambos autores concuerdan que la productividad dependía de los tipos de sustrato utilizados para el cultivo, así como de la cepa empleada. La alta producción en carpóforos del tratamiento SE puede deberse a que la composición química de *S. elaeagnifolium* refleja que es rico en material lignocelulósico, carbohidratos estructurales y fibra cruda, proteína y extractos con nitrógeno libre (Mellado *et al.*, 2008). La EB presentó rangos del 17 % en el sustrato SE-SK-PT hasta 50 % en SE, siendo el mínimo y máximo, respectivamente ( $F = 18.47$ ; g. l. = 6;  $p \leq 0.05$ ). En general se reportan

**Cuadro 2.** Producción total, carpoforal y eficiencia biológica de *Pleurotus ostreatus* en los siete tratamientos evaluados.

| Tratamiento | Producción total (g)  | Producción de carpóforos efectivos (n) | Eficiencia biológica (%) |
|-------------|-----------------------|--|--------------------------|
| SE          | $358.33 \pm 8.33$ a   | $23.33 \pm 4.33$ a                     | 50.00 a                  |
| SK          | $200.00 \pm 14.43$ bc | $4.33 \pm 0.33$ b                      | 42.47 b                  |
| PT          | $220.00 \pm 5.00$ b   | $7.67 \pm 0.88$ b                      | 42.47 b                  |
| SE-SK       | $95.10 \pm 9.73$ c    | $3.67 \pm 0.67$ b                      | 13.41 e                  |
| PT-SE       | $186.10 \pm 61.12$ bc | $5.67 \pm 1.20$ b                      | 25.85 c                  |
| PT-SK       | $109.03 \pm 8.24$ bc  | $3.67 \pm 0.67$ b                      | 19.56 d                  |
| SE-SK-PT    | $101.70 \pm 6.38$ bc  | $4.33 \pm 0.33$ b                      | 17.48 d                  |

Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Tukey;  $p \leq 0.05$ ). SE= 100 % *Solanum elaeagnifolium*; SK= 100 % *Salsola kali*; PT= 100 % Paja de trigo (control); SE-SK=50 % *S. elaeagnifolium* y 50 % *S. kali*; PT-SE=50 % Paja de trigo y 50 % *S. elaeagnifolium*; PT-SK= 50 % Paja de trigo y 50 % *S. kali*; SE-SK-PT= 1/3 de *S. elaeagnifolium*, *S. kali* y paja de trigo.

valores medios a bajos en la eficiencia biológica de *P. ostreatus* en los sustratos evaluados durante la presente investigación. En los sustratos compuestos se observaron EB menores con los valores más bajos (25.85 %-12.41 %). La conformación de sustratos a partir de diversas fuentes vegetales resulta en una menor eficiencia biológica (54.10 % en sustratos de paja de trigo y residuos de poda de árboles de aceituna (*Olea europaea*) en comparación con la obtenida por el grupo testigo (105.00 % en paja de trigo) (Abou-Fayssal *et al.*, 2020), lo cual concuerda con nuestros resultados. Es importante destacar que las medias observadas en el presente estudio son superiores a las observadas por Díaz-Muñoz *et al.* (2019), quienes obtuvieron EB menores al 20 % en sustratos ricos en lignina a base de bagazo de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) (16.77 %), coronta de maíz (12.10 %), paja de arroz (*Oryza sativa*) (8.65 %) y residuos de poda de pasto (9.97 %). La EB puede ser afectada por una gran variedad de factores y variantes presentes en el experimento, entre ellos el tipo de sustrato, la preparación de éste (esterilización, pasteurización), tamaño del contenedor usado para el cultivo, presencia de contaminantes y plagas, concentración de CO<sub>2</sub>, luz, temperatura, pH, entre otros (Atila, 2016).

### Análisis proximal

Los resultados obtenidos del análisis proximal de los carpóforos cosechados de los seis tratamientos y el testigo positivo se reportan en porcentaje de peso en base seca (Cuadro 3). En todos se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ( $p \leq 0.05$ ).

El contenido de humedad de los carpóforos cosechados mostró diferencias significativas en los distintos tratamientos, atributo que varió de 82.25 a 91.37 %. El valor más alto de humedad se obtuvo en los carpóforos del tratamiento PT (91.37 ± 0.04 %), seguido del tratamiento de la combinación PT-SK (90.84 ± 0.08 %), y el valor de humedad más bajo se registró en los carpóforos del tratamiento de SE-SK y SK (86.66 ± 0.03 y 82.25 ± 0.64 %, respectivamente). Por su parte, en materia seca, se encontró que

**Cuadro 3.** Análisis proximal de los carpóforos de *Pleurotus ostreatus* producidos a partir de siete tratamientos evaluados.

| Tratamiento | Humedad (%)   | Materia Seca (%) | Cenizas*      | Proteínas*    | Lípidos*    | Carbohidratos totales* |
|-------------|---------------|------------------|---------------|---------------|-------------|------------------------|
|             | (%)           | (%)              | (%)           | (%)           | (%)         | (%)                    |
| SE          | 89.62±0.06 c  | 10.38±0.06 d     | 5.49±0.08 d   | 20.74±0.47 ab | 0.40±0.00 f | 62.98±0.41 b           |
| SK          | 82.25±0.64 d  | 17.74±0.64 a     | 4.85±0.18 e   | 20.87±1.08 a  | 1.49±0.00 b | 55.02±1.70 d           |
| PT          | 91.37±0.04 a  | 8.62±0.04 f      | 1.71±0.01 f   | 16.64±0.33 cd | 0.59±0.00 e | 72.41±0.32 a           |
| SE-SK       | 86.66±0.03 d  | 13.33±0.03 b     | 13.66±0.09 a  | 20.93±0.03 a  | 1.02±0.01 c | 51.03±0.09 e           |
| PT-SE       | 88.91±0.05 c  | 11.09±0.05 c     | 11.10±0.15 bc | 19.36±0.27 ab | 0.70±0.00 d | 57.73±0.19 d           |
| PT-SK       | 90.84±0.08 ab | 9.15±0.08 e      | 11.56±0.08 b  | 17.53±0.09 c  | 0.99±0.00 c | 60.75±0.13 c           |
| SE-SK-PT    | 89.66±0.64 bc | 10.33±0.04 d     | 10.89±0.09 c  | 15.70±0.19 d  | 1.55±0.01 a | 61.50±0.17 c           |

Valores medios ± EE. \*Datos en peso en base seca de las muestras. Letras diferentes indican diferencia significativa entre los diferentes tratamientos (Tukey;  $p \leq 0.05$ ). SE= 100 % *Solanum elaeagnifolium*; SK= 100 % *Salsola kali*; PT= 100 % Paja de trigo (control); SE-SK=50 % *S. elaeagnifolium* y 50 % *S. kali*; PT-SE=50 % Paja de trigo y 50 % *S. elaeagnifolium*; PT-SK= 50 % Paja de trigo y 50 % *S. kali*; SE-SK-PT= 1/3 de *S. elaeagnifolium*, *S. kali* y paja de trigo.

el tratamiento SK presentó los mayores porcentajes ( $17.71 \pm 1.11$  %), mientras que SE y SE-SK-PT mostraron la menor cantidad ( $10.40 \pm 0.10$  y  $10.30 \pm 0.07$  %, respectivamente) ( $F = 159.71$ , g. l. = 6;  $p \leq 0.05$ ) (Cuadro 3). Resultados similares se observan en los estudios de Mintesnot *et al.* (2014), quienes obtuvieron valores de humedad de 89.38 % a 92.42 % en tres cepas distintas de *P. ostreatus* en paja de trigo, del mismo modo, registraron los valores más bajos en humedad para los tratamientos realizados con sustrato a base de tres especies de plantas invasoras: 86.61 % con *Lantana camara*; 88.06 % con *Parthenium incanum*; y 85.92 % con *Prosopis juliflora*.

Debido a la diferencia en el contenido de humedad de las muestras, los datos de cenizas, proteínas, grasas y carbohidratos se analizaron en peso base seca (Cuadro 3). Los resultados para el contenido de cenizas de los carpóforos variaron de 1.71 a 13.66 %. El valor más alto se obtuvo en el tratamiento SE-SK ( $13.66 \pm 0.16$  %), seguido del PT-SK ( $11.56 \pm 0.13$  %). Los valores más bajos se presentaron en los tratamientos sin combinación de sustratos, con el testigo PT mostrando el valor más bajo ( $1.71 \pm 0.02$  %) ( $F = 1648.29$ ; g. l. = 6;  $p \leq 0.05$ ). El contenido de cenizas está relacionado con el sustrato empleado y da una idea general acerca del contenido de minerales en los carpóforos, lo cual es consistente con los datos obtenidos.

El contenido de proteína se presentó en un rango de 15.70 a 20.93 %; el tratamiento que brindó carpóforos con más proteína fue la combinación SE-SK ( $20.93 \pm 0.06$  %), seguido de SK ( $20.87 \pm 1.88$  %) ( $F = 20.47$ , g. l. = 6;  $p \leq 0.05$ ) (Cuadro 3). Estos valores entran dentro del rango de 14 a 32 % propuesto por Koutrotsios *et al.*, (2014). Nuestros resultados son similares a los reportados por Jin *et al.* (2018), quienes encontraron valores de 18.35 a 25.86 %, aunque son menores a los presentados por Li *et al.* (2017) en hongos cultivados en cáscara de semilla de algodón (*Gossypium hirsutum*) y tallos de perilla (*Perilla frutescens*) (20.50 a 26.10 %). Estas diferencias en el contenido proteico se han justificado de manera directa por el tipo de sustrato empleado, como resultado de las diferencias en el suministro de nutrientes y habilidad del hongo de degradar el sustrato (Gupta *et al.*, 2016).

El contenido de lípidos osciló entre 0.40 a 1.55 %. El valor más alto se encontró en el tratamiento SE-SK-PT ( $1.55 \pm 0.02$  %), seguido del SK ( $1.49 \pm 0.00$  %), mientras el más bajo fue para SE ( $0.40 \pm 0.00$  %) ( $F = 2653.19$ ; g. l. = 6;  $p \leq 0.05$ ). Estos resultados obtenidos fueron menores a los reportados por Jin *et al.* (2018) en carpóforos de *P. ostreatus* producidos en rastrojo de maíz y suplementados con residuos vegetales, quienes obtuvieron un rango de grasas de 2.34 a 2.58 %. No obstante, el contenido de lípidos no superó el límite del 6 % propuesto para los hongos (Carrasco-González *et al.*, 2017).

El contenido de carbohidratos totales fue mayor en el tratamiento PT ( $71.41 \pm 0.56$  %), seguido por el tratamiento SE ( $62.98 \pm 0.72$  %), mientras que el más bajo se presentó en el tratamiento SE-SK ( $51.03 \pm 0.16$  %) ( $F = 369.16$ , g. l. = 6;  $p \leq 0.05$ ). Usando paja de trigo también se encontraron contenidos de carbohidratos de 62.54 a 71.26 % (Esto concuerda con lo reportado por (Jin *et al.*, 2018). En *Pleurotus ostreatus* producido en sustratos de cáscara de almendra (*Prunus dulcis*) se reportaron contenidos de carbohidratos de 57.0 %, y cáscara de nuez de hasta 76.0 % en *Pleurotus* crecido en sustratos hechos con pínulas de *Pinus* spp. (Koutrotsis *et al.*, 2014).

El contenido de proteínas y carbohidratos varían en los carpóforos de los hongos cuando se cultivan en diferentes residuos agroindustriales y sustratos alternativos, además del tipo de suelo y clima del lugar (Rodríguez-Estrada y Pichica, 2017). Cultivado en un sustrato de residuo de café (*Coffea arabica*), *P. ostreatus* mostró un contenido de proteína entre 28.6 y 29.7 %, valores superiores a los encontrados en este estudio y con contenidos de carbohidratos totales (< 8 % del peso en base fresca) similar a lo obtenido en esta investigación (6 a 8.5 % del peso en base fresca), excepto para el tratamiento SK que tuvo el menor contenido de agua (12.85 %) (Nieto-Juárez *et al.*, 2019).

El cálculo de energía para carpóforos en cada tratamiento se muestra en el Cuadro 4. Los promedios de esta variable oscilaron de 32.03 a 61.49 kcal 100 g<sup>-1</sup> de muestra (peso en base fresca), con diferencias significativas entre tratamientos (F = 72.10, g. l. = 6; *p* ≤ 0.05). Los carpóforos SK tuvieron el mayor aporte, mientras que el menor fue para PT y PT-SK. El contenido de humedad de los carpóforos en base fresca tiene un efecto importante en el aporte energético de los mismos debido a que a menor contenido de agua (como es el caso de SK), se incrementa la materia seca que contribuye al aporte calórico, además del aporte por mayor contenido proteico de SK y SE. Este mismo comportamiento se observó en hongos crudos con humedad variable desde 88.3 a 92.4 % (USDA, 2022), o intervalos muy amplios de proteínas que puede presentar este hongo (7.3 a 53.3 %) y variación en su contenido de carbohidratos totales (50-60 %) en peso en base seca (Torres-Martínez *et al.*, 2022).

En general, en esta primera parte del estudio, la composición proximal de los carpóforos de *P. ostreatus* indicó que sustratos obtenidos a partir de plantas invasoras como

**Cuadro 4.** Aporte de energía de carpóforos de *Pleurotus ostreatus* producidos en diferentes tratamientos.

| Tratamiento | Energía (kcal 100 g <sup>-1</sup> ) |
|-------------|-------------------------------------|
| SE          | 37.00±0.33 bc                       |
| SK          | 61.49±3.05 a                        |
| PT          | 33.89±0.20 c                        |
| SE-SK       | 42.37±0.10 b                        |
| PT-SE       | 37.38±0.24 bc                       |
| PT-SK       | 32.03±0.27 c                        |
| SE-SK-PT    | 36.77±0.18 bc                       |

Valores medios ± EE. Datos obtenidos en peso en base fresca. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey; *p* ≤ 0.05). SE= 100 % *Solanum elaeagnifolium*; SK= 100 % *Salsola kali*; PT= 100 % Paja de trigo (control); SE-SK=50 % *S. elaeagnifolium* y 50 % *S. kali*; PT-SE=50 % Paja de trigo y 50 % *S. elaeagnifolium*; PT-SK= 50 % Paja de trigo y 50 % *S. kali*; SE-SK-PT= 1/3 de *S. elaeagnifolium*, *S. kali* y paja de trigo.

*S. elaeagnifolium* y *S. kali* permiten el adecuado desarrollo y crecimiento del hongo y tienen un efecto importante en el contenido de proteína y minerales. Sin embargo, más estudios son necesarios para determinar su inocuidad y toxicidad y sugerir su potencial uso para consumo animal o humano.

### CONCLUSIONES

Los sustratos elaborados a partir de las arvenses invasoras *Solanum elaeagnifolium* y *Salsola kali* pueden usarse de manera eficaz para la producción de carpóforos de *Pleurotus ostreatus*. No es recomendable utilizarlos en combinaciones entre ellos ni con paja de trigo. El mejor sustrato fue 100 % *S. elaeagnifolium*, que produjo los mayores resultados en la producción de número de carpóforos, biomasa, variables morfométricas y eficiencia biológica.

En su composición proximal, los carpóforos de *P. ostreatus* obtenidos a partir de los sustratos con *S. elaeagnifolium* y *S. kali* mostraron mayor contenido de materia seca, particularmente en proteína y minerales en comparación que el sustrato convencional con base de paja de trigo. El aporte calórico de los carpóforos está particularmente relacionado con su contenido proteico y de carbohidratos., dado su bajo contenido de lípidos.

Este estudio demostró que *P. ostreatus* tiene la capacidad de producir carpóforos de buen tamaño y con un alto contenido proteico con el uso de sustratos a partir de *S. elaeagnifolium* y *S. kali*, consideradas arvenses altamente invasoras.

### REFERENCIAS

- Abou-Fayssal S, Alsanad MA, El-Sebaaly Z, Ismail AIH, Sassine YN. 2020. Valorization of olive pruning residues through bioconversion into edible mushroom *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex Fr.) P. Kumm. (1871) of improved nutritional value. *Scientifica* 2020: 3950357. <https://doi.org/10.1155/2020/3950357>.
- Aghajani H, Bari E, Bahmani M, Humar M, Ghanbary MAT, Nicholas DD, Zahedian E. 2018. Influence of relative humidity and temperature on cultivation of *Pleurotus* species. *Maderas. Ciencia y Tecnología* 20 (4): 571–578. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-221X2018005004501>.
- Andries V, Vasilica A. 2017. Caracterele morfo-culturale ale carpoforilor de *Pleurotus ostreatus* cultivati pe diferite substraturi celulozice. *Știința Agricolă* 2: 27–29.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2000. Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th Ed. AOAC International. Gaithersburg, MD, USA, 69-88.
- Atila F. 2016. Effect of different substrate disinfection methods on the production of *Pleurotus ostreatus*. *Journal of Agricultural Studies* 4 (4): 1–14.
- Carrasco-González JA, Serna-Saldívar SO, Gutiérrez-Urbe JA. 2017. Nutritional composition and nutraceutical properties of the *Pleurotus* fruiting bodies: Potential use as food ingredient. *Journal of Food Composition and Analysis* 58: 69–81. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.01.016>.
- Corrêa RCG, Brugnari T, Bracht A, Peralta RM, Ferreira I. 2016. Biotechnological, nutritional and therapeutic uses of *Pleurotus* spp. (Oyster mushroom) related with its chemical composition: A review on the past decade findings. *Trends in Food Science and Technology* 50: 103–117. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.012>.
- DFI (Danish Food Informatics). 2015. Energy-The Atwater System. October 06. [http://toolbox.foodcomp.info/ToolBox\\_Atwater.asp](http://toolbox.foodcomp.info/ToolBox_Atwater.asp) (Retrieved: March, 2022).
- Díaz-Muñoz K, Casanova-Guajardo M, León Torres CA, Gil Ramírez LA, Bardales-Vásquez CB, Cabos-Sánchez J. 2019. Producción de *Pleurotus ostreatus* (Pleurotaceae) ICFC 153/99 cultivado sobre diferentes residuos lignocelulósicos. *Arnaldoa* 26 (3): 1177–1184. <http://dx.doi.org/10.22497/arnaldoa.263.26322>.

- FAO (Food and Agriculture Organization). 2002. Food and nutrition paper. Food energy-methods of analysis and conversion factors. FAO Food and Nutrition Paper 17. Roma. 87 p.
- García-Calderón ND, Ramos-López MÁ, Rubalcaba-Alejo I, Caratachea-Aguirre IL, Flores-Macías F. 2021. Adición de alfalfa deshidratada como suplemento de sustratos en la producción de *Pleurotus ostreatus*. *Revista Sociedades Rurales, Producción y Medio Ambiente* 21 (41): 77–86.
- Gupta A, Sharma S, Kumar A, Alam P, Ahmad P. 2016. Enhancing nutritional contents of *Lentinus sajor-caju* using residual biogas slurry waste of detoxified mahua cake mixed with wheat straw. *Frontiers in Microbiology* 7: 1529. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01529>.
- Hanif Z, Ali HH, Rasool G, Tanveer A, Chauhan BS. 2018. Genus *Salsola*: its benefits, uses, environmental perspectives and future aspects-a review. *Journal of Rangeland Science* 8 (4): 315–328.
- Hausiku MK, Mupambwa HA. 2018. Seaweed amended rice straw substrate and its influence on health related nutrients, trace elements, growth and yield of edible white elm mushroom (*Hypsizygus ulmarius*). *International Journal of Agriculture and Biology* 20: 2763–2769.
- Hoa HT, Wang CL, Wang CH. 2015. The Effects of Different Substrates on the Growth, Yield, and Nutritional Composition of Two Oyster Mushrooms (*Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus cystidiosus*). *Mycobiology* 43 (4): 423–434.
- IBM (International Business Machines Corporation). 2017. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp. 424 p.
- Jin Z, Li Y, Ren J, Qin N. 2018. Yield, nutritional content, and antioxidant activity of *Pleurotus ostreatus* on corncobs supplemented with herb residues. *Mycobiology* 46 (1): 24–32.
- Jin Q, Hou Q, Niu T. 2020. Effect of cultivating *Pleurotus ostreatus* on substrates supplemented with herb residues on yield characteristics, substrates degradation, and fruiting bodies' properties. *Journal of Science Food Agriculture* 100: 4901–4910. DOI 10.1002/jsfa.10551.
- Jonathan SG, Okon CB, Oyelakin AO, Oluranti OO. 2012a. Nutritional values of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) (Jacq. Fr.) Kumm. cultivated on different agricultural wastes. *Natural Sciences* 10: 179–186.
- Jonathan SG, Okorie AN, Garuba EO, Babayemi OJ. 2012b. Bioconversion of sorghum stalk and rice straw into value added ruminant feed using *Pleurotus pulmonarius*. *Natural Sciences* 10: 10–16.
- Kaaya GP, Kadhila-Muandingi PN, Lotfy HR, Mshigeni KE. 2012. Determination of optimum seaweed concentration for mushroom cultivation and the ability of mushrooms to absorb iodine. *African Journal of Agricultural Research* 7: 3673–3676.
- Koutrotsios G, Mountzouris KC, Chatzipavlidis I, Zervakis GI. 2014. Bioconversion of lignocellulosic residues by *Agrocybe cylindracea* and *Pleurotus ostreatus* mushroom fungi--Assessment of their effect on the final product and spent substrate properties. *Food Chemistry* 161: 127–135. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.121>.
- Li H, Zhang Z, Li M, Li X, Sun Z. 2017. Yield, size, nutritional value, and antioxidant activity of oyster mushrooms grown on perilla stalks. *Saudi Journal of Biological Sciences* 24 (2): 347–354. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.10.001>.
- Lisiecka J, Prasad R, Jasinska A. 2021. The Utilisation of *Pholiota nameko*, *Hypsizygus marmoreus*, and *Hericium erinaceus* Spent Mushroom Substrates in *Pleurotus ostreatus* Cultivation. *Horticulturae* 7 (10): 396. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7100396>.
- Mellado M, Garcia JE, Arévalo JR, Pittroff W. 2008. Replacement value of *Solanum elaeagnifolium* for alfalfa hay offered to growing goats. *Journal of Arid Environments* 72 (11): 2034–2039. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2008.06.009>.
- Mintesnot B, Ayalew A, Kebede A. 2014. Evaluation of biomass of some invasive weed species as substrate for oyster mushroom (*Pleurotus* spp.) cultivation. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 17 (2): 213–219.
- Mleczek M, Gąsecka M, Budka A, Niedzielski P, Siwulski M, Kalač P, Mleczek P, Rzymiski P. 2021. Changes in mineral composition of six strains of *Pleurotus* after substrate modifications with different share of nitrogen forms. *European Food Research Technology* 247: 245–257.
- Moran-Arellanos TM, Ortega JB, Cruz MS, Martínez VR, Martínez BC, Pech ZGH. 2020. Potencial biotecnológico de residuos vegetales para producir *Pleurotus ostreatus* en zonas rurales de Campeche. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 11 (3): 685–693. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i3.1925>.
- Nieto-Juárez J, Cuzcano-Ruiz A, Reyes-López W. 2019. Estudio preliminar de la composición nutricional del hongo *Pleurotus ostreatus* cultivado en pulpa de café. *Revista de la Sociedad Química del Perú* 85 (4): 422–431. <http://dx.doi.org/10.37761/rsqp.v85i4.256>.

- Owaid MN, Abed IA, I-Saeedi SS. 2015. Using of date palm fiber mixed with other lignocelluloses toward *Pleurotus ostreatus* (Higher Basidiomycetes) cultivation. *Emirates Journal of Food Agriculture* 27 (7): 556–561.
- Pandey VK, Singh MP. 2014. Biodegradation of wheat straw by *Pleurotus ostreatus*. *Cellular and Molecular Biology* 60 (5): 29–34.
- Rodríguez-Estrada AE, Pichica J. 2017. Cultivation of *Pleurotus ostreatus*. In Cunha-Zied D, Pardo-Giménez A. (eds.). *Edible and Medicinal Mushrooms: Technology and Applications*. Wiley Blackwell: Oxford, UK, 339–360.
- Romero-Arenas O, Martínez MA, Damián MA, Ramírez B, López-Olguín J. 2015. Producción de hongo Shiitake (*Lentinula edodes* Pegler) en bloques sintéticos utilizando residuos agroforestales. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícola* 6 (6): 1229–1238.
- Romero-Arenas O, Valencia-De Ita MA, Rivera-Tapia JA, Tella-Salgado I, Villarreal Espino-Barros OA, Damián-Huato MA. 2018. Capacidad productiva de *Pleurotus ostreatus* utilizando alfalfa deshidratada como suplemento en diferentes sustratos agrícolas. *Agricultura Sociedad y Desarrollo* 15 (2): 145–160.
- Sekan AS, Myronycheva OS, Karlsson O, Gryganskyi AP, Blume Y. 2019. Green potential of *Pleurotus* spp. in biotechnology. *Peer J*. 7: e6664. <https://doi.org/10.7717/peerj.6664>.
- Song Q, Deng X, Song RQ. 2020. Expression of *Pleurotus ostreatus* laccase gene in *Pichia pastoris* and its degradation of corn stover lignin. *Microorganisms* 8 (4): 601. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8040601>.
- Torres-Martínez B, Vargas-Sánchez RD, Torrescano-Urrutia GR, Esqueda M, Rodríguez-Carpenna, JG, Fernández-López J, Perez-Alvarez, JA, Sánchez-Escalante A. 2022. *Pleurotus* Genus as a potential ingredient for meat products. *Food* 11 (779): 1–13. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/foods11060779>.
- Uludag A, Gbehouhou G, Kashefi J, Bouhache M, Bon MC. 2016. Review of the current situation for *Solanum elaeagnifolium* in the Mediterranean Basin. *EPPO Bulletin* 46: 139–147. <https://doi.org/10.1111/epp.12266>.
- USDA (U.S. Department of Agriculture). 2022. Food Data Central: Mushrooms raw. <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/> (Consultado: Marzo 2022).



## ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PEPTIDES OBTAINED BY ENZYMATIC HYDROLYSIS FROM PROTEINS OF AMARANTH (*Amaranthus hypochondriacus* L.) STUBBLE

Cirilo Hipólito-Nolasco<sup>1,2</sup>, Ofelia Ramírez-Isidro<sup>1</sup>, Oscar Núñez-Gaona<sup>1,2</sup>, Alma Xóchil Ávila-Alejandre<sup>1</sup>, Alejandro Hernández-López<sup>3</sup>, María de Jesús García-Gómez<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> Universidad del Papaloapan. Instituto de Biotecnología. Centro de Investigaciones Científicas. Maestría en Biotecnología. Circuito Central 200, Col. Parque Industrial, San Juan Bautista, Tuxtepec, Oaxaca, Mexico. C. P. 68301.

<sup>2</sup> Universidad del Papaloapan. Cuerpo Académico Biotecnología Sustentable. Circuito central 200, Col. Parque Industrial, San Juan Bautista, Tuxtepec, Oaxaca, Mexico. C. P. 68301.

<sup>3</sup> Labiott. Calle Jesus Carranza, Mz6 Lt 12, Col. Universidad, San Juan Bautista, Tuxtepec, Oaxaca, Mexico. C. P. 68336.

\* Corresponding author: unpace3@gmail.com

### ABSTRACT

This research work is focused on the enzymatic hydrolysis of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) stubble to obtain peptides and demonstrate their antioxidant activity. To this aim, we analyzed extracts of leaves and stems of this plant species. Amaranth stubble was dried and grounded to 0.1 mm particle size and treated by enzymatic digestion using Flavourzyme® or Alcalase®. The hydrolysis degree was 16.31 % and 12.64 %, for each digestion, respectively. The peptides obtained showed antioxidant activity in all the range of molecular size from < 1 kDa to >10 kDa. Our findings indicate that amaranth stubble is an available material that can be used to obtain peptides with antioxidant activity.

**Keywords** *Amaranthus*, antioxidant activity, peptides.

### INTRODUCTION

Antioxidants are essential for neutralization of free radicals and for remedying reactive oxygen species (ROS) damage on cells (Admassu *et al.*, 2017). Interest in discovering novel effective-nontoxic-natural compounds with antioxidative activity has substantially increased in recent years. Peptides also have excellent potential as antioxidant additives in foods because they can inactivate pro-oxidative species (Montoya-Rodríguez *et al.*, 2015). Understanding the relationship between peptide composition and antioxidant activity could lead to the development of new class of effective, multifunctional, generally recognized as safe (GRAS) antioxidants that could be used in many food applications (Saito *et al.*, 2003).

Protein-rich foods are expensive and scarce in most countries. Therefore, many research groups have focused on the search for proteins from unconventional sources, such as those of plant origin (Montesano *et al.*, 2020, Baladrán-Quintana *et al.*, 2019). One of the unconventional protein sources is the amaranth (*Amaranthus*

**Citation:** Hipólito-Nolasco C, Ramírez-Isidro O, Núñez-Gaona O, Ávila-Alejandre AX, Hernández-López A, García-Gómez MJ. 2022. Antioxidant activity of peptides obtained by enzymatic hydrolysis from proteins of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.) stubble. *Agrociencia*. 56(3): 434-450. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i3.2800>

**Editor in Chief:**  
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: June 10, 2021.  
Approved: April 19, 2022.  
**Published in Agrociencia:**  
May 16, 2022.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International license.



*hypochondriacus* or *Amaranthus cruentus*), plant fraction (APF), which consists of the stem and leaves after the amaranth grain harvest (Ngugi *et al.*, 2017, Soriano-Santos *et al.*, 1992). The APF is considered as an agro-industrial waste, and farmers use it as feed for livestock (Manyelo *et al.*, 2020). The APF could be exploited as a source of peptides with biological activity including their antioxidant capacity. Indeed, proteins obtained from amaranth have a high content of bioactive properties, including antioxidant and anticancer capacity. Such proteins, however, must be hydrolyzed to release bioactive peptides (Montoya-Rodriguez *et al.*, 2015).

Leaves and stems of amaranth are a good source of protein, that have not been fully explored and exploited. Since peptides obtained by enzymatic hydrolysis of protein from amaranth waste (*Amaranthus hypochondriacus* L.) could have antioxidant activity, the objective of this work was to determine the antioxidant activity of the peptide fractions obtained by mono-enzymatic hydrolysis from the proteins of APF.

## MATERIALS AND METHODS

All salts were from J.T. Baker and enzymes from Sigma-Aldrich, except where otherwise noted. Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.) plants were collected in Tulyehualco in Mexico City (19° 15' 13" NL, 99° 00' WL, 2247 m altitude), drying at 65 °C., ground in industrial blender (Waring laboratory, Torrington, CT, USA) and screened to particle size of 1 mm. The ground samples were defatted with acetone (5 mL g<sup>-1</sup>) while being stirred for 16 h, 3 times. The residual acetone was eliminated in gas extraction hood and stored for further extraction of the proteins. The flour was called flour from amaranth plant fraction (FAPF).

Protein extraction were performed according to Hoover *et al.* (1991) with some modifications: Defatted FAPF was re-suspended in water (6:1 v:w), the pH was adjusted to 11 with 1 N NaOH, the suspension was agitated for 1 h at 400 rpm and filtered using two sieves (80 and 100 mesh). The bagasse was eliminated. The filtrated was collected and allowed to stand for 30 min at room temperature to settle down the solids. The supernatant decanted was adjusted to pH 4.5 with 1 N HCl, and centrifuged at 1,317 × g for 12 min at 4 °C (Megapure Thermocentrifuge, Thermo Scientific; Waltham, MA, USA). The bottom was resuspended in 1 L glass bottle, lyophilized at -47 °C and 13 × 10<sup>-3</sup> mbar (Labconco FreeZone 4.5 Liter Freeze Dry System, Kansas City, MO, USA), and stored at -20 °C, until use. This fraction was called protein concentrate (PC).

Crude protein in the PC sample was determined using the Kjeldahl method (method 933.05) of the A.O.A.C. (2000), using a conversion factor (fN) of 5.85 for amaranth grain (Scilingo *et al.*, 2002). The yield of protein was calculated with the eq. 1.

$$\text{Yield (\%)} = (\text{protein in PC (mg)}) / (\text{Total protein in FAPF (mg)}) \times 100 \quad 1)$$

Protein concentrate hydrolysis was performed with Alcalase<sup>®</sup> from *Bacillus licheniformis* or Flavourzyme<sup>®</sup> from *Aspergillus oryzae* according to Hamada (2000), with a slight modification. The enzymatic reaction for Alcalase<sup>®</sup> was performed

in an agitated jacketed reactor at 50 °C, the pH was adjusted by using 50 mM Tris-HCl buffer pH 8.0 and kept constant by automatic titration by 0.1 N NaOH. For Flavourzyme® the reaction was performed in phosphate buffer pH 7.0. In both cases the reaction was stopped by heating the reaction mixture for 20 min at 82 °C. In each reaction mixture aliquots were taken during hydrolysis (0, 15, 30, 60, and 90 min). The hydrolysate was centrifuged at 10 000 ×g for 20 min at 4 °C (Thermo Scientific Megapure Thermocentrifuge) and 0.02 % sodium azide, stored at -20 °C until use. The product obtained was stored at room temperature to determine the degree of hydrolysis through the orthophenylphthaldehyde method (OPA) (Nielsen *et al.*, 2001). To determine the percentage of the degree of hydrolysis a calibration curve with L-serine was used.

Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) was performed using the procedure previously described by Laemmli (1970). The supernatants of both enzymatic hydrolysates of the PC were fractionated by ultrafiltration according to Cho *et al.* (2004). Ultrafiltration units (Stirred Ultrafiltration Cell, Models 8200 and 8050, Millipore; Burlington, MA, USA) equipped with magnetic stirrer were used to prevent sedimentation. Four membranes with different molecular weight cuts (MWCO) were used: 10 kDa; 5 kDa; 3 kDa and 1 kDa.

Protein was determined in the peptide fractions by Bradford method (Bradford, 1976) with 10 µL of the sample, following the manufacturer's instructions, with a BSA (1 mg mL<sup>-1</sup>) calibration curve.

The antioxidant activity from Ultrafiltration fractions were determined with 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS; Sigma-Aldrich), according to Pukalskas *et al.* (2002). The ABTS in PBS to obtain an absorbance of 0.800 ± 0.030 at 734 nm and used Trolox as standard (0.5 - 2.5 mM) to estimate the Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC).

The experimental design was completely random in a factorial arrangement with two factors (enzyme and peptide fraction): enzyme with 2 levels; and peptide fractions with five levels (>10, 5-10, 3-5, 1-3, <1 kDa) for each enzymatic treatment. The multiple comparisons between means were carried out with SAS. ver 9.1 (2003).

## RESULTS AND DISCUSSION

Protein concentration in peptides obtained by enzymatic hydrolysis of APF was determined in each (Table 1). The results showed that the concentration of protein was 14.4 ± 1.2 % in FAPF and 13.7 ± 0.3 % in the PC. Similar results were obtained by López-Mejía *et al.* (2014), who reported 15.49 %.

The variation in protein content reported was due to differences in physiological states, origin of the crop or different parts of the plant. Alfaro *et al.* (1987), performed protein analysis on amaranth plants at 25, 40 and 60 days, respectively, and found that the longer the period after plant emergence, the lower the protein concentration. Those findings are in full agreement with our results, since samples were obtained after the harvest of the seeds. There is a large amount of protein with the potential to produce bioactive peptides instead of being considered agricultural waste.

**Table 1.** Protein concentration in different samples of raw materials and plant developmental stages (age) of *Amaranthus* spp. plants.

| Raw material          | Protein concentration (%) |                                 | Reference                        |
|-----------------------|---------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
|                       | Flour                     | Concentrate fraction            |                                  |
| Leaves                | 25.3                      | 51.4                            | Metri-Ojeda <i>et al.</i> (2019) |
| Leaves                | 25.25                     |                                 | Ngugi <i>et al.</i> (2017)       |
| Seeds                 | 17.4                      | 40.01 (364 mg·g <sup>-1</sup> ) | Pospišil <i>et al.</i> (2006)    |
| Stubble               | 15.49                     |                                 | López-Mejía <i>et al.</i> (2014) |
| Plants:after seedling |                           |                                 |                                  |
| 25 days               | 29.5                      |                                 |                                  |
| 40 days               | 22.7                      |                                 | Alfaro <i>et al.</i> (1987)      |
| 60 days               | 14.4                      |                                 |                                  |
| Stubble               | 14.4±1.2                  | 13.7±0.3                        | This work                        |

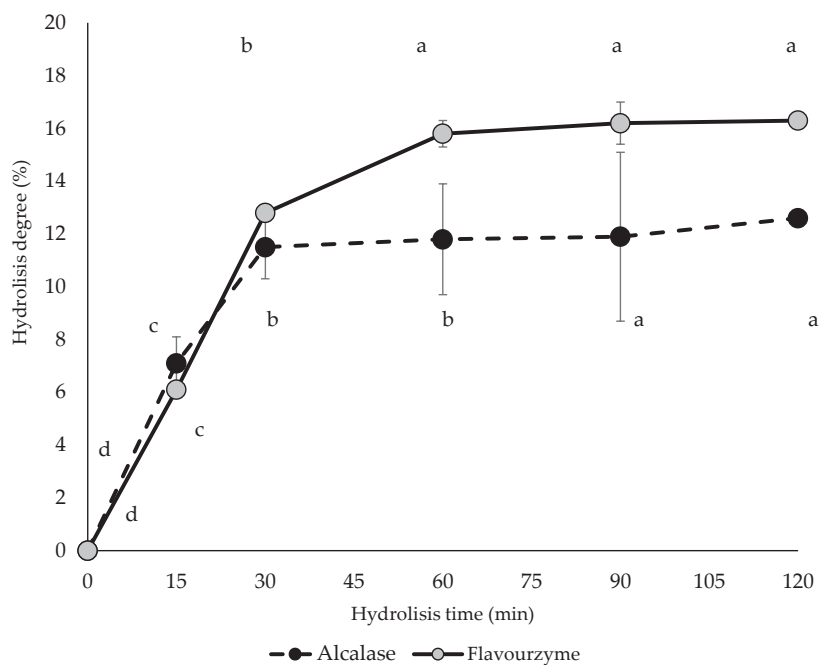
The electrophoretic profile of the PC of the stubbles were determined (data not shown). There were four main protein bands in PC (MW: 66.2, 35, 31.0 and 15 kDa). It has been reported that amaranth grain contains a higher proportion of albumin, followed by globulins and glutelins (Soriano *et al.*, 1992; Barba de la Rosa *et al.*, 1992). Other investigations reported that the albumin present in the amaranth grain corresponds to protein fractions of PM of 45, 36, 26, 22 and 17 kDa (Segura-Nieto *et al.*, 1992; Silva-Sánchez *et al.*, 2004).

The degree of hydrolysis (DH) was determined from the mono-enzymatic hydrolysis with Alcalasa or Flavourzyme® of the PC of the stubbles. The results obtained are shown in Figure 1. For Flavourzyme® it was 16.31 % and for Alcalasa 12.64 %.

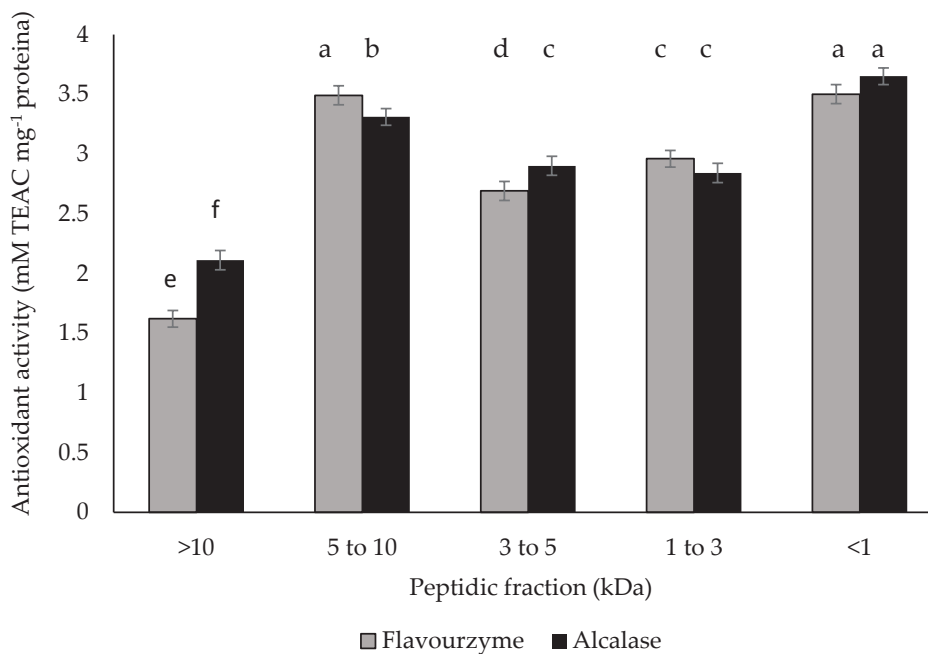
During the first 30 min of reaction the DH with both enzymes increases fast and at a constant rate. The hydrolysis using Alcalase® between 30 and 120 min reached its maximum value and there was no significant difference between the DH obtained in that time interval. On the other hand, with Flavourzyme® there was an increase in the DH of proteins from 30 to 120 min. However, the maximum degree of hydrolysis remained constant from 60 min.

The DH obtained of PC from the stubble with both enzymes were like those reported for other mono-enzymatic systems with vegetable proteins, Sun (2011) reviewed the enzymatic hydrolysis of soy proteins founding that DH was usually between 1 % and 39.5 %. In other studies, it has been reported that hydrolysates with a DH >10 % originate peptides with physiological activities such as antihypertensive, antioxidant among others. Therefore, it is very likely that the peptide fractions obtained from the amaranth stubble protein hydrolysates have antioxidant activity.

The antioxidant activity of the five peptide fractions obtained after ultrafiltration of the hydrolyzate obtained with Flavourzyme® or Alcalase® is showed in the Figure 2. It was observed that all the peptide fractions had antioxidant activity. Fractions >10, 3-5 and 1-3 kDa showed significant differences among them, while fractions of 5-10 and <1 kDa showed that there were no significant differences between them regarding the



**Figure 1.** Kinetics of the degree of hydrolysis of PC concentrate with Alcalase® and Flavourzyme® obtained from amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.) stubble. Different letters on the same curve indicate significant differences between treatments ( $p \leq 0.05$ ).



**Figure 2.** Antioxidant activity of the five peptide fractions of the hydrolysate from amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.) stubbles with Flavourzyme® and Alcalase®. Different letters indicate significant differences ( $p \leq 0.05$ ).

enzymatic conversion of both Flavourzyme® and Alcalase®. Moreover, these fractions also were the fractions with the highest antioxidant activity. Fractions >10, 5-10, 3-5 and 1-3 kDa between enzymes showed significant differences, while between fractions <1 kDa with the two enzymes and the 5-10 kDa fraction with Flavourzyme® there were no significant differences. On the other hand, the 3-5 kDa fraction with Alcalase® and the 1-3 kDa fraction with Flavourzyme® showed no significant difference between them. Fractions 5-10 and <1 kDa were the ones that obtained the highest antioxidant activity regardless of the enzyme.

The study confirmed that bioactive peptide fractions can be released from amaranth stubbles by Flavourzyme® or Alcalase®-mediated digestion. Amaranth proteins are a good source of raw material to produce peptides with antioxidant properties. The peptide fractions showing antioxidant activity are a mixture of peptides.

Table 2 shows a comparison between the results obtained in this work and values reported by other authors, in referred to peptides with antioxidant activity, obtained

**Table 2.** Peptides with antioxidant activity, obtained from proteins from plant sources using different enzymes.

| Source           | Enzyme            | Degree of Hydrolysis (%)                           | Antioxidant activity assay                         | Fractions      | Amount of protein    | Reference                      |
|------------------|-------------------|--|--|----------------|----------------------|--------------------------------|
| Amaranth Stubble | Flavourzyme®      | 16.31  | ABTS (mM TEAC g <sup>-1</sup> )                    | <1 kDa         | 3.50                 | This work                      |
|                  | Alcalase®         | 12.64  |  | <1 kDa         | 3.65                 |                                |
| Beans            | Alcalase®         | 43.01  | ABTS (mM TEAC g <sup>-1</sup> )                    | <1 kDa         | 888.43               | Ruiz-Ruiz <i>et al.</i> , 2011 |
|                  | Pancreatic pepsin | 26.15  |  | <1 kDa         | 1985.50              |                                |
| Sweet Potatoe    | Alcalase®         | ---  | Fe <sup>2+</sup> chelating capacity Radical        | < 3 kDa        | 82.27                | Zhang <i>et al.</i> , (2014)   |
|                  |                   |  | hydroxyl (HO·)                                     | < 3 kDa        | 59.74                |                                |
| Soy              |                   | 18.8   | FRAP (mM Ascorbic acid equivalent)                 | >50 kDa        | 1.009                | Moure <i>et al.</i> , (2006)   |
|                  |                   | 36.6   | Reduction power (mM Ascorbic acid equivalent)      | >50 kDa        | 0.4×10 <sup>-3</sup> |                                |
|                  | 63.4              | Hydroxyl radical (OH·)                             | 30 & 50 kDa  | 69.75          |                      |                                |
|                  | 42.1              | ABTS (mM Trolox eq.)                               | >50 kDa  | 6.64           |                      |                                |
|                  |                   | ABTS (IC <sub>50</sub> ) (mg mL <sup>-1</sup> )    |  | 0.811          |                      |                                |
|                  |                   | Chelating metal (IC <sub>50</sub> ) Reducing Power |  | 0.766<br>0.274 |                      |                                |
|                  | Papain            |  | DPPH (IC <sub>50</sub> ) (mg mL <sup>-1</sup> )    |                | 1.48                 |                                |
|                  |                   |  | ABTS (IC <sub>50</sub> ) (mg mL <sup>-1</sup> )    |                | 0.892                |                                |
|                  |                   |  | Chelating metal (IC <sub>50</sub> ) Reducing Power |                | 0.801<br>0.29        |                                |

from proteins from plant sources using different enzymes. The focus of this research was to isolate and identified peptides with antioxidant activity from amaranth after enzymatic digestion.

### CONCLUSIONS

Amaranth stubble is a viable source for obtaining proteins that can release bioactive peptides antioxidant by –enzymatic commercial mediated digestion. The peptide fractions produced by Flavourzyme® or Alcalase® had antioxidant activity, and the higher activity was observed with <1 kDa and 5-10 kDa fractions, regardless of the enzyme used.

### ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by grant: Conacyt CB 2010-01, 158389, Ramírez Isidro Ofelia Conacyt master degree grant: Conacyt grant: 296718. Avila Alejandre Alma Xochil, Conacyt postdoctoral grant: 290717. The amaranth stubble was provided by the producer Luis Suarez Suarez from San Antonio Tecomitl, Milpa Alta, Mexico.

### REFERENCES

- Admassu HM, Abdalbasit A, Gasmalla R, Wang W, Zhao. 2017. Bioactive peptides derived from seaweed protein and their health benefits: antihypertensive, antioxidant and antidiabetic properties. *Journal of Food Science* 83 (1): 6–16. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14011>
- Alfaro MA, Martínez A, Ramírez R, Bressani R. 1987. Rendimiento y composición química de las partes vegetativas del amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.) en diferentes etapas fisiológicas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 37 (1): 108–121.
- Balandrán-Quintana RR, Mendoza-Wilson AM, Ramos-Clamont G, Huerta-Ocampo JA. 2019. Plant-Based Proteins. *In* Proteins: Sustainable Source, Processing and Applications, Galanakis CM (ed.); Elsevier-Academic Press: Amsterdam, The Netherlands, 97–130. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816695-6.00004-0>
- Barba de la Rosa AP, Gueguen J, Paredes-Lopez O, Viroben G. 1992. Fractionation procedures, electrophoretic characterization, and amino acid composition of amaranth seed proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40 (6): 931–936. <https://doi.org/10.1021/jf00018a002>
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of Protein-Dye binding. *Analytical Biochemistry* 72 (1–2): 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Cho MJ, Unklesbay N, Hsieh F, Clarke AD. 2004. Hydrophobicity of bitter peptides from soy protein hydrolysates. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 52 (19): 5895–5901. <https://doi.org/10.1021/jf0495035>
- Hamada JS. 2000. Characterization and functional properties of rice bran proteins modified by commercial exoproteases and endoproteases. *Journal of Food Science* 65(2): 305–310. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb15998.x>
- Hoover R, Rorke SC, Martin AM. 1991. Isolation and characterization of lima bean (*Phaseolus lunatus*) starch. *Journal of Food Biochemistry* 15 (2): 117–136. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.1991.tb00149.x>
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>
- López-Mejía OA, López-Malo A, Palou E. 2014. Antioxidant capacity of extracts from amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.) seeds or leaves. *Industrial Crops and Products* 53 (1): 55–59. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.12.017>
- Manyelo TG, Sebola NA, van Rensburg EJ, Mabelebele M. 2020. The probable use of genus *Amaranthus* as feed material for monogastric animals. *Animals* 10 (9): 1504. <https://doi.org/10.3390/ani10091504>

- Metri-Ojeda J, Nikiforidis C, Sandoval-Peraza M, Chel-Guerrero L, Baigts-Allende D. 2019. Processing of *Amaranthus hypochondriacus* biomass for functional protein concentrates development. *Journal of Food Research* 8 (5): 70–81 <https://doi.org/10.5539/jfr.v8n5p71>
- Montesano D, Gallo M, Blasi F, Cossignani L. 2020. Biopeptides from vegetable proteins: new scientific evidences. *Current Opinion in Food Sciences* 31 (1): 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.10.008>
- Montoya-Rodríguez A, Gómez-Favela MA, Reyes-Moreno C, Milán-Carrillo J, González de Mejía E. 2015. Identification of bioactive peptide sequences from amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) seed proteins and their potential role in the prevention of chronic diseases. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 14 ( 2): 139–158. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12125>
- Moure A, Domínguez H, & Parajó JC. 2006. Antioxidant properties of ultrafiltration-recovered soy protein fractions from industrial effluents and their hydrolysates. *Process Biochemistry* 41 (2): 447–456. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.07.014>
- Ngugi CC, Oyoo-Okoth E, Manyala JO, Fitzsimmons K, Kimotho A. 2017. Characterization of the nutritional quality of amaranth leaf protein concentrates and suitability of fish meal replacement in Nile tilapia feeds. *Aquaculture Reports* 5 (1): 62–69. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2017.01.003>
- Nielsen PM, Petersen D, Dambmann C. 2001. Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. *Journal of Food Science* 66 (5): 642–646. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb04614.x>
- Pospišil A, Pospišil M, Varga B, Svečnjak Z. 2006. Grain yield and protein concentration of two amaranth species (*Amaranthus* spp.) as influenced by the nitrogen fertilization. *European Journal of Agronomy* 25 (3): 250–253. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2006.06.001>
- Pukalskas A, van Beek TA, Venskutonis RP, Linssen JPH, van Veldhuizen A, de Groot A. 2002. Identification of radical scavengers in sweet grass (*Hierochloa odorata*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50 (10): 2914–2919. <https://doi.org/10.1021/jf011016r>
- Ruiz-Ruiz J, Dávila-Ortíz G, Chel-Guerrero L & Betancour-Ancona D. 2011. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory and antioxidant peptide fractions from hard-to-cook bean enzymatic hydrolysates. *Journal Sciences of Food and Agriculture* 37 (1): 26–35. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2011.00594.x>
- Saito K, Jin DH, Ogawa T, Muramoto K, Hatakeyama E, Yasuhara T, Nokihara K. 2003. Antioxidative properties of tripeptide libraries prepared by the combinatorial chemistry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 (12): 3668–3674. <https://doi.org/10.1021/jf021191n>
- Scilingo AA, Molina Ortiz S, Martínez EN, Añón AM. 2002. Amaranth protein isolates modified by hydrolytic and thermal treatments. Relationship between structure and solubility. *Food Research International* 35 (9): 855–862. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(02\)00089-3](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(02)00089-3)
- Segura-Nieto M, Vazquez-Sanchez N, Rubio-Velazquez H, Olguin-Martinez HE, Rodriguez-Nester CE, Herrera-Estrella L. 1992. Characterization of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.) seed proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40 (9): 1553–1558. <https://doi.org/10.1021/jf00021a016>
- Silva-Sánchez C, González-Castañeda J, de León-Rodríguez A, de La Rosa APD. 2004. Functional and rheological properties of amaranth albumins extracted from two mexican varieties. *Plant Foods for Human Nutrition* 59 (4): 169–174. <https://doi.org/10.1007/s11130-004-0021-6>
- Soriano-Santos J, Iwabuchi S, Fujimoto K. 1992. Solubility of amaranth seed proteins in sodium sulphate and sodium chloride: the main factor in quantitative extraction for analysis. *International Journal of Food Science and Technology* 27 (3): 337–346. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1992.tb02035.x>
- Sun XD. 2011. Enzymatic hydrolysis of soy proteins and the hydrolysates utilisation. *International Journal of Food Science and Technology* 46 (12): 2447–2459. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02785.x>
- Zhang M, Mu TH, Sun MJ. 2014. Purification and identification of antioxidant peptides from sweet potato protein hydrolysates by Alcalase. *Journal of Functional Foods* 7 (2): 191–200. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.02.012>

# ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE PÉPTIDOS OBTENIDOS POR HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE LAS PROTEÍNAS DEL RASTROJO DE AMARANTO (*Amaranthus hypochondriacus* L.)

Cirilo Hipólito-Nolasco<sup>1,2</sup>, Ofelia Ramírez-Isidro<sup>1</sup>, Oscar Núñez-Gaona<sup>1,2</sup>, Alma Xóchil Ávila-Alejandre<sup>1</sup>, Alejandro Hernández-López<sup>3</sup>, María de Jesús García-Gómez<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> Universidad del Papaloapan. Instituto de Biotecnología. Centro de Investigaciones Científicas. Maestría en Biotecnología. Circuito Central 200, Col. Parque Industrial, San Juan Bautista, Tuxtepec, Oaxaca, Mexico. C. P. 68301.

<sup>2</sup> Universidad del Papaloapan. Cuerpo Académico Biotecnología Sustentable. Circuito central 200, Col. Parque Industrial, San Juan Bautista, Tuxtepec, Oaxaca, Mexico. C. P. 68301.

<sup>3</sup> Labiott. Calle Jesus Carranza, Mz6 Lt 12, Col. Universidad, San Juan Bautista, Tuxtepec, Oaxaca, Mexico. C. P. 68336.

\* Autor para correspondencia: unpace3@gmail.com

## RESUMEN

Esta investigación se centra en la hidrólisis enzimática del rastrojo de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) para obtener péptidos y demostrar su actividad antioxidante. Para ello, se analizaron extractos de hojas y tallos de esta especie vegetal. El rastrojo de amaranto se secó y molió hasta un tamaño de partícula de 0.1 mm y se trató con digestión enzimática por medio de Flavourzyme® o Alcalasa®. El grado de hidrólisis fue de 16.31 % y 12.64 %, para cada digestión, respectivamente. Los péptidos obtenidos mostraron actividad antioxidante en todo el rango de tamaño molecular desde <1 kDa hasta >10 kDa. Estos hallazgos indican que el rastrojo de amaranto es un material disponible que se puede usar para obtener péptidos con actividad antioxidante.

**Palabras clave:** *Amaranthus*, actividad antioxidante, péptidos.

## INTRODUCCIÓN

Los antioxidantes son esenciales para la neutralización de los radicales libres y para remediar el daño de las especies reactivas de oxígeno (ERO) en las células (Admasu *et al.*, 2017). El interés por descubrir nuevos compuestos naturales con actividad antioxidante, que sean eficaces y no tóxicos, ha aumentado de manera sustancial en los últimos años. Los péptidos también tienen un excelente potencial como aditivos antioxidantes en alimentos porque inactivan especies prooxidantes (Montoya-Rodríguez *et al.*, 2015). Comprender la relación entre la composición peptídica y la actividad antioxidante podría conducir al desarrollo de una nueva clase de antioxidantes eficaces, multifuncionales y generalmente reconocidos como seguros (GRAS) que se pueden usar en muchas aplicaciones alimentarias (Saito *et al.*, 2003).

Los alimentos ricos en proteínas son caros y escasos en la mayoría de los países. Por ello, muchos grupos de investigación se enfocan en la búsqueda de proteínas de fuentes

**Citation:** Hipólito-Nolasco C, Ramírez-Isidro O, Núñez-Gaona O, Ávila-Alejandre AX, Hernández-López A, García-Gómez MJ. 2022. Actividad antioxidante de péptidos obtenidos por hidrólisis enzimáticas de las proteínas del rastrojo de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.).

**Agrociencia.** 56(3): 434-450. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i3.2800>

**Editor in Chief:**  
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: June 10, 2021.

Approved: April 19, 2022.

**Published in Agrociencia:**

May 16, 2022.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International license.



no convencionales, como las de origen vegetal (Baladrán-Quintana *et al.*, 2019; Montesano *et al.*, 2020). Una de ellas es la FVA o fracción vegetal del amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L. o *Amaranthus cruentus*), la cual consiste en el tallo y las hojas después de la cosecha del grano (Soriano-Santos *et al.*, 1992; Ngugi *et al.*, 2017). La FVA se considera residuo agroindustrial y los agricultores la usan para alimentar ganado (Manyelo *et al.*, 2020). La FVA se puede explotar como fuente de péptidos con actividad biológica, incluida su capacidad antioxidante. De hecho, las proteínas obtenidas del amaranto tienen un alto contenido de propiedades bioactivas, incluida la capacidad antioxidante y anticancerígena. Sin embargo, dichas proteínas deben hidrolizarse para liberar péptidos bioactivos (Montoya-Rodríguez *et al.*, 2015).

Las hojas y tallos de amaranto son una buena fuente de proteínas que no se ha explorado y explotado por completo. Ya que los péptidos obtenidos por hidrólisis enzimática de proteína a partir de residuos de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.) pueden tener actividad antioxidante, el objetivo de este trabajo fue determinar la actividad antioxidante de las fracciones peptídicas obtenidas a partir de la hidrólisis monoenzimática de las proteínas de la FVA.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Todas las sales son de J.T. Baker y las enzimas de Sigma-Aldrich, excepto donde se indica lo contrario. Las plantas de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.) se recolectaron en Tulyehualco, Ciudad de México, (19° 15' 13" N, 99° 00' O; a 2247 m de altitud), se secaron a 65 °C, se molieron en licuadora industrial (Laboratorio Waring, Torrington, CT, EE. UU.) y se tamizaron hasta un tamaño de partícula de 1 mm. Las muestras molidas se desgrasaron con acetona (5 mL g<sup>-1</sup>) mientras se agitaban durante 16 h, 3 veces. La acetona residual se eliminó en campana de extracción de gases y se almacenó para la extracción de las proteínas. Este polvo se denominó harina de fracción vegetal del amaranto (HFVA).

La extracción de las proteínas se realizó según Hoover *et al.* (1991) con algunas modificaciones: se hizo una suspensión en agua con la HFVA desgrasada (6:1 v/p), el pH se ajustó a 11 con NaOH 1 N, la suspensión se agitó durante 1 h a 400 rpm y se filtró por dos tamices (malla 80 y 100). El bagazo se eliminó. Se recolectó el filtrado y se dejó reposar durante 30 min a temperatura ambiente para sedimentar los sólidos. El sobrenadante decantado se ajustó a un pH de 4.5 con HCl 1 N y se centrifugó a 1317 × g, a 4 °C, durante 12 min (Termocentrífuga Megapure de Thermo Scientific; Waltham, MA, EE. UU.). El precipitado se resuspendió en una botella de vidrio de 1 L, se liofilizó a -47 °C y 13 × 10<sup>-3</sup> mbar (Labconco FreeZone 4.5 Liter Freeze Dry System, Kansas City, MO, EE. UU.), y se almacenó a -20 °C hasta su uso. Esta fracción se denominó concentrado proteico (CP).

La proteína cruda en la muestra de CP se determinó mediante el método Kjeldahl (método 933.05) de la A.O.A.C. (2000), usando un factor de conversión (fN) de 5.85 para grano de amaranto (Scilingo *et al.*, 2002). El rendimiento de proteína se calculó con la ec. 1.

$$\text{Rendimiento (\%)} = (\text{proteína en CP (mg)}) / (\text{Proteína total en HFVA (mg)}) \times 100 \quad 1)$$

La hidrólisis del concentrado proteico se realizó con Alcalasa® de *Bacillus licheniformis* o Flavourzyme® de *Aspergillus oryzae* según Hamada (2000), con una ligera modificación. La reacción enzimática para Alcalasa® se realizó en un reactor enchaquetado agitado a 50 °C, el pH se ajustó utilizando un búfer de Tris-HCl 50 mM a pH 8.0 y se mantuvo constante por medio de titulación automática con NaOH 0.1 N. Para Flavourzyme®, la reacción se realizó con búfer de fosfato a pH 7.0. En ambos casos, la reacción se detuvo al calentar la mezcla de reacción durante 20 min a 82 °C. En cada mezcla de reacción se tomaron alícuotas durante la hidrólisis (0, 15, 30, 60 y 90 min). El hidrolizado se centrifugó a 10 000 × g, a 4 °C durante 20 min (termocentrífuga Thermo Scientific Megapure) y se almacenó a -20° C con azida de sodio al 0.02 % hasta su uso. El producto se llevó a temperatura ambiente para determinar el grado de hidrólisis por el método del ortofenilftaldehído (OPA) (Nielsen *et al.*, 2001). Para determinar el porcentaje del grado de hidrólisis se utilizó una curva de calibración con L-serina. La electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio (SDS-PAGE) se realizó con el procedimiento descrito previamente por Laemmli (1970). Los sobrenadantes de ambos hidrolizados enzimáticos del CP se fraccionaron por medio de ultrafiltración de acuerdo con Cho *et al.* (2004). Se utilizaron unidades de ultrafiltración (Stirred Ultrafiltration Cell, modelos 8200 y 8050 de Millipore; Burlington, MA, EE. UU.) equipadas con agitador magnético para evitar la sedimentación. Se utilizaron cuatro membranas con diferentes cortes de peso molecular (MWCO): 10 kDa; 5kDa; 3 kDa y 1 kDa.

La proteína se determinó en las fracciones peptídicas mediante el método de Bradford (Bradford, 1976) con 10 µL de la muestra; se siguieron las instrucciones del fabricante, con una curva de calibración BSA (1 mg mL<sup>-1</sup>).

La actividad antioxidante de las fracciones obtenidas por ultrafiltración se determinó con 2,2' azinobis-3-etil-benzotiazolin-6-ácido-sulfónico (ABTS; Sigma-Aldrich), según Pukalskas *et al.* (2002). El ABTS se diluyó en PBS para obtener una absorbancia de 0.800 ± 0.030 a 734 nm y se usó Trolox como estándar (0.5 - 2.5 mM) para estimar la capacidad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC).

El diseño experimental fue completamente al azar en arreglo factorial con dos factores (enzima y fracción peptídica): enzima con 2 niveles; y fracciones peptídicas con cinco niveles (>10, 5-10, 3-5, 1-3, <1 kDa) para cada tratamiento enzimático. Las comparaciones múltiples entre medias se realizaron con SAS, versión 9.1 (2003).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La concentración de proteína en los péptidos obtenidos por hidrólisis enzimática de FVA se determinó en cada uno (Cuadro 1). Los resultados mostraron que la concentración de proteína fue de 14.4 ± 1.2 % en HFVA y de 13.7 ± 0.3 % en CP. López-Mejía *et al.* (2014) reportaron un valor similar 15.49 %.

La variación en el contenido de proteína reportada se debió a diferencias en las etapas fisiológicas, origen del cultivo o partes diferentes de la planta. Alfaro *et al.* (1987)

**Cuadro 1.** Concentración de proteína en muestras de materia prima y estados de desarrollo de la planta (edad) de *Amaranthus* spp. plantas.

| Materia prima         | Concentración de proteína (%) |                                 | Referencia                       |
|-----------------------|-------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
|                       | Harina                        | Fracción concentrada            |                                  |
| Hojas                 | 25.3                          | 51.4                            | Metri-Ojeda <i>et al.</i> (2019) |
| Hojas                 | 25.25                         |                                 | Ngugi <i>et al.</i> (2017)       |
| Semillas              | 17.4                          | 40.01 (364 mg·g <sup>-1</sup> ) | Pospišil <i>et al.</i> (2006)    |
| Rastrojo              | 15.49                         |                                 | López-Mejía <i>et al.</i> (2014) |
| Plantas (etapa, días) |                               |                                 |                                  |
| plántulas             |                               |                                 |                                  |
| 25 days               | 29.5                          |                                 | Alfaro <i>et al.</i> (1987)      |
| 40 days               | 22.7                          |                                 |                                  |
| 60 days               | 14.4                          |                                 |                                  |
| Rastrojo              | 14.4±1.2                      | 13.7±0.3                        | Este estudio                     |

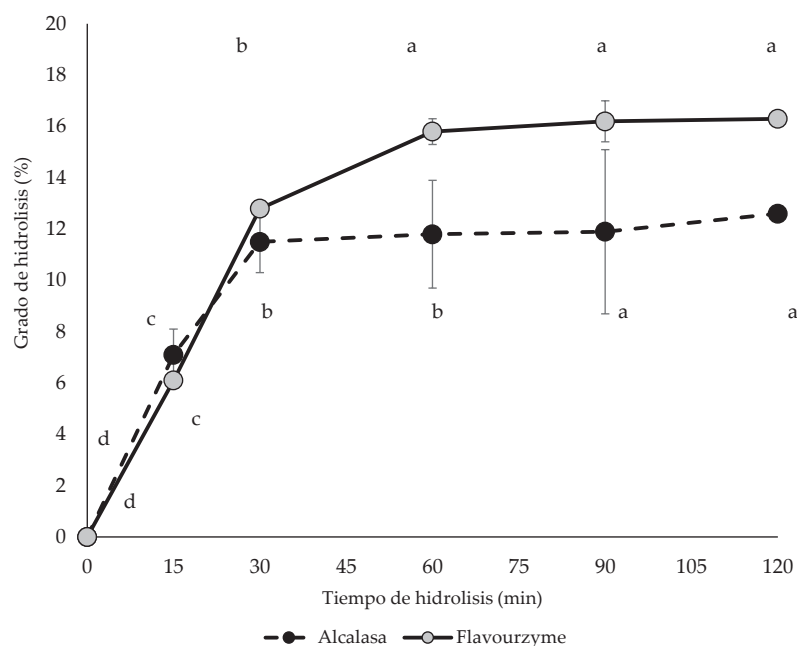
realizaron análisis de proteínas en plantas de amaranto a los 25, 40 y 60 días, respectivamente y encontraron que cuanto más largo era el período después de la emergencia de la planta, menor era la concentración de proteína. Esos hallazgos están totalmente de acuerdo con nuestros resultados, ya que las muestras se obtuvieron después de la cosecha de las semillas. Existe una gran cantidad de proteínas con potencial para producir péptidos bioactivos en lugar de ser considerados residuos agrícolas.

Se determinó el perfil electroforético del concentrado proteico del rastrojo. Hubo cuatro bandas principales de proteínas en el CP (PM: 66.2, 35, 31 y 15 kDa). Se ha reportado que el grano de amaranto contiene una mayor proporción de albúmina, seguido de globulinas y glutelinas (Soriano *et al.*, 1992; Barba de la Rosa *et al.*, 1992). Otras investigaciones reportaron que la albúmina presente en el grano de amaranto corresponde a fracciones proteicas con PM de 45, 36, 26, 22 y 17 kDa (Segura-Nieto *et al.*, 1992; Silva-Sánchez *et al.*, 2004).

El grado de hidrólisis (GH) se determinó a partir de las hidrólisis monoenzimáticas con Alcalasa o Flavourzyme® del CP del rastrojo. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 1. Para Flavourzyme® fue 16.31 % y para Alcalasa 12.64 %.

Durante los primeros 30 min de reacción, el GH se incrementó rápidamente con ambas enzimas y a un ritmo constante. Entre los 30 y 120 min, la hidrólisis con Alcalasa® alcanzó su valor máximo y no hubo diferencia significativa entre los GH obtenidos en ese intervalo de tiempo. Por otro lado, con Flavourzyme® hubo un aumento en la GH de las proteínas de 30 a 120 min. Sin embargo, el grado máximo de hidrólisis se mantuvo constante a partir de los 60 min.

Los GH obtenidos del CP del rastrojo con ambas enzimas fueron similares a las reportadas para otros sistemas monoenzimáticos con proteínas vegetales; Sun (2011) revisó la hidrólisis enzimática de proteínas de soya y encontró que el GH usualmente se encontraba entre 1 % y 39.5 %. En otros estudios se ha reportado que hidrolizados con un GH >10 % originan péptidos con actividades fisiológicas como antihipertensiva y antioxidante, entre otras. Por lo tanto, era muy probable que las fracciones peptídicas

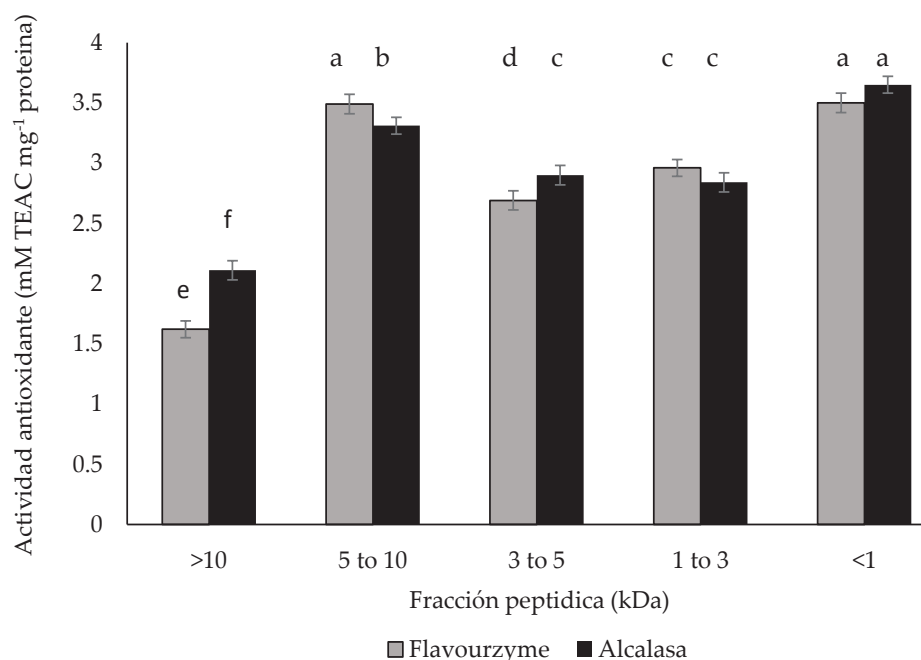


**Figura 1.** Cinéticas del grado de hidrólisis del concentrado proteico (CP) con Alcalasa® y Flavourzyme® obtenidas del rastrojo de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.). Letras diferentes en la misma curva indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p \leq 0.05$ ).

obtenidas a partir de los hidrolizados proteicos del rastrojo de amaranto tuvieron actividad antioxidante.

La Figura 2 resume la actividad antioxidante de las cinco fracciones peptídicas obtenidas tras la ultrafiltración del hidrolizado obtenido con Flavourzyme® o Alcalasa®. Se observó que todas las fracciones peptídicas tuvieron actividad antioxidante. Las fracciones >10, 3-5 y 1-3 kDa mostraron diferencias significativas entre ellas, mientras que las fracciones de 5-10 y <1 kDa no mostraron diferencias significativas entre ellas en cuanto a la conversión enzimática tanto de Flavourzyme® como de Alcalasa®. Además, estas fracciones también fueron las de mayor actividad antioxidante. Las fracciones >10, 5-10, 3-5 y 1-3 kDa entre enzimas mostraron diferencias significativas, mientras que entre las fracciones <1 kDa con las dos enzimas y la fracción de 5-10 kDa con Flavourzyme® no hubo diferencias significativas. Por otro lado, la fracción de 3-5 kDa con Alcalasa® y la fracción de 1-3 kDa con Flavourzyme® no mostraron diferencias significativas entre ellas. Las fracciones 5-10 y <1 kDa obtuvieron mayor actividad antioxidante independientemente de la enzima.

El estudio confirmó que las fracciones de péptidos bioactivos pueden liberarse del rastrojo de amaranto por medio de digestión mediada por Flavourzyme® o Alcalasa®. Las proteínas de amaranto son una buena fuente de materia prima para producir péptidos con propiedades antioxidantes. Las fracciones peptídicas que mostraron actividad antioxidante son una mezcla de péptidos.



**Figura 2.** Actividad antioxidante de las cinco fracciones peptídicas del hidrolizado de rastrojos de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.) con Flavourzyme® y Alcalasa®. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ).

El Cuadro 2 compara los resultados obtenidos en este estudio con los valores reportados por otros autores, en lo que se refiere a péptidos con actividad antioxidante obtenidos a partir de proteínas de origen vegetal con acción de diferentes enzimas. Es de notarse que el enfoque de esta investigación fue aislar e identificar péptidos con actividad antioxidante del amaranto después de la digestión enzimática.

### CONCLUSIONES

El rastrojo de amaranto es una fuente viable para obtener proteínas que pueden liberar péptidos bioactivos antioxidantes por digestión mediada con enzimas comerciales. Las fracciones peptídicas producidas por Flavourzyme® o Alcalasa® tienen actividad antioxidante y la actividad mayor se observó en las fracciones <1 kDa y 5-10 kDa, independientemente de la enzima utilizada.

### AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento Conacyt CB 2010-01, 158389, RIO y beca Conacyt: 296718. Ávila Alejandre Alma Xóchil, beca postdoctoral de Conacyt: 290717. Al productor Luis Suárez Suárez de San Antonio Tecomitl, Milpa Alta, México le agradecemos por proveer el rastrojo de amaranto para esta investigación.

**Cuadro 2.** Péptidos con actividad antioxidante, obtenidos a partir de proteínas de origen vegetal, usando diferentes enzimas.

| Fuente               | Enzima   | Grado de hidrólisis (%) | Metodología para la determinación de la actividad antioxidante | Fraciones   | Cantidad de proteína | Referencia                        |
|----------------------|--|-------------------------|--|-------------|----------------------|-----------------------------------|
| Rastrojo de amaranto | Flavourzyme®<br>Alcalasa®                            | 16.31                   | ABTS<br>(mM TEAC g <sup>-1</sup> )                             | <1 kDa      | 3.50                 | This work                         |
|                      |  | 12.64                   |  | <1 kDa      | 3.65                 |                                   |
| Frijol               | Flavourzyme®<br>Alcalasa®<br>Pepsina-<br>Pancreatina | 43.01                   | ABTS (mM TEAC g <sup>-1</sup> )                                | <1 kDa      | 888.43               | Ruiz-Ruiz<br><i>et al.</i> , 2011 |
|                      |  | 26.15                   |  | <1 kDa      | 1985.50              |                                   |
| Papa dulce           | Alcalase®  | ---                     | Capacidad quelante de Fe <sup>2+</sup>                         | < 3 kDa     | 82.27                | Zhang <i>et al.</i> ,<br>(2014)   |
|                      |  | ---                     | Radical hidroxilo (HO·)  | < 3 kDa     | 59.74                |                                   |
| Soya                 |  | 18.8                    | FRAP (mM eq. ácido ascórbico)                                  | >50 kDa     | 1.009                | Moure <i>et al.</i> ,<br>(2006)   |
|                      |  | 36.6                    | Reduction power (mM Ascorbic acid equivalent)                  | >50 kDa     | 0.4×10 <sup>-3</sup> |                                   |
|                      |  | 63.4                    | Radical hidroxilo (OH·)  | 30 & 50 kDa | 69.75                |                                   |
|                      | Flavourzyme®   | 42.1                    | ABTS (mM Trolox eq.)   | >50 kDa     | 6.64                 |                                   |
|                      |  |                         | ABTS (IC <sub>50</sub> ) (mg mL <sup>-1</sup> )                |             | 0.811                |                                   |
|                      |  |                         | Agente quelante (IC <sub>50</sub> )                            |             | 0.766                |                                   |
|                      |  |                         | Poder reductor   |             | 0.274                |                                   |
| Papaína              |  |                         | DPPH (IC <sub>50</sub> ) (mg mL <sup>-1</sup> )                |             | 1.48                 |                                   |
|                      |  |                         | ABTS (IC <sub>50</sub> ) (mg mL <sup>-1</sup> )                |             | 0.892                |                                   |
|                      |  |                         | Agente quelante (IC <sub>50</sub> )                            |             | 0.801                |                                   |
|                      |  | Poder reductor          |  | 0.29        |                      |                                   |

## REFERENCIAS

- Admassu HM, Abdalbasit A, Gasmalla R, Wang W, Zhao. 2017. Bioactive peptides derived from seaweed protein and their health benefits: antihypertensive, antioxidant and antidiabetic properties. *Journal of Food Science* 83 (1): 6–16. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14011>
- Alfaro MA, Martínez A, Ramírez R, Bressani R. 1987. Rendimiento y composición química de las partes vegetativas del amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.) en diferentes etapas fisiológicas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 37 (1): 108–121.
- Balandrán-Quintana RR, Mendoza-Wilson AM, Ramos-Clamont G, Huerta-Ocampo JA. 2019. Plant-Based Proteins. In *Proteins: Sustainable Source, Processing and Applications*, Galanakis CM (ed.); Elsevier-Academic Press: Amsterdam, The Netherlands, 97–130. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816695-6.00004-0>
- Barba de la Rosa AP, Gueguen J, Paredes-Lopez O, Viroben G. 1992. Fractionation procedures, electrophoretic characterization, and amino acid composition of amaranth seed proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40 (6): 931–936. <https://doi.org/10.1021/jf00018a002>
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of Protein-Dye binding. *Analytical Biochemistry* 72 (1–2): 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

- Cho MJ, Unklesbay N, Hsieh F, Clarke AD. 2004. Hydrophobicity of Bitter Peptides from Soy Protein Hydrolysates. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 52 (19): 5895–5901. <https://doi.org/10.1021/jf0495035>
- Hamada JS. 2000. Characterization and functional properties of rice bran proteins modified by commercial exoproteases and endoproteases. *Journal of Food Science* 65(2): 305–310. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb15998.x>
- Hoover R, Rorke SC, Martin AM. 1991. Isolation and characterization of lima bean (*Phaseolus lunatus*) starch. *Journal of Food Biochemistry* 15 (2): 117–136. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.1991.tb00149.x>
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>
- López-Mejía OA, López-Malo A, Palou E. 2014. Antioxidant capacity of extracts from amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.) seeds or leaves. *Industrial Crops and Products* 53 (1): 55–59. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.12.017>
- Manyelo TG, Sebola NA, van Rensburg EJ, Mabelebele M. 2020. The probable use of genus *Amaranthus* as feed material for monogastric animals. *Animals* 10 (9): 1504. <https://doi.org/10.3390/ani10091504>
- Metri-Ojeda J, Nikiforidis C, Sandoval-Peraza M, Chel-Guerrero L, Baigts-Allende D. 2019. Processing of *Amaranthus hypochondriacus* biomass for functional protein concentrates development. *Journal of Food Research* 8 (5): 70–81 <https://doi.org/10.5539/jfr.v8n5p71>
- Montesano D, Gallo M, Blasi F, Cossignani L. 2020. Biopeptides from vegetable proteins: new scientific evidences. *Current Opinion in Food Sciences* 31 (1): 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.10.008>
- Montoya-Rodríguez A, Gómez-Favela MA, Reyes-Moreno C, Milán-Carrillo J, González de Mejía E. 2015. Identification of bioactive peptide sequences from amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) seed proteins and their potential role in the prevention of chronic diseases. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 14 (2): 139–158. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12125>
- Moure A, Domínguez H, & Parajó JC. 2006. Antioxidant properties of ultrafiltration-recovered soy protein fractions from industrial effluents and their hydrolysates. *Process Biochemistry* 41 (2): 447–456. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.07.014>
- Ngugi CC, Oyoo-Okoth E, Manyala JO, Fitzsimmons K, Kimotho A. 2017. Characterization of the nutritional quality of amaranth leaf protein concentrates and suitability of fish meal replacement in Nile tilapia feeds. *Aquaculture Reports* 5 (1): 62–69. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2017.01.003>
- Nielsen PM, Petersen D, Dambmann C. 2001. Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. *Journal of Food Science* 66 (5): 642–646. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb04614.x>
- Pospíšil A, Pospíšil M, Varga B, Svecnjak Z. 2006. Grain yield and protein concentration of two amaranth species (*Amaranthus* spp.) as influenced by the nitrogen fertilization. *European Journal of Agronomy* 25 (3): 250–253. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2006.06.001>
- Pukalskas A, van Beek TA, Venskutonis RP, Linsen JPH, van Veldhuizen A, de Groot A. 2002. Identification of radical scavengers in sweet grass (*Hierochloa odorata*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50 (10): 2914–2919. <https://doi.org/10.1021/jf011016r>
- Ruiz-Ruiz J, Dávila-Ortíz G, Chel-Guerrero L & Betancour-Ancona D. 2011. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory and antioxidant peptide fractions from hard-to-cook bean enzymatic hydrolysates. *Journal Sciences of Food and Agriculture* 37 (1): 26–35. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2011.00594.x>
- Saito K, Jin DH, Ogawa T, Muramoto K, Hatakeyama E, Yasuhara T, Nokihara K. 2003. Antioxidative properties of tripeptide libraries prepared by the combinatorial chemistry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 (12): 3668–3674. <https://doi.org/10.1021/jf021191n>
- Scilingo AA, Molina Ortiz S, Martínez EN, Añón AM. 2002. Amaranth protein isolates modified by hydrolytic and thermal treatments. Relationship between structure and solubility. *Food Research International* 35 (9): 855–862. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(02\)00089-3](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(02)00089-3)
- Segura-Nieto M, Vazquez-Sanchez N, Rubio-Velazquez H, Olguin-Martinez HE, Rodriguez-Nester CE, Herrera-Estrella L. 1992. Characterization of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.) seed proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40 (9): 1553–1558. <https://doi.org/10.1021/jf00021a016>

- Silva-Sánchez C, González-Castañeda J, de León-Rodríguez A, de La Rosa APD. 2004. Functional and rheological properties of amaranth albumins extracted from two mexican varieties. *Plant Foods for Human Nutrition* 59 (4): 169–174. <https://doi.org/10.1007/s11130-004-0021-6>
- Soriano-Santos J, Iwabuchi S, Fujimoto K. 1992. Solubility of amaranth seed proteins in sodium sulphate and sodium chloride: the main factor in quantitative extraction for analysis. *International Journal of Food Science and Technology* 27 (3): 337–346. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1992.tb02035.x>
- Sun XD. 2011. Enzymatic hydrolysis of soy proteins and the hydrolysates utilisation. *International Journal of Food Science and Technology* 46 (12): 2447–2459. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02785.x>
- Zhang M, Mu TH, Sun MJ. 2014. Purification and identification of antioxidant peptides from sweet potato protein hydrolysates by Alcalase. *Journal of Functional Foods* 7 (2): 191–200. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.02.012>.



## ANTIOXIDANT CAPACITY AND OXIDATIVE STABILITY OF AN AVOCADO BY-PRODUCT PASTE WITH AND WITHOUT SEED

Andrés Concepción-Brindis<sup>1</sup>, Edgar Iván Jiménez-Ruiz<sup>2\*</sup>, Javier Germán Rodríguez-Carpena<sup>3</sup>,  
María Teresa Sumaya-Martínez<sup>2</sup>, Leticia Mónica Sánchez-Herrera<sup>2</sup>, Viridiana Peraza-Gómez<sup>4</sup>,  
Nathaly Montoya-Camacho<sup>5</sup>, Víctor Manuel Ocaño-Higuera<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Universidad Autónoma de Nayarit. Programa de Doctorado en Ciencias Biológico Agropecuarias. Carretera Tepic-Compostela km 9, Xalisco, Nayarit, México. C. P. 63780.

<sup>2</sup> Universidad Autónoma de Nayarit. Unidad de Tecnología de Alimentos, Secretaría de Investigación y Posgrado. Ciudad de la Cultura s/n, Tepic, Nayarit, México. C. P. 63000.

<sup>3</sup> Universidad Autónoma de Nayarit. Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Carretera Compostela-Chapalilla km 3.5, Compostela, Nayarit, México. C. P. 63700.

<sup>4</sup> Universidad Autónoma de Nayarit. Unidad Académica Escuela Nacional de Ingeniería Pesquera. Carretera a San Blas km. 12, Bahía de Matanchén, San Blas, Nayarit, México. C. P. 63740.

<sup>5</sup> Universidad de Sonora. Unidad Académica Hermosillo. Ley Federal del Trabajo s/n, Hermosillo, Sonora, México. C. P. 83100.

\* Corresponding author: jiru80@gmail.com

### ABSTRACT

During the harvest, processing, and distribution of avocado (*Persea americana* Mill.), a large amount of waste (peel, seed, and pulp) is produced, which has proven to have antioxidant properties and this by-product might be used as input within the food production chain. This study evaluates the lipid oxidation, antioxidant capacity and phenolic compounds of two pastes made with avocado by-products (with seed: PS and without seed: PWS) during 60 d stored under refrigeration. On the results obtained, an analysis of variance (ANOVA) was performed, followed by the Tukey's test ( $p \leq 0.05$ ). The lipid oxidation was controlled in both pastes and was even reduced during storage. In the PS, the antioxidant capacity declined, although it remained high and very similar to the PWS towards the end of the storage. The concentration of phenolic acids increased during most of the time of storage. Although PWS displayed better results with two of the analyses performed, both pastes were considered to have important antioxidant characteristics, which remained during the refrigerated storage. Due to this, its potential use in the production of foods is inferred, particularly for animals such as cattle, pigs, in aquaculture, or even in the cosmetics industry.

**Keywords:** avocado, *Persea americana*, by-product, antioxidant activity, oxidative stability.

### INTRODUCTION

In Mexico, the production of avocado (*Persea americana* Mill.) stands out with the variety "Hass" as the most popular in the international market. Mexico is the main producer in the world with over 2 300 889 Megagrams (Mg). The state of Nayarit is the fourth largest producer in the country, with a production of 67 059 Mg (SIAP,

**Citation:** Concepción-Brindis A, Jiménez-Ruiz EI, Rodríguez-Carpena JG, Sumaya-Martínez MT, Sánchez-Herrera LM, Peraza-Gómez V, Montoya-Camacho N, Ocaño-Herrera VM. 2022. Antioxidant capacity and oxidative stability of an avocado by-product paste with and without seed. *Agrociencia*. 56(3): 451-468. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i3.2801>

**Editor in Chief:**  
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: December 6, 2021.

Approved: March 9, 2022.

Published in *Agrociencia*:  
May 17, 2022.

This work is licensed  
under a Creative Commons  
Attribution-Non-Commercial  
4.0 International license.



2020). Along with the fresh fruit, avocado is industrialized and transformed to other products such as guacamole and oil, mainly for industrial, gastronomic, medicinal, and cosmetic purposes.

In general, avocado peel and seeds contain catechins, procyanidins and hydroxycinnamic acids, which gives them an antioxidant potential, and the pulp is rich in hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids and procyanidins. This content of phenolic compounds in the avocado fruits used to obtain by-products can be affected by diverse factors such as the variety, agronomic conditions, postharvest handling, or the state of maturity and storage conditions, mainly (Goulao and Oliveira, 2008; Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011). Avocado by-products obtained from the peel and seed of the fruit have been reported to present better antioxidant properties than pulp due to their higher concentration of phenolic compounds and can therefore be used for gastronomic and pharmaceutical purposes (Wang *et al.*, 2010; Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011). Despite this, the edible pulp contains antioxidant properties as well as providing, when included in by-products, considerable amounts of fatty acids and essential amino acids (Gupta *et al.*, 2018).

During production and processing, avocado can undergo physical damage by compression, friction, or blows, which reduces the quality of the fruit and stops it from complying with the specifications desired by the consumer. Packaging companies select the fruit and separate those that do not satisfy the established requirements for sale or export. The discarded fruits occasionally remain near the plantation and cause contamination; when avocados arrive in factories, are selected once more and another percentage is discarded. Once the fruit is industrially processed, between 21 and 30 % of total weight is left behind as waste (Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011). Recent reports by the FAO inform of wastes of around 54 % of the national production (FAO, 2015). This situation promotes the implementation and refining of techniques or methods to use these residues. There is even research on animal feed that has used avocado residues, particularly on pigs, and an improvement was found in the composition, as well as protection against oxidation of muscle in storage and of loin chops taken from these pigs (Hernández-López *et al.*, 2016 a, b).

Based to the above, since the residues of this fruit have displayed antioxidant properties, which are important for food production, the aim of this study was to evaluate the oxidative stability and antioxidant activity of two pastes made from avocado by-products, with and without seeds, during their storage under refrigeration, as an alternative for use in the animal feed or cosmetic industries.

## MATERIALS AND METHODS

### Production of avocado paste

The avocado of the variety "Hass" was acquired from packaging companies in the municipal area of Xalisco, Nayarit, Mexico. The avocado was sliced during physiological maturity and kept at room temperature until it reached maturity for consumption, which was determined by the colour of their surface (turned black at

100 % maturity). These selected fruits were not adequate for marketing due to their inadequate size, deformities, spots, grazes, or lesions in the epithelium. The fruits were transported in plastic containers to the Agriculture Academic Unit of the Autonomous University of Nayarit for processing. Previously, they were sanitized with chlorinated water and their seeds were removed by hand. The pulp and peels were ground in a mobile hammer and blade fodder mill, without a sieve, with an added gasoline engine to obtain a paste without seed (PWS). Likewise, an entire lot of whole avocados with seeds, was also ground (PS). By the end, both pastes were packed in polyethylene bags and stored in refrigeration (4 °C) for 60 d to then be analysed, with sampling every 15 d.

#### **Determination of lipid oxidation by TBA**

The value of Thiobarbituric acid (TBA) was determined following the method by Biwas *et al.* (2017). The result was expressed as the concentration of malondialdehyde (MDA) in mg kg<sup>-1</sup> and to perform calculations, a standard tetraethoxy propane (TEP) curve was used.

#### **Evaluation of the antioxidant capacity using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH●)**

The ability to trap the free radical DPPH was measured based on Guija-Poma *et al.* (2015). The results were expressed in μmol equivalent to Trolox per g (μmol TE g<sup>-1</sup>) and a standard Trolox curve (6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchromo-carboxylic acid) was used, from 0 to 500 μmol L<sup>-1</sup>.

#### **Determination of total phenolic compounds**

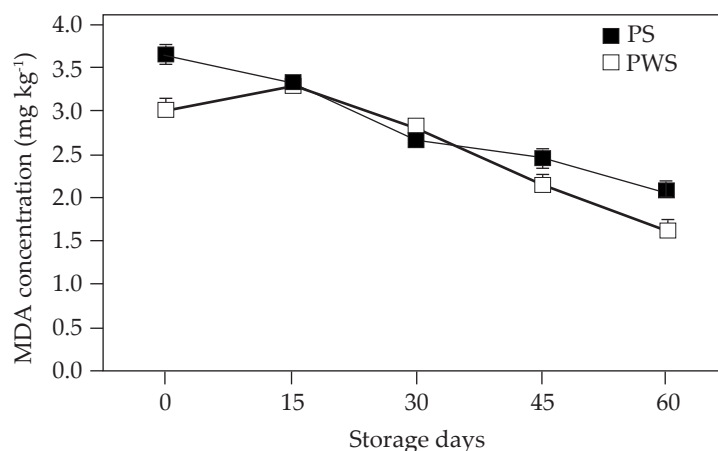
The concentration of phenolic compounds was determined with the Folin-Ciocalteu reagent, following the method described by Shi *et al.* (2018). A standard gallic acid curve (0 to 400 mg L<sup>-1</sup>) was used, and the result was expressed in mg gallic acid equivalents (GAE) per g of sample.

#### **Statistical analysis**

The data were analysed as a complete randomized design with a one-way analysis of variance (ANOVA). The treatments consisted of avocado paste with and without seeds, analysed jointly by storage time. In case a significant difference was found, the Tukey's test was performed ( $p \leq 0.05$ ). The analyses were done using SPSS Statistics v. 22.0 (IBM, 2013).

### **RESULTS AND DISCUSSION**

Regarding results of lipid oxidation for the avocado by-product paste with seed (PS) and without seed (PWS), in general terms, a significant reduction can be observed in the concentration of MDA during storage after 60 d ( $p \leq 0.05$ ), although the PWS displayed the lower final values, making it the best treatment (Figure 1). The degree of oxidation (concentration of MDA) found for both pastes in this study was lower



**Figure 1.** Concentration of malondialdehyde (MDA) of avocado by-product paste with seed (PS) and without seed (PWS) during storage in refrigeration. The data show the mean of  $n = 3$ . Bars represent the standard deviation.

in comparison to the one found by Plaitho *et al.* (2017) for all sampling points, who determined the effects of sterilization on the stability of the storage (6 months at 37 °C) of white and black sesame by-product paste. Those authors concluded that such a stability depends on the types of seeds and that it relates to the amount of free fatty acids, fibre, vitamins B, minerals and lignans (for example, sesamin, sesamol and sesamol), which are phenolic compounds with a high antioxidant capacity.

Avocado not only contains phenolic compounds, but also high concentrations of tocopherols and, in lower amounts, tocotrienols, which together represent the tocols with antioxidant and vitamin E activities. One of the most interesting chemical properties of the tocols (tocopherols and tocotrienols) is their ability to protect polyunsaturated lipids from oxidation, able to reduce peroxide radicals by donating hydrogen atoms (Delgado *et al.*, 2020). It has even been determined that the extracts obtained from “Hass” avocado residues present antioxidant activity against lipid oxidation in pork for hamburgers (Rodríguez-Carpena *et al.*, 2012).

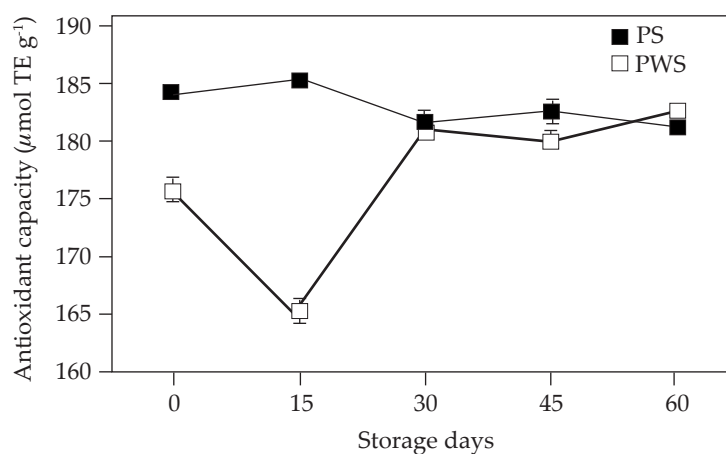
Among the few related studies is the one reported by Mepba *et al.* (2008), who evaluated the stability of avocado pastes with antioxidants (propyl gallate and ascorbyl palmitate) and the oxidative changes by performing an analysis of TBA-reactive substances. In their results, they reported that the oxidative rancidness increases until day 16, where the highest TBA values were found in the control sample, in comparison with the samples treated with antioxidants. Whereas in this study, the most important change in PS and PWS was the reduction in the values of TBA (expressed as the concentration of MDA) from day 30 to day 60 ( $p \leq 0.05$ ). This may be due to the antioxidants, originally contained in the initial samples: phenolic compounds and tocols, as well as others that may be formed during the cold storage such as leucoanthocyanidins and catechins, which have a proven ability to counteract lipid oxidation (Ramírez-Martínez and Luh, 1973; Ramos-Aguilar *et al.*, 2019).

### Antioxidant capacity

Regarding the determination of the antioxidant capacity by DPPH●, significant differences were observed between the pastes at the beginning of the experiment ( $p \leq 0.05$ ), although their values are equalized toward the end of the storage period ( $p > 0.05$ ) (Figure 2). It is well known that not only the pulp, but also the peel and seed of the avocado contain polyphenols, carotenoids, and chlorophylls, responsible for the antioxidant activity. They act as cell membrane stabilizers and neutralize the free radicals related to harmful events such as cell oxidative stress. Other active compounds are the procyanidins, which, in the case of the peel, are suggested to be the main phenolic compounds related to the antioxidant properties (Wang *et al.*, 2010). The antioxidant capacity of different avocado tissues by the stabilization of the radical DPPH● has previously been reported (Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011; Kosinska *et al.*, 2012).

Since the beginning, lower values were observed for PWS and even a reduction in the antioxidant activity on day 15 of storage, yet by day 30, it increased again, with values near to those of PS ( $p \leq 0.05$ ). Regarding that matter, despite the final values being similar, a higher antiradical activity was observed in most samples during storage in comparison with PWS. Therefore, should the paste be used in a fresh form, according to this technique, it would be recommended to keep the avocado seed ( $p \leq 0.05$ ). Rodríguez-Carpena *et al.* (2011) reported a higher antioxidant activity in the seed in comparison with the peel, which was attributed to a high concentration of hydroxybenzoic acid, catechins and hydroxycinnamic acid, which may explain this behaviour.

On the contrary, Wang *et al.* (2010), Kosinska *et al.* (2012) and Calderón-Oliver *et al.* (2016) reported that an avocado peel extract presents a higher antioxidant capacity through the elimination of DPPH● radicals than the seed extract. The differences



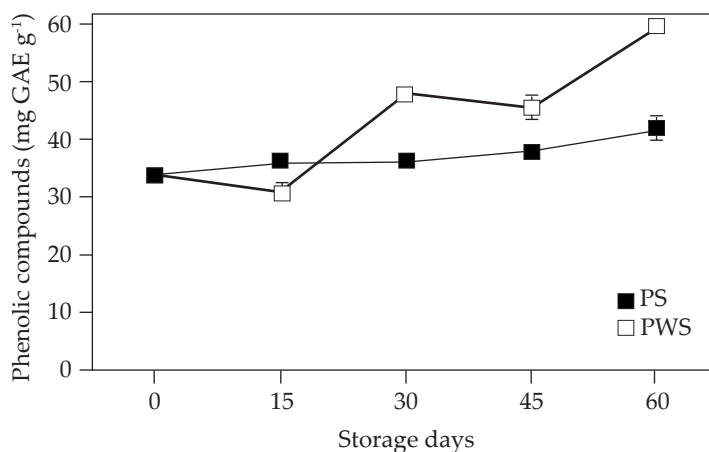
**Figure 2.** Antioxidant capacity (by DPPH● testing) of avocado by-product paste with seed (PS) and without seed (PWS) during storage in refrigeration. The data show the mean of  $n = 3$ . Bars represent the standard deviation.

between the studies may be due to the type of extract obtained before the analysis using the free radical. It is also worth mentioning that the antioxidant capacity of the avocado is affected by the season and time of postharvest maturation, since the fruit presents physiological and biochemical changes that include the biosynthesis and accumulation of pigments and lipid antioxidants in different tissues (Goulao and Oliveira, 2008). Differences may even be found in the behaviour regarding the antioxidant properties between the peel and seed of this variety studied (Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011).

### Total phenolic compounds

The total phenolic content increased from  $33.78 \pm 0.28$  to  $41.98 \pm 1.75$  for PS and from  $34.56 \pm 0.59$  to  $59.57 \pm 0.66$  mg GAE g<sup>-1</sup> for PWS ( $p \leq 0.05$ ) during storage (Figure 3). It is interesting to notice the reduction and later increase for PWS on days 15 and 30, respectively ( $p \leq 0.05$ ), which coincides with the antiradical activity values in the same sampling points. These increases, both in total phenolic compounds and in antiradical activity may be due to the formation of new compounds with a higher antioxidant capacity during storage in refrigeration. Regarding this, Ramírez-Martínez and Luh (1973) mentioned the formation of bioactive compounds in avocado pulp during its storage in freezing temperatures.

On the other hand, since day 30 and onwards, in all sampling points and until the end of the storage period, the PWS displayed higher values than the PS ( $p \leq 0.05$ ), which may be due to the absence of seeds. Rodríguez-Carpena *et al.* (2011) and Kosinska *et al.* (2012) recorded a higher concentration of phenolic compounds in the avocado peel than in the seed of this same variety. For this reason, removing the seeds in the PWS promoted an increase in phenolic compounds values; this treatment was the best in terms of the concentration of such compounds. Wang *et al.* (2010) found a higher



**Figure 3.** Total phenolic compounds in avocado by-product paste with seed (PS) and without seed (PWS) during storage in refrigeration. The data show the mean of  $n = 3$ . Bars represent standard deviation.

concentration of phenolic compounds in the seed than in the peel of this fruit, and they identified the procyanidins as the main representative of this group of oxidants. In the case of the peel, they identified chlorophyll and carotenoids as the main components. The differences between studies may be due to the factors discussed previously for the antioxidant activity. This study also used the pulp of fruits considered inadequate for sale or rejected for quality control reasons and which, if they were included as inputs in the food industry, would present other types of compounds related to beneficial effects in the organisms that consume them, such as fatty acids and essential amino acids (Gupta *et al.*, 2018).

In recent years, studies have been completed which formulate animal diets containing avocado by-products or paste with a low quality, or which do not comply with the characteristics with the required characteristics for marketing. Those studies were implemented to feed pigs and favourable results were found regarding the performance of consumption and food conversion, composition, and antioxidant protection in the muscle during cold storage (Hernández-López *et al.*, 2016b) and protection against lipid and protein oxidation in processed chops (Hernández-López *et al.*, 2016a). In aquaculture, there is a study reported in which avocado by-products were included in a diet for tilapia (*Oreochromis niloticus*) and their antioxidant properties improved (Jiménez-Ruiz *et al.*, 2019). As in previous studies, this study also used the pulp in the by-products studied, out of which the importance of including them in the diets of the fed organisms has already been mentioned (Gupta *et al.*, 2018).

This study becomes relevant by showing that the time of use of the stored avocado paste can be extended when there are, for example, high levels of waste of this fruit depending on the different harvest times among regions. On the other hand, when considering two of the analyses performed (lipid oxidation and concentration of phenolic compounds), the best option is to remove the avocado seed, as proven by the results for the treatment paste without seeds. It is important to mention that the paste with seeds also has attributes that can make it usable, although it is necessary to define its better final use. For example, when used as a food input, it would be recommendable to remove the seed, due mainly to the antinutrients it presents, which may affect the organisms being fed.

## CONCLUSIONS

The pastes evaluated maintained their antioxidant properties and a low lipid oxidation in refrigeration, proving the feasibility of storing them in seasons in which the highest levels of avocado fruit are wasted until the moment in which they are used. Although removing the seed generally presented better results, according to the analyses, both pastes have the potential to be used in food production, particularly destined to animal feed, such as pigs, cattle, aquaculture or in the cosmetic industry, which would give them an added value. In the case of their use for the food industry, a key to consider is the antinutritional factors that may be found in the avocado seed included in one of the pastes, the removal of the seed is therefore recommended. In addition, this may contribute to reduce contamination when these fruits are discarded outdoors.

## ACKNOWLEDGEMENTS

To the Cuerpo Académico de Biotecnología de Alimentos y Productos Funcionales (UAN-CA-255) and Red Temática de Bioproductos y Bioprocesos, for the participation of some of their members. To the Fondo Sectorial de Investigación para la Educación (SEP-CONACyT) for funding this study through project Num. 288594.

## REFERENCES

- Biwas C, Bala J, Kharb S. 2017. Effect of vitamin E supplementation on superoxide and malondialdehyde generation in acute celphos poisoning. *Journal Archives of Medicine and Health Sciences* 5 (2): 200–203. [https://doi.org/10.4103/amhs.amhs\\_39\\_17](https://doi.org/10.4103/amhs.amhs_39_17)
- Calderón-Oliver M, Escalona-Buendía HB, Medina-Campos ON, Pedraza-Chaverri J, Pedroza-Islas R, Ponce-Alquicira E. 2016. Optimization of the antioxidant and antimicrobial response of the combined effect of nisin and avocado by-products. *Food Science and Technology* 65: 46–52. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.07.048>
- Delgado A, Al-Hamimi S, Ramadan MF, DeWit M, Durazzo A, Nyam KL, Issaoui M. 2020. Contribution of tocots to food sensorial properties, stability, and overall quality. *Journal of Food Quality* 1–8. <https://doi.org/10.1155/2020/8885865>
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2015. Pérdidas y desperdicios de alimentos en América Latina y el Caribe. <http://www.fao.org/3/a-i4655s.pdf> (Retrieved: July 2020).
- Goulao L, Oliveira C. 2008. Cell wall modifications during fruit ripening: When a fruit is not the fruit. *Trends in Food Science and Technology* 19: 4–25. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.07.002>
- Guija-Poma E, Inocente-Camones MA, Ponce-Pardo J, Zarzosa-Norabuena E. 2015. Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. *Horizonte Médico* 15: 57–60. <http://www.scielo.org.pe/pdf/hm/v15n1/a08v15n1.pdf> (Retrieved: July 2020)
- Gupta SK, Singhal P, Singh A, Chauhan R, Kumar B. 2018. Nutritional and pharmaceutical benefits of avocado plant. *Journal of Advanced Scientific Research* 9: 4–11. <http://researchgate.net/publication/329388661> (Retrieved: July 2020).
- Hernández-López SH, Rodríguez-Carpena JG, Lemus-Flores C, Galindo-García J, Estévez M. 2016a. Antioxidant protection of proteins and lipids in processed pork loin chops through feed supplementation with avocado. *Journal of Food Science and Technology* 53: 2788–2796. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2252-6>
- Hernández-López SH, Rodríguez-Carpena JG, Lemus-Flores C, Grageola-Nuñez F, Estévez M. 2016b. Avocado waste for finishing pigs: Impact on muscle composition and oxidative stability during chilled storage. *Meat Science* 116: 186–192. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.02.018>
- IBM Corp (International Business Machines Corporation). Released 2013. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp. <https://www.ibm.com/support/pages/how-cite-ibm-spss-statistics-or-earlier-versions-spss> (Retrieved: July 2020).
- Jiménez-Ruiz EI, Rodríguez-Carpena JG, Hernández-Ortega GP, Sumaya-Martínez MT, Balois-Morales R, Sánchez-Herrera LM, Peraza-Gómez V. 2019. Antioxidant properties of a tilapia (*Oreochromis niloticus*) diet with the inclusion of avocado by-product. *Biotecnia* 21: 163–169. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v21i3.1053>
- Kosinska A, Karamac M, Estrella I, Hernández T, Bartolome B, Dykes GA. 2012. Phenolic compound profiles and antioxidant capacity of *Persea Americana* Mill. Peels and seeds of two varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60: 4613–4619. <https://doi.org/10.1021/jf300090p>
- Mepba HD, Sokan TG., Eboh L, Banigo EB. 2008. Stabilized avocado pastes: chemical contents and oxidative changes during storage. *Journal of Food Science* 77–84. <https://doi.org/10.2174/1874256400802010077>
- Plaithe Y, Rattanasena P, Chaikham P, Prangthip P. 2017. Biochemical and antioxidative properties of unprocessed and sterilized white and black sesame by-product from Northern Thailand. *Current Research in Nutrition and Food Science* 5: 196–205. <https://doi.org/10.12944/CRNFSJ.5.3.03>
- Ramírez-Martínez JR, and Luh BS. 1973. Phenolic compounds in frozen avocados. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 24: 219–225. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740240214>

- Ramos-Aguilar AL, Ornelas-Paz J, Tapia-Vargas LM, Ruiz-Cruz S, Gardea-Béjar AA, Yahia EM, Ornelas-Paz JJ, Pérez-Martínez JD, Rios-Velasco C, Ibarra-Junquera V. 2019. The importance of the bioactive compounds of avocado fruit (*Persea americana* Mill) on human health. *Biotecnia* 21: 154–162. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v21i3.1047>
- Rodríguez-Carpena JG, Morcuende D, Andrade MJ, Kylli P, Estévez M. 2011. Avocado (*Persea americana* Mill.) phenolics, in vitro antioxidant and antimicrobial activities, and inhibition of lipid and protein oxidation in porcine patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 5625–5635. <https://doi.org/10.1021/jf1048832>
- Rodríguez-Carpena JG., Morcuende D, Petron M, Estévez M. 2012. Inhibition of cholesterol oxidation products (COPs) formation in emulsified porcine patties by phenolic-rich avocado (*Persea americana* Mill.) extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60: 2224–2230. <https://doi.org/10.1021/jf2040753>
- Shi P, Du W, Wang Y, Teng X, Chen X, Ye L. 2018. Total phenolic, flavonoid content, and antioxidant activity of bulbs, leaves, and flowers made from *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb. *Food Science Nutrition* 7: 148–154. <https://doi.org/10.1002/fsn3.834>
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2020. Panorama Agroalimentario. Benjamín Franklin 146, Colonia Escandón, Delegación Miguel Hidalgo, C.P. 11800, Ciudad de México. [www.inforural.com.mx/wp-content/uploads/2020/11/Atlas-Agroalimentario-2020.pdf](http://www.inforural.com.mx/wp-content/uploads/2020/11/Atlas-Agroalimentario-2020.pdf) (Retrieved: July 2020).
- Wang W, Terrell RB, Gu L. 2010. Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. *Food Chemistry* 122: 1193–1198. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.114>
- Wang M, Zheng Y, Khuong T, Lovatt C. 2012. Effect of harvest date on the nutritional quality and antioxidant capacity in “Hass” avocado during storage. *Food Chemistry* 135: 694–698. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.022>

## CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y ESTABILIDAD OXIDATIVA DE UNA PASTA DE SUBPRODUCTO DE AGUACATE CON Y SIN SEMILLA

Andrés Concepción-Brindis<sup>1</sup>, Edgar Iván Jiménez-Ruiz<sup>2\*</sup>, Javier Germán Rodríguez-Carpena<sup>3</sup>,  
María Teresa Sumaya-Martínez<sup>2</sup>, Leticia Mónica Sánchez-Herrera<sup>2</sup>, Viridiana Peraza-Gómez<sup>4</sup>,  
Nathaly Montoya-Camacho<sup>5</sup>, Víctor Manuel Ocaño-Higuera<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Universidad Autónoma de Nayarit. Programa de Doctorado en Ciencias Biológico Agropecuarias. Carretera Tepic-Compostela km 9, Xalisco, Nayarit, México. C. P. 63780.

<sup>2</sup> Universidad Autónoma de Nayarit. Unidad de Tecnología de Alimentos, Secretaría de Investigación y Posgrado. Ciudad de la Cultura s/n, Tepic, Nayarit, México. C. P. 63000.

<sup>3</sup> Universidad Autónoma de Nayarit. Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Carretera Compostela-Chapalilla km 3.5, Compostela, Nayarit, México. C. P. 63700.

<sup>4</sup> Universidad Autónoma de Nayarit. Unidad Académica Escuela Nacional de Ingeniería Pesquera. Carretera a San Blas km. 12, Bahía de Matanchén, San Blas, Nayarit, México. C. P. 63740.

<sup>5</sup> Universidad de Sonora. Unidad Académica Hermosillo. Ley Federal del Trabajo s/n, Hermosillo, Sonora, México. C. P. 83100.

\* Autor para correspondencia: jiru80@gmail.com

### RESUMEN

Durante la cosecha, procesamiento y distribución del aguacate (*Persea americana* Mill.) se produce una gran cantidad de residuos (cáscara, semilla y pulpa) que han mostrado poseer propiedades antioxidantes, por lo que se pudieran aprovechar como subproductos e insumos en la elaboración de alimentos. En el presente estudio se evaluó la oxidación lipídica, capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de dos pastas de subproducto de aguacate (con semilla: PCS y sin semilla: PSS) durante 60 d de almacenamiento en refrigeración. Se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de Tukey a los resultados obtenidos ( $p \leq 0.05$ ). La oxidación lipídica en ambas pastas se controló, incluso disminuyó durante el almacenamiento. En PCS, la capacidad antioxidante disminuyó, aunque se mantuvo alta y muy similar a los de PSS hacia el final del almacenamiento. La concentración de compuestos fenólicos mostró incrementos en la mayor parte del almacenamiento. Aunque PSS mostró mejores resultados con dos de los análisis realizados, se considera que ambas pastas presentan características antioxidantes importantes, las cuales se mantuvieron durante su almacenamiento. Por ello, se infiere su uso potencial en la elaboración de alimentos, sobre todo aquellos destinados al consumo animal como ganado bovino, porcino, en la acuicultura, o incluso en la industria de cosméticos.

**Palabras clave:** aguacate, *Persea americana*, subproducto, actividad antioxidante, estabilidad oxidativa.

**Citation:** Concepción-Brindis A, Jiménez-Ruiz EI, Rodríguez-Carpena JG, Sumaya-Martínez MT, Sánchez-Herrera LM, Peraza-Gómez V, Montoya-Camacho N, Ocaño-Herrera VM. 2022. Capacidad antioxidante y estabilidad oxidativa de una pasta de subproducto de aguacate con y sin semilla.

Agrociencia. 56(3): 451-468.  
<https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i3.2801>

**Editor in Chief:**

Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: December 6, 2021.

Approved: March 9, 2022.

Published in Agrociencia:

May 17, 2022.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International license.



## INTRODUCCIÓN

En México sobresale la producción del aguacate (*Persea americana* Mill.), con la variedad "Hass" como la más popular en el mercado internacional. México es el primer productor mundial con más de 2 300 889 Megagramos (Mg), donde Nayarit ocupa el cuarto lugar a nivel nacional, con una producción de 67 059 Mg (SIAP, 2020). Además de la presentación en fresco, el aguacate se industrializa y convierte en otros productos como el guacamole y el aceite, principalmente para propósitos industriales, culinarios, medicinales y cosméticos.

En general, cáscara y semilla de aguacate contienen catequinas, procianidinas y ácidos hidroxicinámicos, que les confiere un potencial antioxidante, mientras que la pulpa es rica en ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos y procianidinas. Este contenido de compuestos fenólicos en los frutos de aguacate utilizados para la obtención de subproductos puede verse afectado por diversos factores como la variedad, las condiciones agronómicas, la manipulación postcosecha, así como el estado de madurez y condiciones de almacenamiento, principalmente (Goulao y Oliveira, 2008; Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011). Se ha reportado también que los subproductos de aguacate obtenidos de la cáscara y semilla presentan mejores propiedades antioxidantes que la pulpa del fruto debido a la mayor concentración de compuestos fenólicos que poseen, por lo que pueden ser utilizados para fines alimenticios y farmacéuticos (Wang *et al.*, 2010; Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011). Aun así, la pulpa comestible presenta propiedades antioxidantes, además de proveer con su inclusión en los subproductos cantidades considerables de ácidos grasos y aminoácidos esenciales (Gupta *et al.*, 2018).

Durante su producción y procesamiento el aguacate puede sufrir daños físicos, ya sea por compresión, roces y golpes, lo cual disminuye la calidad del fruto y no logra cumplir con las especificaciones deseadas por el comprador. Las empresas emparadoras realizan la selección del fruto y separan aquellos que no cumplen con los requerimientos establecidos para venta o exportación. Los frutos desechados en ocasiones permanecen cerca de la plantación y generan contaminación; al llegar el aguacate a las agroindustrias, de nuevo se selecciona y se desecha otro porcentaje. El fruto una vez procesado industrialmente deja como desecho del 21 al 30 % de su peso total (Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011). En los últimos reportes de la FAO se informó de un desperdicio del 54 % de la producción nacional (FAO, 2015). Esta situación impulsa la implementación y refinamiento de técnicas o métodos para aprovechar sus residuos. Incluso, existe investigación sobre alimentación animal que ha utilizado desechos de aguacate especialmente en cerdos y se encontró una mejora en la composición, además de protección contra la oxidación del músculo en almacenamiento y de chuletas de lomo obtenidos de los cerdos (Hernández-López *et al.*, 2016 a, b).

Por lo anterior y debido a que los residuos de este fruto han mostrado propiedades antioxidantes que pudieran ser importantes durante la formulación de alimentos, el objetivo de este estudio fue evaluar la estabilidad oxidativa y actividad antioxidante de dos pastas de subproducto de aguacate con y sin semilla durante su almacenamiento en refrigeración, como una alternativa para su utilización en la industria de alimento animal o cosmética.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Elaboración de pasta de aguacate

El aguacate de la variedad "Hass" se adquirió de empresas empacadoras del municipio de Xalisco, Nayarit, México. El aguacate fue cortado en su madurez fisiológica, se mantuvo a temperatura ambiente hasta que alcanzó su madurez de consumo, la cual se determinó por el color de la superficie (maduro virado a negro 100 %). Estos frutos seleccionados no eran aptos para ser comercializados, debido a su tamaño inadecuado, deformaciones, manchas, rozaduras o lesiones en el epitelio. Los frutos se trasladaron en contenedores de plástico a la Unidad Académica de Agricultura de la Universidad Autónoma de Nayarit para su posterior procesamiento, previamente fueron sanitizados con agua clorada para luego retirar de forma manual la semilla. La pulpa y la cáscara se trituraron en un molino forrajero móvil de martillos y cuchillas, sin criba, accionado con un motor de gasolina para obtener una pasta sin semilla (PSS). A su vez, también se trituró un lote de aguacate entero con semilla (PCS). Al finalizar, ambas pastas se empacaron en bolsas de polietileno y se almacenaron en refrigeración (4 °C) por 60 d para su posterior análisis, con muestreos cada 15 d.

### Determinación de oxidación lipídica por TBA

El valor de ácido tiobarbitúrico (TBA) se determinó según el método utilizado por Biwas *et al.* (2017). El resultado se expresó como concentración de malondialdehído (MDA) en  $\text{mg kg}^{-1}$  y para realizar los cálculos se empleó una curva estándar de tetraetoxipropano (TEP).

### Evaluación de capacidad antioxidante por 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH●)

La capacidad para atrapar el radical libre DPPH se midió con base en Guija-Poma *et al.* (2015). Los resultados se expresaron en  $\mu\text{mol}$  equivalentes de Trolox por g ( $\mu\text{mol ET g}^{-1}$ ) y se empleó una curva estándar de Trolox (ácido 6-hidroxi-2, 5, 7, 8-tetrametilcromo-carboxílico) de 0 a 500  $\mu\text{mol L}^{-1}$ .

### Determinación de compuestos fenólicos totales

La concentración de compuestos fenólicos se determinó con el reactivo de Folin-Ciocalteu, de acuerdo con el método descrito por Shi *et al.* (2018). Se utilizó una curva estándar de ácido gálico (0 a 400  $\text{mg L}^{-1}$ ) y el resultado se expresó como  $\text{mg}$  equivalentes de ácido gálico (EAG) por g de muestra.

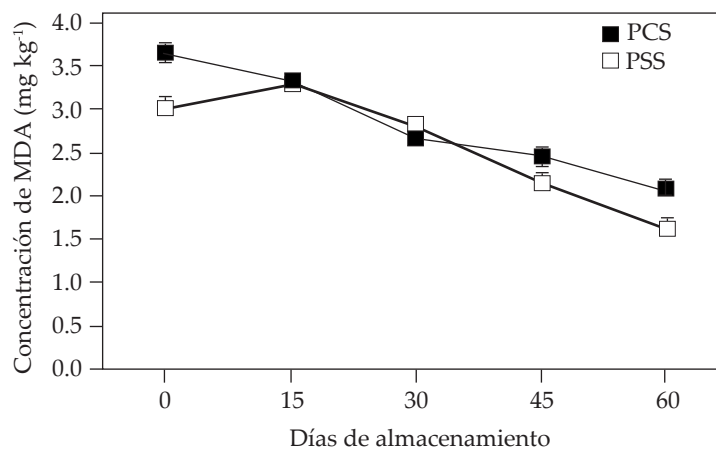
### Análisis estadístico

Los datos se analizaron como un diseño completamente al azar con un análisis de varianza (ANVA) de una sola vía. Los tratamientos fueron la pasta de aguacate con y sin semilla analizados en conjunto por tiempo de almacenamiento. En caso de presentarse diferencia significativa se realizó una prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). Los análisis se llevaron a cabo con el paquete SPSS Statistics 22.0 (IBM, 2013).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los resultados de oxidación lipídica para la pasta de subproducto de aguacate con semilla (PCS) y sin semilla (PSS), la concentración de MDA se redujo significativamente durante el almacenamiento a 60 d ( $p \leq 0.05$ ). El tratamiento PSS mostró las medias más bajas, siendo así el mejor tratamiento (Figura 1). El grado de oxidación (concentración de MDA) encontrado para ambas pastas en este estudio fue menor en comparación con los otros estudios. Por ejemplo, en pastas de subproductos de ajonjolí blanco y negro, la esterilización afectó la estabilidad de la pasta durante el almacenamiento (6 meses a 37 °C) (Plaitho *et al.*, 2017). Tal estabilidad depende de los tipos de semilla y que se relaciona con las cantidades de ácidos grasos libres, fibra, vitaminas B, minerales y lignanos (por ejemplo, sesamina, sesamolina y sesamol), que son compuestos fenólicos con alta capacidad antioxidante. Con respecto al aguacate, además de compuestos fenólicos, este posee altas concentraciones de tocoferoles y en menor cantidad tocotrienoles, que en conjunto representan a los tocoles con actividad antioxidante y de vitamina E. Una de las propiedades químicas más interesantes de los tocoles (tocoferoles y tocotrienoles) es su habilidad para proteger a los lípidos poliinsaturados de su oxidación, capaces de reducir radicales peróxido por donación de átomos de hidrógeno (Delgado *et al.*, 2020). Los extractos de residuos de aguacate “Hass” presentan actividad antioxidante frente a la oxidación lipídica en carne de cerdo para hamburguesas (Rodríguez-Carpena *et al.*, 2012).

Entre los pocos estudios relacionados está el realizado por Mepba *et al.* (2008), quienes evaluaron la estabilidad de pastas de aguacate con antioxidantes (galato de propilo y palmitato de ascorbilo) y los cambios oxidativos por medio del análisis de sustancias reactivas al TBA. En sus resultados reportaron que la rancidez oxidativa incrementa hasta el día 16, donde los valores del índice de TBA más elevados fueron para la mues-



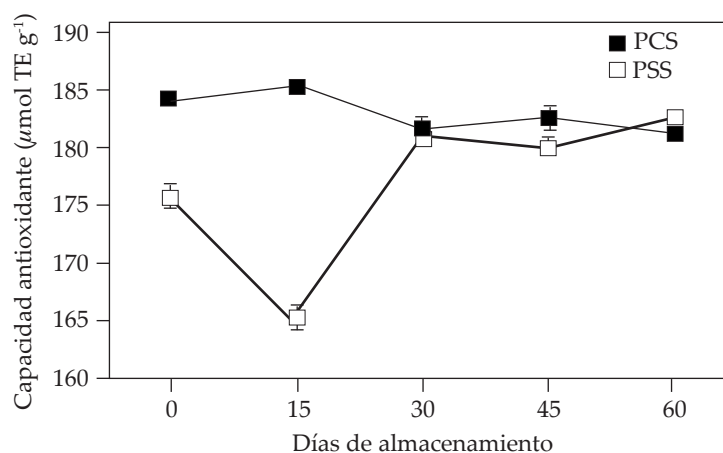
**Figura 1.** Concentración de malondialdehído (MDA) de pasta de subproducto de aguacate con semilla (PCS) y sin semilla (PSS) durante el almacenamiento en refrigeración. Los datos muestran la media de  $n = 3$ . Las barras representan la desviación estándar.

tra control, en comparación con muestras tratadas con antioxidantes. En el presente estudio, tanto en PCS como en PSS, el cambio más importante fue la disminución en los valores de TBA (expresados como concentración de MDA) del día 30 al 60 ( $p \leq 0.05$ ). Lo anterior puede atribuirse a los antioxidantes que originalmente contenían las muestras iniciales: compuestos fenólicos y tocoles; además de algunos otros que pueden formarse durante el almacenamiento en frío como leuco-antocianidinas y catequinas, las cuales han demostrado capacidad para contrarrestar la oxidación lipídica (Ramírez-Martínez y Luh, 1973; Ramos-Aguilar *et al.*, 2019).

### Capacidad antioxidante

Con respecto a la determinación de capacidad antioxidante por DPPH•, se aprecian diferencias significativas entre las pastas al inicio del experimento ( $p \leq 0.05$ ), sin embargo, sus valores se igualan hacia el final del almacenamiento ( $p > 0.05$ ) (Figura 2). Es bien conocido que no solo la pulpa, sino que también la cáscara y semilla de aguacate contienen polifenoles, carotenoides y clorofilas responsables de actividad antioxidante. Estos actúan como estabilizadores de membranas celulares y neutralizan los radicales libres que se asocian a eventos dañinos como el estrés oxidativo celular. Otros compuestos activos son las procianidinas, las cuales, en el caso de la cáscara se sugiere que son los principales compuestos fenólicos asociados a las propiedades antioxidantes (Wang *et al.*, 2010). Antes ya se reportó la capacidad antioxidante de distintos tejidos de aguacate por la estabilización del radical DPPH• (Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011; Kosinska *et al.*, 2012).

En el caso de PSS, desde el inicio se observaron valores menores, incluso con una disminución en la actividad antioxidante en el día 15 de almacenamiento, sin embargo, para el día 30 aumentó nuevamente con valores cercanos a los de PCS ( $p \leq 0.05$ ). Con

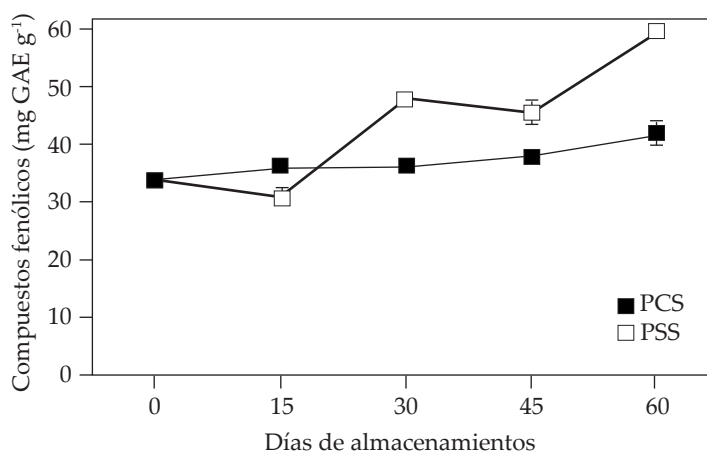


**Figura 2.** Capacidad antioxidante (por medio de ensayo de DPPH•) de pasta de subproducto de aguacate con semilla (PCS) y sin semilla (PSS) durante el almacenamiento en refrigeración. Los datos muestran la media de  $n = 3$ . Las barras representan la desviación estándar.

respecto a esto último, a pesar de que los valores finales fueron similares, se observó una actividad antirradical más alta en la mayoría de los muestreos durante el almacenamiento en comparación con PSS, por lo que, si la pasta será utilizada en fresco, de acuerdo con esta técnica, se recomendaría mantener la semilla de aguacate ( $p \leq 0.05$ ). Rodríguez-Carpena *et al.* (2011) reportaron una mayor actividad antioxidante en la semilla en comparación con la cáscara, atribuyéndolo a una alta concentración de ácido hidroxibenzoico, catequinas y ácido hidroxicinámico, lo que pudiera explicar este comportamiento. Contrario a esto, Wang *et al.* (2010), Kosinska *et al.* (2012) y Calderón-Oliver *et al.* (2016) reportaron que un extracto de cáscara presenta mayor capacidad antioxidante a través de la eliminación de radicales DPPH• que el extracto de semilla. Las diferencias entre los distintos estudios pueden deberse al tipo de extracto realizado antes del análisis por medio del radical libre. Además, cabe mencionar que la capacidad antioxidante del aguacate se ve afectada por la época y el tiempo de maduración postcosecha, ya que el fruto presenta cambios fisiológicos y bioquímicos que incluyen biosíntesis y acumulación de pigmentos y antioxidantes lipídicos en sus distintos tejidos (Goulao y Oliveira, 2008). Incluso, se pueden encontrar diferencias en el comportamiento respecto a las propiedades antioxidantes entre la cáscara y semilla de la variedad estudiada (Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011).

### Compuestos fenólicos totales

El contenido fenólico total incrementó de  $33.78 \pm 0.28$  a  $41.98 \pm 1.75$  para PCS y de  $34.56 \pm 0.59$  a  $59.57 \pm 0.66$  mg EAG  $g^{-1}$  para PSS ( $p \leq 0.05$ ) durante el almacenamiento (Figura 3). Para PSS se observó una disminución y posteriormente un aumento a los 15 y 30 días, respectivamente ( $p \leq 0.05$ ), que coinciden con los valores de actividad antirradical en esos mismos puntos de muestreo. Estos aumentos tanto en fenólicos totales como en actividad antirradical pueden atribuirse a la formación de nuevos compuestos con mayor capacidad antioxidante durante el almacenamiento en refrigeración. Al respecto,



**Figura 3.** Compuestos fenólicos totales de pasta de subproducto de aguacate con semilla (PCS) y sin semilla (PSS) durante el almacenamiento en refrigeración. Los datos muestran la media de  $n = 3$ . Las barras representan la desviación estándar.

Ramírez-Martínez y Luh (1973) mencionan la formación de compuestos bioactivos en pulpa de aguacate durante su almacenamiento en congelación.

Por otro lado, a partir del día 30 en todos los puntos de muestreo y hasta el final del almacenamiento, PSS mostró valores mayores que PCS ( $p \leq 0.05$ ), lo cual puede atribuirse a la ausencia de semilla. Rodríguez-Carpena *et al.* (2011) y Kosinska *et al.* (2012) registraron mayor concentración de compuestos fenólicos en cáscara que en semilla de aguacate de esta misma variedad. Por esta razón, al retirarla en PSS se promovió un aumento en sus valores; este tratamiento fue el mejor de acuerdo con la concentración de dichos compuestos. Wang *et al.* (2010) encontraron una mayor concentración de compuestos fenólicos en semilla que en cáscara de este fruto, e identificaron a las procianidinas como los principales representantes de este grupo de antioxidantes. En el caso de la cáscara, identificaron a la clorofila y carotenoides como mayores componentes. Las diferencias entre los distintos estudios pueden deberse a los mismos factores discutidos anteriormente para la actividad antioxidante. En este estudio se aprovecha también la pulpa de los frutos no aptos para su comercialización o rechazados por cuestiones de control de calidad, la cual, si se incluyera como insumo en la industria alimenticia, puede presentar otro tipo de compuestos relacionados con efectos benéficos en los organismos que los consumen, como pueden ser los ácidos grasos y aminoácidos esenciales (Gupta *et al.*, 2018).

En años recientes se han realizado algunos estudios que formulan dietas animales con subproducto o pasta de aguacate de calidad rezaga, o que no cumple con las características para su comercialización. Esas investigaciones se llevaron a cabo para alimentar cerdos y se encontraron resultados favorables en cuanto al desempeño de consumo y conversión alimenticia, composición y protección antioxidante en el músculo durante almacenamiento en frío (Hernández-López *et al.*, 2016b) y protección ante la oxidación lipídica y proteica en chuletas procesadas (Hernández-López *et al.*, 2016a). En el ámbito de la acuicultura existe un estudio donde se incluyó subproducto de aguacate en una dieta para tilapia (*O. niloticus*) y mejoró sus propiedades antioxidantes (Jiménez-Ruiz *et al.*, 2019). Al igual que en los anteriores, en este estudio también se incorporó la pulpa en los subproductos estudiados, de la cual, ya se mencionó la importancia de su inclusión para los organismos alimentados (Gupta *et al.*, 2018).

El presente estudio adquiere relevancia al demostrar que se puede extender el tiempo de utilización de la pasta de aguacate almacenada, cuando por ejemplo se presenten elevados niveles de desperdicios de este fruto de acuerdo con las distintas épocas de cosecha entre regiones. Por otro lado, al tomar en cuenta dos de los análisis realizados (oxidación lipídica y concentración de compuestos fenólicos), la mejor opción es retirar la semilla del aguacate como lo demostraron los resultados para el tratamiento PSS. Es importante mencionar que la PCS también presenta cualidades para ser utilizada, sin embargo, es necesario definir su uso final, por ejemplo, cuando se aplique como insumo alimenticio se recomendaría retirar la semilla, principalmente por los anti nutrientes que presenta y pudieran afectar los organismos alimentados.

## CONCLUSIONES

Las pastas evaluadas mantuvieron sus propiedades antioxidantes y una baja oxidación lipídica en refrigeración, por lo que se demuestra la factibilidad de almacenarlas en temporadas cuando se presenten los mayores niveles de desperdicio del fruto de aguacate hasta el momento de su utilización. Aunque la remoción de la semilla en general presentó mejores resultados de acuerdo con los análisis realizados, se considera que ambas pastas tienen potencial para ser utilizadas en la elaboración de alimentos, sobre todo aquellos destinados al consumo animal como en ganado porcino, bovino, en la acuicultura, o bien, en la industria cosmética, lo que les conferiría un valor agregado. En el caso de su uso para la industria alimentaria, es necesario tener en cuenta los anti nutrientes que pueden presentarse en la semilla de aguacate incluida en una de las pastas. Por lo tanto, se recomienda su remoción. Además, se puede coadyuvar con la disminución de la contaminación cuando este fruto se desecha al aire libre.

## AGRADECIMIENTOS

Al Cuerpo Académico de Biotecnología de Alimentos Funcionales (UAN-CA-255) y de la Red Temática de Bioproductos y Bioprocesos, por la participación de algunos de sus integrantes. Al Fondo Sectorial de Investigación para la Educación de la Secretaría de Educación Pública y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (SEP-CONACyT) por el financiamiento del proyecto No. 288594 para realizar el estudio.

## REFERENCIAS

- Biwas C, Bala J, Kharb S. 2017. Effect of vitamin E supplementation on superoxide and malondialdehyde generation in acute celphos poisoning. *Journal Archives of Medicine and Health Sciences* 5 (2): 200–203. [https://doi.org/10.4103/amhs.amhs\\_39\\_17](https://doi.org/10.4103/amhs.amhs_39_17)
- Calderón-Oliver M, Escalona-Buendía HB, Medina-Campos ON, Pedraza-Chaverri J, Pedroza-Islas R, Ponce-Alquicira E. 2016. Optimization of the antioxidant and antimicrobial response of the combined effect of nisin and avocado byproducts. *Food Science and Technology* 65: 46–52. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.07.048>
- Delgado A, Al-Hamimi S, Ramadan MF, DeWit M, Durazzo A, Nyam KL, Issaoui M. 2020. Contribution of tocots to food sensorial properties, stability, and overall quality. *Journal of Food Quality* 1–8. <https://doi.org/10.1155/2020/8885865>
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2015. Pérdidas y desperdicios de alimentos en América Latina y el Caribe. <http://www.fao.org/3/a-i4655s.pdf> (Recuperado: julio 2020).
- Goulao L, Oliveira C. 2008. Cell wall modifications during fruit ripening: When a fruit is not the fruit. *Trends in Food Science and Technology* 19: 4–25. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.07.002>
- Guija-Poma E, Inocente-Camones MA, Ponce-Pardo J, Zarzosa-Norabuena E. 2015. Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. *Horizonte Médico* 15: 57–60. <http://www.scielo.org.pe/pdf/hm/v15n1/a08v15n1.pdf> (Recuperado: julio 2020).
- Gupta SK, Singhal P, Singh A, Chauhan R, Kumar B. 2018. Nutritional and pharmaceutical benefits of avocado plant. *Journal of Advanced Scientific Research* 9: 4–11. <http://researchgate.net/publication/329388661> (Recuperado: julio 2020).
- Hernández-López SH, Rodríguez-Carpena JG, Lemus-Flores C, Galindo-García J, Estévez M. 2016a. Antioxidant protection of proteins and lipids in processed pork loin chops through feed supplementation with avocado. *Journal of Food Science and Technology* 53: 2788–2796. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2252-6>
- Hernández-López SH, Rodríguez-Carpena JG, Lemus-Flores C, Grageola-Nuñez F, Estévez M. 2016b. Avocado waste for finishing pigs: Impact on muscle composition and oxidative

- stability during chilled storage. *Meat Science* 116: 186–192. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.02.018>
- IBM Corp (International Business Machines Corporation). Released 2013. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp. <https://www.ibm.com/support/pages/how-cite-ibm-spss-statistics-or-earlier-versions-spss> (Recuperado: julio 2020).
- Jiménez-Ruiz EI, Rodríguez-Carpena JG, Hernández-Ortega GP, Sumaya-Martínez MT, Balois-Morales R, Sánchez-Herrera LM, Peraza-Gómez V. 2019. Antioxidant properties of a tilapia (*Oreochromis niloticus*) diet with the inclusion of avocado by-product. *Biotecnia* 21: 163–169. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v21i3.1053>
- Kosinska A, Karamac M, Estrella I, Hernández T, Bartolome B, Dykes GA. 2012. Phenolic compound profiles and antioxidant capacity of *Persea Americana* Mill. Peels and seeds of two varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60: 4613–4619. <https://doi.org/10.1021/jf300090p>
- Mepba HD, Sokan TG., Eboh L, Banigo EB. 2008. Stabilized avocado pastes: chemical contents and oxidative changes during storage. *Journal of Food Science* 77–84. <https://doi.org/10.2174/1874256400802010077>
- Plaitho Y, Rattanasena P, Chaikham P, Prangthip P. 2017. Biochemical and antioxidative properties of unprocessed and sterilized white and black sesame by-product from Northern Thailand. *Current Research in Nutrition and Food Science* 5: 196–205. <https://doi.org/10.12944/CRNFSJ.5.3.03>
- Ramírez-Martínez JR, and Luh BS. 1973. Phenolic compounds in frozen avocados. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 24: 219–225. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740240214>
- Ramos-Aguilar AL, Ornelas-Paz J, Tapia-Vargas LM, Ruiz-Cruz S, Gardea-Béjar AA, Yahia EM, Ornelas-Paz JJ, Pérez-Martínez JD, Rios-Velasco C, Ibarra-Junquera V. 2019. The importance of the bioactive compounds of avocado fruit (*Persea americana* Mill) on human health. *Biotecnia* 21: 154–162. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v21i3.1047>
- Rodríguez-Carpena JG, Morcuende D, Andrade MJ, Kylli P, Estévez M. 2011. Avocado (*Persea americana* Mill.) phenolics, in vitro antioxidant and antimicrobial activities, and inhibition of lipid and protein oxidation in porcine patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 5625–5635. <https://doi.org/10.1021/jf1048832>
- Rodríguez-Carpena JG., Morcuende D, Petron M, Estévez M. 2012. Inhibition of cholesterol oxidation products (COPs) formation in emulsified porcine patties by phenolic-rich avocado (*Persea americana* Mill.) extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60: 2224–2230. <https://doi.org/10.1021/jf2040753>
- Shi P, Du W, Wang Y, Teng X, Chen X, Ye L. 2018. Total phenolic, flavonoid content, and antioxidant activity of bulbs, leaves, and flowers made from *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb. *Food Science Nutrition* 7: 148–154. <https://doi.org/10.1002/fsn3.834>
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2020. Panorama Agroalimentario. Benjamín Franklin 146, Colonia Escandón, Delegación Miguel Hidalgo, C.P. 11800, Ciudad de México. [www.inforural.com.mx/wp-content/uploads/2020/11/Atlas-Agroalimentario-2020.pdf](http://www.inforural.com.mx/wp-content/uploads/2020/11/Atlas-Agroalimentario-2020.pdf) (Recuperado: julio 2020).
- Wang W, Terrell RB, Gu L. 2010. Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. *Food Chemistry* 122: 1193–1198. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.114>
- Wang M, Zheng Y, Khuong T, Lovatt C. 2012. Effect of harvest date on the nutritional quality and antioxidant capacity in “Hass” avocado during storage. *Food Chemistry* 135: 694–698. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.022>



## GROWTH ANALYSIS OF WHITE CLOVER (*Trifolium repens* L.) AND INDIRECT METHODS TO ESTIMATE ITS FORAGE YIELD

Joel Ventura-Ríos<sup>1</sup>, María de los Ángeles Maldonado-Peralta<sup>2</sup>, Aldenamar Cruz-Hernández<sup>3</sup>, Santiago Joaquín-Cancino<sup>4</sup>, Adelaido Rafael Rojas-García<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Departamento de Producción Animal. Calzada Antonio Narro 1923, Col. Buena vista, Saltillo Coahuila, México. C. P. 25315

<sup>2</sup> Universidad Autónoma de Guerrero. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia No. 2. Cuajinicuilapa, Guerrero, México. C. P. 41940

<sup>3</sup> Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. División Académica de Ciencias Agropecuarias. Carretera Villahermosa-Teapa, km 25, R/A. La Huasteca 2a Sección, Villahermosa, Tabasco, México. C. P. 86280

<sup>4</sup> Universidad Autónoma de Tamaulipas. Facultad de Ingeniería y Ciencias. Centro Universitario Adolfo López Mateos, Ciudad Victoria, Tamaulipas, México. C. P. 87149

\* Corresponding author: rogarcia@uagro.mx

### ABSTRACT

Dry matter (DM) accumulation and its relationship to some indicators of physiological efficiency on white clover (*Trifolium repens* L.) growth was studied to determine the optimal harvesting time by season. The experiment was carried out at the Colegio the Postgraduados *Campus* Montecillo, Texcoco, Mexico. Twenty-four plots, each measuring 3.7 X 1.7 m, were used, and distributed in a completely randomized design with eight treatments and three replicates. The treatments consisted of weekly successive cuts during an eight-week sprouting cycle during the middle of each season of the year. The evaluated variables were dry matter accumulation, crop growth rate (CGR), intercepted radiation (IR), and plant height (cm) estimated through the ruler and rising plate meter methods. Most herbage accumulation ( $p \leq 0.05$ ) occurred at the eighth week of the spring (2,688 kg DM ha<sup>-1</sup>). Most CGR ( $p \leq 0.05$ ) occurred at the first week of the summer (84 kg DM ha<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>). The largest IR occurred at the sixth and ninth week of the summer (100 %). Maximum height occurred at week eight of the summer ( $p \leq 0.05$ ), which was 32 and 23.3 cm for the ruler and the rising plate meter methods, respectively. Dry matter yield increased linearly due to the favorable climatic conditions during spring-summer, where there was a higher intercepted radiation and higher crop growth. The ruler method showed a higher coefficient compared to the ascending plate, so the ruler method for white clover can be recommended.

**Keywords:** legume, dry matter accumulation, intercepted radiation.

### INTRODUCTION

Due to the effects of climate change on agriculture and the higher animal nutritional requirements, a consequence of the genetic improvement, it is necessary to have forages that are well adapted to various climatic conditions, that persist under grazing or cut, and that show good biomass yield and nutritional quality (Rojas *et al.*, 2016a).

**Citation:** Ventura-Ríos J, Maldonado-Peralta MA, Cruz-Hernández A, Joaquín-Cancino S, Rojas-García AR. 2022. Growth analysis of white clover (*Trifolium repens* L.) and indirect methods to estimate its forage yield.

*Agrociencia*. 56(3): 469-491. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i3.2799>

**Editor in Chief:**  
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: May 12, 2021.  
Approved: April 12, 2022.  
**Published in *Agrociencia*:**  
May 11, 2022.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International license.



The adaptation of the “rational” grazing system is in its heyday in Mexico and Latin America. This system incorporates short grazing intervals and a high animal load, which allows a rapid recovery of plant communities (Conant *et al.*, 2003; Teague and Barnes, 2017); the main benefits include a reduction of excessive grazing and soil erosion, improved herbage use, animal productivity, and higher carbon (C) sequestration from the soil (Teague *et al.*, 2016).

White clover (*Trifolium repens* L.) is considered as the most common and agriculturally important legume in grazing systems in all the temperate regions of the world. Its high biomass yield and herbage quality, as well as nitrogen (N) contribution and its stoloniferous growing habit, which minimizes losses of growing points, make white clover a valuable forage crop (Black *et al.*, 2009). Potential N fixation rates are in the range of 600 to 700 kg N ha<sup>-1</sup> yr<sup>-1</sup> (Luscher *et al.*, 2001); it has high protein content, low structural fiber and high organic matter digestibility. However, its performance is better in low fertility soils (Conant *et al.*, 2003). The intensive temperate milk production systems in Mexico animal production is based on confined animals, and it depends on grain and cereal imports, which travel long distances to reach their destination, thus disrupting the natural cycles of carbon and nutrients (Steinfeld *et al.*, 2006).

The quality of the dry matter depends on the intercepted radiation, age, forage growth rate, season of the year (Rojas *et al.*, 2016b). Grazing must be managed according to the meadow, for this, rapid and practical techniques must be available to estimate forage availability and subsequent recovery and obtain the optimal grazing moment (Castro *et al.*, 2012). There are different methods to measure the dry matter of forages, the most common is the fixed square, which is the direct method to collect fresh forage that is taken to the laboratory for drying in forced air ovens. Research on white clover has been conducted at the Central Mexican Plateau and the crop has shown good performance under grazing conditions in pure swards, where its maximum yield is reached during spring, autumn and winter at the eighth week of regrowth with 2953, 1592, 1791 kg DM ha<sup>-1</sup>, respectively (Gutiérrez *et al.*, 2018). However, there are also indirect methods, such as the height of the rising plate and the ruler, which allow rapid non-destructive measurements to be made (Rojas *et al.*, 2021). Therefore, the objective of this study was to evaluate dry mass accumulation, crop growth rate, intercepted radiation and to define the optimal height method with ruler and rising plate in white clover.

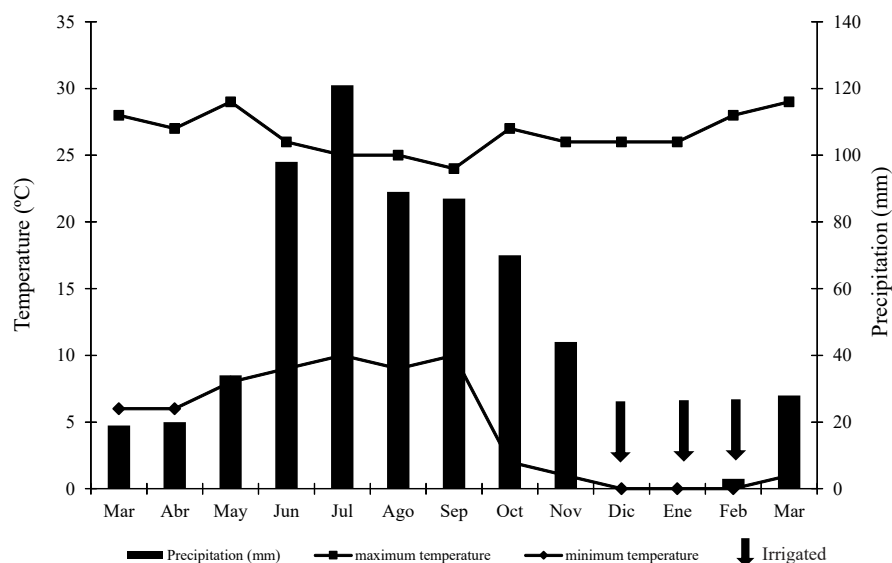
## MATERIALS AND METHODS

The assay was carried out in a white clover variety Ladino sward at the experimental field of the Colegio de Postgraduados, at Montecillo, Texcoco, State of Mexico, at 19° 29' N and 98° 53' W, at an altitude of 2,240 m. Broadcast seeding was carried out in February using pure viable seeds at of a 6 kg ha<sup>-1</sup> rate. The climate of the location is temperate subhumid, with a mean annual precipitation of 636.5 mm and a summer rainy season (June to October) and mean annual temperature of 15.2° C (García, 2004). The soil was analyzed at the Plant Nutrition Laboratory S.A. and it was identified as a sandy loam soil, with pH 8.4 and 3.5 % of organic matter.

Before starting the study and at the middle of each season a homogenization grazing was carried out and afterwards, an eight-week growth analysis was performed on a weekly basis. Sheep were used for grazing until a remnant of 5 cm above the soil level was left, and to improve management, an electric fence was set up around the experimental plots. Twenty-four plots were drawn, each of 3.7 x 1.7 m, where the eight treatments three replicates were randomly assigned by the irregular slope of the terrain. The treatments included forage production evaluations at week one, week two, week three, and so on, up to cuts at week eight of regrowth age following the recommendations of researchers in growth analysis (Lane *et al.*, 2000). It should be noted that each time a growth analysis per season was completed, the meadows were left to rest until another season arrived to start with the homogenization grazing and perform another growth analysis. During periods of low soil water levels, plots were flood irrigated every two weeks and no fertilization was applied.

Monthly outdoor temperature averages (maximum and minimum) and monthly precipitation during the period of study were obtained from the agrometeorological station of Colegio de Postgraduados, located 100 m from the experimental site. The maximum monthly temperature varied from 22.1 to 30.2° C, whereas the minimum temperature varied from 0 to 11°C (Figure 1). The highest temperature occurred during spring, in May, which was 30.2 °C; the lowest temperature was registered during winter with 0 °C in December. Accumulated precipitation from March to April was 613 mm, of which 75.8 % occurred during June, July, August, September, and October, with an accumulated precipitation of 465 mm.

After the homogenization grazing, three 0.25 m<sup>2</sup> squares were cut at a height of 5 cm from the ground in each experimental plot during eight weeks. The herbage harvested



**Figure 1.** Maximum and minimum mean monthly temperatures and accumulated precipitation during the period of study at the Central Mexican Plateau in Montecillo, Texcoco, State of Mexico.

from each square was rinsed and subsequently dried in labeled paper bags inside a forced air oven to 55 °C during 72 hours in order to estimate the amount of dry matter per hectare at the different regrowth ages.

Growth rate was calculated from the yield data obtained at each cut in each replicate through the following formula:

$$GR = Y / T$$

Where:

GR= Mean seasonal growth rate (kg DM ha<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>).

Y= Seasonal herbage yield (kg DM ha<sup>-1</sup>).

T= Days elapsed after the last cut.

Intercepted radiation was calculated before each grazing event through the wooden ruler method. For that, five readings were taken in each experimental unit and it consisted in sliding a 1 m wooden ruler under the plant canopy at a north-south orientation. Afterwards, millimeters that were in the shade were counted summarized, which represented the percentage of intercepted radiation by the plant canopy. The reading was carried out between 12:00 and 13:00 h of the corresponding time zone, since it is the optimal moment due to the sun's angle and because the light intercepted changes minimally (Rojas *et al.*, 2016b). The indirect methods used to estimate the amount of herbage at a given moment relate canopy height to dry matter yield through linear regression. Plant height was measured before and after a cut, and 20 samples were randomly taken from the whole experimental unit using a ruler and a rising plate.

The ruler method consisted in placing a 100 cm graduated ruler with a 1 mm accuracy above the plant canopy and sliding it until the first morphological component and the data was recorded. The rising plate method consisted in a 900 cm<sup>2</sup> aluminum plate that moved freely upwards or downwards on a central column. To estimate height with this instrument, it was placed vertically above the forage and, once it was supported by the forage mass, the data was recorded (López *et al.*, 2011).

To calibrate both sampling techniques, before cutting the forage present in the four assigned squares, readings were taken with the ruler and the rising plate. Afterwards, a linear regression equation was obtained, which correlated the data gathered through sampling by each technique with the dry matter yield accumulated in each square. After the equation was determined, the average values per cut from each treatment were replaced in order to obtain yield values of dry matter by cutting. Data was analyzed using the GLM procedure of SAS (SAS, 2009) for a completely randomized experimental design, where the treatments were the eight weeks evaluated in the middle of each season with three replicates and a regression analysis for each variable.

## RESULTS AND DISCUSION

The results of dry matter (DM) yield are shown in Table 1. The yield of DM increased with the age, and reached the maximum at the eighth week in spring and autumn with

**Table 1.** Weekly changes of dry matter accumulation (kg DM ha<sup>-1</sup>) white clover (*Trifolium repens* L.) at the Central Mexican Plateau in Montecillo, Texcoco, State of Mexico.

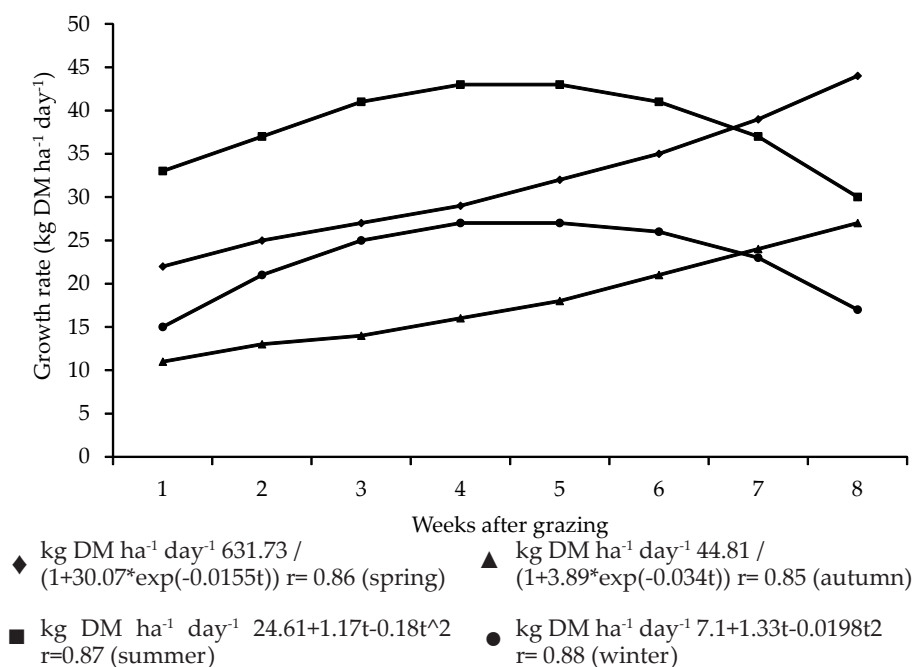
| Week         | Spring       | Summer         | Autumn         | Winter        |
|--------------|--------------|----------------|----------------|---------------|
| 1            | 136± 2.3 Dd  | 586±10.3 Ca    | 187± 3.3 Dc    | 456± 9.0 Cb   |
| 2            | 324± 9.5 CDc | 702±13.2 Ca    | 220± 4.4 Dd    | 464±10.1 Cb   |
| 3            | 720±12.6 BCb | 1066±23.1 BCa  | 595±10.5 CDc   | 667±12.4 BCb  |
| 4            | 1029±22.9 Bb | 1268±28.2 ABCa | 662±11.2 CDd   | 839±14.2 BCc  |
| 5            | 1084±24.2 Bc | 1649±42.2 ABCa | 725±14.2 BCDd  | 1399±22.3 ABb |
| 6            | 1253±27.2 Bc | 1982±39.5 ABa  | 1153±25.6 ABCc | 1642±33.2 Ab  |
| 7            | 2171±40.2 Aa | 2242±43.2 Aa   | 1759±44.2 Ab   | 455± 9.2 Cc   |
| 8            | 2688±55.3 Aa | 1842±32.4 ABb  | 1781±41.3 Ab   | 1274±21.4 ABC |
| Mean         | 1175±33.6 b  | 1403±32.1 a    | 954±29.4 c     | 885±26.9 d    |
| SEM          | 30           | 20             | 21             | 15            |
| Significance | **           | *              | **             | *             |

ABCD= Different capital letters within each column show significant differences; abcd= Different lowercase letters within rows show significant differences. SEM = standard error of the mean; Significance; \* =  $p \leq 0.05$ ; \*\* =  $p \leq 0.01$ .

2688 and 1781 kg DM ha<sup>-1</sup>, respectively ( $p \leq 0.05$ ); at the seventh week in the summer (2241 kg DM ha<sup>-1</sup>); and at the sixth week in winter (1643 kg DM ha<sup>-1</sup>). Accumulated biomass during spring was higher by 20 % (447 kg DM ha<sup>-1</sup>), 51 % (907 kg DM ha<sup>-1</sup>) and 64 % (1,045 kg DM ha<sup>-1</sup>), compared with summer, autumn and winter, respectively.

When evaluating a monoculture of white clover Gutiérrez *et al.* (2018) at the Central Mexican Plateau, found that dry matter yield increased as the age of the regrowth increased in all the seasons, and it reached the maximum yield at the eighth week or regrowth age for spring, autumn and winter, with 2953, 1592, 1791 kg DM ha<sup>-1</sup>, respectively, and at the seventh week of winter with 1971 kg DM ha<sup>-1</sup>. Moreno *et al.* (2015) when established white clover with mixtures of ryegrass *Lolium perenne* (L.) and orchardgrass *Dactylis glomerata* (L.) found a maximum yield of white clover of 513 kg DM ha<sup>-1</sup> during the first sampled year, much lower than in this study. However, Maldonado *et al.* (2017) with these same mixtures but at the third and fourth year of production, recorded a significant increase in white clover yield, with an average of white clover of 7220 kg DM ha<sup>-1</sup>. On the other hand, Rojas *et al.* (2016a) obtained the best grass-legume mixture with 40 % of white clover, 40 % of orchardgrass and 20 % ryegrass, which gave an accumulated annual yield of 20182 kg DM ha<sup>-1</sup>, whereas during spring, the highest yield was obtained, with 7292 kg DM ha<sup>-1</sup>, followed by summer with 5923 kg DM ha<sup>-1</sup>.

White clover growth rate varied in the different seasons of the year. The highest growth rate occurred at the eighth week in spring (48 kg DM ha<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>) and at the sixth week for summer (44 kg DM ha<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>). However, the seasons with the lowest growth rate were those with the lowest temperatures (Figure 1), autumn and winter, where the highest growth was obtained at the fifth and eighth week, with 27 and 29 kg DM ha<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>, respectively (Figure 2).



**Figure 2.** Weekly changes of white clover (*Trifolium repens* L.) growth rate after cutting at the Central Mexican Plateau in Montecillo, Texcoco, State of Mexico.

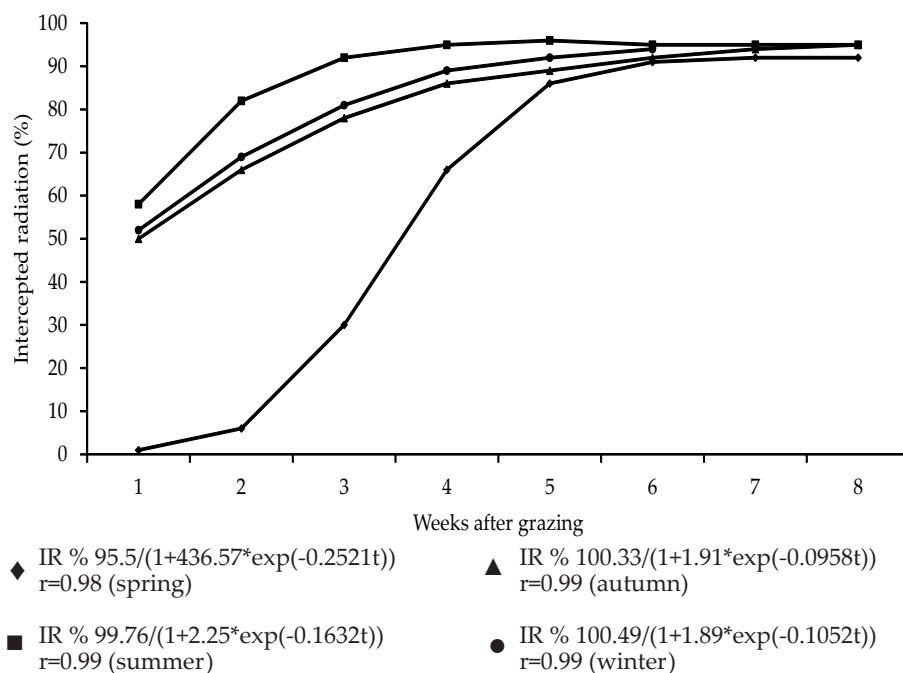
In another study on white clover, the highest growth rate was obtained during spring, with 48 kg DM ha<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup> at week eight, followed by summer, winter and autumn, with 33, 29 y 28 kg DM ha<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>, for the weeks five, eight and five, respectively (Gutiérrez *et al.*, 2018), something similar to what was found in this study. In some studies, carried out in Mexico with mixed swards with white clover Castro *et al.* (2012) reported the highest seasonal growth rate during summer in week 4 (64 kg DM ha<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>), higher by 21, 55 and 186 % than the growth rates in spring in week 4 (50 kg DM ha<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>), winter in week 6 (41 kg DM ha<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>) and autumn in week 5 (20 kg DM ha<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>). On the other hand, Rojas *et al.* (2016a) in associations with white clover, reported higher growth rates during spring (81 kg DM ha<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>), whereas for summer it was 56 kg DM ha<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>, and in autumn and winter, the rates were lower, with 35 and 29 kg DM ha<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>, respectively.

The seasonal growth rate of white clover matches the results obtained at other latitudes of temperate climate, where the highest growth rate has occurred during spring-summer, since the elevated light levels in this period allow the plant to have higher tissue replacement rates and leaf generation and expansion (Black *et al.*, 2006; Black *et al.*, 2009) due to precipitation and temperatures favorable to the plant of 18–30 °C (Black *et al.*, 2006) with an optimum of 25 °C (Lane *et al.*, 2000). On the other hand, low temperatures and limited radiation only increase petiole lengthening, inhibit branching and stolon size (Black *et al.*, 2006).

Most of the radiation was intercepted during summer, at the sixth week of sprouting (100 %), which was superior to weeks one and two. In spring (98.6 %) and autumn (99.6 %), the maximum radiation was intercepted at week eight, whereas during winter it occurred at week five (95 %), which was similar to week six but different from the remaining weeks of the sampling (Figure 3).

In a study carried out in mixed swards Flores *et al.* (2015) reported that there was more intercepted radiation during spring (92 %) and summer (93 %), whereas autumn and winter obtained the lowest values of 88 and 86 %, respectively. White clover leaves have high photosynthetic capacity when in monoculture; however, when it is associated with C<sub>3</sub> grasses such as ryegrass and orchardgrass, competition for light, space, water and nutrients limit white clover performance (Heraut-Bron *et al.*, 1999; Maldonado *et al.*, 2017), moreover, C<sub>3</sub> grasses are more photosynthetically efficient than legumes (Faurie *et al.*, 1996).

The wide distribution of the genus *Trifolium* (approximately 300 species) tend to behave differently depending on the latitude due to their morphological pattern



**Figure 3.** Weekly changes of intercepted radiation during seasonal growth of white (*Trifolium repens* L.) at the Central Mexican Plateau in Montecillo, Texcoco, State of Mexico. Photosynthetically active radiation (PAR) from sunlight is absorbed or reflected by the first surface it touches, thus, if it is not intercepted by green leaves, its energy will not be available for plant growth. The capacity of the white clover and associated grasses to develop a canopy of healthy green leaves is important to maximize yield and ensure sward persistence; therefore, the development of this canopy depends on the components of the expansion of leaf area, senescence and canopy architecture (Black *et al.*, 2009).

(Randazzo *et al.*, 2013). For example, southern latitude populations develop thicker with long petioles and wide leaves, which allows them to collect more light; however, northern latitude populations develop thinner stolons, and thinner, prostrate leaves, which limits their growth and development (Luscher *et al.*, 2001).

Plant height increased with the weeks of regrowth (Table 2). Both methods recorded the maximum height at week eight during spring-summer and autumn ( $p \leq 0.05$ ); however, during winter, the maximum height was 17 cm, recorded at the sixth week by the ruler method and 15 cm by the rising plate method.

During an evaluation of sward height with the ruler method, Castro *et al.* (2012) found greater heights during summer (26 cm), which were superior by 17, 142 and 137 % than the heights of spring, autumn and winter, respectively. According to other authors (López *et al.*, 2011; Rojas *et al.*, 2016a), height is a useful tool to estimate herbage yield present at a given moment. According to other researchers (Dillard *et al.*, 2016), herbage mass present in the sward is easy to measure and estimate through simple sampling, taking as a reference the average of 15 to 45 cm height, which allows to decide when to let the cattle in or out in order to use the sward efficiently.

With the height information obtained (Table 3) and dry matter yield accumulated in each square (0.25 m<sup>2</sup>), linear regression equations and coefficients of determination ( $r^2$ )

**Table 2.** Weekly changes in sward height (cm) s of white clover (*Trifolium repens* L.) at Central Mexican Plateau in Montecillo, Texcoco, State of Mexico.

| Week         | Spring       | Summer<br>Ruler method (cm) | Autumn         | Winter       |
|--------------|--------------|-----------------------------|----------------|--------------|
| 1            | 2.7±0.2 Cc   | 12.3±1.0 Ea                 | 6.7±0.4 Bb     | 6.3±0.2 Db   |
| 2            | 6.8±0.5 Cb   | 15.7±1.2 EDa                | 7.3±0.7 Bb     | 6.7±0.3 Db   |
| 3            | 7.0±0.6 Cb   | 20.7±1.2 CDa                | 7.7±0.6 Bb     | 9.3±0.5 Cb   |
| 4            | 7.0±0.6 Cb   | 21.0±1.4 Ca                 | 9.7±0.7 ABb    | 11.0±0.6 BCb |
| 5            | 12.7±1.2 Bb  | 23.7±1.7 BCa                | 13.0±0.9 Ab    | 12.7±0.8 Bb  |
| 6            | 15.5±1.4 Bbc | 23.3±1.6 BCa                | 13.3±1.0 Ac    | 17.0±1.1 Ab  |
| 7            | 18.0±1.6 ABb | 27.3±1.7 Aba                | 13.3±1.0 Ab    | —            |
| 8            | 23.3±2.1 Ab  | 32.0±1.8 Aa                 | 14.0±1.1 Ac    | —            |
| SEM          | 1.1          | 1.4                         | 0.9            | 0.5          |
| Significance | **           | **                          | **             | **           |
|              |              | Rising plate method (cm)    |                |              |
| 1            | 3.3±0.3 Eb   | 10.0±0.7 Ca                 | 6.0±0.4 CDb    | 5.7±0.3 Bb   |
| 2            | 3.7±0.4 Eb   | 15.7±0.9 BCa                | 5.3±0.3 Db     | 6.0±0.4 Bb   |
| 3            | 3.7±0.4 Eb   | 23.0±1.3 Aa                 | 7.0±0.5 CDb    | 6.3±0.5 Bb   |
| 4            | 7.3±0.5 DEb  | 23.7±1.4 Aa                 | 11.3±0.9 ABCDb | 9.0±0.8 Bb   |
| 5            | 8.7±0.6 CDb  | 23.7±1.6 Aa                 | 7.7±0.6 CDb    | 10.7±0.9 ABb |
| 6            | 12.3±0.9 BCb | 26.3±1.8 Aa                 | 13.0±1.0 ABCb  | 15.0±1.3 Ab  |
| 7            | 16.7±1.1 Bb  | 21.3±1.6 ABa                | 14.3±1.1 ABc   | —            |
| 8            | 22.7 Aa      | 23.3±1.9 Aa                 | 17.3±1.3 Ab    | —            |
| SEM          | 0.9          | 1.4                         | 0.8            | 0.7          |
| Significance | **           | **                          | **             | *            |

ABCD= Different capital letters within column show significant differences; abcd= Different lowercase letters within rows show significant differences. SEM = standard error of the mean; Significance; \* =  $p \leq 0.05$ ; \*\* =  $p \leq 0.01$ .

**Table 3.** Linear regression equations obtained by season and whole year based on sward height and related to dry matter yield of white (*Trifolium repens* L.) at the Central Mexican Plateau in Montecillo, Texcoco, State of Mexico.

| Method |                | Spring                | Summer                | Autumn                 | Winter                 | Annual               |
|--------|----------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|----------------------|
| Ruler  | Equation       | $y = 113.74x - 46.71$ | $y = 78.1x - 464.88$  | $y = 135.26x - 727.86$ | $y = 111.52x - 459.34$ | $y = 71.98x - 21.60$ |
|        | r <sup>2</sup> | 0.85                  | 0.54                  | 0.64                   | 0.81                   | 0.56                 |
| Plate  | Equation       | $y = 113.71x + 62.1$  | $y = 70.84x - 226.27$ | $y = 102.75x - 343.98$ | $y = 114.64x - 294.66$ | $y = 68.6x + 110$    |
|        | r <sup>2</sup> | 0.84                  | 0.36                  | 0.74                   | 0.83                   | 0.52                 |

were obtained for each season and year. To use the indirect methods, it is necessary to measure plant height (cm) and dry matter present in the square (0.25 m<sup>2</sup>), since both variables have a highly positive correlation (López *et al.*, 2011).

For spring, the data had a better fit to the model for the ruler (r<sup>2</sup>= 85) than the rising plate method (r<sup>2</sup>= 84). Likewise, in the annual regression equation, the ruler method showed higher coefficient (r<sup>2</sup>= 0.56) than the rising plate method (r<sup>2</sup>= 0.52); which indicates that the variation of dry matter yield per hectare is explained by 56 % by the height with the ruler and 52 % with the ascending plate, obtaining 111 and 87 kg DM ha<sup>-1</sup> for each cm of height of the estimated plant with the ruler and rising plate, respectively. Based on the results obtained and the goodness of fit of the model, the ruler method could be more reliable (Bransby *et al.*, 1977); however, different studies have reported variability in model fitness for both methods; for example, in another investigation Ganguli *et al.* (2000), reported a higher correlation coefficient with the rising plate method (r<sup>2</sup>= 0.83) and (r<sup>2</sup>= 0.60) through the ruler method. On the other hand, Castillo *et al.* (2009) found a better correlation through the ruler method than through the rising plate method, which showed a r<sup>2</sup> higher than 0.83.

Determination coefficients in linear regressions by both methods are reliable and acceptable to estimate dry matter present at a given moment, using sward height (cm). However, although several authors (López *et al.*, 2011) debate the accuracy and precision of both indirect methods, all of them agree that these methods are useful and easy to implement for sward management, since they help to make a good decision to use forage efficiently.

## CONCLUSIONS

Dry matter yield increased linearly due to the favorable climatic conditions during spring-summer, where there was a higher intercepted radiation and higher crop growth than the other seasons. Similarly, the indirect methods showed a larger height for the spring-summer period, which coincided with the accumulated dry matter; however, even though the indirect methods are not exact, it is recommended to calibrate them with fixed squares before each sampling. The ruler method showed

a higher coefficient compared to the ascending plate, so the ruler method for white clover can be recommended.

## REFERENCES

- Black AD, Moot DJ, Lucas RJ. 2006. Development and growth characteristics of Caucasian and white clover seedlings, compared with perennial ryegrass. *Grass and Forage Science* 61 (4): 442–453. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2006.00553.x>
- Black AD, Laidlaw AS, Moot DJ, O'kiely P. 2009. Comparative growth and management of white and red clovers. *Irish Journal of Agricultural and Food Research* 48 (2009): 149–166. <http://hdl.handle.net/11019/644>.
- Bransby DI, Matches AG, Matches GF. 1977. Disk meter for rapid estimation of herbage yield in grazing trials. *Agronomy Journal* 69 (3): 393–396. <https://doi.org/10.2134/agronj1977.00021962006900030016x>
- Castillo GE, Valles MB, Jarillo RJ. 2009. Relación entre materia seca presente y altura en gramas nativas del trópico mexicano. *Técnica Pecuaria en México* 47 (1): 79–92. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61312109009>
- Castro RR, Hernández GA, Pérez PJ, Hernández GJ, Quero CAR, Enríquez QJF. 2012. Comportamiento productivo de cinco asociaciones gramíneas-leguminosas bajo condiciones de pastoreo. *Revista Fitotecnia Mexicana* 35 (1): 87–95. <https://doi.org/10.35196/rfm.2012.1.87>.
- Conant RT, Six J, Paustian K. 2003. Land use effects on soil carbon fractions in the southeastern United States. I. Management-intensive versus extensive grazing. *Biology and Fertility of Soils* 38 (6): 386–392. <https://doi.org/10.1007/s00374-003-0652-z>
- Dillard LS, Hafla NA, Rubano DM, Stout RC, Brito FA, Soder KJ. 2016. Evaluation of a rising plate meter for use in multispecies swards. *Agricultural and Environmental Letters* 1 (1): 1–4. <https://doi.org/10.2134/aerl2016.08.0032>
- Faurie O, Soussana JF, Sinoquet H. 1996. Radiation interception, partitioning and use in grass-clover mixtures. *Annals of Botany* 77 (1): 35–45. <https://doi.org/10.1006/anbo.1996.0005>
- Flores SE, Hernández GA, Guerrero RJD, Quero CRA, Martínez HPA. 2015. Productividad de asociaciones de pasto ovillo (*Dactylis glomerata* L.), ballico perenne (*Lolium perenne* L.) y trébol blanco (*Trifolium repens* L.). *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 6 (3): 337–347. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v6i3.4096>
- Ganguli AC, Vermeire LT, Mitchell RB, Wallace MC. 2000. Comparison of four nondestructive techniques for estimating standing crop in shortgrass plains. *Agronomy Journal* 92 (6): 1211–1215. <https://doi.org/10.2134/agronj2000.9261211x>
- García E. 2004. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. 4<sup>a</sup> (ed.). Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 217 p.
- Gutiérrez AAF, Hernández GA, Vaquera HH, Zaragoza RJL, Luna GMJ, Reyes CS, Gutiérrez A DA. 2018. Análisis de crecimiento estacional de trébol blanco (*Trifolium repens* L.). *Agroproductividad* 11 (5): 62–68.
- Heraut-Bron V, Robin C, Varlet-Grancher C, Afif D, Guckert A. 1999. Light quality (red:far-red ratio): does it affect photosynthetic activity, net CO<sub>2</sub> assimilation, and morphology of young white clover leaves?. *Canadian Journal of Botany* 77 (10): 1425–1431. <https://doi.org/10.1139/b99-099>
- Lane LA, Ayres JF, Lovett JV. 2000. The pastoral significance, adaptive characteristics, and grazing value of white clover (*Trifolium repens* L.) in dryland environments in Australia: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 40 (7): 1033–1046. <https://doi.org/10.1071/EA99141>
- López GI, Fontenot JP, García PTB. 2011. Componentes entre cuatro métodos de estimación de biomasa en praderas de festuca alta. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 2 (2): 209–220.
- Lüscher A, Staeheli B, Braun R, Nösberger J. 2001. Leaf area, competition with grass, and clover cultivar: key factors to successful overwintering and fast regrowth of white clover (*Trifolium repens* L.) in spring. *Annals of Botany* 88 (SI): 725–735. [https://doi.org/10.1093/annbot/88.suppl\\_1.725](https://doi.org/10.1093/annbot/88.suppl_1.725)
- Maldonado PMÁ, Rojas GAR, Torres SN, Herrera PJ, Joaquín CS, Ventura RJ, Hernández GA, Hernández GFJ. 2017. Productivity of orchard grass (*Dactylis glomerata* L.) alone and associated with perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) and white clover (*Trifolium repens* L.). *Revista Brasileira de Zootecnia* 46 (12): 890–895. <https://doi.org/10.1590/S1806-92902017001200003>

- Moreno-Carrillo MA, Hernández-Garay A, Vaquera-Huerta H, Trejo LC, Escalante-Estrada JA, Zaragoza-Ramírez JL, Joaquín-Torres BM. 2015. Productividad de siete asociaciones y dos praderas puras de gramíneas y leguminosas en condiciones de pastoreo. *Revista Fitotecnia Mexicana* 38 (1): 101–108.
- Randazzo CP, Rosso BS, Pagano EM. 2013. Identificación de cultivares de trébol blanco (*Trifolium repens* L.) mediante SSR. *Journal of Basic and Applied Genetics* 24 (1): 19–26.
- Rojas GAR, Hernández GA, Ayala W, Mendoza PSI, Joaquín CS, Vaquera HH, Santiago OMA. 2016a. Comportamiento productivo de praderas con distintas combinaciones de ovinillo (*Dactylis glomerata* L.), ballico perene (*Lolium perenne* L.) y trébol blanco (*Trifolium repens* L.). *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias* 48 (2): 57–68.
- Rojas GAR, Hernández GA, Quero CAR, Guerrero RJD, Ayala W, Zaragoza R JL, Trejo LC. 2016b. Persistencia de *Dactylis glomerata* L. solo y asociado con *Lolium perenne* L. y *Trifolium repens* L. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 7 (4): 885–895.
- Rojas GAR, Aniano AH, Sánchez SP, Ventura RJ, Maldonado PR, Salinas VD, Maldonado PMÁ. 2021. Métodos de estimación de forraje en asociaciones de pasto ovinillo, ballico perenne y trébol blanco. *Revista Fitotecnia Mexicana* 44 (4A): 768–774. <https://doi.org/10.35196/rfm.2021.4-A.789>
- SAS Institute. 2009. SAS/STAT® 9.2. User's Guide Release. Cary, NC: SAS Institute Inc. USA.
- Steinfeld H, Gerber P, Wassenaar T. 2006. *Livestock's Long Shadow: Environmental Issues and Options*; Food & Agriculture Organization: Rome, Italy. 2006. 414 p.
- Teague WR, Apfelbaum S, Lal R, Kreuter UP, Rowntree J, Davies CA, Conser R, Rasmussen M, Hatfield J, Wang T, Wang F, Byck P. 2016. The role of ruminants in reducing agriculture's carbon footprint in North America. *Journal of Soil Water Conservation* 71 (2): 156–164. <https://doi.org/10.2489/jswc.71.2.156>
- Teague R, Barnes M. 2017. Grazing management that regenerates ecosystem function and grazingland livelihoods. *African Journal of Range and Forage Science* 34 (2): 77–86. <https://doi.org/10.2989/10220119.2017.1334706>

# ANÁLISIS DEL CRECIMIENTO DEL TRÉBOL BLANCO (*Trifolium repens* L.) Y MÉTODOS INDIRECTOS PARA ESTIMAR SU RENDIMIENTO FORRAJERO

Joel Ventura-Ríos<sup>1</sup>, María de los Ángeles Maldonado-Peralta<sup>2</sup>, Aldenamar Cruz-Hernández<sup>3</sup>, Santiago Joaquín-Cancino<sup>4</sup>, Adelaido Rafael Rojas-García<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Departamento de Producción Animal. Calzada Antonio Narro 1923, Col. Buena vista, Saltillo Coahuila, México. C. P. 25315

<sup>2</sup> Universidad Autónoma de Guerrero. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia No. 2. Cuajinicuilapa, Guerrero, México. C. P. 41940

<sup>3</sup> Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. División Académica de Ciencias Agropecuarias. Carretera Villahermosa-Teapa, km 25, R/A. La Huasteca 2a Sección, Villahermosa, Tabasco, México. C. P. 86280

<sup>4</sup> Universidad Autónoma de Tamaulipas. Facultad de Ingeniería y Ciencias. Centro Universitario Adolfo López Mateos, Ciudad Victoria, Tamaulipas, México. C. P. 87149

\* Autor por correspondencia: rogarcia@uagro.mx

## RESUMEN

La acumulación de materia seca (DM) y su relación con algunos indicadores de eficiencia fisiológica en el crecimiento del trébol blanco (*Trifolium repens* L.) se estudió para determinar el momento óptimo de cosecha por época del año. El experimento se llevó a cabo en el Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, Texcoco, México. Se utilizaron 24 parcelas de 3.7 × 1.7 m cada una, distribuidas en un diseño completamente al azar con ocho tratamientos y tres repeticiones. Los tratamientos consistieron en cortes sucesivos semanales durante un ciclo de brotación de ocho semanas a mediados de cada estación del año. Las variables evaluadas fueron la acumulación de materia seca, la tasa de crecimiento del cultivo (CGR), la radiación interceptada (RI) y la altura de la planta (cm), estimadas a través de los métodos de medición de la regla y medidor de la placa ascendente. La mayor acumulación de forraje ( $p \leq 0.05$ ) ocurrió en la octava semana de la primavera (2688 kg MS ha<sup>-1</sup>). La mayor CGR ( $p \leq 0.05$ ) ocurrió en la primera semana del verano (84 kg DM ha<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>). La mayor RI se presentó en la sexta y novena semana del verano (100 %). La altura máxima ocurrió en la octava semana del verano ( $p \leq 0.05$ ), la cual fue de 32 y 23.3 cm para los métodos de medición con regla y placa ascendente, respectivamente. El rendimiento de la materia seca aumentó linealmente debido a las condiciones climáticas favorables durante la primavera-verano, donde hubo una mayor radiación interceptada y un aumento en el crecimiento de los cultivos. El método de la regla mostró un coeficiente más alto en comparación con el de placa ascendente, por lo que se puede recomendar dicho método para el trébol blanco.

**Palabras clave:** leguminosa, acumulación de materia seca, radiación interceptada.

**Citation:** Ventura-Ríos J, Maldonado-Peralta MA, Cruz-Hernández A, Joaquín-Cancino S, Rojas-García AR. 2022. Análisis del crecimiento del trébol blanco (*Trifolium repens* L.) y métodos indirectos para estimar su rendimiento forrajero.

Agrociencia. 56(3): 469-491. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i3.2799>

**Editor in Chief:**  
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: May 12, 2021.  
Approved: April 12, 2022.

**Published in Agrociencia:**  
May 11, 2022.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International license.



## INTRODUCCIÓN

Debido a los efectos del cambio climático en la agricultura y los mayores requerimientos nutricionales de los animales, consecuencia de la mejora genética, es necesario contar con forrajes bien adaptados a las diversas condiciones climáticas, que persistan bajo pastoreo o corte y que muestren un buen rendimiento de biomasa y calidad nutricional (Rojas *et al.*, 2016a). La adaptación del sistema de pastoreo “racional” está en su apogeo en México y América Latina. Este sistema incorpora intervalos de pastoreo cortos y una alta carga animal, lo que permite una rápida recuperación de las comunidades vegetales (Conant *et al.*, 2003; Teague y Barnes, 2017); los principales beneficios incluyen una reducción del pastoreo excesivo y erosión del suelo, un mejor uso del pasto, la productividad animal y una mayor retención de carbono (C) en el suelo (Teague *et al.*, 2016).

El trébol blanco (*Trifolium repens* L.) es considerado como la leguminosa más común y de mayor importancia agrícola en los sistemas de pastoreo en todas las regiones templadas del mundo. Su alto rendimiento de biomasa y calidad del forraje, así como el aporte de nitrógeno (N) y su hábito de crecimiento estolonífero, que minimiza las pérdidas de puntos de crecimiento, hacen del trébol blanco un valioso cultivo forrajero (Black *et al.*, 2009). Las tasas potenciales de fijación de N están en el rango de 600 a 700 kg N ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> (Luscher *et al.*, 2001); N tiene un alto contenido de proteína, baja fibra estructural y alta digestibilidad de la materia orgánica. Sin embargo, su desempeño es mejor en suelos de baja fertilidad (Conant *et al.*, 2003). Los sistemas intensivos de producción lechera de clima templado en la producción animal, en México, se basa en animales confinados, y depende de la importación de granos y cereales, los cuales viajan largas distancias para llegar a su destino, interrumpiendo así los ciclos naturales de carbono y nutrientes (Steinfeld *et al.*, 2006).

La calidad de la materia seca depende de la radiación interceptada, edad, tasa de crecimiento del forraje, época del año (Rojas *et al.*, 2016b). El pastoreo debe manejarse de acuerdo con la pradera, para ello se debe contar con técnicas rápidas y prácticas que permitan estimar la disponibilidad de forraje y su posterior recuperación y obtener el momento óptimo de pastoreo (Castro *et al.*, 2012). Existen diferentes métodos para medir la materia seca de los forrajes; el más común es el cuadrado fijo, que es el método directo para recolectar el forraje fresco que se lleva al laboratorio para su secado en hornos de aire forzado. Se han realizado investigaciones sobre el trébol blanco en el Altiplano Central Mexicano y el cultivo ha mostrado buen desempeño en condiciones de pastoreo en pastos puros, donde su máximo rendimiento se alcanza durante la primavera, otoño e invierno, en la octava semana de rebrote con 2953, 1592, 1791 kg DM ha<sup>-1</sup>, respectivamente (Gutiérrez *et al.*, 2018). Sin embargo, también existen métodos indirectos, como la altura de la placa ascendente y la regla, que permiten realizar mediciones rápidas y no destructivas (Rojas *et al.*, 2021). Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar la acumulación de masa seca, la tasa de crecimiento del cultivo, la radiación interceptada, y definir el método de altura óptima con regla y placa ascendente en trébol blanco.

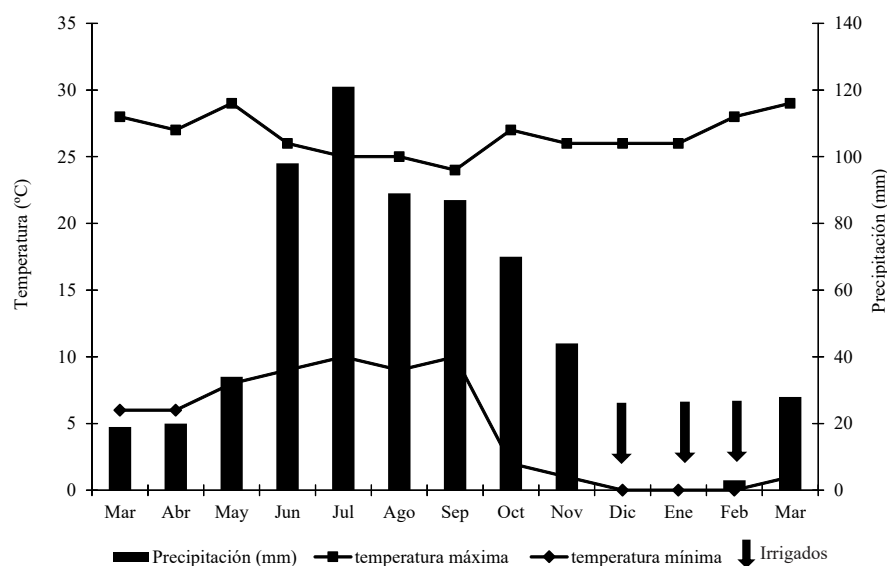
## MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó en una pradera de trébol blanco variedad Ladino, en el campo experimental del Colegio de Postgraduados, en Montecillo, Texcoco, Estado de México, a 19° 29' N y 98° 53' O, a una altitud de 2240 m. La siembra al voleo se realizó en febrero utilizando semillas puras viables a razón de 6 kg ha<sup>-1</sup>. El clima de la localidad es templado subhúmedo, con una precipitación media anual de 636.5 mm y una temporada de lluvias en verano (junio a octubre), y una temperatura media anual de 15.2 °C (García, 2004). El suelo fue analizado en el Laboratorio de Nutrición Vegetal S.A. y se identificó como un suelo franco arenoso, con pH 8.4 y 3.5 % de materia orgánica.

Antes de iniciar el estudio y a mitad de cada temporada, se realizó un pastoreo de homogeneización y después se realizó un análisis de crecimiento semanal durante ocho semanas. Se utilizaron ovejas para pastoreo hasta dejar un remanente de 5 cm sobre el nivel del suelo, y para mejorar el manejo se instaló un cerco eléctrico alrededor de las parcelas experimentales. Se trazaron 24 parcelas, cada una de 3.7 x 1.7 m, donde a los ocho tratamientos se les sometió a tres repeticiones al azar por la pendiente irregular del terreno. Los tratamientos incluyeron evaluaciones de producción de forraje en la semana uno, semana dos, semana tres, y así sucesivamente, hasta cortes en la semana ocho de edad de rebrote, en seguimiento de las recomendaciones de los investigadores en análisis de crecimiento (Lane *et al.*, 2000). Cabe señalar que cada vez que se completaba un análisis de crecimiento por temporada, las praderas se dejaban reposar hasta que llegaba otra temporada para comenzar con el pastoreo de homogeneización y realizar otro análisis de crecimiento. Durante los períodos de bajos niveles de agua en el suelo, las parcelas se regaron por inundación cada dos semanas y no se aplicó fertilización.

Los promedios mensuales de temperatura exterior (máxima y mínima) y la precipitación mensual durante el período de estudio se obtuvieron de la estación agrometeorológica del Colegio de Postgraduados, ubicada a 100 m del sitio experimental. La temperatura máxima mensual varió de 22.1 a 30.2 °C, mientras que la temperatura mínima varió de 0 a 11 °C (Figura 1). La temperatura más alta ocurrió durante la primavera, en mayo, y fue de 30.2 °C; la temperatura más baja se registró durante el invierno con 0 °C en diciembre. La precipitación acumulada de marzo a abril fue de 613 mm, de los cuales el 75.8 % se presentó durante los meses de junio, julio, agosto, septiembre y octubre, con una precipitación acumulada de 465 mm.

Después del pastoreo de homogeneización, se cortaron tres cuadrados de 0.25 m<sup>2</sup> a una altura de 5 cm del suelo en cada parcela experimental, durante ocho semanas. El forraje cosechado en cada cuadro fue enjuagado y posteriormente secado en bolsas de papel rotuladas dentro de una estufa de aire forzado a 55 °C durante 72 h, para estimar la cantidad de materia seca por hectárea a las diferentes edades de rebrote. La tasa de crecimiento se calculó a partir de los datos de rendimiento obtenidos en cada corte y en cada repetición por medio de la fórmula siguiente:



**Figura 1.** Temperaturas máximas y mínimas medias mensuales y precipitación acumulada durante el período de estudio en el Altiplano Central Mexicano, en Montecillo, Texcoco, Estado de México.

$$GR = Y / T ;$$

donde,

GR= Tasa media de crecimiento estacional ( $\text{kg DM ha}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ).

Y= Rendimiento de forraje estacional ( $\text{kg DM ha}^{-1}$ ).

T= Días transcurridos desde el último corte (d).

La radiación interceptada se calculó antes de cada evento de pastoreo por el método de la regla de madera. Para ello se hicieron cinco lecturas en cada unidad experimental; y cada una de ellas consistió en deslizar una regla de madera de 1 m bajo la copa de la planta con orientación norte-sur. Luego se sumaron los milímetros que se encontraban en la sombra, lo que representó el porcentaje de radiación interceptada por el dosel vegetal. La lectura se realizó entre las 12:00 y las 13:00 h del huso horario correspondiente, ya que es el momento óptimo por el ángulo del sol y porque el cambio en la luz interceptada es mínimo (Rojas *et al.*, 2016b). Los métodos indirectos utilizados para estimar la cantidad de forraje en un momento determinado relacionaron la altura del dosel con el rendimiento de materia seca por medio de regresión lineal. Se midió la altura de la planta antes y después de un corte, y se tomaron 20 muestras al azar de toda la unidad experimental, con los métodos de regla y placa ascendente.

El método de la regla consistió en colocar una regla graduada de 100 cm con una precisión de 1 mm por encima del dosel de la planta y deslizarla hasta registrar el primer componente morfológico y los datos.

El método de la placa ascendente consistió en una placa de aluminio de 900 cm<sup>2</sup> que se movía libremente hacia arriba o hacia abajo sobre una columna central. Para estimar la altura con este instrumento, se colocó vertical sobre el forraje y una vez sostenido por la masa forrajera se registraron los datos (López *et al.*, 2011).

Para calibrar ambas técnicas de muestreo antes de cortar el forraje en los cuatro cuadrados asignados se hicieron lecturas con la regla y la placa ascendente. Después, se obtuvo una ecuación de regresión lineal que correlacionó los datos recolectados con cada técnica a través del muestreo con el rendimiento de materia seca acumulada en cada cuadro. Luego de determinar la ecuación, se retomaron los valores promedio por corte de cada tratamiento para obtener valores de rendimiento de materia seca por corte. Los datos se analizaron con el procedimiento GLM de SAS (SAS, 2009) para un diseño experimental completamente al azar, donde los tratamientos fueron las ocho semanas evaluadas a la mitad de cada temporada, con tres repeticiones y un análisis de regresión para cada variable.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del rendimiento de materia seca (DM) se presentan en el Cuadro 1. El rendimiento de DM aumentó con la edad, y alcanzó el máximo en la octava semana, en primavera y otoño, con 2688 y 1781 kg DM ha<sup>-1</sup>, respectivamente ( $p \leq 0,05$ ); en la séptima semana del verano (2241 kg DM ha<sup>-1</sup>); y en la sexta semana de invierno (1643 kg DM ha<sup>-1</sup>). La biomasa acumulada durante la primavera fue superior en 20 % (447 kg DM ha<sup>-1</sup>), 51 % (907 kg DM ha<sup>-1</sup>) y 64 % (1045 kg DM ha<sup>-1</sup>), en comparación con el verano, otoño e invierno, respectivamente.

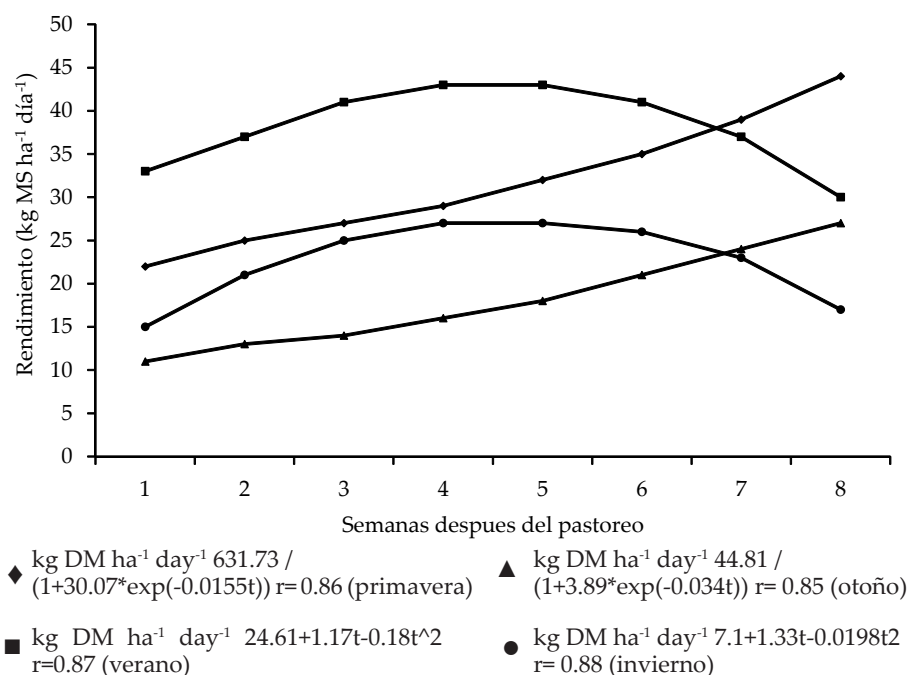
Al evaluar un monocultivo de trébol blanco en el Altiplano Central Mexicano, Gutiérrez *et al.* (2018) encontraron que el rendimiento de materia seca se incrementó a medida

**Cuadro 1.** Cambios semanales de acumulación de materia seca (kg DM ha<sup>-1</sup>) de trébol blanco (*Trifolium repens* L.) en el Altiplano Central Mexicano en Montecillo, Texcoco, Estado de México.

| Semana        | Primavera    | Verano         | Otoño          | Invierno      |
|---------------|--------------|----------------|----------------|---------------|
| 1             | 136± 2.3 Dd  | 586±10.3 Ca    | 187± 3.3 Dc    | 456± 9.0 Cb   |
| 2             | 324± 9.5 CDc | 702±13.2 Ca    | 220± 4.4 Dd    | 464±10.1 Cb   |
| 3             | 720±12.6 BCb | 1066±23.1 BCa  | 595±10.5 CDc   | 667±12.4 BCb  |
| 4             | 1029±22.9 Bb | 1268±28.2 ABCa | 662±11.2 CDd   | 839±14.2 BCc  |
| 5             | 1084±24.2 Bc | 1649±42.2 ABCa | 725±14.2 BCDd  | 1399±22.3 ABb |
| 6             | 1253±27.2 Bc | 1982±39.5 ABa  | 1153±25.6 ABCc | 1642±33.2 Ab  |
| 7             | 2171±40.2 Aa | 2242±43.2 Aa   | 1759±44.2 Ab   | 455± 9.2 Cc   |
| 8             | 2688±55.3 Aa | 1842±32.4 ABb  | 1781±41.3 Ab   | 1274±21.4 ABc |
| Promedio      | 1175±33.6 b  | 1403±32.1 a    | 954±29.4 c     | 885±26.9 d    |
| SEM           | 30           | 20             | 21             | 15            |
| Significativo | **           | *              | **             | *             |

ABCD: Las distintas letras mayúsculas dentro de cada columna muestran diferencias significativas; abcd: Las distintas letras minúsculas dentro de las líneas muestran diferencias significativas. SEM: error estándar de la media; Significativo en \* =  $p \leq 0.05$ ; \*\* =  $p \leq 0.01$ .

que aumentó la edad del rebrote en todas las estaciones, y alcanzó el rendimiento máximo en la octava semana o edad de rebrote en primavera, otoño e invierno, con 2953, 1592, 1791 kg DM ha<sup>-1</sup>, respectivamente, y en la séptima semana de invierno con 1971 kg DM ha<sup>-1</sup>. A su vez, Moreno *et al.* (2015) al establecer trébol blanco con mezclas de raigrás *Lolium perenne* (L.) y pasto ovido *Dactylis glomerata* (L.) encontraron un rendimiento máximo de trébol blanco de 513 kg DM ha<sup>-1</sup> durante el primer año muestreado, mucho menor que en este estudio. Sin embargo, Maldonado *et al.* (2017) con estas mismas mezclas, pero al tercer y cuarto año de producción registraron un incremento significativo, con un promedio en rendimiento de trébol blanco de 7220 kg DM ha<sup>-1</sup>. Por otra parte, Rojas *et al.* (2016a) obtuvieron la mejor mezcla gramínea-leguminosa con 40 % de trébol blanco, 40 % de pasto ovido y 20 % de raigrás, lo que arrojó un rendimiento anual acumulado de 20 182 kg DM ha<sup>-1</sup>. En primavera se obtuvo el mayor rendimiento 7292 kg DM ha<sup>-1</sup>, seguido del verano con 5923 kg DM ha<sup>-1</sup>. La tasa de crecimiento del trébol blanco varió en las diferentes estaciones del año. La mayor tasa de crecimiento se presentó en la octava semana, en la primavera (48 kg DM ha<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) y en la sexta semana del verano (44 kg DM ha<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>). Sin embargo, las estaciones del año con menor tasa de crecimiento fueron las de menor temperatura (Figura 1), otoño e invierno, donde el mayor crecimiento se registró en la quinta y octava semana, 27 y 29 kg DM ha<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, respectivamente (Figura 2).



**Figura 2.** Cambios semanales en la tasa de crecimiento del trébol blanco (*Trifolium repens* L.) después del corte en el Altiplano Mexicano en Montecillo, Texcoco, Estado de México.

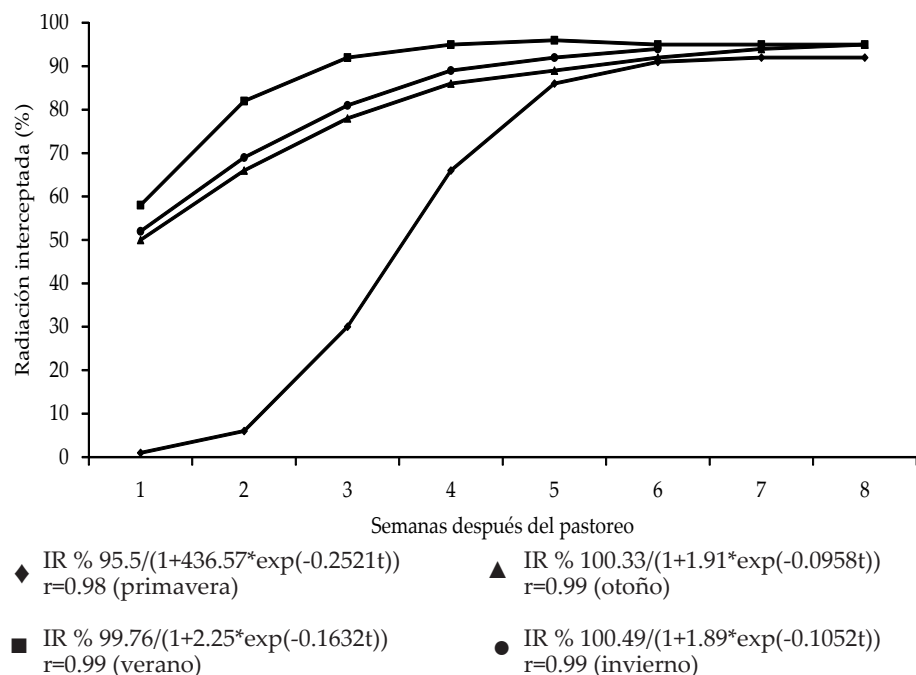
En otro estudio sobre trébol blanco, la mayor tasa de crecimiento se obtuvo durante la primavera, con 48 kg DM ha<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> en la octava semana, seguido del verano, invierno y otoño, con 33, 29 y 28 kg DM ha<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, para las semanas cinco, ocho y cinco, respectivamente (Gutiérrez *et al.*, 2018); algo similar a lo encontrado en este estudio. En algunos estudios realizados en México en praderas mixtas con trébol blanco, Castro *et al.* (2012) reportaron la mayor tasa de crecimiento estacional durante el verano en la semana 4 (64 kg DM ha<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>), superior en 21, 55 y 186 % a las tasas de crecimiento en primavera en la semana 4 (50 kg DM ha<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>), invierno en la semana 6 (41 kg DM ha<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) y otoño en la semana 5 (20 kg DM ha<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>). Por otro lado, Rojas *et al.* (2016a), en las asociaciones con trébol blanco, reportaron mayores tasas de crecimiento durante la primavera (81 kg DM ha<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>), mientras que para el verano fueron de 56 kg DM ha<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, y en otoño e invierno las tasas fueron menores, alcanzando 35 y 29 kg DM ha<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, respectivamente.

La tasa de crecimiento estacional del trébol blanco coincide con los resultados obtenidos en otras latitudes de clima templado, donde la mayor tasa de crecimiento ocurre durante la primavera-verano, ya que los elevados niveles de luz en este período permiten que la planta tenga mayores tasas de reemplazo de tejidos, generación y expansión de hojas (Black *et al.*, 2006; Black *et al.*, 2009). Esto se debe a las precipitaciones y temperaturas favorables para la planta, de 18–30 °C (Black *et al.*, 2006), con un óptimo de 25 °C (Lane *et al.*, 2000). Por otro lado, las bajas temperaturas y la radiación limitada solo aumentan el alargamiento del pecíolo, inhiben la ramificación y el tamaño del estolón (Black *et al.*, 2006). La mayor parte de la radiación fue interceptada durante el verano en la sexta semana de brotación (100 %) y fue superior a las semanas uno y dos. En primavera (98.6 %) y otoño (99.6 %), la máxima radiación se interceptó en la semana ocho, mientras que en invierno se presentó en la semana cinco (95 %) y fue similar a la semana seis, pero diferente a las semanas restantes del muestreo. (Figura 3).

La radiación fotosintéticamente activa (PAR) de la luz solar es absorbida o reflejada por la primera superficie que toca. Por esto, si no es interceptada por las hojas verdes, su energía no estará disponible para el crecimiento de las plantas.

La capacidad del trébol blanco y los pastos asociados de desarrollar un dosel de hojas verdes saludables es importante para maximizar el rendimiento y asegurar la persistencia de la cobertura. Por lo tanto, el desarrollo de este dosel depende de los componentes de expansión del área foliar, la senescencia y la arquitectura del dosel (Black *et al.*, 2009).

En un estudio realizado en praderas mixtas, Flores *et al.* (2015) registraron más radiación interceptada durante la primavera (92 %) y el verano (93 %), mientras que en otoño e invierno se obtuvieron los valores más bajos, con 88 y 86 %, respectivamente. Las hojas de trébol blanco tienen una alta capacidad fotosintética cuando se encuentran en monocultivo; sin embargo, cuando el trébol se asocia con pastos C3 como el raigrás y la hierba de huerta, la competencia por luz, espacio, agua y nutrientes limita el rendimiento del trébol blanco (Heraut-Bron *et al.*, 1999; Maldonado *et al.*, 2017). Además, las gramíneas C3 son más eficientes fotosintéticamente que las leguminosas (Faurie *et al.*, 1996).



**Figura 3.** Cambios semanales de la radiación interceptada durante el crecimiento estacional del trébol blanco (*Trifolium repens* L.) en el Altiplano Central Mexicano en Montecillo, Texcoco, Estado de México.

La amplia distribución del género *Trifolium* (aproximadamente 300 especies) tiende a comportarse de manera diferente dependiendo de la latitud, debido a su patrón morfológico (Randazzo *et al.*, 2013). Por ejemplo, las poblaciones de latitudes meridionales crecen más gruesas, con pecíolos largos y hojas anchas, lo cual les permite recoger más luz. Sin embargo, las poblaciones de latitudes septentrionales desarrollan estolones más delgados y hojas postradas más delgadas que limitan su crecimiento y desarrollo (Luscher *et al.*, 2001).

La altura de la planta aumentó con las semanas de rebrote (Cuadro 2). Ambos métodos registraron la altura máxima en la octava semana durante primavera-verano y otoño ( $p \leq 0.05$ ). Sin embargo, durante el invierno la altura máxima fue de 17 cm, registrada en la sexta semana por el método de la regla y 15 cm por el método de la placa ascendente. Durante una evaluación de la altura de la cobertura con el método de la regla, Castro *et al.* (2012) encontraron mayores alturas durante el verano (26 cm), las cuales fueron superiores en 17, 142 y 137 % a las alturas de la primavera, otoño e invierno, respectivamente. Según otros autores (López *et al.*, 2011; Rojas *et al.*, 2016a), la altura es una herramienta útil para estimar el rendimiento de forraje en un momento dado. Otros investigadores (Dillard *et al.*, 2016) consideraron que la masa de forraje existente en la pradera es fácil de medir y estimar a través de un muestreo simple, con el promedio a 15 a 45 cm de altura como referencia, lo cual permite decidir cuándo dejar entrar o salir al ganado para utilizar el pasto de manera eficiente.

**Cuadro 2.** Cambios semanales en la altura del dosel (cm) de trébol blanco (*Trifolium repens* L.) en el Altiplano Mexicano en Montecillo, Texcoco, Estado de México.

| Semana        | Primavera                          | Verano       | Otoño          | Invierno     |
|---------------|------------------------------------|--------------|----------------|--------------|
|               | Método de la regla (cm)            |              |                |              |
| 1             | 2.7±0.2 Cc                         | 12.3±1.0 Ea  | 6.7±0.4 Bb     | 6.3±0.2 Db   |
| 2             | 6.8±0.5 Cb                         | 15.7±1.2 EDa | 7.3±0.7 Bb     | 6.7±0.3 Db   |
| 3             | 7.0±0.6 Cb                         | 20.7±1.2 CDa | 7.7±0.6 Bb     | 9.3±0.5 Cb   |
| 4             | 7.0±0.6 Cb                         | 21.0±1.4 Ca  | 9.7±0.7 ABb    | 11.0±0.6 BCb |
| 5             | 12.7±1.2 Bb                        | 23.7±1.7 BCa | 13.0±0.9 Ab    | 12.7±0.8 Bb  |
| 6             | 15.5±1.4 Bbc                       | 23.3±1.6 BCa | 13.3±1.0 Ac    | 17.0±1.1 Ab  |
| 7             | 18.0±1.6 ABb                       | 27.3±1.7 Aba | 13.3±1.0 Ab    | —            |
| 8             | 23.3±2.1 Ab                        | 32.0±1.8 Aa  | 14.0±1.1 Ac    | —            |
| SEM           | 1.1                                | 1.4          | 0.9            | 0.5          |
| Significativo | **                                 | **           | **             | **           |
|               | Método de la placa ascendente (cm) |              |                |              |
| 1             | 3.3±0.3 Eb                         | 10.0±0.7 Ca  | 6.0±0.4 CDb    | 5.7±0.3 Bb   |
| 2             | 3.7±0.4 Eb                         | 15.7±0.9 BCa | 5.3±0.3 Db     | 6.0±0.4 Bb   |
| 3             | 3.7±0.4 Eb                         | 23.0±1.3 Aa  | 7.0±0.5 CDb    | 6.3±0.5 Bb   |
| 4             | 7.3±0.5 DEb                        | 23.7±1.4 Aa  | 11.3±0.9 ABCDb | 9.0±0.8 Bb   |
| 5             | 8.7±0.6 CDb                        | 23.7±1.6 Aa  | 7.7±0.6 CDb    | 10.7±0.9 ABb |
| 6             | 12.3±0.9 BCb                       | 26.3±1.8 Aa  | 13.0±1.0 ABCb  | 15.0±1.3 Ab  |
| 7             | 16.7±1.1 Bb                        | 21.3±1.6 ABa | 14.3±1.1 ABc   | —            |
| 8             | 22.7 Aa                            | 23.3±1.9 Aa  | 17.3±1.3 Ab    | —            |
| SEM           | 0.9                                | 1.4          | 0.8            | 0.7          |
| Significativo | **                                 | **           | **             | *            |

ABCD: Las letras mayúsculas dentro de cada columna muestran diferencias significativas; abcd: Las letras minúsculas dentro de las líneas muestran diferencias significativas. SEM: error estándar de la media; Significativo en \*  $p \leq 0.05$ ; \*\*  $p \leq 0.01$ .

Con la información de altura obtenida (Cuadro 3) y el rendimiento de materia seca acumulado en cada cuadro (0.25 m<sup>2</sup>), se obtuvieron ecuaciones de regresión lineal y coeficientes de determinación (r<sup>2</sup>) para cada estación y año.

Para utilizar los métodos indirectos es necesario medir la altura de la planta (cm) y la materia seca presente en el cuadrado (0.25 m<sup>2</sup>), ya que ambas variables tienen una correlación altamente positiva (López *et al.*, 2011).

Para la primavera, los datos se ajustaron mejor al modelo de la regla (r<sup>2</sup>= 85) que al método de la placa ascendente (r<sup>2</sup>= 84). Asimismo, en la ecuación de regresión anual, el método de la regla mostró mayor coeficiente (r<sup>2</sup>= 0.56) que el método de la placa ascendente (r<sup>2</sup>= 0.52); lo que indica que la variación del rendimiento de materia seca por hectárea se explica en 56 % por la altura con la regla y 52 % con la placa ascendente; 111 y 87 kg DM ha<sup>-1</sup> por cada cm de altura de la planta estimada con la regla y la placa ascendente, respectivamente.

Con base en los resultados obtenidos y la bondad de ajuste del modelo, el método de la regla podría ser más confiable (Bransby *et al.*, 1977). Sin embargo, diferentes estudios han reportado variabilidad en la aptitud del modelo para ambos métodos; por

**Cuadro 3.** Ecuaciones de regresión lineal obtenidas por época y año completo con base en la altura de la cobertura y relacionadas con el rendimiento de materia seca del trébol blanco (*Trifolium repens* L.), en el Altiplano Mexicano en Montecillo, Texcoco, Estado de México.

| Método               | Primavera             | Verano                | Otoño                  | Invierno               | Anual                |
|----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|----------------------|
| Ecuación de regla    | $y = 113.74x - 46.71$ | $y = 78.1x - 464.88$  | $y = 135.26x - 727.86$ | $y = 111.52x - 459.34$ | $y = 71.98x - 21.60$ |
| $r^2$                | 0.85                  | 0.54                  | 0.64                   | 0.81                   | 0.56                 |
| Ecuación de la placa | $y = 113.71x + 62.1$  | $y = 70.84x - 226.27$ | $y = 102.75x - 343.98$ | $y = 114.64x - 294.66$ | $y = 68.6x + 110$    |
| $r^2$                | 0.84                  | 0.36                  | 0.74                   | 0.83                   | 0.52                 |

ejemplo, en otra investigación Ganguli *et al.* (2000) reportaron un mayor coeficiente de correlación con el método de la placa ascendente ( $r^2= 0.83$ ), y ( $r^2= 0.60$ ) con el método de la regla. En cambio, Castillo *et al.* (2009) encontraron una mejor correlación a través del método de la regla que a través del método de la placa ascendente, que mostró un  $r^2$  superior a 0.83.

Los coeficientes de determinación en regresiones lineales por ambos métodos son confiables y aceptables para estimar la materia seca presente en un momento dado, a partir de la altura de la cobertura (cm). Sin embargo, aunque varios autores (López *et al.*, 2011) debaten sobre la exactitud y precisión de ambos métodos indirectos, todos coinciden en que estos métodos son útiles y fáciles de implementar para el manejo de la cobertura, ya que ayudan a tomar una buena decisión para el uso eficiente del forraje.

### CONCLUSIONES

El rendimiento de la materia seca aumentó en forma lineal debido a las condiciones climáticas favorables durante la primavera-verano, donde hubo una mayor radiación interceptada y un mayor crecimiento del cultivo que en las otras estaciones. De igual forma, los métodos indirectos mostraron mayor altura para el período primavera-verano, lo cual coincidió con la materia seca acumulada.

Sin embargo, aunque los métodos indirectos no son exactos, se recomienda calibrarlos con cuadrados fijos antes de cada muestreo. El método de la regla mostró un coeficiente más alto en comparación con el de la placa ascendente, por lo tanto, el primero se puede recomendar para el trébol blanco.

### REFERENCIAS

- Black AD, Moot DJ, Lucas RJ. 2006. Development and growth characteristics of Caucasian and white clover seedlings, compared with perennial ryegrass. *Grass and Forage Science* 61 (4): 442–453. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2006.00553.x>
- Black AD, Laidlaw AS, Moot DJ, O'kiely P. 2009. Comparative growth and management of white and red clovers. *Irish Journal of Agricultural and Food Research* 48 (2009): 149–166. <http://hdl.handle.net/11019/644>.

- Bransby DI, Matches AG, Matches GF. 1977. Disk meter for rapid estimation of herbage yield in grazing trials. *Agronomy Journal* 69 (3): 393–396. <https://doi.org/10.2134/agronj1977.00021962006900030016x>
- Castillo GE, Valles MB, Jarillo RJ. 2009. Relación entre materia seca presente y altura en gramas nativas del trópico mexicano. *Técnica Pecuaria en México* 47 (1): 79–92. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61312109009>
- Castro RR, Hernández GA, Pérez PJ, Hernández GJ, Quero CAR, Enríquez QJF. 2012. Comportamiento productivo de cinco asociaciones gramíneas-leguminosas bajo condiciones de pastoreo. *Revista Fitotecnia Mexicana* 35 (1): 87–95. <https://doi.org/10.35196/rfm.2012.1.87>
- Conant RT, Six J, Paustian K. 2003. Land use effects on soil carbon fractions in the southeastern United States. I. Management-intensive versus extensive grazing. *Biology and Fertility of Soils* 38 (6): 386–392. <https://doi.org/10.1007/s00374-003-0652-z>
- Dillard LS, Hafla NA, Rubano DM, Stout RC, Brito FA, Soder KJ. 2016. Evaluation of a rising plate meter for use in multispecies swards. *Agricultural and Environmental Letters* 1 (1): 1–4. <https://doi.org/10.2134/ael2016.08.0032>
- Faurie O, Soussana JF, Sinoquet H. 1996. Radiation interception, partitioning and use in grass-clover mixtures. *Annals of Botany* 77 (1): 35–45. <https://doi.org/10.1006/anbo.1996.0005>
- Flores SE, Hernández GA, Guerrero RJD, Quero CRA, Martínez HPA. 2015. Productividad de asociaciones de pasto ovillo (*Dactylis glomerata* L.), ballico perenne (*Lolium perenne* L.) y trébol blanco (*Trifolium repens* L.). *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 6 (3): 337–347. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v6i3.4096>
- Ganguli AC, Vermeire LT, Mitchell RB, Wallace MC. 2000. Comparison of four nondestructive techniques for estimating standing crop in shortgrass plains. *Agronomy Journal* 92 (6): 1211–1215. <https://doi.org/10.2134/agronj2000.9261211x>
- García E. 2004. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. 4<sup>a</sup> (ed.). Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 217 p.
- Gutiérrez AAF, Hernández GA, Vaquera HH, Zaragoza RJL, Luna GMJ, Reyes CS, Gutiérrez A DA. 2018. Análisis de crecimiento estacional de trébol blanco (*Trifolium repens* L.). *Agroproductividad* 11 (5): 62–68.
- Heraut-Bron V, Robin C, Varlet-Grancher C, Afif D, Guckert A. 1999. Light quality (red:far-red ratio): does it affect photosynthetic activity, net CO<sub>2</sub> assimilation, and morphology of young white clover leaves?. *Canadian Journal of Botany* 77 (10): 1425–1431. <https://doi.org/10.1139/b99-099>
- Lane LA, Ayres JF, Lovett JV. 2000. The pastoral significance, adaptive characteristics, and grazing value of white clover (*Trifolium repens* L.) in dryland environments in Australia: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 40 (7): 1033–1046. <https://doi.org/10.1071/EA99141>
- López GI, Fontenot JP, García PTB. 2011. Componentes entre cuatro métodos de estimación de biomasa en praderas de festuca alta. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 2 (2): 209–220.
- Lüscher A, Staeheli B, Braun R, Nösberger J. 2001. Leaf area, competition with grass, and clover cultivar: key factors to successful overwintering and fast regrowth of white clover (*Trifolium repens* L.) in spring. *Annals of Botany* 88 (SI): 725–735. [https://doi.org/10.1093/annbot/88.suppl\\_1.725](https://doi.org/10.1093/annbot/88.suppl_1.725)
- Maldonado PMÁ, Rojas GAR, Torres SN, Herrera PJ, Joaquín CS, Ventura RJ, Hernández GA, Hernández GFJ. 2017. Productivity of orchard grass (*Dactylis glomerata* L.) alone and associated with perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) and white clover (*Trifolium repens* L.). *Revista Brasileira de Zootecnia* 46 (12): 890–895. <https://doi.org/10.1590/S1806-92902017001200003>
- Moreno-Carrillo MA, Hernández-Garay A, Vaquera-Huerta H, Trejo LC, Escalante-Estrada JA, Zaragoza-Ramírez JL, Joaquín-Torres BM. 2015. Productividad de siete asociaciones y dos praderas puras de gramíneas y leguminosas en condiciones de pastoreo. *Revista Fitotecnia Mexicana* 38 (1): 101–108.
- Randazzo CP, Rosso BS, Pagano EM. 2013. Identificación de cultivares de trébol blanco (*Trifolium repens* L.) mediante SSR. *Journal of Basic and Applied Genetics* 24 (1): 19–26.
- Rojas GAR, Hernández GA, Ayala W, Mendoza PSI, Joaquín CS, Vaquera HH, Santiago OMA. 2016a. Comportamiento productivo de praderas con distintas combinaciones de ovillo (*Dactylis glomerata* L.), ballico perene (*Lolium perenne* L.) y trébol blanco (*Trifolium repens* L.). *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias* 48 (2): 57–68.

- Rojas GAR, Hernández GA, Quero CAR, Guerrero RJD, Ayala W, Zaragoza RJL, Trejo LC. 2016b. Persistencia de *Dactylis glomerata* L. solo y asociado con *Lolium perenne* L. y *Trifolium repens* L. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 7 (4): 885–895.
- Rojas GAR, Aniano AH, Sánchez SP, Ventura RJ, Maldonado PR, Salinas VD, Maldonado PMÁ. 2021. Métodos de estimación de forraje en asociaciones de pasto ovillo, ballico perenne y trébol blanco. Revista Fitotecnia Mexicana 44 (4A): 768–774. <https://doi.org/10.35196/rfm.2021.4-A.789>
- SAS Institute. 2009. SAS/STAT® 9.2. User's Guide Release. Cary, NC: SAS Institute Inc. USA.
- Steinfeld H, Gerber P, Wassenaar T. 2006. Livestock's Long Shadow: Environmental Issues and Options; Food & Agriculture Organization: Rome, Italy. 2006. 414 p.
- Teague WR, Apfelbaum S, Lal R, Kreuter UP, Rowntree J, Davies CA, Conser R, Rasmussen M, Hatfield J, Wang T, Wang F, Byck P. 2016. The role of ruminants in reducing agriculture's carbon footprint in North America. Journal of Soil Water Conservation 71 (2): 156–164. <https://doi.org/10.2489/jswc.71.2.156>
- Teague R, Barnes M. 2017. Grazing management that regenerates ecosystem function and grazingland livelihoods. African Journal of Range and Forage Science 34 (2): 77–86. <https://doi.org/10.2989/10220119.2017.1334706>



## POPULATIONAL ATTRIBUTES OF THE CENTRAL AMERICAN RED BROCKET DEER (*Mazama temama*) IN THE SIERRA DE ZONGOLICA, VERACRUZ, MEXICO

Juan Salazar-Ortiz<sup>1</sup>, Miguel Barrera-Perales<sup>2</sup>, María Guadalupe Bravo-Vinaja<sup>3</sup>, Ricardo Serna-Lagunes<sup>4\*</sup>, Carlos de Jesús Ocaña-Parada<sup>5</sup>, Fernando Isaac Gastelum-Mendoza<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Carretera Federal Córdoba-Veracruz km 348, Manuel León, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. C. P. 94946.

<sup>2</sup> Departamento del Sector Pesquero. DGIRA-SEDEMA. Av. Ejército Nacional 223, Col. Anáhuac I Sección, Miguel Hidalgo, Ciudad de México, México. C. P. 11320.

<sup>3</sup> Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56230.

<sup>4</sup> Universidad Veracruzana. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias Córdoba-Orizaba. Calle Josefa Ortiz de Domínguez s/n, Peñuela. Amatlán de Los Reyes, Veracruz, México. C. P. 94945.

<sup>5</sup> Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Sede Motozintla. Prol. de la 2a. Calle Poniente No. 2285 Calle Real, Barrio Rivera Hidalgo, Motozintla, Chiapas, México. C. P. 30900.

<sup>6</sup> Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Forestales, Carretera Nacional 85 km 145, Linares, Nuevo León, México. C. P. 67700.

\* Corresponding author: rserna@uv.mx

### ABSTRACT

The Sierra de Zongolica is a biogeographic region with ecosystems and species of nearctic and neotropical affinity in the state of Veracruz, Mexico. However, no studies have been conducted on populations of the red brocket deer (*Mazama temama* Erxleben 1777) in this region. Such type of studies is essential to propose actions for sustainable management of the species and the habitat by the rural communities. The objective of this study was to describe the populational attributes of *M. temama* (distribution, population abundance, and patterns of activity) in the Sierra de Zongolica. Information was gathered through interviews, spoor detection and camera trapping from September 2014 to May 2015. To identify the sites where the deer is present, 76 inhabitants of four municipalities of the Sierra de Zongolica were interviewed. In the localities described with presence of the deer, 20 walking trails 300 m long by 1 m wide were identified. Six of the trails were in primary vegetation (1.8 km), 10 in secondary vegetation (3 km), and four in the area of cultivation (1.2 km) where 54 spoors were recorded (45 hoofprints and nine droppings), equivalent to nine signs of deer per km. The population of *M. temama* was higher in the farming area than in primary or secondary vegetation. In the 43 stations of camera traps, 71 independent images of *M. temama* were obtained. Of these images, 79 % were between 18:00 and 05:00 h, indicating a pattern of crepuscular and nocturnal activity. This species had a relative abundance index of 2.5 brockets per km<sup>2</sup> in the Sierra de Zongolica, suggesting a population susceptible to management under the system of Management Units for Conservation and Sustainable Use of Wildlife (in Mexico, UMAs).

**Keyword:** Cervidae, populational distribution, trails, spoor index, camera traps, abundance.

**Citation:** Salazar-Ortiz J, Barrera-Perales M, Bravo-Vinaja MG, Serna-Lagunes R, Ocaña-Parada CJ, Gastelum-Mendoza FI. 2022. Populational attributes of the central american red brocket deer (*Mazama temama*) in the Sierra de Zongolica, Veracruz, Mexico. *Agrociencia*. 56(3): 492-517. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i3.2805>

**Editor in Chief:**  
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: July 31, 2021.  
Approved: February 16, 2022.  
**Published in Agrociencia:**  
June 06, 2022.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International license.



## INTRODUCTION

The Central American red brocket deer (*Mazama temama* Erxleben 1777; Mammalia: Cervidae) is an indicator species for the conservation status of the ecosystem since presence and behaviour change under pressure from anthropogenic activities (Muñoz-Vázquez and Gallina-Tessaro, 2016). This species balances ecological dynamics of the vegetation; its presence can indicate the existence of large felines, and its abundance determines the quality of the habitat (Villarreal-Espino-Barros *et al.*, 2019). However, due to habitat loss (Pérez-Solano and Mandujano, 2013), pressure from clandestine hunting (Salazar-Ortiz *et al.*, 2020), and a little genetic flow due to geographic isolation (Serna-Lagunes *et al.*, 2021), this species faces difficulties for maintenance and survival. Populations of *M. temama* are decreasing throughout their geographic distribution. Moreover, for their classification status in the risk categories of the International Union for Conservation of Nature, there is a lack of ecological data regarding those populations (Bello *et al.*, 2016). Neither in Mexico has the extinction risk status of *M. temama* been determined through the population risk evaluation method (SEMARNAT, 2010). The conservation and sustainable use of this species depends on the availability of information on population attributes (Villarreal-Espino *et al.*, 2017), biology, patterns of activity, individuals body size, territorial needs, habitat preferences, spatial arrangement, and potential distribution of the population (Bello-Gutiérrez *et al.*, 2010; Serna-Lagunes *et al.*, 2014).

The Sierra de Zongolica (Veracruz, Mexico) is an interesting biogeographic scenario where species converge, with ecological affinity to nearctic and neotropical zoogeographic regions. It is one of the least explored mountain ranges, and thus there is little scientific knowledge on the wild mammals that inhabit these ecosystems (González-Christen and Delfín-Alfonso, 2016). Similar to other ecological regions of Mexico where *M. temama* is distributed, decision-making on conservation and sustainable use of the species by rural communities is limited by the lack of knowledge concerning their population attributes and because there are not ecological studies reported weighing the effects of overexploitation at the regional level (Villarreal-Espino-Barro *et al.*, 2014).

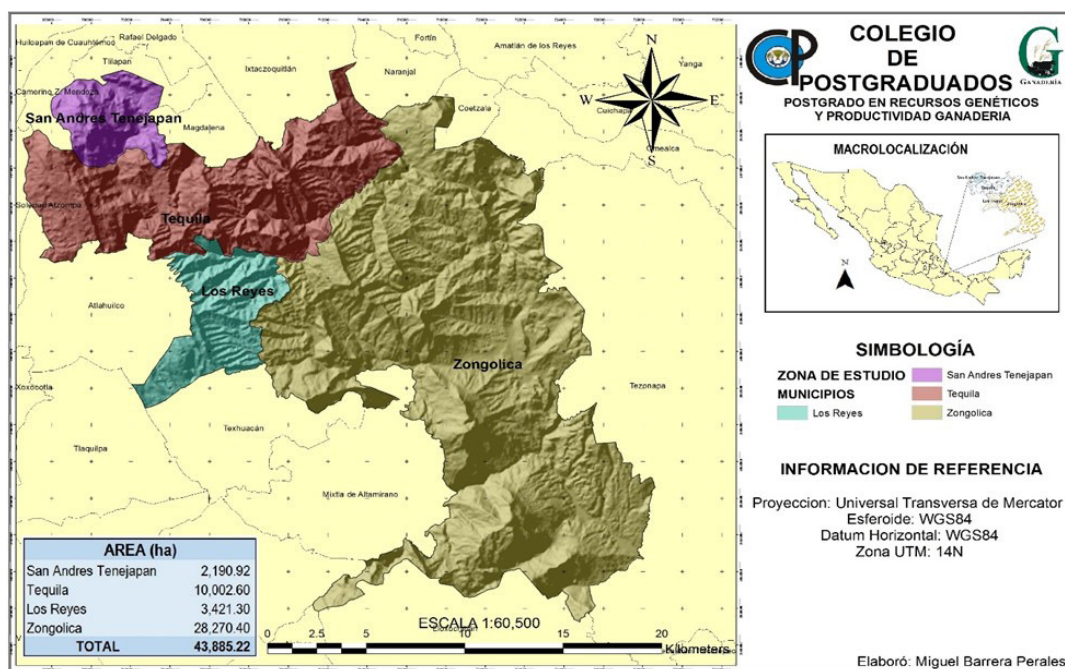
Distribution of *M. temama* in the Sierra de Zongolica includes areas whose anthropogenic activities risk deer populations and habitat. However, there is interest on the part of rural communities in the management of this species through the plan of Management Units for Conservation and Sustainable Use of Wildlife (Unidades de Manejo para la Conservación y Aprovechamiento Sustentable de Vida Silvestre -UMA) (Macario *et al.*, 2019; Salazar-Ortiz *et al.*, 2020). For this reason, the objective of this study was to describe population attributes (distribution, abundance, and patterns of activity) of *M. temama* in the Sierra de Zongolica, Veracruz, Mexico, since it is necessary to promote conservation, sustainable management, and habitat restoration through community participation within UMA (Benítez-Badillo *et al.*, 2010).

## MATERIALS AND METHODS

The study area included the municipalities of San Andres Tenejapan, Tequila, Los Reyes and Zongolica located in the Sierra de Zongolica region, Veracruz, Mexico. The region includes 14 municipalities (12 of them with indigenous Nahuatl populations) at altitudes from 620 to 2200m. It is bordered on the north by the Sierra Negra de Puebla, to the east by the Coastal Plain of the Gulf of Mexico, on the west by the National Park Pico de Orizaba and the National Park Cañon del Rio Blanco, and to the south by the Sierra Mazateca of Oaxaca (Figure 1).

The municipality of San Andrés Tenejapan has a population of 2715 inhabitants, highly marginalized with socioeconomic activities based on agriculture (maize, coffee, and beans) and pig production. It is located at an average altitude of 1200 m where the ecosystems are temperate deciduous forest and temperate pine forests in temperate humid climate, 21 °C mean temperature and 2106 mm average yearly precipitation (INEGI, 2010).

The population of the municipality of Tequila is indigenous of Nahuatl origin dedicated to production of maize, coffee berries, and pigs. The territory is located at altitudes from 600 m to 2700 m; 56 % of the territory has temperate subhumid climate with abundant summer rain; 32 % has cool humid climate with abundant summer rain; 12 % has a cool humid climate with rains throughout the year. Temperature varies from 14° to 22 °C and precipitation is 1400-2600 mm. Forests make up 13.4 % of the territory, secondary vegetation is 64.7 %, and 21.9 % is destined to agriculture (INEGI, 2010).



**Figure 1.** Geographic location of the Sierra de Zongolica and the sampled municipalities in Veracruz, Mexico.

The municipality Los Reyes has rough terrain where maize, beans and coffee are cultivated near native ecosystems such as tropical evergreen forest and mesophyll mountain forest (average altitude 1640 m). The climate is cold and humid, 17 °C mean temperature and 1500 mm average annual precipitation (INEGI, 2010).

The municipality of Zongolica has altitudes above 2000 m, extreme-humid temperate climate (17 °C mean temperature and 2270 mm average annual precipitation), and a diversity of vegetation types and agroecosystems (INEGI, 2010).

This study was conducted from September 2014 to May 2015. During this period, 12 trips were made onto the field; along with questionnaires applied to people dwelling in the areas; present trails were examined, and camera traps placed to monitor the species. Each simple questionnaire contained questions on knowledge and localities of *M. temama* presence was applied to randomly selected inhabitants in each municipality. The information on questionnaires was collected in interviews, and the responses were recorded in frequency tables.

In the specific areas where interviewees indicated the presence of *M. temama*, identified trails were walked 20 times; the trails were 300 m long by 1 m wide, making a total of 6 km (Mandujano, 1994) since in the field it has been observed that in this area the likelihood of registering signs of the species increases (Muñoz-Vázquez *et al.*, 2022). The trails, based on the mentions of *M. temama* presence, were set up as: six trails in primary vegetation (1.8 km), 10 in secondary vegetation (3 km) and four in the area destined to agriculture (1.2 km). The trails were plotted, georeferenced, and walked by a person at a speed of 3 km h<sup>-1</sup> at different hours and dates to record spoor (scat, footprints, resting spots, scratching posts, browsing areas, and direct observation) of *M. temama* (Figure 2).

With the dataset on the presence of *M. temama* spoor, the spoor index ( $I_r$ ) was estimated by vegetation type with the equation:  $I_r = N_r / N_t$ , where  $N_r$  is the spoor count by vegetation and  $N_t$  is the total length of the walk.  $I_r$  is considered the distribution of the population by following spoor in different types of plant cover (Carrillo *et al.*, 2000).

To estimate relative abundance of *M. temama* by vegetation type, 43 camera traps (Bushnell® Trophy Camera Brown model 119437, Stealth Cam® model STC-Q8X and Cuddeback® Black Flash model E3) were placed 1 km apart, since the species has an area of activity no more than 1 km in diameter (Gallina, 2005). Twenty camera traps were distributed in secondary vegetation, 14 in primary vegetation, and nine in the cultivation area. They were secured on trees facing gaps, in the same specific areas where the inhabitants observed *M. temama* specimens. An effective camera trapping area of 10.7 km<sup>2</sup> was estimated, which covers the extrapolated area that each camera trap monitored during the study. This area is equivalent to 25% of the total area under study (Figure 3).

With the photo captures of *M. temama* obtained with the camera traps, the index of relative abundance ( $IAR$ ) in the Sierra de Zongolica was estimated with the number of photo-captures of different individuals of the species ( $X_i$ ), divided by the total number

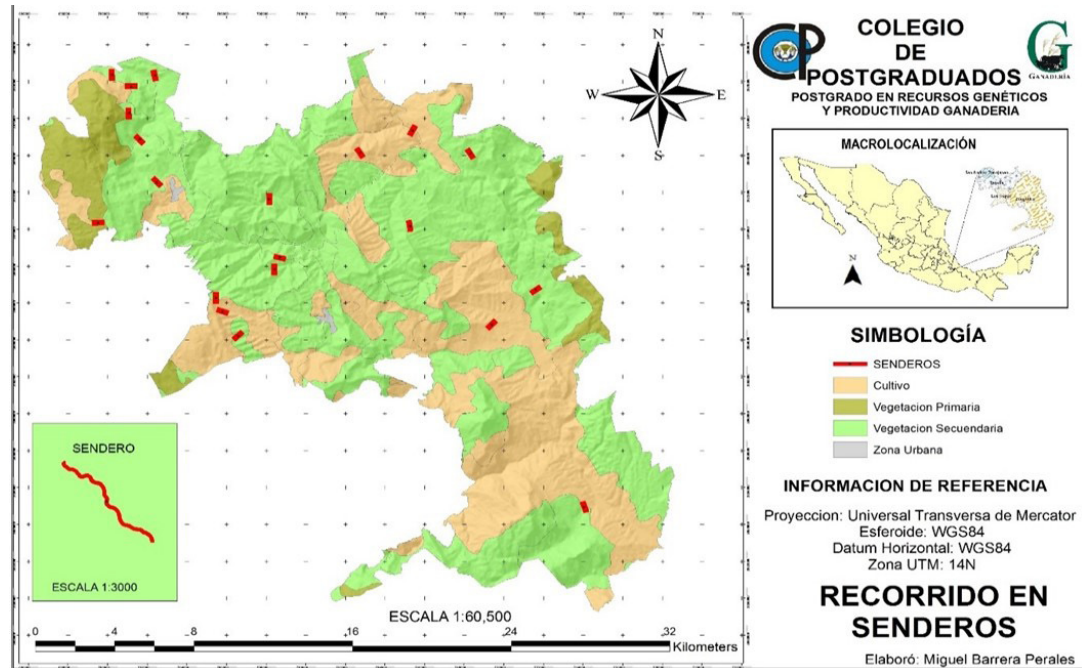


Figure 2. Trails walked to record *Mazama temama* spoor in the Sierra de Zongolica, Veracruz, México.

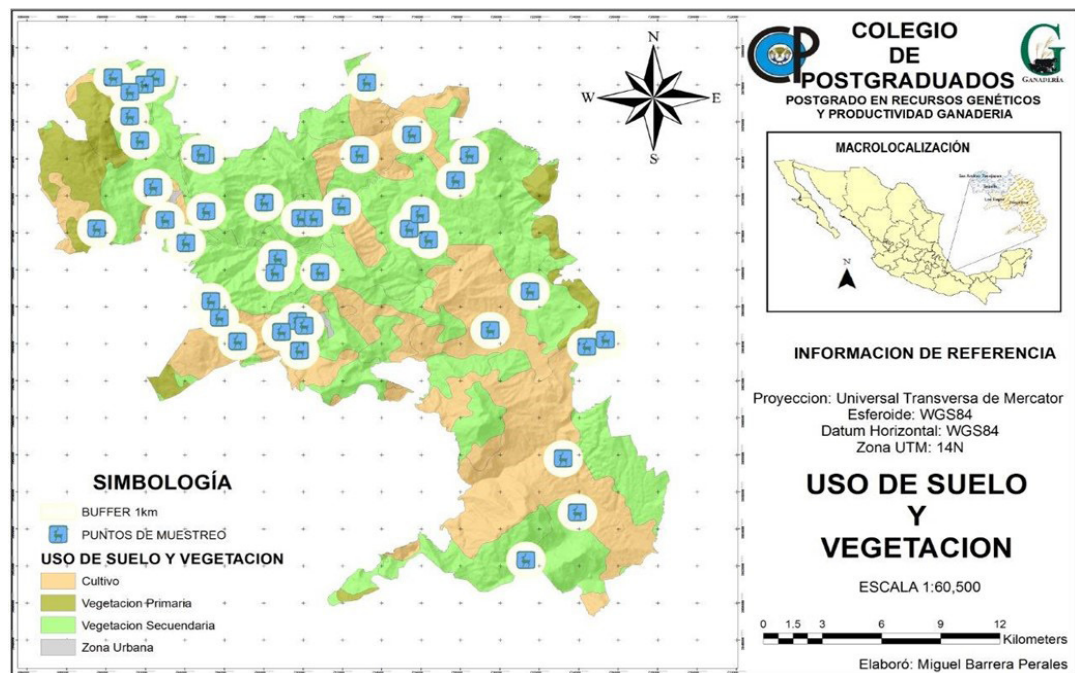


Figure 3. Sampling points (camera traps) for detection of *Mazama temama* in the Sierra de Zongolica, Veracruz, Mexico.

of photo-captures ( $Y_i$ ) and multiplied by 100 camera traps per night (Carbone *et al.*, 2001). To identify the different individuals, or an independent register of *M. temama*, each photo-capture was classified under the following criteria: photo-captures of one deer (three photographs in five seconds), b) photo-captures of one or more individuals identified by some distinctive characteristic, c) different individuals clearly distinguishable in the same photo capture, d) photo-captures of the species separated by a lapse of more than 24 h (Chávez *et al.*, 2013). The IAR evaluates spatial and temporal population dynamics and is grounded in the positive correlation between abundance and detection probability (Tobler *et al.*, 2008).

Time record in the independent photo-captures of *M. temama* was used to describe the pattern of activity for the deer; classified as nocturnal (18:00 to 5:00h), diurnal (06:00 h to 17:00 h) or crepuscular (17:00 to 18:00 h and 05:00 h to 06:00 h) (Serna-Lagunes *et al.*, 2019).

## RESULTS AND DISCUSSION

In the four municipalities of the Sierra de Zongolica, 76 questionnaires were answered by farmers; merchants of groceries, wood, and other forest products; undergraduate students; construction workers; owners of small businesses (bakery and butcher shops); and administration workers of the municipal government (technical support for agriculture, civil protection, tourism office, and Municipality Secretariat). Regarding presence of *M. temama* in the study area, 94% of the interviewees indicated they know about it, whereas 6% informed they knew nothing of presence. An 85% of the interviewees have observed specimens of *M. temama*, while 15% declared that they have only seen photographs or skins, antlers and feet made into handcrafts or as ornaments. Hunting *M. temama* was practiced by 78% of the interviewees, most for home consumption but some sell its meat (22%; Table 1).

Fifty-four spoors of *M. temama* were identified, 45 of them were tracks and nine were scats (five fresh faeces groups and four dry), the equivalent of a spoor index ( $Ir$ ) of 9 *M. temama* spoors per km. In secondary vegetation 23 signals were recorded (21 tracks and two scats), 16 in secondary vegetation (12 tracks and four scats), and 15 in the area of cultivation (12 tracks and 3 scats). However, the  $Ir$  was higher in the area of cultivation than in primary and secondary vegetation (Table 2).

**Table 1.** Responses on knowledge of *Mazama temama* presence in the Sierra de Zongolica, Veracruz, Mexico.

| Municipality | Aware | Unaware | Has seen | Has not seen | Ever hunt | Not ever hunt |
|--------------|-------|---------|----------|--------------|-----------|---------------|
| San Andrés   | 12    | 8       | 8        | 9            | 3         | 17            |
| Los Reyes    | 19    | 1       | 10       | 9            | 2         | 18            |
| Tequila      | 19    | 1       | 15       | 5            | 6         | 14            |
| Zongolica    | 16    | 4       | 14       | 5            | 7         | 13            |

**Table 2.** Spoor of *Mazama temama* recorded in trails in the Sierra de Zongolica, Veracruz, Mexico.

| Vegetation type      | Tracks | Scat | Spoor count ( $N_r$ ) | Length (km) ( $N_t$ ) | $I_r$ ( $N_r/N_t$ ) | Spoor proportion |
|----------------------|--------|------|-----------------------|-----------------------|---------------------|------------------|
| Primary vegetation   | 12     | 4    | 16                    | 1.8                   | 8.9                 | 29.7             |
| Secondary vegetation | 21     | 2    | 23                    | 3.0                   | 7.7                 | 42.5             |
| Cultivation area     | 12     | 3    | 15                    | 1.2                   | 12.5                | 27.8             |
| Total                | 45     | 9    | 54                    | 6                     | 9                   | 100              |



**Figure 4.** Photo-captures of *Mazama temama* in different places of the Sierra de Zongolica, Veracruz, Mexico. A, in Tequila; B, in San Andres Tenejapan; C, in Los Reyes; D, a young deer in Zongolica; E, scat of *Mazama temama*; F, tracks of *Mazama temama*.

During camera trapping, 1285 d were accumulated per trap, and 2812 photo-captures were obtained. Out of which 230 were independent photo-captures; that is, 71 independent photo-captures of *Mazama temama* (Figure 4) and 159 of other species, such as armadillo (*Dasypus novemcinctus*), coati (*Nasua narica*), opossum (*Didelphis marsupialis*), tepezcuintle (*Cuniculus paca*), margay (*Leopardus wiedii*), bearded wood-partridge (*Dendrortyx barbatus*), grey fox (*Urocyon cinereoargenteus*), Mexican black agouti (*Dasyprocta mexicana*) (Figure 5) and feral dogs (*Canis lupus familiaris*) (Figure 6). The IAR of *M. temama* in secondary vegetation was higher (45%) than in primary vegetation (31%) and in the area of cultivation (24%). Although a higher number



**Figure 5.** Fauna recorded by camera trapping in Sierra de Zongolica. From left to right: armadillo (*Dasypus novemcinctus*), coati (*Nasua narica*), opossum (*Didelphis marsupialis*), tepezcuintle (*Cuniculus paca*), margay (*Leopardus wiedii*), bearded wood-partridge (*Dendrortyx barbatus*), grey fox (*Urocyon cinereoargenteus*), Mexican black agouti (*Dasyprocta mexicana*) and a pair of Central American red brocket deer (*Mazama temama*).



**Figure 6.** Feral dogs in the habitat of *Mazama temama* in the Sierra de Zongolica.

of independent photo-captures of the deer was obtained in secondary vegetation. Possibly due to camera traps were in place for a larger number of days (Table 3). The pattern of activity of the males and individuals recorded in the photo-captures of *M. temama* in Sierra de Zongolica was predominately nocturnal, although a smaller proportion showed a diurnal and crepuscular pattern of activity (Table 4).

**Table 3.** Index of relative abundance (IAR) of *Mazama temama* by vegetation type in the Sierra de Zongolica, Veracruz, Mexico.

| Vegetation type | Area (%) | Number of camera traps (percentage) | Independent photo-captures | Total photo-captures | IAR | Trap-days | Photo-captures of other species |
|-----------------|----------|-------------------------------------|----------------------------|----------------------|-----|-----------|---------------------------------|
| Primary         | 7.1      | 2 (4.88)                            | 22                         | 765                  | 2.9 | 411       | 54                              |
| Crops           | 34.7     | 11 (17.07)                          | 17                         | 897                  | 1.9 | 283       | 36                              |
| Secondary       | 58.1     | 30 (78.05)                          | 32                         | 1150                 | 2.8 | 591       | 69                              |
| Total           | 100      | 41 (100)                            | 71                         | 2812                 | 2.5 | 1285      | 159                             |

**Table 4.** Pattern of activity of *Mazama temama* in the Sierra de Zongolica, Veracruz, Mexico.

| Sex   | Crepuscular | Diurnal | Nocturnal |
|---|-------------|---------|-----------|
| Male  | 4.2 %       | 25 %    | 70.8 %    |
| Not identified (female, juvenile, and possible males) | 12.7 %      | 4.3 %   | 83 %      |

This study reports the presence of *M. temama* in four municipalities of the Sierra de Zongolica in localities not reported in previous studies. This is, a condition of anisotropy (geographic space inhabited by a species within the potential area of distribution and where presence had not been reported; Zunino and Zullini, 2003). This study thus increases the number of known localities of the presence of the species (Ramírez-Bravo and Hernández-Santín, 2012). Most of the interviewees of this study indicated they were aware of *M. temama*, by direct or indirect observation. They also revealed hunting the species either for control in cultivation areas, or for home consumption or meat for sale (Salazar-Ortiz *et al.*, 2020).

The *M. temama* *Ir* and *IAR* obtained in this study represent to our knowledge, the first report on the population attributes of the species in Sierra de Zongolica. The *Ir* of *M. temama* recorded in this study was higher than the spoor index registered for *Mazama americana* in the Biosphere Reserve El Triunfo, Chiapas, Mexico (Lira-Torres and Naranjo-Piñera, 2003). However, in the Sierra de Zongolica the proportion of *M. temama* spoor was higher in the cultivation area, where habits of foraging on bean, maize, edible and other herbs, and weeds in agroecosystems has been recorded, possibly due to primary and secondary vegetation has been altered and food is scarce (Contreras-Moreno *et al.*, 2016; Muñoz-Vázquez *et al.* 2022).

In this study, the *M. temama* *IAR* was higher in primary vegetation, but this varied in relation to those reported for the species in the North-Northeast Sierra and Sierra Negra de Puebla with xerophilic scrub vegetation (3.6 to 8.3 individuals per km<sup>2</sup>; Villarreal *et al.*, 2008), and in mesophyll mountain forests (0.32 individuals per km<sup>2</sup>; Lira-Torres and Naranjo-Piñera, 2003). Variation in *M. temama* *IAR* may be due to changes in characteristics of the conservation status of the habitat; to factors related to overexploitation, or to the absence of landscape structure variables that determine deer presence (Ceballos and Oliva 2005; Contreras-Moreno *et al.*, 2016).

According to the population attributes of *M. temama* obtained in this study, the interest of the community in sustainable management of the species, and with technical assistance of institutions of education and research, land belonging to ejidos and communities can be certified as UMA for a sustainable hunting of specimens based on population studies. The potential of the species can be used in a legal, regulated, and managed under program without decimating deer populations (SEMARNAT, 2008).

On the other hand, increasing their *IAR* and maintaining *M. temama* populations require studies to establish wildlife corridors that connect the Sierra de Zongolica with the National Park Cañon del Río Blanco, considering the masses of dense forest with habitat that is favourable for *M. temama* and other associated species. In addition to a social program of community vigilance and the establishment of lands and installations for Wildlife Management (Manejo de Vida Silvestre - PIMVS) to encourage reproduction and management in captivity (SEMARNAT, 2008).

Red brocket deer, *M. temama* in the Sierra de Zongolica exhibited a daily activity pattern throughout the day (cathemeral). This reflects an increase in energy requirements, so

that they tend to forage at different daily hours (Lira-Torres y Briones-Salas, 2010; Monroy-Vilchis *et al.*, 2011). It means their activity was nocturnal (mostly), diurnal, and crepuscular. This active behaviour during different times of the day may be a measure to evade predators, since feral dogs (*Canis lupus familiaris*) appear in photo-captures in the four municipalities. This is a factor of pressure that modifies the pattern of activity and abundance and can negatively affect *M. temama* populations (Manzanero-Barrera *et al.*, 2020).

### CONCLUSIONS

This study reports a *Mazama temama* population that leaves the largest proportion of spoor in the area of cultivation. However, it had a higher index of relative abundance in primary vegetation. The population of *M. temama* showed a cathemeral daily activity pattern, although the highest number of records were during the night. This pattern may be altered by the presence of feral dogs in the habitat of the species.

The *M. temama* population in the Sierra de Zongolica can be managed by the rural communities organized in wildlife management units, but long-term monitoring covering other regions and vegetation types is required. Thus, it is necessary to increase the number of camera traps to calibrate the spatial and temporal changes in the *M. temama* index of relative abundance, as well as other parallel studies on the landscape structure determining presence.

### REFERENCES

- Bello J, Reyna R, Schipper J. 2016. *Mazama temama*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T136290A22164644. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-2.RLTS.T136290A22164644.en>
- Bello-Gutiérrez J, Reyna-Hurtado R, Wilham J. 2010. Central American red brocket deer *Mazama temama* (Kerr, 1992). In: Neotropical cervidology: biology and medicine of Latin American deer. Duarte JMB, González S. (eds.) Funep, Jaboticabal, Brasil/ IUCN, Gland. pp: 166-171. [https://www.researchgate.net/publication/270050767\\_Neotropical\\_Cervidology\\_Biology\\_and\\_Medicine\\_of\\_Latin\\_American\\_Deer](https://www.researchgate.net/publication/270050767_Neotropical_Cervidology_Biology_and_Medicine_of_Latin_American_Deer) (Retrieved: July 2021).
- Benítez-Badillo G, Hernández-Huerta A, Equihua-Zamora M, Pulido-Salas MTP, Ibáñez-Bernal S, Miranda-Martín L. 2010. Biodiversidad. In: Atlas del patrimonio natural, histórico y cultural de Veracruz. Patrimonio Natural. Gobierno del Estado de Veracruz. Benítez-Badillo G, Welsh-Rodríguez C. (eds.) Comisión del Estado de Veracruz para la Conmemoración de la Independencia Nacional y la Revolución Mexicana, Universidad Veracruzana. México, D. F. pp: 171-202. <https://cdigital.uv.mx/handle/123456789/9653> (Retrieved: July 2021).
- Carbone C, Christie S, Conforti K, Coulson T, Franklin N, Ginsberg JR, Griffiths M, Holden J, Kawanishi K, Kinnaird M. 2001. The use of photographic rates to estimate densities of tigers and other cryptic mammals. *Animal Conservation* 4: 75-79. <https://doi.org/10.1017/S1367943001001081>
- Carrillo E, Wong G, Cuarón AD. 2000. Monitoring mammal populations in Costa Rica Protected Areas under different hunting restrictions. *Conservation Biology* 14 (6): 1580-1591. <https://conbio.onlinelibrary.wiley.com/journal/15231739> (Retrieved: July 2021).
- Ceballos G, Oliva G. 2005. Los mamíferos silvestres de México. CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad) – Fondo de Cultura Económica, D. F., México. 988 p.
- Contreras-Moreno FM, Cruz-Félix KDL, Bello-Gutiérrez J, Hidalgo-Mihart MG. 2016. Variables del paisaje que determinan la presencia de los venados temazates (*Mazama* sp.) en el oeste del estado de Campeche, México. *Therya* 7 (1): 3-19. <https://doi.org/10.12933/therya-16-343>

- Chávez C, De La Torre A, Bárcenas H, Medellín RA, Zarza H, Ceballos G. 2013. Manual de fototrampeo para el estudio de fauna silvestre. El jaguar en México como estudio de caso. Alianza WWF-Telcel, Universidad Nacional Autónoma de México. México. 103 p.
- Gallina S. 2005. Temazate. *In: Los mamíferos silvestres de México*. Ceballos G, Oliva G. (eds.) CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad). Fondo de Cultura Económica, México, D. F. pp: 512-513.
- González ML, Olvera M, Velázquez V, Viacobo Y, González S, Hasbun JC, Rodríguez R, Treviño RF. 2020. Mapa interactivo de lenguas indígenas. Instituto Nacional de Antropología e Historia. México. <http://www.mapalenguasindigenas.cultura.gob.mx/> (Retrieved: July 2021).
- González-Christen A, Delfín-Alfonso CA. 2016. Los mamíferos terrestres de Veracruz, México y su protección. *In: Riqueza y conservación de los mamíferos en México a nivel estatal*. Briones-Salas M, Hortelano-Moncada Y, Magaña-Cota G, Sánchez-Rojas G, Sosa-Escalante JE. (eds.) Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Asociación Mexicana de Mastozoología, Universidad de Guanajuato. Ciudad de México, México. pp: 499-534. [https://www.researchgate.net/publication/312538186\\_Los\\_mamiferos\\_terrestres\\_de\\_Veracruz\\_Mexico\\_y\\_su\\_proteccion](https://www.researchgate.net/publication/312538186_Los_mamiferos_terrestres_de_Veracruz_Mexico_y_su_proteccion) (Retrieved: June 2021).
- INEGI (Instituto Nacional de Geografía y Estadística). 2010. Marco Geoestadístico Municipal 2010, versión 4.2. Unidad de Microrregiones. Dirección General Adjunta de Planeación Microrregional. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. México. <https://www.inegi.org.mx/temas/mg/> (Retrieved: May 2021).
- Lira-Torres I, Naranjo-Piñera EJ. 2003. Abundancia, preferencia de hábitat e impacto del ecoturismo sobre el puma y dos de sus presas en la Reserva de la Biósfera El Triunfo, Chiapas, México. *Revista Mexicana de Mastozoología* 7: 20-39. <https://doi.org/10.22201/ie.20074484e.2003.7.1.178>
- Lira-Torres I, Briones-Salas M. 2012. Abundancia relativa y patrones de actividad de los mamíferos de los Chimalapas, Oaxaca, México. *Acta Zoológica Mexicana* 28 (3): 566-585. <https://doi.org/10.21829/azm.2012.283859>
- Macario CD, Salazar-Ortiz J, Pérez-Sato JA, Llarena-Hernández RC, Alavéz-Martínez NM, Serna-Lagunes R. 2019. Riqueza y abundancia de mamíferos en un ambiente antropizado en Zongolica, Veracruz. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 6 (18): 411-422. <https://doi.org/10.19136/era.a6n18.2083>
- Manzanero-Barrera G, Vargas-Jiménez IG, Flores-Manzanero A. 2020. New records of red brocket deer (*Mazama temama*) in cloud forests in northeastern Hidalgo, México. *Therya Notes* 1: 43-49. [https://doi.org/10.12933/therya\\_notes-20-11](https://doi.org/10.12933/therya_notes-20-11)
- Mandujano S. 1994. Conceptos generales del método de conteo de animales en transectos. *Ciencia* 45: 203-211.
- Monroy-Vilchis O, Zarco-González M, Rodríguez-Soto C, Soria-Díaz L, Urios V. 2011. Fototrampeo de mamíferos en la Sierra Nanchititla, México. *Revista de Biología Tropical* 59: 373-383. <https://doi.org/10.15517/rbt.v59i1.3206>
- Muñoz-Vázquez B, Gallina-Tessaro S. 2016. Influencia de la fragmentación del hábitat en la abundancia de *Mazama temama* a diferentes escalas en un bosque mesófilo de montaña. *Therya* 7 (1): 77-87. <https://doi.org/10.12933/therya-16-338>
- Muñoz-Vázquez B, Gallina-Tessaro S, León-Paniagua L. 2022. Characteristics of Central American brocket deer resting sites in a tropical mountain cloud forest in eastern Mexico. *PeerJ* 10: e12587 <https://doi.org/10.7717/peerj.12587>
- Pérez-Solano LA, Mandujano S. 2013. Distribution and loss of potential habitat of the Central American red brocket deer (*Mazama temama*) in the Sierra Madre Oriental, Mexico. *Deer Specialist Group News* 25: 11-17. [https://www.researchgate.net/publication/264310762\\_Distribution\\_and\\_loss\\_of\\_potential\\_habitat\\_of\\_the\\_Central\\_American\\_red\\_brocket\\_deer\\_Mazama\\_temama\\_in\\_the\\_Sierra\\_Madre\\_Oriental\\_Mexico](https://www.researchgate.net/publication/264310762_Distribution_and_loss_of_potential_habitat_of_the_Central_American_red_brocket_deer_Mazama_temama_in_the_Sierra_Madre_Oriental_Mexico) (Retrieved: July 2021).
- Ramírez-Bravo OE, Hernández-Santín L. 2012. Nuevos registros del temazate rojo (Mammalia: Artiodactyla: Cervidae: *Mazama temama*) en el estado de Puebla, México. *Acta Zoológica Mexicana* 28 (2): 487-490. <https://doi.org/10.21829/azm.2012.282852>
- Salazar-Ortiz J, Barrera-Perales M, Ramírez-Ramírez G, Serna-Lagunes R. 2020. Diversidad de mamíferos del municipio de Tequila, Veracruz, México. *Revista Abanico Veterinario* 10: 1-18. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2020.30>
- SEMARNAT (Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2008. Plan de manejo tipo de venado temazate. Dirección General de Vida Silvestre. SEMARNAT. México.

- SEMARNAT (Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2010. Protección ambiental, especies de flora y fauna silvestres de México, categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio, y lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación, 30 de diciembre de 2010. México. [https://dof.gob.mx/nota\\_detalle\\_popup.php?codigo=5173091](https://dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5173091) (Retrieved: June 2021).
- Serna-Lagunes R, López-Mata L, Cervantes-Serna LJ, Gallegos-Sánchez J, Cortez-Romero C, Zalazar-Marcial E, Salazar-Ortiz J. 2014. Nicho ecológico de *Mazama temama* en el centro de Veracruz, México: implicaciones para su manejo. *Agroproductividad* 7: 51-57. <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/555> (Retrieved: May 2021).
- Serna-Lagunes R, Álvarez-Oseguera LR, Ávila-Nájera DM, Leyva-Ovalle OR, Andrés-Meza P, Tigar B. 2019. Temporal overlap in the activity of *Lynx rufus* and *Canis latrans* and their potential prey in the Pico de Orizaba National Park, Mexico. *Animal Biodiversity and Conservation* 42.1: 153-161. <https://doi.org/10.32800/abc.2019.42.0153>
- Serna-Lagunes R, Romero-Ramos DK, Delfín-Alfonso CA, Salazar-Ortiz J. 2021. Phylogeography of the Central American red brocket, *Mazama temama* (Ariodactyla, Cervidae) in southeastern Mexico. *Neotropical Biology and Conservation* 16 (2): 369-382. <https://doi.org/10.3897/neotropical.16.e58110>
- Tobler MW, Carrillo-Percastegui SE, Leite-Pitman R, Mares R, Powell G. 2008. An evaluation of camera traps for inventorying large-and medium sized terrestrial rainforest mammals. *Animal Conservation* 11: 169-178. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1795.2008.00169.x>
- Villarreal O, Thummler H, Hernández J, Franco FJ, Campos LR, Reséndiz R. 2008. Premio Thummler: El Súper Slam de los Venados de México. *In: Conservación y manejo de fauna cinegética de México*. Villarreal O, Franco FJ, Hernández J, Romero S. (eds.) Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Fundación PRODUCE Puebla A. C., Mazamitli, A. C. pp: 31-48.
- Villarreal-Espino-Barros OA, Mendoza-Martínez GD, Guevara-Viera R, Hernández-Hernández JE, Franco-Guerra FJ, Camacho-Ronquillo JC, Arcos-García JL. 2014. Distribución regional del venado temazate rojo (*Mazama temama*) en el Estado de Puebla, México. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 20 (2): 251-260. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2013.12.046>
- Villarreal-Espino-Barros OA, Sánchez-López N, Reséndiz-Martínez R, Jiménez-Cortez H. 2019. El venado temazate rojo (*Mazama temama*) en el Totonocapán montañoso del estado de Puebla. *In: Estudios sobre la fauna silvestre de México y las interacciones humano-animal*. Perezgrovas-Garza RA, Sedano-Quirarte EJ. (eds.) Red Mexicana sobre Conservación y Utilización de los Recursos Zoogenéticos A. C., Universidad Autónoma de Chiapas. México.
- Villarreal-Espino BOA, Franco-Guerra FJ, Romero-Castañón S, Camacho-Ronquillo JC, Martínez-Arguelles AdC. 2017. Distribución y densidad poblacional del venado temazate rojo (*Mazama temama*; Mammalia: Cervidae) en la Sierra Negra, Puebla, México. *Revista Biológico Agropecuaria Tuxpan* 5 (1): 43-49. <https://doi.org/10.47808/revistabioagro.v5i1.91>
- Zunino M, Zullini A. 2003. Biogeografía: la dimensión espacial de la evolución. Fondo de Cultura Económica. México, D. F.

## ATRIBUTOS POBLACIONALES DEL VENADO TEMAZATE ROJO (*Mazama temama*) EN LA SIERRA DE ZONGOLICA, VERACRUZ, MÉXICO

Juan Salazar-Ortiz<sup>1</sup>, Miguel Barrera-Perales<sup>2</sup>, María Guadalupe Bravo-Vinaja<sup>3</sup>, Ricardo Serna-Lagunes<sup>4\*</sup>, Carlos de Jesús Ocaña-Parada<sup>5</sup>, Fernando Isaac Gastelum-Mendoza<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Carretera Federal Córdoba-Veracruz km 348, Manuel León, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. C. P. 94946.

<sup>2</sup> Departamento del Sector Pesquero. DGIRA-SEDEMA. Av. Ejército Nacional 223, Col. Anáhuac I Sección, Miguel Hidalgo, Ciudad de México, México. C. P. 11320.

<sup>3</sup> Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56230.

<sup>4</sup> Universidad Veracruzana. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias Córdoba-Orizaba. Calle Josefa Ortiz de Domínguez s/n, Peñuela. Amatlán de Los Reyes, Veracruz, México. C. P. 94945.

<sup>5</sup> Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Sede Motozintla. Prol. de la 2a. Calle Poniente No. 2285 Calle Real, Barrio Rivera Hidalgo, Motozintla, Chiapas, México. C. P. 30900.

<sup>6</sup> Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Forestales, Carretera Nacional 85 km 145, Linares, Nuevo León, México. C. P. 67700.

\* Autor para correspondencia: rserna@uv.mx

### RESUMEN

La Sierra de Zongolica es una región biogeográfica con ecosistemas y especies de afinidad neártica y neotropical en el estado de Veracruz, México. Sin embargo, en ésta no se han realizado estudios poblacionales del venado temazate rojo (*Mazama temama* Erxleben 1777), los cuales son básicos para proponer acciones de manejo sustentable de la especie y del hábitat por comunidades rurales. El objetivo del estudio fue describir los atributos poblacionales de *M. temama* (distribución, abundancia poblacional y patrones de actividad) en la Sierra de Zongolica mediante entrevistas, rastros y fototrampeo, durante septiembre de 2014 a mayo de 2015. Para conocer las localidades con presencia del venado, se entrevistaron a 76 pobladores de cuatro municipios de la Sierra de Zongolica. En las localidades descritas con presencia, se recorrieron 20 senderos de 300 m de longitud por 1 m de ancho: seis senderos se recorrieron en vegetación primaria (1.8 km), 10 en vegetación secundaria (3 km) y cuatro en la zona de cultivos (1.2 km), donde se registraron 54 rastros (45 huellas y nueve grupos de excretas), equivalente a nueve rastros de venado por km. La distribución poblacional de *M. temama* fue superior en la zona de cultivos, con respecto a la vegetación primaria y secundaria. En las 43 estaciones de fototrampeo se obtuvieron 71 fotocapturas independientes de *M. temama*, de los cuales, 79% fueron entre las 18:00 y las 05:00 h, lo que corresponde a un patrón de actividad crepuscular y nocturno. Esta especie presentó un índice de abundancia relativa de 2.5 temazates por km<sup>2</sup> en la Sierra de Zongolica, lo que sugiere una población susceptible de manejo bajo el sistema de Unidades de Manejo para la Conservación y Aprovechamiento Sustentable de Vida Silvestre.

**Palabras clave:** Cervidae, distribución poblacional, transectos, índice de rastros, fototampas, abundancia.

**Citation:** Salazar-Ortiz J, Barrera-Perales M, Bravo-Vinaja MG, Serna-Lagunes R, Ocaña-Parada CJ, Gastelum-Mendoza FI. 2022. Atributos poblacionales del venado Temazate rojo (*Mazama temama*) en la Sierra de Zongolica, Veracruz, México. *Agrociencia*. 56(3): 492-517. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i3.2805>

**Editor in Chief:**  
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: July 31, 2021.  
Approved: February 16, 2022.  
**Published in Agrociencia:**  
June 06, 2022.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International license.



## INTRODUCCIÓN

El venado temazate rojo (*Mazama temama* Erxleben 1777; Mammalia: Cervidae) se considera una especie indicadora del estado de conservación del ecosistema, ya que su presencia y comportamiento puede modificarse por la presión de las actividades antropogénicas (Muñoz-Vázquez y Gallina-Tessaro, 2016). Esta especie equilibra la dinámica ecológica de la vegetación, su presencia puede indicar la existencia de felinos de talla grande, y su abundancia determina la calidad del hábitat (Villarreal-Espino-Barros *et al.*, 2019). Sin embargo, debido a la pérdida de su hábitat (Pérez-Solano y Mandujano, 2013), a la presión de la cacería clandestina (Salazar-Ortiz *et al.*, 2020) y su bajo flujo genético debido al aislamiento geográfico (Serna-Lagunes *et al.*, 2021), esta especie enfrenta problemas para mantenerse y sobrevivir.

Las poblaciones de *M. temama* se encuentran decreciendo a lo largo de su distribución geográfica, además de que se carece de datos poblacionales y ecológicos para clasificar su estatus en las categorías de riesgo de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (Bello *et al.*, 2016). En México, tampoco se ha determinado el estatus de riesgo de extinción de *M. temama* con el método de evaluación de riesgo poblacional (SEMARNAT, 2010), por lo que la conservación y aprovechamiento sustentable de esta especie depende de la disponibilidad de la información sobre sus atributos poblacionales (Villareal-Espino *et al.*, 2017), así como del conocimiento sobre su biología, patrón de actividad, tamaño corporal, necesidades territoriales, preferencias de hábitat, arreglo espacial y distribución potencial de la población (Bello-Gutiérrez *et al.*, 2010; Serna-Lagunes *et al.*, 2014).

La Sierra de Zongolica, Veracruz, México representa un escenario biogeográfico interesante, porque convergen especies de afinidad ecológica a las regiones zoogeográficas neártica y neotropical, pero es una de las sierras menos exploradas y con escaso conocimiento científico sobre los mamíferos silvestres que habitan sus ecosistemas (González-Christen y Delfín-Alfonso, 2016), y como ocurre en otras regiones ecológicas de México donde se distribuye *M. temama*, el desconocimiento acerca de sus atributos poblacionales, la falta de estudios ecológicos y la calibración de los efectos de su sobreexplotación a nivel regional, limita la toma de decisiones en la conservación y aprovechamiento sustentable de la especie por las comunidades rurales (Villarreal-Espino-Barro *et al.*, 2014).

En la Sierra de Zongolica, *M. temama* se distribuye en zonas con actividades antropogénicas que vulneran sus poblaciones y su hábitat, pero existe interés por las comunidades rurales para su manejo a través del esquema de las Unidades de Manejo para la Conservación y Aprovechamiento Sustentable de Vida Silvestre (UMA) (Macario *et al.*, 2019; Salazar-Ortiz *et al.*, 2020). Por ello, el objetivo del presente estudio fue describir los atributos poblacionales (distribución, abundancia poblacional y patrones de actividad) de *M. temama* en la Sierra de Zongolica, Veracruz, México, ya que es necesario fomentar su conservación, manejo sustentable y restauración del hábitat mediante la participación comunitaria y las UMA (Benítez-Badillo *et al.*, 2010).

## MATERIALES Y MÉTODOS

El área de estudio incluyó los municipios de San Andrés Tenejapan, Tequila, Los Reyes y Zongolica pertenecientes a la Sierra de Zongolica, Veracruz, México, la cual agrupa 14 municipios (12 con población indígena de origen náhuatl), con altitudes de 620 a 2200 m. Colinda al norte con la Sierra Negra de Puebla, al este con la Llanura Costera del Golfo de México, al oeste con el Parque Nacional Pico de Orizaba y el Parque Nacional Cañón del Río Blanco, y al sur con la Sierra Mazateca de Oaxaca (Figura 1). El municipio de San Andrés Tenejapan cuenta con una población de 2715 personas con alto grado de marginación, con actividades socioeconómicas basadas en la agricultura (maíz, café y frijol) y producción porcina, cuenta con altitud promedio de 1200 m donde se desarrollan ecosistemas como el bosque templado caducifolio y el bosque templado de pináceas en un clima templado húmedo (21 °C de temperatura y 2106 mm de precipitación promedio anual) (INEGI, 2010).

El municipio de Tequila cuenta con una población indígena de origen náhuatl dedicada a la producción de maíz, café cereza y porcicultura. El territorio presenta una altitud de 600 y 2700 m, con un clima templado subhúmedo con abundantes lluvias en verano (56% del territorio), semicálido húmedo con abundantes lluvias en verano (32% del territorio) y semicálido húmedo con lluvias todo el año (12% del territorio). La temperatura varía de 14-22 °C y 1,400-2,600 mm de precipitación donde se desarrolla el bosque (13.4% del territorio), vegetación secundaria (64.7% del territorio) y la agricultura (21.9% del territorio) (INEGI, 2010).

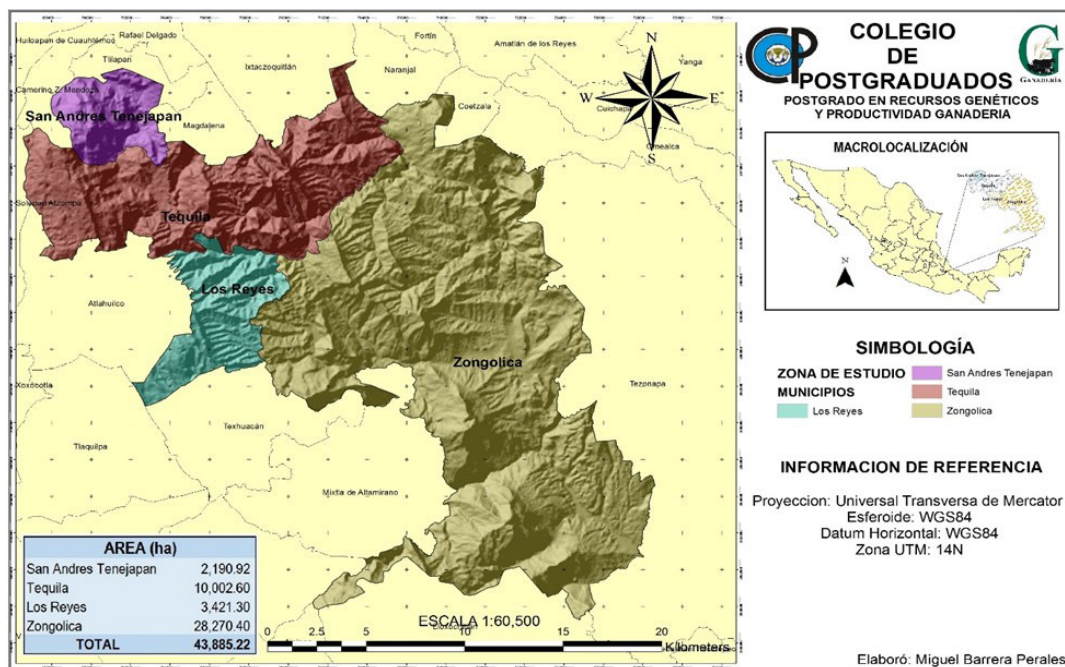


Figura 1. Ubicación geográfica de la Sierra de Zongolica y municipios muestreados en Veracruz, México.

El municipio Los Reyes cuenta con territorios abruptos donde se cultiva maíz, frijol y café cercanos a ecosistemas nativos como el bosque tropical perennifolio y bosque mesófilo de montaña (altitud promedio de 1640 m), con clima frío-húmedo (17°C y 1500 mm de temperatura y precipitación promedio anual, respectivamente) (INEGI, 2010).

El municipio de Zongolica presenta altitudes superiores a 2000 m, un clima templado-húmedo-extremoso (17 °C de temperatura y 2270 mm de precipitación promedio anual), y una diversidad de tipos de vegetación y de agroecosistemas (INEGI, 2010).

El presente estudio se desarrolló de septiembre de 2014 a mayo de 2015, periodo durante el cual se realizaron 12 visitas de campo, en ellas simultáneamente se aplicaron los cuestionarios, se realizaron recorridos por los senderos y se colocaron las fototruampas para el monitoreo. Un cuestionario simple que contenía preguntas sobre el conocimiento y las localidades de presencia de *M. temama* se aplicó aleatoriamente a pobladores seleccionados arbitrariamente en cada municipio. La información se recabó en un formato tipo entrevista y las respuestas se representaron en tablas de frecuencias. En las áreas específicas donde los pobladores que a través de las entrevistas indicaron la presencia de *M. temama*, se realizaron 20 recorridos en senderos con una distancia de 300 m de longitud por 1 m de ancho cada uno, haciendo un total de 6 km de longitud (Mandujano, 1994), ya que en campo se observa que en esta área se incrementa la probabilidad de registro de rastros de la especie (Muñoz-Vázquez *et al.*, 2022).

Los senderos, con base en las menciones de presencia de *M. temama*, se establecieron de la siguiente manera: seis senderos en la vegetación primaria (1.8 km), 10 en la vegetación secundaria (3 km) y cuatro en la zona de cultivos (1.2 km), los cuales fueron trazados, georreferenciados y recorridos por una persona a una velocidad de 3 km h<sup>-1</sup> en diferentes horarios y fechas, con el objetivo de registrar rastros (excretas, huellas, echaderos, rascaderos, ramoneos y presencia directa) de *M. temama* (Figura 2).

Con el conjunto de datos de presencia de rastros de *M. temama*, se estimó el índice de rastros (*Ir*) por tipo de vegetación con la ecuación:  $Ir = Nr/Nt$ , donde, *Nr* es el número de rastros por vegetación y *Nt* es la longitud total recorrida; el *Ir* se considera como la distribución de la población por medio del seguimiento de sus rastros en diferentes tipos de cobertura (Carrillo *et al.*, 2000).

Para estimar la abundancia relativa de *M. temama* por tipo de vegetación, se colocaron 43 fototruampas (Bushnell® Trophy Camera Brown modelo 119437, Stealth Cam® modelo STC-Q8X y Cuddeback® Black Flash modelo E3), distanciadas a 1 km entre sí, dado que la especie tiene un área de actividad no mayor a 1 km de diámetro (Gallina, 2005). Se distribuyeron 20 fototruampas en vegetación secundaria, 14 en vegetación primaria y nueve en zona de cultivos, sujetadas sobre árboles frente a espacios libres de vegetación, en las mismas áreas específicas donde los pobladores observaron ejemplares de *M. temama*. Se estimó un área efectiva del fototruampeo de 10.7 km<sup>2</sup>, esta área abarca la superficie extrapolada que cada estación de fototruampeo monitorea durante el estudio, superficie que equivale al 25% del área total de la superficie bajo estudio (Figura 3).

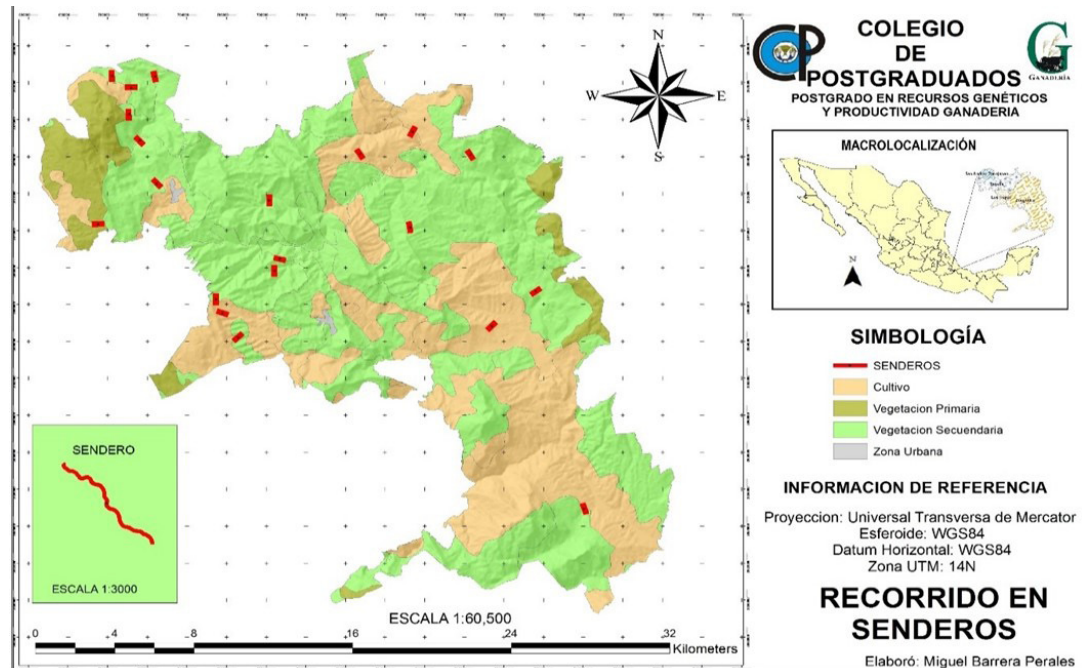


Figura 2. Senderos para el registro de rastros de *Mazama temama* en la Sierra de Zongolica, Veracruz, México.

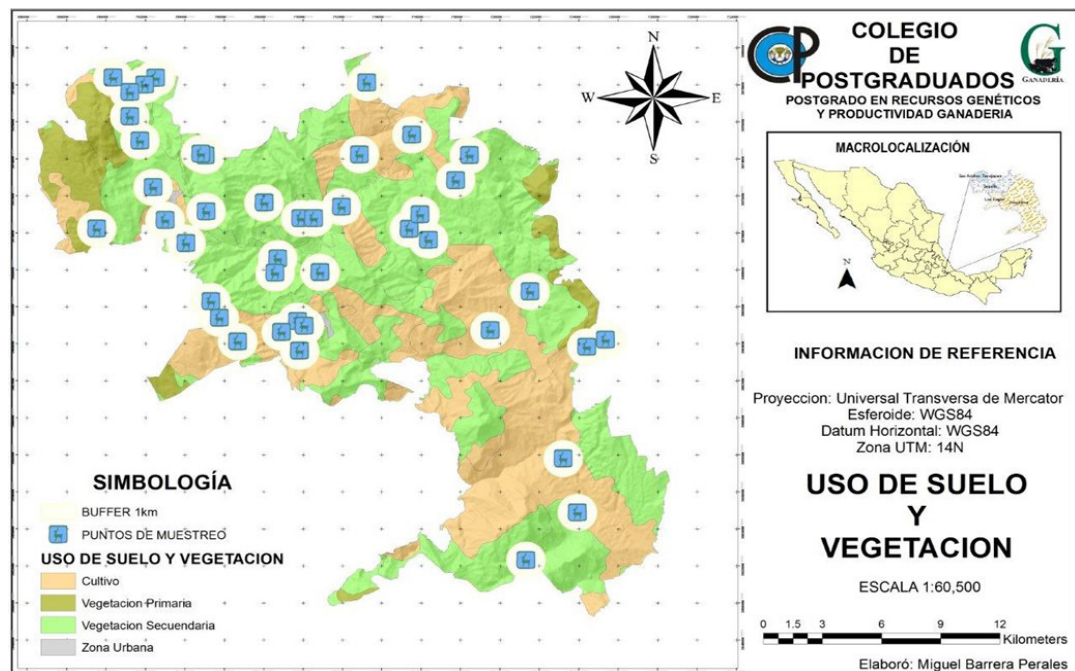


Figura 3. Puntos de muestreo (fototrapas) de *Mazama temama* en la Sierra de Zongolica, Veracruz, México.

Con las fotocapturas de *M. temama* obtenidas en el fototrampeo de La Sierra de Zongolica, se estimó el índice de abundancia relativa (*IAR*), con el número de fotocapturas de individuos diferentes de la especie (*Xi*), dividido entre el número total de fotocapturas (*Yi*) y multiplicado por 100 trampas por noche (Carbone *et al.*, 2001). Para identificar los individuos diferentes o un registro independiente de *M. temama*, cada fotocaptura fue clasificada bajo los siguientes criterios: a) fotocapturas de un venado (tres fotografías por cinco segundos), b) fotocapturas de uno o más individuos identificados por alguna característica distintiva, c) diferentes individuos plenamente distinguibles en la misma fotocaptura y d) fotocapturas de la especie separadas por un lapso mayor a 24 h (Chávez *et al.*, 2013). El *IAR* evalúa la dinámica poblacional espacial y temporal y está fundamentado en la correlación positiva entre la abundancia y la probabilidad de detección (Tobler *et al.*, 2008).

Los horarios impresos en las fotocapturas independientes de *M. temama* se utilizaron para describir su patrón de actividad, clasificándose en nocturno (18:00 a 5:00 h), diurno (06:00 h a 17:00 h) y crepuscular (17:00 a 18:00 h y 05:00 h a 06:00 h) (Serna-Lagunes *et al.*, 2019).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los cuatro municipios de la Sierra de Zongolica se aplicaron 76 cuestionarios a productores agrícolas, comerciantes de abarrotes, madera y productos silvícolas, estudiantes de licenciatura, empleados de la construcción, dueños de negocios (panadería y carnicería) y administrativos del ayuntamiento municipal (fomento agropecuario, protección civil, oficina de turismo y secretario municipal). El 94 % de los entrevistados indicaron la presencia de *M. temama* en el área de estudio, mientras que el 6 % no saben sobre su presencia. El 85 % de los entrevistados ha observado ejemplares de *M. temama*, mientras que el 15 % de los entrevistados manifestó conocerlo por fotografías o han visto piel, astas y patas como artesanía u ornato. El 78 % de los entrevistados indicaron la práctica de la cacería de *M. temama* para autoconsumo, aunque algunos cazadores venden su carne (22 %; Cuadro 1).

Se identificaron 54 rastros de *M. temama*, 45 de ellos correspondieron a huellas y nueve a grupos fecales de excretas (cinco grupos fecales frescos y cuatro secos), lo que equivale a un *Ir* de 9 rastros de *M. temama* por km. En la vegetación secundaria se registraron 23 rastros (21 huellas y dos excretas), en vegetación primaria 16 (12 huellas

**Cuadro 1.** Respuestas sobre el conocimiento y presencia de *Mazama temama* en la Sierra de Zongolica, Veracruz, México.

| Municipio  | Lo conoce | No lo conoce | Lo ha visto | No lo ha visto | Lo cazan | No lo cazan |
|------------|-----------|--------------|-------------|----------------|----------|-------------|
| San Andrés | 12        | 8            | 8           | 9              | 3        | 17          |
| Los Reyes  | 19        | 1            | 10          | 9              | 2        | 18          |
| Tequila    | 19        | 1            | 15          | 5              | 6        | 14          |
| Zongolica  | 16        | 4            | 14          | 5              | 7        | 13          |

y cuatro excretas) y en la zona de cultivo 15 rastros (12 huellas y 3 excretas), sin embargo, el *Ir* fue superior en la zona de cultivo con respecto a la vegetación primaria y secundaria (Cuadro 2).

Durante el fototrampeo se acumularon 1285 días por trampa y 2812 fotocapturas. De estas, únicamente 230 fueron fotocapturas independientes, es decir, 71 fotocapturas independientes de *Mazama temama* (Figura 4) y 159 de otras especies como armadillo (*Dasypus novemcinctus*), coatí (*Nasua narica*), tlacuache (*Didelphis marsupialis*), tepezcuintle (*Cuniculus paca*), tigrillo (*Leopardus wiedii*), codorniz coluda veracruzana (*Dendrortyx barbatus*), zorro gris (*Urocyon cinereoargenteus*), serete (*Dasyprocta mexicana*) (Figura 5) y perros ferales (*Canis lupus familiaris*) (Figura 6).

El IAR de *M. temama* que se registró en la vegetación secundaria fue mayor (45%) que en la vegetación primaria (31%) y en la zona de cultivo (24%), aunque se obtuvo un mayor número de fotocapturas independientes del venado en la vegetación secundaria, esto posiblemente porque las fototampas estuvieron un mayor número de días (Cuadro 3).

El patrón de actividad que presentaron los machos e individuos registrados en las fotocapturas de *M. temama* en la Sierra de Zongolica fue predominante nocturno, aunque en menor proporción mostraron un patrón de actividad diurno y crepuscular (Cuadro 4).

Este estudio reporta la presencia *M. temama* en cuatro municipios de la Sierra de Zongolica, en localidades no reportadas en estudios anteriores, lo que representa una condición de anisotropía (espacio geográfico donde una especie habita dentro del área de distribución potencial y donde su presencia no ha sido reportada; Zunino y Zullini, 2003), por lo que con este estudio se aumenta el número de localidades conocidas de esta especie (Ramírez-Bravo y Hernández-Santín, 2012). La mayor proporción de los entrevistados en este estudio indicaron conocer a *M. temama*, ya sea por su observación directa o indirecta, además evidenciaron la práctica de la cacería sobre la especie, ya sea para su control en zonas de cultivos, o por ser una especie para autoconsumo o para la comercialización de su carne (Salazar-Ortiz *et al.*, 2020).

El *Ir* y el IAR de *M. temama* obtenidos en este estudio representan el primer reporte sobre los atributos poblacionales de la especie en la Sierra de Zongolica. El *Ir* de *M. temama* registrado en este estudio fue superior al índice de rastros registrado para *Mazama americana* en la Reserva de la Biosfera El Triunfo, Chiapas, México (Lira-Torres y

**Cuadro 2.** Rastros de *Mazama temama* registrados en senderos en la Sierra de Zongolica Veracruz, México.

| Tipo de vegetación    | Huellas | Excretas | No de rastros<br>(Nr) | Longitud (km)<br>(Nf) | <i>Ir</i><br>(Nr/Nf) | Proporción de<br>rastros |
|-----------------------|---------|----------|-----------------------|-----------------------|----------------------|--------------------------|
| Vegetación primaria   | 12      | 4        | 16                    | 1.8                   | 8.9                  | 29.7                     |
| Vegetación secundaria | 21      | 2        | 23                    | 3.0                   | 7.7                  | 42.5                     |
| Zona de cultivo       | 12      | 3        | 15                    | 1.2                   | 12.5                 | 27.8                     |
| Total                 | 45      | 9        | 54                    | 6                     | 9                    | 100                      |



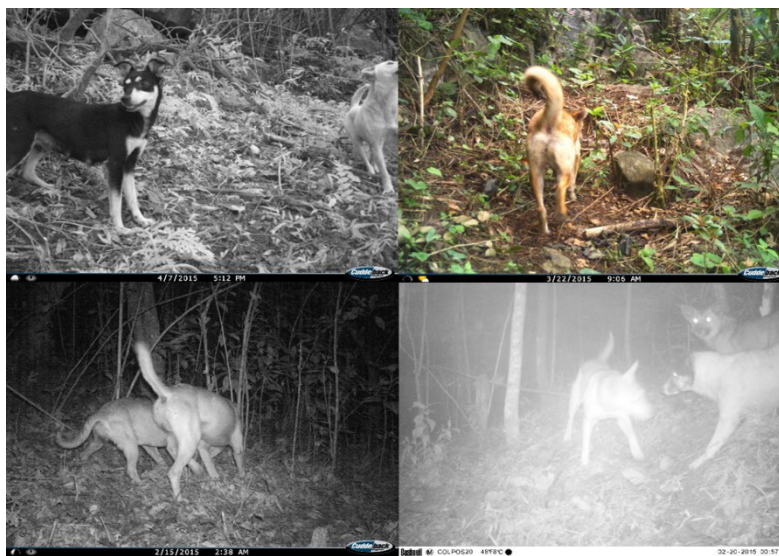
**Figura 4.** Capturas fotográficas de *Mazama temama* en diferentes sitios de la Sierra de Zongolica, Veracruz, México. A, en Tequila; B, en San Andrés Tenejapan; C, en Los Reyes; D, un venado joven en Zongolica; E, excretas de *Mazama temama*; F, huellas de *Mazama temama*.

Naranjo-Piñera, 2003), sin embargo, la proporción en la distribución de rastros de *M. temama* fue superior en la zona de cultivos, donde se ha registrado hábitos de forrajeo en plantas de frijol, maíz, quelites y otras herbáceas y malezas que se desarrollan en los agroecosistemas, ya que es posible que la vegetación primaria y secundaria esté alterada y el alimento sea escaso (Contreras-Moreno *et al.*, 2016; Muñoz-Vázquez *et al.* 2022).



**Figura 5.** Fauna registrada durante el fototrampeo en la Sierra de Zongolica. De izquierda a derecha: armadillo (*Dasypus novemcinctus*), coatí (*Nasua narica*), tlacuache (*Didelphis marsupialis*), tepezcuintle (*Cuniculus paca*), tigrillo (*Leopardus wiedii*), codorniz coluda veracruzana (*Dendrortyx barbatus*), zorro gris (*Urocyon cinereoargenteus*), serete (*Dasiprocta mexicana*) y pareja de venados temazate rojo (*Mazama temama*).

En este estudio, el IAR de *M. temama* fue superior en la vegetación primaria, pero éste varió respecto a los reportados para la especie en la Sierra Norte-Nororiental y Sierra Negra de Puebla con vegetación tipo matorral xerófilo (3.6 a 8.3 individuos por km<sup>2</sup>; Villarreal *et al.*, 2008) y en bosques mesófilos de montaña (0.32 individuos por km<sup>2</sup>; Lira-Torres y Naranjo-Piñera, 2003). La variación en el IAR de *M. temama* puede deberse a cambios en las características del estado de conservación del hábitat, a factores relacionados con su sobreexplotación y a la ausencia de variables de la estructura del paisaje que determinan su presencia (Ceballos y Oliva 2005; Contreras-Moreno *et al.*, 2016).



**Figura 6.** Perros ferales en el hábitat de *Mazama temama* en la Sierra de Zongolica.

De acuerdo con los atributos poblacionales de *M. temama* obtenidos en este estudio, el interés de la comunidad para el manejo sustentable de la especie y con la asesoría de instituciones de educación e investigación, se pueden certificar predios de ejidos y comunidades como UMA para una cosecha sustentable de ejemplares, fundamentado

**Cuadro 3.** Índice de abundancia relativa (*IAR*) de *Mazama temama* por tipo de vegetación en la Sierra de Zongolica, Veracruz, México.

| Tipo de vegetación | Área (%) | Número de fototruampas (porcentaje) | Fotocapturas dependientes | Total de fotocapturas | <i>IAR</i> | Días-trampa | Fotocapturas de otras especies |
|--------------------|----------|-------------------------------------|---------------------------|-----------------------|------------|-------------|--------------------------------|
| Primaria           | 7.1      | 2 (4.88)                            | 22                        | 765                   | 2.9        | 411         | 54                             |
| Cultivo            | 34.7     | 11 (17.07)                          | 17                        | 897                   | 1.9        | 283         | 36                             |
| Secundaria         | 58.1     | 30 (78.05)                          | 32                        | 1150                  | 2.8        | 591         | 69                             |
| Total              | 100      | 41 (100)                            | 71                        | 2812                  | 2.5        | 1285        | 159                            |

**Cuadro 4.** Patrón de actividad de *Mazama temama* en la Sierra de Zongolica, Veracruz, México.

| Sexo   | Crepuscular | Diurno | Nocturno |
|--|-------------|--------|----------|
| Macho  | 4.2 %       | 25 %   | 70.8 %   |
| Sin identificar (hembras, juveniles y posibles machos) | 12.7 %      | 4.3 %  | 83 %     |

en estudios poblacionales, que de manera legalizada, controlada y programada, se pueda aprovechar el potencial cinético de la especie sin diezmar sus poblaciones (SEMARNAT, 2008).

Por otro lado, para aumentar el IAR y el mantenimiento de poblaciones de *M. temama*, se deben hacer estudios para establecer corredores biológicos que conecten la Sierra de Zongolica con el Parque Nacional Cañón del Río Blanco, considerando las masas de bosques densas con hábitat favorable para *M. temama* y otras especies asociadas con el hábitat, aunado a un programa de vigilancia socio-comunitaria y el establecimiento de predios e instalaciones para el Manejo de Vida Silvestre (PIMVS) para fomentar su reproducción y manejo en cautiverio (SEMARNAT, 2008).

El temazate rojo *M. temama* en la Sierra de Zongolica mostró un patrón de actividad durante todo el día (catameral), esto refleja un aumento de requerimientos energéticos, por lo que tienden a buscar forraje en diferentes horarios (Lira-Torres y Briones-Salas, 2010; Monroy-Vilchis *et al.*, 2011), es decir, presentaron actividad durante el horario nocturno (con mayor actividad), diurno y crepuscular; este comportamiento activo durante diferentes horarios, puede ser resultado de una medida evasiva antidepredatoria, ya que se registró la presencia de perros ferales (*Canis lupus familiaris*) en las fotocapturas de los cuatro municipios, esto es un factor de presión que modifica el patrón de actividad y la abundancia, ya que pueden vulnerar a las poblaciones de *M. temama* (Manzanero-Barrera *et al.*, 2020).

### CONCLUSIONES

En este estudio se reporta una población de *Mazama temama* con mayor proporción de rastros en la zona de cultivos, sin embargo, presentó un índice de abundancia relativa superior en la vegetación primaria. La población de *M. temama* mostró un patrón de actividad catameral, aunque el mayor número de registros fue durante el horario nocturno, este patrón puede estar siendo alterado por la presencia de perros ferales en el hábitat de la especie.

La población de *M. temama* en la Sierra de Zongolica puede manejarse por las comunidades rurales a través de unidades de manejo ambiental, pero se requieren monitoreos a largo plazo que abarquen otras regiones, tipos de vegetación e incrementar el número de fototampas, para calibrar los cambios espacio temporales en el índice de abundancia relativa de *M. temama*, así como estudios paralelos sobre la estructura del paisaje que determinan su presencia.

### REFERENCIAS

- Bello J, Reyna R, Schipper J. 2016. *Mazama temama*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T136290A22164644. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-2.RLTS.T136290A22164644.en>
- Bello-Gutiérrez J, Reyna-Hurtado R, Wilham J. 2010. Central American red brocket deer *Mazama temama* (Kerr, 1992). In: Neotropical cervidology: biology and medicine of Latin American deer. Duarte JMB, González S. (eds.) Funep, Jaboticabal, Brasil/ IUCN, Gland. pp: 166-171. [https://www.researchgate.net/publication/270050767\\_Neotropical\\_Cervidology\\_Biology\\_and\\_Medicine\\_of\\_Latin\\_American\\_Deer](https://www.researchgate.net/publication/270050767_Neotropical_Cervidology_Biology_and_Medicine_of_Latin_American_Deer) (Recuperado: julio 2021).

- Benítez-Badillo G, Hernández-Huerta A, Equihua-Zamora M, Pulido-Salas MTP, Ibáñez-Bernal S, Miranda-Martín L. 2010. Biodiversidad. In: Atlas del patrimonio natural, histórico y cultural de Veracruz. Patrimonio Natural. Gobierno del Estado de Veracruz. Benítez-Badillo G, Welsh-Rodríguez C. (eds.) Comisión del Estado de Veracruz para la Conmemoración de la Independencia Nacional y la Revolución Mexicana, Universidad Veracruzana. México, D. F. pp: 171-202. <https://cdigital.uv.mx/handle/123456789/9653> (Recuperado: julio 2021).
- Carbone C, Christie S, Conforti K, Coulson T, Franklin N, Ginsberg JR, Griffiths M, Holden J, Kawanishi K, Kinnaird M. 2001. The use of photographic rates to estimate densities of tigers and other cryptic mammals. *Animal Conservation* 4: 75-79. <https://doi.org/10.1017/S1367943001001081>
- Carrillo E, Wong G, Cuarón AD. 2000. Monitoring mammal populations in Costa Rica Protected Areas under different hunting restrictions. *Conservation Biology* 14 (6): 1580-1591. <https://conbio.onlinelibrary.wiley.com/journal/15231739> (Recuperado: julio 2021).
- Ceballos G, Oliva G. 2005. Los mamíferos silvestres de México. CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad) – Fondo de Cultura Económica, D. F., México. 988 p.
- Contreras-Moreno FM, Cruz-Félix KDL, Bello-Gutiérrez J, Hidalgo-Mihart MG. 2016. Variables del paisaje que determinan la presencia de los venados temazates (*Mazama* sp.) en el oeste del estado de Campeche, México. *Therya* 7 (1): 3-19. <https://doi.org/10.12933/therya-16-343>
- Chávez C, De La Torre A, Bárcenas H, Medellín RA, Zarza H, Ceballos G. 2013. Manual de fototrampeo para el estudio de fauna silvestre. El jaguar en México como estudio de caso. Alianza WWF-Telcel, Universidad Nacional Autónoma de México. México. 103 p.
- Gallina S. 2005. Temazate. In: Los mamíferos silvestres de México. Ceballos G, Oliva G. (eds.) CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad). Fondo de Cultura Económica, México, D. F. pp: 512-513.
- González ML, Olvera M, Velázquez V, Viacobo Y, González S, Hasbun JC, Rodríguez R, Treviño RF. 2020. Mapa interactivo de lenguas indígenas. Instituto Nacional de Antropología e Historia. México. <http://www.mapalenguasindigenas.cultura.gob.mx/> (Recuperado: julio 2021).
- González-Christen A, Delfín-Alfonso CA. 2016. Los mamíferos terrestres de Veracruz, México y su protección. In: Riqueza y conservación de los mamíferos en México a nivel estatal. Briones-Salas M, Hortelano-Moncada Y, Magaña-Cota G, Sánchez-Rojas G, Sosa-Escalante JE. (eds.) Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Asociación Mexicana de Mastozoología, Universidad de Guanajuato. Ciudad de México, México. pp: 499-534. [https://www.researchgate.net/publication/312538186\\_Los\\_mamiferos\\_terrestres\\_de\\_Veracruz\\_Mexico\\_y\\_su\\_proteccion](https://www.researchgate.net/publication/312538186_Los_mamiferos_terrestres_de_Veracruz_Mexico_y_su_proteccion) (Recuperado: junio 2021).
- INEGI (Instituto Nacional de Geografía y Estadística). 2010. Marco Geoestadístico Municipal 2010, versión 4.2. Unidad de Microrregiones. Dirección General Adjunta de Planeación Microrregional. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. México. <https://www.inegi.org.mx/temas/mg/> (Recuperado: mayo 2021).
- Lira-Torres I, Naranjo-Piñera EJ. 2003. Abundancia, preferencia de hábitat e impacto del ecoturismo sobre el puma y dos de sus presas en la Reserva de la Biosfera El Triunfo, Chiapas, México. *Revista Mexicana de Mastozoología* 7: 20-39. <https://doi.org/10.22201/ie.20074484e.2003.7.1.178>
- Lira-Torres I, Briones-Salas M. 2012. Abundancia relativa y patrones de actividad de los mamíferos de los Chimalapas, Oaxaca, México. *Acta Zoológica Mexicana* 28 (3): 566-585. <https://doi.org/10.21829/azm.2012.283859>
- Macario CD, Salazar-Ortiz J, Pérez-Sato JA, Llarena-Hernández RC, Alavéz-Martínez NM, Serna-Lagunes R. 2019. Riqueza y abundancia de mamíferos en un ambiente antropizado en Zongolica, Veracruz. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 6 (18): 411-422. <https://doi.org/10.19136/era.a6n18.2083>
- Manzanero-Barrera G, Vargas-Jiménez IG, Flores-Manzanero A. 2020. New records of red brocket deer (*Mazama temama*) in cloud forests in northeastern Hidalgo, México. *Therya Notes* 1: 43-49. [https://doi.org/10.12933/therya\\_notes-20-11](https://doi.org/10.12933/therya_notes-20-11)
- Mandujano S. 1994. Conceptos generales del método de conteo de animales en transectos. *Ciencia* 45: 203-211.
- Monroy-Vilchis O, Zarco-González M, Rodríguez-Soto C, Soria-Díaz L, Urios V. 2011. Fototrampeo de mamíferos en la Sierra Nanchititla, México. *Revista de Biología Tropical* 59: 373-383. <https://doi.org/10.15517/rbt.v59i1.3206>
- Muñoz-Vázquez B, Gallina-Tessaro S. 2016. Influencia de la fragmentación del hábitat en la abundancia de *Mazama temama* a diferentes escalas en un bosque mesófilo de montaña. *Therya* 7 (1): 77-87. <https://doi.org/10.12933/therya-16-338>

- Muñoz-Vázquez B, Gallina-Tessaro S, León-Paniagua L. 2022. Characteristics of Central American brocket deer resting sites in a tropical mountain cloud forest in eastern Mexico. PeerJ 10: e12587 <https://doi.org/10.7717/peerj.12587>
- Pérez-Solano LA, Mandujano S. 2013. Distribution and loss of potential habitat of the Central American red brocket deer (*Mazama temama*) in the Sierra Madre Oriental, Mexico. Deer Specialist Group News 25: 11-17. [https://www.researchgate.net/publication/264310762\\_Distribution\\_and\\_loss\\_of\\_potential\\_habitat\\_of\\_the\\_Central\\_American\\_red\\_brocket\\_deer\\_Mazama\\_temama\\_in\\_the\\_Sierra\\_Madre\\_Oriental\\_Mexico](https://www.researchgate.net/publication/264310762_Distribution_and_loss_of_potential_habitat_of_the_Central_American_red_brocket_deer_Mazama_temama_in_the_Sierra_Madre_Oriental_Mexico) (Recuperado: julio 2021).
- Ramírez-Bravo OE, Hernández-Santín L. 2012. Nuevos registros del temazate rojo (Mammalia: Artiodactyla: Cervidae: *Mazama temama*) en el estado de Puebla, México. Acta Zoológica Mexicana 28 (2): 487-490. <https://doi.org/10.21829/azm.2012.282852>
- Salazar-Ortiz J, Barrera-Perales M, Ramírez-Ramírez G, Serna-Lagunes R. 2020. Diversidad de mamíferos del municipio de Tequila, Veracruz, México. Revista Abanico Veterinario 10: 1-18. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2020.30>
- SEMARNAT (Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2008. Plan de manejo tipo de venado temazate. Dirección General de Vida Silvestre. SEMARNAT. México.
- SEMARNAT (Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2010. Protección ambiental, especies de flora y fauna silvestres de México, categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio, y lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación, 30 de diciembre de 2010. México. [https://dof.gob.mx/nota\\_detalle\\_popup.php?codigo=5173091](https://dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5173091) (Recuperado: junio 2021).
- Serna-Lagunes R, López-Mata L, Cervantes-Serna LJ, Gallegos-Sánchez J, Cortez-Romero C, Zalazar-Marcial E, Salazar-Ortiz J. 2014. Nicho ecológico de *Mazama temama* en el centro de Veracruz, México: implicaciones para su manejo. Agroproductividad 7: 51-57. <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/555> (Recuperado: mayo 2021).
- Serna-Lagunes R, Álvarez-Oseguera LR, Ávila-Nájera DM, Leyva-Ovalle OR, Andrés-Meza P, Tigar B. 2019. Temporal overlap in the activity of *Lynx rufus* and *Canis latrans* and their potential prey in the Pico de Orizaba National Park, Mexico. Animal Biodiversity and Conservation 42.1: 153-161. <https://doi.org/10.32800/abc.2019.42.0153>
- Serna-Lagunes R, Romero-Ramos DK, Delfín-Alfonso CA, Salazar-Ortiz J. 2021. Phylogeography of the Central American red brocket, *Mazama temama* (Artiodactyla, Cervidae) in southeastern Mexico. Neotropical Biology and Conservation 16 (2): 369-382. <https://doi.org/10.3897/neotropical.16.e58110>
- Tobler MW, Carrillo-Percastegui SE, Leite-Pitman R, Mares R, Powell G. 2008. An evaluation of camera traps for inventorying large-and medium sized terrestrial rainforest mammals. Animal Conservation 11: 169-178. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1795.2008.00169.x>
- Villarreal O, Thummler H, Hernández J, Franco FJ, Campos LR, Reséndiz R. 2008. Premio Thummler: El Súper Slam de los Venados de México. In: Conservación y manejo de fauna cinegética de México. Villarreal O, Franco FJ, Hernández J, Romero S. (eds.) Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Fundación PRODUCE Puebla A. C., Mazamiztli, A. C. pp: 31-48.
- Villarreal-Espino-Barros OA, Mendoza-Martínez GD, Guevara-Viera R, Hernández-Hernández JE, Franco-Guerra FJ, Camacho-Ronquillo JC, Arcos-García JL. 2014. Distribución regional del venado temazate rojo (*Mazama temama*) en el Estado de Puebla, México. Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente 20 (2): 251-260. <https://doi.org/10.5154/r.rchs-cfa.2013.12.046>
- Villarreal-Espino-Barros OA, Sánchez-López N, Reséndiz-Martínez R, Jiménez-Cortez H. 2019. El venado temazate rojo (*Mazama temama*) en el Totonocapán montañoso del estado de Puebla. In: Estudios sobre la fauna silvestre de México y las interacciones humano-animal. Perezgrovas-Garza RA, Sedano-Quirarte EJ. (eds.) Red Mexicana sobre Conservación y Utilización de los Recursos Zoogenéticos A. C., Universidad Autónoma de Chiapas. México.
- Villarreal-Espino BOA, Franco-Guerra FJ, Romero-Castañón S, Camacho-Ronquillo JC, Martínez-Arguelles AdelC. 2017. Distribución y densidad poblacional del venado temazate rojo (*Mazama temama*; Mammalia: Cervidae) en la Sierra Negra, Puebla, México. Revista Biológico Agropecuaria Tuxpan 5 (1): 43-49. <https://doi.org/10.47808/revistabioagro.v5i1.91>
- Zunino M, Zullini A. 2003. Biogeografía: la dimensión espacial de la evolución. Fondo de Cultura Económica. México, D. F.



## DETERMINATION OF THE EFFECTIVE DOSE OF PHOSPHORUS IN LEMON EUCALYPTUS PLANTS (*Corymbia citriodora*)

José Luis Soto-Gonzales<sup>1\*</sup>, Sergio Valiengo-Valeri<sup>2</sup>, Mara Cristina Pessôa-da-Cruz<sup>2</sup>, Rinaldo Cesar de Paula<sup>2</sup>, José Vulfrano González-Fernández<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Av. Carlos Germán Amézaga No. 375, Cercado de Lima, Lima, Perú. C. P. 15081.

<sup>2</sup>Universidade Estadual Paulista, UNESP-FCAV, Departamento de Produção Vegetal, Campus de Jaboticabal. Prof. Paulo Donato Castellane s/n, Jaboticabal, São Paulo, Brasil. C. P. 14884-900.

\* Corresponding author: jlsg\_dh@yahoo.es

### ABSTRACT

Phosphorus (P) is one of the most limiting nutrients for plant species and its intensive use can exhaust world reserves. In general, forest production is unviable without the availability of P. The objective of the study was to determine the effect of phosphate fertilization on plant growth of four families of lemon eucalyptus (*Corymbia citriodora*). Plants produced from seeds of four seed trees were used, which were subjected to seven doses of phosphorus: 0, 25, 50, 75, 100, 125 and 150 mg P dm<sup>-3</sup>. The experiment was carried out in a 7 × 4 factorial arrangement, with four replicates and using containers with 5 dm<sup>3</sup> of a Red Eutrophic Latosol type soil. The response variables measured were monthly plant height, plant collar diameter at 90 d, dry biomass weight of leaves, roots, stems and branches, and phosphorus use efficiency of leaves. The variations of the characteristics evaluated as a function of phosphorus concentration were analysed by means of polynomial regression equations. Phosphate fertilization is necessary for the growth and development of *C. citriodora* plants. Plants of the four *C. citriodora* seed trees from different provenances responded differentially to phosphorus doses. It was found that the optimum amount of phosphorus ranges between 30 and 100 mg dm<sup>-3</sup> according to the characteristics evaluated and the seed tree.

**Key words:** seed trees, forest fertilization, provenances, phosphorus doses, *Corymbia citriodora*.

### INTRODUCTION

Lemon eucalyptus (*Corymbia citriodora* Hill & Johnson) is a medium to large species, which can reach 50 m in height and 1.2 m in trunk diameter, with excellent trunk shape and sparse foliage. This species has good silvicultural characteristics, one of which is the quality of the wood it produces (Morais *et al.*, 2010).

Studies of nutrient use efficiency among clones of forest species carried out in greenhouses are useful for genetic improvement programs that seek early selection of these species, since the responses are obtained in short periods of time. Determining the adequate phosphorus dose is fundamental for the optimization of inputs such as chemical fertilizers and thus minimize losses.

**Citation:** Soto-Gonzales JL, Valiengo-Valeri S, Pessôa-da-Cruz MC, de Paula RC, González-Fernández JV. 2022. Determinación de la dosis eficiente de fósforo en plantas de eucalipto limón (*Corymbia citriodora*).

Agrociencia. 56(3): 518-546. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i3.2804>

**Editor in Chief:**  
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: August 16, 2021.

Approved: March 31, 2022.

**Published in Agrociencia:**  
June 03, 2022.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International license.



The use of synthetic fertilizers in forestry production is increasingly intense, especially in developing countries, and this encourages studies to minimize leaching losses and water contamination. In Latin America, the main fertilizer consuming countries of commercial groups are Brazil, Argentina, Mexico, and Colombia, which together with the other countries in this region are highly dependent on N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> and K<sub>2</sub>O imports (FAO, 2015). Therefore, a more appropriate use of different fertilizer sources is necessary to promote sustainability.

In the early stages of development, the supply of phosphate fertilizers to *C. citriodora* seedlings allows the identification of the potential in the efficiency of use of this element. For example, Lima *et al.* (2005) identified differences in P utilization capacity among eucalyptus clones. One of the main effects of P deficiency in plants is expressed in a decrease in leaf growth, as well as in the number of leaves (Dussan *et al.*, 2016). The quality of forest seedlings can be evaluated by parameters based on phenotypic aspects, called morphological aspects such as height of the above ground part, diameter of stems, number of leaves and dry biomass weight of the above ground part and roots of the plants (Oliveira *et al.*, 2017). Thus, these parameters are fundamental for forest nutrition.

In soybean (*Glycine max*), phosphate fertilization increased productivity, the weight of one thousand seeds and pod and grain production per plant (Filho *et al.*, 2013). P is one of the most demanded macronutrients by plants and must be available at critical stages such as early seedling development after seed germination (Oliveira *et al.*, 2017). The hypothesis proposed in this study is that P plays a determining role in the initial development of lemon eucalyptus seedlings. The objective of this research was to determine the effect of different doses of phosphate fertilizers on the initial growth of *Corymbia citriodora* plants.

## MATERIALS AND METHODS

### Seed tree location areas

Seeds were used from lemon eucalyptus (*Corymbia citriodora*) trees from different seed production areas located at the Faculty of Agrarian and Veterinary Sciences of the Paulista State University (UNESP/FCAV), Jaboticabal Campus, São Paulo (tree number 4); at the São Paulo State Forestry Institute (tree number 7); at the Guarani Orchard (HG), Pradópolis, São Paulo (tree number 21); and at Borebi, São Paulo (tree number 30), in Brazil.

### Phosphorus concentration and content analysis in leaves

Chemical analyses to determine the concentration of phosphorus in the leaves of the plants were carried out at the Horticultural Products Post-Harvest Laboratory of the Plant Production Department of UNESP. For this purpose, all the leaves of each tree were washed with 2 % neutral detergent, then dried with paper towel. Once dried and at constant weight, the leaves were crushed individually per tree (preserving the identity), using a steel grinder. The P concentration and the dry biomass obtained were used to estimate the P content.

### **Production of *C. citriodora* plants in nurseries**

The plants were produced from seeds, which were placed in rigid plastic conical tubes with a capacity of 55 cm<sup>3</sup> and Plantmax<sup>®</sup> Florestas composed of pine bark (*Pinus* spp.) and vermiculite (50:50, v:v) was used as substrate. These plants were produced in a nursery covered by a screen with 30% solar reduction and intermittent micro-sprinkler irrigation with 8 min duration and 45 min intervals with automatic control. When they reached the mean height of 10 cm and the age of 60 d after sowing, the plants were transplanted into 10 L plastic containers (capacity of 7 dm<sup>3</sup>), for the experiments with different doses of phosphorus.

The experiment was carried out inside a greenhouse with dimensions of 30 m long, 5 m wide and 4.5 m high, with a roof covered with plastic and side walls with anti-aphid netting.

### **Statistical design**

The experiment was conducted in a randomized block design in a 7 × 4 factorial arrangement, where the study factor “P dose” had seven levels: 0, 25, 50, 75, 100, 100, 125 and 150 mg P dm<sup>-3</sup> and the factor “seed trees” four levels: Tree 4, Tree 7, Tree 21, and Tree 30. Each of the 28 treatments had four replications, for a total of 112 plots. Each plot consisted of a pot containing two plants as experimental unit, with a total of 224 plants. Triple superphosphate powder recommended for plants in seed production areas was used as a P source.

### **Soil collection and analysis**

A Red Eutrophic Latosol type soil was used, collected at a depth of 0 to 20 cm, in the Hacienda Guatapar, sector A, under a high voltage electrical network with the following geographic coordinates: 21° 28' 19.17" S and 47° 58' 26.18" W. This location belongs to International Paper in the District of Luiz Antonio, SP, Brazil.

The soil was dried under shade, de-throned, sieved using a 4 mm opening sieve and then homogenized. A composite soil sample was removed for chemical analysis according to the methods proposed by Rajj *et al.* (2001). The soil was analysed at the Soil Fertility Laboratory of the Soil and Fertilizer Department of FCAV-UNESP, Jaboticabal-SP, Brazil. The results obtained were phosphorus (P) extracted with resin: 4 mg dm<sup>-3</sup>; organic matter (MO): 19 g dm<sup>-3</sup>; pH in CaCl<sub>2</sub>: 4.2; K<sup>+</sup>: 0.6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Ca<sup>2+</sup>: 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Mg<sup>2+</sup>: 2 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; H+Al: 38 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; cation exchange capacity (CIC): 47 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; and percent base saturation (PSB): 18 %.

### **Weighing of chemical fertilizers and application in pots**

A four-decimal place precision analytical balance was used for weighing the chemicals. Based on the results of the chemical analysis of the soil, calcium carbonate and magnesium carbonate (2.5067 g CaCO<sub>3</sub> and 1.2157 g MgCO<sub>3</sub>) were applied in a Ca:Mg ratio of 2:1, in order to increase the percentage of base saturation of the soil to 50 %. Phosphate fertilizer (Agroadubo) was applied in each treatment as indicated: Dose 0:

no phosphorus; Dose 25: 0.6944 mg P dm<sup>-3</sup>; Dose 50: 1.3888 mg P dm<sup>-3</sup>; Dose 75: 2.0832 mg P dm<sup>-3</sup>; Dose 100: 2.7776 mg P dm<sup>-3</sup>; Dose 125: 3.4720 mg P dm<sup>-3</sup>; and Dose 150: 4.1664 mg P dm<sup>-3</sup>. These doses were mixed with carbonates and soil. Subsequently, the soil was transferred to 7 dm<sup>3</sup> plastic pots to start the 30-day incubation period.

Ten days after the start of incubation, the following doses of nutrients were applied to all treatments: 15 mg N dm<sup>-3</sup> (ammonium sulphate); 15 mg K dm<sup>-3</sup> (potassium chloride); 0.5 mg B dm<sup>-3</sup> (boric acid); 1.0 mg Zn dm<sup>-3</sup> (zinc sulphate); 0.5 mg Cu dm<sup>-3</sup> (copper sulphate); 1.5 mg Mn dm<sup>-3</sup> (manganese chloride) and 0.02 mg Mo dm<sup>-3</sup> (ammonium molybdate), through solution and respecting 20 d more to complete the incubation period. After 30 d had elapsed, the soil was carefully removed from the pots individually and dried on plastic sheeting inside the greenhouse. Then, each treatment was homogenized and sampled for chemical analysis of P consisting of ion exchange resin extraction for P and determined by flame spectrophotometry (Raij *et al.*, 2001).

#### **Installation, conducting and termination of the experiment**

The plants were established with the roots attached to the substrate of the conical plastic tubes, since this species does not withstand bare root transplanting. Daily irrigations were applied considering the weight of the soil in each pot and considering the daily water loss of the soil contained in the pots due to evapotranspiration. In this way, soil moisture was maintained at 70 % of field capacity.

The experiment was conducted for a period of 90 d. Plant height was recorded at 30, 60, 75 and 90 d after transplanting, using a 20 m tape measure with an accuracy of 8.6 mm at every 2.1 mm. On day 90, the base collar diameter of the main stem of the plants was determined with a digital vernier (0.01 mm). The plants were then cut to 3 cm above the diameter of the root-neck and placed in plastic bags with prior identification, transported to the laboratory and separated into leaves, branches and stems. The roots were extracted from the pots, washed, and sifted to avoid losses.

The total leaf area was determined with the use of an electronic device with Delta-T Devices image analysis system. All samples were washed with water and neutral detergent in a percentage of 0.1 % (1 mL:1 L of water), to avoid errors in the analyses. The samples were then rinsed four times with demineralized water and dried with absorbent paper. The dry biomass weights of the different plant components, as leaves, stems, branches, and roots were then determined. The samples were placed in paper bags and placed in a forced air circulation oven at 70 °C until they reached constant weight. Once the dry biomass weight of the different parts of the plant had been determined, the leaves were ground using a Wiley type stainless steel mill with a 0.841 mm sieve.

To determine the concentration of P in the leaves, a ground composite sample of 0.25 g was obtained from each replicate and placed in test tubes for analysis. A solution was prepared in the ratio of 2:1 (v:v), perchloric acid and nitric acid (nitric-perchloric); then 3 mL were added to each tube containing the sample to be digested. The determination

of P in the plant material was carried out using metavanadate and ammonium molybdate, according to the methodology described by Malavolta *et al.* (1997).

Leaf phosphorus use efficiency (LUE) was calculated by the ratio:

$$\text{EUP (on the leaves)} = \frac{(\text{PS})^2}{\text{CPH}}$$

where: PS = dry biomass weight and CPH = phosphorus content in leaves; CPH was estimated considering leaf dry biomass weights and leaf phosphorus (P) concentrations. The data were subjected to analysis of variance, regression and the mean comparison was done by Tukey test at ( $p \leq 0.05$ ).

## RESULTS AND DISCUSSION

### Phosphorus content and plant height

When analysing the F values in Table 1, it can be observed that the factor “Seed trees” had highly significant effects ( $p \leq 0.01$ ) on plant height in all measurements made, while the factor “P dose” significantly ( $p \leq 0.05$ ) affected this variable. It was interesting to note that the interaction between factors had no significant effect ( $p > 0.05$ ) on this variable.

The analysis of the factor “seed trees” showed that in the first measurements taken 30 days after the application of the treatments (ddat), the plants from seeds of tree 21

**Table 1.** Analysis of variance for percentage of phosphorus in the soil after incubation for 30 d and means for plant height as a function of P doses at 30, 60, 75 and 90 d after transplanting, from four seed trees of *Corymbia citriodora*.

| Sources of variation | F values           |                    |                    |                    |
|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|                      | 30 d               | 60 d               | 75 d               | 90 d               |
| Seed trees           | 6.35**             | 12.67**            | 9.46**             | 5.00**             |
| P dose               | 2.36*              | 2.47*              | 2.97*              | 3.49**             |
| Seed trees × P dose  | 1.19 <sup>ns</sup> | 1.47 <sup>ns</sup> | 1.19 <sup>ns</sup> | 1.14 <sup>ns</sup> |
| CV (%)               | 15.60              | 17.15              | 15.37              | 14.34              |

| Seed trees | Plant height (cm) |          |         |          |
|------------|-------------------|----------|---------|----------|
|            | 30 d              | 60 d     | 75 d    | 90 d     |
| 4          | 13.84 c           | 39.92 bc | 46.91 a | 52.51 ab |
| 7          | 15.70 ab          | 44.92 ab | 49.27 a | 54.50 a  |
| 21         | 16.23 a           | 47.42 a  | 51.19 a | 55.30 a  |
| 30         | 14.38 bc          | 36.60 c  | 41.46 b | 48.17 b  |

Means followed by different letters in each column, for each evaluation stage, are statistically different (Tukey;  $p \leq 0.05$ ). Significant at \* $p \leq 0.05$ . \*\* $p \leq 0.01$ ; ns = not significant ( $p > 0.05$ ). CV = coefficients of variation.

showed greater height than the other trees, except for those of Tree 7 (Table 1). The same trend was observed in measurements taken at 60 days. At 75 and 90 ddat, the means of plants from trees 4, 7 and 21 were statistically similar, and the lowest was shown by Tree 30, which at 90 ddat was statistically similar to that shown by Tree 4. Genetic variability among individuals of the same species could be one of the main causes of these differences.

P application differentially affected plant height. Between 30 and 60 d, it was verified that there was an effect of applied P doses on plant height (Table 2).

The unfolding of degrees of freedom for the factor "P dose" in height of *C. citriodora* shows increasing and linear effects with very similar equations, which shows very significant effects with quadratic equations for seed trees 21 at 60 and 75 d of growth, and 30 at 60, 75 and 90 d (Table 2).

**Table 2.** Regression analysis and means of the percentages of phosphorus in the soil 30 days after incubation in regard to plant height of four seedlings of *Corymbia citriodora* at 30, 60, 75 and 90 days after planting.

| Seed trees | Regression | F values           |                     |                     |                     |
|------------|------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|            |            | 30 d               | 60 d                | 75 d                | 90 d                |
| 4          | Linear     | 0.40 <sup>ns</sup> | 1.86 <sup>ns</sup>  | 2.96 <sup>ns</sup>  | 3.29 <sup>ns</sup>  |
|            | Quadratic  | 1.51 <sup>ns</sup> | 1.01 <sup>ns</sup>  | 0.75 <sup>ns</sup>  | 0.43 <sup>ns</sup>  |
|            | Cubic      | 0.41 <sup>ns</sup> | 1.99 <sup>ns</sup>  | 0.27 <sup>ns</sup>  | 0.01 <sup>ns</sup>  |
| 7          | Linear     | 1.35 <sup>ns</sup> | 0.89 <sup>ns</sup>  | 2.20 <sup>ns</sup>  | 1.01 <sup>ns</sup>  |
|            | Quadratic  | 0.01 <sup>ns</sup> | 0.70 <sup>ns</sup>  | 0.76 <sup>ns</sup>  | 0.71 <sup>ns</sup>  |
|            | Cubic      | 1.32 <sup>ns</sup> | 1.91 <sup>ns</sup>  | 0.69 <sup>ns</sup>  | 0.35 <sup>ns</sup>  |
| 21         | Linear     | 2.66 <sup>†</sup>  | 0.02 <sup>ns</sup>  | 0.01 <sup>ns</sup>  | 0.00 <sup>ns</sup>  |
|            | Quadratic  | 0.54 <sup>ns</sup> | 4.99 <sup>*</sup>   | 4.02 <sup>*</sup>   | 3.62 <sup>ns</sup>  |
|            | Cubic      | 0.03 <sup>ns</sup> | 0.44 <sup>ns</sup>  | 1.00 <sup>ns</sup>  | 1.65 <sup>ns</sup>  |
| 30         | Linear     | 0.45 <sup>ns</sup> | 0.01 <sup>ns</sup>  | 0.46 <sup>ns</sup>  | 0.92 <sup>ns</sup>  |
|            | Quadratic  | 3.43 <sup>ns</sup> | 14.01 <sup>**</sup> | 14.87 <sup>**</sup> | 16.20 <sup>**</sup> |
|            | Cubic      | 0.00 <sup>ns</sup> | 0.25 <sup>ns</sup>  | 0.16 <sup>ns</sup>  | 0.29 <sup>ns</sup>  |

| P dose<br>(mg dm <sup>-3</sup> ) | Plant height (cm) |       |       |       |
|----------------------------------|-------------------|-------|-------|-------|
|                                  | 30 d              | 60 d  | 75 d  | 90 d  |
| 0                                | 15.40             | 37.83 | 41.75 | 46.30 |
| 25                               | 14.34             | 41.99 | 46.37 | 52.64 |
| 50                               | 16.10             | 45.48 | 50.59 | 56.34 |
| 75                               | 14.23             | 41.14 | 46.16 | 51.06 |
| 100                              | 16.05             | 45.43 | 50.75 | 55.53 |
| 125                              | 13.85             | 43.79 | 48.63 | 55.38 |
| 150                              | 15.30             | 39.95 | 46.21 | 51.09 |

Means followed by different letters in each column, for each evaluation stage, are statistically different (Tukey;  $p \leq 0.05$ ). Significant at \* =  $p \leq 0.05$ . \*\* =  $p \leq 0.01$ ; ns = not significant ( $p > 0.05$ ).

In some species of the genus *Eucalyptus* established in clay soils, the application of 60 mg P dm<sup>-3</sup> is below the critical level for their development and initial growth (Novais *et al.*, 1986).

The positive responses obtained with the application of P demonstrate that this nutrient is indispensable for the initial growth of *C. citriodora*. Most tree species respond to fertilization with increasing doses of macronutrients, which produce favourable percentages in terms of morphological, nutritional evaluations, especially in terms of root expansion (Oliet *et al.*, 2016, Razaq *et al.*, 2017).

Structural carbohydrate allocation is an attribute with strong genetic control; although it may vary according to different tree growth stages, environmental conditions, and planting density (Schumacher *et al.*, 2019). Nutrient uptake capacity and growth response may vary among species, provenances, progenies, and forest clones. Values attributed to genetic variability within the species were observed in the seed trees used in this study.

#### Diameter of main stem base, leaf area and dry biomass

In this study, significant effects of the factors “Seed trees” and “P dose” were observed for all the variables studied (Table 3), and also the interaction between these two factors studied in regard to dry biomass production of leaves and roots (Table 4).

**Table 3.** Analysis of variance for plant collar diameter (D), leaf area (AF), leaf dry biomass (BSH), stem and branch dry biomass (BSTR), and root dry biomass (MSR) of plants from four seed trees of *Corymbia citriodora* as a function of phosphorus doses at 90 d after planting.

| Sources of variation | F values           |                    |         |                    |         |
|----------------------|--------------------|--------------------|---------|--------------------|---------|
|                      | D                  | AF                 | BSH     | BSTR               | BSR     |
| Seed trees           | 5.78**             | 6.38**             | 14.28** | 5.86**             | 13.03** |
| P dose               | 2.97*              | 4.79**             | 5.33**  | 8.70**             | 2.54*   |
| Seed trees × P dose  | 1.58 <sup>ns</sup> | 0.78 <sup>ns</sup> | 1.86*   | 1.47 <sup>ns</sup> | 1.77*   |
| CV (%)               | 12.43              | 25.41              | 22.90   | 23.58              | 30.80   |

| Seed trees | Means  |                       |         |          |         |
|------------|--------|-----------------------|---------|----------|---------|
|            | D (mm) | ÁF (cm <sup>2</sup> ) | MSH (g) | MSTR (g) | MSR (g) |
| 4          | 4.94 a | 915.50 ab             | 7.08 bc | 5.00 ab  | 4.65 b  |
| 7          | 4.92 a | 998.60 a              | 8.12 ab | 5.31 ab  | 5.01 ab |
| 21         | 4.91 a | 1076.60 a             | 8.89 a  | 5.80 a   | 5.83 a  |
| 30         | 4.38 b | 807.79 b              | 6.05 c  | 4.47 b   | 3.43 c  |

D: Diameter of the base of the main stem of the plant; AF: leaf area; BSH: dry biomass of leaves; BSTR: dry biomass of stems and branches; BSR: dry biomass of roots. Means followed by different letters, in each column, for each characteristic evaluated, differ statistically (Tukey;  $p \leq 0.05$ ). Significant at \* $p \leq 0.05$ . \*\* $p \leq 0.01$ ; ns = not significant ( $p > 0.05$ ). CV = coefficients of variation.

**Table 4.** Regression analysis and means of plant collar diameter (D), leaf area (AF), leaf dry biomass (BSH), stem and branch dry biomass (BSTR), and root dry mass (BSR) of plants from four seed trees of *Corymbia citriodora* as a function of phosphorus doses at 90 d after planting.

| Seed trees | Regression | F values           |                    |                     |                     |                    |
|------------|------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|--------------------|
|            |            | D                  | ÁF                 | MSH                 | MSTR                | MSR                |
| 4          | Linear     | 2.32 <sup>ns</sup> | 7.43 <sup>**</sup> | 10.95 <sup>**</sup> | 8.49 <sup>**</sup>  | 3.03 <sup>ns</sup> |
|            | Quadratic  | 0.06 <sup>ns</sup> | 0.25 <sup>ns</sup> | 0.32 <sup>ns</sup>  | 0.00 <sup>ns</sup>  | 0.02 <sup>ns</sup> |
|            | Cubic      | 3.88 <sup>ns</sup> | 0.42 <sup>ns</sup> | 0.07 <sup>ns</sup>  | 0.37 <sup>ns</sup>  | 1.81 <sup>ns</sup> |
| 7          | Linear     | 1.95 <sup>ns</sup> | 0.92 <sup>ns</sup> | 1.32 <sup>ns</sup>  | 6.2 <sup>*</sup>    | 0.56 <sup>ns</sup> |
|            | Quadratic  | 3.07 <sup>ns</sup> | 0.24 <sup>ns</sup> | 4.08 <sup>*</sup>   | 6.76 <sup>*</sup>   | 3.76 <sup>ns</sup> |
|            | Cubic      | 3.22 <sup>ns</sup> | 0.01 <sup>ns</sup> | 2.74 <sup>ns</sup>  | 1.07 <sup>ns</sup>  | 5.29 <sup>*</sup>  |
| 21         | Linear     | 0.04 <sup>ns</sup> | 6.09 <sup>*</sup>  | 1.58 <sup>ns</sup>  | 2.70 <sup>ns</sup>  | 0.25 <sup>ns</sup> |
|            | Quadratic  | 7.58 <sup>**</sup> | 8.49 <sup>**</sup> | 5.25 <sup>*</sup>   | 10.44 <sup>**</sup> | 4.60 <sup>*</sup>  |
|            | Cubic      | 1.23 <sup>ns</sup> | 2.07 <sup>ns</sup> | 3.87 <sup>ns</sup>  | 2.04 <sup>ns</sup>  | 0.12 <sup>ns</sup> |
| 30         | Linear     | 0.07 <sup>ns</sup> | 4.91 <sup>*</sup>  | 0.05 <sup>ns</sup>  | 1.14 <sup>ns</sup>  | 0.92 <sup>ns</sup> |
|            | Quadratic  | 4.75 <sup>*</sup>  | 4.64 <sup>*</sup>  | 15.77 <sup>**</sup> | 20.93 <sup>**</sup> | 6.83 <sup>*</sup>  |
|            | Cubic      | 0.06 <sup>ns</sup> | 0.08 <sup>ns</sup> | 0.00 <sup>ns</sup>  | 0.06 <sup>ns</sup>  | 0.59 <sup>ns</sup> |

| P dose<br>(mg dm <sup>-3</sup> ) | Means     |                          |                                |                                 |                                |
|----------------------------------|-----------|--------------------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
|                                  | D<br>(mm) | AF<br>(cm <sup>2</sup> ) | BSH<br>(g leaf <sup>-1</sup> ) | BSTR<br>(g leaf <sup>-1</sup> ) | BSR<br>(g leaf <sup>-1</sup> ) |
| 0                                | 4.36      | 698.69                   | 5.64                           | 3.44                            | 3.98                           |
| 25                               | 4.73      | 836.88                   | 7.08                           | 4.73                            | 4.47                           |
| 50                               | 5.11      | 1033.62                  | 8.79                           | 6.01                            | 5.64                           |
| 75                               | 4.75      | 990.43                   | 7.58                           | 5.24                            | 4.87                           |
| 100                              | 4.97      | 1038.43                  | 8.27                           | 5.83                            | 5.04                           |
| 125                              | 4.99      | 1047.38                  | 7.81                           | 5.82                            | 5.00                           |
| 150                              | 4.61      | 1001.93                  | 7.60                           | 4.95                            | 4.14                           |

D: Diameter of the base of the main stem of the plant; AF: leaf area; BSH: dry biomass of leaves; BSTR: dry biomass of stems and branches; BSR: dry biomass of roots. Means followed by different letters in each column, for each evaluation stage, are statistically different (Tukey;  $p \leq 0.05$ ). Significant at \* =  $p \leq 0.05$ . \*\* =  $p \leq 0.01$ ; ns = not significant ( $p > 0.05$ ).

Coefficient of variation values were considered medium for main stem base diameter, high for leaf area, high for dry biomass of leaves, stems, and branches, and very high for dry biomass of roots (Table 3). These higher coefficient of variation values for root biomass weight may be associated with genetic variability among seed trees.

Trees 4, 7 and 21 produced plants with stem diameter similar to each other, and superior to those of tree 30, whose plants had the smallest diameter. Similarly, trees 4, 7 and 21 produced plants with similar leaf area to each other, although the leaf area of plants from Tree 4 was statistically similar to those from Tree 30. The highest means of leaf dry biomass weight (BSH) were observed in plants produced by trees 21 and 7, and the lowest mean in plants from trees 4 and 30; trees 4 and 7 showed plants with statistically similar means for this variable. For dry biomass weight of stems and

branches (BSTR), the plants of trees 4, 7 and 21 showed similar means to each other, and those of tree 30 were the lowest, also statistically similar to those shown by the plants of trees 4 and 7. The weight of root dry biomass (BSR) was higher in plants from trees 7 and 21, and lower in plants from tree 30; the means of plants from trees 4 and 7 were statistically similar (Table 3).

An exhaustive search in the specialized literature did not find any research on the effect of phosphate fertilization on this type of forest trees. In fact, the greatest difficulty for the design of new experiments is the lack of studies that provide previous and detailed information on the selection of matrix trees (Barreiros *et al.*, 2002). In *Pinus greggii* var. *greggii*, differential nitrogen and potassium supply was found to significantly affect leaf phosphorus concentration (Vázquez-Cisneros *et al.*, 2018). Phosphorus is stored in the leaves of the plant, differing according to the seed tree, probably due to physiological and genetic characteristics of the plant.

The “luxury consumption” of a fertilizer (increased availability of a nutrient that does not generate an increase in growth rate) may not be detrimental to the plant, although it represents a waste of this input and an unnecessary expense (Massone *et al.*, 2018). Therefore, this research determined the dose that is necessary for the growth of *C. citriodora* to avoid waste or phytotoxicity.

There was no evidence that the roots of *C. citriodora* plants had grown more than the aerial part, based on biomass weight data. In plants from seed of Tree 21, a higher phosphorus requirement was observed (about 100 mg P dm<sup>-3</sup>) to obtain maximum leaf area, maximum dry biomass production of leaves, stems, and branches, compared to dry biomass production of roots (about 65 mg P dm<sup>-3</sup>). This indicates that this genetic material is efficient in phosphorus uptake and biomass production. The analysis of seed from trees 21 and 30 showed positive and significant linear regressions, while the quadratic regression of seed from trees 4 and 7 also shows significant effects for some organs, but not for the root (Table 4). In *Euterpe edulis*, it was observed that the leaf was the second organ to accumulate nutrients by supplying 26.2 % phosphorus in 2, 4, 6, and 8-year-old trees (Schumacher *et al.*, 2019). This statement is similar to the results obtained in this research, only varying the age of the plants, which was 6 months.

The diameter of the base of the main plant collar showed a quadratic effect for seed trees 21 and 30 (Table 4). This growth variable, besides being influenced by fertilization, is widely used as an indicator of forest tree quality.

Phosphorus contributes to optimize plant morphological measurements, increase internal nutritional percentages, and stimulate root system development (Razaq *et al.*, 2017). In this study the above ground part developed more than the roots, due to phosphate fertilization (Table 3).

In *Psidium guajava*, phosphorus and nitrogen deficiency decreased leaf area and leaf number (Dussan *et al.*, 2016). In pot-grown clones of *Eucalyptus dunnii*, and *Eucalyptus benthamii*, the addition of phosphorus to the soil increased leaf dry biomass production and interfered with parameters related to nutritional efficiency (Stahl *et al.*, 2013).

### Phosphorus concentration, content and use efficiency in leaves

There was variation among seed trees and among phosphorus treatments for phosphorus content and use efficiency in leaves of *C. citriodora*.

Tree 30 was the least efficient in phosphorus use compared to the other seed trees, while tree 21 presented the highest mean for this variable, with 29.38 mg P dm<sup>-3</sup>. Tree 30 presented the highest mean for foliar phosphorus concentration with the dose of 57.25 mg P dm<sup>-3</sup>, and for phosphorus use efficiency and of seed Tree 30 the efficiency was estimated at 3623.46, with the dose of 61.68 mg P dm<sup>-3</sup> (Table 5).

Despite the existence of a significant effect for the interaction between factors for accumulated phosphorus content in leaves per plant, the analysis of degrees of freedom was done to study the effects of phosphorus doses with phosphorus concentration, content in milligrams and efficiency of phosphorus absorption by leaves for the seed trees studied. According to the regression analysis performed for all the variables studied, such as P concentration and content, as well as phosphorus use efficiency, it was linear, except for trees 4 and 30; however, these obtained positive quadratic regression. The Tree 21 plants showed significant effects in all the characteristics evaluated (Table 6).

Variations among seed trees in relation to the amounts and efficiencies of phosphorus use are related to genetic variability among seed trees and the results show that seed tree 21 was the most efficient in phosphorus use for leaf biomass production. In the

**Table 5.** Analysis of variance of phosphorus concentration, phosphorus content and phosphorus use efficiency in leaves of plants from four *Corymbia citriodora* seed trees as a function of phosphorus doses, 90 d after transplanting.

| Sources of variation | F values           |              |                           |
|----------------------|--------------------|--------------|---------------------------|
|                      | Concentration of P | Content of P | Phosphorus use efficiency |
| Seed trees           | 21.61**            | 2.80*        | 23.02**                   |
| P dose               | 35.23**            | 22.02**      | 5.32**                    |
| Seed trees × P dose  | 1.06 <sup>ns</sup> | 2.78**       | 1.56 <sup>ns</sup>        |
| CV (%)               | 12.83              | 22.66        | 28.74                     |

| Seed trees | Means   |                                       |                           |
|------------|---|---------------------------------------|---------------------------|
|            | Concentration of P (g kg <sup>-1</sup> of dry matter) | Content of P (mg leaf <sup>-1</sup> ) | Phosphorus use efficiency |
| 4          | 1.58b   | 11.45 ab                              | 4582.78 b                 |
| 7          | 1.41c   | 11.40 ab                              | 6064.46 a                 |
| 21         | 1.39c   | 12.52 a                               | 6588.60 a                 |
| 30         | 1.78a   | 10.51 b                               | 3623.46b                  |

Means followed by different letters, in each column, for each characteristic evaluated, are statistically different (Tukey;  $p \leq 0.05$ ). Significant at \* $p \leq 0.05$ . \*\* $p \leq 0.01$ ; ns = not significant ( $p > 0.05$ ). CV = coefficients of variation.

**Table 6.** Regression analysis for phosphorus concentration, phosphorus content and phosphorus use efficiency in leaves of plants from four *Corymbia citriodora* seedlings as a function of phosphorus doses, 90 d after transplanting.

| Seed trees | Regression | F values           |                    |                           |
|------------|------------|--------------------|--------------------|---------------------------|
|            |            | Concentration of P | Content of P       | Phosphorus use efficiency |
| 4          | Linear     | 44.21**            | 46.69**            | 0.06 <sup>ns</sup>        |
|            | Quadratic  | 3.18 <sup>ns</sup> | 0.02 <sup>ns</sup> | 1.46 <sup>ns</sup>        |
|            | Cubic      | 0.01 <sup>ns</sup> | 0.29 <sup>ns</sup> | 0.28 <sup>ns</sup>        |
| 7          | Linear     | 38.91**            | 24.02**            | 7.96**                    |
|            | Quadratic  | 0.12 <sup>ns</sup> | 3.93 <sup>ns</sup> | 1.34 <sup>ns</sup>        |
|            | Cubic      | 2.06 <sup>ns</sup> | 0.64 <sup>ns</sup> | 3.59 <sup>ns</sup>        |
| 21         | Linear     | 57.34**            | 35.37**            | 10.74**                   |
|            | Quadratic  | 0.15 <sup>ns</sup> | 1.89 <sup>ns</sup> | 4.10*                     |
|            | Cubic      | 0.45 <sup>ns</sup> | 0.57 <sup>ns</sup> | 5.64*                     |
| 30         | Linear     | 52.11**            | 7.88**             | 2.10 <sup>ns</sup>        |
|            | Quadratic  | 4.44*              | 24.83**            | 5.56**                    |
|            | Cubic      | 0.54 <sup>ns</sup> | 0.35 <sup>ns</sup> | 0.01 <sup>ns</sup>        |

| P dose (mg dm <sup>-3</sup> ) | Means   |                                       |                           |
|-------------------------------|---|---------------------------------------|---------------------------|
|                               | Concentration of P (g kg <sup>-1</sup> of dry matter) | Content of P (mg leaf <sup>-1</sup> ) | Phosphorus use efficiency |
| 0                             | 1.09  | 5.93                                  | 5469.00                   |
| 25                            | 1.34  | 9.33                                  | 5524.43                   |
| 50                            | 1.38  | 11.90                                 | 6676.62                   |
| 75                            | 1.56  | 11.49                                 | 5146.81                   |
| 100                           | 1.64  | 13.04                                 | 5312.87                   |
| 125                           | 1.95  | 15.27                                 | 4019.12                   |
| 150                           | 1.80  | 13.34                                 | 4354.93                   |

Means followed by different letters in each column, for each evaluation stage, are statistically different (Tukey;  $p \leq 0.05$ ). Significant at \* =  $p \leq 0.05$ . \*\* =  $p \leq 0.01$ ; ns = not significant ( $p > 0.05$ ).

initial stage of plant development, there is the probability of high phosphorus demand, as found by (Leite *et al.*, 2006).

The concentration and amount of phosphorus in the leaves increased with increasing phosphorus doses. For seed tree 21, there was a third-degree effect of phosphorus doses for leaf phosphorus utilization efficiency. However, with doses higher than 30 mg P dm<sup>-3</sup> there was a reduction in the efficiency of utilization of this chemical element. When a plant is in a situation of low phosphorus availability, it tends to use it more efficiently, contrary to what is observed when it is subjected to conditions of higher fertility (Stahl *et al.*, 2013).

In this research Tree 21 was the most efficient in phosphorus use (Table 5). The potential of the same genotype to produce different phenotypes in response to

different environmental conditions is one of the means by which plants can adjust their morphology and physiology to cope with environmental heterogeneity (Gianoli, 2004).

High doses of phosphorus ( $300 \text{ mg L}^{-1}$ ) during the maturity stage of *Aextoxicon punctatum* plant tissues produce the highest foliar nutritional concentrations of nitrogen and the lowest of calcium (González *et al.*, 2020). In this study, it was observed that the treatments with the optimal dose were more efficient in the transport of low-available phosphate ion into the plant.

The small variation in phosphorus foliar concentration in relation to the applied doses demonstrates the occurrence of a dilution effect, provided by the higher plant production with phosphorus application, with greater production of leaf biomass than stems and branches (Table 5). In a study with four *Pinus* families and phosphorus fertilization, P increased plant growth in all four families, and phosphorus fertilization changed some hydraulic parameters, but these changes did not affect growth (Faustino *et al.*, 2013). Furthermore, it was observed that as plants get older, the increased capacity of the root system to explore larger amounts of soil and consequently larger amounts of phosphorus for growth.

Seed trees that produce greater volume of wood, show greater growth in height and export different amounts of phosphorus from the soil to the above ground part of the plant, being the most suitable due to the limitation of this nutrient in soils destined for plantations. The use of seed trees explores the possibility of reducing the manifestation of this genetic heterogeneity between seed trees in a forest and plantations. In a study with *Parapiptadenia rigida*, higher growth was observed in young plants at a dose of  $450 \text{ mg P kg}^{-1}$  (Schumacher *et al.*, 2004). These studies can be used to recommend an accurate dose at a young stage in the growth of trees, in order to reduce costs and misuse of phosphorus.

## CONCLUSIONS

Phosphate fertilization is necessary for the growth and development of *Corymbia citriodora* plants. The four *C. citriodora* seed trees from different geographical areas in São Paulo, Brazil, responded differently to the application of different increasing doses of phosphorus. Consequently, according to the characteristic evaluated and the seed tree, it was found that the adequate amount of phosphorus-based chemical fertilizer is between  $30$  and  $100 \text{ mg dm}^{-3}$  for the initial production of high-quality plants because it is efficient and sustainable.

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank the Universidade Estadual Paulista (UNESP/FCAV), the Department of Plant Production, the Department of Soils and Fertilizers and the Soil Fertility laboratory for providing their facilities for this research.

## REFERENCES

- Barreiros RM, Garcia JN, Caixeta Filho JV, Sansigolo CA. 2002. Optimization model for selection of *Eucalyptus grandis* matrix trees. *Forest Sciences* 30: 25–39.
- Ciavatta SF, da Silva MR, Simões D. 2014. Fertirrigation in production of seedlings of *Eucalyptus grandis* during winter and summer. *Cerne* 20 (2): 217–222. <https://doi.org/10.1590/01047760.201420021374>
- Dussan SL, Villegas DA, Miranda D. 2016. Efecto de la deficiencia de N, P, K, Mg, Ca y B sobre la acumulación y distribución de la masa seca en plantas de guayaba (*Psidium guajava* L.) var. ICA Palmira II en fase de vivero. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 10 (1): 40–52. <https://doi.org/10.17584/rcch.2016v10i1.4277>
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2015. World fertilizer trends and outlook to 2018. Roma, Italia. [http://agricultura.gencat.cat/web/.content/de\\_departament/de02\\_estadistiques\\_observatoris/27\\_butlletins/02\\_butlletins\\_nd/documents\\_nd/fitxers\\_estatics\\_nd/2015/0153\\_2015\\_SProductius\\_Fertilitzacio\\_Fertilitzants-Mon.pdf](http://agricultura.gencat.cat/web/.content/de_departament/de02_estadistiques_observatoris/27_butlletins/02_butlletins_nd/documents_nd/fitxers_estatics_nd/2015/0153_2015_SProductius_Fertilitzacio_Fertilitzants-Mon.pdf) (Retrieved: January 2022).
- Faustino LI, Bulfe NML, Pinazo MA, Monteoliva SE, Graciano C. 2013. Dry weight partitioning and hydraulic traits in young *Pinus taeda* trees fertilized with nitrogen and phosphorus in a subtropical area. *Tree Physiology* 33 (3): 241–251. <https://doi.org/10.1093/treephys/tps129>
- Filho FB, Ferreira ME, Vieira RD, Pessôa da Cruz MC, Pessôa da Cruz C MA, de Barros S T, C Lopes R JG. 2013. Adubação com fósforo e potássio para produção e qualidade de sementes de soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 48 (7): 783–790. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2013000700011>
- Gianoli E. 2004. Plasticity of traits and correlations in two populations of *Convolvulus arvensis* (Convolvulaceae) differing in environmental heterogeneity. *International Journal of Plant Sciences* 165 (5): 825–832. <https://doi.org/10.1086/422050>
- González M, Ríos D, Peña-Rojas K, García E, Acevedo M, Cartes E, Sánchez-Olate M. 2020. Efecto de la concentración de fósforo y calcio sobre atributos morfo-fisiológicos y potencial de crecimiento radical en plantas de *Aextoxicon punctatum* producidas a raíz cubierta en la etapa de endurecimiento. *Bosque (Valdivia)* 41 (2): 137–146. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002020000200137>
- Leite PB, Alvarez VVH, Barros NF, Neves JCL, Guarçoni MA. 2006. Níveis críticos de fósforo, para milho, em casa de vegetação, de acordo com a sua localização no solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 30 (3): 497–508.
- Lima AMN, Neves JCL, Silva IR, Leite FP. 2005. Cinética de absorção e eficiência nutricional de K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> e Mg<sup>2+</sup> em plantas jovens de quatro clones de eucalipto. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 29 (6): 903–909. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832005000600008>
- Malavolta E, Vitti EC, Oliveira SA. 1997. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações (2nd Edition); Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato: São Paulo, Brasil.
- Massone DS, Bartoli CG, Pastorino MJ. 2018. Efecto de la fertilización con distintas concentraciones de nitrógeno y potasio en el crecimiento de plantines de ciprés de la cordillera (*Austrocedrus chilensis*) en vivero. *Bosque (Valdivia)* 39 (3): 375–384. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002018000300375>
- Morais E, Zanatto ACS, Freitas MLM, de Moraes MLT, Sebbenn AM. 2010. Genetic variation, genotype × soil interaction and genetic gains in a *Corymbia citriodora* Hook progeny test in Luiz Antonio, São Paulo, Brazil. *Forest Sciences* 38 (85): 11-18.
- Novais, RF, Barros NF, Neves, JCL. 1986. Interpretação de análise química do solo para o crescimento e desenvolvimento de *Eucalyptus* spp. Níveis críticos de implantação e de manutenção. *Revista Árvore* 10 (1): 105–111.
- Oliet JA, Planelles R, Artero F, Domingo-Santos JM. 2016. Establishing *Acacia salicina* under dry Mediterranean conditions: The effects of nursery fertilization and tree shelters on a mid-term experiment with saline irrigation. *Ciencia e Investigación Agraria* 43 (1): 69–84. <https://doi.org/10.4067/S0718-16202016000100007>
- Oliveira JG, Silva VSG, Costa JPV. 2017. Comportamento de soja submetida a materiais fertilizantes e inoculação com bradyrhizobium. *Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações*. 15 (1): 66–72. <https://doi.org/10.5892/ruvrd.v15i1.3016>
- Raij BV, de Andrade JC, Cantarella H, Quaggio JA (eds.) 2001. Análises químicas para avaliação da fertilidade de solos tropicais. Campinas, Instituto Agrônomo: São Paulo, Brasil.

- Razaq M, Zhang P, Shen H, Salahuddin. 2017. Influence of nitrogen and phosphorous on the growth and root morphology of *Acer mono*. PLoS ONE 12: e0171321. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171321>
- Schumacher MV, Witschoreck R, Neves CF, Lopes VG. 2019. Manejo da biomassa e sustentabilidade nutricional em povoamentos de *Eucalyptus* spp. em pequenas propriedades rurais. *Ciência Florestal* 29 (1): 144–156. <https://doi.org/10.5902/198050985135>
- Schumacher MV, Ceconi DE, Santana CA. 2004. Influence of different phosphorus doses on the growth of angico-vermelho seedlings (*Parapiptadenia rigida* (Bentham) Brenan). *Revista Árvore* 28 (1): 149–155. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622004000100019>
- Stahl J, Ernani PR, Gatiboni LC, Chaves DM, Neves CU. 2013. Produção de massa seca e eficiência nutricional de clones de *Eucalyptus dunnii* e *Eucalyptus benthamii* em função da adição de doses de fósforo ao solo. *Ciência Florestal* 23 (2): 287–295. <https://doi.org/10.5902/198050989275>
- Vázquez-Cisneros I, Prieto-Ruíz JA, López-López MA, Wehenkel C, Domínguez-Calleros PA, FE Muñoz-Sáez. 2018. Growth and survival of a plantation of *Pinus greggii* Engelm. ex Parl. var. *greggii* under different fertilization treatments. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 24 (2): 251–264. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2017.05.036>

## DETERMINACIÓN DE LA DOSIS EFICIENTE DE FÓSFORO EN PLANTAS DE EUCALIPTO LIMÓN (*Corymbia citriodora*)

José Luis Soto-Gonzales<sup>1\*</sup>, Sergio Valiengo-Valeri<sup>2</sup>, Mara Cristina Pessôa-da-Cruz<sup>2</sup>, Rinaldo Cesar de Paula<sup>2</sup>, José Vulfrano González-Fernández<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Av. Carlos Germán Amézaga No. 375, Cercado de Lima, Lima, Perú. C. P. 15081.

<sup>2</sup>Universidade Estadual Paulista, UNESP-FCAV, Departamento de Produção Vegetal, Campus de Jaboticabal. Prof. Paulo Donato Castellane s/n, Jaboticabal, São Paulo, Brasil. C. P. 14884-900.

\* Autor para correspondencia: jls\_g\_dh@yahoo.es

### RESUMEN

El fósforo (P) es uno de los nutrientes más limitantes para las especies vegetales y su uso intensivo puede terminar las reservas en el mundo. En general, la producción forestal es inviable sin la disponibilidad de P. El objetivo del estudio fue determinar el efecto de la fertilización fosfatada en el crecimiento de plantas de cuatro familias de eucalipto limón (*Corymbia citriodora*). Se usaron plantas producidas a partir de semillas de cuatro árboles semilleros, los cuales se sometieron a siete dosis de fósforo: 0, 25, 50, 75, 100, 125 y 150 mg P dm<sup>-3</sup>. El experimento se realizó en un arreglo factorial de 7 × 4, con cuatro repeticiones y se usaron recipientes con 5 dm<sup>3</sup> de un suelo de tipo Latosol Rojo Eutroférrico. Las variables respuesta medidas fueron: altura mensual de las plantas, diámetro del cuello de la planta a los 90 días, peso de biomasa seca de hojas, raíces, tallos y ramas, y eficiencia de uso del fósforo en las hojas. Las variaciones de las características evaluadas en función de la concentración de fósforo se analizaron por medio de ecuaciones de regresión polinómica. La fertilización fosfatada es necesaria para el crecimiento y desarrollo de plantas de *C. citriodora*. Las plantas de los cuatro árboles semilleros de *C. citriodora* de distintas procedencias respondieron de manera diferencial a las dosis de fósforo. Se encontró que la cantidad de fósforo óptima oscila entre 30 y 100 mg dm<sup>-3</sup> de acuerdo con las características evaluadas y el árbol semillero.

**Palabras clave:** árboles semilleros, fertilización forestal, procedencias, dosis de fósforo, *Corymbia citriodora*

### INTRODUCCIÓN

El eucalipto limón (*Corymbia citriodora* Hill & Johnson) es una especie de tamaño mediano a grande, que puede llegar a medir 50 m de altura y 1.2 m de diámetro del tronco, con excelente forma de tronco y follaje ralo. Esta especie posee buenas características en la silvicultura, una de ellas es la calidad de la madera que produce (Morais *et al.*, 2010).

Estudios de eficiencia de uso de nutrientes entre clones de especies forestales realizados en invernadero son útiles para programas de mejoramiento genético que buscan la

**Citation:** Soto-Gonzales JL, Valiengo-Valeri S, Pessôa-da-Cruz MC, de Paula RC, González-Fernández JV. 2022. Determinación de la dosis eficiente de fósforo en plantas de eucalipto limón (*Corymbia citriodora*).

Agrociencia. 56(3): 518-546. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i3.2804>

**Editor in Chief:**  
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: August 16, 2021.  
Approved: March 31, 2022.

**Published in Agrociencia:**  
June 03, 2022.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International license.



selección precoz de éstas, pues las respuestas son obtenidas en períodos de corto tiempo. Determinar la dosis de fósforo adecuada es fundamental para la optimización de insumos como es el caso de fertilizantes químicos y de esta forma minimizar pérdidas. El uso de fertilizantes sintéticos en la producción forestal es cada vez más intenso, sobre todo en países en vías de desarrollo, y esto motiva estudios para minimizar pérdidas por lixiviación y contaminación de aguas. En América Latina, los principales países consumidores de fertilizantes de grupos comerciales son Brasil, Argentina, México y Colombia, los cuales junto con los demás países de esta región son altamente dependientes de importación de N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> y K<sub>2</sub>O (FAO, 2015). Por lo tanto, es necesario un uso más adecuado de las diferentes fuentes de fertilizantes a fin de fomentar la sustentabilidad.

En las primeras etapas de desarrollo, el suministro de fertilizantes fosfatados a plántulas de *C. citriodora* permite identificar el potencial en la eficiencia de uso de este elemento. Por ejemplo, Lima *et al.* (2005) identificaron diferencias en la capacidad de aprovechamiento del P entre clones de eucaliptos. Uno de los principales efectos de la deficiencia de P en las plantas se expresa en una disminución en el crecimiento foliar, como también en el número de hojas (Dussan *et al.*, 2016). La calidad de los plantones forestales puede ser evaluada por parámetros que se basan en aspectos fenotípicos, denominados morfológicos como altura de la parte aérea, diámetro de tallos, número de hojas y peso de biomasa seca de la parte aérea y de las raíces de las plantas (Oliveira *et al.*, 2017). Así, estos parámetros son fundamentales para la nutrición forestal.

En soya (*Glycine max*), la fertilización fosfatada aumentó la productividad, el peso de mil semillas y la producción de vainas y de granos por plantas (Filho *et al.*, 2013). El P es uno de los macronutrientes más demandados por las plantas, y debe estar disponible en etapas críticas como el desarrollo inicial de las plántulas después de la germinación de las semillas (Oliveira *et al.*, 2017). La hipótesis planteada en este trabajo es que el P juega un papel determinante en el desarrollo inicial de plántulas de eucalipto limón. El objetivo de esta investigación fue determinar del efecto de diferentes dosis de fertilizantes fosfatados en el crecimiento inicial de plantas de *Corymbia citriodora*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Zonas de ubicación de los árboles semilleros

Se emplearon semillas de árboles de eucalipto limón (*Corymbia citriodora*) de diferentes zonas de producción de semillas que están ubicados en la Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias de la Universidad Estadual Paulista (UNESP/FCAV), Campus de Jaboticabal, São Paulo (árbol número 4); en el Instituto Forestal del Estado de São Paulo (árbol número 7); en el Huerto Guaraní (HG), Pradópolis, São Paulo (árbol número 21); y en Borebi, São Paulo (árbol número 30), en Brasil.

### Análisis de concentración y contenido de fósforo en las hojas

Los análisis químicos para determinar la concentración de fósforo en las hojas de las plantas se realizaron en el Laboratorio de Postcosecha de Productos Hortícolas del

Departamento de Producción Vegetal, de la UNESP. Para ello, todas las hojas de cada árbol fueron lavadas con detergente neutro al 2 %, luego secadas con papel toalla. Una vez secas y a peso constante, las hojas fueron trituradas individualmente por árbol (conservando la identidad), usando moledora de acero. Con la concentración de P y la biomasa seca obtenida se estimó el contenido de P.

#### **Producción de plantas de *C. citriodora* en vivero**

Las plantas se produjeron vía semillas, las cuales se colocaron en tubos cónicos de plástico rígido con capacidad de 55 cm<sup>3</sup> (tubetes) y como substrato se usó Plantmax® Florestas compuesto a base de corteza de pino (*Pinus* spp.) y vermiculita (50:50, v:v). Estas plantas se produjeron en vivero cubierto por una malla con 30 % de reducción solar y riego por microaspersión intermitente con duración de 8 min e intervalos de 45 min con control automático. Cuando alcanzaron la altura media de 10 cm y la edad de 60 días después de la siembra, las plantas se trasplantaron en recipientes de plástico de 10 L (capacidad de 7 dm<sup>3</sup>), para los experimentos con diferentes dosis de fósforo. El experimento se realizó dentro de un invernadero con dimensiones de 30 m de largo, 5 m de ancho y 4.5 m de altura, techo cubierto con plástico y paredes laterales con malla anti áfidos.

#### **Diseño estadístico**

El experimento se realizó en diseño en bloques al azar en un arreglo factorial 7 × 4, donde el factor de estudio “Dosis de P” tuvo siete niveles: 0, 25, 50, 75, 100, 125 y 150 mg P dm<sup>-3</sup> y el factor “Árboles semilleros” cuatro niveles: Árbol 4, Árbol 7, Árbol 21 y Árbol 30. Cada uno de los 28 tratamientos tuvo cuatro repeticiones, lo que representa un total de 112 parcelas. Cada parcela se constituyó por un macetero que contenía dos plantas como unidad experimental, con un total de 224 plantas. Como fuente de P se usó superfosfato triple en polvo recomendado en plantas de áreas de producción de semillas.

#### **Colecta y análisis de suelo**

Se usó un suelo tipo Latosol Rojo Eutroférico que se colectó a una profundidad de 0 a 20 cm, en la hacienda Guatapará, sector A, debajo de una red eléctrica de alta tensión con las siguientes coordenadas geográficas: latitud: 21° 28' 19.17" S y longitud: 47° 58' 26.18" O. Esta ubicación pertenece a International Paper en el Distrito de Luiz Antonio, SP, Brasil.

El suelo se secó bajo sombra, se desterronó, y se cernió empleando un tamiz de 4 mm de abertura y luego se homogenizó. Se retiró una muestra compuesta de suelo para después realizarle un análisis químico, según los métodos propuestos por Raij *et al.* (2001). El suelo fue analizado en el Laboratorio de Fertilidad de Suelos del Departamento de Suelos y Fertilizantes de la FCAV-UNESP, Jaboticabal-SP, Brasil. Los resultados que se obtuvieron son: fósforo (P) extraído con resina: 4 mg dm<sup>-3</sup>; materia orgánica (MO): 19 g dm<sup>-3</sup>; pH en CaCl<sub>2</sub>: 4.2; K<sup>+</sup>: 0.6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Ca<sup>2+</sup>: 6 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>;

$Mg^{2+}$ :  $2 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ;  $H+Al$ :  $38 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; capacidad de intercambio catiónico (CIC):  $47 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; y porcentaje de saturación de bases (PSB): 18 %.

### **Pesaje de fertilizantes químicos y aplicación en maceteros**

Se usó una balanza analítica de precisión con cuatro decimales para el pesaje de los productos químicos. Con base en los resultados del análisis químico del suelo, se realizó la aplicación de carbonato de calcio y carbonato de magnesio ( $2.5067 \text{ g CaCO}_3$  y  $1.2157 \text{ g MgCO}_3$ ) en la proporción de Ca:Mg de 2:1, con la finalidad de elevar el porcentaje de saturación de bases del suelo al 50 %. En cada tratamiento se aplicó fertilizante fosfatado (Agroadubo) como se indica: Dosis 0: sin fósforo; Dosis 25:  $0.6944 \text{ mg P dm}^{-3}$ ; Dosis 50:  $1.3888 \text{ mg P dm}^{-3}$ ; Dosis 75:  $2.0832 \text{ mg P dm}^{-3}$ ; Dosis 100:  $2.7776 \text{ mg P dm}^{-3}$ ; Dosis 125:  $3.4720 \text{ mg P dm}^{-3}$ ; y Dosis 150:  $4.1664 \text{ mg P dm}^{-3}$ . Esas dosis se mezclaron con los carbonatos y con el suelo. Posteriormente, el suelo se transfirió a los maceteros de plástico de  $7 \text{ dm}^3$ , para iniciar el periodo de 30 d de incubación.

Diez días después del inicio de la incubación, se aplicaron a todos los tratamientos las siguientes dosis de nutrientes:  $15 \text{ mg N dm}^{-3}$  (sulfato de amonio);  $15 \text{ mg K dm}^{-3}$  (cloruro de potasio);  $0.5 \text{ mg B dm}^{-3}$  (ácido bórico);  $1.0 \text{ mg Zn dm}^{-3}$  (sulfato de zinc);  $0.5 \text{ mg Cu dm}^{-3}$  (sulfato de cobre);  $1.5 \text{ mg Mn dm}^{-3}$  (cloruro de manganeso) y  $0.02 \text{ mg Mo dm}^{-3}$  (molibdato de amonio), a través de solución y respetando más 20 d para completar el periodo de incubación. Una vez que transcurrieron 30 d, el suelo se retiró con cuidado de los maceteros de manera individual y se secó sobre plásticos dentro del invernadero. Luego, cada tratamiento se homogenizó y se muestreó para análisis químico de P que consistió en extracción de resina de intercambio iónico para P y determinado por espectrofotometría de llama (Raij *et al.*, 2001).

### **Instalación, conducción y finalización del experimento**

Las plantas se establecieron con las raíces adheridas al sustrato de los tubos cónicos de plástico, dado que esta especie no resiste trasplante con raíz desnuda. Se realizaron irrigaciones diarias considerando el peso del suelo de cada macetero y tomando en cuenta la pérdida de agua diaria del suelo contenido en los maceteros por causa de la evapotranspiración. De esta forma la humedad del suelo se mantuvo al 70 % de la capacidad de campo.

El experimento se realizó por un periodo de 90 d. La altura de planta se registró a los 30, 60, 75 y 90 d después del trasplante, utilizando una cinta métrica de 20 m con una precisión de 8.6 mm a cada 2.1 mm. El día 90 se determinó el diámetro de la base de cuello del tallo principal de las plantas con un vernier digital (0.01 mm). En seguida se procedió al corte de las plantas a 3 cm sobre el diámetro de cuello, luego se colocaron en bolsas de plástico con previa identificación, transportadas a laboratorio y separadas en hojas, ramas y tallos. Las raíces se extrajeron de los maceteros, fueron lavadas y cernidas para evitar pérdidas.

Se determinó el área total de las hojas con el uso de un aparato electrónico con sistema de análisis de imagen Delta-T Devices. Todas las muestras se lavaron con agua y

detergente neutro en un porcentaje de 0.1 % (1 mL:1 L de agua), para evitar errores en los análisis. En seguida las muestras se enjuagaron cuatro veces con agua desmineralizada y se secaron con papel absorbente. Después se procedió a determinar el peso de biomasa seca de los diferentes componentes de la planta: hojas, tallos, ramas y raíces. Las muestras se depositaron en bolsas de papel y se colocaron dentro de una estufa de circulación forzada de aire, a 70 °C hasta llegar a peso constante. Concluida la determinación del peso de biomasa seca de las diferentes partes de la planta, las hojas se molieron con el uso de un molino de acero inoxidable del tipo Wiley, con tamiz de 0.841 mm.

Para determinar la concentración de P en las hojas, se obtuvo una muestra compuesta y molida de cada repetición de 0.25 g y se colocaron dentro de tubos de ensayo para análisis. Se preparó una solución en la proporción de 2:1 (v:v), ácido perclórico y ácido nítrico (nítrico-perclórica; luego se adicionaron 3 mL a cada tubo conteniendo la muestra a ser digerida. La determinación de P existente en el material vegetal se realizó a través del uso de metavanadato y molibdato de amonio, de acuerdo con la metodología descrita por Malavolta *et al.* (1997).

La eficiencia de uso de fósforo en las hojas (EUP) se calculó por la relación:

$$\text{EUP (en las hojas)} = \frac{(\text{PS})^2}{\text{CPH}}$$

Donde:

PS = peso de biomasa seca y CPH = contenido de fósforo en las hojas.

El CPH se estimó considerando los pesos de biomasa seca de hojas y las concentraciones foliares de fósforo (P).

Los datos se sometieron al análisis de varianza, regresión y la prueba de comparación de medias se hizo por Tukey al 5 % de probabilidad.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Contenido de fósforo y altura de las plantas

Al analizar los valores de F en el Cuadro 1 se puede observar que el factor “Árboles semilleros” tuvo efectos altamente significativos ( $p \leq 0.01$ ) sobre la altura de plantas en todas las mediciones hechas, en tanto que el factor “Dosis de P” afectó significativamente ( $p \leq 0.05$ ) esta variable. Resultó interesante observar que la interacción entre los factores no tuvo efectos significativos ( $p > 0.05$ ) sobre esta misma variable.

El análisis del factor “Árboles semilleros” mostró que en las primeras mediciones realizadas a los 30 días después de aplicados los tratamientos (ddat), las plantas procedentes de semillas del árbol 21 mostraron mayor altura respecto a los demás árboles, excepto a las del árbol 7 (Cuadro 1). Esta misma tendencia se observó en las mediciones hechas a los 60 días. A los 75 y 90 ddat, las medias de las plantas procedentes de los árboles 4, 7 y 21 fueron estadísticamente similares, y la más baja fue la que mostró

**Cuadro 1.** Análisis de varianza para porcentaje de fósforo en el suelo después de incubación por 30 días y medias para altura de planta en función de las dosis de P a los 30, 60, 75 y 90 d del después del trasplante, provenientes de cuatro árboles semilleros de *Corymbia citriodora*.

| Fuentes de variación            | Valores de F       |                    |                    |                    |
|---------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|                                 | 30 d               | 60 d               | 75 d               | 90 d               |
| Árboles semilleros              | 6.35**             | 12.67**            | 9.46**             | 5.00**             |
| Dosis de P                      | 2.36*              | 2.47*              | 2.97*              | 3.49**             |
| Árboles semilleros × Dosis de P | 1.19 <sup>ns</sup> | 1.47 <sup>ns</sup> | 1.19 <sup>ns</sup> | 1.14 <sup>ns</sup> |
| CV (%)                          | 15.60              | 17.15              | 15.37              | 14.34              |

| Árboles semilleros | Altura de planta (cm) |          |         |          |
|--------------------|-----------------------|----------|---------|----------|
|                    | 30 d                  | 60 d     | 75 d    | 90 d     |
| 4                  | 13.84 c               | 39.92 bc | 46.91 a | 52.51 ab |
| 7                  | 15.70 ab              | 44.92 ab | 49.27 a | 54.50 a  |
| 21                 | 16.23 a               | 47.42 a  | 51.19 a | 55.30 a  |
| 30                 | 14.38 bc              | 36.60 c  | 41.46 b | 48.17 b  |

Medias seguidas por letras distintas en cada columna, para cada etapa de evaluación, son estadísticamente diferentes (Tukey;  $p \leq 0.05$ ). ns = no significativo ( $p > 0.05$ ), \* $p \leq 0.05$ . \*\* $p \leq 0.01$ . CV = coeficientes de variación.

el árbol 30, que a los 90 ddat fue estadísticamente similar a la que mostró el árbol 4. La variabilidad genética existente entre individuos de la misma especie podría ser una de las principales causas de estas diferencias.

La aplicación de P afectó diferencialmente la altura de las plantas. Entre los 30 y 60 d, se verificó que hubo efecto de las dosis de P aplicadas para la altura de las plantas (Cuadro 2).

El desdoblamiento de grados de libertad del factor "Dosis de P" en altura de *C. citriodora* muestra efectos crecientes y lineales con ecuaciones muy parecidas, lo cual demuestra efectos muy significativos con ecuaciones cuadráticas para los árboles semilleros 21 a los 60 y 75 d de crecimiento, y 30 a los 60, 75 y 90 d (Cuadro 2).

En algunas especies del género *Eucalyptus* establecidas en suelos arcillosos, la aplicación de 60 mg P dm<sup>-3</sup> se ubican debajo del nivel crítico para su desarrollo y crecimiento inicial (Novais *et al.*, 1986).

Las respuestas positivas obtenidas con la aplicación de P demuestran que este nutriente es indispensable para el crecimiento inicial de *C. citriodora*. La mayoría de las especies de árboles responden a la fertilización con dosis crecientes de macronutrientes, los cuales producen porcentajes propicios en cuanto a evaluaciones morfológicas, nutricionales y sobre todo en términos de expansión radical (Oliet *et al.*, 2016, Razaq *et al.*, 2017).

La asignación de carbohidratos estructurales es un atributo con fuerte control genético, aunque puede variar de acuerdo con las diferentes fases del crecimiento de los árboles,

**Cuadro 2.** Análisis de regresión y medias de los porcentajes de fósforo en el suelo 30 días después de la incubación respecto a altura de plantas de cuatro árboles semilleros de *Corymbia citriodora* a los 30, 60, 75 y 90 días después de la plantación.

| Árboles semilleros | Regresión | Valores de F       |                     |                     |                     |
|--------------------|-----------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|                    |           | 30 d               | 60 d                | 75 d                | 90 d                |
| 4                  | Linear    | 0.40 <sup>ns</sup> | 1.86 <sup>ns</sup>  | 2.96 <sup>ns</sup>  | 3.29 <sup>ns</sup>  |
|                    | Quadratic | 1.51 <sup>ns</sup> | 1.01 <sup>ns</sup>  | 0.75 <sup>ns</sup>  | 0.43 <sup>ns</sup>  |
|                    | Cubic     | 0.41 <sup>ns</sup> | 1.99 <sup>ns</sup>  | 0.27 <sup>ns</sup>  | 0.01 <sup>ns</sup>  |
| 7                  | Linear    | 1.35 <sup>ns</sup> | 0.89 <sup>ns</sup>  | 2.20 <sup>ns</sup>  | 1.01 <sup>ns</sup>  |
|                    | Quadratic | 0.01 <sup>ns</sup> | 0.70 <sup>ns</sup>  | 0.76 <sup>ns</sup>  | 0.71 <sup>ns</sup>  |
|                    | Cubic     | 1.32 <sup>ns</sup> | 1.91 <sup>ns</sup>  | 0.69 <sup>ns</sup>  | 0.35 <sup>ns</sup>  |
| 21                 | Linear    | 2.66 <sup>†</sup>  | 0.02 <sup>ns</sup>  | 0.01 <sup>ns</sup>  | 0.00 <sup>ns</sup>  |
|                    | Quadratic | 0.54 <sup>ns</sup> | 4.99 <sup>*</sup>   | 4.02 <sup>*</sup>   | 3.62 <sup>ns</sup>  |
|                    | Cubic     | 0.03 <sup>ns</sup> | 0.44 <sup>ns</sup>  | 1.00 <sup>ns</sup>  | 1.65 <sup>ns</sup>  |
| 30                 | Linear    | 0.45 <sup>ns</sup> | 0.01 <sup>ns</sup>  | 0.46 <sup>ns</sup>  | 0.92 <sup>ns</sup>  |
|                    | Quadratic | 3.43 <sup>ns</sup> | 14.01 <sup>**</sup> | 14.87 <sup>**</sup> | 16.20 <sup>**</sup> |
|                    | Cubic     | 0.00 <sup>ns</sup> | 0.25 <sup>ns</sup>  | 0.16 <sup>ns</sup>  | 0.29 <sup>ns</sup>  |

| Dosis de P<br>(mg dm <sup>-3</sup> ) | Altura de planta (cm) |       |       |       |
|--------------------------------------|-----------------------|-------|-------|-------|
|                                      | 30 d                  | 60 d  | 75 d  | 90 d  |
| 0                                    | 15.40                 | 37.83 | 41.75 | 46.30 |
| 25                                   | 14.34                 | 41.99 | 46.37 | 52.64 |
| 50                                   | 16.10                 | 45.48 | 50.59 | 56.34 |
| 75                                   | 14.23                 | 41.14 | 46.16 | 51.06 |
| 100                                  | 16.05                 | 45.43 | 50.75 | 55.53 |
| 125                                  | 13.85                 | 43.79 | 48.63 | 55.38 |
| 150                                  | 15.30                 | 39.95 | 46.21 | 51.09 |

Medias seguidas por letras distintas en cada columna, para cada etapa de evaluación, son estadísticamente diferentes (Tukey;  $p \leq 0.05$ ). ns=no significativo ( $p > 0.05$ ). \* =  $p \leq 0.05$ . \*\* =  $p \leq 0.01$ .

las condiciones ambientales y la densidad de siembra (Schumacher *et al.*, 2019). La capacidad de absorción de nutrientes y la respuesta en el crecimiento pueden variar entre especies, procedencias, progenies y clones forestales. En los árboles semilleros empleados en este estudio se observaron valores atribuidos a la variabilidad genética dentro de la especie.

#### Diámetro de la base del tallo principal, área foliar y biomasa seca

En este estudio se observaron efectos significativos de los factores “Árboles semilleros” y “Dosis de P” para todas las variables estudiadas (Cuadro 3), y también de la interacción entre estos dos factores estudiados, respecto a producción de biomasa seca de hojas y de raíces (Cuadro 4).

Los valores de coeficiente de variación se consideraron medios para el diámetro de la base del tallo principal, altos para el área foliar, altos para biomasa seca de hojas, tallos

**Cuadro 3.** Análisis de varianza para diámetro de cuello de la planta (D), área foliar (AF), biomasa seca de hojas (BSH), biomasa seca de tallos y ramas (BSTR), y biomasa seca de raíces (MSR), de plantas provenientes de cuatro árboles semilleros de *Corymbia citriodora* en función de las dosis de fósforo a los 90 días después de la plantación.

| Fuentes de variación            | Valores de F       |                    |         |                    |         |
|---------------------------------|--------------------|--------------------|---------|--------------------|---------|
|                                 | D                  | AF                 | BSH     | BSTR               | BSR     |
| Árboles semilleros              | 5.78**             | 6.38**             | 14.28** | 5.86**             | 13.03** |
| Dosis de P                      | 2.97*              | 4.79**             | 5.33**  | 8.70**             | 2.54*   |
| Árboles semilleros × Dosis de P | 1.58 <sup>ns</sup> | 0.78 <sup>ns</sup> | 1.86*   | 1.47 <sup>ns</sup> | 1.77*   |
| CV (%)                          | 12.43              | 25.41              | 22.90   | 23.58              | 30.80   |

| Árboles semilleros | Medias |                       |         |          |         |
|--------------------|--------|-----------------------|---------|----------|---------|
|                    | D (mm) | ÁF (cm <sup>2</sup> ) | MSH (g) | MSTR (g) | MSR (g) |
| 4                  | 4.94 a | 915.50 ab             | 7.08 bc | 5.00 ab  | 4.65 b  |
| 7                  | 4.92 a | 998.60 a              | 8.12 ab | 5.31 ab  | 5.01 ab |
| 21                 | 4.91 a | 1076.60 a             | 8.89 a  | 5.80 a   | 5.83 a  |
| 30                 | 4.38 b | 807.79 b              | 6.05 c  | 4.47 b   | 3.43 c  |

D: Diámetro de la base del tallo principal de la planta; AF: área foliar; BSH: biomasa seca de hojas; BSTR: biomasa seca de tallos y ramas; BSR: biomasa seca de raíces. Medias seguidas letras distintas, en cada columna, para cada característica evaluada, difieren estadísticamente (Tukey;  $p \leq 0.05$ ). ns = no significativo ( $p > 0.05$ ), \*  $p \leq 0.05$ . \*\*  $p \leq 0.01$ . CV = coeficientes de variación.

y ramas, y muy altos para biomasa seca de raíces (Cuadro 3). Estos mayores valores de coeficiente de variación para peso de biomasa de raíces pueden estar asociados a la variabilidad genética existente entre los árboles semilleros.

Los árboles 4, 7 y 21 produjeron plantas con diámetro de tallo similares entre sí, y superiores a las del árbol 30, cuyas plantas presentaron el menor diámetro. Igualmente, los árboles 4, 7 y 21 produjeron plantas con similar área foliar entre sí, aunque el área foliar de las plantas provenientes del árbol 4 fue estadísticamente semejante a las del árbol 30. Las medias más altas del peso de la biomasa seca de hojas (BSH) se observaron en plantas producidas por los árboles 21 y 7, y la media más baja en plantas de los árboles 4 y 30; los árboles 4 y 7 mostraron plantas con medias estadísticamente semejantes para esta variable. Para peso de la biomasa seca de tallos y ramas (BSTR), las plantas de los árboles 4, 7 y 21 mostraron medias semejantes entre sí, y las del árbol 30 fueron las más bajas, estadísticamente semejantes también a las que mostraron las plantas de los árboles 4 y 7. El peso de la biomasa seca de raíces (BSR) fue mayor en plantas de los árboles 7 y 21, y menor en plantas del árbol 30; las medias de las plantas de los árboles 4 y 7 fueron estadísticamente semejantes (Cuadro 3).

Al realizar una búsqueda exhaustiva en la literatura especializada, no se encontraron investigaciones sobre el efecto de la fertilización fosfatada en este tipo de árboles

**Cuadro 4.** Análisis de regresión y medias de diámetro del cuello de la planta (D), área foliar (AF), biomasa seca de hojas (BSH), biomasa seca de tallos y ramas (BSTR), y masa seca de raíces (BSR), de plantas provenientes de cuatro árboles semilleros de *Corymbia citriodora* en función de las dosis de fósforo a los 90 días después de la plantación.

| Árboles semilleros | Regresión | Valores de F       |                    |                     |                     |                    |
|--------------------|-----------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|--------------------|
|                    |           | D                  | ÁF                 | MSH                 | MSTR                | MSR                |
| 4                  | Linear    | 2.32 <sup>ns</sup> | 7.43 <sup>**</sup> | 10.95 <sup>**</sup> | 8.49 <sup>**</sup>  | 3.03 <sup>ns</sup> |
|                    | Quadratic | 0.06 <sup>ns</sup> | 0.25 <sup>ns</sup> | 0.32 <sup>ns</sup>  | 0.00 <sup>ns</sup>  | 0.02 <sup>ns</sup> |
|                    | Cubic     | 3.88 <sup>ns</sup> | 0.42 <sup>ns</sup> | 0.07 <sup>ns</sup>  | 0.37 <sup>ns</sup>  | 1.81 <sup>ns</sup> |
| 7                  | Linear    | 1.95 <sup>ns</sup> | 0.92 <sup>ns</sup> | 1.32 <sup>ns</sup>  | 6.2 <sup>*</sup>    | 0.56 <sup>ns</sup> |
|                    | Quadratic | 3.07 <sup>ns</sup> | 0.24 <sup>ns</sup> | 4.08 <sup>*</sup>   | 6.76 <sup>*</sup>   | 3.76 <sup>ns</sup> |
|                    | Cubic     | 3.22 <sup>ns</sup> | 0.01 <sup>ns</sup> | 2.74 <sup>ns</sup>  | 1.07 <sup>ns</sup>  | 5.29 <sup>*</sup>  |
| 21                 | Linear    | 0.04 <sup>ns</sup> | 6.09 <sup>*</sup>  | 1.58 <sup>ns</sup>  | 2.70 <sup>ns</sup>  | 0.25 <sup>ns</sup> |
|                    | Quadratic | 7.58 <sup>**</sup> | 8.49 <sup>**</sup> | 5.25 <sup>*</sup>   | 10.44 <sup>**</sup> | 4.60 <sup>*</sup>  |
|                    | Cubic     | 1.23 <sup>ns</sup> | 2.07 <sup>ns</sup> | 3.87 <sup>ns</sup>  | 2.04 <sup>ns</sup>  | 0.12 <sup>ns</sup> |
| 30                 | Linear    | 0.07 <sup>ns</sup> | 4.91 <sup>*</sup>  | 0.05 <sup>ns</sup>  | 1.14 <sup>ns</sup>  | 0.92 <sup>ns</sup> |
|                    | Quadratic | 4.75 <sup>*</sup>  | 4.64 <sup>*</sup>  | 15.77 <sup>**</sup> | 20.93 <sup>**</sup> | 6.83 <sup>*</sup>  |
|                    | Cubic     | 0.06 <sup>ns</sup> | 0.08 <sup>ns</sup> | 0.00 <sup>ns</sup>  | 0.06 <sup>ns</sup>  | 0.59 <sup>ns</sup> |

| Dosis de P (mg dm <sup>-3</sup> ) | Means  |                       |                             |                              |                             |
|-----------------------------------|--------|-----------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|
|                                   | D (mm) | AF (cm <sup>2</sup> ) | BSH (g leaf <sup>-1</sup> ) | BSTR (g leaf <sup>-1</sup> ) | BSR (g leaf <sup>-1</sup> ) |
| 0                                 | 4.36   | 698.69                | 5.64                        | 3.44                         | 3.98                        |
| 25                                | 4.73   | 836.88                | 7.08                        | 4.73                         | 4.47                        |
| 50                                | 5.11   | 1033.62               | 8.79                        | 6.01                         | 5.64                        |
| 75                                | 4.75   | 990.43                | 7.58                        | 5.24                         | 4.87                        |
| 100                               | 4.97   | 1038.43               | 8.27                        | 5.83                         | 5.04                        |
| 125                               | 4.99   | 1047.38               | 7.81                        | 5.82                         | 5.00                        |
| 150                               | 4.61   | 1001.93               | 7.60                        | 4.95                         | 4.14                        |

D: Diámetro de la base del tallo principal de la planta; AF: área foliar; BSH: biomasa seca de hojas; BSTR: biomasa seca de tallos y ramas; BSR: biomasa seca de raíces. Medias seguidas por letras distintas, en cada columna, para cada característica evaluada, son estadísticamente diferentes (Tukey;  $p \leq 0.05$ ). ns = no significativo ( $p > 0.05$ ). \* =  $p \leq 0.05$ . \*\* =  $p \leq 0.01$ .

forestales. De hecho, la mayor dificultad para el diseño de nuevos experimentos es la carencia de estudios que ofrezcan informaciones previas y detalladas respecto a la selección de árboles matrices (Barreiros *et al.*, 2002). En *Pinus greggii* var. *greggii*, se encontró el suministro diferencial de nitrógeno y potasio afectan significativamente la concentración de fósforo en las hojas (Vázquez-Cisneros *et al.*, 2018). El fósforo se almacena en las hojas de la planta, difiriendo en función del árbol semillero, probablemente por características fisiológicas y genéticas de la planta.

El “consumo de lujo” de un fertilizante (aumento de la disponibilidad de un nutriente que no genera aumento en la tasa de crecimiento) puede no ser perjudicial para la planta, aunque representa un desperdicio de este insumo y un gasto innecesario (Massone *et al.*, 2018). Debido a ello, esta investigación determinó una dosis que sea

necesaria para el crecimiento de *C. citriodora* y de esta forma evitar desperdicios o fitotoxicidad.

No hubo evidencia de que las raíces de las plantas de *C. citriodora* hubiesen crecido más que la parte aérea, con base en los datos de peso de biomasa. En las plantas provenientes del árbol semillero 21, se observó mayor exigencia en fósforo (cerca de 100 mg P dm<sup>-3</sup>) para obtener la máxima área foliar, máxima producción de biomasa seca de hojas, de tallos y de ramas, en comparación con la producción de biomasa seca de raíces (cerca de 65 mg P dm<sup>-3</sup>). Esto indica que se trata de un material genético eficiente en absorción de fósforo y producción de biomasa. El análisis de los árboles semillero 21 y 30 muestra regresiones lineales positivas y significativas, en tanto que la regresión cuadrática de los árboles semilleros 4 y 7 también se observan efectos significativos para algunos órganos, pero no para la raíz (Cuadro 4). En *Euterpe edulis* se observó que la hoja fue el segundo órgano en acumular nutrientes al suministrar 26.2 % de fósforo en árboles de 2, 4, 6 y 8 años (Schumacher *et al.*, 2019). Esta afirmación se asemeja a los resultados obtenidos en esta investigación, únicamente variando la edad de las plantas que fue de 6 meses.

El diámetro de la base del cuello principal de la planta presentó efecto cuadrático para los árboles semilleros 21 y 30 (Cuadro 4). Esta variable de crecimiento, además de ser influenciada por la fertilización, es muy usada como indicador de calidad de árboles forestales.

El fósforo contribuye a optimizar las medidas morfológicas de la planta, acrecentar los porcentajes nutricionales internos y estimular el desarrollo del sistema radical (Razaq *et al.*, 2017). En este estudio la parte aérea se desarrolló más que las raíces, debido a la fertilización fosfatada (Cuadro 3).

En *Psidium guajava*, la deficiencia del fósforo y nitrógeno disminuyó área foliar y número de hojas (Dussan *et al.*, 2016). En clones de *Eucalyptus dunnii* y *Eucalyptus benthamii* cultivadas en macetas, la adición de fósforo al suelo aumentó la producción de biomasa seca de hojas e interfirió con los parámetros relacionados con la eficiencia nutricional (Stahl *et al.*, 2013).

### **Concentración, contenido y eficiencia de uso de fósforo en las hojas**

Hubo variación entre árboles semilleros y entre los tratamientos de fósforo para contenido y eficiencia en uso de este nutrimento en hojas de *C. citriodora*.

El árbol 30 fue el menos eficiente en el uso del fósforo en comparación con los otros árboles semilleros, en tanto que el árbol 21 presentó la media más alta para esta variable, con 29.38 mg P dm<sup>-3</sup>. El árbol 30 presentó la mayor media para concentración foliar de fósforo con la dosis de 57.25 mg P dm<sup>-3</sup>, y para eficiencia de uso de fósforo y del árbol semillero 30 la eficiencia se estimó en 3623.46, con la dosis de 61.68 mg P dm<sup>-3</sup> (Cuadro 5).

A pesar de haber existido efecto significativo para la interacción entre factores para contenido de fósforo acumulado en las hojas por planta, se realizó el análisis de grados de libertad para el estudio de los efectos de las dosis de fósforo con la concentración

**Cuadro 5.** Análisis de varianza de la concentración de fósforo, contenido de fósforo y eficiencia en el uso de fósforo en hojas de plantas provenientes de cuatro árboles semilleros de *Corymbia citriodora* en función de las dosis de fósforo, a los 90 días después del trasplante.

| Fuentes de variación            | Valores de F       |                |                                 |
|---------------------------------|--------------------|----------------|---------------------------------|
|                                 | Concentración de P | Contenido de P | Eficiencia en el uso de fósforo |
| Árboles semilleros              | 21.61**            | 2.80*          | 23.02**                         |
| Dosis de P                      | 35.23**            | 22.02**        | 5.32**                          |
| Árboles semilleros × Dosis de P | 1.06 <sup>ns</sup> | 2.78**         | 1.56 <sup>ns</sup>              |
| CV (%)                          | 12.83              | 22.66          | 28.74                           |

| Árboles semilleros | Means   |   |                                 |
|--------------------|---|---|---------------------------------|
|                    | Concentración de P (g kg <sup>-1</sup> de materia seca) | Contenido de P (mg planta <sup>-1</sup> ) | Eficiencia en el uso de fósforo |
| 4                  | 1.58b   | 11.45 ab                                  | 4582.78 b                       |
| 7                  | 1.41c   | 11.40 ab                                  | 6064.46 a                       |
| 21                 | 1.39c   | 12.52 a                                   | 6588.60 a                       |
| 30                 | 1.78a   | 10.51 b                                   | 3623.46b                        |

Medias seguidas por letras distintas, en cada columna, para cada característica evaluada, son estadísticamente diferentes (Tukey;  $p \leq 0.05$ ). ns = no significativo ( $p > 0.05$ ), \* $p \leq 0.05$ . \*\* $p \leq 0.01$ . CV = coeficientes de variación.

de fósforo, contenido en miligramos y eficiencia de absorción de fósforo por las hojas para los árboles semilleros estudiados. Según los análisis de regresión realizados para todas las variables estudiadas como concentración y contenido de P, así como de eficiencia de uso en fósforo fue lineal, excepto para los árboles 4 y 30; sin embargo, éstas obtuvieron regresión cuadrática positiva. Las plantas del árbol 21 mostraron efectos significativos en todas las características evaluadas (Cuadro 6).

Las variaciones entre árboles semilleros con relación a las cantidades y eficiencias de uso de fósforo están relacionadas con la variabilidad genética entre árboles semilleros y los resultados expresan que el árbol semillero 21 fue el más eficiente en el uso de fósforo para producción de biomasa de hojas. En la etapa inicial de desarrollo de las plantas, existe la probabilidad de alta demanda de fósforo, como constatado por (Leite *et al.*, 2006).

La concentración y la cantidad de fósforo en las hojas aumentó con el incremento de las dosis de fósforo. Para el árbol semillero 21, hubo un efecto de tercer grado en las dosis de fósforo para eficiencia de utilización de fósforo en las hojas. Sin embargo, con dosis mayores a 30 mg P dm<sup>-3</sup> hubo reducción en la eficiencia de utilización de este elemento químico.

**Cuadro 6.** Análisis de regresión para concentración de fósforo, contenido de fósforo y eficiencia en el uso de fósforo en hojas de plantas provenientes de cuatro árboles semilleros de *Corymbia citriodora* en función de las dosis de fósforo, a los 90 días después del trasplante.

| Árboles semilleros | Regresión | Valores de F       |                    |                                 |
|--------------------|-----------|--------------------|--------------------|---------------------------------|
|                    |           | Concentración de P | Contenido de P     | Eficiencia en el uso de fósforo |
| 4                  | Linear    | 44.21**            | 46.69**            | 0.06 <sup>ns</sup>              |
|                    | Quadratic | 3.18 <sup>ns</sup> | 0.02 <sup>ns</sup> | 1.46 <sup>ns</sup>              |
|                    | Cubic     | 0.01 <sup>ns</sup> | 0.29 <sup>ns</sup> | 0.28 <sup>ns</sup>              |
| 7                  | Linear    | 38.91**            | 24.02**            | 7.96**                          |
|                    | Quadratic | 0.12 <sup>ns</sup> | 3.93 <sup>ns</sup> | 1.34 <sup>ns</sup>              |
|                    | Cubic     | 2.06 <sup>ns</sup> | 0.64 <sup>ns</sup> | 3.59 <sup>ns</sup>              |
| 21                 | Linear    | 57.34**            | 35.37**            | 10.74**                         |
|                    | Quadratic | 0.15 <sup>ns</sup> | 1.89 <sup>ns</sup> | 4.10*                           |
|                    | Cubic     | 0.45 <sup>ns</sup> | 0.57 <sup>ns</sup> | 5.64*                           |
| 30                 | Linear    | 52.11**            | 7.88**             | 2.10 <sup>ns</sup>              |
|                    | Quadratic | 4.44*              | 24.83**            | 5.56**                          |
|                    | Cubic     | 0.54 <sup>ns</sup> | 0.35 <sup>ns</sup> | 0.01 <sup>ns</sup>              |

| Dosis de P (mg dm <sup>-3</sup> ) | Medias  |   |                                 |
|-----------------------------------|---|---|---------------------------------|
|                                   | Concentración de P (g kg <sup>-1</sup> de materia seca) | Contenido de P (mg planta <sup>-1</sup> ) | Eficiencia en el uso de fósforo |
| 0                                 | 1.09  | 5.93                                      | 5469.00                         |
| 25                                | 1.34  | 9.33                                      | 5524.43                         |
| 50                                | 1.38  | 11.90                                     | 6676.62                         |
| 75                                | 1.56  | 11.49                                     | 5146.81                         |
| 100                               | 1.64  | 13.04                                     | 5312.87                         |
| 125                               | 1.95  | 15.27                                     | 4019.12                         |
| 150                               | 1.80  | 13.34                                     | 4354.93                         |

Medias seguidas por letras distintas, en cada columna, para cada característica evaluada, son estadísticamente diferentes (Tukey;  $p \leq 0.05$ ). ns = no significativo ( $p > 0.05$ ). \* =  $p \leq 0.05$ . \*\* =  $p \leq 0.01$ .

Cuando una planta se encuentra en una situación de baja disponibilidad de fósforo, ella tiende a utilizarla de forma más eficiente, contrario a lo que se observa cuando es sometida a condiciones de mayor fertilidad (Stahl *et al.*, 2013).

En la presente investigación el árbol 21 fue el más eficiente en el uso del fósforo (Cuadro 5). El potencial que posee un mismo genotipo para producir diferentes fenotipos en respuesta a diferentes condiciones ambientales es uno de los medios de los vegetales que pueden ajustar su morfología y fisiología permitiéndoles enfrentarse a la heterogeneidad ambiental (Gianoli, 2004).

Dosis altas de fósforo (300 mg L<sup>-1</sup>) durante la etapa de madures de los tejidos de plantas de *Aextoxicon punctatum* producen las mayores concentraciones nutricionales

foliares de nitrógeno y las menores de calcio (González *et al.*, 2020). En este estudio se observó que los tratamientos con la dosis óptima fueron más eficientes en el transporte de ion fosfato de baja disponibilidad al interior de la planta.

La pequeña variación en la concentración foliar de fósforo con relación a las dosis aplicadas demuestra la ocurrencia de un efecto de dilución, proporcionada por la mayor producción vegetal con la aplicación de fósforo, con mayor producción de biomasa de hojas que tallos y ramas (Cuadro 5). En una investigación con cuatro familias de *Pinus* y fertilización con fósforo, el P aumentó el crecimiento de las plantas de las cuatro familias, y la fertilización con fósforo cambió algunos parámetros hidráulicos, pero esos cambios no afectaron el crecimiento (Faustino *et al.*, 2013). Además, se observó que conforme las plantas tienen más edad, el aumento de la capacidad del sistema radical para explorar cantidades mayores del suelo y en consecuencia cantidades mayores de fósforo para su crecimiento.

Los árboles semilleros que producen mayor volumen de madera, presentan mayor crecimiento en altura y exportan diferentes cantidades de fósforo del suelo hacia la parte aérea de la planta, siendo los más indicados debido a la limitación de este nutriente en suelos destinados a plantaciones. El uso de árboles semilleros explora la posibilidad de reducir la manifestación de esta heterogeneidad genética entre árboles semilleros en un bosque y en plantaciones. En un estudio con *Parapiptadenia rigida* se observó mayor crecimiento en plantas jóvenes con la dosis de 450 mg P kg<sup>-1</sup> (Schumacher *et al.*, 2004). Estos estudios pueden servir para poder recomendar una dosis exacta en una etapa joven en el crecimiento de árboles, de forma que se pueda reducir gastos y mal uso de fósforo.

## CONCLUSIONES

La fertilización fosfatada es necesaria para el crecimiento y desarrollo de plantas de *Corymbia citriodora*. Los cuatro árboles semilleros *C. citriodora* provenientes de diferentes zonas geográficas en São Paulo, Brasil, respondieron de manera diferente a aplicación de las diferentes dosis crecientes de fósforo. Por consiguiente y de acuerdo con la característica evaluada y al árbol semillero, se encontró que la cantidad adecuada de fertilizante químico basado en fósforo está entre 30 y 100 mg dm<sup>-3</sup> para la producción inicial de plantas de alta calidad por ser eficiente y ser sostenible.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidade Estadual Paulista (UNESP/FCAV), al Departamento de Producción Vegetal, al Departamento de Suelos y Abonos y al laboratorio de Fertilidad de Suelos por facilitar sus instalaciones para la realización de esta investigación.

## REFERENCIAS

- Barreiros RM, Garcia JN, Caixeta Filho JV, Sansigolo CA. 2002. Optimization model for selection of *Eucalyptus grandis* matrix trees. *Forest Sciences* 30: 25–39.
- Ciavatta SF, da Silva MR, Simões D. 2014. Fertirrigation in production of seedlings of *Eucalyptus grandis* during winter and summer. *Cerne* 20 (2): 217–222. <https://doi.org/10.1590/01047760.201420021374>

- Dussan SL, Villegas DA, Miranda D. 2016. Efecto de la deficiencia de N, P, K, Mg, Ca y B sobre la acumulación y distribución de la masa seca en plantas de guayaba (*Psidium guajava* L.) var. ICA Palmira II en fase de vivero. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 10 (1): 40–52. <https://doi.org/10.17584/rcch.2016v10i1.4277>
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2015. World fertilizer trends and outlook to 2018. Roma, Italia. [http://agricultura.gencat.cat/web/.content/de\\_departament/de02\\_estadistiques\\_observatoris/27\\_butlletins/02\\_butlletins\\_nd/documents\\_nd/fixers\\_estatics\\_nd/2015/0153\\_2015\\_SProductius\\_Fertilitzacio\\_Fertilizants-Mon.pdf](http://agricultura.gencat.cat/web/.content/de_departament/de02_estadistiques_observatoris/27_butlletins/02_butlletins_nd/documents_nd/fixers_estatics_nd/2015/0153_2015_SProductius_Fertilitzacio_Fertilizants-Mon.pdf) (Recuperado: enero 2022).
- Faustino LI, Bulfe NML, Pinazo MA, Monteoliva SE, Graciano C. 2013. Dry weight partitioning and hydraulic traits in young *Pinus taeda* trees fertilized with nitrogen and phosphorus in a subtropical area. *Tree Physiology* 33 (3): 241–251. <https://doi.org/10.1093/treephys/tps129>
- Filho FB, Ferreira ME, Vieira RD, Pessôa da Cruz MC, Pessôa da Cruz C MA, de Barros S T, C Lopes R JG. 2013. Adubação com fósforo e potássio para produção e qualidade de sementes de soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 48 (7): 783–790. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2013000700011>
- Gianoli E. 2004. Plasticity of traits and correlations in two populations of *Convolvulus arvensis* (Convolvulaceae) differing in environmental heterogeneity. *International Journal of Plant Sciences* 165 (5): 825–832. <https://doi.org/10.1086/422050>
- González M, Ríos D, Peña-Rojas K, García E, Acevedo M, Cartes E, Sánchez-Olate M. 2020. Efecto de la concentración de fósforo y calcio sobre atributos morfo-fisiológicos y potencial de crecimiento radical en plantas de *Aextoxicon punctatum* producidas a raíz cubierta en la etapa de endurecimiento. *Bosque (Valdivia)* 41 (2): 137–146. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002020000200137>
- Leite PB, Alvarez VVH, Barros NF, Neves JCL, Guarçoni MA. 2006. Níveis críticos de fósforo, para milho, em casa de vegetação, de acordo com a sua localização no solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 30 (3): 497–508.
- Lima AMN, Neves JCL, Silva IR, Leite FP. 2005. Cinética de absorção e eficiência nutricional de K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> e Mg<sup>2+</sup> em plantas jovens de quatro clones de eucalipto. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 29 (6): 903–909. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832005000600008>
- Malavolta E, Vitti EC, Oliveira SA. 1997. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações (2a Ed); Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato: São Paulo, Brasil.
- Massone DS, Bartoli CG, Pastorino MJ. 2018. Efecto de la fertilización con distintas concentraciones de nitrógeno y potasio en el crecimiento de plantines de ciprés de la cordillera (*Austrocedrus chilensis*) en vivero. *Bosque (Valdivia)* 39 (3): 375–384. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002018000300375>
- Morais E, Zanatto ACS, Freitas MLM, de Moraes MLT, Sebbenn AM. 2010. Genetic variation, genotype × soil interaction and genetic gains in a *Corymbia citriodora* Hook progeny test in Luiz Antonio, São Paulo, Brazil. *Forest Sciences* 38 (85): 11–18.
- Novais, RF, Barros NF, Neves, JCL. 1986. Interpretação de análise química do solo para o crescimento e desenvolvimento de *Eucalyptus* spp. Níveis críticos de implantação e de manutenção. *Revista Árvore* 10 (1): 105–111.
- Oliet JA, Planelles R, Artero F, Domingo-Santos JM. 2016. Establishing *Acacia salicina* under dry Mediterranean conditions: The effects of nursery fertilization and tree shelters on a mid-term experiment with saline irrigation. *Ciencia e Investigación Agraria* 43 (1): 69–84. <https://doi.org/10.4067/S0718-16202016000100007>
- Oliveira JG, Silva VSG, Costa JPV. 2017. Comportamento de soja submetida a materiais fertilizantes e inoculação com bradyrhizobium. *Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações*. 15 (1): 66–72. <https://doi.org/10.5892/ruvrd.v15i1.3016>
- Raij BV, de Andrade JC, Cantarella H, Quaggio JA (eds.). 2001. Análises químicas para avaliação da fertilidade de solos tropicais. Campinas, Instituto Agrônomo: São Paulo, Brasil.
- Razaq M, Zhang P, Shen H, Salahuddin. 2017. Influence of nitrogen and phosphorous on the growth and root morphology of *Acer mono*. *PLoS ONE* 12: e0171321. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171321>
- Schumacher MV, Witschoreck R, Neves CF, Lopes VG. 2019. Manejo da biomassa e sustentabilidade nutricional em povoamentos de *Eucalyptus* spp. em pequenas propriedades rurais. *Ciência Florestal* 29 (1): 144–156. <https://doi.org/10.5902/198050985135>

- Schumacher MV, Ceconi DE, Santana CA. 2004. Influence of different phosphorus doses on the growth of angico-vermelho seedlings (*Parapiptadenia rigida* (Bentham) Brenan). *Revista Árvore* 28 (1): 149–155. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622004000100019>
- Stahl J, Ernani PR, Gatiboni LC, Chaves DM, Neves CU. 2013. Produção de massa seca e eficiência nutricional de clones de *Eucalyptus dunnii* e *Eucalyptus benthamii* em função da adição de doses de fósforo ao solo. *Ciência Florestal* 23 (2): 287–295. <https://doi.org/10.5902/198050989275>
- Vázquez-Cisneros I, Prieto-Ruíz JA, López-López MA, Wehenkel C, Domínguez-Calleros PA, FE Muñoz-Sáez. 2018. Growth and survival of a plantation of *Pinus greggii* Engelm. ex Parl. var. *greggii* under different fertilization treatments. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 24 (2): 251–264. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2017.05.036>



## ECOLOGICAL REHABILITATION INDICATORS FOR ONE EUCALYPTUS REFORESTATION WITH AN OAK FOREST AS REFERENCE

Cristina Herrera-Ramos<sup>1</sup>, Amador Rafael-de Jesús<sup>1</sup>, Dante Arturo Rodríguez-Trejo<sup>1\*</sup>,  
Alejandro Corona-Ambríz<sup>1</sup>, Reyes Bonilla-Beas<sup>1†</sup>

<sup>1</sup> Universidad Autónoma Chapingo. División de Ciencias Forestales. Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56230.

\* Corresponding author: dantarturo@yahoo.com

### ABSTRACT

The evaluation of reforestation for ecological restoration purposes in an area requires the comparison of similarity indicators with nearby reference forests. The objective of this study was to compare the vegetal composition, structure, falling debris, and their decomposition in the soil of a reforestation site of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh, planted more than 50 years ago, and a neighbouring forest dominated by *Quercus deserticola* Trel. and *Q. laeta* Liebm (used as reference), in an area of the State of Mexico; and obtain quantitative indicators of the trajectory of rehabilitation through the use of non-native species of Mexico. In reforestation and oak forest, we established 12 sampling sites where the composition, structure and two ecological processes (falling debris and decomposition) were determined. In addition, solar radiation was estimated by taking zenith photos of the canopy, using a hemispherical lens. When data was within normal distribution, we used the Student test, and when it was not, the Wilcoxon test was used to compare the variables studied. The reference forest outperformed reforestation ( $p \leq 0.05$ ) in: richness (68 and 50 species); diversity (Simpson index, 1.6-2.6 and 0.7-2.3); normal diameter (21.3 and 13.7 cm), accumulated leaf litter (18.2 and 9.2 Mg ha<sup>-1</sup>), detritus fall (0.606 and 0.321 Mg ha<sup>-1</sup> per month), and litter decomposition (0.443 and 0.251 Mg ha<sup>-1</sup> per month). Reforestation had a higher total radiation (5384 vs. 4376 MJ m<sup>-2</sup> year<sup>-1</sup>) and tree height (8.1 vs. 7.4 m). The percentage values of importance were 32.8 and 26.9 % for *Quercus deserticola* and *Q. laeta* in the oak forest, and 70 % for *E. camaldulensis* in the reforestation. After 50 years, reforestation still showed statistical differences from forest in composition, structure, and soil processes.

**Keywords:** oak forest, decomposition, debris, restoration ecology, *Eucalyptus camaldulensis*, *Quercus deserticola*.

### INTRODUCTION

Nearly 91% of the forest area of Mexico has some level of deterioration, and a deforestation rate of at least 495 647 ha y<sup>-1</sup> (CONAFOR, 2019). To counteract this degradation, various activities are carried out for the purpose of ecological restoration, such as reforestation. The Society for Ecological Restoration (SER, 2004) states that ecological restoration is the process of helping to restore a degraded, damaged, or destroyed ecosystem, and involves recovering processes, functions, diversity and, in

**Citation:** Herrera-Ramos C, Rafael-de-Jesús A, Rodríguez-Trejo DA, Corona-Ambríz A, Bonilla-Beas R. 2022. Ecological rehabilitation indicators for one eucalyptus reforestation with an oak forest as reference. *Agrociencia*. 56(3): 547-578. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i3.2803>

**Editor in Chief:**  
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: November 30, 2020.  
Approved: April 29, 2022.  
Published in *Agrociencia*:  
June 01, 2022.

This work is licensed  
under a Creative Commons  
Attribution-Non-Commercial  
4.0 International license.



general, the stability and biological integrity of an original ecosystem. There are other concepts derived from the term: rehabilitation, establishment of artificial ecosystems (Cecon, 2013), such as reforestation with exotics; each of these terms implies different characteristics.

Restoration ecology and ecological restoration in Mexico are still incipient; there are only 608 research cases registered between 1995 and 2016, with a percentage greater than 70 % in tropical plant communities, and 13 % in temperate-cold forests (López *et al.*, 2017; Calva and Pavón, 2018). What is done frequently is reforestation with pines. Between 1967 and 1992, official reforestation programs in Mexico used exotic species such as *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. An example was the Eastern Forest Barrier Program, in the east of the State of Mexico, including El Monte Tlaloc, Texcoco; as part of The Lago de Texcoco Plan Commission which promoted reforestation, soil and water conservation programs to control erosion, reduce dust storms and help to recharge aquifers. The National School of Agriculture (now Autonomous University of Chapingo) participated by establishing reforestation with *E. camaldulensis* and other species in its experimental areas at the foot of Mount Tlaloc (Mario Ávila and Las Cruces), reforestations that are currently more than 50 years old.

In recent years, restoration and research have prevailed (López *et al.*, 2017; Calva and Pavón, 2018), but there are still few studies to know the level of success of reforestation with exotics. An example is the contribution of reforestation with exotics in the formation of soil-structure on gravel soils (tepetates) (Ávila *et al.*, 2011). Adaptive management, which is modified the more as research is available, is a key in ecological restoration. It can be applied only if reforestation is monitored, and management decisions are informed during the ongoing restoration project (SER, 2004). After a given period, all restorations should be evaluated to determine their level of recovery. In order to do this, there must be a reference ecosystem close to the restored area that represents an advanced point of development, and that allows comparison. Over time, the restored ecosystem is expected to achieve some of the attributes of the reference plant community, regarding composition, structure, and ecological processes (SER, 2004).

The hypothesis of the present study was that reforestation with *Eucalyptus camaldulensis* may show similarities in some attributes with the adjacent oak forest. The objective was to determine the composition, structure, and some ecological processes of a reforestation with *Eucalyptus camaldulensis* and a neighbouring oak forest (with dominant *Quercus deserticola* Trel. and *Q. laeta* Liebm.) as a reference, in an experimental area of the State of Mexico; aimed at obtaining quantitative indicators that help to explain the course for rehabilitation of the reforested area.

## MATERIALS AND METHODS

### Study area

This study was implemented in a reforestation site of *E. camaldulensis* with more than 50 years of being established, and in a nearby natural oak forest, where *Q. deserticola*

and *Q. laeta* prevailed, located in a small ravine, as a reference plant community; both located at the Experimental Forest Station “Las Cruces”, Texcoco, State of Mexico. The station belongs to the Autonomous University of Chapingo (Universidad Autónoma Chapingo – UACH), in an area of 325.68 ha.

The reforestation and forest sites studied were located at coordinates 19° 27' 09" N, -98° 48' 59" W, and 19° 27' 05" N, -98° 49' 00" W (Figure 1).

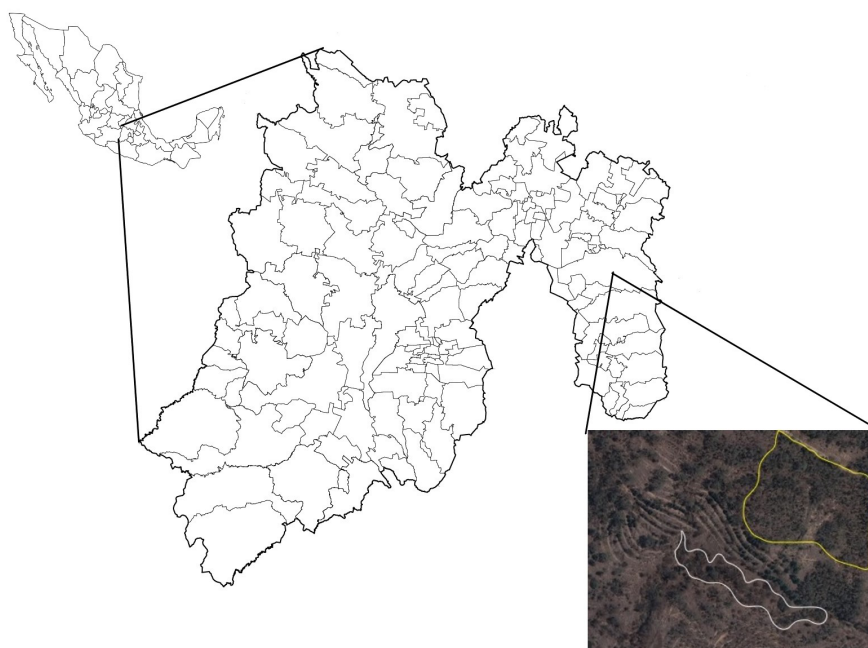
The study area with andesitic igneous rocks is in the Trans-Mexican Volcanic Belt. Litosol and Feozem haplic soils prevail, with low moisture retention capacity, moderately rich in organic matter with risk of severe erosion.

The climate is C(W2) (W)bi (the most humid of the temperate, sub-humid, with summer rains) (Ávila *et al.*, 2011). Altitude is 2480-2640 m; although the oak forest and reforestation are neighbours, the former is in a ravine with more humidity, and no erosion. While in the adjacent area, erosion occurred before reforestation.

#### Sampling units in the evaluated areas

Two neighbouring areas were delimited, 3 ha for reforestation and 1 ha for residual forest in good condition, and the respective sampling intensity of the trees was 8 and 24 %; Regarding this, Romahn and Ramírez (2010) referred to up to 1 % sampling intensity in forest inventories.

Plots of 400 m<sup>2</sup> were established, and for the comparison of condition due to coverage effects, three plots were placed under canopies and three between canopies, for a total of six for each condition (oak forest and reforestation).



**Figure 1.** Study areas in the municipality of Texcoco, State of Mexico. The yellow outline indicates reforestation, and the white one the oak forest.

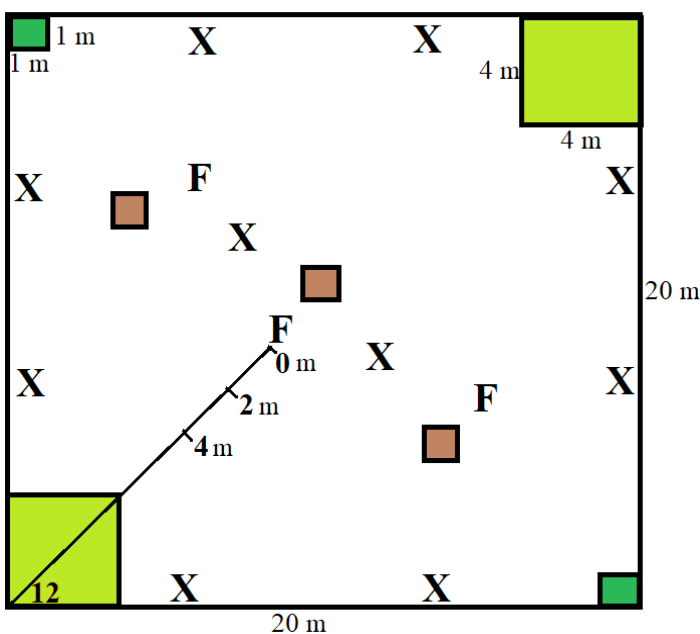
In each plot, the sampling of trees with normal diameters  $\geq 5$  cm (juveniles and adults) was done, and two subplots of  $16 \text{ m}^2$  were located for shrubs and natural regeneration, plus two of  $1 \text{ m}^2$  for herbaceous plants; for a total of 48 sampling units considering the two areas (Figure 2).

### Solar radiation

In December, three aerial canopy photos were taken from the ground per canopy type, both under the canopy and between canopies, 12 photos in total, with a digital camera and hemispherical lens (Delta T-Devices). The camera was embedded in a levelling structure, 25 cm from the ground. These photographs were the input material to feed the Hemiview 2.1 SR4 program (Delta-T Devices, AT ©, Cambridge, England), together with coordinates, Julian day and altitude, to calculate total, direct, diffuse solar radiation and the percentage of visible sky.

### Floristic composition and plant structure

In 2011, a sampling of trees and understory (in summer: August-September) was performed, and another sampling of understory in winter (January-February).



**Figure 2.** Sampling units used in the study. Large plot ( $20 \times 20 \text{ m}$ ,  $400 \text{ m}^2$ ), for tree sampling; medium plot (light green,  $4 \times 4 \text{ m}$ ,  $16 \text{ m}^2$ ) for regeneration and shrubs; small plot (dark green,  $1 \text{ m}^2$ ) for herbaceous. The brown boxes represent traps to capture organic matter ( $1 \text{ m}^2$ ); X, location points of bags with organic matter to estimate decomposition rate; F, points of the hemispherical photographs. Diagonal line, sampling of woody fuels: origin (0), point at 2 m, section for material sampling  $< 0.6$  cm, and those of 0.6-2.5 cm; 4 m, for materials with 2.6-7.5 cm, and 12 m for materials of  $> 7.5$  cm.

The variables evaluated for the trees were: species, density (trees ha<sup>-1</sup>), height (m), normal diameter (at 1.3 m, in cm) and crown diameter (m). For shrubs and herbaceous: species, density, frequency, and coverage. By stratum, species richness and percentage of importance value (PVI),  $\alpha$  diversity (Simpson index) and  $\beta$  diversity (floristic similarity with the Jaccard index) were obtained.

Plant diversity was calculated by recording the species found in summer, when species richness is higher (Mostacedo and Fredericksen, 2000). For the identification of species, the samples were pressed, dried, and identified at DICIFO herbarium (División de Ciencias Forestales; Forestry Division, UACH).

### Woody materials

Woody materials were estimated with the method of planar intersections (Brown, 1974). Six sampling lines were drawn in each type of cover (one line per large plot in each condition, 12 in total), of 12 m to record the number of intersections between lines and woody materials with diameter > 7.5 cm, 4 m for those with 2.5-7.5 cm, 2 m for both the 0.6-2.5 cm and <0.6 cm classes (Flores *et al.*, 2008).

To estimate the total dry weight of woody fuels per hectare, the results were adjusted by the basic wood densities of the dominant species per condition.

### Litter and fermentation layer

Litter and fermentation layer samples were collected in 36 randomly located 30 × 30 cm squares, with three replicates per large plot of vegetation, including each vegetation type and cover condition.

At the beginning of the study, coverage was estimated visually (%) and the depth of both layers was measured with a ruler. The collected material was separated by component and its dry weight was obtained with an electronic scale (Ohaus, Scout Pro, Mexico); then after drying in airflow oven (Ríos Rocha, N141, Mexico) in the laboratory (70 °C), until constant weight was obtained.

### Fall of material for incorporation into detritus

To capture the fall of material considered debris, in December 2010 a total of 36 traps were placed in a pyramidal shape with an area of 1 m<sup>2</sup> at the top, 40 × 40 cm at the base and 50 cm high (Figure 3A). We placed three traps in each plot of vegetation: nine under canopies and nine between canopies, both in the reforestation and in the oak forest.

The collection of accumulated detritus was done monthly (January to June 2011), with separation of components (leaves and woody material, bark, fruits, and seeds). The material was dried in the laboratory in ovens at 70 °C, and then weighed by component.

### Decomposition of organic matter

The decomposition bags were mesh-type (15×8×3 cm), 10 bags were randomly distributed in each of the 12 plots (a total of 120 bags), half under canopies and the other half between them.



**Figure 3.** A: traps for capturing debris; B: weighing of bags with organic materials later buried in the soil for estimation of decomposition rate.

Each one was filled with organic matter from each type of community evaluated, mainly leaf litter. The compaction used to fill the bags to the touch was the same as that in the leaf litter layer of the forest ground. All bags were weighed in the field.

On the date of establishment (December 2010), 20 samples (five per plot) were taken to the laboratory, dried in an oven at 70 °C, and weighed; the dry weight of the material in the laboratory was divided by its weight in the field and a factor was obtained to obtain the dry weight of the bags (Figure 3B). With this factor, the initial dry weight of the bags left in the field was estimated, which were used for monthly sampling from January to June. On each sampling date, another five bags were collected per plot, 20 in total (Waring and Schlesinger, 1985). In this way, for each collection date, the dry weight lost due to decomposition was obtained, which was estimated by the difference between the initial dry weight (December 2010) and that of each bag extracted in the following months.

The decomposition rate was calculated with the model  $(X/X_0) = e^{-k}$ , where:  $X$  = organic matter loss,  $X_0$  = organic matter accumulated in the forest soil,  $k$  = decomposition coefficient,  $e = 2.71828$  (Waring and Schlesinger, 1985).

### Statistical analysis

The variables height, normal diameter, woody materials, litter and fermentation layer on the ground, rates of falling debris and decomposition, total direct, diffuse solar radiation, and visible sky were compared between and within each condition (forest and reforestation).

Data normality was analysed with the Anderson-Darling test (SAS® PROC UNIVARIATE). If the data were normal, they were analysed with the  $t$  test (Student, considering homoscedasticity or heteroscedasticity, SAS® PROC TTEST). If the data

were not normal, they were analysed with the non-parametric Wilcoxon test ( $p \leq 0.05$ , SAS<sup>®</sup> PROC NPAR1WAY). All analyses were done with SAS<sup>®</sup> v. 9.0 (SAS Institute, 2002). The test hypothesis was  $H_0: \tau_1 = \tau_2$ ; where  $\tau$  = condition (reforestation or oak forest) or cover (under canopy and between canopies).

## RESULTS AND DISCUSSION

### Solar radiation

With the  $t$  test, statistical differences were found between forest and reforestation for visible sky and the three types of radiation evaluated (Figure 4); although no differences were observed between the condition below and between canopies ( $p > 0.05$ ).

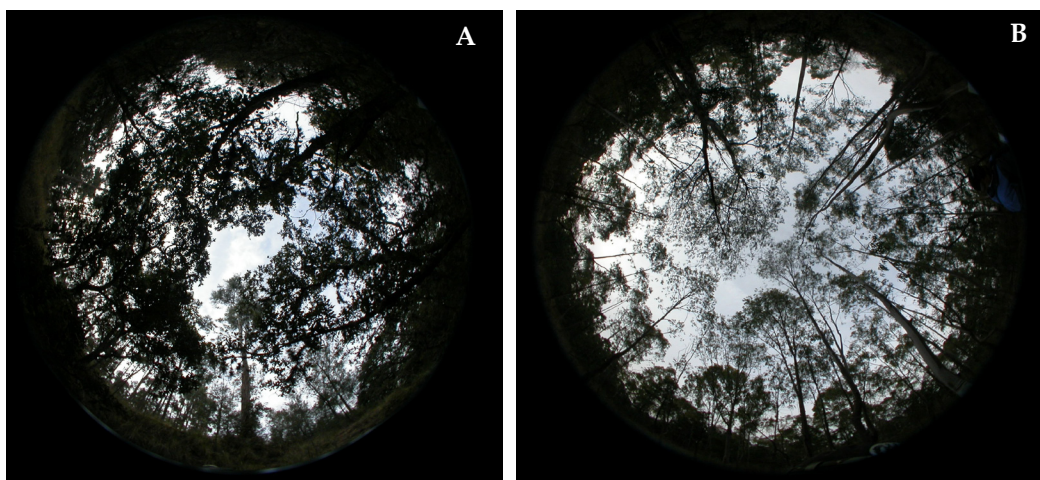
The visible sky was greater in the reforestation ( $34.3 \pm 3.1\%$ ) than in the oak forest ( $28.8 \pm 4.0\%$ ) ( $p = 0.0175$ ), similar to the total solar radiation ( $5384 \pm 594 \text{ MJ m}^{-2} \text{ year}^{-1}$  and  $4376 \pm 634 \text{ MJ m}^{-2} \text{ year}^{-1}$ ,  $p = 0.0187$ ) in reforestation and oak forest, respectively (Figure 4A and 4B).

The respective values for direct solar radiation ( $4895 \pm 553 \text{ MJ m}^{-2} \text{ y}^{-1}$  and  $3965 \pm 597 \text{ MJ m}^{-2} \text{ y}^{-1}$ ,  $p = 0.0157$ ) and diffuse solar radiation ( $488 \pm 46.5 \text{ MJ m}^{-2} \text{ y}^{-1}$  and  $411 \pm 45.7 \text{ MJ m}^{-2} \text{ y}^{-1}$ ;  $p = 0.0239$ ), were also significant.

The lower incident radiation on the forest soil was related to a greater richness and diversity of understory species. Oak forests of *Q. crassifolia* in Puebla, in more humid areas than those in this study, reach a total solar radiation of  $3607 \pm 1250 \text{ MJ m}^{-2} \text{ y}^{-1}$  (Rodríguez-Trejo *et al.*, 2021) and are less altered, which contributes to its greater coverage (visible sky, 19.7%) and less solar radiation on the soil.

### Floristic composition

Species richness was greater in the oak forest than in the reforestation, with 12 trees, 15 shrubs, 41 herbaceous, 68 species in all. But richness was also relevant in the



**Figure 4.** Hemispheric photographs in the analysis of solar radiation; A: from the canopy of the oak forest; and B: from reforestation with *Eucalyptus camaldulensis*.

reforestation where the expectation was to find only eucalyptus, 6 trees, 11 shrubs, 33 herbaceous were recorded, 50 species in all.

The Simpson diversity index for trees was higher in the oak forest than in the reforestation, but in the shrubby and herbaceous strata it was similar in both conditions (Table 1).

In shrubs, the index was similar between summer and winter in reforestation, but not in the forest. The herbaceous stratum was not similar between seasons in both conditions. Species similarity between conditions was low, with Jaccard indices of 5.9 (trees), 36.8 (shrubs), 15.6 (herbs), and 19.0 (all species). The higher species richness of the oak forest in the three strata is evidence of a greater structural complexity in the forest.

The systematic pattern when establishing reforestations (for example, the traditional staggering pattern with predetermined distances) and its monospecific character, has an influence by generating less environmental variability, for example, in solar radiation, resulting in less richness in the understory.

In Pontevedra, Spain, López *et al.* (2018) compared species richness between a plantation of *Eucalyptus globulus* Labill. and four oak stands (*Quercus robur* Pall.), and also found greater richness in the forest than in the plantation, 98 vs. 53 species.

The authors considered that allelopathy, fallen bark (mechanical barrier) and higher insolation in plantations are factors that explain the difference. In this study, these factors were also considered to limit understory richness and diversity. Solar radiation in the reforestation exceeded that of the oak forest, which may have also contributed to reduce the diversity of shrubs and herbaceous plants, since the locality is relatively dry.

The richness of herbaceous plants in the forest, compared to total richness (60.3%) was somewhat lower than that of an oak forest in Coahuila (72.9%) (Encina *et al.*, 2009), although the oak forests are very diverse depending on the environmental conditions they are located. The highest diversity indices were those of herbaceous plants, in the oak forest during the summer. The explanation lies in the greater diversity and richness of herbaceous, compared to woody and, according to Rubio (2015), because humidity and temperature are higher during germination and the growth period in summer.

**Table 1.** Simpson diversity indices, by condition and season.

| Stratum    | Reference oak forest        |                             | Reforestation with eucalyptus |                             |
|------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
|            | D <sub>v</sub> <sup>†</sup> | D <sub>i</sub> <sup>‡</sup> | D <sub>v</sub> <sup>†</sup>   | D <sub>i</sub> <sup>‡</sup> |
| Arboreal   | 0.616                       |                             | 0.260                         |                             |
| Shrubby    | 0.566                       | 0.409                       | 0.438                         | 0.470                       |
| Herbaceous | 0.778                       | 0.531                       | 0.718                         | 0.447                       |

<sup>†</sup>D<sub>v</sub>: Simpson diversity index in summer; <sup>‡</sup>D<sub>i</sub>: in winter.

Monospecific and contemporary reforestations with exotics are considered negative. Although they host less fauna than a natural forest, they can have more diversity than agricultural crops, pastures, and degraded areas (Montagnini, 2005). To promote diversity in them, Montagnini (2005) suggests establishing them at low density, mixed with native species or using only natives, thinning to favour local vegetation, and planting near natural seed sources.

The diversity indices of the oak forest, in all forms of life and times, exceeded those of reforestation, except in the shrub stratum in winter (Table 1). In shrubs and herbaceous, diversity was greater in summer than in winter.

### Plant structure

The diameter and height data were not normal. The average range of the normal diameter was greater in the oak forest than in the reforestation ( $p = 0.046$ ); on the contrary, the average range for height was higher in reforestation ( $p \leq 0.01$ ). The diameter averages were  $21.3 \pm 8.2$  cm and  $13.7 \pm 7.9$  cm for the oak forest and reforestation, respectively, and  $7.4 \pm 2.4$  m and  $14.9 \pm 4.7$  m in height.

Eucalypt trees in this area are periodically affected by forest fires, which explains their relatively small height, despite being old ( $\geq 40$  years). *Eucalyptus* foliage and bark are highly flammable, and the arrangement of its bark strips provides vertical continuity for the fire to reach the canopies. However, the lignotubers and buds under the bark allow the eucalypt to sprout and recover; it is adapted to fire (Scott *et al.*, 2014).

In Las Cruces there are many bifurcated and trifurcated *Eucalyptus* trees, a sign of old regrowth as a result of fire. Despite such adaptations, the eucalypt trees grow less or show damage in their above ground part, which is why their current diameters and heights are smaller than what they should be.

The speed of growth that characterizes *Eucalyptus* explains why the reforestation trees are taller than the oaks, despite the recurring damage referred to and the shallow soil, compared to that of the oak forest. In the latter, the oaks are more robust, and the bases of their canopies are higher, which reduces the possibility that they will burn in the event of a fire; Although if this occurs, they are also capable of sprouting (Rodríguez-Trejo and Myers, 2010).

### Importance values

In the oak forest there is a higher density of trees ( $970.8$  trees  $\text{ha}^{-1}$ ) than in the reforestation ( $816.6$  trees  $\text{ha}^{-1}$ ). This is understandable since it was carried out systematically, plantation density was approximately  $1000$ - $1500$  trees  $\text{ha}^{-1}$ . Due to the great richness of species of the *Quercus* genus in Mexico, there is a high variability in structure (including density) and composition in their forests (Rubio, 2015).

This oak forest had 10 native tree species (8 oaks) and two exotic ones (*Eucalyptus globulus* and *Casuarina equisetifolia*). The trees showing the highest PVI as a whole were *Quercus deserticola* and *Q. laeta* (59.8 %).

In reforestation, *E. camaldulensis* was the most important (70 %) (Table 2). An oak forest dominated by *Q. crassifolia* in Villa del Carbón, Mexico, had eight tree species, including five oaks, covering two-thirds of the PVI (Rubio *et al.*, 2011).

**Table 2.** Percentage value of importance (PVI) for oak trees and reforestation.

| Species   | DR <sup>b</sup><br>(%) | DOR <sup>a</sup><br>(%) | FR <sup>++</sup><br>(%) | PVI <sup>¶¶</sup><br>(%) |
|---|------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| Oak forest  |                        |                         |                         |                          |
| <i>Quercus deserticola</i> Trel. <sup>†</sup>                         | 42.92                  | 36.37                   | 19.23                   | 32.84                    |
| <i>Quercus laeta</i> Liebm. <sup>†</sup>                              | 37.34                  | 20.42                   | 23.08                   | 26.94                    |
| <i>Quercus crassipes</i> Bonpl. <sup>†</sup>                          | 4.29                   | 8.36                    | 11.54                   | 8.07                     |
| <i>Casuarina equisetifolia</i> L. <sup>¶</sup>                        | 2.15                   | 5.08                    | 11.54                   | 6.26                     |
| <i>Quercus rugosa</i> Née <sup>t</sup>                                | 3.00                   | 4.32                    | 7.69                    | 5.01                     |
| <i>Callitropsis lusitanica</i> (Mill.) D.P.Little <sup>†</sup>        | 3.86                   | 5.48                    | 3.85                    | 4.40                     |
| <i>Quercus crassifolia</i> Benth. <sup>†</sup>                        | 1.29                   | 6.93                    | 3.85                    | 4.02                     |
| <i>Eucalyptus globulus</i> Labill. <sup>¶</sup>                       | 0.86                   | 5.85                    | 3.85                    | 3.52                     |
| <i>Vachellia schaffneri</i> (S.Watson) Seigler & Ebinger <sup>†</sup> | 2.58                   | 2.06                    | 3.85                    | 2.83                     |
| <i>Quercus castanea</i> Muhl. <sup>†</sup>                            | 0.43                   | 4.08                    | 3.85                    | 2.79                     |
| <i>Quercus mexicana</i> Bonpl. <sup>†</sup>                           | 0.86                   | 0.83                    | 3.85                    | 1.85                     |
| <i>Quercus</i> aff. <i>deserticola</i> Trel. <sup>†</sup>             | 0.43                   | 0.21                    | 3.85                    | 1.50                     |
| SUM   | 100.0                  | 100.0                   | 100.0                   | 100.0                    |
| Reforestation with eucalyptus   |                        |                         |                         |                          |
| <i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh <sup>¶</sup>                    | 81.63                  | 88.49                   | 40.00                   | 70.04                    |
| <i>Acacia retinodes</i> Schltdl. <sup>¶</sup>                         | 4.08                   | 1.96                    | 26.67                   | 10.90                    |
| <i>Callitropsis lusitanica</i> <sup>¶</sup>                           | 2.55                   | 4.63                    | 13.33                   | 6.84                     |
| <i>Schinus molle</i> L. <sup>§</sup>                                  | 7.14                   | 1.71                    | 6.67                    | 5.17                     |
| <i>Casuarina equisetifolia</i> <sup>¶</sup>                           | 3.06                   | 2.14                    | 6.67                    | 3.96                     |
| <i>Eysenhardtia polystachya</i> (Ortega) Sarg. <sup>†</sup>           | 1.53                   | 1.07                    | 6.67                    | 3.09                     |
| SUM   | 100.0                  | 100.0                   | 100.00                  | 100.00                   |

<sup>†</sup>Native; <sup>¶</sup>exotic; <sup>§</sup>naturalized; <sup>b</sup>DR: relative density; <sup>a</sup>DOR: relative dominance; <sup>++</sup>FR: relative frequency; <sup>¶¶</sup>PVI: importance value percentage.

The evaluation of the understory in oak forest during the summer yielded a density of 12 864.6 shrubs ha<sup>-1</sup> and 235 833.3 herbaceous ha<sup>-1</sup>; while in winter there were 5885.4 and 65 833.3 individuals ha<sup>-1</sup>, respectively.

In the rainy season, in the reforestation, the density for shrubs and herbaceous plants was 8541.7 and 275 000 individuals ha<sup>-1</sup>; but in drought it decreased (5781.3 and 116 666.7 individuals ha<sup>-1</sup>).

The PVI for understory species, by evaluation season, indicates that the most important shrubs in the oak forest, in summer, were: *Helianthemum glomeratum* (Lag.) Lag. (22.5 %) and *Bouvardia ternifolia* Schltdl. (22.5 %).

In the herbaceous, it was *Stipa ichu* (Ruiz & Pav.) Kunth (12.9 %). The most important shrubs in winter were *H. glomeratum* (37.2 %) and *Gymnosperma glutinosum* Less. (12.8 %). In herbaceous they were *S. ichu* (43.4 %) and *Muhlenbergia confusa* (E.Fourn) Swallen (10.9 %).

The different species of oak and the environment cause variability in the understory species. Environments with high cover favour a low presence of shrubs. Rubio *et al.* (2011) recorded in Villa del Carbón seven shrub species, with a density of 40 ha<sup>-1</sup> one

species covering a third of the PVI. In dry oak forests of Coahuila (497 mm MAP), with less coverage, there were densities of 3307 bushes ha<sup>-1</sup> (Encina *et al.*, 2009). The difference may be due to the fact that the latter are shrub communities, while in the former the shrubs are part of a forest.

For reforestation in summer, the most abundant or dense shrubs were *G. glutinosum* (22.1 %), *Eupatorium* sp. (19.9 %), and *B. ternifolia* (15.5 %), and among the herbaceous *Pappophorum pappiferum* (Lam.) Kuntze (8.2 %), *Aristida divaricata* Humb. & Bonpl. ex Willd., *S. jorullensis* Kunth, and *S. tomentosa* S.Schauer (7.3 % each). In winter, the most abundant were *G. glutinosum* (65.9 %) and *S. ichu*, in shrubs and herbs, respectively.

The higher humidity and number of available light hours in summer explain the greater dominance of understory species in that season. Despite the allelopathic nature of various species of eucalyptus, such as *E. camaldulensis*, which contains inhibitory substances in its leaves and bark (phenolic acids, flavonoids, tannins and phytotoxic monoterpenoids *in vitro*) (Espinosa, 1996), no allelopathy was found in the reforestation studied.

#### Woody materials

The data recorded were not normal and there was no statistical difference between the mean intervals when comparing the total dry biomass of woody materials between reforestation and the oak forest ( $p = 0.1741$ ).

Mean values were  $18.003 \pm 14.156$  and  $26.259 \pm 27.282$  Mg ha<sup>-1</sup>. Partial loads per dimetric class for reforestation were 0.542 Mg ha<sup>-1</sup> (< 0.6 cm diameter), 2.885 Mg ha<sup>-1</sup> (0.6-2.5 cm), 11.114 Mg ha<sup>-1</sup> (2.5-7.5 cm), 3.462 Mg ha<sup>-1</sup> (> 7.5 cm, firmwood).

For the forest, the loads in equal order reached: 0.632, 3.175, 13.340, 6.761, and 2.352 Mg ha<sup>-1</sup> (the latter for materials > 7.5 cm in decomposition). Oak forests of *Q. crassipes* Bonpl. in the Sierra Norte of Puebla have higher loads of woody materials, 31.726 Mg ha<sup>-1</sup> with 81.1 % of materials > 7.5 cm (Bonilla *et al.*, 2012), which may be due to the fact that these are wetter oak forests, with deep soils, and therefore more productive.

#### Leaf litter and fermentation layer

The data obtained were not normal. The averages in the oak forest were higher ( $p \leq 0.05$ ), with a mean biomass of  $18.195 \pm 11.824$  Mg ha<sup>-1</sup>; while in the reforestation it was  $9.209 \pm 3.434$  Mg ha<sup>-1</sup>. On average, the depths of the litter and fermentation layers were 8.0 and 2.0 cm in the oak forest, and 4.2 and 0.5 cm in the reforestation.

The oak species studied are deciduous to semi-deciduous, and due to their higher cover, the accumulation of debris in the forest exceeds that of reforestation. The eucalyptus species under study is evergreen; the foliage that falls is mainly due to the irregular death of their leaves and the wind.

The biomass of the material considered as detritus (woody materials, leaf litter, and fermentation layer) in the oak area corresponds with the 48.1 Mg ha<sup>-1</sup> estimated by Martínez *et al.* (2018) in an oak forest (*Q. crassipes*, *Q. rugosa* and *Q. laeta*) in the same area, but at a higher altitude. The presence of this biomass on the forest soil is important

as a reservoir for water, nutrient cycling, and habitat for soil organisms, where 25% of the biodiversity usually found in temperate forests (Dudley and Vallauri, 2005).

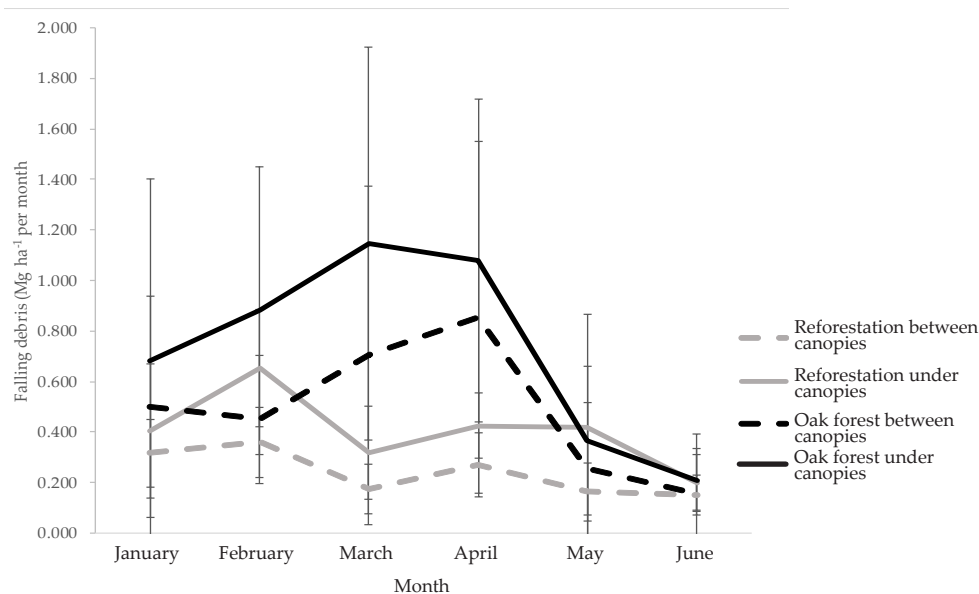
### Falling debris

Regarding the composition of the detritus material, in the reforestation area, we found leaves (49.7%), fruits (22.3%), twigs (15.7%), and bark (12.3%); and in the oak forest, leaves (73.8%), fruits (7.4 %), twigs (16.4%), and bark (2.4%). Leaf litter was predominant, especially in the oak forest. The detritus accumulation data showed normality and the mean in the forest ( $0.606 \text{ Mg ha}^{-1}$  per month) almost doubled that of the reforestation ( $0.321 \text{ Mg ha}^{-1}$  per month) ( $p \leq 0.05$ ). For each cover type there was no statistical difference ( $p > 0.05$ ) between the conditions under and between canopies (Figure 5), probably due to the small size of the gaps.

Falling debris is part of the recycling process of organic matter and nutrients. The availability of more moisture in oak woodlands contributes to the accumulation of a greater tree biomass and consequently, more production of detrital material (Scott *et al.*, 2014).

Due to the fact that oak trees are deciduous and to the greater biomass of their canopies, the accumulation of debris, particularly leaves, was greater in the oak forest than in the reforestation (Figure 5).

The contribution of organic matter to the system, mainly the foliar fraction, added to the woody materials, represented 65.4% in the reforestation, and 90.2% in the oak forest. These figures are higher than those recorded by Pérez-Suárez *et al.* (2009) in



**Figure 5.** Monthly drop ( $\text{Mg ha}^{-1}$ ) of organic matter in the sampling area. Error bars represent standard deviation.

the *Quercus potosina* Trel. oak forest ( $0.406 \text{ Mg ha}^{-1}$ ), in north-central Mexico, where leaves constituted the highest fraction of organic matter contributed, 60 %, and small branches 20-30 %.

Debris collection reached a pronounced peak around March-April in the oak forest, while in the reforestation it was obtained in February, which denotes phenological differences (deciduous foliage) among the species. Strong winds are typical in February and March, which contributed to the maximum falling debris in the *Eucalyptus* area.

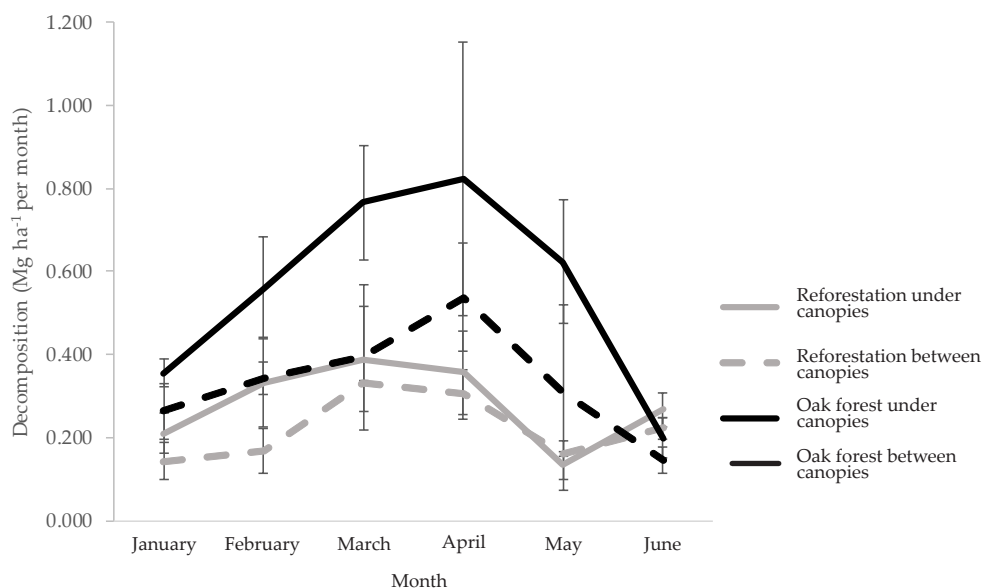
### Decomposition of organic matter

The mean decomposition rates for reforestation and forest were  $0.251$  and  $0.443 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ month}^{-1}$ . In open and shaded reforestation, mean decomposition was calculated at  $0.221$  and  $0.281 \text{ Mg ha}^{-1}$  per month, respectively.

In the forest,  $0.332 \text{ Mg ha}^{-1}$  per month were decomposed in the open space, and  $0.554 \text{ Mg ha}^{-1}$  per month under shade. The monthly decomposition factor between forest types showed normality and statistical differences ( $p = 0.0333$ ), with means of  $0.0649$  for oak forest, and  $0.0457$  in reforestation.

There were no statistical differences between open sky and shade ( $p > 0.05$ ) in any case. The highest decomposition values for oak forest and reforestation occurred in April and March, respectively (Figure 6).

The decomposition rate depends on the chemical composition of the materials. Long-lived leaves, such as those of eucalypt trees, invest more in defence products that slow down their decomposition, and the lignin content of *E. camaldulensis* ranges from 24.7 to 29.9 % (Terdwongworakul *et al.*, 2005).



**Figure 6.** Monthly average decomposition ( $\text{Mg ha}^{-1}$ ) of organic matter. Error bars represent standard deviation.

Bautista and Salazar (2005) argue that the lignin:N concentration ratio is negatively correlated with decomposition rate in *Q. rugosa*, where lignin content is 20.4-23.4 %. Deciduous oak leaves have more phenols that make them resistant to decomposition. In the case of eucalypt leaves, these combined factors contribute to a slower net decomposition.

Wood density is another characteristic that influences the decomposition of organic matter and wood density is inverse to the decomposition rate. *E. camaldulensis* has a density of 0.71-0.83 kg dm<sup>-3</sup> (Nogueira *et al.*, 2018), while for *Q. laeta* it reaches 0.61-0.75 kg dm<sup>-3</sup> (Ordóñez *et al.*, 2015). *Eucalyptus* wood is denser and therefore takes longer to decompose.

In the oak forest, the characteristics of leaves and wood favour a higher rate of decomposition, and the lower radiation and higher humidity favour fungi and decomposing microorganisms (Waring and Schlesinger, 1985). Root expansion and organic matter inputs in casuarinas (*Casuarina equisetifolia* L.) and cedars (*Cupressus lindleyi* Klotzch ex Endl.) promote faster soil formation in the tepetates of the study area compared to pines and eucalypts (Ávila *et al.*, 2011).

The slow degradation of *Eucalyptus* debris was verified in this study; in the oak forest a greater amount of dead biomass was found on the ground, and we observed that it forms soil faster than reforestation. The accumulation of organic matter in the forest was double than that of the reforestation.

In reforestations, species follow a systematic pattern, so that the process of restoration to forest is initially deterministic. Then the recruitment of other species by germplasm dispersal begins in a stochastic or probabilistic process (Ceccon, 2013).

Ventura *et al.* (2017) compared in Hidalgo, a reforestation of *P. greggii* Engelm. ex Parl. with forest of *Pinus cembroides* Zucc. as reference, those authors found that reforestation can achieve some recovery of structural and functional variables, after 14 years of planting, but without reaching the levels of the reference forest.

This is similar to this study, although in the evaluated reforestation with *E. camaldulensis*, there were no signs of regeneration or ecological succession towards a natural type of tree vegetation.

## CONCLUSIONS

The evaluated indicators show a low similarity in composition, structure and processes between oak forest and reforestation. Nevertheless, reforestation has been maintained and provides environmental functions. *Eucalyptus camaldulensis* seems to facilitate the presence of other species in the understory that increase heterogeneity and diversity at the landscape scale, although the site has not recovered ecological integrity.

Reforestation did not limit the establishment of an abundant understory cover, although different from that of the oak forest. If *sensu stricto* restoration is desired, oaks are the best choice on available land and in gaps, as long as the optimal establishment and growth characteristics of these species are present. Whilst the establishment of *E. camaladulensis* in this degraded area more than 50 years ago has shown to have

recovered or facilitated certain characteristics or conditions that currently may favour the establishment of native species.

Finally, the indicators defined in this study can contribute to reorient restoration and reforestation in the area. For example, to initiate assisted reforestation with native oaks in areas previously reforested with *Eucalyptus*. Monitoring those areas subject to restoration or ecological rehabilitation is key in forest administration to provide feedback on restoration and management plans or practices.

## REFERENCES

- Ávila GR, Gutiérrez MC, Ortiz-Solorio CA, Ángeles E, Sánchez P. 2011. Evaluación de las reforestaciones en la formación de suelo a partir de tepetates. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 17: 303–312. <https://doi.org/10.5154/r.rchsc/2010.11.113>
- Bautista HR, Salazar AH. 2005. Composición química de la madera de cuatro especies del género *Quercus*. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 30: 25–50.
- Bonilla E, Rodríguez-Trejo DA, Borja A, Cántora C, Santillán J. 2012. Dinámica de combustibles en rodales de Encino-pino de Chignahuapan, Puebla. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 4: 20–33.
- Brown JK. 1974. Handbook for Inventorying Downed Woody Material. General Technical Report INT-16. USDA Forest Service, IFRES. Ogden, UT, USA. 30 p.
- Calva SK, Pavón NM. 2018. La restauración ecológica en México: una disciplina emergente en un país deteriorado. *Madera y Bosques* 24: 1–12. <https://doi.org/10.21829/myb.2018.2411135>
- Ceccon E. 2013. Restauración en Bosques Tropicales: Fundamentos Ecológicos, Prácticos y Sociales. UNAM, México D.F., México. 288 p.
- CONAFOR (Comisión Nacional Forestal). 2019. El Sector Forestal Mexicano en Cifras. Comisión Nacional Forestal. Ciudad de México, México. 96 p.
- Dudley N, Vallauri D. 2005. Restoration of deadwood as a critical microhabitat in forest landscapes. *In* Forest Restoration in Landscapes, Mansourian S, Vallauri D, Dudley N. (Eds.); Springer-WWF: New York, NY, USA, 203–207. [https://doi.org/10.1007/0-387-29112-1\\_29](https://doi.org/10.1007/0-387-29112-1_29)
- Encina JA, Zárate A, Estrada E, Valdés J, Villarreal JÁ. 2009. Composición y aspectos estructurales de los bosques de encino de la Sierra de Zapalinamé, Coahuila, México. *Acta Botánica Mexicana* 86: 71–108.
- Espinosa, FJ. 1996. Revisión sobre la alelopatía de *Eucalyptus* L'Herit. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 58: 55–74. <https://doi.org/10.17129/botsoci.1487>
- Flores J, Rodríguez O, Meléndez M, Rosas O. 2008. Sitios de muestreo para el monitoreo de combustibles forestales (SIMMCOF). Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Centro de Investigación Regional del Pacífico Centro, Campo Experimental Centro Altos de Jalisco, Tepatitlán, Jalisco, México. 47 p.
- López BF, Martínez GC, Ceccon E. 2017. Ecología de la restauración en México: estado actual y perspectivas. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 88: 97–112. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2017.10.001>
- López SB, Rivera JG, Sobral M. 2018. Biodiversidad en plantaciones de eucalipto y en robledales del sur de Galicia: plantas y aves. *Nova Acta Científica Compostelana (Biología)* 25: 71–81.
- Martínez JL, Rodríguez-Trejo DA, Borja A, Rodríguez GA. 2018. Propiedades físicas y dinámica de los combustibles forestales en un bosque de encino. *Madera y Bosques* 24: 1–14. <https://doi.org/10.21829/myb.2018.2421467>
- Montagnini F. 2005. Attempting to restore biodiversity in even-aged plantation. *In* Forest Restoration in Landscapes: Beyond Planting Trees, Mansourian S, Vallauri D, Dudley N. (Eds.); Springer-WWF: New York, NY, USA, 384–391.
- Mostacedo B, Fredericksen TS. 2000. Manual de Métodos Básicos de Muestreo y Análisis en Ecología Vegetal. BOLFOR: Santa Cruz, Bolivia. 87 p.
- Nogueira CJA, De Araujo VA, Vasconcelos JS, Gutiérrez CM, da Cruz JN, Vasconcelos C, Prativiera F, Christoforo AL, Lahr AR. 2018. Caracterización físico-mecánica de la madera de *Eucalyptus camaldulensis* para uso estructural proveniente de Restinga, Brasil. *Revista Forestal del Perú* 33: 52–62. <https://doi.org/10.21704/rfp.v33i1.1155>
- Ordóñez, JAB, Galicia A, Venegas NJ, Hernández T, Ordóñez MJ, Dávalos R. 2015. Densidad de las maderas mexicanas por tipo de vegetación con base en la clasificación de J. Rzedowski: compilación. *Madera y Bosques* 21: 77–126. <https://doi.org/10.21829/myb.2015.210428>

- Pérez-Suárez M, Arredondo-Moreno JT, Huber-Sannwald E, Vargas-Hernández JJ. 2009. Production and quality of senesced and green litterfall in a pine-oak forest in central-northwest Mexico. *Forest Ecology and Management* 258: 1307–1315. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2009.06.031>
- Rodríguez-Trejo DA, Myers RL. 2010. Using oak characteristics to guide fire regime restoration in Mexican pine-oak and oak forests. *Ecological Restoration* 28 (3): 304–323.
- Rodríguez-Trejo DA, Rodríguez-Aguilar M, Villanueva-Morales JA, Bonilla-Padilla E. 2021. Estimación de combustibles en bosque de *Quercus crassifolia* en México central. *Revista Incendios y Riesgos Naturales* 4: 33–35.
- Romahn CF, Ramírez H. 2010. *Dendrometría*. División de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma Chapingo: Chapingo, Edo. de México, México. 294 p.
- Rubio, LE. 2015. Aspectos ecológicos. In Encinos de México (*Quercus*, Fagaceae): 100 Especies, Romero S, Rojas EC, Rubio LE. (Eds.); Universidad Nacional Autónoma de México: Ciudad de México, 65–90.
- Rubio LE, Romero S, Rojas EC. 2011. Estructura y composición florística de dos comunidades con presencia de *Quercus* (Fagaceae) en el Estado de México. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 17: 77–90.
- SAS Institute (Statistic Analysis System Institute). 2002. SAS Program, v. 9.0. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA.
- Scott C, Bowman DMJS, Bond WJ, Pyne SJ, Alexander ME. 2014. *Fire on Earth. An Introduction*. Wiley Blackwell. Chichester, England. 413 p.
- SER (Society for Ecological Restoration). 2004. *Principios de SER Internacional sobre Restauración Ecológica*. SER. Tucson, AZ, USA. 15 p.
- Terdwongworakul A, Punsuwan V, Thanapase W, Tsuchikawa S. 2005. Rapid assessment of wood chemical properties and pulp yield of *Eucalyptus camaldulensis* in Thailand tree plantations by near infrared spectroscopy for improving wood selection for high quality pulp. *Journal of Wood Science* 51: 167–171. <https://doi.org/10.1007/s10086-004-0633-3>
- Ventura-Ríos A, Plascencia-Escalante FO, Hernández-de la Rosa P, Ángeles-Pérez G, Aldrete A. 2017. ¿Es la reforestación una estrategia para la rehabilitación de bosques de pino? Una experiencia en el centro de México. *Bosque* 38: 55–66. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002017000100007>
- Waring RH, Schlesinger WH. 1985. *Forest Ecosystems. Concepts and Management*. Academic Press Inc. San Diego, CA, USA. 340 p.

# INDICADORES DE REHABILITACIÓN ECOLÓGICA PARA UNA REFORESTACIÓN DE EUCALIPTO CON UN BOSQUE DE ENCINO COMO REFERENCIA

Cristina **Herrera-Ramos**<sup>1</sup>, Amador **Rafael-de Jesús**<sup>1</sup>, Dante Arturo **Rodríguez-Trejo**<sup>1\*</sup>,  
Alejandro **Corona-Ambriz**<sup>1</sup>, Reyes **Bonilla-Beas**<sup>1†</sup>

<sup>1</sup> Universidad Autónoma Chapingo. División de Ciencias Forestales. Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56230.

\* Autor para correspondencia: dantearturo@yahoo.com

## RESUMEN

La evaluación de una reforestación con fines de restauración ecológica en un área requiere de la comparación de indicadores de similitud con bosques de referencia cercanos. El objetivo del estudio fue comparar la composición vegetal, estructura, caída de detritos y su descomposición en el suelo de una reforestación de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh, plantada hace más de 50 años y un bosque vecino dominado por *Quercus deserticola* Trel. y *Q. laeta* Liebm. (como referencia), en un área experimental del Estado de México, y obtener indicadores cuantitativos de la trayectoria de la rehabilitación mediante el uso de especies no nativas de México. En la reforestación y encinar se establecieron 12 sitios de muestro donde se determinó la composición, estructura y dos procesos ecológicos (caída de detritos y descomposición). Además, se estimó la radiación solar mediante la toma de fotos cenitales de dosel, utilizando una lente hemisférica. Cuando hubo normalidad en los datos se usó prueba de Student y cuando no, se usó prueba de Wilcoxon para comparar las variables estudiadas. El bosque de referencia superó a la reforestación ( $p \leq 0.05$ ) en: riqueza (68 y 50 especies); diversidad (índice Simpson, 1.6-2.6 y 0.7-2.3); diámetro normal (21.3 y 13.7 cm), hojarasca acumulada (18.2 y 9.2 Mg ha<sup>-1</sup>), caída de detritos (0.606 y 0.321 Mg ha<sup>-1</sup> por mes) y descomposición de hojarasca (0.443 y 0.251 Mg ha<sup>-1</sup> por mes). La reforestación tuvo una mayor radiación total (5384 vs. 4376 MJ m<sup>-2</sup> año<sup>-1</sup>) y altura de arbolado (8.1 vs. 7.4 m). El porcentaje de valor de importancia fue 32.8 y 26.9 % para *Quercus deserticola* y *Q. laeta* en el encinar, y 70 % para *E. camaldulensis* en la reforestación. Después de 50 años, la reforestación aún mostró diferencias estadísticas respecto al bosque en composición, estructura y procesos en suelo.

**Palabras clave:** encinar, descomposición, detritos, ecología de la restauración, *Eucalyptus camaldulensis*, *Quercus deserticola*.

**Citation:** Herrera-Ramos C, Rafael-de-Jesús A, Rodríguez-Trejo DA, Corona-Ambriz A, Bonilla-Beas R. 2022. Indicadores de rehabilitación ecológica para una reforestación de eucalipto con un bosque de encino como referencia. *Agrociencia*. 56(3): 547-578. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i3.2803>

**Editor in Chief:**  
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: November 30, 2020.  
Approved: April 29, 2022.  
**Published in Agrociencia:**  
June 01, 2022.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International license.



## INTRODUCCIÓN

Casi 91 % de la superficie forestal de la República Mexicana tiene algún nivel de deterioro, y una tasa de deforestación de al menos 495 647 ha año<sup>-1</sup> (CONAFOR, 2019). Para contrarrestar esta degradación, se realizan diversas actividades con fines de restauración ecológica, como las reforestaciones. La SER (2004) refiere que la restauración

ecológica es el proceso de ayudar al restablecimiento de un ecosistema degradado, dañado o destruido que involucra recuperar procesos, funciones, diversidad y, en general, la estabilidad e integridad biológica de un ecosistema original. Existen otros conceptos derivados del término: rehabilitación, establecimiento de ecosistemas artificiales (Ceccon, 2013), como la reforestación con exóticas; cada uno de estos términos implica diversas características. La ecología de la restauración y la restauración ecológica en México son todavía incipientes; existen solo 608 casos de investigación registrados entre 1995 y 2016 con un porcentaje superior al 70 % en comunidades vegetales tropicales y un 13 % en bosques templado-fríos (López *et al.*, 2017; Calva y Pavón, 2018). Con frecuencia lo que se realiza son reforestaciones con pinos. Entre 1967 y 1992, los programas oficiales de reforestación en México utilizaron exóticas como *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. Un ejemplo fue El Programa Barrera Forestal de Oriente, al este del Estado de México, incluido El Monte Tláloc, Texcoco. La Comisión del Plan Lago de Texcoco impulsó la reforestación como parte de un programa de conservación de suelo y agua, para controlar erosión, reducir tolvaneras y contribuir a recargar acuíferos. La Escuela Nacional de Agricultura (hoy Universidad Autónoma Chapingo) participó con el establecimiento de reforestaciones con *E. camaldulensis* y otras especies en sus áreas experimentales al pie del Monte Tláloc (Mario Ávila y Las Cruces), reforestaciones que en la actualidad tienen más de 50 años.

En años recientes se ha hecho más restauración e investigación (López *et al.*, 2017; Calva y Pavón, 2018), pero todavía son pocos los estudios para saber el nivel de éxito de reforestaciones con exóticas. Un ejemplo es el del aporte de la reforestación con exóticas en la formación de suelos sobre tepetates (Ávila *et al.*, 2011). El manejo adaptativo que se modifica conforme se cuenta con más investigación es clave en restauración ecológica. Se puede aplicar sólo si se hace seguimiento de las reforestaciones y se informan las decisiones de manejo en el proyecto de restauración en curso (SER, 2004). Después de un periodo de establecida, toda restauración debería ser evaluada para determinar su nivel de recuperación. Para ello se debe tener un ecosistema de referencia cercano a la zona restaurada que represente un punto avanzado de desarrollo y que permita la comparación. Se espera que con el tiempo el ecosistema restaurado alcance algunos de los atributos de la comunidad vegetal de referencia, respecto a composición, estructura y procesos ecológicos (SER, 2004).

La hipótesis del estudio fue que las reforestaciones con *Eucalyptus camaldulensis* pueden mostrar similitud en algunos atributos con el encinar adyacente. El objetivo fue determinar la composición, estructura y algunos procesos ecológicos de una reforestación de *Eucalyptus camaldulensis* y un bosque vecino de encino (con *Quercus deserticola* Trel. y *Q. laeta* Liebm. dominantes) como referencia, en un área experimental del Estado de México para obtener indicadores cuantitativos que ayuden a explicar la trayectoria o la rehabilitación de la zona reforestada.

## MATERIALES Y MÉTODOS

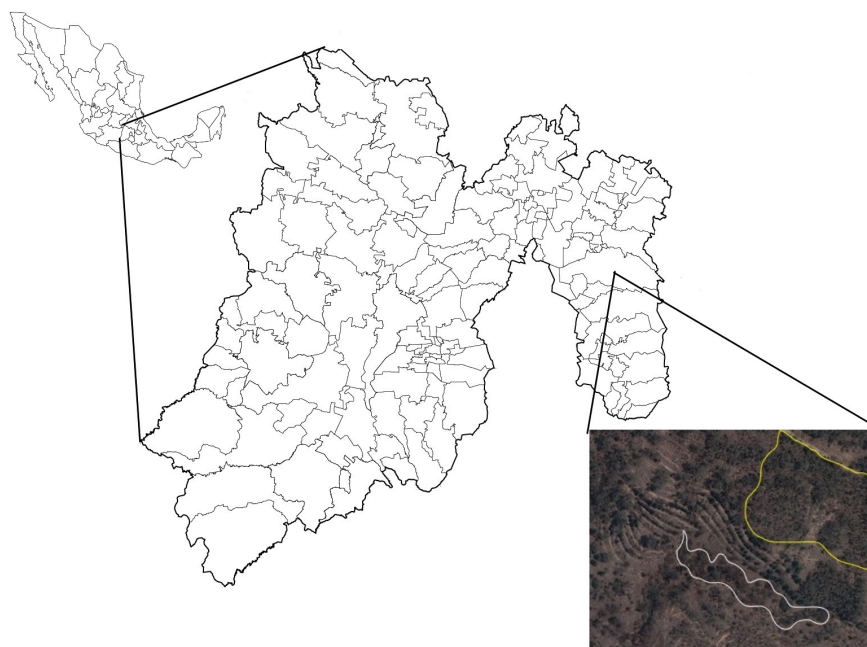
### Área de estudio

Este estudio se realizó en una reforestación de *E. camaldulensis* con más de 50 años de establecida y en un bosque natural con características de relicto de encino alledaño dominado por *Q. deserticola* y *Q. laeta* localizado en una cañada pequeña, como comunidad vegetal de referencia. Ambos en la Estación Forestal Experimental "Las Cruces", Texcoco, Estado de México. La estación pertenece a la Universidad Autónoma Chapinigo (UACH), con una superficie de 325.68 ha. Los centros de la reforestación y bosque estudiados se situaron en las coordenadas  $19^{\circ} 27' 09''$  N y  $-98^{\circ} 48' 59''$  O, y  $19^{\circ} 27' 05''$  N y  $-98^{\circ} 49' 00''$  O (Figura 1).

El área de estudio con rocas ígneas andesíticas está en la Faja Volcánica Transmexicana. Predominan los suelos Litosol y Feozem háplico, con baja capacidad de retención de humedad, medianamente ricos en materia orgánica con riesgo de erosión severo. El clima es C(W2)(W)bi (el más húmedo de los templados, subhúmedo, con lluvias en verano) (Ávila *et al.*, 2011). La altitud es de 2480–2640 m; aunque el encinar y la reforestación son vecinos, el primero está en una cañada con más humedad, sin erosión. Mientras que, en la zona adyacente, sí ocurrió erosión antes de su reforestación.

### Unidades de muestreo en las áreas evaluadas

Se delimitaron dos áreas vecinas, de 3 ha para reforestación y 1 ha para el bosque residual en buena condición, y la respectiva intensidad de muestreo del arbolado fue

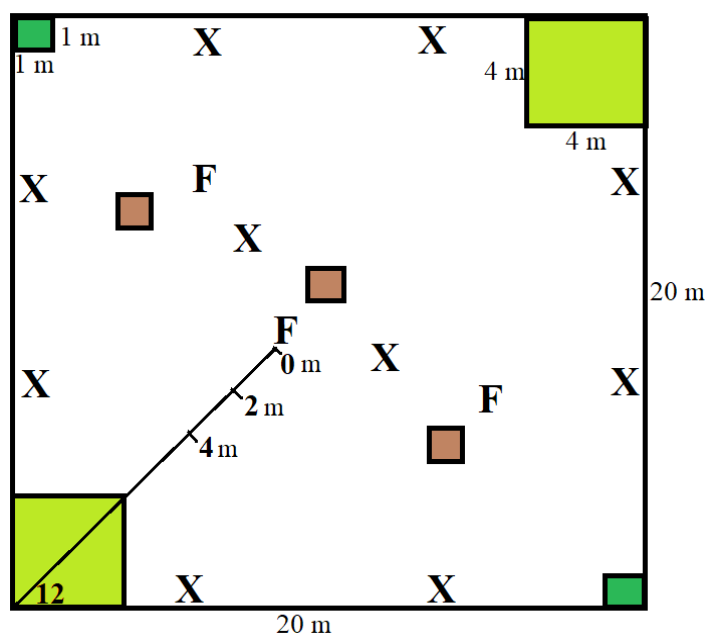


**Figura 1.** Áreas de estudio en el municipio de Texcoco, Estado de México. El contorno de color amarillo indica la reforestación, y el de color blanco, el bosque de encino.

8 y 24 %; al respecto, Romahn y Ramírez (2010) hicieron referencia hasta a 1 % de intensidad de muestro en inventarios forestales. Se establecieron parcelas de 400 m<sup>2</sup> y con fines de comparación de condición por efectos de la cobertura, tres parcelas se ubicaron bajo copas y tres entre copas, para un total de seis por cada condición (encinar y reforestación). En cada parcela se realizó el muestreo de árboles con diámetros normales  $\geq 5$  cm (juveniles y adultos) y se ubicaron dos subparcelas de 16 m<sup>2</sup> para arbustos y renuevo, y dos de 1 m<sup>2</sup> para herbáceas; para un total de 48 unidades de muestreo considerando las dos áreas (Figura 2).

### Radiación solar

En diciembre, se tomaron tres fotografías cenitales al dosel desde el piso por tipo de cobertura, tanto bajo las copas como entre copas, 12 fotos en total, con una cámara digital y lente hemisférica (Delta T-Devices). La cámara estaba empotrada en una estructura niveladora, a 25 cm del piso. Estas fotografías fueron el material de entrada para alimentar el programa Hemiview 2.1 SR4 (Delta-T Devices, AT ©, Cambridge, England), junto con coordenadas, día juliano y altitud, para calcular radiaciones solares total, directa, difusa y porcentaje de cielo visible.



**Figura 2.** Unidades de muestreo utilizadas en el estudio. Parcela grande (20×20 m, 400 m<sup>2</sup>), para muestreo de arbolado; parcela mediana (verde claro, 4×4 m, 16 m<sup>2</sup>) para renuevo y arbustos; parcela pequeña (verde oscuro, 1 m<sup>2</sup>) para herbáceas. Los cuadros café representan trampas para captura de materia orgánica (1 m<sup>2</sup>); X, puntos de ubicación de bolsas con materia orgánica para estimar tasa de descomposición; F, puntos de las fotografías hemisféricas. Línea diagonal, muestreo de combustibles leñosos; origen (0), punto a 2 m, tramo para muestreo de materiales < 0.6 cm y los de 0.6-2.5 cm; 4 m, para materiales con 2.6-7.5 cm, y el de 12 m para materiales con > 7.5 cm.

### Composición florística y estructura vegetal

En 2011 se realizó un muestreo en árboles y sotobosque (en verano: agosto-septiembre) y otro muestreo de sotobosque en invierno (enero-febrero). Las variables evaluadas para el arbolado fueron: especie, densidad (árboles ha<sup>-1</sup>), altura (m), diámetro normal (cm) y diámetro de copa (m). Para arbustos y herbáceas: especie, densidad, frecuencia y cobertura. Por estrato se obtuvo riqueza de especies y porcentaje de valor de importancia (PVI), diversidad  $\alpha$  (índice de Simpson) y diversidad  $\beta$  (similitud florística con el índice de Jaccard). La diversidad vegetal se calculó con el registro de las especies halladas en verano, cuando la riqueza de especies es mayor (Mostacedo y Fredericksen, 2000). Para la identificación de especies, las muestras se prensaron, secaron e identificaron en herbario (División de Ciencias Forestales, UACH).

### Materiales leñosos

Se estimaron con el método de intersecciones planares (Brown, 1974). Se trazaron seis líneas de muestreo en cada tipo de cobertura (una línea por parcela grande en cada condición, 12 en total), de 12 m para registrar el número de intersecciones entre líneas y materiales leñosos con diámetro >7.5 cm, 4 m para aquellos con 2.5–7.5 cm, 2 m tanto para las clases 0.6–2.5 cm y <0.6 cm (Flores *et al.*, 2008). Para estimar el peso seco total de los combustibles leñosos por hectárea, los resultados se ajustaron por las densidades básicas de la madera de las especies dominantes por condición.

### Hojarasca y capa de fermentación

De hojarasca y capa de fermentación se recolectó muestra en 36 cuadros de 30 × 30 cm ubicados al azar, con tres repeticiones por parcela grande de vegetación, incluyendo cada condición de tipo de vegetación y cobertura. Al inicio del estudio se estimó cobertura visualmente (%) y se midió con regla la profundidad de ambas capas. El material recolectado se separó por componente y se obtuvo su peso seco con balanza electrónica (Ohaus, Scout Pro, México); después del secado en estufas (Ríos Rocha, N141, México) en laboratorio (70 °C, hasta obtener peso constante).

### Caída de material para incorporación a detrito

Para capturar la caída de material considerado detrito, en diciembre de 2010 se colocaron en total 36 trampas de forma piramidal con superficie de 1 m<sup>2</sup> en la parte superior, 40 × 40 cm en la base y altura de 50 cm (Figura 3A). En cada parcela de vegetación se colocaron tres trampas: nueve bajo copas y nueve entre copas, tanto en la reforestación como en el encinar. La recolecta de detritos acumulados se hizo mensual (enero a junio, 2011), con separación de componentes (hojas y material leñoso, cortezas, frutos y semillas). El material se secó en laboratorio en estufas a 70 °C, para después pesarlo por componentes.

### Descomposición de materia orgánica

Las bolsas de descomposición fueron de malla tipo tul (15×8×3 cm), se distribuyeron 10 bolsas aleatoriamente en cada una de las 12 parcelas (120 bolsas en total), la mitad



**Figura 3.** A: trampas para captura de detritos; B: pesaje de bolsas con materiales orgánicos para su entierro y estimación de tasa de descomposición.

bajo copas y la otra mitad entre ellas. Cada una se llenó con materia orgánica de cada tipo de comunidad evaluada, principalmente hojarasca. La compactación con que se decidió llenar al tacto las bolsas fue la misma que había en la capa de hojarasca del piso forestal. Todas las bolsas se pesaron en campo. En la fecha de establecimiento (diciembre de 2010) 20 muestras (cinco por parcela) se llevaron al laboratorio y fueron secadas en horno a 70 °C y pesadas; se dividió el peso seco del material en laboratorio entre el peso del mismo en campo y se obtuvo un factor para obtener el peso seco de las bolsas (Figura 3B). Con este factor se estimó el peso seco inicial de las bolsas dejadas en campo, las cuales se utilizaron para los muestreos mensuales de enero a junio. En cada fecha de muestreo se recolectaron otras cinco bolsas por parcela, 20 en total (Waring y Schlesinger, 1985).

De este modo, para cada fecha de recolecta se obtuvo el peso seco perdido por descomposición, el cual se estimó por diferencia entre el peso seco inicial (diciembre de 2010) y el de cada bolsa extraída en los meses subsecuentes. La tasa de descomposición se calculó con el modelo  $(X/X_0) = e^{-k}$ , donde:  $X$  = pérdida de materia orgánica,  $X_0$  = materia orgánica acumulada en el suelo forestal,  $k$  = coeficiente de descomposición,  $e = 2.71828$  (Waring y Schlesinger, 1985).

#### **Análisis estadístico**

Las variables (altura, diámetro normal, materiales leñosos, hojarasca y capa de fermentación en el piso, tasas de caída de detritos y de descomposición, radiaciones solares total, directa, difusa y cielo visible,) se compararon entre y dentro de cada condición (bosque y reforestación). Se analizó la normalidad de los datos con la prueba de Anderson-Darling (procedimiento PROC UNIVARIATE). Si los datos eran normales se analizaron con la prueba de  $t$  (Student, con consideración de homocedasticidad o heterocedasticidad, procedimiento PROC TTEST). Si los datos no eran normales se

analizaban con la prueba no paramétrica de Wilcoxon ( $p \leq 0.05$ , procedimiento PROC NPAR1WAY). Los análisis se hicieron con SAS® v. 9.0 (SAS Institute, 2002). La hipótesis de prueba fue  $H_0: \tau_1 = \tau_2$ ; donde  $\tau$  = condición (reforestación o encinar) o cobertura (bajo copa y entre copas).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Radiación solar

Con la prueba de  $t$  se hallaron diferencias estadísticas, entre bosque y reforestación, para cielo visible y los tres tipos de radiación evaluados (Figura 4); aunque no se observaron diferencias entre la condición debajo y entre copas ( $p > 0.05$ ). El cielo visible fue mayor en la reforestación ( $34.3 \pm 3.1$  %) que en el encinar ( $28.8 \pm 4.0$  %) ( $p = 0.0175$ ), similar a la radiación solar total ( $5384 \pm 594$  MJ m<sup>-2</sup> año<sup>-1</sup> y  $4376 \pm 634$  MJ m<sup>-2</sup> año<sup>-1</sup>,  $p = 0.0187$ ) en reforestación y encinar, respectivamente (Figura 4A y 4B).

Los valores respectivos para la radiación solar directa ( $4895 \pm 553$  MJ m<sup>-2</sup> año<sup>-1</sup> y  $3965 \pm 597$  MJ m<sup>-2</sup> año<sup>-1</sup>,  $p = 0.0157$ ) y la radiación solar difusa ( $488 \pm 46.5$  MJ m<sup>-2</sup> año<sup>-1</sup> y  $411 \pm 45.7$  MJ m<sup>-2</sup> año<sup>-1</sup>;  $p = 0.0239$ ), también resultaron significativos.

La menor radiación incidente sobre el piso forestal se relacionó con una mayor riqueza y diversidad de especies del sotobosque. Encinares de *Q. crassifolia* en Puebla, en zonas más húmedas que los de este trabajo, alcanzan una radiación solar total de  $3607 \pm 1250$  MJ m<sup>-2</sup> año<sup>-1</sup> (Rodríguez-Trejo *et al.*, 2021) y están menos alterados, lo que contribuye a su mayor cobertura (cielo visible, 19.7 %) y menor radiación solar sobre el piso.

### Composición florística

La riqueza de especies fue mayor en el encinar que en la reforestación, con 12 árboles, 15 arbustivas, 41 herbáceas; 68 especies en total. Pero la riqueza también fue relevante en la reforestación donde se esperaba hallar solo eucaliptos, se registraron 6 arbóreas, 11 arbustivas, 33 herbáceas; 50 especies en total.

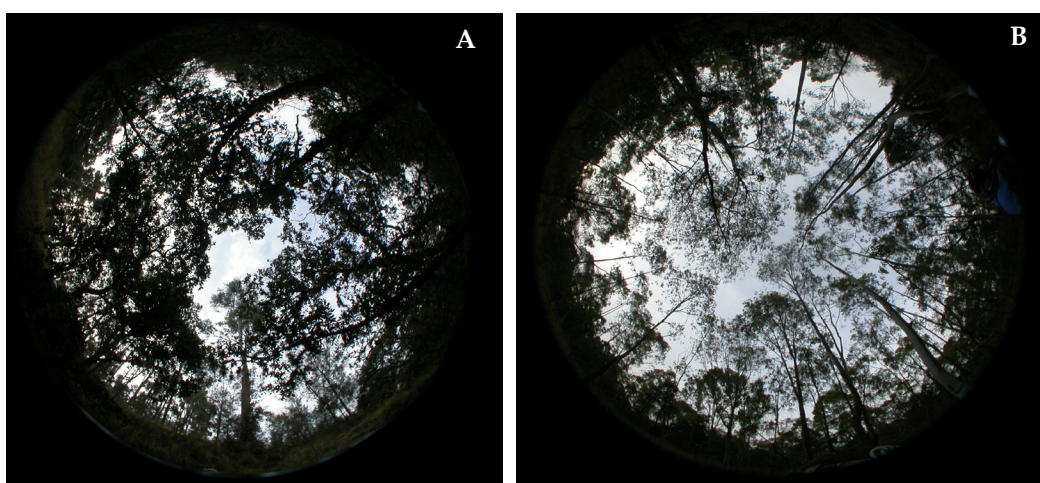


Figura 4. Fotografías hemisféricas en el análisis de la radiación solar; A: del dosel del encinar; y B: de la reforestación con *Eucalyptus camaldulensis*.

El índice de diversidad de Simpson para arbóreas fue mayor en el encinar que en la reforestación, pero en el estrato arbustivo y el herbáceo fue semejante en ambas condiciones (Cuadro 1). En arbustos el índice fue similar entre verano e invierno en la reforestación, pero no en el bosque. El estrato herbáceo no fue similar entre épocas en ambas condiciones. La similitud de especies entre condiciones fue baja, con índices de Jaccard de 5.9 (árboles), 36.8 (arbustos), 15.6 (hierbas) y 19.0 (todas las especies). La mayor riqueza de especies del encinar en los tres estratos, evidencia de una mayor complejidad estructural en el bosque.

El patrón sistemático al establecer reforestaciones (por ejemplo, el tresbolillo, a distancias predeterminadas) y su carácter monoespecífico, influyen generando menor variabilidad ambiental, por ejemplo, en radiación solar, para que haya una menor riqueza en el sotobosque. En Pontevedra, España, López *et al.* (2018) compararon la riqueza de especies entre una plantación de *Eucalyptus globulus* Labill. y cuatro robledales (*Quercus robur* Pall.) y también hallaron riqueza mayor en el bosque que en la plantación, 98 vs. 53 especies. Los autores consideraron que aleopatía, cortezas caídas (barrera mecánica) e insolación mayor en las plantaciones, son factores que explican la diferencia. En este estudio se consideró que tales factores también limitan riqueza y diversidad del sotobosque.

La radiación solar en la reforestación superó la del encinar lo cual también pudo contribuir a reducir la diversidad de arbustivas y herbáceas, pues la localidad es relativamente seca. La riqueza de herbáceas del bosque, respecto a su riqueza total (60.3 %), fue algo menor a la de un encinar de Coahuila (72.9 %) (Encina *et al.*, 2009), si bien los encinares son muy diversos en las condiciones ambientales que ocupan. Los índices de diversidad mayores se hallaron para herbáceas, en el encinar, durante el verano. La explicación radica en la mayor diversidad y riqueza en herbáceas, respecto a las leñosas y, de acuerdo con Rubio (2015), a que humedad y temperatura son mayores durante la germinación y el período de crecimiento en el verano.

Las plantaciones monoespecíficas y coetáneas con exóticas se consideran negativas. Aunque hospedan menos fauna que un bosque natural, pueden tener más diversidad que cultivos agrícolas, pasturas y áreas degradadas (Montagnini, 2005). Para promover la diversidad en aquéllas, Montagnini (2005) sugiere establecerlas a densidad baja, mezcladas con especies nativas o usar solo nativas, realizando aclareos para favorecer a la vegetación local, y plantar cerca de fuentes naturales de semilla.

**Cuadro 1.** Índices de diversidad de Simpson, por condición y por época.

| Estrato   | Encinar de referencia       |                             | Reforestación con eucalipto |                             |
|-----------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|           | D <sub>v</sub> <sup>†</sup> | D <sub>i</sub> <sup>‡</sup> | D <sub>v</sub> <sup>†</sup> | D <sub>i</sub> <sup>‡</sup> |
| Arbóreo   | 0.616                       |                             | 0.260                       |                             |
| Arbustivo | 0.566                       | 0.409                       | 0.438                       | 0.470                       |
| Herbáceo  | 0.778                       | 0.531                       | 0.718                       | 0.447                       |

<sup>†</sup>D<sub>v</sub>: índice de diversidad de Simpson en verano; <sup>‡</sup>D<sub>i</sub>: en invierno.

Los índices de diversidad del encinar, en todas las formas de vida y épocas, superaron a los de la reforestación, excepto en el estrato arbustivo en invierno (Cuadro 1). En arbustos y herbáceas, la diversidad fue mayor en verano que en invierno.

### Estructura vegetal

Los datos de diámetros y alturas no tuvieron normalidad. El rango promedio del diámetro normal fue mayor en el encinar que en la reforestación ( $p = 0.046$ ); por el contrario, el rango promedio para la altura resultó mayor en la reforestación ( $p \leq 0.01$ ). Los promedios en diámetro fueron  $21.3 \pm 8.2$  cm y  $13.7 \pm 7.9$  cm para el encinar y la reforestación respectivamente, y  $7.4 \pm 2.4$  m y  $14.9 \pm 4.7$  m en altura. Los eucaliptos en esta zona reciben afectación periódica por incendios forestales provocados, lo cual explica su relativamente pequeña altura, a pesar de ser viejos ( $\geq 40$  años). Follaje y corteza de eucalipto son altamente inflamables y la disposición de sus tiras de corteza provee continuidad vertical para que el fuego alcance las copas. Sin embargo, los lignotubérculos y yemas bajo la corteza le permiten al eucalipto rebrotar y recuperarse, está adaptado al fuego (Scott *et al.*, 2014).

En Las Cruces existen muchos eucaliptos bifurcados y trifurcados, señal de viejas rebrotaciones consecuencia del fuego. A pesar de tales adaptaciones el eucalipto crece menos o muestra daños en su parte aérea, por eso sus diámetros y alturas actuales son menores de lo que deberían. La velocidad de crecimiento que caracteriza al eucalipto explica por qué los árboles de la reforestación son más altos que los encinos; no obstante, los daños recurrentes referidos y el suelo somero, comparado con el del encinar. En este último los encinos son más robustos y las bases de sus copas más altas, lo que reduce la posibilidad de que éstas ardan en caso de incendio, aunque si esto llegara a ocurrir también son capaces de rebrotar (Rodríguez-Trejo y Myers, 2010).

### Valores de importancia

En el encinar existe mayor densidad de arbolado ( $970.8$  árboles  $ha^{-1}$ ) que en la reforestación ( $816.6$  árboles  $ha^{-1}$ ), lo cual es entendible pues ésta se realizó sistemáticamente, posiblemente la densidad de plantación fue de  $1000-1500$  árboles  $ha^{-1}$ . Debido a la gran riqueza de especies del género *Quercus* en México, existe una alta variabilidad en estructura (incluida la densidad) y composición en sus bosques (Rubio, 2015).

El encinar tuvo 10 especies arbóreas nativas (8 de encinos) y dos exóticas (*Eucalyptus globulus* y *Casuarina equisetifolia*). Las arbóreas que presentaron el PVI mayor en conjunto fueron *Quercus deserticola* y *Q. laeta* (59.8 %). En la reforestación, *E. camaldulensis* fue el más importante (70 %) (Cuadro 2). Un encinar dominado por *Q. crassifolia* en Villa del Carbón, México, tuvo ocho especies arbóreas, incluyendo cinco de encinos, cubriendo dos tercios del PVI (Rubio *et al.*, 2011).

La evaluación del sotobosque en encinar durante el verano arrojó una densidad de  $12\ 864.6$  arbustos  $ha^{-1}$  y  $235\ 833.3$  herbáceas  $ha^{-1}$ ; mientras que en invierno se tuvieron  $5885.4$  y  $65\ 833.3$  individuos  $ha^{-1}$ , respectivamente. En la época de lluvias, en la reforestación la densidad de arbustos y herbáceas fue  $8541.7$  y  $275\ 000$  individuos  $ha^{-1}$ ; pero en sequía disminuyó ( $5781.3$  y  $116\ 666.7$  individuos  $ha^{-1}$ ).

**Cuadro 2.** Porcentaje de valor de importancia (PVI) para árboles de encinar y reforestación.

| Especies  | DR <sup>b</sup> (%) | DOR <sup>c</sup> (%) | FR <sup>++</sup> (%) | PVI <sup>¶¶</sup> (%) |
|---|---------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|
| Encinar   |                     |                      |                      |                       |
| <i>Quercus deserticola</i> Trel. <sup>†</sup>                         | 42.92               | 36.37                | 19.23                | 32.84                 |
| <i>Quercus laeta</i> Liebm. <sup>†</sup>                              | 37.34               | 20.42                | 23.08                | 26.94                 |
| <i>Quercus crassipes</i> Bonpl. <sup>†</sup>                          | 4.29                | 8.36                 | 11.54                | 8.07                  |
| <i>Casuarina equisetifolia</i> L. <sup>¶</sup>                        | 2.15                | 5.08                 | 11.54                | 6.26                  |
| <i>Quercus rugosa</i> Née <sup>†</sup>                                | 3.00                | 4.32                 | 7.69                 | 5.01                  |
| <i>Callitropsis lusitanica</i> (Mill.) D.P.Little <sup>†</sup>        | 3.86                | 5.48                 | 3.85                 | 4.40                  |
| <i>Quercus crassifolia</i> Benth. <sup>†</sup>                        | 1.29                | 6.93                 | 3.85                 | 4.02                  |
| <i>Eucalyptus globulus</i> Labill. <sup>¶</sup>                       | 0.86                | 5.85                 | 3.85                 | 3.52                  |
| <i>Vachellia schaffneri</i> (S.Watson) Seigler & Ebinger <sup>†</sup> | 2.58                | 2.06                 | 3.85                 | 2.83                  |
| <i>Quercus castanea</i> Muhl. <sup>†</sup>                            | 0.43                | 4.08                 | 3.85                 | 2.79                  |
| <i>Quercus mexicana</i> Bonpl. <sup>†</sup>                           | 0.86                | 0.83                 | 3.85                 | 1.85                  |
| <i>Quercus aff. deserticola</i> Trel. <sup>†</sup>                    | 0.43                | 0.21                 | 3.85                 | 1.50                  |
| SUMA  | 100.0               | 100.0                | 100.0                | 100.0                 |
| Reforestación con eucalipto   |                     |                      |                      |                       |
| <i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh <sup>¶</sup>                    | 81.63               | 88.49                | 40.00                | 70.04                 |
| <i>Acacia retinodes</i> Schltdl. <sup>¶</sup>                         | 4.08                | 1.96                 | 26.67                | 10.90                 |
| <i>Callitropsis lusitanica</i> <sup>¶</sup>                           | 2.55                | 4.63                 | 13.33                | 6.84                  |
| <i>Schinus molle</i> L. <sup>§</sup>                                  | 7.14                | 1.71                 | 6.67                 | 5.17                  |
| <i>Casuarina equisetifolia</i> <sup>¶</sup>                           | 3.06                | 2.14                 | 6.67                 | 3.96                  |
| <i>Eysenhardtia polystachya</i> (Ortega) Sarg. <sup>†</sup>           | 1.53                | 1.07                 | 6.67                 | 3.09                  |
| SUMA  | 100.0               | 100.0                | 100.00               | 100.00                |

<sup>†</sup>Nativa; <sup>¶</sup>exótica; <sup>§</sup>naturalizada; <sup>b</sup>DR: densidad relativa; <sup>c</sup>DOR: dominancia relativa; <sup>++</sup>FR: frecuencia relativa; <sup>¶¶</sup>PVI: porcentaje de valor de importancia.

El PVI para especies del sotobosque, por época de evaluación, indica que los arbustos más importantes en el encinar, en verano, fueron: *Helianthemum glomeratum* (Lag.) Lag. (22.5 %) y *Bouvardia ternifolia* Schltdl. (22.5 %). En las herbáceas fue *Stipa ichu* (Ruiz & Pav.) Kunth (12.9 %). Los arbustos más importantes en invierno fueron: *H. glomeratum* (37.2 %) y *Gymnosperma glutinosum* Less. (12.8 %). En herbáceas fueron *S. ichu* (43.4 %) y *Muhlenbergia confusa* (E. Fourn) Swallen (10.9 %). Las diferentes especies de encino y el ambiente causan variabilidad en las especies del sotobosque. Ambientes con cobertura alta favorecen una presencia baja de arbustos, Rubio *et al.* (2011) registraron en Villa del Carbón, siete especies arbustivas, con una densidad de 40 ha<sup>-1</sup> siendo una especie la que cubrió un tercio del PVI. En encinares secos de Coahuila (497 mm de PMA), con menor cobertura, hubo densidades de 3307 arbustos ha<sup>-1</sup> (Encina *et al.*, 2009). La diferencia puede deberse a que estas últimas son comunidades arbustivas, mientras que en las primeras los arbustos son parte de un bosque.

Para la reforestación, en verano los arbustos más abundantes o con mayor densidad resultaron *G. glutinosum* (22.1 %), *Eupatorium* sp. (19.9 %) y *B. ternifolia* (15.5 %), y entre las herbáceas *Pappophorum pappiferum* (Lam.) Kuntze (8.2 %), *Aristida divaricata* Humb. & Bonpl. ex Willd., *S. jorullensis* Kunth y *S. tomentosa* S.Schauer (cada una 7.3 %). En

invierno, fueron *G. glutinosum* (65.9 %) y *S. ichu*, en arbustos y herbáceas, respectivamente. La mayor humedad y cantidad de horas luz disponibles en verano, explican la mayor dominancia de especies del sotobosque en tal estación.

A pesar del carácter alelopático de diversas especies de eucalipto, como *E. camaldulensis*, que contiene en sus hojas y corteza sustancias inhibitoras (ácidos fenólicos, flavonoides, taninos y monoterpenoides fitotóxicos in vitro) (Espinosa, 1996), no se evidenció alelopatía en la reforestación estudiada.

### Materiales leñosos

Los datos no presentaron normalidad y no hubo diferencia estadística entre los intervalos promedio al comparar la biomasa seca total de materiales leñosos entre la reforestación y el encinar ( $p = 0.1741$ ). Los valores medios fueron  $18.003 \pm 14.156$  y  $26.259 \pm 27.282$  Mg ha<sup>-1</sup>. Las cargas parciales por categoría dimétrica para la reforestación fueron: 0.542 Mg ha<sup>-1</sup> (< 0.6 cm de diámetro), 2.885 Mg ha<sup>-1</sup> (0.6-2.5 cm), 11.114 Mg ha<sup>-1</sup> (2.5-7.5 cm), 3.462 Mg ha<sup>-1</sup> (> 7.5 cm, firmes). Para el bosque, las cargas en igual orden alcanzaron: 0.632, 3.175, 13.340, 6.761 y 2.352 Mg ha<sup>-1</sup> (este último para materiales > 7.5 cm en descomposición). Encinares de *Q. crassipes* Bonpl., de la Sierra Norte de Puebla, tienen cargas mayores de materiales leñosos, 31.726 Mg ha<sup>-1</sup>, con 81.1 % de materiales > 7.5 cm (Bonilla *et al.*, 2012), lo que puede deberse a que se trata de encinares más húmedos, con suelos profundos y por tanto más productivos.

### Hojarasca y capa de fermentación

No hubo normalidad en los datos. Los promedios en el encinar fueron mayores ( $p \leq 0.05$ ), con una biomasa media de  $18.195 \pm 11.824$  Mg ha<sup>-1</sup>; mientras que en la reforestación fue  $9.209 \pm 3.434$  Mg ha<sup>-1</sup>. En promedio, las profundidades de las capas de hojarasca y de fermentación, fueron 8.0 y 2.0 cm en el encinar, y 4.2 y 0.5 cm en la reforestación. Las especies de encino estudiadas son de caducifolias a semicaducifolias y, por su mayor cobertura, la acumulación de detritos en el bosque supera la de la reforestación. El eucalipto en estudio es perennifolio, el follaje que cae se debe a muerte irregular de sus hojas y al viento, principalmente. La biomasa del material considerado como detrito (materiales leñosos, hojarasca y capa de fermentación) en el área de encino corresponde con los 48.1 Mg ha<sup>-1</sup> estimados por Martínez *et al.* (2018) en un encinar (*Q. crassipes*, *Q. rugosa* y *Q. laeta*) de la misma zona, pero en una altitud mayor. La presencia de esta biomasa en el piso forestal es importante como reservorio de agua, reciclado de nutrientes y hábitat para organismos del suelo, donde se aloja 25 % de la biodiversidad en bosques templados (Dudley y Vallauri, 2005).

### Caída de detritos

Respecto a la composición del material detrito se encontró en el área de la reforestación, hojas (49.7 %), frutos (22.3 %), ramillas (15.7 %), y corteza (12.3 %); y en el encinar, hojas (73.8 %), frutos (7.4 %), ramillas (16.4 %) y corteza (2.4 %). La hojarasca fue predominante, en especial en el encinar. Los datos de acumulación de detritos

mostraron normalidad y la media en el bosque ( $0.606 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ mes}^{-1}$ ) casi duplicó la de la reforestación ( $0.321 \text{ Mg ha}^{-1}$  por mes) ( $p \leq 0.05$ ). Para cada tipo de cobertura no hubo diferencia estadística ( $p > 0.05$ ) entre las condiciones bajo y entre copas (Figura 5), es probable que debido al tamaño pequeño de los claros.

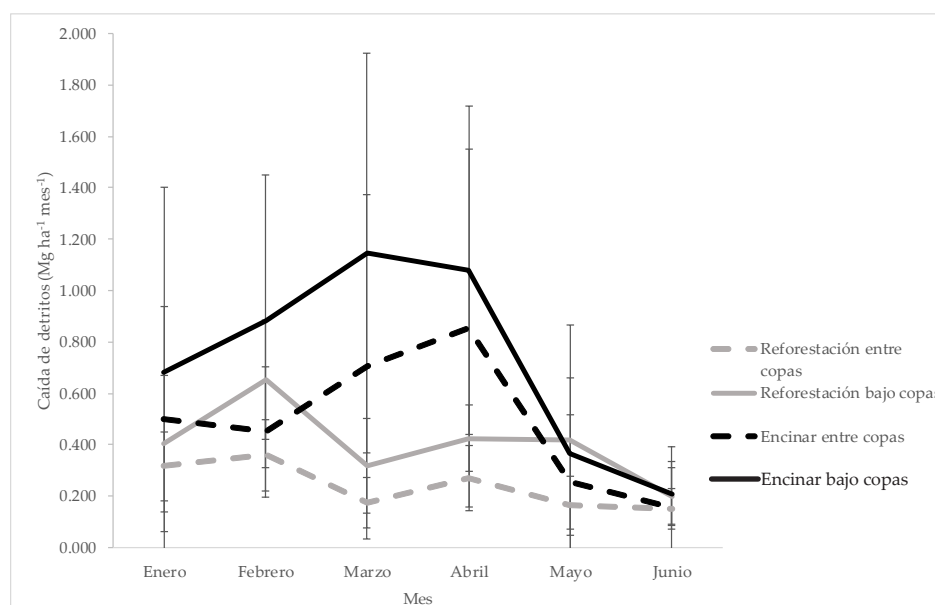
La caída de material como detrito es parte del proceso de reciclaje de materia orgánica y nutrientes. La disponibilidad de humedad mayor en las cañadas del encinar contribuye para acumular una biomasa arbórea mayor y consecuentemente, más producción de material para detritos (Scott *et al.*, 2014). Debido a que los encinos son caducifolios y a la mayor biomasa de sus copas, la acumulación de detritos, en particular hojas, fue mayor en el encinar que en la reforestación (Figura 5).

La aportación de materia orgánica al sistema, principalmente la fracción foliar, sumada con los materiales leñosos, representó 65.4 % en la reforestación y 90.2 % en el encinar; cifras mayores a las obtenidas por Pérez-Suarez *et al.* (2009), en encinar de *Quercus potosina* Trel. ( $0.406 \text{ Mg ha}^{-1}$ ) de México centro-norte, donde las hojas constituyeron la mayor fracción de materia orgánica aportada, 60 %, y las ramas pequeñas 20-30 %.

La recolección de detritos alcanzó un pico pronunciado hacia marzo-abril en el encinar, mientras que en la reforestación se obtuvo en febrero; lo cual denota diferencias fenológicas (caducidad del follaje) entre las especies. En febrero y marzo son típicos fuertes vientos que contribuyeron a la caída máxima de detritos en el eucalipto.

### Descomposición de materia orgánica

Las medias de descomposición para reforestación y bosque fueron  $0.251$  y  $0.443 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ mes}^{-1}$ . En la reforestación a cielo abierto y bajo sombra, se calculó una descompo-

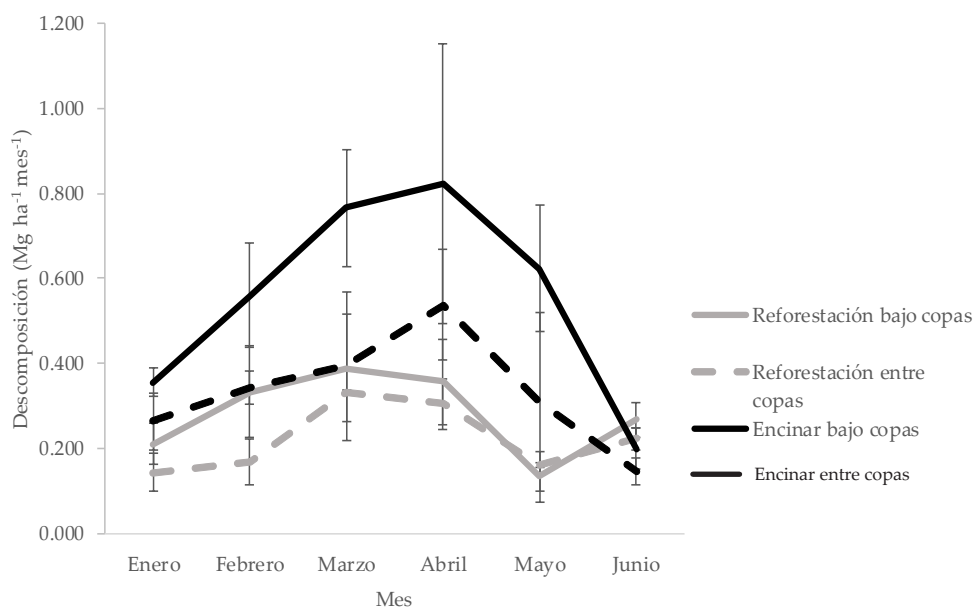


**Figura 5.** Caída mensual ( $\text{Mg ha}^{-1}$ ) de materia orgánica en el área de muestreo. Las barras de error representan desviación estándar.

sición media de 0.221 y 0.281  $\text{Mg ha}^{-1} \text{mes}^{-1}$ , respectivamente. En el bosque se descompusieron 0.332  $\text{Mg ha}^{-1} \text{mes}^{-1}$  a cielo abierto y 0.554  $\text{Mg ha}^{-1} \text{mes}^{-1}$  bajo sombra. El factor de descomposición mensual entre tipos de bosque mostró normalidad y diferencias estadísticas ( $p = 0.0333$ ), con medias de 0.0649 para encinar y 0.0457 en reforestación. En ningún caso hubo diferencias estadísticas entre cielo abierto y sombra ( $p > 0.05$ ). Los valores más altos de descomposición para encinar y reforestación ocurrieron en abril y marzo, respectivamente (Figura 6).

La tasa de descomposición depende de la composición química de los materiales. Las hojas de vida larga, como las del eucalipto, invierten más en productos de defensa que ralentizan su descomposición y el contenido de lignina de *E. camaldulensis* va de 24.7 a 29.9 % (Terdwongworakul *et al.*, 2005). Bautista y Salazar (2005) sostienen que la relación lignina:concentración de N tiene correlación negativa con la tasa de descomposición en *Q. rugosa*, donde el contenido de lignina es 20.4-23.4 %; las hojas de encinos caducos tienen más fenoles que las hacen resistentes a la descomposición. En el caso de las hojas de eucalipto, estos factores combinados contribuyen a una descomposición neta más lenta.

La densidad de la madera es otra característica que influye en la descomposición de la materia orgánica, y es inversa a la tasa de descomposición. *E. camaldulensis* tiene una densidad de 0.71-0.83  $\text{kg dm}^{-3}$  (Nogueira *et al.*, 2018), mientras para *Q. laeta* alcanza 0.61-0.75  $\text{kg dm}^{-3}$  (Ordóñez *et al.*, 2015). La madera de eucalipto es más densa y por tanto tarda más en descomponerse. En el encinar, las características de hojas y madera favorecen una mayor tasa de descomposición, además la menor radiación y mayor humedad favorecen a hongos y microorganismos descomponedores (Waring y Schlesinger, 1985).



**Figura 6.** Descomposición promedio mensual ( $\text{Mg ha}^{-1}$ ) de la materia orgánica. Las barras de error representan desviación estándar.

La expansión de las raíces y aportes de materia orgánica en casuarinas (*Casuarina equisetifolia* L.) y cedros (*Cupressus lindleyi* Klotzch ex Endl.) promueven la formación de suelo más rápido en los tepetates de la zona de estudio en comparación con los pinos y eucaliptos (Ávila *et al.*, 2011). La lenta degradación de los detritos del eucalipto se comprobó en este estudio; en el encinar se encontró una cantidad mayor de biomasa muerta sobre el piso, y se observó que forma suelo más rápido que la reforestación. La acumulación de materia orgánica en el bosque duplicó la de la reforestación.

En las reforestaciones, las especies siguen un patrón sistemático, de modo que el proceso de restauración hacia bosque es inicialmente determinístico. Después comienza el reclutamiento de otras especies por dispersión de germoplasma, en un proceso de tipo estocástico o probabilístico (Cecon, 2013). Ventura *et al.* (2017) compararon en Hidalgo, una reforestación de *P. greggii* Engelm. ex Parl. con un bosque de referencia de *Pinus cembroides* Zucc., y encontraron que la reforestación puede lograr cierta recuperación de variables estructurales y funcionales, después de 14 años de plantación, pero sin llegar a los niveles del bosque de referencia. Lo anterior resulta similar a este estudio, aunque en la reforestación con *E. camaldulensis* evaluada no se registraron señales de regeneración ni de sucesión ecológica hacia una vegetación arbórea de tipo natural.

### CONCLUSIONES

Los indicadores evaluados demuestran una baja similitud en composición, estructura y procesos entre el bosque y la reforestación. No obstante, la reforestación se ha mantenido y aporta funciones ambientales. *Eucalyptus camaldulensis*, parece facilitar la presencia de otras especies en el sotobosque que incrementan la heterogeneidad y la diversidad en escala de paisaje, aunque el sitio no ha recuperado la integridad ecológica. La reforestación no limitó el establecimiento de una cobertura abundante del sotobosque, aunque diferente a la del encinar. Si se desea restaurar *sensu stricto*, los encinos son mejor elección en los terrenos disponibles y en los claros, siempre y cuando se presenten las características óptimas de establecimiento y crecimiento para dichas especies. El establecimiento de *E. camaldulensis* en esta zona degradada hace más de 50 años ha demostrado haber recuperado o facilitado ciertas características o condiciones que en la actualidad pueden favorecer el establecimiento de especies nativas.

Por último, los indicadores definidos en este estudio pueden contribuir a reorientar la restauración y reforestación en el área. Por ejemplo, para iniciar una repoblación asistida con encinos nativos en zonas antes reforestadas con eucalipto. El seguimiento sistemático a las áreas sujetas a restauración o rehabilitación ecológica son claves en la administración forestal para retroalimentar planes o prácticas de restauración y de manejo.

### REFERENCIAS

- Ávila GR, Gutiérrez MC, Ortiz-Solorio CA, Ángeles E, Sánchez P. 2011. Evaluación de las reforestaciones en la formación de suelo a partir de tepetates. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 17: 303–312. <https://doi.org/10.5154/r.rchsc/2010.11.113>

- Bautista HR, Salazar AH. 2005. Composición química de la madera de cuatro especies del género *Quercus*. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 30: 25–50.
- Bonilla E, Rodríguez-Trejo DA, Borja A, Cántora C, Santillán J. 2012. Dinámica de combustibles en rodales de Encino-pino de Chignahuapan, Puebla. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 4: 20–33.
- Brown JK. 1974. Handbook for Inventorying Downed Woody Material. General Technical Report INT-16. USDA Forest Service, IFRES. Ogden, UT, USA. 30 p.
- Calva SK, Pavón NM. 2018. La restauración ecológica en México: una disciplina emergente en un país deteriorado. *Madera y Bosques* 24: 1–12. <https://doi.org/10.21829/myb.2018.2411135>
- Ceccon E. 2013. Restauración en Bosques Tropicales: Fundamentos Ecológicos, Prácticos y Sociales. UNAM, México D.F., México. 288 p.
- CONAFOR (Comisión Nacional Forestal). 2019. El Sector Forestal Mexicano en Cifras. Comisión Nacional Forestal. Ciudad de México, México. 96 p.
- Dudley N, Vallauri D. 2005. Restoration of deadwood as a critical microhabitat in forest landscapes. *In* Forest Restoration in Landscapes, Mansourian S, Vallauri D, Dudley N. (eds.); Springer-WWF: New York, NY, USA, 203–207. [https://doi.org/10.1007/0-387-29112-1\\_29](https://doi.org/10.1007/0-387-29112-1_29)
- Encina JA, Zárate A, Estrada E, Valdés J, Villarreal JÁ. 2009. Composición y aspectos estructurales de los bosques de encino de la Sierra de Zapalinamé, Coahuila, México. *Acta Botánica Mexicana* 86: 71–108.
- Espinosa, FJ. 1996. Revisión sobre la alelopatía de *Eucalyptus* L'Herit. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 58: 55–74. <https://doi.org/10.17129/botsoci.1487>
- Flores J, Rodríguez O, Meléndez M, Rosas O. 2008. Sitios de muestreo para el monitoreo de combustibles forestales (SIMMCOF). Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Centro de Investigación Regional del Pacífico Centro, Campo Experimental Centro Altos de Jalisco, Tepatitlán, Jalisco, México. 47 p.
- López BF, Martínez GC, Ceccon E. 2017. Ecología de la restauración en México: estado actual y perspectivas. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 88: 97–112. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2017.10.001>
- López SB, Rivera JG, Sobral M. 2018. Biodiversidad en plantaciones de eucalipto y en robledales del sur de Galicia: plantas y aves. *Nova Acta Científica Compostelana (Biología)* 25: 71–81.
- Martínez JL, Rodríguez-Trejo DA, Borja A, Rodríguez GA. 2018. Propiedades físicas y dinámica de los combustibles forestales en un bosque de encino. *Madera y Bosques* 24: 1–14. <https://doi.org/10.21829/myb.2018.2421467>
- Montagnini F. 2005. Attempting to restore biodiversity in even-aged plantation. *In* Forest Restoration in Landscapes: Beyond Planting Trees, Mansourian S, Vallauri D, Dudley N. (Eds.); Springer-WWF: New York, NY, USA, 384–391.
- Mostacedo B, Fredericksen TS. 2000. Manual de Métodos Básicos de Muestreo y Análisis en Ecología Vegetal. BOLFOP: Santa Cruz, Bolivia. 87 p.
- Nogueira CJA, De Araujo VA, Vasconcelos JS, Gutiérrez CM, da Cruz JN, Vasconcelos C, Prativiera F, Christoforo AL, Lahr AR. 2018. Caracterización físico-mecánica de la madera de *Eucalyptus camaldulensis* para uso estructural proveniente de Restinga, Brasil. *Revista Forestal del Perú* 33: 52–62. <https://doi.org/10.21704/rfp.v33i1.1155>
- Ordóñez, JAB, Galicia A, Venegas NJ, Hernández T, Ordóñez MJ, Dávalos R. 2015. Densidad de las maderas mexicanas por tipo de vegetación con base en la clasificación de J. Rzedowski: compilación. *Maderas y Bosques* 21: 77–126. <https://doi.org/10.21829/myb.2015.210428>
- Pérez-Suárez M, Arredondo-Moreno JT, Huber-Sannwald E, Vargas-Hernández JJ. 2009. Production and quality of senesced and green litterfall in a pine-oak forest in central-northwest Mexico. *Forest Ecology and Management* 258: 1307–1315. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2009.06.031>
- Rodríguez-Trejo DA, Myers RL. 2010. Using oak characteristics to guide fire regime restoration in Mexican pine-oak and oak forests. *Ecological Restoration* 28 (3): 304–323.
- Rodríguez-Trejo DA, Rodríguez-Aguilar M, Villanueva-Morales JA, Bonilla-Padilla E. 2021. Estimación de combustibles en bosque de *Quercus crassifolia* en México central. *Revista Incendios y Riesgos Naturales* 4: 33–35.
- Romahn CF, Ramírez H. 2010. Dendrometría. División de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma Chapingo: Chapingo, Edo. de México, México. 294 p.
- Rubio, LE. 2015. Aspectos ecológicos. *In* Encinos de México (*Quercus*, Fagaceae): 100 Especies, Romero S, Rojas EC, Rubio LE. (Eds.); Universidad Nacional Autónoma de México: Ciudad de México, 65–90.

- Rubio LE, Romero S, Rojas EC. 2011. Estructura y composición florística de dos comunidades con presencia de *Quercus* (Fagaceae) en el Estado de México. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 17: 77–90.
- SAS Institute (Statistic Analysis System Institute). 2002. SAS Program, v. 9.0. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA.
- Scott C, Bowman DMJS, Bond WJ, Pyne SJ, Alexander ME. 2014. *Fire on Earth. An Introduction*. Wiley Blackwell. Chichester, England. 413 p.
- SER (Society for Ecological Restoration). 2004. *Principios de SER Internacional sobre Restauración Ecológica*. SER. Tucson, AZ, USA. 15 p.
- Terdwongworakul A, Punsuwan V, Thanapase W, Tsuchikawa S. 2005. Rapid assessment of wood chemical properties and pulp yield of *Eucalyptus camaldulensis* in Thailand tree plantations by near infrared spectroscopy for improving wood selection for high quality pulp. *Journal of Wood Science* 51: 167–171. <https://doi.org/10.1007/s10086-004-0633-3>
- Ventura-Ríos A, Plascencia-Escalante FO, Hernández-de la Rosa P, Ángeles-Pérez G, Aldrete A. 2017. ¿Es la reforestación una estrategia para la rehabilitación de bosques de pino? Una experiencia en el centro de México. *Bosque* 38: 55–66. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002017000100007>
- Waring RH, Schlesinger WH. 1985. *Forest Ecosystems. Concepts and Management*. Academic Press Inc. San Diego, CA, USA. 340 p.



## EFFECT OF SOIL CONSERVATION TILLAGE ON THE STRUCTURE OF EDAPHIC FAUNA COMMUNITIES

Félix David Murillo-Cuevas<sup>1</sup>, Héctor Cabrera-Mireles<sup>2</sup>, Jacel Adame-García<sup>1</sup>, Sergio Uribe-Gómez<sup>2</sup>, Jazmín Villegas-Narváez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Tecnológico Nacional de México. Instituto Tecnológico de Úrsulo Galván. Carretera Cardel-Chachalacas km 4.5, Úrsulo Galván, Veracruz, México. C. P. 91667.

<sup>2</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. CIRGOC, Campo Experimental Cotaxtla. Carretera Veracruz-Córdoba km 34.5, Medellín de Bravo, Veracruz, México. C. P. 94992.

\* Corresponding author: hector\_cabrera@hotmail.com

### ABSTRACT

Edaphic fauna is a determining factor for the maintenance of soil productivity. Other factors such as soil management can modify edaphic fauna communities and directly interfere with the ecosystem services they provide. The objective of this study was to evaluate the structure of edaphic faunal communities under different conservation tillage systems in Los Tuxtlas, Veracruz, Mexico. Six tillage systems were evaluated for soil conservation in maize plots, SL1: without soil removal and covered with *Mucuna* sp. residues; SL2: with soil removal and residue burning; SL3: with soil removal and residue incorporation; SL4: without soil inversion and covered with maize residue; SL5: with soil removal and no residue; SL6= without soil removal and maize residue. According to Jaccard's similarity coefficient, the most similar tillage systems in relation to the species present are the systems with soil removal and residue incorporation (SL3) and without soil removal and with maize residues (SL6) with a value of 0.83. The tillage systems with the greatest richness, diversity and equity of edaphic fauna were with soil removal and residue incorporation (SL3), without soil inversion and covered with maize residue (SL4) and without soil removal and with maize residue (SL6), mainly in the rainy season, which is the season that most affected the edaphic fauna communities.

**Keywords:** arthropod diversity, maize, residue cover, soil removal, *Mucuna* sp.

### INTRODUCTION

Tillage, or mechanical soil manipulation, is a common practice in agriculture, which is performed to improve the decomposition of crop residues by incorporating them into the soil, which allows their physical decomposition (Busari *et al.*, 2015). There are two main types of tillage systems, conventional and conservation tillage. Unlike conventional tillage, conservation tillage has several practices that conserve soil moisture and reduce soil erosion by maintaining a minimum of 30 % of the soil surface covered by residues after tillage (Garcia *et al.*, 2018).

Crop residue retention protects the soil from the direct impact of raindrops and sunlight, while minimal soil modification improves biological activities in the soil,

**Citation:** Murillo-Cuevas FD, Cabrera-Mireles H, Adame-García J, Uribe-Gómez S, Villegas-Narváez J. 2022. Effect of soil conservation tillage on the structure of edaphic fauna communities. *Agrociencia*. 56(3): 579-609. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i3.2795>

**Editor in Chief:**  
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: May 24, 2021.  
Approved: March 30, 2022.  
**Published in Agrociencia:**  
May 9, 2022.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International license.



as well as air and water movement in the soil (Busari *et al.*, 2015). If crop residues are removed by burning or ploughing, this can affect the biological properties of the soil, including edaphic fauna and microflora, affecting biological processes of some elements such as nitrogen, sulphur, and phosphorus. Soil organic matter content greatly influences the activities of edaphic organisms, and these in turn, soil organic carbon dynamics (Busari *et al.*, 2015).

The retention of crop residues decreases soil temperature and thermal amplitude and favours water conservation in the soil. The degree of mechanical disturbance and the quantity, quality, and location of crop residues affect edaphic faunal communities in the soil differently (Botina *et al.*, 2012).

The organisms that compose the edaphic fauna participate in the processes of organic matter decomposition, aeration, nutrient recycling and phosphorus and nitrogen mineralization. Edaphic fauna groups are regulators of the trophic chain in the soil and help in the formation of microstructure and are directly associated with the formation of channels, pores and aggregates in the soil that favour aeration and water infiltration (Bedano *et al.*, 2016). Thus, soil fauna such as earthworms, termites and ants play a key role in creating habitats for other organisms and in controlling their activities through physical and biochemical processes, as the biogenic structures, organic and organo-mineral structures produced by these organisms accumulate in the soil to form three-dimensional mosaics of functional domains, inhabited by specific communities of smaller organisms such as microorganisms, microfauna and mesofauna that drive soil processes through specific pathways (Lavelle *et al.*, 2016). However, edaphic fauna can be modified by several factors and thereby directly interfere with the ecosystem services they provide such as plant protection against pests and diseases, which is largely achieved through soil processes in the functioning of self-organized systems nested within each other (Lavelle *et al.*, 2016).

Soil conditions can be modified by soil change or management, resulting in the displacement of edaphic species and edaphoclimatic alterations. The type of management, soil cover and agrochemicals have a direct influence on edaphic faunal communities and their ecology, as they can cause a decrease in biodiversity and species equity, or favour species dominance (Murillo *et al.*, 2019). The groups that compose the edaphic fauna are sensitive to natural and anthropic disturbances of the environment, which is why the edaphic fauna is considered a biological indicator of soil conservation status (Cabrera-Mireles *et al.*, 2019). The abundance, density, diversity, and equity of the groups that integrate the edaphic fauna are variables that help to evaluate the effect of different soil managements; as well as to consider in an integral way the functioning of an agroecosystem (Murillo-Cuevas *et al.*, 2019).

Maize (*Zea mays*) is one of the main crops grown in Mexico, as it is an important source of protein and energy in the diet. In Mexico, 1 209 277 ha are planted, and 8 262004 Megagrams (Mg) of maize are produced, of which the state of Veracruz contributes 469 540 Mg in an area of 194 268 ha and is fourth in production and second in planted area at the national scale (SIAP, 2020).

The municipality of San Andres Tuxtla ranks third in maize planted area in the state of Veracruz, with 120 611 Mg in an area of 30 221 ha (SIAP, 2020). However, the intensive use of the soil, poor soil management practices in maize production, in addition to the hillside lands where a large part of the production is grown, intense rainfall and steep slopes, have generated thin soils with low fertility and little residual moisture retention capacity, which over time has caused soil loss due to erosion (Francisco-Nicolás, *et al.*, 2006).

In hillside soils, it is necessary to use agricultural practices focused on soil conservation (such as conservation tillage), and to understand how different soil management practices can reduce or eliminate populations of soil fauna susceptible to physical, chemical, and biological soil management. Different conservation tillage systems can have different impacts on the structure of edaphic fauna communities, with some systems standing out in the conservation of the richness and diversity of edaphic fauna. The objective of this study was to evaluate the structure of edaphic faunal communities under different conservation tillage systems in Los Tuxtlas, Veracruz, Mexico.

## MATERIALS AND METHODS

### Study area

The study was conducted in two common lands in the municipality of San Andres Tuxtla, Veracruz, México. This municipality is located in the southern zone of the state of Veracruz, in the Sierra de San Martin, at coordinates 18° 27" N and 95° 13" W, at an altitude of 300 m. It borders to the north with the Gulf of Mexico; to the east with Catemaco; to the south with Hueyapan de Ocampo; to the west with Santiago Tuxtla and Angel R. Cabada. This region is characterized by the diverse use of tillage methods ranging from traditional tillage to the adoption of new strategies, due to the need to reduce soil loss, which is a limiting factor in this region.

The climate at the municipality is warm-subtropical Aw1, as classified by Köppen and modified by García (1981) with an average temperature of 23.8 °C; its average annual rainfall is 1800 mm. Soils varied within the Acrisol and Lithosol, characterized by the accumulation of clay, poor in nutrients and susceptible to erosion. The common lands used for this study were Chuniapan de Arriba and Tilapan, where the temperature varies regularly from 20 to 28 °C on average, with the lowest temperature of 20 °C being recorded from November to January, and the highest temperatures of 30 to 35 °C in April and May.

### Sample collection

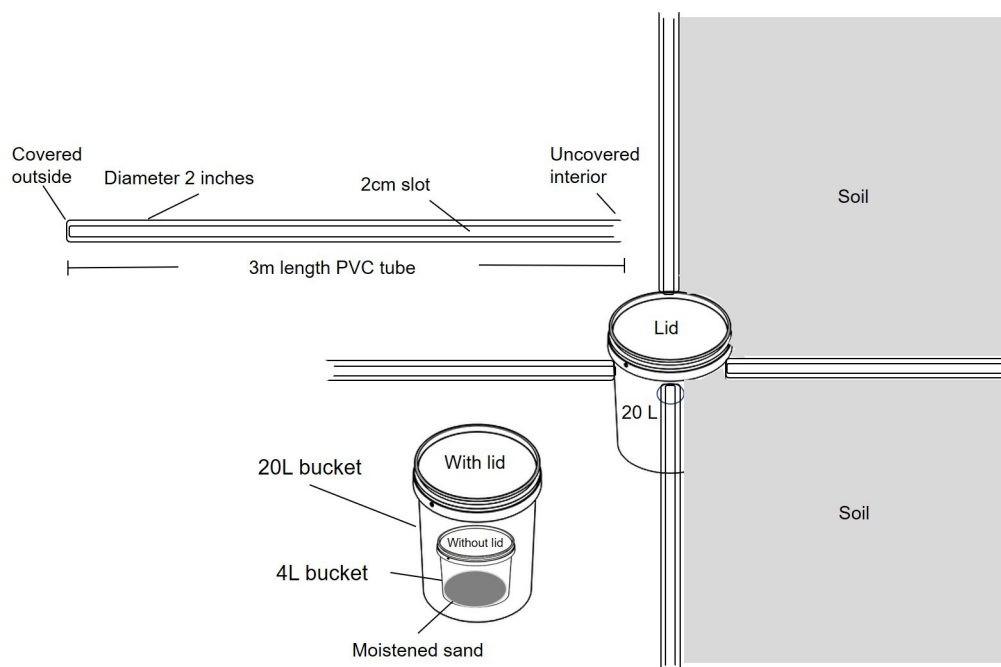
Six tillage systems were evaluated for soil conservation in maize plots (*Zea mays* L.) (Table 1). In each tillage system, two fall traps for terrestrial arthropods were randomly placed with coverage of 36 m<sup>2</sup> per trap, made with four PVC tubes of 2 inches diameter and 3 m length, slotted at 2 cm longitudinally, buried at ground level and inserted into a 20 L bucket buried with the slot exposed at ground level and with a lid, the

**Table 1.** Tillage systems for soil conservation evaluated in maize (*Zea mays*) plots in the common lands of Chuniapan de Arriba and Tilapan in the municipality of San Andres Tuxtla, Veracruz, Mexico.

| Systems | Description  |
|---------|--|
| SL1     | Without soil removal and covered with <i>Mucuna</i> sp. residues |
| SL2     | With soil removal and burning of residues                        |
| SL3     | With soil removal and residue incorporation                      |
| SL4     | Without soil inversion and covered with corn residues            |
| SL5     | With soil removal and without residues                           |
| SL6     | Without soil removal and with corn residues                      |

PVC tubes were plugged from the end out of the bucket and uncovered from the end remaining inside the bucket (Figure 1), based on the method used by Gist and Crossley (1973).

A 4 L bucket with moistened sand was placed inside the 20 L bucket into which the organisms inside the PVC tubes were trapped (Figure 1). The 4 L buckets from each of the traps were removed and the sand containing the live organisms was emptied into plastic bags labelled with the sample data and subsequently the 4 L buckets were placed back into the traps. During a 24-week period, the organisms were surveyed on a weekly basis. The study was carried out during two periods of the year, during the



**Figure 1.** Diagram of the fall traps used to capture edaphic fauna in the different conservation tillage systems established in maize (*Zea mays*) plots in the common lands of Chuniapan de Arriba and Tilapan in the municipality of San Andres Tuxtla, Veracruz, Mexico.

dry season (March-May) and the rainy season (July-September). Two replications per tillage system (treatments) were used for 24 weeks, resulting in a total of 48 replications over time.

### Sample processing

Samples were processed in the Entomology Laboratory of the Experimental Field "Cotaxtla" of INIFAP, for which the samples contained in the plastic bags were emptied into plastic trays for the search and extraction of the edaphic fauna with the support of magnifying lenses and external light. All arthropods and molluscs present in the sample were considered as edaphic fauna. A Carl Zeiss® Stemi VD4 VD4 stereo microscope was used to separate and identify the organisms.

The edaphic fauna was identified at the family level and the main trophic level of each organism was determined using the keys of Triplehorn and Johnson (2005). Organisms were counted at the morphospecies branch (morphologically identical organisms) for abundance, richness, diversity, and equity calculations. The organisms were preserved in flasks with 70 % alcohol.

### Statistical analysis

The structure of the edaphic fauna communities was determined through abundance considering the number of organisms of each morphospecies, to calculate the richness the number of morphospecies was considered, regarding diversity, this was determined through the Shannon-Weaver index ( $H'$ ), which expresses the uniformity of the importance values through all the species of the sample (Moreno, 2001). It was calculated with the following formula:

$$H' = -\sum p_i \ln p_i$$

where  $p_i$  = proportional abundance of species  $i$ , this is, the number of individuals of species  $i$  divided by the total number of individuals in the sample.

Equity was calculated using the Pielou index ( $J'$ ), which measures the ratio of observed diversity to the maximum expected diversity. Its value ranges from 0 to 1, so that 1 corresponds to situations where all species are equally abundant (Moreno, 2001). The following formula was used:

$$J' = H' / H'_{\max}$$

where  $H'_{\max} = \ln(S)$  y  $S$  = Total number of species.

To determine if the tillage systems studied are similar according to the species found in them, the Jaccard similarity coefficient ( $I_j$ ) was calculated (Moreno, 2001), with the following formula:

$$I_j = c/a+b-c$$

where a= number of species present at site A, b= number of species present at site B and c= number of species present at both sites A and B.

A Kolmogorov-Smirnov goodness-of-fit test was performed, which determined that the data did not have a normal distribution, so nonparametric tests were performed. First, the Wilcoxon test was performed for independent samples to compare the seasons of the year in relation to the structure of the edaphic fauna communities. The Kruskal-Wallis' test was then used to detect significant differences ( $p \leq 0.05$ ) between conservation tillage systems and a comparison was made between means of the ranges of abundance, richness, diversity, and equity of edaphic fauna between conservation tillage systems.

The procedure used to judge the significance of multiple comparisons and postulated contrasts is the one described in Conover (1999). Statistical analyses were performed in InfoStat® version 2020 (Di Rienzo, 2020). Descriptive statistics were performed with averages  $\pm$  standard error of the abundance of organisms according to their trophic level by tillage system.

## RESULTS AND DISCUSSION

A total of 40 taxa were identified, corresponding to edaphic fauna of arthropods (insects, mites, spiders, scorpions, millipedes, and ground sowbugs) and molluscs (snails and slugs). The most abundant taxa were phytophagous taxa of the families Gryllidae 24 % (crickets), Cydnidae 2 % (bedbugs), and Elateridae 2 % (beetles); predators of the families Formicidae 18 % (ants), Carabidae 9 % (beetles), Reduviidae 4 % (bedbugs), Gelastocoridae 3 % (bugs), and Araneae 1 % (spiders); saprophytes of the families Gastropoda 15 % (snails), Acari 4 % (mites), Diplopoda 3 % (millipedes), Scarabaeidae 2 % (beetles), Veronicellidae 1 % (slugs), and Isopoda 2 % (ground sowbugs); saproxylophagous of the family Passalidae 2 % (beetles); scavengers of the family Staphylinidae 1 % (beetle); and omnivores of the family Blattidae 1 % (cockroaches) were also found (Table 2).

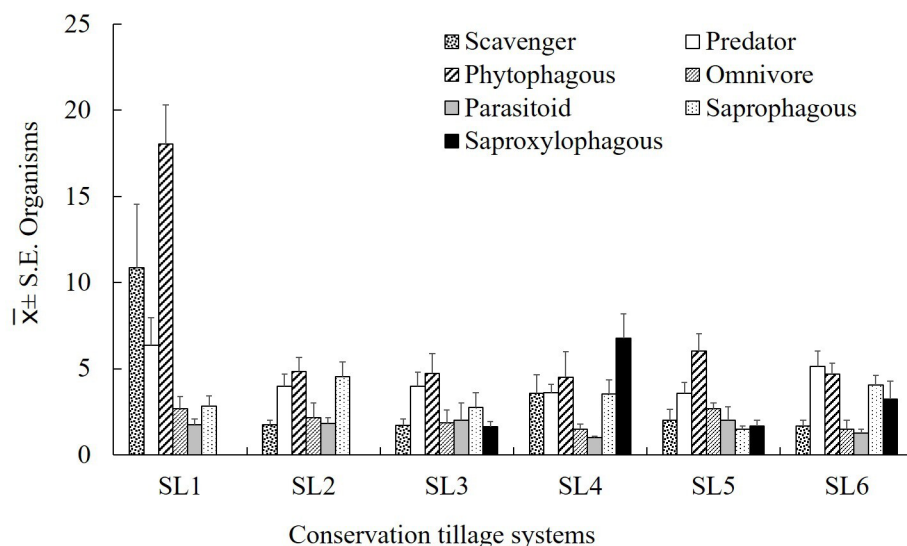
Crickets were the most numerous organisms in SL5 (513) and SL1 (449) tillage systems. Ants were abundant in the SL2 system (475) and were less abundant in SL3 (68). Snails and carabids were more abundant in the SL2 (276) and SL6 (380) systems. Passalid beetles and mealybugs were more abundant in the SL4 system (103 and 96 organisms, respectively); in addition, bedbugs of the family Reduviidae, millipedes, scarabaeids and spiders were more abundant in the SL3 and SL4 systems (Table 2).

In regard to the trophic levels of the soil fauna found in the conservation tillage systems, the system without soil removal and covered with *Mucuna* sp. residues (SL1) recorded the highest average of phytophagous (18.0), scavengers (10.8) and predators (6.4) and was significantly different from the other tillage systems, it also recorded the highest significant difference between phytophages and predators within the system (11.6), being more abundant on average the phytophages than the predators (Figure 2).

**Table 2.** Abundance of edaphic fauna taxa in each of the soil conservation tillage systems established in maize (*Zea mays*) plots in the common lands of Chuniapan de Arriba and Tilapan in the municipality of San Andrés Tuxtla, Veracruz, Mexico.

| Taxa               | SL1 | SL2 | SL3 | SL4 | SL5 | SL6 | ATP              |
|--------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------------------|
| Gryllidae          | 449 | 173 | 45  | 89  | 513 | 192 | Phytophage       |
| Formicidae         | 155 | 475 | 68  | 116 | 75  | 220 | Predator         |
| Gastropoda         | 107 | 276 | 38  | 75  | 37  | 380 | Saprophaga       |
| Carabidae          | 193 | 85  | 42  | 54  | 17  | 175 | Predator         |
| Passalidae         | 0   | 0   | 13  | 103 | 5   | 14  | Saproxylophagous |
| Isopoda            | 5   | 0   | 14  | 96  | 15  | 17  | Saprophaga       |
| Gelastocoridae     | 84  | 21  | 30  | 3   | 0   | 27  | Predator         |
| Acari              | 57  | 67  | 33  | 33  | 12  | 57  | Saprophaga       |
| Reduviidae         | 37  | 13  | 52  | 65  | 16  | 57  | Predator         |
| Diplopoda          | 26  | 12  | 28  | 73  | 0   | 30  | Saprophaga       |
| Scarabaeidae       | 19  | 6   | 20  | 44  | 17  | 15  | Saprophaga       |
| Araneae            | 5   | 3   | 11  | 34  | 6   | 18  | Predator         |
| Cydnidae           | 10  | 4   | 25  | 63  | 0   | 19  | Phytophage       |
| Elateridae         | 17  | 11  | 24  | 31  | 16  | 21  | Phytophage       |
| Veronicellidae     | 7   | 3   | 10  | 5   | 5   | 11  | Saprophaga       |
| Staphylinidae      | 4   | 3   | 13  | 16  | 7   | 15  | Scavenger        |
| Scorpionidae       | 4   | 3   | 2   | 14  | 3   | 17  | Predator         |
| Blattidae          | 3   | 32  | 12  | 12  | 9   | 16  | Omnivore         |
| Phoridae           | 3   | 0   | 2   | 9   | 1   | 6   | Omnivore         |
| Lepidoptera larvae | 3   | 2   | 3   | 2   | 2   | 4   | Phytophage       |
| Cicadellidae       | 3   | 0   | 0   | 1   | 0   | 2   | Phytophage       |
| Pompilidae         | 3   | 1   | 4   | 1   | 3   | 4   | Parasitoid       |
| Cicindelidae       | 2   | 4   | 5   | 19  | 5   | 9   | Predator         |
| Mutillidae         | 2   | 0   | 0   | 15  | 7   | 6   | Parasitoid       |
| Dermaptera         | 2   | 3   | 1   | 0   | 0   | 5   | Predator         |
| Lathridiidae       | 2   | 0   | 2   | 0   | 4   | 4   | Phytophage       |
| Curculionidae      | 0   | 1   | 0   | 8   | 2   | 4   | Phytophage       |
| Apidae             | 0   | 0   | 3   | 4   | 0   | 6   | Phytophage       |
| Myrmeleontidae     | 0   | 0   | 3   | 4   | 1   | 1   | Predator         |
| Gryllacrididae     | 0   | 0   | 0   | 2   | 5   | 2   | Phytophage       |
| Bostrichidae       | 0   | 0   | 0   | 1   | 0   | 0   | Phytophage       |
| Cucujidae          | 0   | 0   | 0   | 1   | 0   | 0   | Saprophaga       |
| Diptera Larvae     | 0   | 1   | 1   | 1   | 0   | 3   | Phytophage       |
| Pentatomidae       | 0   | 0   | 3   | 1   | 0   | 2   | Phytophage       |
| Anthicidae         | 0   | 0   | 0   | 0   | 1   | 0   | Saprophaga       |
| Chrysomelidae      | 0   | 1   | 0   | 0   | 0   | 1   | Predator         |
| Chrysopidae        | 0   | 0   | 1   | 0   | 0   | 3   | Predator         |
| Evaniidae          | 0   | 0   | 3   | 0   | 0   | 2   | Parasitoid       |
| Gryllotalpidae     | 0   | 0   | 2   | 0   | 0   | 4   | Phytophage       |
| Nabidae            | 0   | 0   | 0   | 0   | 3   | 5   | Predator         |

SL1: without soil removal and covered with mucuna residues; SL2: with soil removal and burning residues; SL3: with soil removal and residue incorporation; SL4: without soil inversion and covered with corn residues; SL5: with soil removal and without residues; SL6: without soil removal and with corn residues; ATP= Predominant Trophic Activity.



**Figure 2.** Average number of organisms represented by their predominant trophic activities in conservation tillage systems established in maize (*Zea mays*) plots in the common lands of Chuniapan de Arriba and Tilapan in the municipality of San Andrés Tuxtla, Veracruz, Mexico. SL1: without soil removal and covered with *Mucuna* sp. residues; SL2: with soil removal and residue burning; SL3: with soil removal and residue incorporation; SL4: without soil inversion and covered with maize residue; SL5: with soil removal and without residue; SL6: without soil removal and with maize residue.

Systems SL2, SL3, SL4 and SL6 had phytophages and predators equally represented, unlike the system with soil removal and no residues (SL5) in which phytophages significantly predominated (6.0). The system without soil inversion and covered with maize residue (SL4) presented on average a significant abundance of scavenger (3.5) and saproxylophagous (3.5) organisms in contrast to the other systems (Figure 2).

The total number of individuals by taxa and predominant trophic activity of edaphic fauna varied between tillage systems. The phytophagous Gryllidae, the predators Formicidae and Carabidae, and the saprochagous Gastropoda were the predominant organisms with variations in their abundances according to the conservation tillage system.

Regarding the morphospecies Gryllidae (*Gryllus* sp.), commonly known as field crickets, adults, and nymphs of this insect burrow in moist soil to hide under leaf litter during the day, are active and feed on the soil surface at night, large nymphs and adults cut stems, eat foliage and roots of young plants and seedlings. They are not major pests but may occur as minor or secondary pests in crops such as cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*), pineapple (*Ananas comosus*), cushaw pumpkin (*Cucurbita argyrosperma*), common bean (*Phaseolus vulgaris*), onion (*Allium cepa*), maize, rice (*Oryza sativa*), tomato (*Solanum lycopersisum*), tobacco (*Nicotiana tabacum*), watermelon (*Citrullus lanatus*), cucumber (*Cucumis sativus*), soybean (*Glycine max*), cotton (*Gossypium hirsutum*), and potato (*Solanum tuberosum*) (Santiago, 2019).

Although this cricket family has phytophagous and burrowing habits, both in the adult stage and in nymphs, it was affected by the system with soil removal and residue incorporation (SL3), which drastically reduced abundance. This is because soil removal exposes crickets to predation and desiccation, and residue incorporation helps to increase predation of crickets by other organisms such as assassin bedbugs of the family Reduviidae, or spiders, which are abundant in this tillage system. This situation has been reported for other phytophages such as slugs in cereals, where conventional tillage by the mechanical action of implements reduces phytophage populations as opposed to minimum tillage (Kennedy *et al.*, 2013).

Members of the family Formicidae were the second most abundant group, especially in two of the tillage systems SL2 (475) and SL6 (220). This result corroborates those of Privado *et al.* (2018), who indicate that differences in these edaphic faunal communities are influenced by soil management, even differences are observed at a high taxonomic indication level such as family to genus-species branches. One of the tillage systems in which the abundance of Formicidae was particularly high was that without soil removal and maize residues (SL6), which is due to the application of biomass on the soil surface, as this favours the presence of some functional groups of soil fauna such as ants (Moura *et al.*, 2015). On the other hand, ants were also abundant in the tillage system with soil removal and residue burning, which was to be expected since ants are among the most tolerant organisms to the effects of burning in different terrestrial ecosystems (Cabrera-Mireles *et al.*, 2019).

In the case of predatory carabids, the systems of tillage without soil removal and covered with *Mucuna* sp. residues (SL1) and SL6 were those that most favoured their abundance. For the SL1 system, the abundance of carabids is related to the presence of the legume *Mucuna* sp., since a large part of its waste is used by other organisms that act on soil structure and nutrient availability. Phytophagous, scavengers and predators presented higher abundance averages in the SL1 system, than in any other tillage system (Figure 2) which allows greater stability in the system, since where there is a large population of organisms with different trophic activities, there is a greater functional performance in ecosystem engineering by organisms, which directly or indirectly modulate the availability of resources for other species, by causing changes in the physical state of biotic and abiotic materials (Lavelle *et al.*, 2016). These results match those of Privado *et al.* (2018) in which ants dominated the *Leucaena leucocephala* biomass treatment.

Ants are predators that directly or indirectly modulate the availability of resources for other species by causing changes in the physical state of the soil by building earth mounds, tunnels, and subway chambers where they concentrate organic matter. In the case of the SL6 system, conservation tillage and no soil removal support more arthropod communities including carabid beetles (Menalled *et al.*, 2007). However, ploughing has also been shown to affect the survival of many carabid species (Holland and Reynolds, 2003). Reducing the population of carabids can increase the number of phytophagous organisms, which in some cases can cause imbalance in trophic webs

and interactions between organisms, affecting the production of signalling molecules that act as ecological mediators of biological engineering processes, a process that helps protect plants against pests and diseases.

For the case of snails of the family Gastropoda and slugs of the family Veronicellidae, it has been reported that reduced or conservation tillage systems increase their populations (Kennedy *et al.*, 2013), which was observed in the snails of systems SL1, SL2 and SL6, where these were more abundant. Snails and slugs contribute to soil nutrition, as their movement allows soil aeration, formation, and fertilization. However, slugs can become an important pest for the bean crop, which is commonly grown alongside or intercropped with maize in many regions, so high slug populations can severely affect the development of plants that serve a purpose in the agroecosystem. Non-inversion tillage methods generally have less effect on snail and slug populations than ploughing combined with subsequent cultivation (Glen and Symondson, 2003). The greater and more intensive the crop management, the more likely it is that slug numbers will be substantially reduced, with non-inversion tillage generally being less effective in reducing slug numbers than conventional tillage (Glen and Symondson, 2003).

In relation to the structure of edaphic fauna communities, the highest abundance (1374 organisms) and taxa richness (37) was recorded in the system without soil removal and with maize residues (SL6), the highest diversity (2.92) and equity (0.85) in the systems with soil removal and residue incorporation (SL3) and without soil inversion and covered with maize residue (SL4) (2.85 and 0.82) (Table 3). In terms of maximum diversity that can be found in the system, the SL3 system had 0.85 or 85 % and SL4 had 0.82 or 82 % of the total diversity that can be found in each of these systems, in contrast to the SL2 and SL5 systems that did not even reach 0.6 or 60 % of the total diversity that can be found in each of these systems (Table 3).

According to Jaccard's similarity coefficient (Table 4), the tillage systems with the highest similarity in relation to the species present are the systems with soil removal

**Table 3.** Ecological indicators of edaphic fauna communities in six soil conservation tillage systems established in maize (*Zea mays*) plots in the common lands of Chuniapan de Arriba and Tilapan in the municipality of San Andres Tuxtla, Veracruz, Mexico.

| Ecological indicators      | Tillage systems |      |      |      |      |      |
|----------------------------|-----------------|------|------|------|------|------|
|                            | SL1             | SL2  | SL3  | SL4  | SL5  | SL6  |
| Abundance                  | 1207            | 1200 | 513  | 995  | 787  | 1374 |
| Richness                   | 25              | 23   | 31   | 32   | 26   | 37   |
| Diversity H                | 2.06            | 1.81 | 2.92 | 2.85 | 1.56 | 2.44 |
| Diversity H <sub>máx</sub> | 3.22            | 3.14 | 3.43 | 3.47 | 3.26 | 3.61 |
| Equity                     | 0.64            | 0.58 | 0.85 | 0.82 | 0.48 | 0.68 |

SL1: without soil removal and covered with *Mucuna* sp. residues; SL2: with soil removal and residue burning; SL3: with soil removal and residue incorporation; SL4: without soil inversion and covered with corn residue; SL5: with soil removal and without residue; SL6: without soil removal and with corn residue; Abundance= #organisms, Richness= #morphospecies.

**Table 4.** Jaccard’s similarity coefficient (Ij) to compare tillage systems in relation to the degree to which two systems are similar for the species present in them, in maize (*Zea mays*) plots in the common lands of Chuniapan de Arriba and Tilapan in the municipality of San Andrés Tuxtla, Veracruz, Mexico.

|     | Tillage systems |      |      |      |      |      |
|-----|-----------------|------|------|------|------|------|
|     | SL1             | SL2  | SL3  | SL4  | SL5  | SL6  |
| SL1 | 1               | 0.69 | 0.70 | 0.68 | 0.65 | 0.68 |
| SL2 |                 | 1    | 0.66 | 0.64 | 0.55 | 0.64 |
| SL3 |                 |      | 1    | 0.69 | 0.57 | 0.83 |
| SL4 |                 |      |      | 1    | 0.65 | 0.76 |
| SL5 |                 |      |      |      | 1    | 0.65 |
| SL6 |                 |      |      |      |      | 1    |

SL1: without soil removal and covered with *Mucuna* sp. residues; SL2: with soil removal and residue burning; SL3: with soil removal and residue incorporation; SL4: without soil inversion and covered with maize residue; SL5: with soil removal and without residue; SL6: without soil removal and with maize residue.

and residue incorporation (SL3) and without soil removal and with maize residues (SL6) with a value of 0.83, followed by SL4 and SL6 with 0.76 and SL1 and SL3 with 0.70, this indicates that the tillage systems shared characteristics that benefit the same edaphic fauna species.

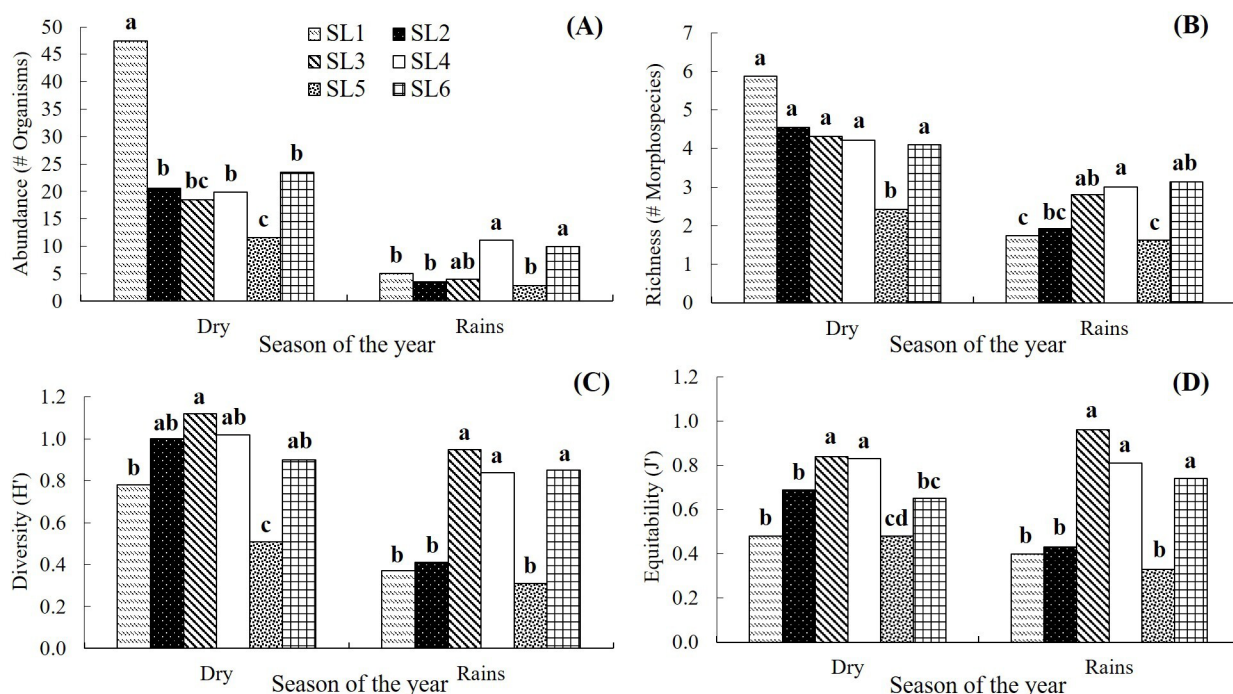
When comparing the seasons of the year in relation to the structure of the edaphic fauna communities, it was found that the environmental conditions of the rainy season in the study region negatively affected the abundance, richness and diversity of the edaphic fauna, obtaining the lowest values compared to the dry season (Table 5).

The structure of the edaphic fauna communities changed according to the time of the year and conservation tillage systems. The rainy season had a more marked effect on the abundance, richness, diversity and equity of edaphic fauna, which was resisted only by some tillage systems (Figure 3). In the dry season, the system without soil removal and covered with *Mucuna* sp. residues (SL1) maintained the highest average

**Table 5.** Wilcoxon test for independent samples in the comparison of the seasons of the year in six soil conservation tillage systems established in maize (*Zea mays*) plots in the common lands of Chuniapan de Arriba and Tilapan in the municipality of San Andres Tuxtla, Veracruz, Mexico.

| Variables | Dry                         | Rain                      | W        | P      |
|-----------|-----------------------------|---------------------------|----------|--------|
| Abundance | 21.11 (27.19 <sup>†</sup> ) | 5.76 (7.50 <sup>†</sup> ) | 17894.50 | 0.0001 |
| Richness  | 3.98 (2.77)                 | 2.22 (1.38)               | 19400.00 | 0.0001 |
| Diversity | 0.86 (0.50)                 | 0.54 (0.50)               | 21209.50 | 0.0001 |
| Equity    | 0.65 (0.33)                 | 0.52 (0.45)               | 25973.50 | 0.2611 |

<sup>†</sup>Standard Deviation, W: Wilcoxon value, P= probability.



**Figure 3.** Abundance (A), richness (B), diversity (c) and equity (D) of edaphic fauna as a function of conservation tillage systems and seasons of the year in maize (*Zea mays*) plots in the common lands of Chuniapan de Arriba and Tilapan in the municipality of San Andrés Tuxtla, Veracruz, Mexico. SL1: without soil removal and covered with *Mucuna* sp. residues; SL2: with soil removal and burning residues; SL3: with soil removal and residue incorporation; SL4: without soil inversion and covered with maize residues; SL5: with soil removal and without residues; SL6: without soil removal and with maize residues.

abundance of edaphic fauna (47.4) and was significantly different from the other systems ( $p=0.0001$ ), the system without soil removal and with maize residues (SL6) had the lowest abundance (11.5), while the other systems maintained an abundance without significant differences above 18.0 organisms on average. In the rainy season the systems without soil inversion and with maize residue cover SL4 and SL6 were the ones that maintained on average the highest abundance of organisms (11.1 and 10.0 respectively), being significantly different ( $p=0.0001$ ) to the other tillage systems (Figure 3A).

The richness of edaphic fauna showed greater similarity between the tillage systems in the dry season than in the rainy season, being the system with soil removal and without residues (SL5) the one that registered significant differences ( $p=0.0001$ ) with the lowest richness on average in the dry season (2.4 morphospecies). The systems with no soil removal and covered with *Mucuna* sp. residues (SL1), with soil removal and residue burning (SL2) and SL5 had the lowest edaphic fauna richness on average in the rainy season (1.7, 1.9 and 1.6 morphospecies, respectively) and were significantly different ( $p=0.0001$ ) from the system without soil inversion and covered with maize residue (Figure 3B). Regarding the diversity and equity of edaphic fauna, the tillage

systems with soil removal and residue incorporation (SL3), without soil inversion and with maize residue cover (SL4) and without soil removal and with maize residue (SL6) were those that maintained the highest values in the two seasons of the year, being significantly different ( $p=0.0001$ ) from the systems without soil removal and covered with *Mucuna* sp. residues (SL1) and with soil removal and without residue (SL5) (Figure 3C and 3D). (SL1) and with soil removal and without residues (SL5) (Figure 3C and 3D).

The results showed that the rainy season affects the structure of edaphic fauna communities and that tillage practices exerted a great influence on the activity of the studied arthropod and mollusk fauna groups, which corroborates the fact that the abundance, richness, diversity and equity of edaphic fauna is affected by climate and soil management, which are not independently responsible, but have a cumulative effect, as indicated by Sharma and Parwez (2018). The tillage systems that favored edaphic fauna were the systems with soil removal and residue incorporation (SL3), without soil inversion and covered with maize residue (SL4), and without soil removal and with maize residue (SL6), which was mainly reflected in the rainy season. These systems had the greatest richness, diversity and equity of edaphic fauna, which could be due to the shared characteristics of little or no soil removal and incorporation of vegetation cover, which could favor edaphic fauna. These systems also shared greater similarity in terms of the species they share, indicating that these tillage systems present similar characteristics, such as the incorporation of organic matter into the soil and minimal or no soil removal that benefit the same edaphic fauna species, such as phytophagous, predators, scavengers, saprophytes and saproxylophagous. These results suggest that when cultivation is carried out with tillage practices that do little damage to the soil and that also incorporate organic matter, proportional relationships between groups of edaphic fauna can be maintained. The advantages of conservation tillage practices over conventional systems is that they promote system stability (Bedano *et al.*, 2016), through functional domains, inhabited by specific communities of organisms that drive soil processes through different pathways. On the contrary, when agroecosystems are altered by conventional practices, the balance between the different functional groups is affected, reducing the richness, diversity and equity of the edaphic fauna and, consequently, its functions in the soil.

Tillage involving soil removal and organic matter altered by burning practices negatively affects arthropod community structure and activity (Brennan *et al.*, 2006). Also, abundance, richness and diversity of macrofauna are significantly lower in no-tillage than in natural pastures, due to a greater contribution and incorporation of organic matter to the soil in pastures (Domínguez *et al.* 2010). In fact, abundance and diversity of edaphic fauna are favored by reduced tillage (Marasas *et al.*, 2001), due to minimal or no physical soil disturbance. Our results show greater diversity and equity of edaphic fauna in the tillage systems with soil removal and residue incorporation (SL3), without soil inversion and covered with maize residue (SL4) and without soil removal and with maize residue (SL6), which allow greater incorporation of organic matter and less physical alteration in the soil.

## CONCLUSIONS

Conservation tillage systems maintained a similar representation among the different trophic groups, with an equal representation between phytophagous and predators. The exception was the tillage system without soil removal and covered with *Mucuna* sp. residues (SL1). (SL1), in which phytophages, mainly *Gryllus* sp. predominated, increasing the abundance of organisms in this tillage system.

Under the climatic conditions of the study, the most favorable conservation tillage systems for the structure of edaphic fauna communities were the tillage systems with soil removal and residue incorporation (SL3), without soil inversion and with maize residue cover (SL4) and without soil removal and with maize residue (SL6), which promoted a greater richness, diversity and equity of edaphic fauna, mainly in the rainy season, which was the most unfavorable season for edaphic fauna communities. This study confirms that different conservation tillage systems have different effects on soil fauna. Some conservation tillage systems were more similar among themselves than others, and significant differences in ecological indicators were observed among some of the different conservation tillage systems, which indicates that these systems act differently on soil fauna, since their components or mechanisms affect the soil in different ways; some tillage systems protect and promote the structure of soil fauna communities and others do not.

## ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to INIFAP, Campo Experimental Cotaxtla and the Tecnológico Nacional de México, Campus Úrsulo Galván, for their support in carrying out this work.

## REFERENCES

- Bedano JC, Domínguez A, Arolfo R, Wall LG. 2016. Effect of good agricultural practices under no-till on litter and soil invertebrates in areas with different soil types. *Soil and Tillage Research* 158: 100–109. <https://doi.org/10.1016/j.still.2015.12.005>
- Botina B, Velásquez I, Bacca T, Castillo F, Dias G. 2012. Evaluación de la macrofauna del suelo en *Solanum tuberosum* (Solanales: Solanaceae) con sistemas de labranza tradicional y mínima. *Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural* 16 (2): 69–77. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0123-30682012000200007](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-30682012000200007) (Recuperado: enero 2021).
- Brennan A, Fortuneb T, Bolgera T. 2006. Collembola abundances and assemblage structures in conventionally tilled and conservation tillage arable systems. *Pedobiologia* 50 (2): 135–145. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2005.09.004>
- Busari MA, Kukal SS, Kaur A, Bhatt R, Dulazy AA. 2015. Conservation tillage impacts on soil, crop and the environment. *International Soil and Water Conservation Research* 3 (2): 119–129. <https://doi.org/10.1016/j.iswcr.2015.05.002>
- Cabrera-Míreles H, Murillo-Cuevas FD., Adame-García J, Villanueva-Jiménez JA. 2019. Oribátidos, colémbolos y hormigas como indicadores de perturbación del suelo en sistemas de producción agrícola. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 6 (17): 231–241. <https://doi.org/10.19136/era.a6n17.2011>
- Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. 2020. InfoStat. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar>
- Domínguez A, Bedano JC, Becker AR. 2010. Negative effects of no-till on soil macrofauna and litter decomposition in Argentina as compared with natural grasslands. *Soil and Tillage Research* 110: 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.still.2010.06.008>

- Francisco-Nicolás N, Turrent-Fernández A, Oropeza-Mota JL, Martínez-Menes R, Cortés-Flores JL. 2006. Pérdida de suelo y relación erosión-productividad en cuatro sistemas de manejo del suelo. *Terra Latinoamericana* 24: 253–260.
- García D, Cárdenas J, Silva A. 2018. Evaluación de sistemas de labranza sobre propiedades físico-químicas y microbiológicas en un Inceptisol. *Revista de Ciencias Agrícolas* 35 (1): 16–25. <http://dx.doi.org/10.22267/rcia.183501.79>
- García E. 1981. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (1918, 1936) para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana. Instituto de Geografía, UNAM. Offset Larios: México
- Gist CS, Crossley DA. 1973. A method for quantifying pitfall trapping. *Environmental Entomology* 2 (5): 951–952. <https://doi.org/10.1093/ee/2.5.951>
- Glen DM, Symondson WOC. 2003. Influence of soil tillage on slugs and their natural enemies. *In Soil Tillage in Agroecosystems*, El Titi A. (ed.): CRC Press: Boca Raton, USA, 207–227. <https://doi.org/10.1201/9781420040609>
- Holland JM, Reynolds CJM. 2003. The impact of soil cultivation on arthropod (Coleoptera and Araneae) emergence on arable land. *Pedobiologia* 47 (2): 181–191. <https://doi.org/10.1078/0031-4056-00181>
- Jiménez ME. 2016. Plagas de cultivos. Universidad Nacional Agraria (UNA): Managua, Nicaragua.
- Kennedy TF, Connery J, Fortune T, Forristal D, Grant J. 2013. A comparison of the effects of minimum-till and conventional-till methods, with and without straw incorporation, on slugs, slug damage, earthworms and carabid beetles in autumn-sown cereals. *The Journal of Agricultural Science* 151 (5): 605–629. <https://doi.org/10.1017/S0021859612000706>
- Lavelle P, Spain A, Blouin M, Brown G, Decaëns T, Grimaldi M, Jiménez JJ, McKey D, Mathieu J, Velasquez E, Zangerlé A. 2016. Ecosystem engineers in a self-organized soil: a review of concepts and future research questions. *Soil Science* 181 (3/4): 91–109. <https://doi.org/10.1097/SS.0000000000000155>
- Marasas ME, Sarandón SJ, Cicchino AC. 2001. Changes in soil arthropod functional group in a wheat crop under conventional and no tillage systems in Argentina. *Applied Soil Ecology* 18 (1): 61–68. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(01\)00148-2](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(01)00148-2)
- Menalled FD, Smith RG, Dauer JT, Fox TB. 2007. Impact of agricultural management on carabid communities and weed seed predation. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 118: 49–54. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2006.04.011>
- Moreno CE. 2001. Métodos para medir la biodiversidad. M&T–Manuales y Tesis SEA: Zaragoza, España
- Moura EG, Aguiar ACF, Piedade AR, Rousseau GX. 2015. Contribution of legume tree residues and macrofauna to the improvement of abiotic soil properties in the eastern Amazon. *Applied Soil Ecology* 86: 91–99. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.10.008>
- Murillo-Cuevas FD, Adame-García J, H. Cabrera-Mireles H, Fernández-Viveros JA. 2019. Fauna y microflora edáfica asociada a diferentes usos de suelo. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 6 (16): 23–33. <https://doi.org/10.19136/era.a6n16.1792>
- Sharma N, Parwez H. 2018. Effect of edaphic factors on the population density of soil microarthropods in agro forestry habitat. *International Journal of Applied Agricultural Research* 13 (3): 197–204. [https://www.ripublication.com/ijaar18\\_/ijaarv13n3\\_03.pdf](https://www.ripublication.com/ijaar18_/ijaarv13n3_03.pdf) (Recuperado: enero 2021)
- Privado MAL, Siqueira GM, de Moura EG, Silva RA, Silva AJC, Aguiar ACF. 2018. Associations between different soil management practices, soil fauna and maize yield. *The Journal of Agricultural Science* 10 (9): 333–343. <https://doi.org/10.5539/jas.v10n9p333>
- Santiago TMH. 2019. Fluctuación poblacional de insectos fitófagos y controladores biológicos en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.), variedad Agroceres. *Infinitem* 9: 39–45. <https://doi.org/10.51431/infinitem.v9i1.530>
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2020. Avance de siembras y cosechas. Cultivo de maíz. Resumen por estado. México. [http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola\\_siap\\_gobmx/ResumenProducto.do](http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/ResumenProducto.do) (Recuperado: septiembre 2020).
- Triplehorn CA, Johnson NF. 2005. Borror and Delong's introduction to the study of insects. (7<sup>th</sup> edition). Thomson Brooks/Cole: Australia.

## EFFECTO DE LABRANZA DE CONSERVACIÓN DEL SUELO SOBRE LA ESTRUCTURA DE COMUNIDADES DE FAUNA EDÁFICA

Félix David Murillo-Cuevas<sup>1</sup>, Héctor Cabrera-Mireles<sup>2</sup>, Jacel Adame-García<sup>1</sup>, Sergio Uribe-Gómez<sup>2</sup>, Jazmín Villegas-Narváez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Tecnológico Nacional de México. Instituto Tecnológico de Úrsulo Galván. Carretera Cardel-Chachalacas km 4.5, Úrsulo Galván, Veracruz, México. C. P. 91667.

<sup>2</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. CIRGOC, Campo Experimental Cotaxtla. Carretera Veracruz-Córdoba km 34.5, Medellín de Bravo, Veracruz, México. C. P. 94992.

\* Autor para correspondencia: hector\_cabrera@hotmail.com

### RESUMEN

La fauna edáfica es un factor determinante para el mantenimiento de la productividad del suelo. Otros factores como el manejo del suelo pueden modificar las comunidades de la fauna edáfica e interferir directamente con los servicios ecosistémicos que proporcionan. El objetivo de este estudio fue evaluar la estructura de las comunidades de fauna edáfica bajo diferentes sistemas de labranza de conservación en los Tuxtlas, Veracruz, México. Se evaluaron seis sistemas de labranza para la conservación de suelos en parcelas de maíz (*Zea mays*): SL1= Sin remoción del suelo y cobertura con residuos de *Mucuna* sp.; SL2= Con remoción del suelo y quema de residuos; SL3= Con remoción del suelo e incorporación de residuos; SL4= Sin inversión del suelo y cobertura de residuos de maíz; SL5= Con remoción del suelo y sin residuos; SL6= Sin remoción del suelo y residuos de maíz. De acuerdo al coeficiente de similitud de Jaccard, los sistemas de labranza más similares en relación a las especies presentes son los sistemas con remoción del suelo e incorporación de residuos (SL3) y sin remoción del suelo y con residuos de maíz (SL6) con un valor de 0.83. Los sistemas de labranza con mayor riqueza, diversidad y equidad de fauna edáfica fueron con remoción del suelo e incorporación de residuos (SL3), sin inversión del suelo y con cobertura de residuos de maíz (SL4) y sin remoción del suelo y con residuos de maíz (SL6), principalmente en la época de lluvias, la cual es la época que afectó más a las comunidades de fauna edáfica.

**Palabras clave:** diversidad de artrópodos, maíz, cobertura de residuos, remoción de suelo, *Mucuna* sp.

### INTRODUCCIÓN

La labranza o manipulación mecánica del suelo, es una práctica común en la agricultura, que se realiza para mejorar la descomposición de los residuos del cultivo mediante su incorporación al suelo, lo cual permite su descomposición física (Busari *et al.*, 2015). Existen dos tipos principales de sistemas de labranza, la convencional y la

**Citation:** Murillo-Cuevas FD, Cabrera-Mireles H, Adame-García J, Uribe-Gómez S, Villegas-Narváez J. 2022. Efecto de labranza de conservación del suelo sobre la estructura de comunidades de fauna edáfica.

*Agrociencia*. 56(3): 579-609. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i3.2795>

**Editor in Chief:**  
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: May 24, 2021.  
Approved: March 30, 2022.

**Published in *Agrociencia*:**  
May 9, 2022.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International license.



de conservación. A diferencia de la convencional, la labranza de conservación tiene varias prácticas que conservan la humedad del suelo y reducen la erosión de este, al mantener un mínimo del 30 % de la superficie del suelo cubierta por residuos después de labrar (García *et al.*, 2018).

La retención de residuos del cultivo protege al suelo del impacto directo de las gotas de lluvia y la luz solar, mientras que la modificación mínima del suelo mejora las actividades biológicas en este, así como el movimiento del aire y agua en el suelo (Busari *et al.*, 2015). Si los residuos del cultivo son eliminados con quema o arado, esto puede afectar las propiedades biológicas del suelo, entre ellas a la fauna y microflora edáfica, afectando procesos biológicos de algunos elementos como el nitrógeno, azufre y fósforo. El contenido de materia orgánica del suelo influye en gran medida en las actividades de los organismos edáficos, y estos a su vez, en la dinámica del carbono orgánico del suelo (Busari *et al.*, 2015).

La retención de residuos del cultivo disminuye la temperatura del suelo, la amplitud térmica y favorece la conservación del agua en el suelo. El grado de disturbio mecánico y la cantidad, calidad y ubicación de los residuos del cultivo afectan de diferente forma a las comunidades de fauna edáfica en el suelo (Botina *et al.*, 2012).

Los organismos que componen a la fauna edáfica participan en los procesos de descomposición de la materia orgánica, aireación, reciclaje de nutrientes y mineralización de fósforo y nitrógeno. Los grupos de fauna edáfica son reguladores de la cadena trófica en el suelo y ayudan en la formación de su microestructura y están directamente asociados con la formación de canales, poros y agregados en el suelo que favorecen la aireación e infiltración del agua (Bedano *et al.*, 2016). Por ello la fauna edáfica como las lombrices de tierra, las termitas y las hormigas desempeñan un papel clave en la creación de hábitats para otros organismos y en el control de sus actividades a través de procesos físicos y bioquímicos, ya que las estructuras biogénicas, orgánicas y organominerales que producen estos organismos se acumulan en el suelo para formar mosaicos tridimensionales de dominios funcionales, habitados por comunidades específicas de organismos más pequeños como los microorganismos, microfauna y mesofauna que impulsan los procesos del suelo a través de vías específicas (Lavelle *et al.*, 2016). Sin embargo, la fauna edáfica se puede modificar por varios factores y con ello interferir directamente en los servicios ecosistémicos que proporcionan tal como la protección de las plantas contra plagas y enfermedades, lo cual se logra en gran medida a través de los procesos del suelo en el funcionamiento de sistemas autoorganizados anidados unos dentro de otros (Lavelle *et al.*, 2016).

Las condiciones del suelo pueden modificarse con el cambio o manejo de este, lo cual provoca un desplazamiento de especies edáficas y alteraciones edafoclimáticas. El tipo de manejo, cobertura del suelo y agroquímicos tienen una influencia directa sobre las comunidades de fauna edáfica y su ecología, ya que pueden provocar disminución de la biodiversidad y equidad de especies, o favorecer la dominancia de especies (Murillo *et al.*, 2019). Los grupos que integran la fauna edáfica son sensibles a las perturbaciones naturales y antrópicas del medio, por eso la fauna edáfica se considera un indicador

biológico del estado de conservación del suelo (Cabrera-Mireles *et al.*, 2019). La abundancia, densidad, diversidad y equidad de los grupos que integran la fauna edáfica son variables que ayudan a evaluar el efecto de diferentes manejos de suelo; así como considerar, de manera integral, el funcionamiento de un agroecosistema (Murillo-Cuevas *et al.*, 2019).

El maíz (*Zea mays*) es uno de los principales cultivos en México, ya que constituye una fuente importante de proteína y energía en la dieta. En México se siembran 1,209,277 ha y se producen 8,262,004 Ton de maíz, de las cuales el estado de Veracruz contribuye con 469,540 Ton en una superficie de 194,268 ha, y es el cuarto lugar en producción y el segundo en superficie sembrada a nivel nacional (SIAP, 2020).

El municipio de San Andrés Tuxtla ocupa el tercer lugar en superficie sembrada de maíz en el estado de Veracruz, con 120,611 Ton en una superficie de 30,221 ha (SIAP, 2020). Sin embargo, el uso intensivo del suelo, las malas prácticas de manejo edáfico en la producción del maíz, además de los terrenos en ladera donde se cultiva una gran parte de la producción, lluvias intensas y pendientes fuertes, han generado suelos delgados, con fertilidad baja y poca capacidad de retención de humedad residual, que con el tiempo ha provocado pérdida del suelo por erosión (Francisco-Nicolás, *et al.*, 2006).

En suelos de ladera es necesario utilizar prácticas agrícolas enfocadas a la conservación del suelo (tal como la labranza de conservación), y entender cómo diferentes manejos del suelo pueden reducir o eliminar poblaciones de fauna edáfica susceptibles a los manejos físicos, químicos y biológicos del suelo. Diferentes sistemas de labranza de conservación pueden tener impactos diferentes en la estructura de comunidades de fauna edáfica, destacándose algunos sistemas en la conservación de la riqueza y diversidad de fauna edáfica. El objetivo de este estudio fue evaluar la estructura de las comunidades de fauna edáfica bajo diferentes sistemas de labranza de conservación en Los Tuxtlas, Veracruz, México.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de estudio

El estudio se realizó en dos ejidos del municipio de San Andrés Tuxtla, Veracruz, México. Este municipio se encuentra ubicado en la zona sur del estado de Veracruz, en la Sierra de San Martín, en las coordenadas 18° 27" N y 95° 13" O, en altitud de 300 m. Limita al norte con el Golfo de México; al este con Catemaco; al sur con Hueyapan de Ocampo; al oeste con Santiago Tuxtla y Ángel R. Cabada. Esa región se caracteriza por el diverso uso de métodos de labranza desde la tradicional hasta la adopción de nuevas estrategias, esto debido a la necesidad de reducir la pérdida de suelo, que es un factor limitante en esta región.

El clima del municipio es cálido-subtropical Aw1, clasificación de Köppen modificado por García, 1981. con una temperatura promedio de 23.8 °C; su precipitación pluvial media anual es de 1800 mm. Su suelo es variado dentro del acrisol y litosol, se caracteriza por la acumulación de arcilla, ser pobre en nutrientes y susceptible a la erosión.

Los ejidos donde se realizó el trabajo fueron Chuniapan de Arriba y Tilapan, donde la temperatura varía regularmente de los 20 a 28 °C en promedio, la temperatura más baja 20 °C se registra en los meses de noviembre a enero, y las más altas de 30 a 35 °C en abril y mayo.

### Colecta de muestras

Se evaluaron seis sistemas de labranza para la conservación de suelos en parcelas de maíz (*Zea mays* L.) (Cuadro 1). En cada sistema de labranza se colocaron al azar dos trampas de caída para artrópodos terrestres con cobertura de 36 m<sup>2</sup> por trampa, fabricadas con cuatro tubos PVC de 2 pulgadas diámetro y 3 m longitud, ranurados a 2 cm longitudinalmente, enterrados a ras de suelo e insertados en una cubeta de 20 L enterrada con la ranura expuesta a ras de suelo y con tapa, los tubos de PVC estaban tapados del extremo hacia fuera de la cubeta y destapados del extremo que quedaba en el interior de la cubeta (Figura 1), basado en el método utilizado por Gist y Crossley, 1973.

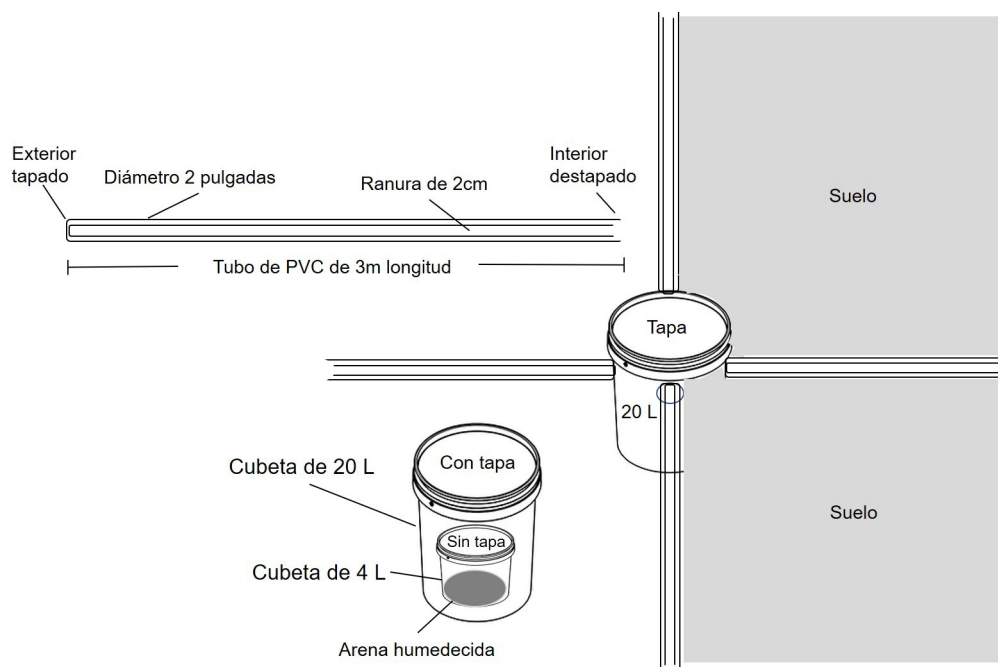
Dentro de la cubeta de 20 L se colocó una cubeta de 4 L con arena humedecida en donde caían los organismos que quedaban atrapados en los tubos de PVC (Figura 1). Las cubetas de 4 L de cada una de las trampas se sacaron y la arena que contenía los organismos vivos se vació en bolsas de plástico etiquetadas con los datos de la muestra y posteriormente las cubetas de 4 L se colocaron nuevamente en las trampas. Durante un periodo de 24 semanas, se realizó semanalmente el levantamiento de los organismos. Se efectuó durante dos épocas del año, en temporada seca (marzo-mayo) y de lluvias (julio-septiembre). Se utilizaron dos repeticiones por sistema de labranza (tratamientos) durante 24 semanas, dando como resultado un total de 48 repeticiones en el tiempo.

### Procesamiento de muestras

Las muestras se procesaron en el Laboratorio de Entomología del Campo Experimental Cotaxtla del INIFAP, para lo cual las muestras contenidas en las bolsas de plástico se vaciaron en charolas de plástico para la búsqueda y extracción de la fauna edáfica con el apoyo de lentes de aumento y luz externa. Se consideró como fauna edáfica a

**Cuadro 1.** Sistemas de labranza para la conservación de suelos evaluados en parcelas de maíz (*Zea mays*) de los ejidos Chuniapan de Arriba y Tilapan del municipio de San Andrés Tuxtla, Veracruz, México.

| Sistemas | Descripción  |
|----------|--|
| SL1      | Sin remoción del suelo y con cobertura con residuos de <i>Mucuna</i> sp. |
| SL2      | Con remoción del suelo y quema de residuos                               |
| SL3      | Con remoción del suelo e incorporación de residuos                       |
| SL4      | Sin inversión del suelo y con cobertura de residuos de maíz              |
| SL5      | Con remoción del suelo y sin residuos                                    |
| SL6      | Sin remoción del suelo y con residuos de maíz                            |



**Figura 1.** Esquema de las trampas de caídas utilizadas para la captura de fauna edáfica en los diferentes sistemas de labranza de conservación establecidos en parcelas de maíz (*Zea mays*) de los ejidos Chuniapan de Arriba y Tilapan del municipio de San Andrés Tuxtla, Veracruz, México.

todos los artrópodos y moluscos presentes en la muestra. Para la separación e identificación de los organismos se utilizó un microscopio estereoscópico Stemi VD4 Carl Zeiss®.

La fauna edáfica se identificó a nivel de familias y se determinó el nivel trófico principal de cada organismo, con ayuda de las claves de Triplehorn y Johnson (2005). Los organismos se contabilizaron a nivel de morfoespecie (organismos morfológicamente idénticos) para los cálculos de abundancia, riqueza, diversidad y equidad. Los organismos se preservaron en frascos con alcohol al 70 %.

#### Análisis estadístico

La estructura de las comunidades de fauna edáfica se determinó a través de la abundancia considerando el número de organismos de cada morfoespecie, para calcular la riqueza se tomaron en cuenta el número de morfoespecies, en lo que respecta a la diversidad, esta se determinó a través del índice de Shannon-Weaver ( $H'$ ), que expresa la uniformidad de los valores de importancia a través de todas las especies de la muestra (Moreno, 2001). Se calculó con la siguiente fórmula:

$$H' = -\sum p_i \ln p_i$$

donde  $p_i$  = abundancia proporcional de la especie  $i$ , es decir, el número de individuos de la especie  $i$  dividido entre el número total de individuos de la muestra.

La equidad se calculó mediante el índice de Pielou ( $J'$ ), el cual mide la proporción de la diversidad observada con relación a la máxima diversidad esperada. Su valor va de 0 a 0.1, de forma que 0.1 corresponde a situaciones donde todas las especies son igualmente abundantes (Moreno, 2001). Se utilizó la siguiente fórmula:

$$J' = H'/H'_{\max}$$

donde  $H'_{\max} = \ln(S)$  y  $S$  = Número total de especies.

Para determinar si los sistemas de labranza estudiados son semejantes de acuerdo a las especies presentes en ellos, se calculó el coeficiente de similitud de Jaccard ( $I_j$ ) (Moreno, 2001), con la siguiente fórmula:

$$I_j = c/a+b-c$$

donde  $a$  = número de especies presentes en el sitio A,  $b$  = número de especies presentes en el sitio B y  $c$  = número de especies presentes en ambos sitios A y B.

Se realizó una prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov, la cual determinó que los datos no presentaban una distribución normal, por lo cual se realizaron pruebas no paramétricas. Primero se realizó la prueba de Wilcoxon para muestras independientes y poder comparar las épocas del año en relación a la estructura de las comunidades de fauna edáfica. Luego se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis para detectar diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre los sistemas de labranza de conservación y se realizó una comparación entre medias de los rangos de la abundancia, riqueza, diversidad y equidad de la fauna edáfica entre los sistemas de labranza de conservación.

El procedimiento usado para juzgar la significancia de las comparaciones múltiples y los contrastes postulados es el descrito en Conover (1999). Los análisis estadísticos se realizaron en el software InfoStat Versión 2020 (Di Rienzo, 2020). Se realizó una estadística descriptiva con los promedios  $\pm$  error estándar de la abundancia de los organismos de acuerdo a su nivel trófico por sistema de labranza.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se identificaron un total de 40 taxones, correspondientes a fauna edáfica de artrópodos (insectos, ácaros, arañas, alacranes, milpiés y cochinillas de tierra) y moluscos (caracoles y babosas). Los taxones más abundantes fueron los fitófagos de las familias Gryllidae 24 % (grillos), Cydnidae 2 % (chinche) y Elateridae 2 % (escarabajo); los depredadores de las familias Formicidae 18 % (hormigas), Carabidae 9 % (escarabajos),

Reduviidae 4 % (chinche), Gelastocoridae 3 % (chinche), y Araneae 1 % (arañas); los saprófagos de las familias Gastropoda 15 % (caracoles), Acari 4 % (ácaros), Diplopoda 3 % (milpiés), Scarabaeidae 2 % (escarabajos), Veronicellidae 1 % (babosa) e Isopoda 2 % (cochinilla de tierra); también se encontraron saproxilófagos de la familia Passalidae 2 % (escarabajos); carroñeros de la familia Staphylinidae 1 % (escarabajo); y omnívoros de la familia Blattidae 1 % (cucarachas) (Cuadro 2).

Los grillos fueron los organismos más numerosos en los sistemas de labranza SL5 (513) y SL1 (449). Las hormigas abundaron en el sistema SL2 (475) y fueron menos abundantes en SL3 (68). Los caracoles y carábidos fueron más abundantes en los sistemas SL2 (276) y SL6 (380). Los escarabajos passalidos y cochinillas de tierra abundaron más en el sistema SL4 (103 y 96 organismos, respectivamente); además, las chinches de la familia Reduviidae, los milpiés, los escarabaeidos y arañas abundaron más en los sistemas SL3 y SL4 (Cuadro 2).

Con respecto a los niveles tróficos de la fauna del suelo encontrada en los sistemas de labranza de conservación, el sistema sin remoción del suelo y cobertura con residuos de *Mucuna* sp. (SL1) registró el mayor promedio de fitófagos (18.0), carroñeros (10.8) y depredadores (6.4) y fue significativamente diferente en relación con los otros sistemas de labranza, también registró la mayor diferencia significativa entre fitófagos y depredadores dentro del sistema (11.6), siendo en promedio más abundantes los fitófagos que los depredadores (Figura 2).

Los sistemas SL2, SL3, SL4 y SL6 tuvieron fitófagos y depredadores igualmente representados, a diferencia del sistema con remoción del suelo y sin residuos (SL5) en el que predominaron significativamente los fitófagos (6.0). El sistema sin inversión del suelo y cobertura de residuos de maíz (SL4) presentó en promedio una abundancia significativa de organismos carroñeros (3.5) y saproxilófagos (3.5) a diferencia de los otros sistemas (Figura 2).

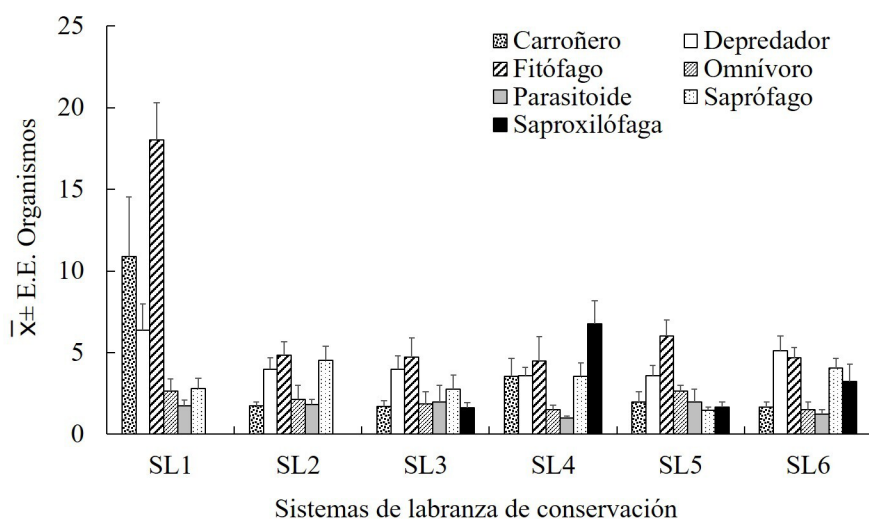
El número total de individuos por taxones y actividad trófica predominante de fauna edáfica varió entre sistemas de labranza. El fitófago Gryllidae, los depredadores Formicidae y Carabidae, y el saprófago Gastropoda fueron los organismos predominantes con variaciones en sus abundancias de acuerdo con el sistema de labranza de conservación.

En lo que respecta a la morfoespecie Gryllidae (*Gryllus* sp.), comúnmente conocida como grillos de campo, los adultos y ninfas de este insecto excavan en el suelo húmedo para esconderse bajo la hojarasca durante el día, son activos y se alimentan en la superficie del suelo durante la noche, las ninfas grandes y adultos cortan los tallos, comen el follaje y raíces de plantas jóvenes y plántulas. No son plagas importantes, pero pueden presentarse como plagas menores o secundarias en cultivos como repollo (*Brassica oleracea* var. *capitata*), piña (*Ananas comosus*), calabaza pipián (*Cucurbita argyrosperma*), pepino (*Cucumis sativus*), frijol (*Phaseolus vulgaris*), cebolla (*Allium cepa*), maíz, arroz (*Oryza sativa*), tomate (*Solanum lycopersisum*), tabaco (*Nicotiana tabacum*), sandía (*Citrullus lanatus*), soya (*Glycine max*), algodón (*Gossypium hirsutum*) y papa (*Solanum tuberosum*) (Santiago, 2019).

**Cuadro 2.** Abundancia de los taxones de fauna edáfica en cada uno de los sistemas de labranza de conservación del suelo establecidos en parcelas de maíz (*Zea mays*) de los ejidos Chuniapan de Arriba y Tilapan del municipio de San Andrés Tuxtla, Veracruz, México.

| Taxones           | SL1 | SL2 | SL3 | SL4 | SL5 | SL6 | ATP           |
|-------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---------------|
| Gryllidae         | 449 | 173 | 45  | 89  | 513 | 192 | Fitófago      |
| Formicidae        | 155 | 475 | 68  | 116 | 75  | 220 | Depredadora   |
| Gastropoda        | 107 | 276 | 38  | 75  | 37  | 380 | Saprófaga     |
| Carabidae         | 193 | 85  | 42  | 54  | 17  | 175 | Depredadora   |
| Passalidae        | 0   | 0   | 13  | 103 | 5   | 14  | Saproxilófaga |
| Isopoda           | 5   | 0   | 14  | 96  | 15  | 17  | Saprófaga     |
| Gelastocoridae    | 84  | 21  | 30  | 3   | 0   | 27  | Depredadora   |
| Acari             | 57  | 67  | 33  | 33  | 12  | 57  | Saprófaga     |
| Reduviidae        | 37  | 13  | 52  | 65  | 16  | 57  | Depredadora   |
| Diplopoda         | 26  | 12  | 28  | 73  | 0   | 30  | Saprófaga     |
| Scarabaeidae      | 19  | 6   | 20  | 44  | 17  | 15  | Saprófaga     |
| Araneae           | 5   | 3   | 11  | 34  | 6   | 18  | Depredadora   |
| Cydnidae          | 10  | 4   | 25  | 63  | 0   | 19  | Fitófago      |
| Elateridae        | 17  | 11  | 24  | 31  | 16  | 21  | Fitófago      |
| Veronicellidae    | 7   | 3   | 10  | 5   | 5   | 11  | Saprófaga     |
| Staphylinidae     | 4   | 3   | 13  | 16  | 7   | 15  | Carroñera     |
| Scorpionidae      | 4   | 3   | 2   | 14  | 3   | 17  | Depredadora   |
| Blattidae         | 3   | 32  | 12  | 12  | 9   | 16  | Omnívora      |
| Phoridae          | 3   | 0   | 2   | 9   | 1   | 6   | Omnívora      |
| Larva Lepidoptera | 3   | 2   | 3   | 2   | 2   | 4   | Fitófago      |
| Cicadellidae      | 3   | 0   | 0   | 1   | 0   | 2   | Fitófago      |
| Pompilidae        | 3   | 1   | 4   | 1   | 3   | 4   | Parasitoide   |
| Cicindelidae      | 2   | 4   | 5   | 19  | 5   | 9   | Depredadora   |
| Mutillidae        | 2   | 0   | 0   | 15  | 7   | 6   | Parasitoide   |
| Dermaptera        | 2   | 3   | 1   | 0   | 0   | 5   | Depredadora   |
| Lathridiidae      | 2   | 0   | 2   | 0   | 4   | 4   | Fitófago      |
| Curculionidae     | 0   | 1   | 0   | 8   | 2   | 4   | Fitófago      |
| Apidae            | 0   | 0   | 3   | 4   | 0   | 6   | Fitófago      |
| Myrmeleontidae    | 0   | 0   | 3   | 4   | 1   | 1   | Depredadora   |
| Gryllacrididae    | 0   | 0   | 0   | 2   | 5   | 2   | Fitófago      |
| Bostrichidae      | 0   | 0   | 0   | 1   | 0   | 0   | Fitófago      |
| Cucujidae         | 0   | 0   | 0   | 1   | 0   | 0   | Saprófaga     |
| Larva Diptera     | 0   | 1   | 1   | 1   | 0   | 3   | Fitófago      |
| Pentatomidae      | 0   | 0   | 3   | 1   | 0   | 2   | Fitófago      |
| Anthricidae       | 0   | 0   | 0   | 0   | 1   | 0   | Saprófaga     |
| Chrysomelidae     | 0   | 1   | 0   | 0   | 0   | 1   | Depredadora   |
| Chrysopidae       | 0   | 0   | 1   | 0   | 0   | 3   | Depredadora   |
| Evaniidae         | 0   | 0   | 3   | 0   | 0   | 2   | Parasitoide   |
| Gryllotalpidae    | 0   | 0   | 2   | 0   | 0   | 4   | Fitófago      |
| Nabidae           | 0   | 0   | 0   | 0   | 3   | 5   | Depredadora   |

SL1= Sin remoción del suelo y con cobertura con residuos de múcuna; SL2= Con remoción del suelo y quema residuos; SL3= Con remoción del suelo e incorporación de residuos; SL4= Sin inversión del suelo y con cobertura de residuos de maíz; SL5= Con remoción del suelo y sin residuos; SL6= Sin remoción del suelo y con residuos de maíz; ATP= Actividad Trófica Predominante.



**Figura 2.** Promedio de organismos representados por sus actividades tróficas predominantes en los sistemas de labranza de conservación establecidos en parcelas de maíz (*Zea mays*) de los ejidos Chuniapan de Arriba y Tilapan del municipio de San Andrés Tuxtla, Veracruz, México. SL1= Sin remoción del suelo y con cobertura con residuos de *Mucuna* sp.; SL2= Con remoción del suelo y quema residuos; SL3= Con remoción del suelo e incorporación de residuos; SL4= Sin inversión del suelo y con cobertura de residuos de maíz; SL5= Con remoción del suelo y sin residuos; SL6= Sin remoción del suelo y con residuos de maíz.

A pesar de que esta familia de grillo tiene hábitos fitófagos y excavadores, tanto en la etapa adulta como en ninfas, se vio afectada por el sistema con remoción del suelo e incorporación de residuos (SL3), el cual disminuyó drásticamente su abundancia. Lo anterior debido a que la remoción del suelo expone a los grillos a la depredación y la desecación, la incorporación de residuos ayuda a incrementar la depredación de los grillos por otros organismos como chinches asesinas de la familia Reduviidae, o arañas, los cuales abundaron en este sistema de labranza. Esta situación se ha reportado para otros fitófagos como las babosas en cereales, donde una labranza convencional por la acción mecánica de los implementos reduce las poblaciones del fitófago a diferencia de una labranza mínima (Kennedy *et al.*, 2013).

Los miembros de la familia Formicidae fueron el segundo grupo más abundante, especialmente en dos de los sistemas de labranza SL2 (475) y SL6 (220). Este resultado corrobora los de Privado *et al.* (2018), quienes indican que las diferencias en estas comunidades de fauna edáfica están influenciadas por el manejo del suelo, incluso se observan las diferencias a un nivel de indicación taxonómico alto como el de familia hasta nivel de género-especie. Uno de los sistemas de labranza en el que la abundancia de Formicidae fue particularmente alta fue el de sin remoción del suelo y con residuos de maíz (SL6), lo cual se debe a la aplicación de biomasa en la superficie del suelo, ya que esta favorece la presencia de algunos grupos funcionales de fauna del suelo como las hormigas (Moura *et al.*, 2015). Por otro lado, las hormigas también fueron abundan-

tes en el sistema de labranza con remoción del suelo y quema de residuos, lo cual era de esperarse ya que las hormigas son de los organismos más tolerantes a los efectos de las quemadas en diferentes ecosistemas terrestres (Cabrera-Mireles *et al.*, 2019).

Para el caso de los carábidos depredadores, los sistemas de labranza sin remoción del suelo y cobertura con residuos de *Mucuna* sp. (SL1) y SL6 fueron los que favorecieron más su abundancia. Para el sistema SL1 la abundancia de los carábidos se relaciona con la presencia de la leguminosa *Mucuna* sp., debido a que gran parte de sus desechos son utilizados por otros organismos que actúan sobre la estructura del suelo y disponibilidad de nutrientes. Los fitófagos, carroñeros y depredadores presentaron promedios de abundancia mayores en el sistema SL1, que en cualquier otro sistema de labranza (Figura 2) lo cual permite mayor estabilidad en el sistema, ya que donde hay mucha población de organismos con diferentes actividades tróficas, hay un mayor desempeño funcional en la ingeniería del ecosistema por parte de los organismos, que de manera directa o indirecta modulan la disponibilidad de recursos para otras especies, al provocar cambios en el estado físico de los materiales bióticos y abióticos (Lavelle *et al.*, 2016). Estos resultados coinciden con los de Privado *et al.* (2018) en los que las hormigas dominaron el tratamiento de biomasa de *Leucaena leucocephala*. Las hormigas, son depredadores que directa o indirectamente modulan la disponibilidad de recursos para otras especies, al provocar cambios en el estado físico del suelo al construir montículos de tierra, galerías y cámaras subterráneas donde concentran materia orgánica. Para el caso del sistema SL6, la labranza de conservación y no remoción del suelo sustenta más comunidades de artrópodos que incluyen escarabajos carábidos (Menalled *et al.*, 2007). Sin embargo, también se ha demostrado que el arado afecta la supervivencia de muchas especies de carábidos (Holland y Reynolds, 2003). Al reducirse la población de carábidos puede aumentar la cantidad de organismos fitófagos, lo cual en algunos casos puede causar desequilibrio en las redes tróficas e interacciones entre los organismos, afectando la producción de moléculas de señalización que actúan como mediadores ecológicos de los procesos de ingeniería biológica, proceso que ayuda a la protección de las plantas contra plagas y enfermedades.

Para el caso de caracoles de la familia Gastropoda y babosas de la familia Veronicellidae, se ha reportado que los sistemas de labranza reducidos o de conservación aumentan sus poblaciones (Kennedy *et al.*, 2013), lo cual se observó en los caracoles de los sistemas SL1, SL2 y SL6, donde éstos fueron más abundantes. Los caracoles y babosas contribuyen a la nutrición del suelo, ya que su desplazamiento permite la aireación, formación y fertilización de este. Sin embargo, las babosas pueden llegar a ser una plaga importante para el cultivo de frijol, el cual es común que se siembre a la par o intercalado con el maíz en muchas regiones, por lo cual altas poblaciones de babosas pueden afectar gravemente el desarrollo de plantas que tienen un propósito en el agroecosistema. Los métodos de labranza sin inversión generalmente tienen menos efecto sobre las poblaciones de caracoles y babosas que el arado combinado con cultivos posteriores (Glen y Symondson, 2003). Entre mayor y más intensivo sea el manejo del cultivo es más probable que el número de babosas se reduzca sustancialmente,

siendo la labranza sin inversión generalmente menos eficaz para reducir el número de babosas que la labranza convencional (Glen y Symondson, 2003).

En relación con la estructura de las comunidades de fauna edáfica, la mayor abundancia (1374 organismos) y riqueza de taxones (37) se registró en el sistema sin remoción del suelo y con residuos de maíz (SL6), la mayor diversidad (2.92) y equidad (0.85) en los sistemas con remoción del suelo e incorporación de residuos (SL3) y sin inversión del suelo y con cobertura de residuos de maíz (SL4) (2.85 y 0.82) (Cuadro 3). En términos de diversidad máxima que puede encontrarse en el sistema, el sistema SL3 tuvo el 0.85 u 85 % y el SL4 el 0.82 u 82 % de la diversidad total que puede encontrarse en cada uno de estos sistemas, a diferencia de los sistemas SL2 y SL5 que no llegaron ni al 0.6 o 60 % de la diversidad total que puede encontrarse en cada uno de estos sistemas (Cuadro 3).

De acuerdo con el coeficiente de similitud de Jaccard (Cuadro 4), los sistemas de labranza con mayor similitud en relación con las especies presentes son los sistemas con remoción del suelo e incorporación de residuos (SL3) y sin remoción del suelo y con residuos de maíz (SL6) con un valor de 0.83, seguido de los sistemas SL4 y SL6 con 0.76 y SL1y SL3 con 0.70, esto indica que los sistemas de labranza compartieron características que benefician a las mismas especies de fauna edáfica.

Al comparar las épocas del año en relación a la estructura de las comunidades de fauna edáfica, se encontró que las condiciones ambientales de la época de lluvias en la región de estudio afectaron negativamente a la abundancia, riqueza y diversidad de la fauna edáfica, obteniéndose los valores más bajos en comparación a la época de seca, lo cual se observa en el Cuadro 5.

La estructura de las comunidades de fauna edáfica cambió de acuerdo con la época del año y sistemas de labranza de conservación. La época de lluvias tuvo un efecto más marcado sobre la abundancia, riqueza, diversidad y equidad de fauna edáfica, el cual pudo ser resistido sólo por algunos sistemas de labranza (Figura 3). En la época

**Cuadro 3.** Indicadores ecológicos de las comunidades de fauna edáfica en seis sistemas de labranza de conservación de suelo establecidos en parcelas de maíz (*Zea mays*) de los ejidos Chuniapan de Arriba y Tilapan del municipio de San Andrés Tuxtla, Veracruz, México.

| Indicadores ecológicos      | Sistemas de labranza |      |      |      |      |      |
|-----------------------------|----------------------|------|------|------|------|------|
|                             | SL1                  | SL2  | SL3  | SL4  | SL5  | SL6  |
| Abundancia                  | 1207                 | 1200 | 513  | 995  | 787  | 1374 |
| Riqueza                     | 25                   | 23   | 31   | 32   | 26   | 37   |
| Diversidad H                | 2.06                 | 1.81 | 2.92 | 2.85 | 1.56 | 2.44 |
| Diversidad H <sub>máx</sub> | 3.22                 | 3.14 | 3.43 | 3.47 | 3.26 | 3.61 |
| Equidad                     | 0.64                 | 0.58 | 0.85 | 0.82 | 0.48 | 0.68 |

SL1= Sin remoción del suelo y con cobertura con residuos de *Mucuna* sp.; SL2= Con remoción del suelo y quema residuos; SL3= Con remoción del suelo e incorporación de residuos; SL4= Sin inversión del suelo y con cobertura de residuos de maíz; SL5= Con remoción del suelo y sin residuos; SL6= Sin remoción del suelo y con residuos de maíz; Abundancia= #organismos, Riqueza= #morfoespecie.

**Cuadro 4.** Coeficiente de similitud de Jaccard (Ij) para comparar los sistemas de labranza en relación con el grado en el que dos sistemas son semejantes por las especies presentes en ellas, en parcelas de maíz (*Zea mays*) de los ejidos Chuniapan de Arriba y Tilapan del municipio de San Andrés Tuxtla, Veracruz, México.

|     | Sistemas de labranza |      |      |      |      |      |
|-----|----------------------|------|------|------|------|------|
|     | SL1                  | SL2  | SL3  | SL4  | SL5  | SL6  |
| SL1 | 1                    | 0.69 | 0.70 | 0.68 | 0.65 | 0.68 |
| SL2 |                      | 1    | 0.66 | 0.64 | 0.55 | 0.64 |
| SL3 |                      |      | 1    | 0.69 | 0.57 | 0.83 |
| SL4 |                      |      |      | 1    | 0.65 | 0.76 |
| SL5 |                      |      |      |      | 1    | 0.65 |
| SL6 |                      |      |      |      |      | 1    |

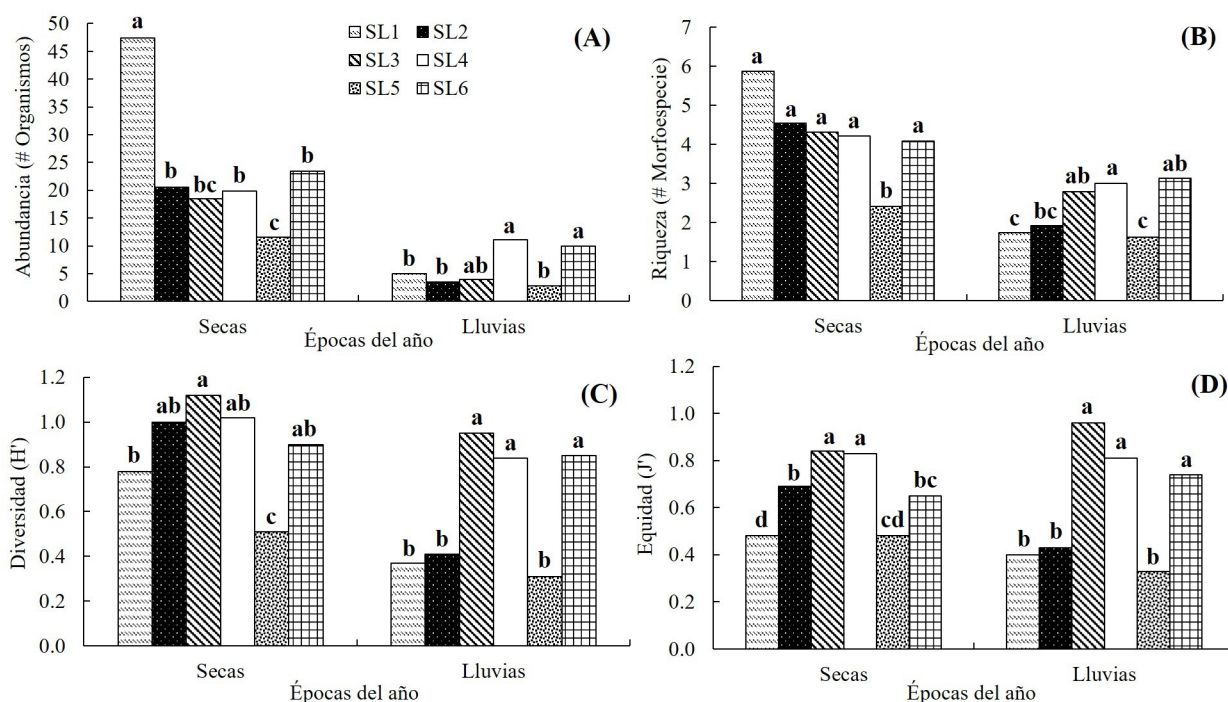
SL1= Sin remoción del suelo y con cobertura con residuos de *Mucuna* sp.; SL2= Con remoción del suelo y quema residuos; SL3= Con remoción del suelo e incorporación de residuos; SL4= Sin inversión del suelo y con cobertura de residuos de maíz; SL5= Con remoción del suelo y sin residuos; SL6= Sin remoción del suelo y con residuos de maíz.

**Cuadro 5.** Prueba de Wilcoxon para muestras independientes en la comparación de las épocas del año en seis sistemas de labranza de conservación de suelo establecidos en parcelas de maíz (*Zea mays*) de los ejidos Chuniapan de Arriba y Tilapan del municipio de San Andrés Tuxtla, Veracruz, México.

| Variabes   | Secas                       | Lluvias                   | W        | P      |
|------------|-----------------------------|---------------------------|----------|--------|
| Abundancia | 21.11 (27.19 <sup>†</sup> ) | 5.76 (7.50 <sup>†</sup> ) | 17894.50 | 0.0001 |
| Riqueza    | 3.98 (2.77)                 | 2.22 (1.38)               | 19400.00 | 0.0001 |
| Diversidad | 0.86 (0.50)                 | 0.54 (0.50)               | 21209.50 | 0.0001 |
| Equidad    | 0.65 (0.33)                 | 0.52 (0.45)               | 25973.50 | 0.2611 |

<sup>†</sup>Desviación Estándar, W= valor de Wilcoxon, P= Probabilidad.

de seca el sistema sin remoción del suelo y con cobertura con residuos de *Mucuna* sp. (SL1) mantuvo en promedio la mayor abundancia de fauna edáfica (47.4) y fue significativamente diferente a los otros sistemas ( $p=0.0001$ ), el sistema sin remoción del suelo y con residuos de maíz (SL6) tuvieron la menor abundancia (11.5), mientras que los otros sistemas mantuvieron una abundancia sin diferencias significativas por arriba de 18.0 organismos en promedio. En la época de lluvias los sistemas sin inversión del suelo y con cobertura de residuos de maíz SL4 y SL6 fueron los que mantuvieron en promedio la mayor abundancia de organismos (11.1 y 10.0 respectivamente), siendo significativamente diferentes ( $p=0.0001$ ) a los otros sistemas de labranza (Figura 3A). La riqueza de fauna edáfica mostró mayor semejanza entre los sistemas de labranza en la época de seca, que en la de lluvias, siendo el sistema con remoción del suelo y sin



**Figura 3.** Abundancia (A), riqueza (B), diversidad (C) y equidad (D) de fauna edáfica en función a los sistemas de labranza de conservación y épocas del año en parcelas de maíz (*Zea mays*) de los ejidos Chuniapan de Arriba y Tilapan del municipio de San Andrés Tuxtla, Veracruz, México. SL1= Sin remoción del suelo y con cobertura con residuos de *Mucuna* sp.; SL2= Con remoción del suelo y quema residuos; SL3= Con remoción del suelo e incorporación de residuos; SL4= Sin inversión del suelo y con cobertura de residuos de maíz; SL5= Con remoción del suelo y sin residuos; SL6= Sin remoción del suelo y con residuos de maíz.

residuos (SL5) el que registró diferencias significativas ( $p = 0.0001$ ) con la menor riqueza en promedio en la época de seca (2.4 morfoespecies). Los sistemas sin remoción del suelo y con cobertura con residuos de *Mucuna* sp. (SL1), con remoción del suelo y quema de residuos (SL2) y SL5 fueron los de menor riqueza de fauna edáfica en promedio en la época de lluvias (1.7, 1.9 y 1.6 morfoespecies respectivamente) y fueron significativamente diferentes ( $p=0.0001$ ) al sistema sin inversión del suelo y con cobertura de residuos de maíz (Figura 3B). En cuanto a la diversidad y equidad de fauna edáfica, los sistemas de labranza con remoción del suelo e incorporación de residuos (SL3), sin inversión del suelo y con cobertura de residuos de maíz (SL4) y sin remoción del suelo y con residuos de maíz (SL6) fueron los que mantuvieron los valores más altos en las dos épocas del año, siendo significativamente diferentes ( $p = 0.0001$ ) a los sistemas, sin remoción del suelo y con cobertura con residuos de *Mucuna* sp. (SL1) y con remoción del suelo y sin residuos (SL5) (Figura 3C y 3D).

Los resultados mostraron que la época de lluvia afecta la estructura de las comunidades de fauna edáfica y que las prácticas de labranza ejercieron una gran influencia en la actividad de los grupos de fauna de artrópodos y moluscos estudiados, lo cual co-

robora el hecho de que la abundancia, riqueza, diversidad y equidad de fauna edáfica se ve afectada por el clima y el manejo del suelo, los cuales de manera independiente no son responsables, si no que tienen un efecto acumulativo, como lo indica Sharma y Parwez (2018). Los sistemas de labranza que favorecieron a la fauna edáfica fueron los sistemas con remoción del suelo e incorporación de residuos (SL3), sin inversión del suelo y con cobertura de residuos de maíz (SL4), y sin remoción del suelo y con residuos de maíz (SL6), lo cual fue reflejado principalmente en la época de lluvias. Estos sistemas tuvieron la mayor riqueza, diversidad y equidad de fauna edáfica, lo cual pudo deberse a las características que comparten de poca o nula remoción del suelo e incorporación de cobertura vegetal, lo cual pudo favorecer a la fauna edáfica. Estos sistemas también compartieron mayor similaridad en cuanto a las especies que comparten, lo que indica que estos sistemas de labranza presentan características similares, tales como la incorporación de materia orgánica al suelo y una mínima o nula remoción del suelo que benefician a las mismas especies de fauna edáfica, tales como a los fitófagos, depredadores, carroñeros, saprófagos y saproxilofagos. Estos resultados sugieren que cuando se cultiva con prácticas de labranza que daña poco al suelo y que además le incorpora materia orgánica, se pueden mantener relaciones proporcionales entre los grupos de fauna edáfica. Las ventajas de las prácticas de labranza de conservación sobre los sistemas convencionales es que promueven la estabilidad del sistema (Bedano *et al.*, 2016), a través de dominios funcionales, habitados por comunidades específicas de organismos que impulsan los procesos del suelo a través de diferentes vías. Por el contrario, cuando los agroecosistemas son alterados por las prácticas convencionales, el equilibrio entre los diferentes grupos funcionales se ve afectado, reduciéndose la riqueza, diversidad y equidad de la fauna edáfica y por consecuencia sus funciones en el suelo.

La labranza que implica remoción del suelo y materia orgánica alterada por prácticas de quema, afecta negativamente la estructura y actividad de la comunidad de artrópodos (Brennan *et al.*, 2006). Así también abundancia, riqueza y diversidad de la macrofauna son significativamente menores en la labranza cero que en pastizales naturales, debido a un mayor aporte e incorporación de materia orgánica al suelo en pastizales (Domínguez *et al.* 2010). De hecho, abundancia y diversidad de fauna edáfica son favorecidas por la labranza reducida (Marasas *et al.*, 2001), debido a una mínima o nula perturbación física del suelo. Nuestros resultados muestran mayor diversidad y equidad de fauna edáfica en los sistemas de labranza con remoción del suelo e incorporación de residuo (SL3), sin inversión del suelo y con cobertura de residuos de maíz (SL4) y sin remoción del suelo y con residuos de maíz (SL6), los cuales permiten una mayor incorporación de materia orgánica y menor alteración física en el suelo.

## CONCLUSIONES

Los sistemas de labranza de conservación mantuvieron una representación similar entre los diferentes grupos tróficos, con una representación equitativa entre fitófagos y depredadores. La excepción fue el sistema de labranza sin remoción del suelo y con

cobertura con residuos de *Mucuna* sp. (SL1), en el que predominaron los fitófagos, principalmente *Gryllus* sp., lo cual aumentó la abundancia de organismos en este sistema de labranza.

Bajo las condiciones climáticas del estudio, los sistemas de labranza de conservación más favorables para la estructura de las comunidades de fauna edáfica fueron los sistemas de labranza con remoción del suelo e incorporación de residuos (SL3), sin inversión del suelo y con cobertura de residuos de maíz (SL4) y sin remoción del suelo y con residuos de maíz (SL6), los cuales promovieron una mayor riqueza, diversidad y equidad de fauna edáfica, principalmente en la época de lluvias, la cual fue la época más desfavorable para las comunidades de fauna edáfica.

Este estudio confirma que diferentes sistemas de labranza de conservación tienen efectos diferentes sobre la fauna del suelo. Algunos sistemas de labranza de conservación fueron más similares entre sí que otros, y se observaron diferencias significativas en los indicadores ecológicos entre algunos de los diferentes sistemas de labranza de conservación, lo que indica que estos sistemas actúan de diferente forma sobre la fauna edáfica, ya que sus componentes o mecanismos afectan de diferente forma al suelo, algunos sistemas de labranza resguardan y promueven la estructura de las comunidades de fauna edáfica y otros no.

#### AGRADECIMIENTOS

Se agradece al INIFAP, Campo Experimental Cotaxtla y al Tecnológico Nacional de México, Campus Úrsulo Galván, por el apoyo brindado para la realización del trabajo.

#### REFERENCIAS

- Bedano JC, Domínguez A, Arolfo R, Wall LG. 2016. Effect of good agricultural practices under no-till on litter and soil invertebrates in areas with different soil types. *Soil and Tillage Research* 158: 100–109. <https://doi.org/10.1016/j.still.2015.12.005>
- Botina B, Velásquez I, Bacca T, Castillo F, Dias G. 2012. Evaluación de la macrofauna del suelo en *Solanum tuberosum* (Solanales: Solanaceae) con sistemas de labranza tradicional y mínima. *Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural* 16 (2): 69–77. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0123-30682012000200007](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-30682012000200007) (Recuperado: enero 2021).
- Brennan A, Fortuneb T, Bolgera T. 2006. Collembola abundances and assemblage structures in conventionally tilled and conservation tillage arable systems. *Pedobiologia* 50 (2): 135–145. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2005.09.004>
- Busari MA, Kukal SS, Kaur A, Bhatt R, Dulazy AA. 2015. Conservation tillage impacts on soil, crop and the environment. *International Soil and Water Conservation Research* 3 (2): 119–129. <https://doi.org/10.1016/j.iswcr.2015.05.002>
- Cabrera-Míreles H, Murillo-Cuevas FD., Adame-García J, Villanueva-Jiménez JA. 2019. Oribátidos, colémbolos y hormigas como indicadores de perturbación del suelo en sistemas de producción agrícola. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 6 (17): 231–241. <https://doi.org/10.19136/era.a6n17.2011>
- Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. 2020. InfoStat. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar>
- Domínguez A, Bedano JC, Becker AR. 2010. Negative effects of no-till on soil macrofauna and litter decomposition in Argentina as compared with natural grasslands. *Soil and Tillage Research* 110: 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.still.2010.06.008>
- Francisco-Nicolás N, Turrent-Fernández A, Oropeza-Mota JL, Martínez-Menes R, Cortés-Flores JI. 2006. Pérdida de suelo y relación erosión-productividad en cuatro sistemas de manejo del suelo. *Terra Latinoamericana* 24: 253–260.

- García D, Cárdenas J, Silva A. 2018. Evaluación de sistemas de labranza sobre propiedades físico-químicas y microbiológicas en un Inceptisol. *Revista de Ciencias Agrícolas* 35 (1): 16–25. <http://dx.doi.org/10.22267/rcia.183501.79>
- García E. 1981. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (1918, 1936) para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana. Instituto de Geografía, UNAM. Offset Larios: México
- Gist CS, Crossley DA. 1973. A method for quantifying pitfall trapping. *Environmental Entomology* 2 (5): 951–952. <https://doi.org/10.1093/ee/2.5.951>
- Glen DM, Symondson WOC. 2003. Influence of soil tillage on slugs and their natural enemies. *In Soil Tillage in Agroecosystems*, El Titi A. (ed.): CRC Press: Boca Raton, USA, 207–227. <https://doi.org/10.1201/9781420040609>
- Holland JM, Reynolds CJM. 2003. The impact of soil cultivation on arthropod (Coleoptera and Araneae) emergence on arable land. *Pedobiologia* 47 (2): 181–191. <https://doi.org/10.1078/0031-4056-00181>
- Jiménez ME. 2016. Plagas de cultivos. Universidad Nacional Agraria (UNA): Managua, Nicaragua.
- Kennedy TF, Connery J, Fortune T, Forristal D, Grant J. 2013. A comparison of the effects of minimum-till and conventional-till methods, with and without straw incorporation, on slugs, slug damage, earthworms and carabid beetles in autumn-sown cereals. *The Journal of Agricultural Science* 151 (5): 605–629. <https://doi.org/10.1017/S0021859612000706>
- Lavelle P, Spain A, Blouin M, Brown G, Decaëns T, Grimaldi M, Jiménez JJ, McKey D, Mathieu J, Velasquez E, Zangerlé A. 2016. Ecosystem engineers in a self-organized soil: a review of concepts and future research questions. *Soil Science* 181 (3/4): 91–109. <https://doi.org/10.1097/SS.0000000000000155>
- Marasas ME, Sarandón SJ, Cicchino AC. 2001. Changes in soil arthropod functional group in a wheat crop under conventional and no tillage systems in Argentina. *Applied Soil Ecology* 18 (1): 61–68. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(01\)00148-2](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(01)00148-2)
- Menalled FD, Smith RG, Dauer JT, Fox TB. 2007. Impact of agricultural management on carabid communities and weed seed predation. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 118: 49–54. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2006.04.011>
- Moreno CE. 2001. Métodos para medir la biodiversidad. M&T–Manuales y Tesis SEA: Zaragoza, España
- Moura EG, Aguiar ACF, Piedade AR, Rousseau GX. 2015. Contribution of legume tree residues and macrofauna to the improvement of abiotic soil properties in the eastern Amazon. *Applied Soil Ecology* 86: 91–99. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.10.008>
- Murillo-Cuevas FD, Adame-García J, H. Cabrera-Mireles H, Fernández-Viveros JA. 2019. Fauna y microflora edáfica asociada a diferentes usos de suelo. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 6 (16): 23–33. <https://doi.org/10.19136/era.a6n16.1792>
- Sharma N, Parwez H. 2018. Effect of edaphic factors on the population density of soil microarthropods in agro forestry habitat. *International Journal of Applied Agricultural Research* 13 (3): 197–204. [https://www.ripublication.com/ijaar18/ijaarv13n3\\_03.pdf](https://www.ripublication.com/ijaar18/ijaarv13n3_03.pdf) (Recuperado: enero 2021)
- Privado MAL, Siqueira GM, de Moura EG, Silva RA, Silva AJC, Aguiar ACF. 2018. Associations between different soil management practices, soil fauna and maize yield. *The Journal of Agricultural Science* 10 (9): 333–343. <https://doi.org/10.5539/jas.v10n9p333>
- Santiago TMH. 2019. Fluctuación poblacional de insectos fitófagos y controladores biológicos en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.), variedad Agroceres. *Infinitum* 9: 39–45. <https://doi.org/10.51431/infinitum.v9i1.530>
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2020. Avance de siembras y cosechas. Cultivo de maíz. Resumen por estado. México. [http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola\\_siap\\_gobmx/ResumenProducto.do](http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/ResumenProducto.do) (Recuperado: septiembre 2020).
- Triplehorn CA, Johnson NF. 2005. Borror and Delong's introduction to the study of insects. (7<sup>th</sup> edition). Thomson Brooks/Cole: Australia



## GREEN MANURE AS A SOIL FERTILITY AND ENVIRONMENTAL OPTION IN SEMIARID AGROSYSTEMS: MINERALIZATION RATE AND N CONTENT

León Bartolomé **Hernández-Herrerías**<sup>1</sup>, Fernando **De León-González**<sup>2</sup>, Luis Manuel **Rodríguez-Sánchez**<sup>2</sup>, Edgar **Barrales-Brito**<sup>3</sup>, Claudia **Hidalgo Moreno**<sup>3</sup>, Mariela Hada **Fuentes-Ponce**<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco (UAM-X). Maestría en Ciencias Agropecuarias. Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, Ciudad de México, México. C. P. 04960.

<sup>2</sup> Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco (UAM-X). Departamento de Producción Agrícola y Animal. Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, Ciudad de México, México. C. P. 04960.

<sup>3</sup> Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5. Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56230.

\* Corresponding author: mfponce@correo.xoc.uam.mx

### ABSTRACT

Green manures are an adequate alternative for improving the availability of nitrogen and phosphorus for crop nutrition, within a global context of decreasing soil fertility and the urgent need to care for the environment. Mixteca region, covers a wide area of central Mexico, characterized by a semi-arid climate, eroded calcareous soil, and rural poverty. With the aim of proposing technologies for improving soil quality and increasing the availability of nitrogen and phosphorus, an experiment was conducted using green manures: *Canavalia ensiformis*, *Dolichos lablab*, *Leucaena leucocephala* and *Avena strigosa* and *Phaseolus vulgaris*, that would ensure a balance between N and P release and the requirements of maize cultivation. The rate of enriched soil mineralization with green manures was determined through incubation, controlled for 15 days with CO<sub>2</sub> emissions using an OxiTop OC110® kit as an indicator of decomposition. CO<sub>2</sub> emissions were greatest in the soil established with *Leucaena leucocephala* and least in the soil with no fertilizer, with emissions descending in the following order: *Leucaena leucocephala* > *Canavalia ensiformis* > *Avena strigosa* + *Phaseolus vulgaris* > *Dolichos lablab* > soil without green manure. It is assumed that a greater flow of CO<sub>2</sub> is accompanied by greater mineralization and release of nutrients. The N<sub>total</sub> in the soil treated with green manures was similar and greater than that of the soil without fertilizer. Soil treated with *Avena strigosa*+*Phaseolus vulgaris* contained the highest values of N<sub>mineral</sub> (N-ammonium + N-nitrate). P<sub>Olsen</sub> content in soils with green manures was double that of the soil without fertilizer. Incubation provided the opportunity of identifying those green manures with higher agronomic potential in the area under study. The biomass comprising *Leucaena leucocephala* leaves and tender stems constitute an alternative for improving soil by providing OM. However, when considering the availability of N and P, the *Avena strigosa*+*Phaseolus vulgaris* combination is a superior alternative for meeting the needs of maize cultivation.

**Keywords:** P soil content, maize, *Leucaena leucocephala*, *Avena strigosa*+*Phaseolus vulgaris*

**Citation:** Hernández-Herrerías LB, De León-González F, Rodríguez-Sánchez LM, Barrales-Brito E, Hidalgo Moreno C, Fuentes-Ponce MH. 2022. Green manure as a soil fertility and environmental option in semiarid agrosystems: mineralization rate and N content. *Agrociencia*. 56(3): 610-637. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i3.2806>

**Editor in Chief:**  
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: September 02, 2021.

Approved: May 05, 2022.

**Published in Agrociencia:**

June 07, 2022.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International license.



## INTRODUCTION

Agricultural soil in Mexico has high levels of degradation, particularly chemical degradation. This is due to unnecessary or irrational practices, such as the excessive use of agro-chemicals, over-exploitation, over-grazing and changes in land use (SEMARNAT, 2015a). It is well known that degradation is worse in arid and semi-arid zones, causing desertification (Garchinbyamba and Kang, 2013). Sixty three percent, or 125.3 million hectares, of the national territory suffers from desertification (report of the National Commission for Arid Areas in the Mexican Republic, SEMARNAT, 2015b).

Production of biomass is insufficient to provide the soil with organic material while simultaneously providing feed for livestock, with the latter being a priority for livestock producers. Foraging above its carrying capacity, together with compaction by livestock results in soil degradation. Generating management alternatives to repair this deteriorating condition is fundamental. Green manures, although under studied, offer the possibility of providing greater soil coverage and improving the physical, chemical and biological properties of soil, while also providing nutrients and limiting losses due to leaching or erosion. At the same time, green manures contribute to conserving soil humidity and, in some cases, are an economical alternative for rural producers who can sell these as forage (Florentín *et al.*, 2011; Yang *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2019). The most commonly utilized plants for green manures belong to the families of Fabaceae, Poaceae, Cruciferae and Caryophyllaceae (Florentín *et al.*, 2011). Fabaceae species are particularly notable for their capacity to accumulate fixed N from the atmosphere in their biomass, which, on decomposing once incorporated into the soil (mineralization), releases nitrogen for crops (Couedale *et al.*, 2018).

The efficient management of an agrosystem through the use of green manures would mean a balance between the availability of nutrients released through mineralization and the requirements of the established crop (Ngetich *et al.*, 2012). Adequate nutrition for plants would thus be ensured and losses of elements to the environment would be reduced (Brady and Weil, 2010; Hobley *et al.*, 2018). Thus, the planned introduction of green manures to agrosystems has the double function of providing the physical, chemical, and biological conditions for crop development and feed for animals, and thereby contributing to food sovereignty in regions with limited conditions, and at the same time, providing environmental services in terms of infiltration of quality water and C retention in the soil (Tribouillois *et al.*, 2016).

Planned application is understood as that done in accordance with the particular conditions of the agrosystem and biogeoclimactic region and not as a hegemonic technology. For complete success in areas with limited conditions, such as in arid and semi-arid zones, understanding the process and impact of the use of green manures in the agrosystem and the environment is crucial. The objective of this study is to evaluate the potential of four Fabaceae species (*Canavalia ensiformis*, *Dolichos lablab*, *Leucaena leucocephala*, *Phaseolus vulgaris*) and one grass (*Avena strigosa*) as green manures, in order to propose a management system that balances the availability of N and P nutrients, products of mineralization, with the requirements of maize cultivation.

## MATERIALS AND METHODS

This research forms part of a broader study to diagnose and propose agrosystem management by the *Grupo Cooperativo Qualy*, located in the municipality of Zapotitlan, state of Puebla, Mexico, who seeks to improve amaranth production under organic management. The challenging conditions, linked to production, were found to be the poor soil quality and lack of nutrients for the crops. Compost and manure, in addition to being limited, carry potential dangers, such as secondary salinization. It was thus decided to explore the potential use of green manures in the region and thereby create a proposal for managing self-sufficient crops in the area, such as maize. The green manures chosen were Fabaceae species: jack bean (*Canavalia ensiformis*) and *Dolichos lablab*, which are highly recommended for organic agriculture in semi-arid and arid areas; white lead tree (*Leucaena leucocephala*) for recovering nutrients in deep soil layers and producing forage throughout the year; and the common bean (*Phaseolus vulgaris*) as it is a local plant. As the latter's low production of biomass is unable to cover the ground, this was interspersed with black oat (*Avena strigosa*).

### Study site

The region has a semi-dry temperate climate (BS1k); it is considered an arid zone; evapotranspiration is greater than precipitation: in the last 40 years, it has had an average annual precipitation of 559 mm and 1.4 mm daily, with a daily average evaporation of 5.5 mm. The average temperature is above 20 °C (CNA and SMN, 2020). The dominant soils are leptosols (INEGI, 2005) and limestone ( $\text{CaCO}_3$ ) forms the dominant bedrock: soils have a high pH, generally between 7.5 and 9 (Ruiz *et al.*, 1998). Seasonal agriculture on small land extensions (1 – 5 ha) predominates in the area, combining plant production with small-scale livestock farming; sheep manure is used as compost. The main crops for family consumption are maize, beans and wheat. Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) is mainly used as an income generating crop together with others such as cacti, flowers and herbs.

### Soil mineralization experiment

The mineralization experiment was conducted *in vitro*.

*Soil and green manure sampling.* A soil sample was obtained comprising 11 subsamples collected in a 1500 m<sup>2</sup> plot that had been cultivated with amaranth in previous years and fertilized with sheep manure (10 Mg ha<sup>-1</sup> per hectare with a density of 18,000 plants and 0.55 kg of manure per plant). Soil sample was taken in May, before the first sowing and 7 months after the last fertilization. Green manures were planted in the same area and collected for use in the incubation experiment (Table 1).

### Mineralization experiment

An experiment involving controlled incubations of green manures incorporated into the soil (Sumner, 2000) was conducted with OxiTop OC110® equipment to measure CO<sub>2</sub> emissions, using the rate of decomposition (mineralization) as proxy. Treatments

**Table 1.** Green manure plants used in the mineralization experiment.

| Plant species                | Supplier                    | Previous information   |
|------------------------------|-----------------------------|--|
| <i>Avena strigosa</i>        | Rafaela (local producer)    | This is one of the most utilized species for green manure in the world. It favors the complete coverage of cultivated crops in combination with other plants. When planted, only 100 kg ha <sup>-1</sup> of seed is used. Its combination with <i>Phaseolus vulgaris</i> has not been reported in the literature.  |
| <i>Canavalia ensiformes</i>  | Local ONG                   | This is one of the most broadly used Fabaceae specie in the world for green manure due to its high N contribution (up to 60 kg ha <sup>-1</sup> ). Its incorporation into the soil three months after planting when crops are flowering is recommended. A planting density of 54 kg ha <sup>-1</sup> of seed is recommended.                               |
| <i>Dolichos lablab</i>       | Local ONG                   | This Fabaceae specie tolerates drought and adapts well to semi-arid conditions. It yields up to 60 t ha <sup>-1</sup> (fresh matter). Its incorporation into the soil as green fertilizer before flowering or up to 10 % of flowering is recommended.  |
| <i>Leucaena leucocephala</i> | Local ONG                   | A Fabaceae specie tree that grows also as bush in hot and arid zones throughout the world, including Mexico. Its use as forage and green manure has been studied in various regions of the world (Bacab <i>et al.</i> , 2013). Yields of between 3 and 30 Mg ha <sup>-1</sup> of dry material have been reported. The species grows in the Mixteca region. |
| <i>Phaseolus vulgaris</i>    | Rafaela (local stakeholder) | This is a widely used Fabaceae specie in Mexico and other parts of the world as a source of protein for rural populations. It is used as a green manure given its rapid growth rate.   |

Local ONG: Alternativas y Procesos de Participación Social A.C.

consisted of incorporating the four different green manures: 1) *Canavalia ensiformis*, 2) *Dolichos lablab*, 3) *Leucaena leucocephala*, 4) *Avena strigosa* + *Phaseolus vulgaris* and a control treatment without green manure. Thirty grams of dry soil sifted at 2 mm were used from each treatment, placed in the 500 mL bottles of the OxiTop OC110® kit, and mixed with 3.8 g of wet green manure (0.85 g dry base) finely sectioned (< 3 mm diameter). In the case of *Canavalia ensiformis*, *Dolichos lablab* and *Avena strigosa*+*Phaseolus vulgaris*, the whole plant was used, including previously washed roots, while in the treatment of *Leucaena leucocephala*, only the aerial parts (leaves and tender stems) with a diameter of less than 3 mm were used. The mixture was brought to field capacity and homogenized. Each treatment was conducted in triplicate.

The OxiTop OC110® kit bottles were hermetically sealed and left to incubate at 25 °C for 15 days. This equipment is a manometric respirometer designed to determine biological oxygen demand. The equipment electronically measures oxygen consumption or oxygen pressure loss in a closed system. It has been tested in previous studies with residual waters, soil and forest mulch (Kalamdhad *et al.*, 2008; Jiménez de Santiago, 2012; Barrales-Brito *et al.*, 2014). When the microorganism respiratory

processes use all available oxygen, respiration stops. It was thus necessary to conduct aerations on days 2, 5, 7, 10 and 14 to ensure the presence of O<sub>2</sub>. Aeration returns partial oxygen pressure to atmospheric levels. The loss of oxygen pressure within the bottle is transformed into soil respiration (R expressed in g CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>) according to the following formula:

$$R = \frac{MO_2}{R \times T} \times \frac{Vfr}{MAv + s} \times |\Delta P|$$

MO<sub>2</sub>= molecular weight of O<sub>2</sub> (31998 mg mol), R = universal gas constant (83.14 l bar cm<sup>3</sup> mol<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>), T= temperature in Kelvin, Vfr= volume of available air (l) MAv+s= mass of green manure and soil, |ΔP|= change in pressure (hPa).

#### *N, P and C determinations at the end of soil incubation*

After 15 days of mineralization, the soil was dried at environment temperature and the following were determined: (i) organic material (Walkley-Black; Bremner and Jenkinson, 1960); (ii) total nitrogen (Kjeldahl, semi-micro, wet digestion with sulphuric acid); (iii) ammonium and nitrates (extracted with KCl (2N) and steam distillation with magnesium oxide and Devarda alloy); and (iv) phosphorous (extracted with NaHCO<sub>3</sub> 0.5 M pH 8.5 (P Olsen) and colorimetric determination using blue molybdenum complex (molybdic phosphoric with ascorbic acid; Olsen) (Bremner and Keeney, 1966).

#### **Statistical analysis**

Results of the respiration experiment of soil treated with green manures, the N<sub>total</sub>, phosphorus, ammonium and nitrates were subjected to a one-way ANOVA. When the effect of the treatments was statistically significant, a test of homogeneity of variance was conducted (Tukey; *p*<0.05). Analyses were done with the R package (R Studio Team, 2015).

### **RESULTS AND DISCUSSION**

#### **Mineralization rates of green manures**

The daily CO<sub>2</sub> flow patterns of the four soil treatments mixed with green manure show three stages: first, high respiration rates between days 1 and 3; second, a fall in respiration between days 4 and 5 to zero due to oxygen depletion. On day 5, the bottles were opened to allow oxygenation, and mineralization returned to elevated levels. This behavior is similar to what occurs in arid zones where a reservoir of highly mineralized organic material is created due to the lack of water, which quickly degrades when wet and increased with Fabaceae species use (Austin *et al.*, 2004; Zavala *et al.*, 2018). In the experiment, with the lack of oxygen, the OM showed a similar process, i.e. accelerated CO<sub>2</sub> emission in the 24 hours after oxygenation, followed by regularization. The results of the mineralization were considered valid, despite when

the sample had no oxygen, given its similarity to the described real-life experience. The third stage occurred in days 8 – 15, which was a period with an intermediate rate of respiration (Figure 1).

In the first two stages (7 days), the four treatments with green manure behavior similarly, with more accelerated daily respiration rates than in previous days. During this period, 66.08 % of the total CO<sub>2</sub> registered in the 15 days was emitted. From day 7, differences were observed in the respiration rates of the treatments with green manure. The respiration of the control treatment (soil without green manure) was practically null for the 15 days (Figure 2). Soil biodegradation without the incorporation of green manure is slow as the limited organic matter in the soil corresponds to the organo-mineral or humic fraction, which is not readily available for microbiota as it is physically and chemically protected (Kemmit *et al.*, 2008; Marques Monroe *et al.*, 2021). This is corroborated by the poor chemical fertility of the soil in the study; the limited mineralization explains the poor availability of nutrients for plants. At the end of the incubation, the accumulated average respiration ( $p < 0.05$ ) of the treatments were ordered as follows: soil treated with *Leucaena leucocephala* > *Canavalia ensiformis* > *Avena strigosa*+*Phaseolus vulgaris* > *Dolichos lablab* > control soil. Treatments with green manure had a fast mineralization rate during the first 7 days, which was directly associated with the C:N ratio of the added material. Fabaceae green manures species mineralize faster than other plants such as Poaceae species or straw, a week after being incorporated when their C:N ratio falls in the range of 9 to 16 (Zavala-Sánchez *et al.*, 2018; Zhou *et al.*, 2020).

After 15 days of incubation, the soil with green manures in this experiment showed C:N ratios of between 9 and 11, less than that of the control soil (Table 2). This result

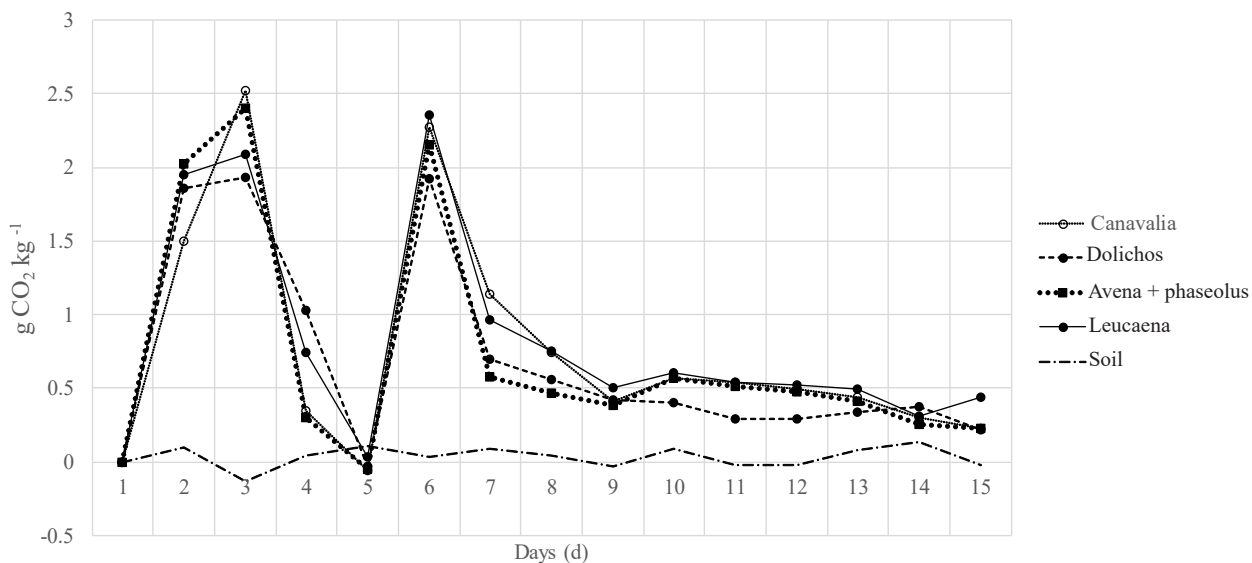
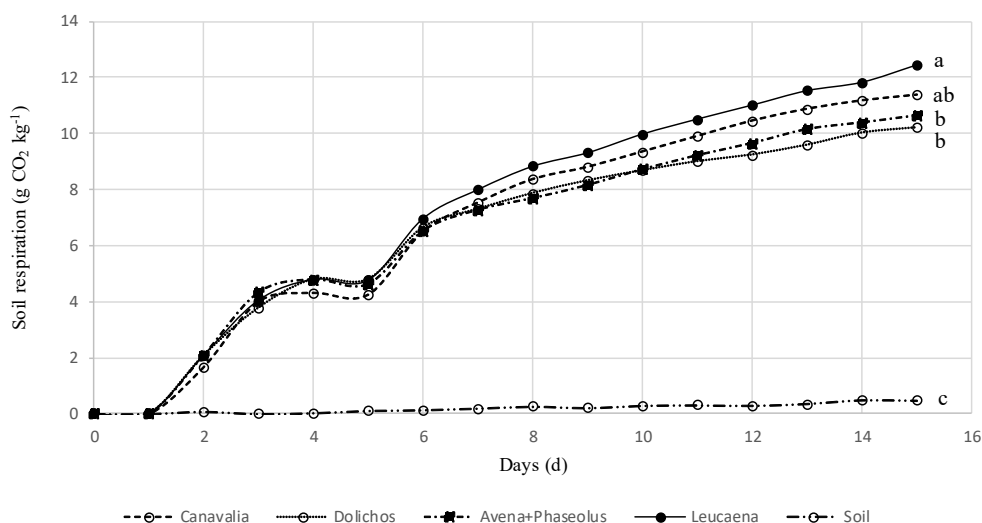


Figure 1. Daily CO<sub>2</sub> emissions in the mineralization laboratory experiment, as indicator of mineralization in the soil.



**Figure 2.** Cumulated respiration curves of treatments during 15 days of laboratory incubation. Different letters at 15<sup>th</sup> day indicate statistical differences among treatment means.

**Table 2.** Selected chemical properties (means ± standard error) for soil samples at the end of the mineralization experiment (n=3).

| Variable                                     | <i>Avena strigosa+Phaseolus vulgaris</i> | <i>Canavalia ensiformis</i> | <i>Dolichos lablab</i> | <i>Leucaena leucocephala</i> | Soil           |
|--|--|-----------------------------|------------------------|------------------------------|----------------|
| SOM (g 100 g <sup>-1</sup> )                 | 3.0 ± 0.30 b                             | 2.8 ± 0.03 b                | 2.8 ± 0.14 b           | 3.9 ± 0.54 a                 | 2.2 ± 0.09 b   |
| N <sub>total</sub> (g 100 g <sup>-1</sup> )  | 0.18 ± 0.004 a                           | 0.17 ± 0.004 a              | 0.16 ± 0.005 a         | 0.19 ± 0.01 a                | 0.10 ± 0.013 b |
| N <sub>ammonium</sub> (mg kg <sup>-1</sup> ) | 25.5 ± 1.0 a                             | 25.6 ± 2.6 a                | 25.6 ± 5.0 a           | 19.3 ± 1.1 a                 | 22.4 ± 0.5 a   |
| N <sub>nitrate</sub> (mg kg <sup>-1</sup> )  | 287.0 ± 19.6 a                           | 266.0 ± 22.3 a              | 148.0 ± 6.8 b          | 19.3 ± 1.86 c                | 30.4 ± 5.6 c   |
| P <sub>Olsen</sub> (mg kg <sup>-1</sup> )    | 22.1 ± 3.32 a                            | 25.0 ± 2.14 a               | 22.5 ± 3.33 a          | 15.0 ± 0.89 b                | 11.3 ± 1.06 b  |
| C:N ratio                                    | 9.6 ± 0.58 b                             | 9.5 ± 0.29 b                | 10.1 ± 0.52 b          | 11.7 ± 0.18 b                | 13.0 ± 1.99 a  |

SOM (soil organic matter), different letters (horizontal) indicate different mean groups ( $p < 0.05$ )

is advantageous when compared with what occurs when manure and compost are added, which are more stable and require up to 300 days to release their nutrients (Brady and Weil, 2010; Rodriguez-Verde *et al.*, 2018). In this experiment, *Leucaena leucocephala* mineralized slightly but to a significantly greater degree than *Dolichos lablab* and *Avena strigosa+Phaseolus vulgaris*. Decomposition rates depend on the green manure, environmental conditions, but also on the activity of micro-organisms and enzymes (Elfstrand *et al.*, 2007; Masunga *et al.*, 2016).

#### Organic matter and soil nutrient supply by green manure treatments

After 15 days, the incubated soil that had been fertilized with *Leucaena leucocephala* had the highest content of organic material (Table 2). The organic composition of

this green manure had less lability than the other three treatments tested due to the incorporation of woody parts (which was not done in the other green manures). *Leucaena leucocephala* leaves have a 4.4 % N content with a C:N ratio=11, reflected in its greater mineralization in comparison to the other green manures used, while the branches contain 2.6 % N and the C:N ratio is greater than 19. *Leucaena leucocephala* is an option for increasing the organic matter content in soils in arid and semi-arid zones with a view to conservation and resilience of soil properties, immobilization of N and C, can translate into an increase in the formation of new soil aggregates whose stability favors the water retention capacity and water retention (Ayangbenro and Babalola, 2021).

Differences in  $N_{total}$  content in the soils treated with green manure were not significant, however all had a greater proportion than the soil without fertilizer (Table 2). Consequently, the  $N_{total}$  is not a useful variable in deciding which green manure to use when aiming to improve the chemical fertility of the soil to produce maize and other crops in the region. The difference in  $N-NH_4$  content was also not significant between the various treatments with green manure (Table 2). However, differences between the treatments in  $N-NO_3$  levels in the soil after 15 days of incubation were significant (Table 2). Soil treated with *Canavalia ensiformis* and *Avena strigosa+Phaseolus vulgaris* had a greater  $N-NO_3$  content than those treated with *Dolichos lablab*, and these three all had higher concentrations than *Leucaena leucocephala* and the soil without green manure. The latter two were statistically equal.

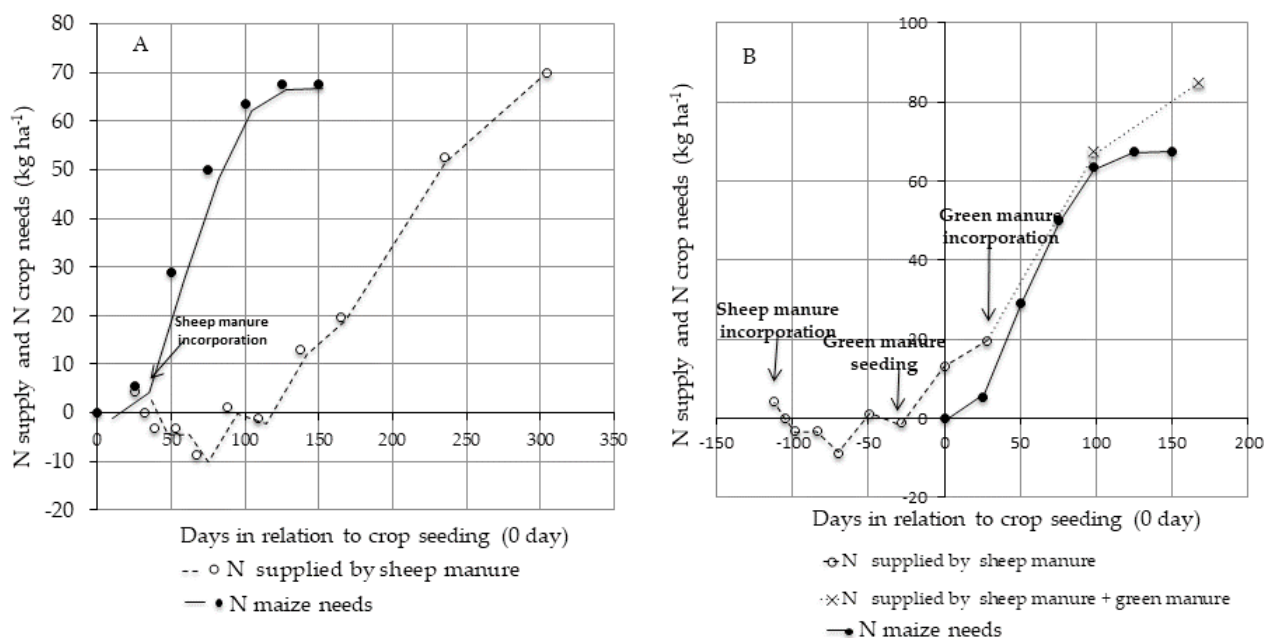
To calculate the  $N_{total}$  and  $N_{mineral}$  contribution of the green manures to the soil, the value of the soil without added fertilizer was subtracted. The *Avena strigosa+Phaseolus vulgaris* mix provided the second highest quantity of  $N_{total}$  and the highest quantity of  $N_{mineral}$  after 15 days of incubation, while the *Canavalia ensiformis* was located in third position in terms of quantity of  $N_{total}$  and second in inorganic N. *Dolichos lablab* contributed the least amount of  $N_{total}$  and was third in terms of inorganic N. Based on these results, it was concluded that *Avena strigosa+Phaseolus vulgaris* and *Canavalia ensiformis* contribute more inorganic nitrogen, quickly available for plants (15 days of incubation) than *Dolichos lablab* and *Leucaena leucocephala*. The latter provided the lowest amounts of nitrates (Table 2). As a result, it can be stated that *Avena strigosa+Phaseolus vulgaris* and *Canavalia ensiformis* respond to immediate crop N needs, while *Leucaena leucocephala* can be recommended as a source of gradually released N that is active for a longer period in comparison with the other experimental treatments. In addition, *Leucaena leucocephala* provides a greater SOM contribution than the others, reducing soil fertility loss and contributing to C capture in the field of ecosystem services (Srinivasarao *et al.*, 2013; Ayangbenro and Babalola, 2021).

The quantity of phosphorus in the soil following the incubation period was significantly greater in the treatments with *Avena strigosa+Phaseolus vulgaris*, *Dolichos lablab* and *Canavalia ensiformis* than those with *Leucaena leucocephala* and soil without green manure ( $p < 0.05$ ; Table 2). The proportion of  $P_{Olsen}$  in the soil without green manure was 11 mg  $kg^{-1}$ , which is considered low in soil fertility terms (Horta and Torrent,

2007). Soils incubated with green manures had double the P content in comparison to the soil without added green manure (Table 2). Another advantage of incorporating organic amendments, including green manures, into calcareous soils is that they lower the pH (8.5 in the soil under study) of the soil, thereby ensuring greater P availability for plants (Zhang *et al.*, 2022).

One of the traditional management options for maize cultivation in the area under study, when the use of synthetic fertilizer is either unwanted or unavailable, consists of applying 10 to 15 t ha<sup>-1</sup> of sheep manure 25 days after seeding. Sheep manure with non-intensive feeding schemes, similar to those in the Mixteca, have an elevated C:N ratio, resulting in N immobilization. It has been shown that in the first 85 days after application, the low mineralization does not satisfy the N demand of maize (Azeez and Van Averbek, 2010; Zarabi and Jalali, 2013; Li and Li, 2014) (Figure 3A).

Based on our study, an alternative is proposed that responds to the fertility requirements of maize production systems associated with livestock breeding in the Mixteca region. This consists of combining the use of green manures with the application of sheep manure (15 t ha<sup>-1</sup>) to meet crop N needs. It is suggested that the sheep manure be applied at the ending of January, that is, 4 months before sowing the maize (beginning of June), incorporating it into the soil at a depth of between 5 and 10 cm, using disking.

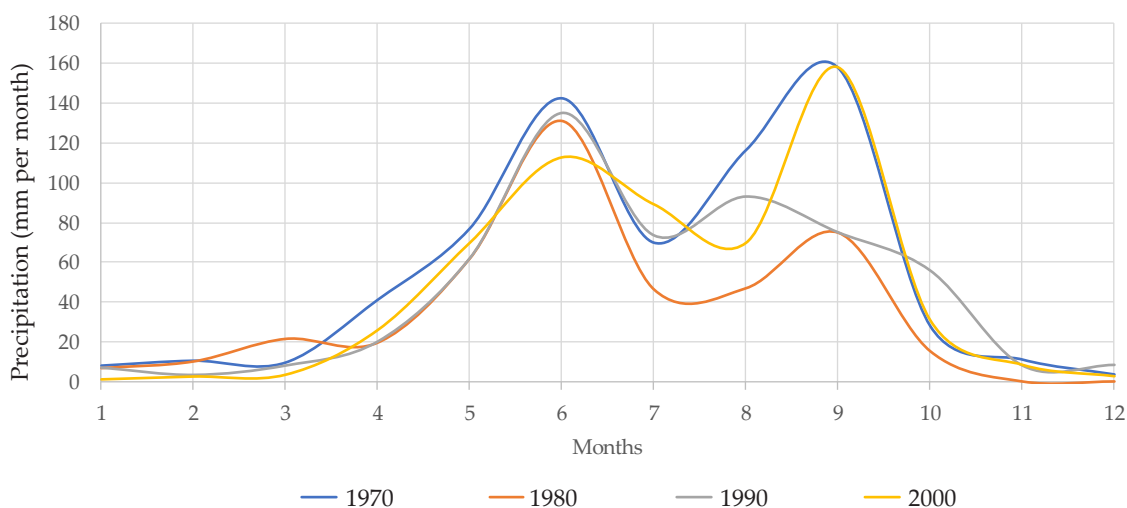


**Figure 3.** Simulated scenario of N supply from decomposition of sheep and green manure in relation to N maize crop needs. A) N supplied by sheep manure mineralization in relation to the N needs of maize; the sheep manure is applied 25 days after seeding as occurs in the semi-arid region (Tehuacan Valley, Puebla). B) The N is supplied by the combination of sheep manure applied 120 days before seeding and *Phaseolus vulgaris*+*Avena strigosa* green manure, incorporated 30 days after seeding, contributing to meet all the N needs of maize. Curve of sheep manure mineralization corresponds to Zarabi & Jalali (2013). Maize curve needs were calculated from Volke *et al.*, 1998 (yield 3 t ha<sup>-1</sup>, native maize, Mixteca Region).

Three months after the application of manure, at the ending of the month of April, the *Phaseolus vulgaris*+*Avena strigosa* green manure should be sowed. In the experiment, this manure contributed the greatest quantity of  $N_{\text{mineral}}$  to the soil (Table 2).

The proposed seeding density was 27 kg ha<sup>-1</sup> *Phaseolus vulgaris* seed and 60 *Avena strigosa*, in 70 cm wide strips with 4 rows of oats and 2 rows of beans and leaving 30 cm spaces between each of the strips for the maize. In the Mixteca region, beans flower within a period of between 6 to 8 weeks after sowing; grow with the first rains of the year; and develop well with the N provided by the manure 85 days after its incorporation.

At the beginning of June, when the rains are more frequent (Figure 4), maize is established in the spaces left for this purpose, and thus the three species grow simultaneously. At the end of June, when the green manure reaches a height of between 20 and 30 cm, it is incorporated into the soil during the first weeding / hilling of the maize. At this point, the mineralization of the green manures will provide additional N to that of the sheep manure, which, at this stage, would have been incorporated for more than 145 days. In this way, the period of greatest N demand by the maize crop occurs simultaneously with the moment of greatest availability of mineralized N from both the sheep manure and the green manure (Fig 3B). This scenario depends on normal rain conditions in the area (Figure 4) and assumes that there is enough moisture in the soil for mineralization by the microbiota. It is important to mention that the microorganisms in semi-arid zone have developed biochemical, molecular and physiological mechanisms to adapt to abiotic and biotic stresses through assemblies in the rhizosphere that facilitate the availability of nutrients for plants. These assemblies act by promoting root growth and thus increase the absorption capacity of water and nutrients. These microorganisms also stimulate the production of plant hormones



**Figure 4.** Average precipitation per decade, CNA weather station 21002, Acatepec (Caltepec, Puebla 18° 13' 40" N, 097° 34' 41" W)

and other compounds that reduce ethylene levels in plants, improving tolerance to water stress conditions. The mechanisms of action of these microorganisms in the rhizosphere contribute to carbon sequestration, N fixation and nutrient solubilization (Ayangbenro and Babalola, 2021).

Another option is to delay the planting of maize in order to synchronize it with the moment of greatest mineralization of the sheep manure and thus dispense with the green manure. However, this is risky if there is insufficient seasonal rain towards the end of the year, or early frosts in the higher zones. Furthermore, late planting of maize increases N loss, especially in the first 25 days after sowing, when N needs may still be low with respect to N mineralization from the manure in this period of the year. Using green manures facilitates the use of N from the manure at the beginning of the mineralization phase, to later be reintegrated into the soil with a more accelerated mineralization due to the lower C:N ratio of the green manure (Masunga *et al.*, 2016). In this way N availability in the soil is increased, provided by both sheep manure as well as green manure, during the period of greatest N demand of maize, without needing to increase the dose of manure. The use of this type of green manure interspersed with the maize crop, may contribute to the suppression of certain weeds in the first month of maize growth, as well as to the diversification of sources of N supply to the soil, through biological fixing carried out in beans one month after sowing. It is important to consider incorporating green manures to reduce losses to the atmosphere due to early mineralization (Florentín *et al.*, 2011; Masunga *et al.*, 2016).

The present investigation provided results of the mineralization rates of a selection of plant species (*Phaseolus vulgaris*+*Avena strigosa*, *Canavalia ensiformis*, *Dolichos lablab* and *Leucaena leucocephala*) with the potential to be used in rainfed agriculture in the maize production system (maize as staple crop and amaranth as cash crop) in the semi-arid region of the Mixteca (Mexico), in order to increase the amount of nutrients (N, P) available for these crops. In addition to the short-term contributions of N and P, the long-term objective that can be covered with the introduction of these green manures is the increase of organic matter in the soil, which requires long terms (several decades) and it supposes the care on the part of the producers of the growth and development of plant species adapted to each region at the plot level (Hobley *et al.*, 2018).

In subsequent studies, N contributions should be tested in the field in synchronization with the needs of the crops of interest (corn and amaranth, for example) as well as the contribution of organic C to the soil of the species analyzed in this research. The alternative proposed in the present investigation of combining the contributions of N and P from sheep manure synchronized with the contributions of green manure should be tested in the field in further investigations. It is known that the dynamics of mineralization under field conditions can present large variations with respect to experimentation under controlled soil moisture and temperature conditions (Masunga *et al.*, 2016).

In the scenario of longer droughts that are already occurring due to climate change, the use of green manures emerges as a valuable alternative against desertification

(Ayangbenro and Babalola, 2021). Also, in the current context of rising prices of fertilizers of industrial origin, the research on green manures will take on greater relevance, (Masunga *et al.*, 2016)

## CONCLUSIONS

Of the four green manures used in the mineralization experiment, *Leucaena* offered the greatest added value in terms of CO<sub>2</sub> flow at the end of the 15 days trial. When considering N<sub>mineral</sub> (ammonium+nitrates), *Avena strigosa*+*Phaseolus vulgaris* and *Canavalia ensiformis* were the most promising green manure treatments (with 287 and 266 mg kg<sup>-1</sup> of N<sub>mineral</sub> contributed, respectively). Regarding phosphorus contribution (Olsen), the four green manures almost doubled the reference content of the soil without organic contributions (ranging between 15-25 mg kg<sup>-1</sup>). Taking the results of N<sub>mineral</sub> contributions in their totality, better fertility management of maize production systems can be achieved by combining sheep manure (15 t ha<sup>-1</sup> dry base) and *Avena strigosa*+*Phaseolus vulgaris* to meet the needs of maize crops. The results of this investigation demonstrate the usefulness of the short-term controlled incubation method in selecting plant species with the potential to be used as green manures.

## ACKNOWLEDGEMENTS

*Alternativas y Procesos de Participación Social A.C.* and *Grupo Cooperativo Quali* (Tehuacán, Puebla) supported this research by facilitating contact with producers in the region and access to seeds for the green manures. Jorge D. Etchevers Barra and Juliana Padilla provided facilities from the Soil Fertility Laboratory (Postgraduate College) to conduct the chemical and physical analyses of the soil.

## REFERENCES

- Austin A, Yahdjian L, Stark J, Belnap J, Porporato A, Norton U, Ravetta D, Schaeffer S. 2004. Water Pulses and Biogeochemical Cycles in Arid and Semiarid Ecosystems. *Oecologia* 141: 221–235. <https://doi.org/10.1007/s00442-004-1519-1>
- Ayangbenro AS, Babalola, OO. 2021. Reclamation of arid and semi-arid soils: The role of plant growth-promoting archaea and bacteria. *Current Plant Biology* 25: 100173. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2020.100173>
- Azeez JO, Van Averbek W. 2010. Nitrogen mineralization potential of three animal manures applied on a sandy clay loam soil. *Bioresource Technology* 101: 5645–5651. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.01.119>
- Bacab H, Madera N, Solorio F, Vera F, Marrufo D. 2013. The intensive silvopastoral systems with *Leucaena leucocephala*: tropical livestock option. *Avances en Investigación Agropecuaria* 17 (3): 68–81. <https://www.redalyc.org/pdf/837/83728497006.pdf>
- Barrales-Brito E, Etchevers-Barra JD, Hidalgo-Moreno C, Paz-Pellat F, Saynes-Santillán V. 2014. *In vitro* determination of CO<sub>2</sub> emission in forest litter. *Agrociencia* 48 (7): 679–690. <https://www.redalyc.org/pdf/302/30232502002.pdf>
- Brady N, Weil R. 2010. Elements of the nature and properties of soils (N. J. P. P. H. Upper Saddle River Ed.).
- Bremner JM, Jenkinson DS. 1960. Determination of organic carbon in soil. *Journal of Soil Science* 11: 394–402. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1960.tb01093.x>
- Bremner JM, Keeney DR. 1966. Determination and isotope-ratio analysis of different forms of nitrogen in soils: 3. exchangeable ammonium, nitrate, and nitrite by extraction-distillation

- methods. *Soil Science Society of America Journal* 30: 577–582. <https://doi.org/10.2136/sssaj1966.03615995003000050015x>
- Couëdel A, Alletto L, Tribouillois H, Justes E. 2018. Cover crop crucifer-legume mixtures provide effective nitrate catch crop and nitrogen green manure ecosystem services. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 254: 50–59. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.11.017>
- Chen Y, Hu N, Zhang Q, Lou Y, Li Z, Tang Z, Kuzyakov Y, Wang Y. 2019. Impacts of green manure amendment on detritus micro-food web in a double-rice cropping system: *Applied Soil Ecology* 138: 32–36. <https://doi.org/10.1007/s42832-020-0064-0>
- Elfstrand S, Båth B, Mårtensson A. 2007. Influence of various forms of green manure amendment on soil microbial community composition, enzyme activity and nutrient levels in leek. *Applied Soil Ecology* 36 (1): 70–82. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2006.11.001>
- Florentín M, Peñalva M, Calegari A, Derpsch R, McDonald M. 2011. Green Manure/Cover Crops and Crop Rotation In: *Conservation Agriculture on Small Farms. In: MANAGEMENT*, I. C. (ed.). Rome: Plant Production and Protection Division Food and Agriculture Organization of the United Nations. [http://www.fao.org/fileadmin/user\\_upload/agp/icm12.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/agp/icm12.pdf)
- Garchinbyamba M, Kang H. 2013. Analyzing causes of desertification in Bayankhangai soum, Tuv province, central Mongolia. *Forest Science and Technology* 9 (2): 59–64. <https://doi.org/10.1080/21580103.2012.761946>
- Hobley E, Garcia-Franco N, Hübner R, Wiesmeier M. 2018. Reviewing our options: managing water-limited soils for conservation and restoration. *Land Degradation and Development* 29: 1041–1053. <https://doi.org/10.1002/ldr.2849>
- Horta MC, Torrent J. 2007. The Olsen P method as an agronomic and environmental test for predicting phosphate release from acid soils. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 77 (3): 283–292. <https://doi.org/10.1007/s10705-006-9066-2>
- INEGI. 2005. Marco Geoestadístico Municipal (Versión 3.1). México DF.
- Kalamdhad AS, Pasha M, Kazmi AA. 2008. Stability evaluation of compost by respiration techniques in a rotary drum composter. *Resources, Conservation and Recycling* 52 (5): 829–834. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2007.12.003>
- Li LL, Li ST. 2014. Nitrogen mineralization from animal manures and its relation to organic N fractions. *Journal of Integrative Agriculture* 13 (9): 2040–2048. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(14\)60769-3](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(14)60769-3)
- Masunga RH, Uzokwe VN, Mlay PD, Odeh I, Singh A, Buchan D, De Neve S. 2016. Nitrogen mineralization dynamics of different valuable organic amendments commonly used in agriculture. *Applied Soil Ecology* 101: 185–193. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.01.006>
- Ngetich FK, Shisanya CA, Mugwe J, Mucheru-Muna M, Mugendi D. 2012. The Potential of Organic and Inorganic Nutrient Sources in Sub-Saharan African Crop Farming Systems. *Soil Fertility Improvement and Integrated Nutrient Management - A Global Perspective, Kenya*. <https://doi.org/10.5772/28728>
- RStudio Team. 2015. RStudio: Integrated Development Environment for R, Boston, MA.
- Rodríguez-Verde L, Regueiro JM, Lema M, Carballa M. 2018. Blending based optimisation and pretreatment strategies to enhance anaerobic digestion of poultry manure. *Waste Management* 71: 521V531. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.11.002>
- SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2015a. Informe de la Situación del Medio Ambiente en México. Compendio de Estadísticas Ambientales. Indicadores Clave, de Desempleo. Ambiental y de Crecimiento Verde. Ciudad de México. México: SEMARNAT.
- SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2015b. Los Suelos de México. Ciudad de México: Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- CNA (Comisión Nacional de Agua), SMN (Servicio Meteorológico Nacional). 2020. Reporte del clima. Servicio Meteorológico Nacional. Comisión Nacional del Agua. México.
- Srinivasarao Ch, Venkateswarlu B, Lal R, Singh AK, Kundu S. 2013. Chapter Five-Sustainable Management of Soils of Dryland Ecosystems of India for Enhancing Agronomic Productivity and Sequestering Carbon. *Advances in Agronomy* 121: 253–329. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-407685-3.00005-0>

- Sumner ME. 2000. Handbook of Soil Sciences. Florida, New York EUA: Boca Raton, London. CRC Press Taylor and Francis. 2148 pp.
- Tribouillois H, Cohan JP, Justes E. 2016. Cover crop mixtures including legume produce ecosystem services of nitrate capture and green manuring: assessment combining experimentation and modelling. *Plant and Soil* 401 (1–2): 347–364. <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2734-8>
- Volke HV, Etchevers JD, Sanjuan RA, Silva PT. 1998. Modelo de balance nutrimental para la generación de recomendaciones de fertilización para cultivos. *Terra Latinoamericana* 16 (1): 79–91. [https://academic.uprm.edu/dsotomayor/agro6505/Balancenutricional\\_etchevers.pdf](https://academic.uprm.edu/dsotomayor/agro6505/Balancenutricional_etchevers.pdf)
- Yang Z, Xu M, Zheng S, Nie J, Gao J, Liao Y Xie J. 2012. Effects of Long-Term Winter Planted Green Manure on Physical Properties of Reddish Paddy Soil Under a Double-Rice Cropping System. *Journal of Integrative Agriculture* 11 (4): 655–664. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(12\)60053-7](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(12)60053-7)
- Zarabi M, Jalali M. 2013. Nitrogen mineralization in two calcareous soils treated with raw organic amendments. *Clean Technologies and Environmental Policy* 15: 317–331. <https://doi.org/10.1007/s10098-012-0526-x>
- Zavala-Sierra D, Rodríguez-Ortiz JC, Alcalá-Jáuregui JA, Ruiz-Espinoza FH, González Mancillas R, Rodríguez-Fuentes H., Delgado Sánchez P. 2018. Potential of five legume species as green manure in the highland area of San Luis Potosí, Mexico. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 20: 1001. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i20.1001>
- Zhang S, Wang L, Chen S, Fan B, Huang S, Chen Q. 2022. Enhanced phosphorus mobility in a calcareous soil with organic amendments additions: Insights from a long-term study with equal phosphorus input. *Journal of Environmental Management* 306: 114451 <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.114451>
- Zhou G, Cao W, Bai J, Xu C, Zeng N, Gao S, Rees RM, Dou F. 2020. Co-incorporation of rice straw and leguminous green manure can increase soil available nitrogen (N) and reduce carbon and N losses: An incubation study. *Pedosphere* 30 (5): 661–670. doi:10.1016/S1002-0160(19)60845-3

# ABONOS VERDES: UNA OPCIÓN PARA LA FERTILIDAD DEL SUELO Y EL AMBIENTE EN AGROSISTEMAS SEMIÁRIDOS – TASA DE MINERALIZACIÓN Y CONTENIDO DE N

León Bartolomé **Hernández-Herrerías**<sup>1</sup>, Fernando De León-González<sup>2</sup>, Luis Manuel **Rodríguez-Sánchez**<sup>2</sup>, Edgar **Barrales-Brito**<sup>3</sup>, Claudia **Hidalgo Moreno**<sup>3</sup>, Mariela Hada **Fuentes-Ponce**<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco (UAM-X). Maestría en Ciencias Agropecuarias. Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, Ciudad de México, México. C. P. 04960.

<sup>2</sup> Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco (UAM-X). Departamento de Producción Agrícola y Animal. Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, Ciudad de México, México. C. P. 04960.

<sup>3</sup> Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5. Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56230.

\* Autor para correspondencia: mfponce@correo.xoc.uam.mx

## RESUMEN

Los abonos verdes son una alternativa adecuada para mejorar la disponibilidad de nitrógeno y fósforo para la nutrición de los cultivos, dentro de un contexto global de disminución de la fertilidad del suelo y de la urgente necesidad de cuidar el ambiente. La región de la Mixteca abarca una amplia zona del centro de México, caracterizada por un clima semiárido, suelos calcáreos erosionados y pobreza rural. Con el fin de proponer tecnologías para mejorar la calidad del suelo y aumentar la disponibilidad de nitrógeno y fósforo se realizó un experimento con abonos verdes: *Canavalia ensiformis*, *Dolichos lablab*, *Leucaena leucocephala* y *Avena strigosa* y *Phaseolus vulgaris*, para asegurar un equilibrio entre la liberación de N y P y las necesidades del cultivo del maíz. La tasa de mineralización del suelo enriquecido con abonos verdes se determinó a través de incubación controlada durante 15 d, con medición de emisiones de CO<sub>2</sub> en el kit OxiTop OC110® como indicador de descomposición. Las emisiones de CO<sub>2</sub> fueron mayores en el suelo con *Leucaena leucocephala* y menores en el suelo sin abono, con emisiones descendentes en el siguiente orden: *Leucaena leucocephala* > *Canavalia ensiformis* > *Avena strigosa* + *Phaseolus vulgaris* > *Dolichos lablab* > suelo sin abono verde. Se supone que un mayor flujo de CO<sub>2</sub> va acompañado de una mayor mineralización y liberación de nutrimentos. El N<sub>total</sub> en el suelo tratado con abonos verdes fue similar y mayor que el del suelo sin abono. El suelo tratado con *Avena strigosa*+*Phaseolus vulgaris* presentó los valores más altos de N<sub>mineral</sub> (N-amonio + N-nitrato). El contenido de P<sub>Olsen</sub> en los suelos con abonos verdes fue el doble que en los suelos sin abono. La incubación permitió identificar los abonos verdes con mayor potencial agronómico en la zona estudiada. La biomasa compuesta por hojas y tallos tiernos de *Leucaena leucocephala* constituye una alternativa para mejorar el suelo con el aporte de OM. Sin embargo, cuando se considera la disponibilidad de N y P, la combinación *Avena strigosa*+*Phaseolus vulgaris* fue una alternativa superior para satisfacer las necesidades del cultivo de maíz.

**Palabras clave:** contenido de fósforo en el suelo, maíz, *Leucaena leucocephala*, *Avena strigosa*+*Phaseolus vulgaris*.

**Citation:** Hernández-Herrerías LB, De León-González F, Rodríguez-Sánchez LM, Barrales-Brito E, Hidalgo Moreno C, Fuentes-Ponce MH. 2022. Abonos verdes: Una opción para la fertilidad del suelo y el ambiente en agrosistemas semiáridos-Tasa de mineralización y contenido de N. *Agrociencia*. 56(3): 610-637. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i3.2806>

**Editor in Chief:**  
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: September 02, 2021.  
Approved: May 05, 2022.

**Published in Agrociencia:**  
June 07, 2022.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International license.



## INTRODUCCIÓN

El suelo agrícola en México tiene altos niveles de degradación, en especial degradación química. Esto se debe a prácticas innecesarias o irracionales, como el uso excesivo de agroquímicos, la sobreexplotación, el sobrepastoreo y los cambios en el uso de la tierra (SEMARNAT, 2015a). Se sabe que la degradación es peor en las zonas áridas y semiáridas, y se provoca desertificación (Garchinbyamba y Kang, 2013). El 63%, es decir, 125.3 millones de hectáreas, del territorio nacional sufre de desertificación (informe de la Comisión Nacional de Zonas Áridas de la República Mexicana, SEMARNAT, 2015b).

La producción de biomasa es insuficiente para proporcionar materia orgánica al suelo y al mismo tiempo alimentar al ganado; este último es una prioridad para los ganaderos. La búsqueda de alimentos por encima de su capacidad de carga, junto con la compactación por parte del ganado, provoca la degradación del suelo. Generar alternativas de manejo para reparar esta condición de deterioro es fundamental. Los abonos verdes, aunque están poco estudiados, ofrecen la posibilidad de proporcionar una mayor cobertura al suelo y mejorar sus propiedades físicas, químicas y biológicas, al tiempo que aportan nutrientes y limitan las pérdidas por lixiviación o erosión. Al mismo tiempo, los abonos verdes contribuyen a conservar la humedad del suelo y, en algunos casos, son una alternativa económica para los productores rurales que pueden venderlos como forraje (Florentín *et al.*, 2011; Yang *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2019). Las plantas más utilizadas para abonos verdes pertenecen a las familias de Fabaceae, Poaceae, Cruciferae y Caryophyllaceae (Florentín *et al.*, 2011). Las especies de Fabaceae destacan por su capacidad de acumular N fijado de la atmósfera en su biomasa que, al descomponerse una vez incorporada al suelo (mineralización), libera nitrógeno para los cultivos (Couedale *et al.*, 2018).

El manejo eficiente de un agrosistema a través del uso de abonos verdes significaría un equilibrio entre la disponibilidad de nutrientes liberados a través de la mineralización y los requerimientos del cultivo establecido (Ngetich *et al.*, 2012). De este modo, se garantizaría una nutrición adecuada para las plantas y se reducirían las pérdidas de elementos al medio ambiente (Brady y Weil, 2010; Hobley *et al.*, 2018). Así, la introducción planificada de abonos verdes en los agrosistemas tiene la doble función de proporcionar las condiciones físicas, químicas y biológicas para el desarrollo de los cultivos y la alimentación de los animales, y así contribuir a la soberanía alimentaria en regiones con condiciones limitadas, y al mismo tiempo, proporcionar servicios ambientales en términos de infiltración de agua de calidad y retención de C en el suelo (Tribouillois *et al.*, 2016).

Se entiende por aplicación planificada aquella que se realiza de acuerdo con las condiciones particulares del agrosistema y de la región biogeoclimática y no como una tecnología hegemónica. Para lograr un éxito completo en áreas con condiciones limitadas, como en las zonas áridas y semiáridas, es crucial comprender el proceso y el impacto del uso de abonos verdes en el agrosistema y el medio ambiente. El objetivo de este estudio fue evaluar el potencial de cuatro especies Fabaceae (*Canavalia ensi-*

*formis*, *Dolichos lablab*, *Leucaena leucocephala*, *Phaseolus vulgaris*) y una gramínea (*Avena strigosa*) como abonos verdes, para proponer un sistema de manejo que equilibre la disponibilidad de nutrimentos de N y P, productos de la mineralización, con los requerimientos del cultivo de maíz.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación forma parte de un estudio más amplio para diagnosticar y proponer el manejo del agrosistema por parte del Grupo Cooperativo Qualy, ubicado en el municipio de Zapotitlán, estado de Puebla, México, que busca mejorar la producción de amaranto bajo manejo orgánico. Las condiciones difíciles, relacionadas con la producción, fueron la mala calidad del suelo y la falta de nutrimentos para los cultivos. La composta y el estiércol, además de ser limitados, conllevan peligros potenciales como la salinización secundaria. Así, se decidió explorar el uso potencial de los abonos verdes en la región y crear una propuesta de manejo de cultivos como el maíz para autosuficiencia en la zona. Los abonos verdes elegidos fueron las especies de Fabaceae: el frijol Jack (*Canavalia ensiformis*) y el *Dolichos lablab*, muy recomendados para la agricultura ecológica en zonas semiáridas y áridas; el árbol de guaje blanco (*Leucaena leucocephala*) para recuperar los nutrimentos en las capas profundas del suelo y producir forraje durante todo el año; y el frijol común (*Phaseolus vulgaris*) por ser una planta local. La producción de biomasa del frijol es escasa e incapaz de cubrir el suelo, por ello se intercaló con avena negra (*Avena strigosa*).

### Sitio del estudio

La región tiene un clima templado semiseco (BS1k), se considera una zona árida, la evapotranspiración es mayor que la precipitación; en los últimos 40 años ha tenido una precipitación media anual de 559 mm y 1.4 mm diarios, con una evaporación media diaria de 5.5 mm. La temperatura media es superior a los 20 °C (CNA y SMN, 2020). Los suelos dominantes son los leptosoles (INEGI, 2005) y la roca madre dominante es caliza (CaCO<sub>3</sub>); los suelos tienen un pH alto, generalmente entre 7.5 y 9 (Ruiz *et al.*, 1998). En la zona predomina la agricultura de temporal en pequeñas extensiones de tierra (1 - 5 ha) que combina la producción vegetal con la ganadería a pequeña escala; se utiliza como abono el estiércol de oveja. Los principales cultivos para el consumo familiar son el maíz, el frijol y el trigo. El amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) se utiliza principalmente como cultivo generador de ingresos junto con otros como cactus, flores y hierbas.

### Experimento de tasas de mineralización del suelo

Muestreo de suelos y abonos verdes. Se obtuvo una muestra de suelo compuesta por 11 submuestras recogidas en una parcela de 1500 m<sup>2</sup> que había sido cultivada con amaranto en años anteriores y fertilizada con estiércol de oveja (10 Mg ha<sup>-1</sup> por hectárea con una densidad de 18 000 plantas y 0.55 kg de estiércol por planta). La muestra de suelo se tomó en mayo, antes de la primera siembra y 7 meses después de la última

fertilización. Se plantaron abonos verdes en la misma zona y se recogieron para utilizarlos en el experimento de incubación (Cuadro 1).

### Experimento de mineralización

El experimento de mineralización se realizó *in vitro*. Se realizó un experimento con incubaciones controladas de abonos verdes incorporados al suelo (Sumner, 2000) con el equipo OxiTop OC110® para medir las emisiones de CO<sub>2</sub>, a través de la tasa de descomposición (mineralización) usada como proxy. Los tratamientos consistieron en la incorporación de los cuatro abonos verdes diferentes. 1: *Canavalia ensiformis*; 2: *Dolichos lablab*; 3: *Leucaena leucocephala*; 4: *Avena strigosa* + *Phaseolus vulgaris*; y un tratamiento de control sin abono verde. Se utilizaron 30 g de suelo seco por tratamiento tamizado a 2 mm, se colocaron en los frascos de 500 mL del kit OxiTop OC110® y se mezclaron con 3.8 g de abono verde húmedo (0.85 g en base seca) finamente seccionado (< 3 mm de diámetro). En el caso de *Canavalia ensiformis*, *Dolichos lablab* y *Avena strigosa*+*Phaseolus vulgaris* se utilizó toda la planta, incluidas las raíces previamente lavadas; mientras que en el tratamiento de *Leucaena leucocephala* sólo se utilizaron las partes aéreas (hojas

**Cuadro 1.** Plantas de abono verde utilizadas en el experimento de mineralización.

| Especies de plantas          | Proveedor                  | Información previa  |
|------------------------------|----------------------------|---|
| <i>Avena strigosa</i>        | Rafaela (productora local) | Es una de las especies más utilizadas como abono verde en el mundo. Favorece la cobertura completa de los cultivos en combinación con otras plantas. Cuando se siembra, sólo se utilizan 100 kg ha <sup>-1</sup> de semilla. Su combinación con <i>Phaseolus vulgaris</i> no ha sido reportada en la literatura.  |
| <i>Canavalia ensiformes</i>  | ONG local                  | Se trata de una de las especies Fabaceae más utilizadas en el mundo como abono verde debido a su elevado aporte de N (hasta 60 kg ha <sup>-1</sup> ). Se recomienda su incorporación al suelo tres meses después de la siembra, cuando los cultivos están en floración. Se recomienda una densidad de siembra de 54 kg ha <sup>-1</sup> de semilla.                       |
| <i>Dolichos lablab</i>       | ONG local                  | Esta especie Fabaceae tolera la sequía y se adapta bien a las condiciones semiáridas. Rinde hasta 60 Mg ha <sup>-1</sup> (materia fresca). Se recomienda su incorporación al suelo como abono verde antes de la floración o hasta el 10 % de la misma.  |
| <i>Leucaena leucocephala</i> | ONG local                  | Árbol de la especie Fabaceae que crece también como arbusto en zonas cálidas y áridas de todo el mundo, incluido México. Su uso como forraje y abono verde ha sido estudiado en varias regiones del mundo (Bacab <i>et al.</i> , 2013). Se han registrado rendimientos de entre 3 y 30 Mg ha <sup>-1</sup> de material seco. La especie crece en la región de la Mixteca. |
| <i>Phaseolus vulgaris</i>    | Rafaela (productora local) | Se trata de una especie Fabaceae muy utilizada en México y otras partes del mundo como fuente de proteínas para las poblaciones rurales. Se utiliza como abono verde dada su rápida tasa de crecimiento.  |

ONG local: Alternativas y Procesos de Participación Social A.C.

y tallos tiernos) con un diámetro inferior a 3 mm. La mezcla se llevó a capacidad de campo y se homogeneizó. Cada tratamiento se realizó por triplicado.

Los frascos del kit OxiTop OC110® se cerraron herméticamente y se dejaron incubar a 25 °C durante 15 días. Este equipo es un respirómetro manométrico diseñado para determinar la demanda biológica de oxígeno. El equipo mide electrónicamente el consumo de oxígeno o la pérdida de presión de oxígeno en un sistema cerrado. Se ha probado en estudios anteriores con aguas residuales, suelo y mantillo forestal (Kalamdhad *et al.*, 2008; Jiménez de Santiago, 2012; Barrales-Brito *et al.*, 2014). Cuando los procesos respiratorios de los microorganismos utilizan todo el oxígeno disponible, la respiración se detiene. Por tanto, fue necesario realizar aireaciones los días 2, 5, 7, 10 y 14 para asegurar la presencia de O<sub>2</sub>. La aireación devuelve la presión parcial de oxígeno a los niveles atmosféricos. La pérdida de presión de oxígeno dentro de la botella se transforma en respiración del suelo (R expresada en g CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>) según la siguiente fórmula:

$$R = \frac{MO_2}{R \times T} \times \frac{V_{fr}}{MAv + s} \times |\Delta P|$$

MO<sub>2</sub>= peso molecular del O<sub>2</sub> (31998 mg mol), R= constante universal de los gases (83.14 l bar cm<sup>3</sup> mol<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>), T= temperatura en Kelvin, V<sub>fr</sub>= volumen de aire disponible (l) MAv+s= masa de abono verde y de suelo, |ΔP|= cambio de presión (hPa).

#### Determinaciones de N, P y C al final de la incubación del suelo

Tras 15 días de mineralización, el suelo se secó a temperatura ambiente y se determinaron, materia orgánica (Walkley-Black; Bremner y Jenkinson, 1960); nitrógeno total (Kjeldahl, semi-micro, digestión húmeda con ácido sulfúrico); amonio y nitratos (extraído con KCl (2N) y destilación con óxido de magnesio y aleación Devarda); fósforo (extraído con NaHCO<sub>3</sub> 0.5 M pH 8,5 (P Olsen); y determinación colorimétrica con complejo azul de molibdeno (fosfórico molibdico con ácido ascórbico; Olsen) (Bremner y Keeney, 1966).

#### Análisis estadístico

Los resultados del experimento de respiración del suelo con abonos verdes, el N<sub>total</sub>, el fósforo, el amonio y los nitratos se sometieron a un ANOVA de una vía. Cuando el efecto de los tratamientos fue estadísticamente significativo, se realizó una prueba de homogeneidad de la varianza (Tukey;  $p \leq 0.05$ ). Los análisis se realizaron con el paquete R (R Studio Team, 2015).

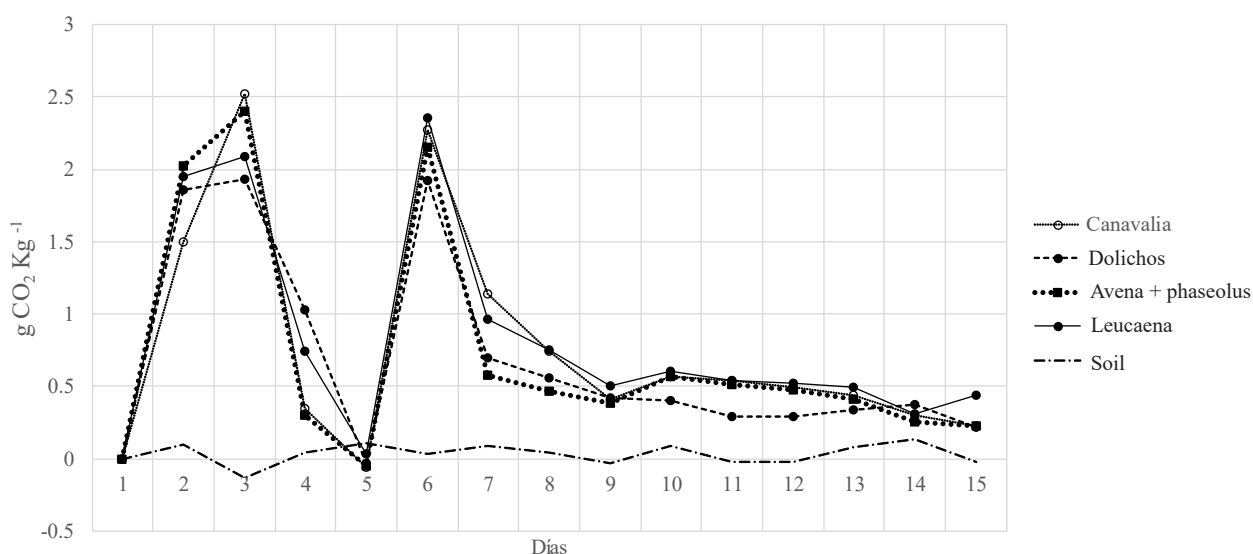
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Tasas de mineralización de los abonos verdes

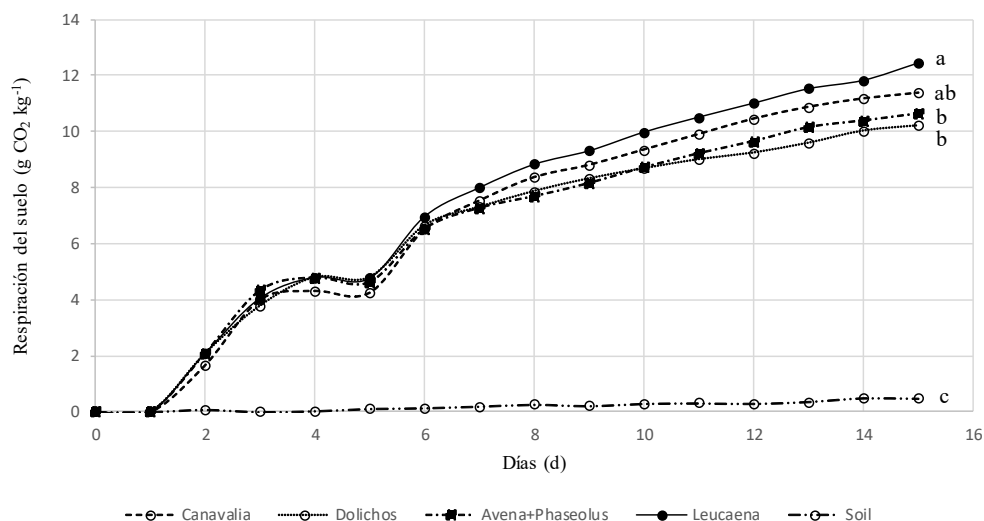
Los patrones de flujo diario de CO<sub>2</sub> de los cuatro tratamientos de suelo mezclados con abono verde mostraron tres etapas: primero, altas tasas de respiración entre los días 1 y 3; segundo, una caída de la respiración entre los días 4 y 5 hasta llegar a cero debido

al agotamiento del oxígeno. El día 5, se abrieron los frascos para permitir la oxigenación, y la mineralización volvió a ser elevada. Este comportamiento es similar a lo que ocurre en zonas áridas donde se crea un reservorio de materia orgánica altamente mineralizada debido a la falta de agua que se degrada rápidamente cuando se humedece y se incrementa con el uso de especies Fabaceae (Austin *et al.*, 2004; Zavala *et al.*, 2018). En el experimento, con la falta de oxígeno, la OM mostró un proceso similar, es decir, una emisión acelerada de CO<sub>2</sub> en las 24 horas posteriores a la oxigenación, seguida de una regularización. Los resultados de la mineralización se consideraron válidos, a pesar de que la muestra no tenía oxígeno, dada su similitud con la experiencia real descrita. La tercera etapa se produjo en los días 8 - 15, que fue un período con una tasa de respiración intermedia (Figura 1).

En las dos primeras etapas (7 d), los cuatro tratamientos con abono verde tuvieron un comportamiento similar, con tasas de respiración diaria más aceleradas que en los días anteriores. Durante este periodo, se emitió el 66.08% del total de CO<sub>2</sub> registrado en los 15 d. A partir del día 7, se observaron diferencias en las tasas de respiración de los tratamientos con abono verde. La respiración del tratamiento control (suelo sin abono verde) fue prácticamente nula durante los 15 d (Figura 2). La biodegradación del suelo sin la incorporación de abono verde es lenta, ya que la limitada materia orgánica del suelo corresponde a la fracción orgánico-mineral o húmica, que no está fácilmente disponible para la microbiota al estar protegida física y químicamente (Kemmit *et al.*, 2008; Marques Monroe *et al.*, 2021). Esto se ve corroborado por la escasa fertilidad química del suelo en estudio; la limitada mineralización explica la escasa disponibilidad de nutrientes para las plantas. Al final de la incubación, la respiración promedio acumulada ( $p \leq 0.05$ ) de los tratamientos se ordenó como sigue: suelo tratado con *Leucaena leucocephala* > *Canavalia ensiformis* > *Avena strigosa*+*Phaseolus vulgaris* > *Dolichos*



**Figura 1.** Emisiones diarias de CO<sub>2</sub> en el experimento de laboratorio de mineralización, como indicador de la mineralización en el suelo.



**Figura 2.** Curvas de respiración acumulada de los tratamientos durante 15 d de incubación en laboratorio. Las letras diferentes a indican diferencias estadísticas entre las medias de los tratamientos a los 15 d de incubación.

*lablab* > suelo control. Los tratamientos con abono verde tuvieron una rápida tasa de mineralización durante los primeros 7 d, que estuvo directamente asociada a la relación C:N del material añadido. Las especies Fabaceae de abonos verdes se mineralizan más rápido que otras plantas como las Poaceae o rastrojo, una semana después de ser incorporadas cuando su relación C:N esta entre 9 y 16 (Zavala-Sánchez *et al.*, 2018; Zhou *et al.*, 2020).

En este experimento, después de 15 d de incubación, el suelo con abonos verdes mostró relaciones C:N entre 9 y 11, menores que las del suelo control (Cuadro 2). Este resultado es ventajoso si se compara con lo que ocurre cuando se añade estiércol y composta, que son más estables y requieren hasta 300 días para liberar sus nutrientes

**Cuadro 2.** Propiedades químicas (medias ± error estándar) de las muestras de suelo al final del experimento de mineralización (n=3).

| Variable                                    | <i>Avena strigosa</i> + <i>Phaseolus vulgaris</i> | <i>Canavalia ensiformis</i> | <i>Dolichos lablab</i> | <i>Leucaena leucocephala</i> | Suelo          |
|---|---|-----------------------------|------------------------|------------------------------|----------------|
| SOM (g 100 g <sup>-1</sup> )                | 3.0 ± 0.30 b                                      | 2.8 ± 0.03 b                | 2.8 ± 0.14 b           | 3.9 ± 0.54 a                 | 2.2 ± 0.09 b   |
| N <sub>total</sub> (g 100 g <sup>-1</sup> ) | 0.18 ± 0.004 a                                    | 0.17 ± 0.004 a              | 0.16 ± 0.005 a         | 0.19 ± 0.01 a                | 0.10 ± 0.013 b |
| N <sub>amonio</sub> (mg kg <sup>-1</sup> )  | 25.5 ± 1.0 a                                      | 25.6 ± 2.6 a                | 25.6 ± 5.0 a           | 19.3 ± 1.1 a                 | 22.4 ± 0.5 a   |
| N <sub>nitrito</sub> (mg kg <sup>-1</sup> ) | 287.0 ± 19.6 a                                    | 266.0 ± 22.3 a              | 148.0 ± 6.8 b          | 19.3 ± 1.86 c                | 30.4 ± 5.6 c   |
| P <sub>Olsen</sub> (mg kg <sup>-1</sup> )   | 22.1 ± 3.32 a                                     | 25.0 ± 2.14 a               | 22.5 ± 3.33 a          | 15.0 ± 0.89 b                | 11.3 ± 1.06 b  |
| Relación C:N                                | 9.6 ± 0.58 b                                      | 9.5 ± 0.29 b                | 10.1 ± 0.52 b          | 11.7 ± 0.18 b                | 13.0 ± 1.99 a  |

SOM (materia orgánica del suelo), diferentes letras (horizontales) indican diferencias estadísticas significativas ( $p \leq 0.05$ ).

(Brady y Weil, 2010; Rodríguez-Verde *et al.*, 2018). En este experimento, la mineralización por *Leucaena leucocephala* fue ligera, pero significativamente mayor que *Dolichos lablab* y *Avena strigosa+Phaseolus vulgaris*. Las tasas de descomposición dependen del tipo de abono verde, de las condiciones ambientales, pero también de la actividad de los microorganismos y las enzimas (Elfstrand *et al.*, 2007; Masunga *et al.*, 2016).

### Materia orgánica y suministro de nutrimentos al suelo por medio de los tratamientos con abonos verdes

Después de 15 d, el suelo incubado que fue fertilizado con *Leucaena leucocephala* tenía el mayor contenido de materia orgánica (Cuadro 2). La materia orgánica de este abono verde fue menos labilidad que los otros tres tratamientos probados debido a la incorporación de partes leñosas (que no se hizo en los otros abonos verdes). Las hojas de *Leucaena leucocephala* tienen un contenido de N del 4.4 % con una relación C:N=11, lo que se refleja en su mayor mineralización en comparación con los otros abonos verdes utilizados, mientras que las ramas contienen un 2.6 % de N y la relación C:N es superior a 19. *Leucaena leucocephala* es una opción para aumentar el contenido de materia orgánica en suelos de zonas áridas y semiáridas con vistas a la conservación y resiliencia de las propiedades del suelo. La inmovilización de N y C puede traducirse en un aumento de la formación de nuevos agregados del suelo cuya estabilidad favorece la capacidad de retención de agua (Ayangbenro y Babalola, 2021).

Las diferencias en el contenido de  $N_{total}$  entre los suelos con abonos verdes no fueron significativas, sin embargo, todos tuvieron una mayor proporción que el suelo sin abono (Cuadro 2). En consecuencia, el  $N_{total}$  no es una variable útil para decidir qué abono verde utilizar cuando se pretende mejorar la fertilidad química del suelo para producir maíz y otros cultivos en la región. La diferencia en el contenido de  $N-NH_4$  tampoco fue significativa entre los distintos tratamientos con abono verde (Cuadro 2). Sin embargo, las diferencias entre los tratamientos en los niveles de  $N-NO_3$  en el suelo tras 15 d de incubación fueron significativas (Cuadro 2). Los suelos tratados con *Canavalia ensiformis* y *Avena strigosa+Phaseolus vulgaris* tuvieron un mayor contenido de  $N-NO_3$  que los tratados con *Dolichos lablab*, y los tres tenían concentraciones más altas que *Leucaena leucocephala* y el suelo sin abono verde. Estos dos últimos fueron estadísticamente iguales.

Para calcular el aporte de  $N_{total}$  y  $N_{mineral}$  de los abonos verdes al suelo, se restó el valor del suelo sin abono añadido. La mezcla *Avena strigosa+Phaseolus vulgaris* aportó la segunda mayor cantidad de  $N_{total}$  y la mayor cantidad de  $N_{mineral}$  tras 15 d de incubación, mientras que la *Canavalia ensiformis* se situó en tercera posición en cuanto a cantidad de  $N_{total}$  y segunda en N inorgánico. *Dolichos lablab* aportó la menor cantidad de  $N_{total}$  y se situó en tercera posición en términos de N inorgánico. Con base en estos resultados, se concluyó que *Avena strigosa+Phaseolus vulgaris* y *Canavalia ensiformis* aportan más nitrógeno inorgánico, rápidamente disponible para las plantas (15 d de incubación) que *Dolichos lablab* y *Leucaena leucocephala*. Estos últimos proporcionaron las cantidades más bajas de nitratos (Cuadro 2). Como resultado, se puede afirmar que *Avena*

*strigosa*+*Phaseolus vulgaris* y *Canavalia ensiformis* responden a las necesidades inmediatas de N de los cultivos, mientras que *Leucaena leucocephala* puede ser recomendada como fuente de N de lenta liberación que será activa durante un periodo más largo en comparación con los otros tratamientos experimentales. Además, *Leucaena leucocephala* proporciona un mayor aporte de SOM que las demás, reduce la pérdida de fertilidad del suelo y contribuye a la captura de C en el ámbito de los servicios ecosistémicos (Srinivasarao *et al.*, 2013; Ayangbenro y Babalola, 2021).

La cantidad de fósforo en el suelo tras el periodo de incubación fue significativamente mayor en los tratamientos con *Avena strigosa*+*Phaseolus vulgaris*, *Dolichos lablab* y *Canavalia ensiformis* que en los tratamientos con *Leucaena leucocephala* y el suelo sin abono verde ( $p \leq 0.05$ ; Cuadro 2). La proporción de  $P_{\text{Olsen}}$  en el suelo sin abono verde fue de 11 mg kg<sup>-1</sup>, lo cual se considera bajo en términos de fertilidad del suelo (Horta y Torrent, 2007). Los suelos incubados con abonos verdes tenían el doble de contenido de P en comparación con el suelo sin adición de abono verde (Cuadro 2). Otra ventaja de la incorporación de enmiendas orgánicas incluidos los abonos verdes en suelos calcáreos es que reducen el pH (8.5 en este estudio) del suelo, y así aseguran una mayor disponibilidad de P para las plantas (Zhang *et al.*, 2022).

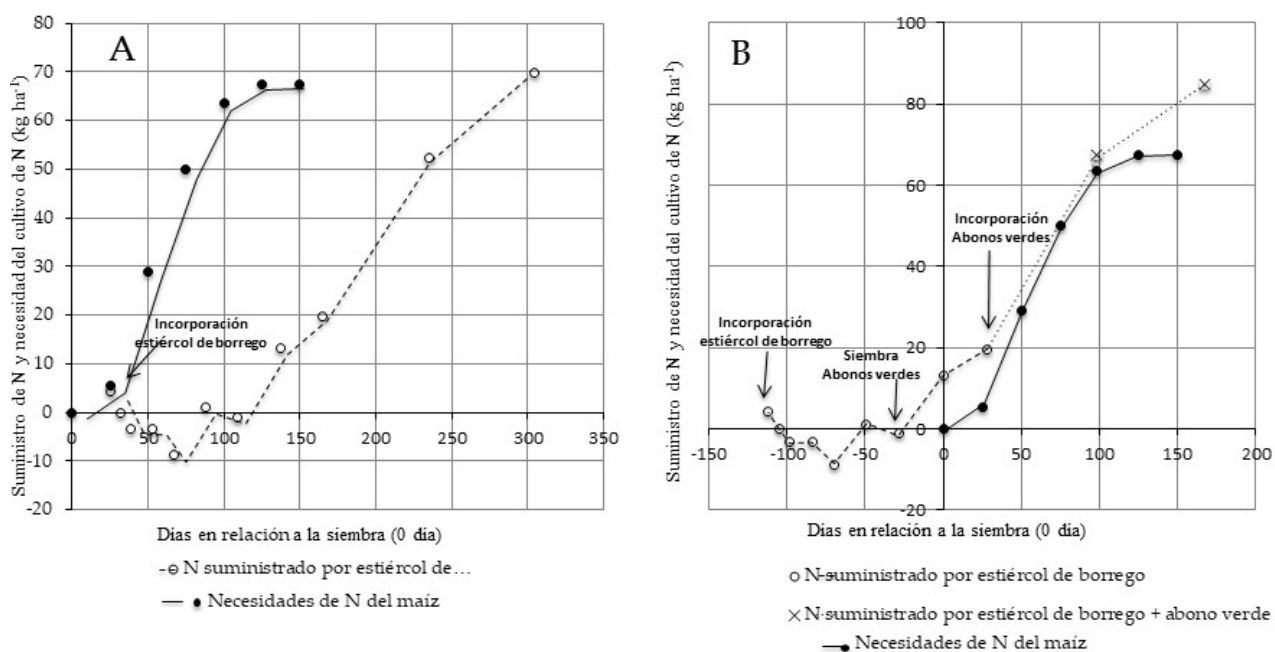
Una de las opciones tradicionales de manejo del cultivo de maíz en la zona estudiada, cuando no se desea usar fertilizantes sintéticos o no está disponible, consiste en aplicar de 10 a 15 Mg ha<sup>-1</sup> de estiércol de oveja 25 d después de la siembra. El estiércol de oveja con esquemas de alimentación no intensivos, similares a los de la Mixteca, tienen una elevada relación C:N, lo que provoca la inmovilización del N. Se ha demostrado que en los primeros 85 d después de la aplicación, la baja mineralización no satisface la demanda de N del maíz (Azeez y Van Averbek, 2010; Zarabi y Jalali, 2013; Li y Li, 2014) (Figura 3A).

Con base en nuestro estudio, se propone una alternativa que responda a los requerimientos de fertilidad de los sistemas de producción de maíz asociados con la ganadería en la región de la Mixteca. Consiste en combinar el uso de abonos verdes con la aplicación de estiércol de oveja (15 Mg ha<sup>-1</sup>) para satisfacer las necesidades de N de los cultivos. Se sugiere que el estiércol de oveja se aplique a finales de enero, es decir, 4 meses antes de la siembra del maíz (a principios de junio); con la incorporación del estiércol al suelo en una profundidad entre 5 y 10 cm por medio de labor de rastra.

Tres meses después de la aplicación del abono, a finales del mes de abril, se debe sembrar el abono verde *Phaseolus vulgaris*+*Avena strigosa*. En el experimento, este abono aportó la mayor cantidad de  $N_{\text{mineral}}$  al suelo (Cuadro 2).

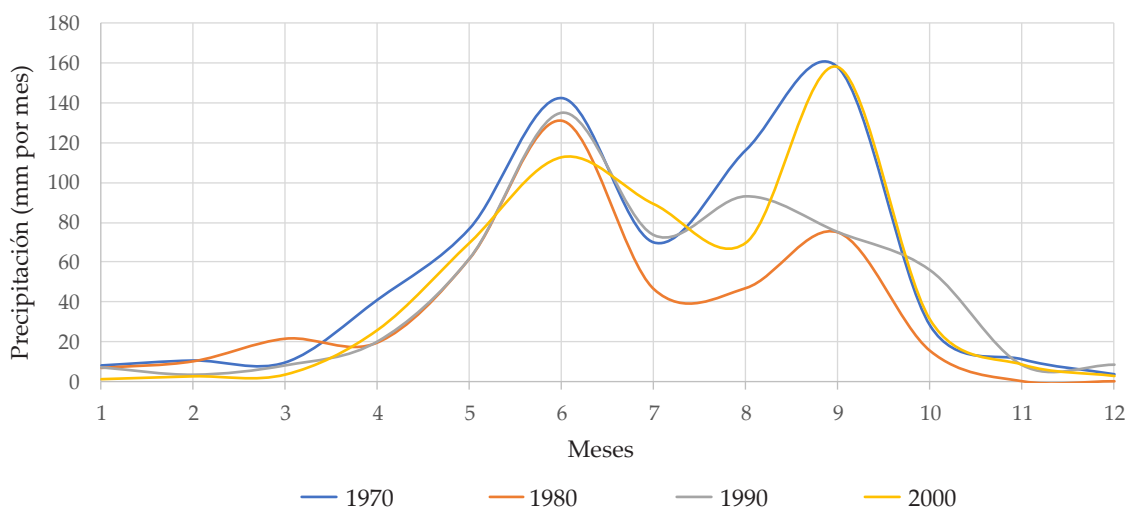
La densidad de siembra propuesta fue de 27 kg ha<sup>-1</sup> de semilla de *Phaseolus vulgaris* y 60 de *Avena strigosa*, en franjas de 70 cm de ancho con 4 hileras de avena y 2 hileras de frijoles, se dejaron 30 cm de espacio entre cada una de las franjas para el maíz. En la región de la Mixteca, el frijol florece en un periodo de entre 6 y 8 semanas después de la siembra; crece con las primeras lluvias del año; y se desarrolla bien con el N que aporta el abono 85 d después de su incorporación.

A principios de junio, cuando las lluvias son más frecuentes (Figura 4), el maíz se establece en los espacios destinados a este fin, y así las tres especies crecen simultáneamente.



**Figura 3.** Escenario simulado del suministro de N procedente de la descomposición del estiércol de oveja y del abono verde en relación con las necesidades de N del cultivo de maíz. A: nitrógeno suministrado por la mineralización del estiércol de oveja en relación con las necesidades de nitrógeno del maíz; el estiércol de oveja se aplicó 25 d después de la siembra como ocurre en la región semiárida (Valle de Tehuacán, Puebla). B: El nitrógeno es suministrado por la combinación de estiércol de oveja aplicado 120 d antes de la siembra y abono verde de *Phaseolus vulgaris*+*Avena strigosa*, incorporado 30 d después de la siembra, para satisfacer las necesidades de N del maíz. La curva de mineralización del estiércol de oveja corresponde a Zarabi y Jalali (2013). Las curvas de necesidades de maíz se calcularon a partir de Volke *et.al*, 1998 (rendimiento 3 Mg ha<sup>-1</sup>, maíz nativo, región de la Mixteca).

A finales de junio, cuando el abono verde alcanza una altura de entre 20 y 30 cm, se incorpora al suelo durante el primer deshierbe y aporcado del maíz. En este punto, la mineralización de los abonos verdes aportará N adicional al del estiércol de oveja, que, en esta fase, se habría incorporado durante más de 145 d. De esta forma, el periodo de mayor demanda de N por parte del cultivo de maíz ocurre simultáneamente con el momento de mayor disponibilidad de N mineralizado tanto del estiércol de oveja como del abono verde (Figura 3B). Este escenario depende de las condiciones normales de lluvia en la zona (Figura 4) y supone que hay suficiente humedad en el suelo para la mineralización por parte de la microbiota. Es importante mencionar que los microorganismos de la zona semiárida han desarrollado mecanismos bioquímicos, moleculares y fisiológicos para adaptarse al estrés abiótico y biótico a través de ensamblajes en la rizosfera que facilitan la disponibilidad de nutrientes para las plantas. Estos ensamblajes actúan para favorecer el crecimiento de las raíces y aumentar así la capacidad de absorción de agua y nutrientes. Estos microorganismos también estimulan la producción de hormonas vegetales y otros compuestos que reducen los niveles de etileno en las plantas, y mejoran la tolerancia a las condiciones de estrés hídrico.



**Figura 4.** Precipitación promedio por década, estación meteorológica CNA 21002, Acatepec (Caltepec, Puebla 18°13'40" N, 97°34'41" O).

Los mecanismos de acción de estos microorganismos en la rizosfera contribuyen al secuestro de carbono, la fijación de N y la solubilización de nutrientes (Ayangbenro y Babalola, 2021).

Otra opción es retrasar la siembra del maíz para sincronizarla con el momento de mayor mineralización del estiércol de oveja y así prescindir del abono verde. Sin embargo, esto es arriesgado si no hay suficientes lluvias estacionales hacia el final del año, o si hay heladas tempranas en las zonas más altas. Además, la siembra tardía del maíz aumenta la pérdida de N, en especial en los primeros 25 d después de la siembra, cuando las necesidades de N pueden ser todavía bajas con respecto a la mineralización del N del estiércol en este periodo del año. El uso de abonos verdes facilita el aprovechamiento del N del abono al inicio de la fase de mineralización, para posteriormente ser reintegrado al suelo con una mineralización más acelerada debido a la menor relación C:N del abono verde (Masunga *et al.*, 2016).

De esta forma se aumenta la disponibilidad de N en el suelo, aportado tanto por el estiércol de oveja como por el abono verde, durante el periodo de mayor demanda de N del maíz, sin necesidad de aumentar la dosis de estiércol. El uso de este tipo de abono verde intercalado con el cultivo de maíz puede contribuir a la supresión de ciertas arvenses en el primer mes de crecimiento del maíz, así como a la diversificación de las fuentes de suministro de N al suelo, a través de la fijación biológica realizada en los frijoles un mes después de la siembra. Es importante considerar la incorporación de abonos verdes para reducir las pérdidas a la atmósfera por mineralización temprana (Florentín *et al.*, 2011; Masunga *et al.*, 2016).

Esta investigación proporcionó resultados de las tasas de mineralización de una selección de especies vegetales (*Phaseolus vulgaris*+*Avena strigosa*, *Canavalia ensiformis*,

*Dolichos lablab* and *Leucaena leucocephala*) con potencial para ser utilizadas en la agricultura de temporal en el sistema de producción de maíz (maíz como cultivo básico y amaranto como cultivo comercial) en la región semiárida de la Mixteca (México), con el fin de incrementar la cantidad de nutrimentos (N, P) disponibles para estos cultivos. Además de los aportes de N y P a corto plazo, el objetivo a largo plazo que se puede cubrir con la introducción de estos abonos verdes es el aumento de la materia orgánica en el suelo, lo que requiere plazos largos (varias décadas) y supone el cuidado por parte de los productores del crecimiento y desarrollo de especies vegetales adaptadas a cada región a nivel de parcela (Hobley *et al.*, 2018).

En estudios posteriores, los aportes de N deberán probarse en el campo en sincronización con las necesidades de los cultivos de interés (maíz y amaranto, por ejemplo); así como el aporte de C orgánico al suelo de las especies analizadas en esta investigación. La alternativa propuesta en la presente investigación de combinar los aportes de N y P del estiércol de oveja sincronizados con los aportes del abono verde debe ser probada en el campo en futuras investigaciones. Se sabe que la dinámica de la mineralización en condiciones de campo puede presentar grandes variaciones con respecto a la experimentación en condiciones controladas de humedad y temperatura del suelo (Masunga *et al.*, 2016).

En el escenario de sequías más prolongadas que ya se produce debido al cambio climático, el uso de abonos verdes surge como una valiosa alternativa contra la desertificación (Ayangbenro y Babalola, 2021). Asimismo, en el contexto actual de aumento de los precios de los fertilizantes de origen industrial, la investigación sobre abonos verdes cobrará mayor relevancia (Masunga *et al.*, 2016).

## CONCLUSIONES

De los cuatro abonos verdes utilizados en el experimento de mineralización, el de *Leucaena* fue el que ofreció el mayor valor añadido en términos de flujo de CO<sub>2</sub> al final del ensayo de 15 días. Al considerar el N<sub>mineral</sub> (amonio+nitratos), *Avena strigosa*+*Phaseolus vulgaris* y *Canavalia ensiformis* fueron los tratamientos de abono verde más prometedores (287 y 266 mg kg<sup>-1</sup> de N<sub>mineral</sub> aportados). En cuanto al aporte de fósforo (Olsen), los cuatro abonos verdes casi duplicaron el contenido de referencia del suelo sin aportes orgánicos (15-25 mg kg<sup>-1</sup>).

Al considerar los resultados de las aportaciones de N<sub>mineral</sub> en su totalidad, se puede conseguir una mejor gestión de la fertilidad de los sistemas de producción de maíz al combinar estiércol de oveja (15 Mg ha<sup>-1</sup> en base seca) y *Avena strigosa*+*Phaseolus vulgaris* para satisfacer las necesidades de los cultivos de maíz. Los resultados de esta investigación demostraron la utilidad del método de incubación controlada a corto plazo en la selección de especies vegetales con potencial para ser utilizadas como abonos verdes.

## AGRADECIMIENTOS

A Alternativas y Procesos de Participación Social A.C. y Grupo Cooperativo Quali (Tehuacán, Puebla) que apoyaron esta investigación a través de facilitar el contacto con los productores

de la región y el acceso a las semillas de los abonos verdes. Jorge D. Etchevers Barra y Juliana Padilla facilitaron las instalaciones del Laboratorio de Fertilidad de Suelos (Colegio de Postgraduados) para realizar los análisis químicos y físicos del suelo.

## REFERENCIAS

- Austin A, Yahdjian L, Stark J, Belnap J, Porporato A, Norton U, Ravetta D, Schaeffer S. 2004. Water Pulses and Biogeochemical Cycles in Arid and Semiarid Ecosystems. *Oecologia* 141: 221-235. <https://doi.org/10.1007/s00442-004-1519-1>
- Ayangbenro AS, Babalola, OO. 2021. Reclamation of arid and semi-arid soils: The role of plant growth-promoting archaea and bacteria. *Current Plant Biology* 25: 100173. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2020.100173>
- Azeez JO, Van Averbek W. 2010. Nitrogen mineralization potential of three animal manures applied on a sandy clay loam soil. *Bioresource Technology* 101: 5645-5651. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.01.119>
- Bacab H, Madera N, Solorio F, Vera F, Marrufo D. 2013. Los sistemas silvopastoriles intensivos con *Leucaena leucocephala*: una opción para la ganadería tropical. *Avances en Investigación Agropecuaria* 17 (3): 67-81. <https://www.redalyc.org/pdf/837/83728497006.pdf>
- Barrales-Brito E, Etchevers-Barra JD, Hidalgo-Moreno C, Paz-Pellat F, Saynes-Santillán V. 2014. *In vitro* determination of CO<sub>2</sub> emission in forest litter. *Agrociencia* 48 (7): 679-690. <https://www.redalyc.org/pdf/302/30232502002.pdf>
- Brady N, Weil R. 2010. Elements of the nature and properties of soils N. J. P. P. H. (ed). Upper Saddle River. USA.
- Bremner JM, Jenkinson DS. 1960. Determination of organic carbon in soil. *Journal of Soil Science* 11: 394-402. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1960.tb01093.x>
- Bremner JM, Keeney DR. 1966. Determination and isotope-ratio analysis of different forms of nitrogen in soils: 3. exchangeable ammonium, nitrate, and nitrite by extraction-distillation methods. *Soil Science Society of America Journal* 30: 577-582. <https://doi.org/10.2136/sssaj1966.03615995003000050015x>
- Couëdel A, Alletto L, Tribouillois H, Justes E. 2018. Cover crop crucifer-legume mixtures provide effective nitrate catch crop and nitrogen green manure ecosystem services. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 254: 50-59. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.11.017>
- Chen Y, Hu N, Zhang Q, Lou Y, Li Z, Tang Z, Kuzyakov Y, Wang Y. 2019. Impacts of green manure amendment on detritus micro-food web in a double-rice cropping system: *Applied Soil Ecology* 138: 32-36. <https://doi.org/10.1007/s42832-020-0064-0>
- Elfstrand S, Båth B, Mårtensson A. 2007. Influence of various forms of green manure amendment on soil microbial community composition, enzyme activity and nutrient levels in leek. *Applied Soil Ecology* 36 (1): 70-82. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2006.11.001>
- Florentín M, Peñalva M, Calegari A, Derpsch R, McDonald M. 2011. Green Manure/Cover Crops and Crop Rotation In: Conservation Agriculture on Small Farms. In: MANAGEMENT, I. C. (ed.) Plant Production and Protection Division Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy. [http://www.fao.org/fileadmin/user\\_upload/agp/icm12.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/agp/icm12.pdf) (Recuperado: marzo 2021).
- Garchinbyamba M, Kang H. 2013. Analyzing causes of desertification in Bayankhangai soum, Tuv province, central Mongolia. *Forest Science and Technology* 9 (2): 59-64. <https://doi.org/10.1080/21580103.2012.761946>
- Hobley E, Garcia-Franco N, Hübner R, Wiesmeier M. 2018. Reviewing our options: managing water-limited soils for conservation and restoration. *Land Degradation and Development* 29: 1041-1053. <https://doi.org/10.1002/ldr.2849>
- Horta MC, Torrent J. 2007. The Olsen P method as an agronomic and environmental test for predicting phosphate release from acid soils. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 77 (3): 283-292. <https://doi.org/10.1007/s10705-006-9066-2>
- INEGI. 2005. Marco Geoestadístico Municipal (Versión 3.1). México DF. (Recuperado: marzo 2021).
- Kalamdhad AS, Pasha M, Kazmi AA. 2008. Stability evaluation of compost by respiration techniques in a rotary drum composter. *Resources, Conservation and Recycling* 52 (5): 829-834. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2007.12.003>

- Li LL, Li ST. 2014. Nitrogen mineralization from animal manures and its relation to organic N fractions. *Journal of Integrative Agriculture* 13 (9): 2040–2048. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(14\)60769-3](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(14)60769-3)
- Masunga RH, Uzokwe VN, Mlay PD, Odeh I, Singh A, Buchan D, De Neve S. 2016. Nitrogen mineralization dynamics of different valuable organic amendments commonly used in agriculture. *Applied Soil Ecology* 101: 185–193. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.01.006>
- Ngetich FK, Shisanya CA, Mugwe J, Mucheru-Muna M, Mugendi D. 2012. The Potential of Organic and Inorganic Nutrient Sources in Sub-Saharan African Crop Farming Systems. *Soil Fertility Improvement and Integrated Nutrient Management - A Global Perspective, Kenya*. <https://doi.org/10.5772/28728>
- RStudio Team. 2015. RStudio: Integrated Development Environment for R, Boston, MA.
- Rodríguez-Verde L, Regueiro JM, Lema M, Carballa M. 2018. Blending based optimisation and pretreatment strategies to enhance anaerobic digestion of poultry manure. *Waste Management* 71: 521V531. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.11.002>
- SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2015a. Informe de la Situación del Medio Ambiente en México. Compendio de Estadísticas Ambientales. Indicadores Clave, de Desempleo. Ambiental y de Crecimiento Verde. Ciudad de México. México: SEMARNAT.
- SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2015b. Los Suelos de México. Ciudad de México: Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- CNA (Comisión Nacional de Agua), SMN (Servicio Meteorológico Nacional). 2020. Reporte del clima. Servicio Meteorológico Nacional. Comisión Nacional del Agua. México.
- Srinivasarao Ch, Venkateswarlu B, Lal R, Singh AK, Kundu S. 2013. Chapter Five-Sustainable Management of Soils of Dryland Ecosystems of India for Enhancing Agronomic Productivity and Sequestering Carbon. *Advances in Agronomy* 121: 253–329. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-407685-3.00005-0> Sumner ME. 2000. *Handbook of Soil Sciences*. Florida, New York EUA: Boca Raton, London. CRC Press Taylor and Francis. 2148 pp.
- Tribouillois H, Cohan JP, Justes E. 2016. Cover crop mixtures including legume produce ecosystem services of nitrate capture and green manuring: assessment combining experimentation and modelling. *Plant and Soil* 401 (1–2): 347–364. <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2734-8>
- Volke HV, Etchevers JD, Sanjuan RA, Silva PT. 1998. Modelo de balance nutrimental para la generación de recomendaciones de fertilización para cultivos. *Terra Latinoamericana* 16 (1): 79–91. [https://academic.uprm.edu/dsotomayor/agro6505/Balancenutricional\\_etchevers.pdf](https://academic.uprm.edu/dsotomayor/agro6505/Balancenutricional_etchevers.pdf) (Recuperado: septiembre 2021).
- Yang Z, Xu M, Zheng S, Nie J, Gao J, Liao Y Xie J. 2012. Effects of Long-Term Winter Planted Green Manure on Physical Properties of Reddish Paddy Soil Under a Double-Rice Cropping System. *Journal of Integrative Agriculture* 11 (4): 655–664. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(12\)60053-7](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(12)60053-7)
- Zarabi M, Jalali M. 2013. Nitrogen mineralization in two calcareous soils treated with raw organic amendments. *Clean Technologies and Environmental Policy* 15: 317–331. <https://doi.org/10.1007/s10098-012-0526-x>
- Zavala-Sierra D, Rodríguez-Ortiz JC, Alcalá-Jáuregui JA, Ruiz-Espinoza FH, González Mancillas R, Rodríguez-Fuentes H., Delgado Sánchez P. 2018. Potential of five legume species as green manure in the highland area of San Luis Potosí, Mexico. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 20: 1001. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i20.1001>
- Zhang S, Wang L, Chen S, Fan B, Huang S, Chen Q. 2022. Enhanced phosphorus mobility in a calcareous soil with organic amendments additions: Insights from a long-term study with equal phosphorus input. *Journal of Environmental Management* 306: 114451 <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.114451>
- Zhou G, Cao W, Bai J, Xu C, Zeng N, Gao S, Rees RM, Dou F. 2020. Co-incorporation of rice straw and leguminous green manure can increase soil available nitrogen (N) and reduce carbon and N losses: An incubation study. *Pedosphere* 30 (5): 661–670. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(19\)60845-3](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(19)60845-3)



## INTERVENTION AND FORECAST MODELS FOR THE PRICE PAID TO PRODUCER OF BEE (*Apis mellifera* L.) HONEY IN MEXICO

Samuel Luis-Rojas<sup>1</sup>, Roberto Carlos García-Sánchez<sup>1\*</sup>, Roberto García-Mata<sup>1</sup>, Oscar Antonio Arana-Coronado<sup>1</sup>, Benito Ramírez-Valverde<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, Posgrado en Socioeconomía, Estadística e Informática-Economía, Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México, C. P. 56230.

<sup>2</sup> Colegio de Postgraduados Campus Puebla, Posgrado en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional, Km 125.5 carretera federal México-Puebla (Boulevard Forjadores de Puebla), Puebla, México, C. P. 72760.

\* Corresponding author: rcgarcia@colpos.mx

### ABSTRACT

Bee (*Apis mellifera* L) honey is one of the oldest foods that humans have used. Since ancient times, it has been used as a healthy product due to its sweetening and healing properties. In 2020, Mexico produced 54 121 tons (Mg), which ranked the country as the tenth largest producer in the world. The hypothesis was that current honey prices can be explained by previous prices and that they influence the increase in the population of hives and the production of honey in Mexico. To test this hypothesis, the objective of this research was to develop a forecast model for the annual average prices of honey in Mexico (AAPH). The data comprised the 1966 to 2019 prices and the Box-Jenkins methodology of Autoregressive Integrated Moving Average (ARIMA), with and without intervention, was used. The parameters of the models were estimated with the maximum likelihood method of the SAS<sup>®</sup> software, while the structural change was calculated with the corresponding library (*strucchange*) of the R software. A model based on the AAPH series was adapted for the 1966–2019 period and validated with data from 2018 and 2019. The series presents five periods of trend structural changes of AAPH: 1966–1985; 1986–1995; 1996–2003; 2004–2008; and 2009–2019. The best estimated model without intervention was ARIMA (1, 1, 1) and the best model with intervention was ARIMA (1, 1, 0), which indicates that the prices of previous years can explain the AAPH. The predictions had a mean absolute percentage error (MAPE) of 8.16 % for the model without intervention and 4.02 % for the model with intervention. Both estimated models suggested that the AAPH have an upward trend in the medium term. The ARIMA model with intervention provided a more accurate estimation of the AAPH and information to plan and make decisions for the next five years.

**Keywords:** ARIMA models, intervention models, beekeeping, livestock planning, predictions.

### INTRODUCTION

Beekeeping in Mexico, as a generator of foreign currency, ranks among the top three activities in the livestock sector. The economic income of this activity mainly benefits

**Citation:** Luis-Rojas S, García-Sánchez RC, García-Mata R, Arana-Coronado OA, Ramírez-Valverde B. 2022. Intervention and forecast models for the price paid to producers of bee (*Apis mellifera* L.) honey in Mexico.

*Agrociencia*. 56(3): 638-668. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i3.2807>

**Editor in Chief:**  
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: August 10, 2021.  
Approved: May 16, 2022.

**Published in *Agrociencia*:**  
June 07, 2022.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International license.



small producers (Dolores *et al.*, 2017). The main product of this activity is honey, which is one of the oldest foods that humans have used to nourish. Additionally, it has been used since ancient times as a beneficial health product, due to its well-known healing properties (Ramos and Pacheco, 2016).

The domestic production of bee (*Apis mellifera* L) honey decreased from 55 687 Mg in 2010 to 54 121 Mg in 2020; an average annual growth rate (AAGR) of  $-0.31\%$  was recorded (SIAP, 2019). The decrease is associated with climate change, deforestation, and the use of herbicides and insecticides in agricultural plots. Large drought periods, erratic rainfall, and the lack of organization among producers contribute greatly to the downward trend (Magaña *et al.*, 2016).

In 2020, the world production of natural honey was 1 724 195 Mg. Mexico (54 121 Mg), China (447 007 Mg), Turkey (109 330 Mg), and Canada (80 345 Mg) accounted for 3.60, 25.9, 6.3, and 4.6 % respectively of the total production (FAO, 2020). Mexico was the tenth world producer.

China is the first world producer of honey, as a result of the drastic increase in the population of hives, which are used for honey production. However, they also pollinate cotton, rapeseed, buckwheat, apples, citrus, sunflower, vetches, and other crops, whose production volumes significantly increased in the 2000–2011 period. Beekeeping in China has been developed to the point that the country is now the largest exporter in the world, as a result of the low prices it offers (Martínez and Pérez, 2013). However, consumers from importing countries report that Chinese honey lacks safety and traceability (Maté, 2012).

Honey production in Mexico depends on several factors, including floral characteristics, soil, and climate. The Coordinación General de Ganadería of the Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER) classifies beekeeping activity into five production regions: North, Pacific Coast, Gulf of Mexico, Altiplano, and Yucatan Peninsula (Martínez and Pérez, 2013). From highest to lowest, the honey production (2020) in these regions was divided as follows: Pacific Coast (39.10 %), Yucatan Peninsula (24.09 %), Altiplano (15.67 %), Gulf of Mexico (10.64 %), and North (10.50 %). There are still vast areas of the country where beekeeping can be promoted; however, Jalisco, Chiapas, Veracruz, and Oaxaca contributed 11.20, 10.04, 8.58, and 8.38 % of the domestic production, respectively (SIAP, 2020).

In 2018, the average volume of honey exports from Mexico was 55 674 Mg, ranking the country as the fourth largest exporter. Mexico is the main supplier of Germany, the largest importer in the world, which applies the highest quality standards (SIAP, 2019). The main destinations of Mexican exports were Germany, United Kingdom, USA, and Saudi Arabia, which together accounted for 90 % (FAO, 2020).

The variability of honey price in Mexico is the consequence of biological and climatic factors (Caro *et al.*, 2012). Nevertheless, it mainly depends on the Chinese production; therefore, determining the behaviour of this variability and how it influences Mexican prices is fundamental. Autoregressive Integrated Moving Average (ARIMA) models are more appropriate for short-term predictions; they are designed to obtain

information about processes that have a certain degree of homogeneity. That is to say, their analysis is based on a stationary series and at least 50 data are needed to achieve a reliable prediction (Box *et al.*, 2015).

Prior knowledge of the time series to be studied is important, since the presence of outliers can produce serious distortions in the results (Segura and Torres, 2014). It is also very likely that they cannot be explained by the ARIMA model and, therefore, violate the assumption of normality. Hence, outliers and structural changes influence the efficiency and goodness of fit of the best proposed ARIMA models.

Economic theory indicates that, in perfect competition, a higher price leads to an increase in supply, while a lower price induces a decrease (Varian, 2010). In the case of honey, the quantity supplied in recent years has not changed (perfectly inelastic supply). Meanwhile, the demand shift, based on the tastes and preferences of the consumer, causes the price to increase. The hypothesis is that honey prices can be explained by prior prices, which influence the increase in the population of hives and the production of honey in Mexico. Under this hypothesis, the objective of this research was to develop time series models from 1966 to 2019, with and without intervention, in order to forecast the average prices of honey (AAPH) in Mexico and to evaluate the functionality of the models.

## MATERIALS AND METHODS

In order to determine the behaviour of the average prices paid to the producer of bee (*Apis mellifera* L.) honey in Mexico (AAPH) and to develop forecasts, an annual historical series of prices, expressed in Mexican pesos (MXN \$ kg<sup>-1</sup>), was used, consulting the Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2020) and the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO, 2020). The AAPH time series was divided into two parts: data from 1966 to 2019 were used to develop the time series models, with and without intervention; and price data from 2018 and 2019 were used to validate the models.

Assuming that  $Y' = (Y_1, Y_2, \dots, Y_n)$  is a time series, a pure ARIMA model is mathematically denoted as  $(p, d, q)$  and is expressed as follows:

$$W_t = \mu + \frac{\theta(B)}{\phi(B)} \alpha_t$$

where:  $t$  = indexes time;  $W_t$  = is the response series  $Y_t$  or a difference of the response series;  $\mu$  = is the mean term;  $B$  = is the backshift operator, that is  $(B^r Y_t = Y_{t-r})$ ;  $\phi(B)$  is the autoregressive polynomial (AR) of order " $p$ ", developed as follows:  $\phi(B) = 1 - \phi_1 B - \phi_2 B^2 - \dots - \phi_p B^p$ ;  $\theta(B)$  = is the polynomial of moving averages (MA) of order " $q$ ", where:  $\theta(B) = 1 - \theta_1 B - \theta_2 B^2 - \dots - \theta_q B^q$ ;  $\alpha_t$  = refers to random error terms (also called white noise), random variables independently distributed in an identical way, sampled from a distribution with preferably mean equal to zero and variance  $\alpha_t \sim N(0, \delta^2)$  (Box *et al.*, 2015).

The inclusion of the effects of exogenous variables (intervention variables) in the general ARIMA model is achieved through the following transfer function:

$$W_t = \mu + \sum_i \frac{\omega_i(B)}{\delta_i(B)} B^{k_i} X_{i,t} + \frac{\theta(B)}{\phi(B)} \alpha_t$$

where:  $X_{i,t}$  is the  $i$ -th input time series or a difference of the series of  $i$ -th input at time  $t$ ;  $k_i$  is the pure time lag for the effect of the  $i$ -th input series;  $\omega_i(B)$  is the numerator polynomial of the transfer function for the  $i$ -th input series; and  $\delta_i(B)$  is the denominator polynomial of the transfer function for the  $i$ -th input series. In the intervention analysis, some of the  $X_{i,t}$  variables are assumed to be binary variables that play the same role as the dummy variables in the regressions; therefore, the  $X_{i,t}$  series are known as intervention indicators or outliers (Ferruz *et al.* 2011).

If the intervention is recurrent in some type of event at a certain moment in time, it can manifest itself in a later time, and temporarily or permanently affect the series under study.

For the analysis and treatment, PROC ARIMA of SAS® software, version 9.4, was used (SAS Institute Inc., 2014). The ARIMA model of the AAPH series for the 1966–2019 period was estimated using the methodology proposed by Box *et al.* (2015), which consists of the construction and adjustment of the forecast model. Meanwhile, the R program, version 3.6.2 (R Core Team, 2019) was used to determine the structural change of level, with the corresponding library (*strucchange*) developed by Zeileis *et al.* (2019).

The choice of the best model with and without intervention was parsimoniously suggested by Rodríguez *et al.* (2017), through the Akaike Information Criterion (AIC) and the Schwarz Bayesian Criterion (SBC) that compare the goodness of fit of the different models. Both criteria are based on the use of the sum of squared errors and seek to minimize it, based on various combinations of  $p$  and  $q$ . Lower AIC and SBC values indicate a better fit to the model. The aim of the graphical analysis was to identify the best model in which, in addition to reducing the mean squared error, the residuals were randomly distributed around zero without showing any pattern or trend. This is an indicator that the data are random and have a normal distribution (Moffat and Akpan, 2019).

## RESULTS AND DISCUSSION

The AAPH series data fluctuated over time, following an upward trend. The results of the structural change analysis showed that the trend of the series presents structural changes and that these had an impact on the evolution over time of the data generation process. A trend break of the AAPH occurred in five periods. The first (1966–1985) was characterized by the existence of tariffs on food imports. During this period, prices presented a 19.27 % AAGR. Tariffs protected domestic production from international competition and they were the basis of the food supply for the population (CEDRSSA, 2018).

From 1986 to 1995, Mexican beekeeping suffered a major setback due to the entry of the African bee (*Apis mellifera scutellata*) through the states of Chiapas and Quintana Roo. In 1986, the Africanization process began to affect honey production in the states of Yucatan and Campeche. African bees are characterized by their defensive behaviour, their tendency to take flight, and their high capacity to build swarms or hives. Their beekeeping requires a more technical management and their exploitation demands a greater investment (Cervantes *et al.*, 2018).

In 1988, hurricane Gilberto caused a considerable loss of hives and wild swarms in the Yucatan Peninsula, reducing honey production. This generated a constant rise in prices (AAGR: 17.66 %) during the 1986–1995 period.

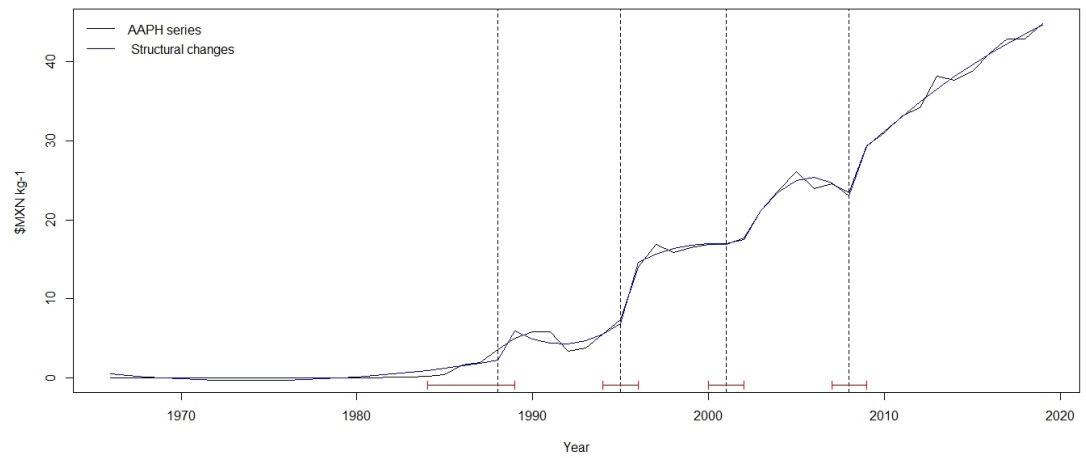
During the 1996–2003 period, the Africanization of hives resulted in a decrease in production in Mexico, South America, and the southern United States. Meanwhile, the appearance in the Gulf of Mexico (and subsequent dispersion) of the varroa mite (*Varroa jacobsoni Oudemans*), which parasitizes *Apis mellifera* bees (Medina *et al.*, 2014), generated a fall in honey production and, consequently, an increase in honey prices to a 6.02 % AAGR.

From 2004 to 2008, there was a decrease in honey production, as a result of hurricanes Wilma and Dean, which mainly affected southeastern Mexico and the Yucatan Peninsula (the most important production regions), causing a partial or total loss of hives. Other problems were the lack of water in other production regions, bee health, reduction of wild areas due to urbanization, and the use of pesticides and agrochemicals that affect bees (Martínez and Pérez, 2013). Consequently, prices fell to a -0.33 % AAGR.

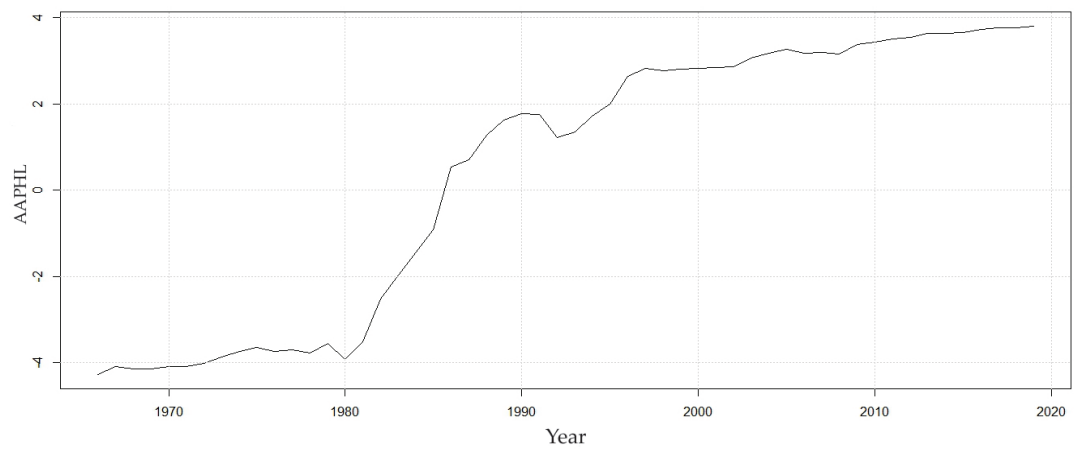
In the 2009–2019 period, prices increased to a 4.31 % AAGR, largely as a result of the awareness of society about the preservation of bees and pollinating species. The most lucrative and attractive market for Mexico is the European Union, which demands organic and transgenic-free honey produced without pollutants; consequently, Mexican honey has positioned itself as a highly appreciated product and the price trend is upward in the medium term (Figure 1).

The Cox-Box test produced a  $\lambda=0.5$ , so the AAPH series was transformed into natural logarithms to keep the variance constant (Vélez *et al.*, 2015); now the series was renamed AAPHL. Series  $Y_1, Y_2, \dots, Y_n$  show that there is still a certain trend in time (Figure 2), but, through the first difference ( $\nabla$ ) —*i.e.*,  $(1-B) AAPHL_t$ — a stationary series is obtained. Therefore,  $d = 1$ .

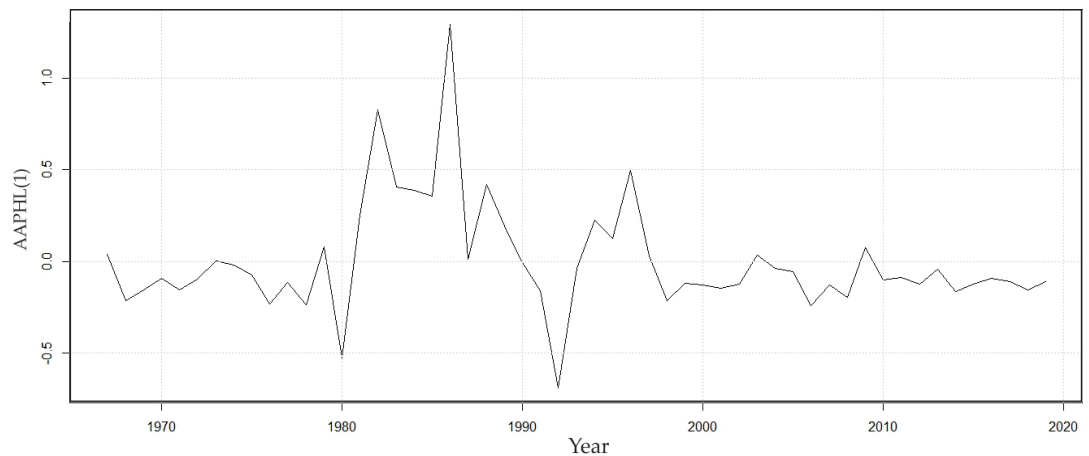
The AAPH series, differentiated and transformed into natural logarithms, was renamed AAPHL (1); it is intuitively known *a priori* that the series already has a stationary mean (there is no trend) and variance. However, outliers were recorded in 1979, 1981, 1985, and 1991. Therefore, working the series with two methods (with and without intervention) was necessary. Box *et al.* (2015) pointed out that, in order to obtain better forecasts, the series to be studied must have a constant variability throughout time and must not have a trend (Figure 3).



**Figure 1.** Original behaviour of the AAPH series (in MXN \$ kg<sup>-1</sup>) and its structural changes (1966 – 2019).



**Figure 2.** Behaviour of the AAPH series transformed into natural logarithms (AAPHL).



**Figure 3.** Differentiated AAPHL series, transformed with natural logarithms and with no apparent trend.

To statistically verify the stationarity or non-stationarity of the time series, the Augmented Dickey-Fuller unit root test (ADF) was carried out (Dickey and Fuller, 1981). This test includes lags from the first  $Y_t$  difference in the test regression, in order to include the possible existence of serial autocorrelation. Therefore, the following hypothesis is proposed:  $H_0$ , the series is not stationary ( $\rho = 1$ ) and has a unit root *vs.*  $H_a$ , the series is stationary ( $\rho \neq 1$ ) and does not have a unit root. Decision rule:  $H_0$  is rejected if  $p\text{-value} \leq \alpha = 0.05$ . Since the  $p$ -value of the calculated F (0.001) is lower than  $\alpha = 0.05$ , the null hypothesis is rejected  $H_0: \delta 0 (\rho = 1)$ , reaching the conclusion that AAPHL(1) series does not have a unit root; therefore, it is stationary. Consequently, it have a constant variance and mean over time (Table 1).

For the AAPHL(1) time series, a model was fitted using the PROC ARIMA process (SAS Institute Inc., 2014); the AR1,1 ( $\phi_1$ ) and the moving average component MA1,1 ( $\theta_1$ ) parameters were calculated using maximum likelihood. Because this method assumes that its estimators are asymptotically optimal, when the size of the series is large, they are considered to be centered or unbiased, and efficient, and that their distribution is normal (Montemayor, 2013).

Out of the 15 proposed models, the one that best meets the significance of parameters and white noise was identified. The AR and MA coefficients were chosen because the ACF (Autocorrelation Function) and PACF (Partial Autocorrelation Function) simultaneously present coefficients other than zero. Likewise, they were estimated considering different choices of  $p$  and  $q$ , as well as the values of SBC, AIC, and the variance  $\delta_\epsilon^2$  for the four best ARIMA models fitted to the AAPHL(1) series.

The first difference is often enough ( $d = 1$ ); therefore, it was established in all models. The model with the lowest SBC and AIC value for this data set was ARIMA (1, 1, 1) (Table 2).

The ARIMA (1, 1, 1) model is considered the best moderate model without intervention, since, according to Box *et al.* (2015), the absolute t statistic must be higher than 2 and the  $p$ -values of the parameters must be lower than 0.05. Not only is this model parsimonious, it sufficiently fits the old data (Table 3).

For the calculation, the equation of the ARIMA (1, 1, 1) model must be supported by the coefficients in Table 3 (without including the outliers) and by the theoretical

**Table 1.** Augmented Dickey-Fuller test (ADF) for the differentiated series of logarithms of annual average prices of honey in Mexico (AAPHL(1)).

| Kind        | Lags | Rho      | Pr < Rho | Tau   | Pr < Tau | F     | Pr > F |
|-------------|------|----------|----------|-------|----------|-------|--------|
| Zero mean   | 0    | -25.8205 | <.0001   | -4.12 | <.0001   |       |        |
|             | 1    | -14.5181 | 0.0058   | -2.64 | 0.0092   |       |        |
|             | 2    | -11.4307 | 0.0153   | -2.2  | 0.0283   |       |        |
| Simple mean | 0    | -32.2686 | 0.0005   | -4.74 | 0.0003   | 11.22 | 0.001  |
|             | 1    | -21.1904 | 0.0042   | -3.16 | 0.0282   | 4.99  | 0.0418 |
|             | 2    | -18.8792 | 0.0087   | -2.71 | 0.0792   | 3.67  | 0.1653 |

**Table 2.** Values of AR, MA, SBC, and AIC of the identified ARIMA models ( $p, 1, q$ ) and estimators for  $\delta_{\epsilon}$ .

| Best ARIMA <sup>†</sup> models | Lags |    | Coefficients               |                            | SBC <sup>b</sup> | AIC <sup>c</sup> | $\delta_{\epsilon}$ |
|--------------------------------|------|----|----------------------------|----------------------------|------------------|------------------|---------------------|
|                                | AR   | MA | AR1,1 <sup>‡</sup> ( $p$ ) | MA1,1 <sup>§</sup> ( $q$ ) |                  |                  |                     |
| 1.- (1, 1, 0)                  | 1    |    | 0.49727                    | -                          | 23.75236         | 21.78207         | 0.293619            |
| 2.- (1, 1, 1)                  | 1    | 1  | 0.82419                    | 0.46266                    | 23.67558         | 19.73499         | 0.285018            |
| 3.- (2, 1, 1)                  | 2    | 1  | 0.37660                    | -0.36982                   | 25.32337         | 21.38279         | 0.289676            |
| 4.- (1, 1, 2)                  | 1    | 2  | 0.42923                    | -0.15275                   | 26.26991         | 22.32933         | 0.292387            |

<sup>†</sup>ARIMA: Autoregressive Integrated Moving Average process, <sup>‡</sup>AR: Autoregressive coefficient of order ( $p$ ), <sup>§</sup>MA: Moving average coefficient of order ( $q$ ), <sup>b</sup>SBC: Schwarz Bayesian Criterion, AIC: Akaike Information Criterion.  $\delta_{\epsilon}$ : Standard error of estimate.

**Table 3.** Model estimation for the AAPHL(1) time series by maximum likelihood without intervention.

| Parameter | Estimation | Standard error | t-value | Aprox Pr >  t | Lag |
|-----------|------------|----------------|---------|---------------|-----|
| MA1,1     | 0.46266    | 0.21077        | 2.20    | 0.0282        | 1   |
| AR1,1     | 0.82419    | 0.13183        | 6.25    | <0.0001       | 1   |

approach established by Box *et al.* (2015). The following equation was obtained when the model was developed:

$$\text{ARIMA (1,1,1)} = (1 - \phi_1 B_1) (1 - B_1) Y_t = (1 - \theta_1 B_1) \alpha_t$$

$$\text{ARIMA (1,1,1)} = Y_t = Y_{t-1} + \phi_1 Y_{t-1} - \phi_1 Y_{t-2} - \theta_1 \alpha_{t-1} + \alpha_t$$

$$\text{ARIMA (1,1,1)} = Y_t = Y_{t-1} + 0.82419 Y_{t-1} - 0.82419 Y_{t-2} - 0.46266 \alpha_{t-1} + \alpha_t$$

### The ARIMA (1, 1, 1) model with intervention

Because the study series included level shift (LS) outliers in 1979, 1981, 1985, and 1991, these data were included into the the original ARIMA (1, 1, 1) model in order to improve it. To respect the assumption of parsimony and the significant statistical value of the parameters, this new model is known as the model with intervention (Box *et al.*, 2015). The results showed that the moving average coefficient was not significant; consequently, the ARIMA (1, 1, 0) model with intervention was chosen. In addition to a significant coefficient, there was a significant decrease in the standard error (51.38 %), compared to the ARIMA (1, 1, 1) model without intervention (Table 4).

The ARIMA (1, 1, 0) model was considered the best moderate model with intervention, since —in addition to meeting the assumptions made by the Box-Jenkins methodology— it includes outlier data (Table 5).

**Table 4.** AR, MA, SBC, and AIC values of the identified ARIMA models with intervention  $(p, 1, q)$  and estimators for  $\delta_\epsilon$ .

| Best ARIMA <sup>†</sup> models | Lags |    | Coefficients               |                            | SBC <sup>b</sup> | AIC <sup>c</sup> | $\delta_\epsilon$ |
|--------------------------------|------|----|----------------------------|----------------------------|------------------|------------------|-------------------|
|                                | AR   | MA | AR1,1 <sup>¶</sup> ( $p$ ) | MA1,1 <sup>§</sup> ( $q$ ) |                  |                  |                   |
| 1.- (1, 1, 1) <sup>†a</sup>    | 1    | 1  | 0.82419                    | 0.46266                    | 23.67558         | 19.73499         | 0.285018          |
| 2.- (1, 1, 1) <sup>†b</sup>    | 1    | 1  | 0.88111                    | 0.25647                    | -38.3316         | -52.1237         | 0.137813          |
| 3.- (1, 1, 0) <sup>†c</sup>    | 1    | 0  | 0.79943                    | -                          | -40.6168         | -52.4386         | 0.138568          |

<sup>†</sup>ARIMA: Autoregressive Integrated Moving Average Process, <sup>†a</sup> ARIMA (1, 1, 1) model without intervention, <sup>†b</sup> ARIMA (1, 1, 1) model with intervention, <sup>†c</sup> ARIMA (1, 1, 0) model with intervention  
<sup>¶</sup>AR: Autoregressive coefficient of order ( $p$ ), <sup>§</sup>MA: Moving average coefficient of order ( $q$ ), <sup>b</sup>SBC: Schwarz Bayesian Criterion, <sup>c</sup>AIC: Akaike Information Criterion.  $\delta_\epsilon$ : Standard error of estimate.

**Table 5.** Model estimation for the AAPHL(1) time series by maximum likelihood with intervention.

| Parameter | Estimator | Standard error | Value of $t$ | Aprox. Pr > $ t $ | Lag | Variable | Displacement |
|-----------|-----------|----------------|--------------|-------------------|-----|----------|--------------|
| AR1,1     | 0.79943   | 0.08486        | 9.42         | <.0001            | 1   | AAPHLog  | 0            |
| NUM1      | -0.68236  | 0.10721        | -6.36        | <.0001            | 0   | LS_15    | 0            |
| NUM2      | 0.51015   | 0.10722        | 4.76         | <.0001            | 0   | LS_17    | 0            |
| NUM3      | 1.11607   | 0.10796        | 10.34        | <.0001            | 0   | LS_21    | 0            |
| NUM4      | -0.58917  | 0.10724        | -5.49        | <.0001            | 0   | LS_27    | 0            |
| NUM5      | 0.42211   | 0.10733        | 3.93         | <.0001            | 0   | LS_31    | 0            |

The equation of the ARIMA (1, 1, 0) model with intervention is expressed as:

$$Y_t = -0.68236\xi_{1t} + 0.51015\xi_{2t} + 1.11607\xi_{3t} - 0.58917\xi_{4t} + 0.42211\xi_{5t} + \frac{(1-0.79943B_1)}{\alpha_t}$$

$$\xi_{1t} = 1 \text{ si } t \geq 15 \text{ or other wise}$$

$$\xi_{2t} = 1 \text{ si } t \geq 17 \text{ or other wise}$$

$$\xi_{3t} = 1 \text{ si } t \geq 21 \text{ or other wise}$$

$$\xi_{4t} = 1 \text{ si } t \geq 27 \text{ or other wise}$$

$$\xi_{5t} = 1 \text{ si } t \geq 31 \text{ or other wise}$$

To verify the overall sufficiency of the Box-Jenkins model, the residuals obtained from the models without and with intervention were analysed. The Ljung-Box  $Q^+$  (LBQ) statistic and its associated  $p$ -value proved the  $H_0: \epsilon_t \sim RB(0, \sigma^2)$  null hypothesis. The autocorrelations up to a lag  $k$  are equal to zero for  $k$  values equal to 6, 12, 18, 24, and 30. The random and independent data values —up to a certain number of lags— vs. the  $H_a: \epsilon_t$  are not white noise. Abdulhafedh (2017) suggest that, if the Ljung-Box  $Q$  (LBQ) statistic is higher than a specified critical value, the autocorrelations for one or more lags could be significantly different from zero, indicating that the values are neither random nor independent in time.

The decision rule is the following: if the  $p$ -value  $< 0.05$ ,  $H_0$  is rejected, but if the  $p$ -value  $> 0.05$ ,  $H_0$  is not rejected. The first 6  $k$  have  $p$ -values  $> 0.05$ ; therefore,  $H_0: \rho_1 = \rho_2 = \rho_3 = \rho_4 = \rho_5 = \rho_6$  is not rejected. An  $\alpha=0.05$  value means that the process is purely random or white noise — this is, the residuals have a mean equal to zero. Therefore, a  $\sigma^2 = 0.01668$  constant variance means that there is no longer information about the dependence of some data on others over time (Table 6).

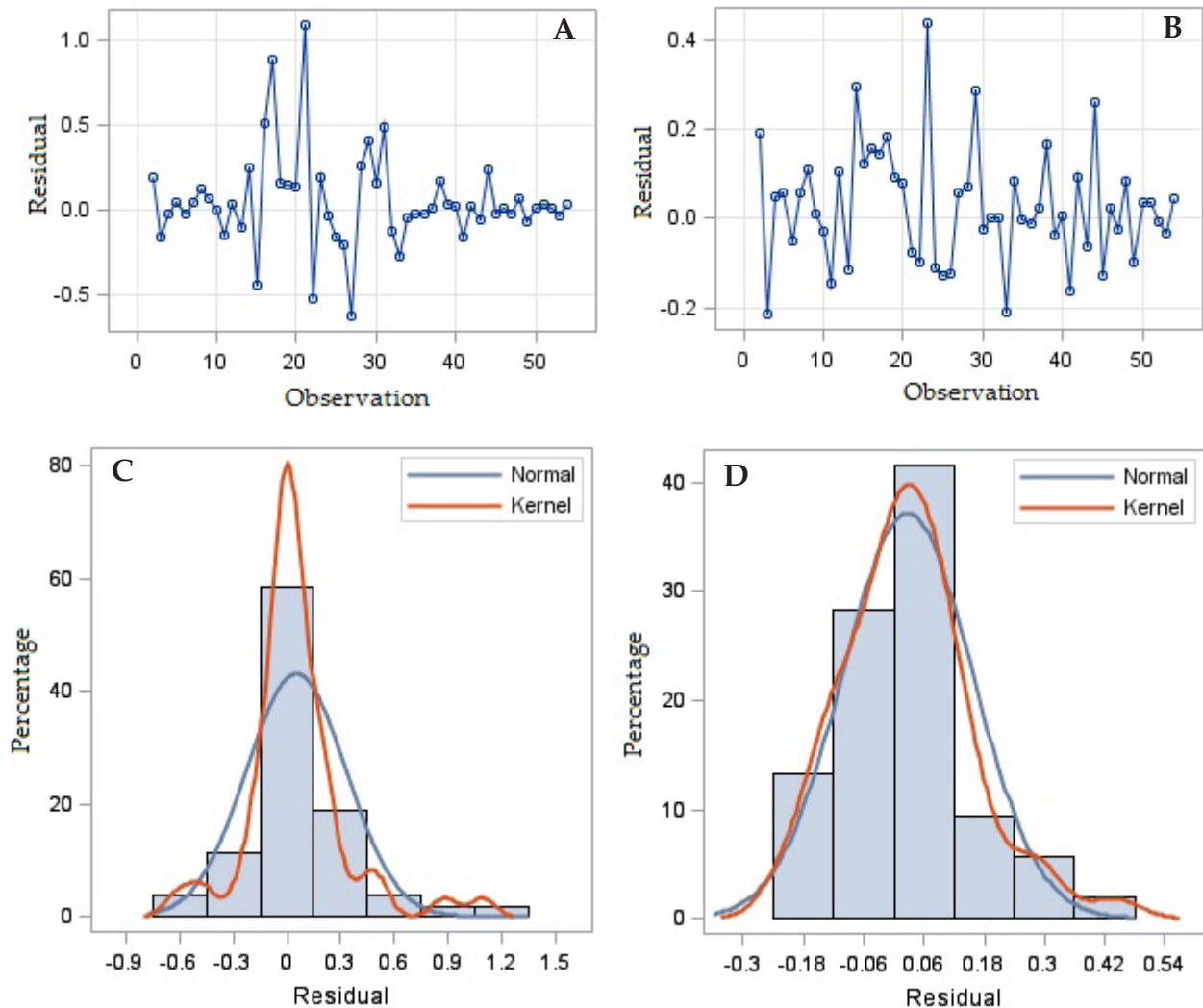
After estimating the parameters of both models, they were validated by residual analysis (Yafee and McGee, 2000). The estimated standardized residuals of these models should behave as an independent and identically distributed sequence, with a mean equal to zero and constant variance. However, the residuals of the model without intervention still present outliers in the  $\pm 0.5$  band, a sign that this model is being affected by outliers (Figure 4A). When the intervention is included in the model, the residuals oscillate by  $\pm 0.2$ , substantially improving the mean and constant variance (Figure 4B). The distribution of residuals without intervention approximates a normal slightly left-skewed leptokurtic distribution (Figure 4C). The model with intervention approximates a normal distribution, which indicates a great affinity of the data, regardless of their magnitude (Figure 4D).

The ACF of the residuals of the ARIMA (1, 1, 1) model showed data that fell outside the confidence band, a sign that there is still data dependency that can be modeled (Figure 5A). The ACF of the residuals of the ARIMA (1, 1, 0) model with intervention shows that the autocorrelations fall within the confidence band (this is, they are close to zero). Consequently, the residuals did not show a significant deviation from a process of zero white noise and are random. Therefore, there is no longer information about the dependence of some data on others over time (Figure 5B).

The models estimated with and without intervention were used to make out-of-sample predictions for the seven years following the last observation and to predict the monthly AAPH values for the years 1967 to 2019 with great accuracy regarding the observed values; these values are located within the confidence band ( $\pm 95\%$  estimate). According to the model estimation, the average prices of honey in Mexico paid to the producer in the medium term will have an upward behaviour and an average annual growth rate (AAGR) of 1.33%. The AAPHs will range from MXN \$ 46.69 to MXN \$

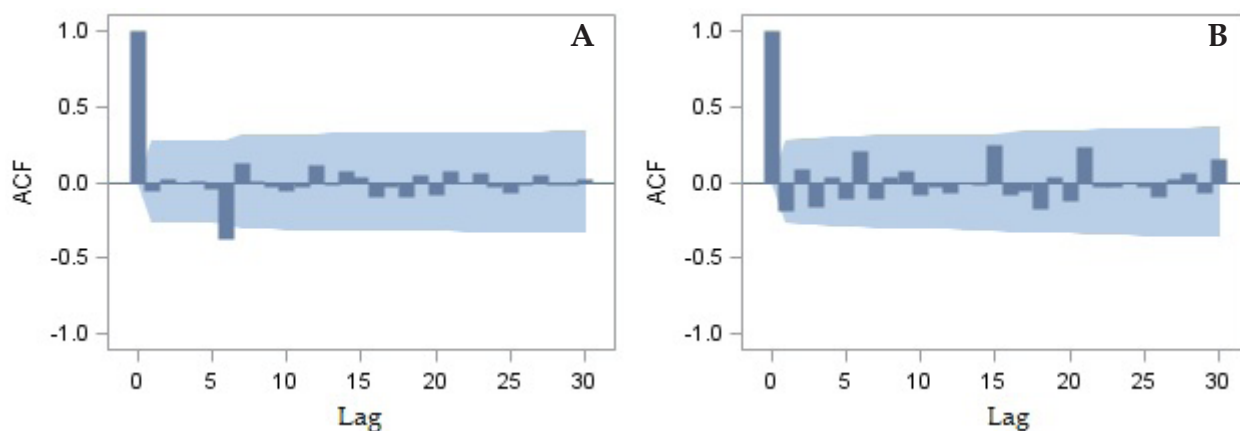
**Table 6.** Verification of autocorrelation of white noise in the residuals of the AAPHL(1) series with intervention.

| To lag | Chi-squared | DF | Pr > ChiSq | Autocorrelations |        |        |        |        |        |
|--------|-------------|----|------------|------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 6      | 7.65        | 6  | 0.2652     | -0.195           | 0.082  | -0.165 | 0.036  | -0.115 | 0.207  |
| 12     | 9.81        | 12 | 0.6326     | -0.116           | 0.036  | 0.075  | -0.086 | -0.029 | -0.065 |
| 18     | 17.97       | 18 | 0.4576     | -0.001           | -0.015 | 0.250  | -0.080 | -0.064 | -0.174 |
| 24     | 24.51       | 24 | 0.4326     | 0.039            | -0.120 | 0.232  | -0.037 | -0.030 | -0.009 |
| 30     | 30.07       | 30 | 0.4623     | -0.036           | -0.100 | 0.022  | 0.065  | -0.071 | 0.159  |

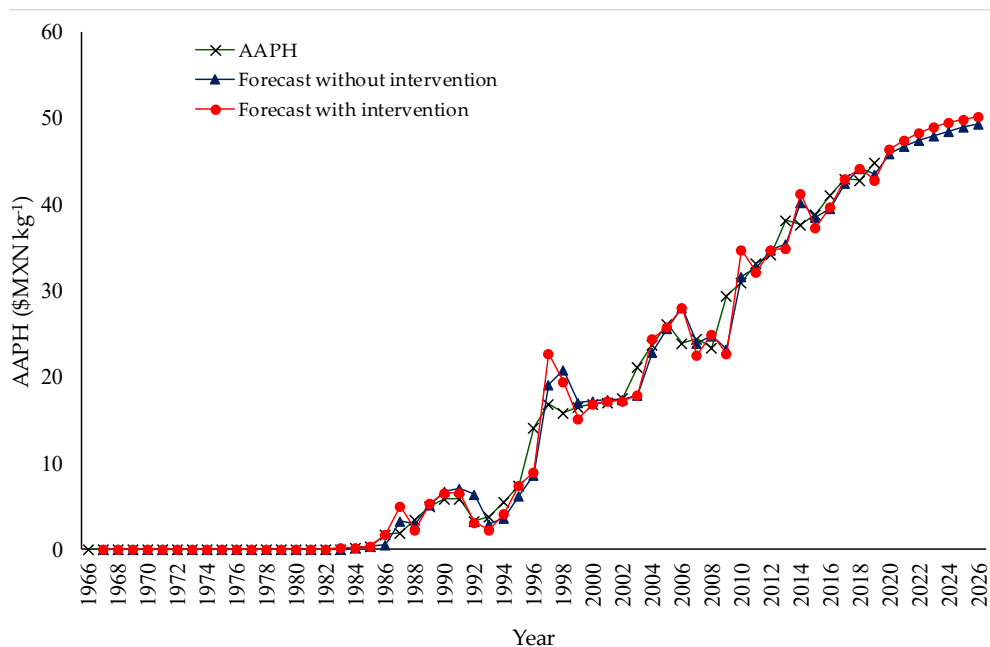


**Figure 4.** Graphical diagnostics used to evaluate the fit of the ARIMA (1, 1, 1) and ARIMA (1, 1, 0) models, based on the standardized residuals. A: Residuals of the model without intervention; B: Residuals of the model with intervention; C: Distribution of residuals without intervention; D: Distribution of residuals with intervention.

49.25 according to the ARIMA model without intervention. With the ARIMA model that includes the outliers, the AAPHS will fluctuate between MXN \$ 47.49 and MXN \$ 50.15. These results match the findings of Ramos and Pacheco (2016), who pointed out that the beekeeping sector is increasingly specialized and constantly improves the product, adding and diversifying value and, therefore, obtaining better international prices for honey. However, this implies greater incentives to marketers-exporters. In contrast, although the prices paid to producers have increased in recent years, they have not increased in the same proportion (Figure 6).



**Figure 5.** Graphical diagnostics used to evaluate the fit of the ARIMA (1, 1, 1) and ARIMA (1, 1, 0) models, based on the ACF of the residuals. A: Without intervention; B: With intervention.



**Figure 6.** Average honey prices (observed and forecasted) paid to producers in Mexico, 2019 (MXN \$ kg<sup>-1</sup>). They were obtained through the ARIMA (1, 1, 1) and ARIMA (1, 1, 0) models with intervention, based on information provided by SIAP (2020) and FAO (2020).

With the ARIMA models without and with intervention, the AAPHS were forecasted for the 1967-2019 period and these prices were compared with those of the AAPH series. The predictions had a mean absolute percentage error (MAPE) of 8.16 % for the model without intervention and 4.02 % for the model with intervention. This indicates that the second model, which included the outliers with special treatment that improve the statistical fit of the studied time series, improved the predictions of honey prices.

Compared to the ARIMA methodology, some research about vanilla production prediction in Mexico provided models with a 91.68 % forecast accuracy; Luis-Rojas *et al.* (2020), for example, reported an ARIMA (1, 1, 1) structure similar to the one proposed here.

Other production and price prediction models, which contemplate both ARIMA and SARIMA structures, are used to forecast white egg prices to Mexican producers, as well as the prices of vanilla and pork. Barreras-Serrano *et al.* (2014) and Luis-Rojas *et al.* (2019) point out that this methodology is only useful to establish short-term forecasts, suggesting that a greater accuracy could be achieved through the inclusion of exogenous variables through transfer function models; they also propose the use of multivariate models for long term forecasts.

Ruiz *et al.* (2019) used a SARIMA (2, 1, 0) X (1, 1, 0)<sub>s=12</sub> model to make a 12-month forecast of the apple price, concluding that future apple prices show an upward trend. However, the authors suggest considering the limitation of the prediction, since the economic dynamics of prices will always be complex. Nevertheless, prediction can be a useful tool for decision-making.

Finally, the estimation of a unique and universally accepted model to understand the future prices of bee honey in Mexico is unrealistic and perhaps unnecessary since the international market demands honey from different blooming fields and regions. Therefore, the statistical agencies should provide increasingly specific information. However, this ARIMA (1, 1, 0) model with intervention explains, to a large extent, the panorama of the prices paid to honey producers in Mexico. In coincidence with the structure of the studied series, it can be understood and analysed, because it is well specified.

## CONCLUSIONS

The series presents five structural changes with a trend break of the AAPHs (1966–1985, 1986–1995, 1996–2003, 2004–2008, and 2009–2019), explained by the protection of the domestic market, the Africanization of hives, the presence of varroa, extreme climatic factors (hurricanes, droughts, etc.), and the appreciation of pollutant-free, organic, and transgenic-free honey in the foreign market.

The inclusion of outliers in the ARIMA model, which reduced the variance from 0.08123 to 0.01920, resulted in a better prediction of the AAPH than the univariate ARIMA model without intervention.

The short-term predictions of the study series showed an 8.16 % and 4.02 % difference from the data observed with the ARIMA model without intervention and with intervention, respectively; in both cases the random error was minimized. The two models proposed explain the AAPH in Mexico, based on the AAPH from a previous period, which showed an upward trend in the medium term. Therefore, the demand displacement, based on the tastes and preferences of the consumer, explains the increase in prices, although the supply increase has not been a major factor, because the quantity produced has practically been very similar in the last 20 years.

## ACKNOWLEDGMENTS

This research was included in the Línea de Generación y Aplicación del Conocimiento (LGAC) - Economía Agrícola y Política Pública of the Posgrado en Socioeconomía, Estadística e Informática-Economía, Colegio de Postgraduados. The authors would like to thank the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) of Mexico for the Sc.D. scholarship granted to Samuel Luis-Rojas. This research was funded with the resources that the Colegio de Postgraduados Campus Montecillo assigns to the first author as part of his Sc.D. studies

## REFERENCES

- Abdulhafedh A. 2017. How to detect and remove temporal autocorrelation in vehicular crash data. *Journal of Transportation Technology* 7 (2): 133–147. <https://doi.org/10.4236/jtts.2017.72010>
- Barreras-Serrano A, Sánchez-López E, Figueroa-Saavedra F, Olivas Valdez JA, Pérez-Linares C. 2014. Uso de un modelo univariado de series de tiempo para la predicción, en el corto plazo, del comportamiento de la producción de carne de bovino en Baja California, México. *Veterinaria México* 45 (spe): 1–9.
- Box, GE, Jenkins GM, Reinsel GC, Ljung GM. 2015. *Time series Analysis: Forecasting and Control*. 5th ed. John Wiley & Sons Inc: Hoboken, NJ, USA. 712 p.
- Caro-Encalada MJ, Leyva-Morales CE, Chi-Tuz M. 2012. Comercialización de miel en el municipio de Espita, Yucatán. *Revista de Economía* 29 (78): 9–35. <https://doi.org/10.33937/reveco.2012.29>
- CEDRSSA (Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria). 2018. La dependencia alimentaria de México. [http://www.cedrssa.gob.mx/post\\_la\\_dependencia\\_n-alimentaria-n\\_de\\_n-mn-xico-n.htm](http://www.cedrssa.gob.mx/post_la_dependencia_n-alimentaria-n_de_n-mn-xico-n.htm) (Retrieved: February 2021).
- Cervantes-Sánchez JM, Román de Carlos AM, Velázquez-Camacho BL. 2018. Evolución de la producción apícola en México (1521-2010). In *Avances de la investigación sobre producción animal y seguridad alimentaria en México*. Herrera CJ, Chay CAJ, Casanova LF, Piñeiro VAT, Marquez BL, Santillan FE, Arce MJ (eds.). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo: Morelia, Michoacán, México. pp: 782–786.
- Dickey AD and Fuller WA. 1981. Likelihood ratio statistics for autoregressive time series with a unit root. *Econometrica Journal of the Econometric Society* 49 (4): 1057–1072. <https://doi.org/10.2307/1912517>
- Dolores-Mijangos G, Santiago-Cruz MJ, Arana-Coronado JJ, Utrera-Quintana F. 2017. Estudio del impacto de la actividad apícola en el Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, México. *Agricultura Sociedad y Desarrollo* 14 (2): 187–203. <https://doi.org/10.22231/asyd.v14i2.588>
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2020. Precios al productor. Roma, Italia. <https://www.fao.org/faostat/es/#data/PP> (Retrieved: February 2021).
- Ferruz-Agudo L, Marco-Sanjuan I, Knebel-Baggio D. 2011. Análisis de intervención de las series temporales patrimonio y flujo neto de dinero de los Fondos de Inversión Socialmente Responsables (FISR) de Brasil. *Contabilidad y Negocios* 6 (12): 26–35.
- Luis-Rojas S, Ramírez-Valverde B, Díaz-Bautista M, Pizano-Calderón J, Rodríguez-López C. 2020. La producción de vainilla (*Vanilla planifolia*) en México: análisis y pronóstico. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 11 (1): 175–187. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i1.2065>
- Luis-Rojas S, García-Sánchez RC, García-Mata R, Arana-Coronado OA, González-Estrada A. 2019. Metodología Box - Jenkins para pronosticar los precios de huevo blanco pagados al productor en México. *Agrociencia* 53 (6): 911–925.
- Magaña-Magaña MA, Tavera-Cortés ME, Salazar-Barrientos LL, Sanginés-García JR. 2016. Productividad de la apicultura en México y su impacto sobre la rentabilidad. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 7 (5): 1103–1115.
- Martínez-González EG, Pérez-López H. 2013. La producción de miel en el trópico húmedo de México: avances y retos en la gestión de la innovación. UACH-CIESTAAM. Texcoco, Estado de México, México. 102 p. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.2595.6325>
- Maté V. 2012. China invade el mercado con miel a bajo precio. *Nota periodística*. El País. Economía. Madrid, España. 8 julio 2012. [https://elpais.com/economia/2012/07/08/actualidad/1341776471\\_952938.html](https://elpais.com/economia/2012/07/08/actualidad/1341776471_952938.html) (Retrieved: February 2021).

- Medina-Flores CA, Guzmán-Novoa E, Hamiduzzaman MM, Aréchiga-Flores CF, López-Carlos MA. 2014. Africanized honey bees (*Apis mellifera*) have low infestation levels of the mite *Varroa destructor* in different ecological regions in Mexico. *Genetic and Molecular Research* 13 (3): 7282–7293. <http://dx.doi.org/10.4238/2014.February.21.10>
- Moffat IU and Akapan EA. 2019. White noise Analysis: A Measure of Time series Model Adequacy. *Applied Mathematics*. 10 (11): 989–1003. <https://doi.org/10.4236/am.2019.1011069>
- Montemayor-Gallegos JE. 2013. Métodos de pronóstico para negocios. Monterrey, Nuevo León, México. 260 p. <http://prod77ms.itesm.mx/podcast/EDTM/P196.pdf> (Retrieved: November 2020).
- R Core Team. 2019. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/> (Retrieved: December 2019).
- Ramos-Díaz AL, Pacheco-López NA. 2016. Producción y comercialización de miel y sus derivados en México: Desafíos y oportunidades para la exportación. Editorial CIATEJ-CONACYT: Mérida, Yucatan, México. 196 p.
- Rodríguez-Castro JH, Correa-Sandoval A, Ramírez-de-León JA, Adame-Garza JA. 2017. Modelización de la captura y fases de desarrollo de la pesquería de la jaiba azul (*Callinectes sapidus*) en la Laguna Madre, Tamaulipas, México. *Ciencia UAT* 12 (1): 96-113.
- Ruiz-Hernández JA, Barrios-Puente G, Gómez-Gómez AA. 2019. Análisis del precio de la manzana mediante un modelo SARIMA. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 10 (2): 225–237. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i2.509>
- SAS Institute Inc. 2014. SAS/ETS® 13.2 User's Guide the ARIMA Procedure. SAS Institute Inc. Cary, NC. USA. 124 p.
- Segura EO y Torres V. 2014. Tratamiento de valores perdidos y atípicos en la aplicación del Modelo Estadístico de Medición de Impacto en un estudio de 90 fincas lecheras en la provincia de Pastaza, Ecuador. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 48 (4): 333–336.
- SIAP (Sistema de Información Agroalimentaria y Consulta). 2019. Panorama agroalimentario 2019. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Ciudad de México, México. 214 p.
- SIAP (Sistema de Información Agroalimentaria y Consulta). 2020. Miel avance mensual de la producción pecuaria. [http://infosiap.siap.gob.mx/repoAvance\\_siap\\_gb/pecAvanceProd.jsp](http://infosiap.siap.gob.mx/repoAvance_siap_gb/pecAvanceProd.jsp). (Retrieved: February 2021).
- Varian H. 2010. Microeconomía Intermedia. Un enfoque actual. 8a Edición. Editorial Antoni Bosch. Barcelona, España. 864 p.
- Vélez JI, Correa JC, Marmolejo-Ramos F. 2015. A new approach to the Box-Cox transformation. *Frontiers in Applied Mathematics and Statistics* 1(12): 1–10. <http://dx.doi.org/10.3389/fams.2015.00012>
- Yafee RA, McGee M. 2000. Introduction to Time series Analysis and Forecasting with applications of SAS and SPSS (ed.). Academic Press: Brooklyn, NY, USA. pp: 83–89.
- Zeileis A, Leisch F, Hornik K, Kleiber C. 2019. Strucchange: An R Package for Testing for Structural Change in Linear Regression Models. <http://www.jstatsoft.org/v07/i02/>. (Retrieved: December 2019).

# MODELO DE INTERVENCIÓN Y PRONÓSTICO DE PRECIOS PAGADOS AL PRODUCTOR DE LA MIEL DE ABEJA (*Apis mellifera* L.) EN MÉXICO

Samuel Luis-Rojas<sup>1</sup>, Roberto Carlos García-Sánchez<sup>1\*</sup>, Roberto García-Mata<sup>1</sup>,  
Oscar Antonio Arana-Coronado<sup>1</sup>, Benito Ramírez-Valverde<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, Posgrado en Socioeconomía, Estadística e Informática-Economía, Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México, C. P. 56230.

<sup>2</sup> Colegio de Postgraduados Campus Puebla, Posgrado en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional, Km 125.5 carretera federal México-Puebla (Boulevard Forjadores de Puebla), Puebla, México, C. P. 72760.

\* Autor para correspondencia: rcgarcia@colpos.mx

## RESUMEN

La miel de abeja (*Apis mellifera* L) es uno de los alimentos más antiguos que el hombre ha aprovechado para nutrirse y se utiliza desde tiempos ancestrales como un producto benéfico para la salud por sus propiedades endulzantes y curativas. En 2020 la producción en México fue 54 121 toneladas (Mg), que ubicaron al país como el décimo productor mundial. La hipótesis fue que los precios de la miel se pueden explicar por los precios ocurridos en el pasado, y estos influyen en el incremento de la población de colmenas y la producción de miel en México. Para probarla, el objetivo de este estudio fue desarrollar un modelo de pronóstico para el precio promedio anual de miel en México (PPML). Los datos fueron del periodo 1966 a 2019 y se utilizó la metodología Box-Jenkins de procesos autorregresivos integrados de medias móviles (ARIMA) con y sin intervención. Los parámetros de los modelos se estimaron con el método de máxima verosimilitud en SAS® y el cambio estructural con la librería correspondiente (*strucchange*) del programa R. Un modelo basado en la serie PPML se adaptó para el periodo 1966 a 2019 y se validó con los datos de los años 2018 y 2019. La serie presenta cinco periodos de cambios estructurales de tendencia de los PPML, (1966-1985), (1986-1995), (1996-2003), (2004-2008) y (2009-2019). El mejor modelo estimado sin intervención fue ARIMA (1, 1, 1) y con intervención fue ARIMA (1, 1, 0); lo cual indicó que los PPML se pueden explicar con los precios de años anteriores. Las predicciones presentaron un error porcentual absoluto medio (MAPE) de 8.16 % para el modelo sin intervención y 4.02 % para el modelo con intervención. Ambos modelos estimados, plantearon que los PPML tienen una tendencia al alza en el mediano plazo. El modelo ARIMA con intervención estimó el PPML con precisión mayor y proporcionó información para planificar y tomar decisiones para los próximos cinco años.

**Palabras clave:** modelos ARIMA, modelos de intervención, apicultura, planeación pecuaria, predicción.

**Citation:** Luis-Rojas S, García-Sánchez RC, García-Mata R, Arana-Coronado OA, Ramírez-Valverde B. 2022. Modelo de intervención y pronóstico de precios pagados al productor de la miel de abeja (*Apis mellifera* L.) en México. *Agrociencia*. 56(3): 638-668. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i3.2807>

**Editor in Chief:**  
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: August 10, 2021.  
Approved: May 16, 2022.

**Published in Agrociencia:**  
June 07, 2022.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International license.



## INTRODUCCIÓN

La apicultura en México como generadora de divisas se ubica entre los tres primeros lugares en el sector pecuario. Con una derrama económica que beneficia principalmente a pequeños productores (Dolores *et al.*, 2017). El producto principal de esta actividad es la miel, que constituye uno de los alimentos más antiguos que el hombre ha aprovechado para nutrirse. Además de utilizarse desde tiempos ancestrales como un producto benéfico para la salud, debido a sus reconocidas propiedades curativas (Ramos y Pacheco, 2016).

La producción nacional de miel de abeja (*Apis mellifera* L) pasó de 55 687 Mg en el año 2010 a 54 121 Mg en 2020, y registró una tasa de crecimiento medio anual (TCMA) de -0.31 % (SIAP, 2019). El decrecimiento se asocia con el cambio climático, la deforestación y el uso de herbicidas e insecticidas en las parcelas agrícolas. Los periodos de sequía prolongados, precipitaciones pluviales erráticas y la falta de organización de los productores contribuyen en gran medida que la tendencia sea a la baja (Magaña *et al.*, 2016).

La producción mundial de miel natural en 2020 fue de 1 724 195 Mg, México fue el décimo productor mundial (3.60 %), China (447 007 Mg), Turquía (109 330 Mg) y Canadá (80 345 Mg), representaron el 25.9, 6.3 y 4.6 % respectivamente de la producción total (FAO, 2020).

China es el primer productor de miel en el mundo. Esto se debe al incremento drástico de la población de colmenas, pues se utilizan para producción de miel, y polinizan algodón, colza, alforfón, manzanas, cítricos, girasol, vicia y otros cultivos, los cuales aumentaron de manera notable sus volúmenes de producción en el periodo 2000 – 2011. La apicultura en China se ha desarrollado al punto de posicionar al país como el primer exportador mundial por los precios bajos que ofrece (Martínez y Pérez, 2013). Sin embargo, consumidores de países importadores dan a conocer que el producto que oferta carece de inocuidad y trazabilidad (Maté, 2012).

La producción de miel en México depende de factores tales como características florísticas, suelo y clima. La Coordinación General de Ganadería de la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER) clasifica a la actividad apícola en cinco regiones productoras: Norte, Costa del pacífico, Golfo, Altiplano y Península de Yucatán (Martínez y Pérez, 2013). Las regiones con mayor producción de miel para el año 2020 fueron la región costa del Pacífico (39.10 %), península de Yucatán (24.09 %), altiplano (15.67 %), Golfo de México (10.64 %) y norte (10.50 %). Aún existen vastas zonas del país para fomentar la actividad apícola; no obstante, estados como Jalisco, Chiapas, Veracruz y Oaxaca aportaron respectivamente el 11.20, 10.04, 8.58 y 8.38 % de la producción nacional (SIAP, 2020).

El volumen promedio de las exportaciones en el año 2018 fue de 55 674 Mg y México fue el cuarto exportador de miel de abeja. También es el principal país de abasto para Alemania, nación que es la mayor importadora del mundo y que aplica los estándares de calidad más altos (SIAP, 2019). Los destinatarios principales de las exportaciones mexicanas fueron Alemania, Reino Unido, EUA y Arabia Saudita que en conjunto concentraron el 90 % de las mismas (FAO, 2020).

La variabilidad que el precio de la miel de abeja presenta en México se debe a factores biológicos y climáticos (Caro *et al.*, 2012). Pero sobre todo depende de la producción en China, por ello resulta relevante conocer el comportamiento de esta variabilidad y cómo influye en los precios mexicanos. Los modelos de procesos autorregresivos integrados de medias móviles (ARIMA) son más apropiados para predicciones a corto plazo; están diseñados para obtener información de procesos que tienen cierta homogeneidad. Es decir, se analizan sobre una serie estacionaria y se necesitan como mínimo 50 datos para que su predicción sea confiable (Box *et al.*, 2015).

En el análisis de series de tiempo es importante un conocimiento previo de la serie a estudiar pues la presencia de datos atípicos o aberrantes (*outliers*) puede producir distorsiones graves en los resultados (Segura y Torres, 2014). También es muy probable que no puedan explicarse por el modelo ARIMA y por consiguiente violen el supuesto de normalidad. De ahí que los datos aberrantes y los cambios estructurales influyen en la eficiencia y bondad del ajuste de los mejores modelos ARIMA propuestos.

La teoría económica indica que en competencia perfecta un precio más alto conduce a un aumento de la oferta; mientras que un precio menor induce una disminución en la misma (Varian, 2010). En el caso de la miel de abeja la cantidad ofrecida en los últimos años no ha cambiado (oferta perfectamente inelástica). Mientras que la demanda es desplazada por los gustos y preferencias del consumidor, lo cual ocasiona que el precio se incremente. Bajo la hipótesis de que los precios de la miel se pueden explicar por los precios ocurridos en el pasado, y estos influyen en el incremento de la población de colmenas y la producción de miel en México. El objetivo del estudio fue desarrollar modelos de series de tiempo de 1966 a 2019 con y sin intervención para pronosticar los precios promedios de la miel de abeja (PPML) en México y evaluar la funcionalidad de los modelos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para conocer el comportamiento de los precios promedios pagados al productor de miel de abeja (*Apis mellifera* L) en México (PPML) y realizar pronósticos se utilizó una serie histórica anual de precios expresados en pesos mexicanos (\$MXN kg<sup>-1</sup>), consultados por el Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2020) y de la Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2020). La serie de tiempo PPML se dividió en dos partes: los datos de 1966 a 2019 se utilizaron para desarrollar los modelos de series temporales con y sin intervención; asimismo, para validar los modelos se utilizaron los datos de los precios 2018 y 2019. Si se asume que  $Y' = (Y_1, Y_2, \dots, Y_n)$  es una serie de tiempo, matemáticamente un modelo ARIMA puro es denotado como  $(p, d, q)$ , y está escrito como:

$$W_t = \mu + \frac{\theta(B)}{\phi(B)} \alpha_t$$

dónde:  $t$  = índices de tiempo;  $W_t$  = es la serie de respuesta  $Y_t$  o una diferencia de la serie de respuesta;  $\mu$  = es el término medio;  $B$  = es el operador de retraso ( $B^r Y_t = Y_{t-r}$ );  $\phi(B)$  = es el polinomio autorregresivo (AR), de orden “ $p$ ”, se desarrolla así,  $\phi(B) = 1 - \phi_1 B - \phi_2 B^2 - \dots - \phi_p B^p$ ;  $\theta(B)$  = es el polinomio de promedios móviles (MA), de orden “ $q$ ”, donde:  $\theta(B) = 1 - \theta_1 B - \theta_2 B^2 - \dots - \theta_q B^q$ ;  $\alpha_t$  = se refiere a los términos de error aleatorio o también llamado ruido blanco que se supone que son variables aleatorias independientemente distribuidas de forma idéntica muestreadas de una distribución preferentemente con media igual a cero y varianza  $\alpha_t \sim N(0, \delta^2)$  (Box *et al.*, 2015).

La inclusión de los efectos de variables exógenas (variables de intervención) al modelo general ARIMA se logra a través de una función de transferencia, esta se escribe como:

$$W_t = \mu + \sum_i \frac{\omega_i(B)}{\delta_i(B)} B^{k_i} X_{i,t} + \frac{\theta(B)}{\phi(B)} \alpha_t$$

dónde:  $X_{i,t}$  es la  $i$ -ésima serie de tiempo de entrada o una diferencia de la serie de entradas  $i$ -ésima en el tiempo  $t$ ;  $k_i$  es el retardo de tiempo puro para el efecto de la serie de entrada  $i$ -ésima;  $\omega_i(B)$  es el polinomio numerador de la función de transferencia para la  $i$ -ésima serie de entradas y  $\delta_i(B)$  es el polinomio denominador de la función de transferencia para la  $i$ -ésima serie de entradas. En el análisis de intervención se supone que algunas de las variables  $X_{i,t}$  son variables binarias que tienen el mismo papel que las variables dummy en las regresiones, por lo tanto, las series  $X_{i,t}$  son conocidas como indicadores de intervención y/u *outliers* (Ferruz *et al.*, 2011).

Si la intervención es recurrente en algún tipo de evento en un determinado momento en el tiempo, puede manifestarse en un intervalo de tiempo posterior, y afectar, de manera temporal o permanente a la serie en estudio.

Para el análisis y tratamiento se utilizó el PROC ARIMA de SAS® versión 9.4. (SAS Institute Inc., 2014). El modelo ARIMA de la serie PPML del periodo 1966- 2019 se estimó con la metodología planteada por Box *et al.* (2015), la cual consiste en la construcción y ajuste del modelo de pronóstico. Mientras que para conocer el cambio estructural de nivel se utilizó el programa R versión 3.6.2 (R Core Team, 2019) con la librería correspondiente (*strucchange*) desarrollada por Zeileis *et al.* (2019).

La elección del mejor modelo con y sin intervención fue de forma parsimoniosa sugerida por Rodríguez *et al.* (2017), por medio del Criterio de Información Akaike (AIC) y el Criterio Bayesiano de Schwarz (SBC) que comparan la bondad de ajuste de los diferentes modelos. Ambos criterios se basan en el uso de la suma de los cuadrados de los errores, y buscan minimizarla a partir de combinaciones diversas de  $p$  y  $q$ . Los valores de AIC y el SBC más bajos indican un ajuste mejor en el modelo. Con el análisis gráfico se buscó identificar al mejor modelo, en el cual además de disminuir el cuadrado medio del error, los residuales estuvieran distribuidos de forma aleatoria alrededor de cero sin mostrar ningún patrón o tendencia. Ya que éste es un indicador de que los datos son aleatorios y tienen una distribución normal (Moffat and Akpan, 2019).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos de la serie PPML fluctuaron en el tiempo, y siguieron una tendencia al alza. Los resultados del análisis de cambio estructural mostraron que la serie presenta cambios estructurales en la tendencia y estos impactaron en la evolución en el tiempo del proceso de generación de datos. Un quiebre de tendencia de los PPML se presentó en cinco periodos. El primero de 1966 a 1985, se caracterizó por la existencia de aranceles a la importación de alimentos. Durante este periodo los precios presentaron una TCMA del 19.27 %. Con los aranceles, la producción nacional se encontraba protegida de la competencia internacional; y era la base de la oferta alimentaria para la población (CEDRSSA, 2018),

En el periodo 1986-1995, la apicultura mexicana sufrió un gran revés, debido a la entrada de la abeja africana (*Apis mellifera scutellata*) a través del estado de Chiapas y Quintana Roo. En 1986 los estados de Yucatán y Campeche empezaron a sentir el proceso de la africanización la cual afectó la producción de miel. Las abejas africanas se caracterizan por su conducta defensiva, su tendencia a la fuga y su capacidad alta para construir enjambres o colmenas, por lo que se requiere un manejo más tecnificado de la apicultura y también de una mayor inversión para su explotación (Cervantes *et al.*, 2018).

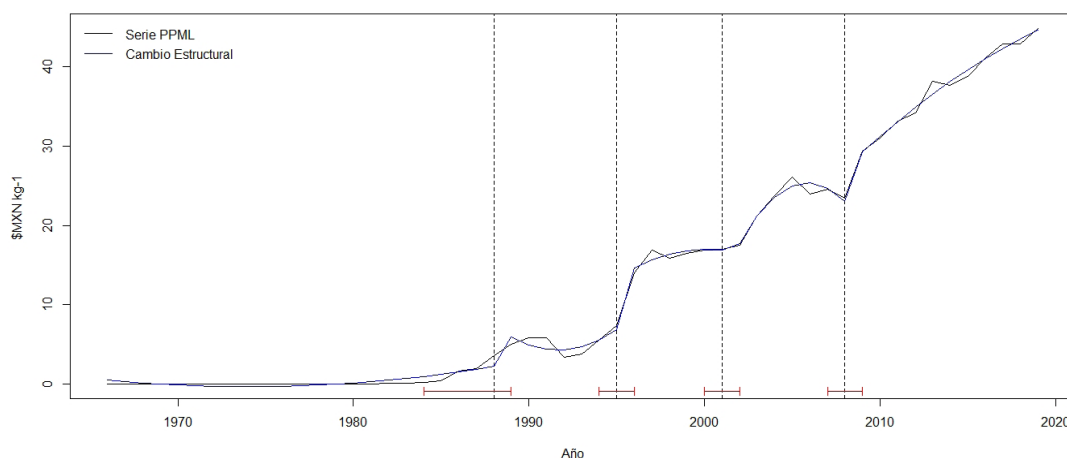
En 1988 el paso del huracán Gilberto por la península de Yucatán ocasionó una pérdida considerable de colmenas y de enjambres silvestres, disminuyendo la producción de miel. Esto generó un alza en los precios de manera constante a una TCMA de 17.66 % para el periodo 1986-1995.

El periodo 1996-2003 se caracterizó por un decremento en la producción en México, Sudamérica y el sur de Estados Unidos, derivado de los problemas de africanización de las colmenas. Por otro lado, la aparición en el Golfo de México y posterior dispersión de la varroa (*Varroa jacobsoni Oudemans*) ácaro que parasita a las abejas *Apis mellifera* (Medina *et al.*, 2014), generó una caída en la producción de miel y por consiguiente un incremento de los precios de la miel a una TCMA de 6.02 %.

En el periodo 2004 a 2008, se presentó una disminución en la producción de miel, debido al paso de los huracanes Wilma y Dean que afectaron principalmente al Sureste y a la Península de Yucatán, la región productora más importante, causando una pérdida parcial y/o total de colmenas. Otros problemas fueron la carencia de agua en otras regiones productoras, de salud de las abejas, reducción de las áreas silvestres debido a la urbanización, y el uso de pesticidas y agroquímicos que afectan a las abejas (Martínez y Pérez, 2013), lo que generó que los precios cayeran a una TCMA de -0.33 %.

En el periodo 2009-2019, hubo un alza en los precios a una TCMA de 4.31 %, debido en gran medida a la concientización de la sociedad para preservar la abejas y especies polinizadoras. En México, el mercado más lucrativo y atractivo es la Unión Europea, que demanda mieles producidas sin contaminantes, orgánicas y libres de transgénicos, de ahí que la miel mexicana se ha posicionado como un producto de alta apreciación, y la tendencia de los precios sea al alza en el mediano plazo (Figura 1).

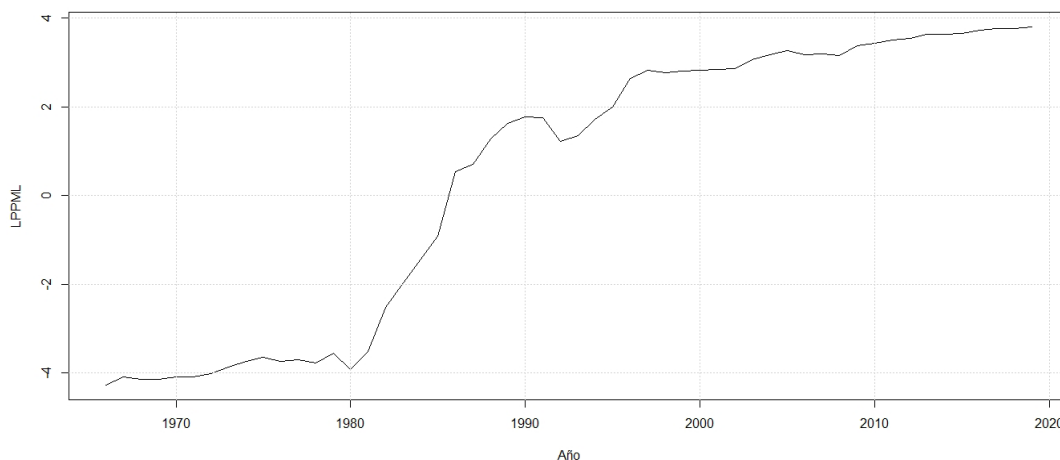
La prueba de Cox-Box arrojó un  $\lambda$ -0.5, por lo que la serie PPML se transformó en logaritmos naturales para que la varianza fuera constante (Vélez *et al.*, 2015), renombrando



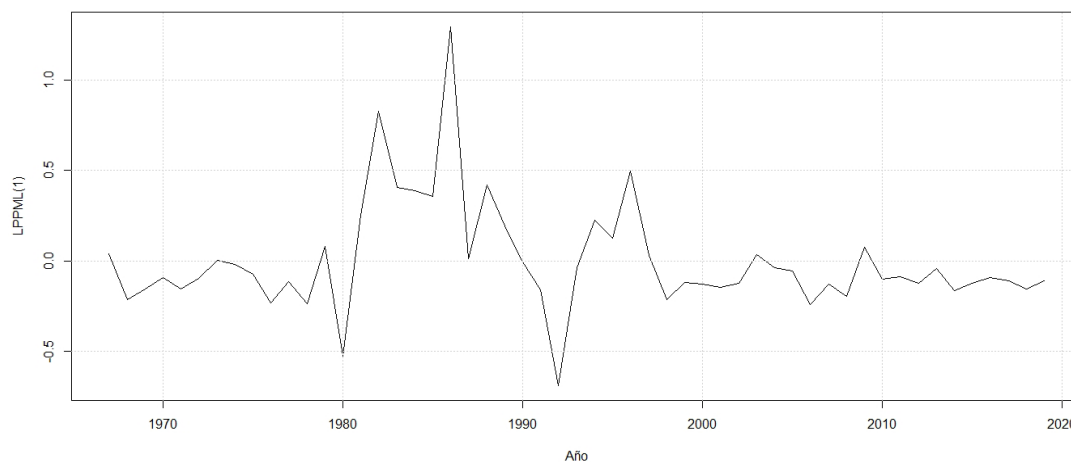
**Figura 1.** Comportamiento original de la serie PPML en (\$MXN kg<sup>-1</sup>), y sus cambios estructurales 1966 – 2019.

ahora a la serie como LPPML. Se observa que la serie  $Y_1, Y_2, \dots, Y_n$  frente al tiempo todavía hay cierta tendencia (Figura 2), pero a través de la primera diferencia ( $\nabla$ ) esto es  $(1-B) LPPML_t$  se obtiene una serie estacionaria. Por lo tanto, se considera  $d = 1$ .

La serie PPML diferenciada y transformada a logaritmos naturales se renombró LPPML (1), y se intuye *a priori* que ya es estacionaria en media (no existe tendencia) y en varianza. Sin embargo, se observa la presencia de datos aberrantes en los años 1979, 1981, 1985 y 1991, de ahí la necesidad de trabajar la serie con dos métodos, con y sin intervención. Box *et al.* (2015), señalaron que la serie a estudiar debe tener una variabilidad constante a través del tiempo y sin tendencia, condición necesaria para obtener mejores pronósticos (Figura 3).



**Figura 2.** Comportamiento de la serie PPML transformada a logaritmos naturales (LPPML).



**Figura 3.** Serie LPPML diferenciada, transformada con logaritmos naturales y sin tendencia aparente.

Para verificar la estacionariedad o no estacionariedad de la serie de tiempo de manera estadística, se procedió a la prueba planteada por Dickey and Fuller (1981) mediante la prueba de raíz unitaria de Dickey Fuller Aumentada (ADF). Esta consiste en incluir rezagos de la primera diferencia de  $Y_t$  en la regresión de prueba para admitir la posible existencia de autocorrelación serial. Para ello se plantea la siguiente hipótesis,  $H_0$ : la serie no es estacionaria ( $\rho = 1$ ) y tiene raíz unitaria vs  $H_a$ : la serie es estacionaria ( $\rho \neq 1$ ) y no tiene raíz unitaria. Regla de decisión: se rechaza  $H_0$  si valor  $p \leq \alpha = 0.05$ . Dado que el valor  $p$  de la F calculada (0.001) es menor que  $\alpha = 0.05$ , se rechaza la hipótesis nula  $H_0: \delta 0 (\rho = 1)$ , y se concluye que la serie LPPML(1) no tiene raíz unitaria, por lo tanto, es estacionaria. Es decir, tiene media y varianza constante en el tiempo (Cuadro 1). Para la serie de tiempo LPPML(1), se ajustó un modelo utilizando el proceso PROC ARIMA (SAS Institute Inc., 2014), se calcularon los parámetros AR1,1 ( $\phi_1$ ) y el componente de promedio móvil MA1,1 ( $\theta_1$ ), mediante máxima verosimilitud. Debido a que este método parte que sus estimadores son asintóticamente óptimos y si el tamaño de la serie es grande, considera que son centrados o insesgados, eficientes y su distribución es normal (Montemayor, 2013).

**Cuadro 1.** Prueba de Dickey Fuller aumentada (ADF) para la serie de logaritmo de precios promedios anuales de miel en México diferenciada (LPPML(1)).

| Tipo            | Retardos | Rho      | Pr < Rho | Tau   | Pr < Tau | F     | Pr > F |
|-----------------|----------|----------|----------|-------|----------|-------|--------|
| Media<br>cero   | 0        | -25.8205 | <.0001   | -4.12 | <.0001   |       |        |
|                 | 1        | -14.5181 | 0.0058   | -2.64 | 0.0092   |       |        |
|                 | 2        | -11.4307 | 0.0153   | -2.2  | 0.0283   |       |        |
| Media<br>simple | 0        | -32.2686 | 0.0005   | -4.74 | 0.0003   | 11.22 | 0.001  |
|                 | 1        | -21.1904 | 0.0042   | -3.16 | 0.0282   | 4.99  | 0.0418 |
|                 | 2        | -18.8792 | 0.0087   | -2.71 | 0.0792   | 3.67  | 0.1653 |

De 15 modelos propuestos, se identificó al que cumple mejor con la significancia de parámetros y ruido blanco. Los coeficientes AR, MA se eligieron toda vez que la ACF (Función de autocorrelación) y PACF (Función de autocorrelación parcial) presentan simultáneamente coeficientes distintos de cero. Asimismo, se estimaron considerando diferentes elecciones de  $p$  y  $q$ , así como los valores de SBC, AIC y la varianza  $\delta_\epsilon^2$  para los cuatro mejores modelos ARIMA ajustados a la serie LPPML(1).

La primera diferencia a menudo suele ser suficiente ( $d = 1$ ) por lo que se estableció en todos los modelos. El modelo con el valor SBC y AIC más bajo para este conjunto de datos, fue el ARIMA (1, 1, 1) (Cuadro 2).

El modelo ARIMA (1, 1, 1) se considera como el mejor modelo moderado sin intervención, ya que, según Box *et al.* (2015), la estadística  $t$  absoluta debe ser mayor que 2 y los valores  $p$  de los parámetros deben ser menores a 0.05. Además de ser parsimonioso, este modelo se ajusta suficientemente a los datos antiguos (Cuadro 3).

Para el cálculo la ecuación del modelo ARIMA (1, 1, 1) se debe apoyar de los coeficientes del Cuadro 3 sin incluir los datos aberrantes. Y en el planteamiento teórico establecido por Box *et al.* (2015). Al desarrollar el modelo se obtuvo:

$$\text{ARIMA (1,1,1)} = (1 - \phi_1 B_1) (1 - B_1) Y_t = (1 - \theta_1 B_1) \alpha_t$$

$$\text{ARIMA (1,1,1)} = Y_t = Y_{t-1} + \phi_1 Y_{t-1} - \phi_1 Y_{t-2} - \theta_1 \alpha_{t-1} + \alpha_t$$

$$\text{ARIMA (1,1,1)} = Y_t = Y_{t-1} + 0.82419 Y_{t-1} - 0.82419 Y_{t-2} - 0.46266 \alpha_{t-1} + \alpha_t$$

**Cuadro 2.** Valores de AR, MA, SBC y AIC de los modelos ARIMA identificados ( $p, 1, q$ ) y estimadores para  $\delta_\epsilon$ .

| Mejores modelos ARIMA <sup>†</sup> | Retardos |    | Coeficientes               |                            | SBC <sup>b</sup> | AIC <sup>z</sup> | $\delta_\epsilon$ |
|------------------------------------|----------|----|----------------------------|----------------------------|------------------|------------------|-------------------|
|                                    | AR       | MA | AR1,1 <sup>¶</sup> ( $p$ ) | MA1,1 <sup>§</sup> ( $q$ ) |                  |                  |                   |
| 1.- (1, 1, 0)                      | 1        |    | 0.49727                    | -                          | 23.75236         | 21.78207         | 0.293619          |
| 2.- (1, 1, 1)                      | 1        | 1  | 0.82419                    | 0.46266                    | 23.67558         | 19.73499         | 0.285018          |
| 3.- (2, 1, 1)                      | 2        | 1  | 0.37660                    | -0.36982                   | 25.32337         | 21.38279         | 0.289676          |
| 4.- (1, 1, 2)                      | 1        | 2  | 0.42923                    | -0.15275                   | 26.26991         | 22.32933         | 0.292387          |

<sup>†</sup>ARIMA: Proceso autorregresivo integrado de media móvil, <sup>¶</sup>AR: Coeficiente autorregresivo de orden ( $p$ ), <sup>§</sup>MA: Coeficiente de media móvil de orden ( $q$ ), <sup>b</sup>SBC: Criterio Bayesiano de Schwarz, AIC: Criterio de información Akaike.  $\delta_\epsilon$ : Error estándar de la estimación.

**Cuadro 3.** Estimación del modelo para la serie de tiempo LPPML(1) por máxima verosimilitud sin intervención.

| Parámetro | Estimación | Error estándar | Valor t | Aprox Pr >  t | Retardo |
|-----------|------------|----------------|---------|---------------|---------|
| MA1,1     | 0.46266    | 0.21077        | 2.20    | 0.0282        | 1       |
| AR1,1     | 0.82419    | 0.13183        | 6.25    | <0.0001       | 1       |

### El modelo ARIMA (1, 1, 1) con intervención

Dado que la serie de estudio presentó datos aberrantes del tipo cambio de nivel (LS) en los años 1979, 1981, 1985 y 1991, al modelo original ARIMA (1, 1, 1) se incluyeron dichos datos para mejorarlo. Para respetar el supuesto de parsimonia y el valor estadístico significativo de los parámetros; a este nuevo modelo se le conoce como modelo con intervención (Box *et al.*, 2015). Los resultados mostraron que el coeficiente de media móvil resultó ser no significativo, por lo que se optó por utilizar el modelo con intervención ARIMA (1, 1, 0). En él, además de un coeficiente significativo, el error estándar disminuyó significativamente en 51.38 % respecto al modelo sin intervención ARIMA (1, 1, 1) (Cuadro 4).

El modelo ARIMA (1, 1, 0) se consideró como el mejor modelo moderado con intervención, puesto que además de cumplir con los supuestos planteados por la metodología Box – Jenkins, este incluye los datos aberrantes (Cuadro 5).

**Cuadro 4.** Valores de AR, MA, SBC y AIC de los modelos ARIMA con intervención identificados ( $p$ ,  $1$ ,  $q$ ) y estimadores para  $\delta_\epsilon$ .

| Mejores modelos ARIMA <sup>†</sup> | Retardos |    | Coeficientes               |                            | SBC <sup>b</sup> | AIC <sup>a</sup> | $\delta_\epsilon$ |
|------------------------------------|----------|----|----------------------------|----------------------------|------------------|------------------|-------------------|
|                                    | AR       | MA | AR1,1 <sup>¶</sup> ( $p$ ) | MA1,1 <sup>§</sup> ( $q$ ) |                  |                  |                   |
| 1.- (1, 1, 1) <sup>†a</sup>        | 1        | 1  | 0.82419                    | 0.46266                    | 23.67558         | 19.73499         | 0.285018          |
| 2.- (1, 1, 1) <sup>†b</sup>        | 1        | 1  | 0.88111                    | 0.25647                    | -38.3316         | -52.1237         | 0.137813          |
| 3.- (1, 1, 0) <sup>†c</sup>        | 1        | 0  | 0.79943                    | -                          | -40.6168         | -52.4386         | 0.138568          |

<sup>†</sup>ARIMA: Proceso autorregresivo integrado de media móvil, <sup>†a</sup> Modelo ARIMA (1, 1, 1) sin intervención, <sup>†b</sup> Modelo ARIMA (1, 1, 1) con intervención, <sup>†c</sup> Modelo ARIMA (1, 1, 0) con intervención <sup>¶</sup>AR: Coeficiente autorregresivo de orden ( $p$ ), <sup>§</sup>MA: Coeficiente de media móvil de orden ( $q$ ), <sup>b</sup>SBC: Criterio Bayesiano de Schwarz, <sup>a</sup>AIC: Criterio de información Akaike.  $\delta_\epsilon$ : Error estándar de la estimación.

**Cuadro 5.** Estimación del modelo para la serie de tiempo LPPML(1) por máxima verosimilitud con intervención.

| Parámetro | Estimador | Error estándar | Valor $t$ | Aprox. Pr > $ t $ | Retardo | Variable | Desplazamiento |
|-----------|-----------|----------------|-----------|-------------------|---------|----------|----------------|
| AR1,1     | 0.79943   | 0.08486        | 9.42      | <.0001            | 1       | LogPPML  | 0              |
| NUM1      | -0.68236  | 0.10721        | -6.36     | <.0001            | 0       | LS_15    | 0              |
| NUM2      | 0.51015   | 0.10722        | 4.76      | <.0001            | 0       | LS_17    | 0              |
| NUM3      | 1.11607   | 0.10796        | 10.34     | <.0001            | 0       | LS_21    | 0              |
| NUM4      | -0.58917  | 0.10724        | -5.49     | <.0001            | 0       | LS_27    | 0              |
| NUM5      | 0.42211   | 0.10733        | 3.93      | <.0001            | 0       | LS_31    | 0              |

La ecuación del modelo ARIMA (1, 1, 0) con intervención, queda de la siguiente manera:

$$Y_t = -0.68236\xi_{1t} + 0.51015\xi_{2t} + 1.11607\xi_{3t} - 0.58917\xi_{4t} + 0.42211\xi_{5t} + \frac{(1-0.79943B_1)}{\alpha_t}$$

$\xi_{1t} = 1$  si  $t \geq 15$  o de otra manera

$\xi_{2t} = 1$  si  $t \geq 17$  o de otra manera

$\xi_{3t} = 1$  si  $t \geq 21$  o de otra manera

$\xi_{4t} = 1$  si  $t \geq 27$  o de otra manera

$\xi_{5t} = 1$  si  $t \geq 31$  o de otra manera

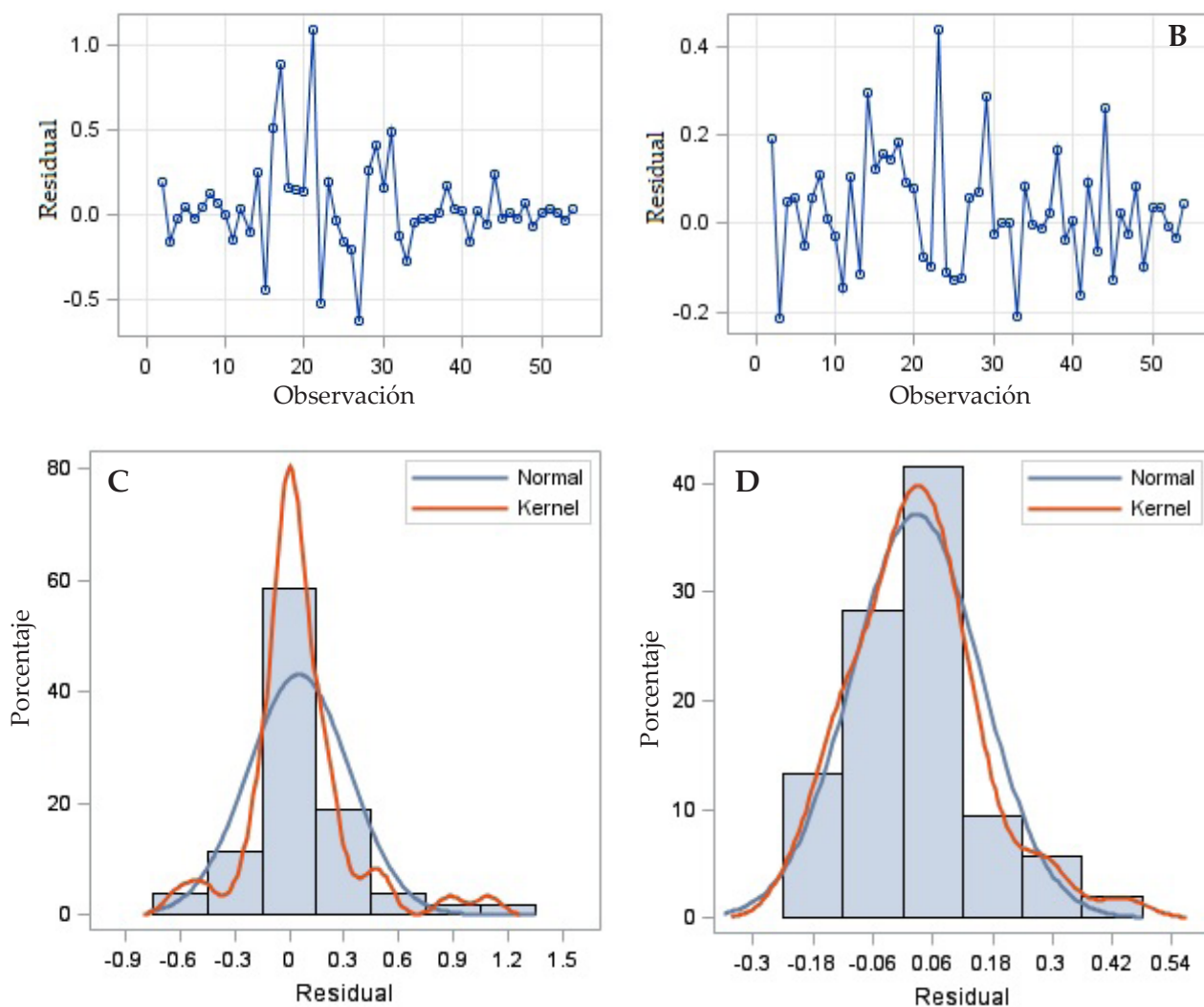
Para comprobar la suficiencia global del modelo Box-Jenkins, se analizaron los residuos obtenidos a partir de los modelos sin y con intervención. Mediante la estadística  $Q^*$  Ljung-Box y su valor  $p$  asociado, se prueba la hipótesis nula  $H_0: \varepsilon_t \sim RB(0, \sigma^2)$ . Las autocorrelaciones de hasta un desfase  $k$  son iguales a cero para valores de  $k$  igual a 6, 12, 18, 24, y 30. Los valores de los datos son aleatorios e independientes hasta un cierto número de desfases versus la  $H_a: \varepsilon_t$  no son ruido blanco. Si el estadístico  $Q$  de Ljung-Box (LBQ) es mayor que un valor crítico especificado, Abdulhafedh, (2017) plantea que las autocorrelaciones para uno o más desfases podrían ser significativamente diferentes de cero, lo que indicaría que los valores no son aleatorios ni independientes en el tiempo.

La regla de decisión es: si el valor  $p < 0.05$ , se rechaza  $H_0$  vs si el valor  $p > 0.05$ , no se rechaza  $H_0$ . En los primeros 6  $k'$  se aprecian valores  $p > 0.05$  por tanto no se rechaza  $H_0: \rho_1 = \rho_2 = \rho_3 = \rho_4 = \rho_5 = \rho_6$ , con  $\alpha=0.05$  se concluye el proceso es puramente aleatorio o de ruido blanco, es decir los residuales tienen una media igual a cero, una varianza constante  $\sigma^2 = 0.01668$ , por lo que ya no hay información de dependencia de unos datos con otros a través del tiempo (Cuadro 6).

Después de estimar los parámetros de ambos modelos se validaron mediante el análisis de residuos (Yafee y McGee, 2000). Los residuos estandarizados estimados, a partir de estos modelos deberían comportarse como una secuencia independiente e idénticamente distribuida, con una media de cero y una varianza constante. Sin embargo, en

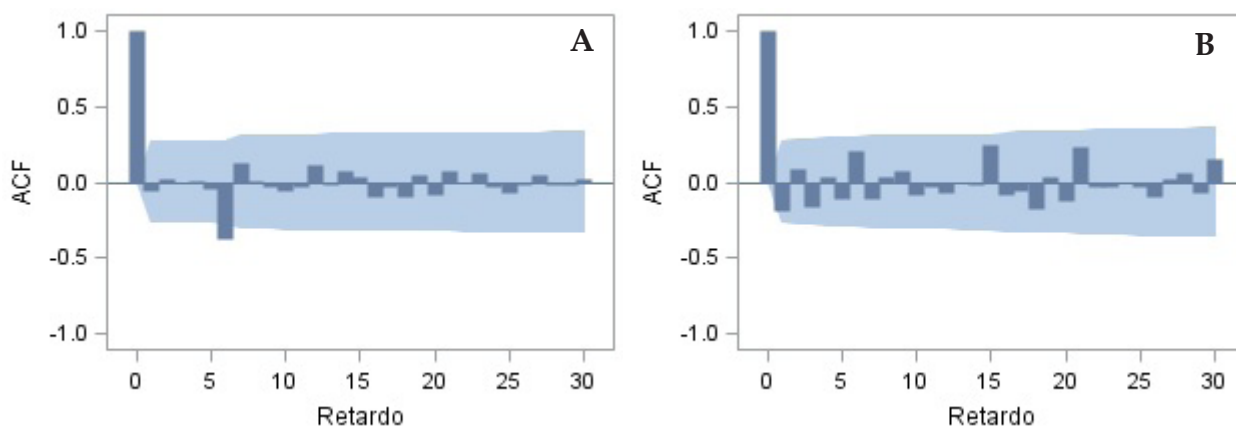
**Cuadro 6.** Comprobación de autocorrelación del ruido blanco en los residuales de la serie LPPML(1) con intervención.

| Para retardo | Chi-cuadrado | DF | Pr > ChiSq | Autocorrelaciones |        |        |        |        |        |
|--------------|--------------|----|------------|-------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 6            | 7.65         | 6  | 0.2652     | -0.195            | 0.082  | -0.165 | 0.036  | -0.115 | 0.207  |
| 12           | 9.81         | 12 | 0.6326     | -0.116            | 0.036  | 0.075  | -0.086 | -0.029 | -0.065 |
| 18           | 17.97        | 18 | 0.4576     | -0.001            | -0.015 | 0.250  | -0.080 | -0.064 | -0.174 |
| 24           | 24.51        | 24 | 0.4326     | 0.039             | -0.120 | 0.232  | -0.037 | -0.030 | -0.009 |
| 30           | 30.07        | 30 | 0.4623     | -0.036            | -0.100 | 0.022  | 0.065  | -0.071 | 0.159  |



**Figura 4.** Diagnósticos gráficos para evaluar el ajuste de los modelos ARIMA (1, 1, 1) y ARI (1, 1, 0) por medio de los residuos estandarizados. A: Residuales del modelo sin intervención; B: Residuales del modelo con intervención; C: Distribución de residuales sin intervención; D: Distribución de residuales con intervención.

el modelo sin intervención aún presentan datos aberrantes en la banda de  $\pm 0.5$ , señal de que este modelo está siendo afectado por *outliers* (Figura 4A). Cuando en el modelo se incluye la intervención, los residuales oscilan en  $\pm 0.2$ , mejorando sustancialmente la media y la varianza constante (Figura 4B). La distribución de los residuos sin intervención se aproxima a una distribución normal leptocúrtica ligeramente sesgada a la izquierda (Figura 4C). El modelo con intervención se aproxima a una distribución normal, lo que indica una gran afinidad de los datos, sin importar la magnitud de éstos (Figura 4D).

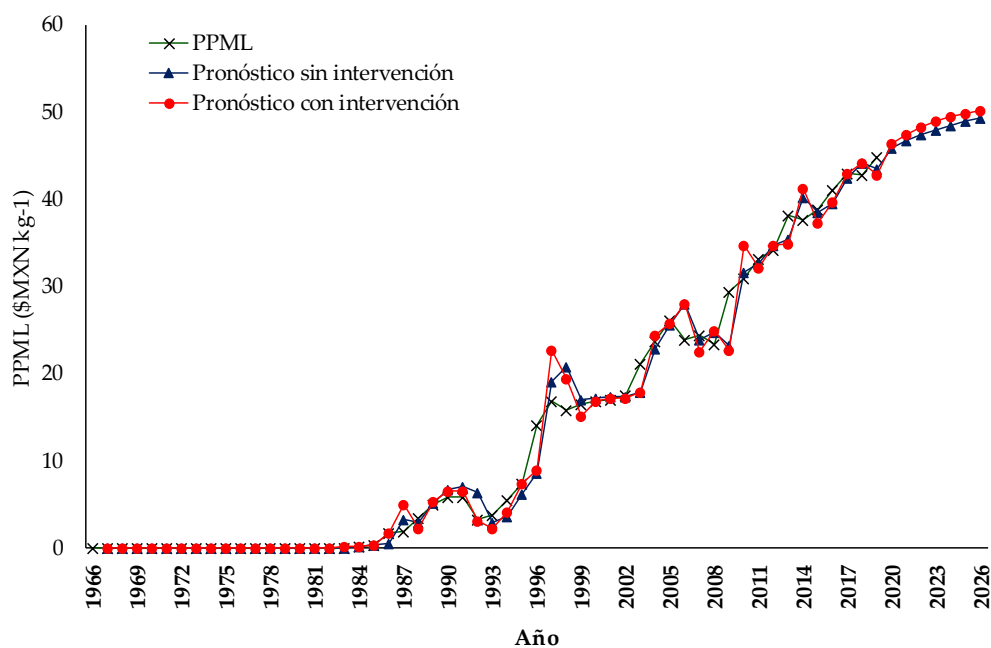


**Figura 5.** Diagnósticos gráficos para evaluar el ajuste de los modelos ARIMA (1, 1, 1) y ARI (1, 1, 0), por medio del ACF de los residuales. A: Sin intervención; B: Con intervención.

La ACF de los residuos del modelo ARIMA (1, 1, 1) mostró datos que salieron de la banda de confianza, señal de que aún existe dependencia de datos que se puede modelar (Figura 5A). La ACF de los residuos del modelo ARIMA (1, 1, 0) con intervención, muestra que las autocorrelaciones están dentro de la banda de confianza; es decir, son cercanas a cero. Esto indica que los residuos no se desviaron de un proceso de ruido blanco cero de manera significativa y son aleatorios. Debido a ello, ya no hay información de dependencia de unos datos con otros a través del tiempo (Figura 5B). Los modelos estimados con y sin intervención se utilizaron para hacer predicciones fuera de la muestra para los siete años siguientes a la última observación, y predicen valores de PPML muy próximos a los observados para los meses de los años 1967 a 2019, dado que estos se ubican dentro de la banda de confianza estimada al  $\pm 95\%$ .

De acuerdo con la estimación del modelo, los precios promedios de la miel en México pagados al productor en el mediano plazo presentarán un comportamiento al alza, y una tasa de crecimiento media anual (TCMA) de 1.33 %. Los PPML oscilarán entre \$MXN 46.69 y \$MXN 49.25 según el modelo ARIMA sin intervención. Con el modelo ARIMA que incluye los datos aberrantes, los PPML fluctuarán entre \$MXN 47.49 y \$MXN 50.15. Esto concuerda con Ramos y Pacheco (2016), quienes señalaron que cada vez el sector apícola se especializa y mejora el producto, agrega y diversifica valor y por ello se obtienen mejores precios internacionales de la miel, aunque con incentivos mayores a los comercializadores-exportadores. En contraste, los precios pagados a los productores, si bien se han incrementado en los últimos años, no han alcanzado incrementos en la misma proporción (Figura 6).

Con los modelos ARIMA sin y con intervención se pronosticaron los PPML para el periodo 1967-2019 y estos precios se compararon con los de la serie PPML. Las predicciones se obtuvieron con un error porcentual absoluto medio (MAPE) de 8.16 % para el modelo sin intervención y 4.02 % para el modelo con intervención. Esto indica que el



**Figura 6.** Precios promedio observados y pronosticados de la miel pagados al productor en México, 2019 (\$MXN kg<sup>-1</sup>), obtenidos a través del modelo ARIMA (1, 1, 1) y ARIMA (1, 1, 0) con intervención a partir de información de SIAP (2020) y FAO (2020).

segundo modelo mejoró las predicciones de los precios de la miel, debido a que en él se incluyeron los datos aberrantes con tratamiento especial que perfeccionan el ajuste estadístico de la serie de tiempo estudiada.

En comparación con la metodología ARIMA, estudios sobre predicción de producción de vainilla en México aportaron modelos con una precisión en el pronóstico de 91.68 %, como el de Luis-Rojas *et al.* (2020) que tiene una estructura ARIMA (1, 1, 1) similar al aquí planteado.

Otros modelos de predicción de producción y precios, que contemplan tanto estructuras ARIMA como SARIMA, son los presentados para pronosticar los precios de huevo blanco al productor en México, la producción de vainilla y de carne de cerdo. En los trabajos de Barreras-Serrano *et al.* (2014) y Luis-Rojas *et al.* (2019), se acepta que esta metodología es útil para establecer solo pronósticos de corto plazo, sugiriendo para mayor precisión la inclusión de variables exógenas a través de modelos de función de transferencia, así como para el pronóstico de mayor plazo el uso de modelos multivariados.

Ruiz *et al.* (2019), utilizan un modelo SARIMA (2, 1, 0) X (1, 1, 0)<sub>s=12</sub> para hacer un pronóstico de 12 meses sobre el precio de la manzana, donde concluyen que los precios futuros de la manzana tienden al alza. Sin embargo, los autores sugieren estar conscientes de la limitación de la predicción, ya que la dinámica económica de precios siempre será compleja, pero puede resultar una herramienta útil, para la toma de decisiones.

Por último, la estimación de un modelo único y universalmente aceptado, para entender los precios futuros de la miel de abeja en México es irreal y posiblemente innecesaria, toda vez que el mercado internacional exige mieles de distintas floraciones y regiones. De ahí la importancia de que las dependencias encargadas de proveer información estadística, sean cada vez más específicas, sin embargo, este modelo ARIMA (1, 1, 0) con intervención explica en gran medida el panorama nacional de los precios pagados al productor de miel en México, ya que, al estar bien especificado, puede ser entendido y analizado, coincidiendo con la estructura de la serie estudiada.

### CONCLUSIONES

La serie presenta cinco cambios estructurales en los cuales se muestra un quiebre de tendencia de los PPML (1966-1985), (1986-1995), (1996-2003), (2004-2008) y (2009-2019), explicados por la protección del mercado interno, la africanización de colmenas, la presencia de varroa, factores climáticos extremos (huracanes, sequías, etc.) y la apreciación de mieles sin contaminantes, orgánicas y libres de transgénicos en el mercado extranjero.

La inclusión de datos aberrantes al modelo tipo ARIMA, mejora la predicción de los PPML al disminuir la varianza de 0.08123 a 0.01920 en comparación con el modelo univariante ARIMA sin intervención.

Las predicciones de la serie estudiada en el corto plazo difieren en 8.16 % de los datos observados con el modelo ARIMA sin intervención y 4.02 % con el modelo intervenido, el error aleatorio en ambos casos se minimiza. El PPML en México es explicado por el mismo ocurrido un periodo anterior con tendencia al alza en el mediano plazo según los dos modelos planteados, de ahí que el incremento de precios se explique por el desplazamiento de la demanda por gustos y preferencias más no así por un aumento de la oferta ya que la cantidad producida prácticamente ha sido muy similar en los últimos 20 años.

### AGRADECIMIENTOS

Los resultados son parte de la LGAC Economía agrícola y política pública, del Posgrado en Socioeconomía, Estadística e Informática-Economía, Colegio de Postgraduados. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) de México por la beca para estudios doctorales otorgada a Samuel Luis-Rojas. La investigación fue financiada con los recursos que el Colegio de Postgraduados campus Montecillo le asigna al primer autor como parte de sus estudios de Doctorado.

### REFERENCIAS

- Abdulfahedh A. 2017. How to detect and remove temporal autocorrelation in vehicular crash data. *Journal of Transportation Technology* 7 (2): 133-147. <https://doi.org/10.4236/jtts.2017.72010>
- Barreras-Serrano A, Sánchez-López E, Figueroa-Saavedra F, Olivás Valdez JA, Pérez-Linares C. 2014. Uso de un modelo univariado de series de tiempo para la predicción, en el corto plazo, del comportamiento de la producción de carne de bovino en Baja California, México. *Veterinaria México* 45 (spe): 1-9.

- Box, GE, Jenkins GM, Reinsel GC, Ljung GM. 2015. Time series Analysis: Forecasting and Control. 5th ed. John Wiley & Sons Inc: Hoboken, NJ, USA. 712 p.
- Caro-Encalada MJ, Leyva-Morales CE, Chi-Tuz M. 2012. Comercialización de miel en el municipio de Espita, Yucatán. *Revista de Economía* 29 (78): 9–35. <https://doi.org/10.33937/reveco.2012.29>
- CEDRSSA (Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria). 2018. La dependencia alimentaria de México. [http://www.cedrssa.gob.mx/post\\_la-dependencia\\_n-alimentaria-n\\_de\\_n-mn-xico-n.htm](http://www.cedrssa.gob.mx/post_la-dependencia_n-alimentaria-n_de_n-mn-xico-n.htm) (Retrieved: February 2021).
- Cervantes-Sánchez JM, Román de Carlos AM, Velázquez-Camacho BL. 2018. Evolución de la producción apícola en México (1521-2010). In *Avances de la investigación sobre producción animal y seguridad alimentaria en México*. Herrera CJ, Chay CAJ, Casanova LF, Piñeiro VAT, Marquez BL, Santillan FE, Arce MJ (eds.). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo: Morelia, Michoacán, México. pp: 782–786.
- Dickey AD and Fuller WA. 1981. Likelihood ratio statistics for autoregressive time series with a unit root. *Econometrica Journal of the Econometric Society* 49 (4): 1057–1072. <https://doi.org/10.2307/1912517>
- Dolores-Mijangos G, Santiago-Cruz MJ, Arana-Coronado JJ, Utrera-Quintana F. 2017. Estudio del impacto de la actividad apícola en el Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, México. *Agricultura Sociedad y Desarrollo* 14 (2): 187–203. <https://doi.org/10.22231/asyd.v14i2.588>
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2020. Precios al productor. Roma, Italia. <https://www.fao.org/faostat/es/#data/PP> (Retrieved: February 2021).
- Ferruz-Agudo L, Marco-Sanjuan I, Knebel-Baggio D. 2011. Análisis de intervención de las series temporales patrimonio y flujo neto de dinero de los Fondos de Inversión Socialmente Responsables (FISR) de Brasil. *Contabilidad y Negocios* 6 (12): 26–35.
- Luis-Rojas S, Ramírez-Valverde B, Díaz-Bautista M, Pizano-Calderón J, Rodríguez-López C. 2020. La producción de vainilla (*Vanilla planifolia*) en México: análisis y pronóstico. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 11 (1): 175–187. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i1.2065>
- Luis-Rojas S, García-Sánchez RC, García-Mata R, Arana-Coronado OA, González-Estrada A. 2019. Metodología Box - Jenkins para pronosticar los precios de huevo blanco pagados al productor en México. *Agrociencia* 53 (6): 911–925.
- Magaña-Magaña MA, Tavera-Cortés ME, Salazar-Barrientos LL, Sanginés-García JR. 2016. Productividad de la apicultura en México y su impacto sobre la rentabilidad. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 7 (5): 1103–1115.
- Martínez-González EG, Pérez-López H. 2013. La producción de miel en el trópico húmedo de México: avances y retos en la gestión de la innovación. UACH-CIESTAAM. Texcoco, Estado de México, México. 102 p. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.2595.6325>
- Maté V. 2012. China invade el mercado con miel a bajo precio. Nota periodística. *El País*. Economía. Madrid, España. 8 julio 2012. [https://elpais.com/economia/2012/07/08/actualidad/1341776471\\_952938.html](https://elpais.com/economia/2012/07/08/actualidad/1341776471_952938.html) (Retrieved: February 2021).
- Medina-Flores CA, Guzmán-Novoa E, Hamiduzzaman MM, Aréchiga-Flores CF, López-Carlos MA. 2014. Africanized honey bees (*Apis mellifera*) have low infestation levels of the mite *Varroa destructor* in different ecological regions in Mexico. *Genetic and Molecular Research* 13 (3): 7282–7293. <http://dx.doi.org/10.4238/2014.February.21.10>
- Moffat IU and Akapan EA. 2019. White noise Analysis: A Measure of Time series Model Adequacy. *Applied Mathematics*. 10 (11): 989–1003. <https://doi.org/10.4236/am.2019.1011069>
- Montemayor-Gallegos JE. 2013. Métodos de pronóstico para negocios. Monterrey, Nuevo León, México. 260 p. <http://prod77ms.itesm.mx/podcast/EDTM/P196.pdf> (Retrieved: November 2020).
- R Core Team. 2019. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/> (Retrieved: December 2019).
- Ramos-Díaz AL, Pacheco-López NA. 2016. Producción y comercialización de miel y sus derivados en México: Desafíos y oportunidades para la exportación. Editorial CIATEJ-CONACYT: Mérida, Yucatan, México. 196 p.
- Rodríguez-Castro JH, Correa-Sandoval A, Ramírez-de-León JA, Adame-Garza JA. 2017. Modelización de la captura y fases de desarrollo de la pesquería de la jaiba azul (*Callinectes sapidus*) en la Laguna Madre, Tamaulipas, México. *Ciencia UAT* 12 (1): 96-113.

- Ruiz-Hernández JA, Barrios-Puente G, Gómez-Gómez AA. 2019. Análisis del precio de la manzana mediante un modelo SARIMA. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 10 (2): 225–237. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i2.509>
- SAS Institute Inc. 2014. SAS/ETS® 13.2 User's Guide the ARIMA Procedure. SAS Institute Inc. Cary, NC. USA. 124 p.
- Segura EO y Torres V. 2014. Tratamiento de valores perdidos y atípicos en la aplicación del Modelo Estadístico de Medición de Impacto en un estudio de 90 fincas lecheras en la provincia de Pastaza, Ecuador. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 48 (4): 333–336.
- SIAP (Sistema de Información Agroalimentaria y Consulta). 2019. Panorama agroalimentario 2019. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Ciudad de México, México. 214 p.
- SIAP (Sistema de Información Agroalimentaria y Consulta). 2020. Miel avance mensual de la producción pecuaria. [http://infosiap.siap.gob.mx/repoAvance\\_siap\\_gb/pecAvanceProd.jsp](http://infosiap.siap.gob.mx/repoAvance_siap_gb/pecAvanceProd.jsp). (Retrieved: February 2021).
- Varian H. 2010. *Microeconomía Intermedia. Un enfoque actual*. 8a Edición. Editorial Antoni Bosch. Barcelona, España. 864 p.
- Vélez JI, Correa JC, Marmolejo-Ramos F. 2015. A new approach to the Box-Cox transformation. *Frontiers in Applied Mathematics and Statistics* 1(12): 1–10. <http://dx.doi.org/10.3389/fams.2015.00012>
- Yafee RA, McGee M. 2000. *Introduction to Time series Analysis and Forecasting with applications of SAS and SPSS* (ed.). Academic Press: Brooklyn, NY, USA. pp: 83–89.
- Zeileis A, Leisch F, Hornik K, Kleiber C. 2019. *Strucchange: An R Package for Testing for Structural Change in Linear Regression Models*. <http://www.jstatsoft.org/v07/i02/>. (Retrieved: December 2019).



# Agrociencia

Volumen 56, Número 3

1 de abril - 15 de mayo, 2022