

Agrociencia

Volumen 56, Número 4

16 de mayo - 30 de junio, 2022



Dr. Jorge Galo Medina Torres

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

Diane Fumiko Miyoshi Udo

Katharine McDevitt

Inés Enriquez

Elena Preciado Gutiérrez

Joel Castillo González

Nicolas Crossa

COSECHADOR DE METADATOS

Moises Quintana Arévalo

APOYO

Belem M. Villegas Contreras

Yolanda Fermoso Meraz

DERECHOS DE AUTOR Y DERECHOS CONEXOS, **Volumen 56, número 4, 16 de mayo - 30 de junio, 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. 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, **11 de julio 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

Teléfono: 595 92 84427

<https://agrociencia-colpos.org>  
~~~~~

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. Jorge Galo Medina Torres



AGRICULTURA

SECRETARÍA DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL

CONTENTS ❖ CONTENIDO

Volumen 56

16 de mayo - 30 de junio, 2022

Número 4

Applied Mathematics-Statistics-Computer Science ➡➡ Matemáticas Aplicadas, Estadística y Computación

EVALUATION OF MACHINE LEARNING MODELS TO IDENTIFY PEACH VARIETIES BASED ON LEAF COLOR ➡➡ EVALUACIÓN DE MODELOS DE APRENDIZAJE AUTOMÁTICO PARA IDENTIFICAR VARIEDADES DE DURAZNO A PARTIR DEL COLOR DE LA HOJA

Daniel **Ayala-Niño**, Juan Manuel **González-Camacho**..... 669

Biotechnology ➡➡ Biotecnología

OPTIMIZATION OF THE BIOMASS PRODUCTION FROM SPROUTS OF NEO-TROPICAL VEGETABLE SPECIES ➡➡ OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN BIOMASA A PARTIR DE GERMINADOS DE ESPECIES HORTÍCOLAS NEOTROPICALES

Juan Fabricio **Lazcano-Escobar**, Nayeli Sarahí **Quiñones-Islas**, Sergio Rubén **Trejo-Estrada**, Carolina **Ramírez-López** 704

Crop Science ➡➡ Fitociencia

INTENSIFICATION OF MILPA IN THE STATE OF MEXICO: NET INCOMES, FOOD SECURITY AND LAND EQUIVALENT RATIO ➡➡ INTENSIFICACIÓN DE LA MILPA EN EL ESTADO DE MÉXICO: INGRESOS NETOS, SEGURIDAD ALIMENTARIA Y USO EFICIENTE DE LA TIERRA

Vidal **Padilla-Fidencio**, Rocio **Albino-Garduño**, Horacio **Santiago-Mejía**, Antonio **Turrent-Fernández**, Ildefonso **Ronquillo-Cedillo**, Lorena **González-Pablo**..... 727

EFFECT OF THREE GREEN MANURES ON THE AGRONOMIC CHARACTERISTICS OF NATIVE X'MEJEN NAAL MAIZE IN CAMPECHE, MEXICO ➡➡ EFECTO DE TRES ABONOS VERDES EN LAS CARACTERÍSTICAS AGRONÓMICAS DEL MAÍZ NATIVO X'MEJEN NAAL EN CAMPE-CHE, MÉXICO

Gilberto **Matos-Pech**, Enrique **Arcocha-Gómez**, Mónica Beatriz **López-Hernández**, Patricia Margarita **Garma-Quen**, Noel Antonio **González-Valdivia**, Elías de Jesús **Echavarría-Góngora** 752

EFFECT OF SUBSTRATES AND FERTIGATION ON GROWTH AND PHOTOSYNTHETIC EFFICIENCY OF MAGUEY PULQUERO PLANTS OF MEZQUITAL VALLEY LANDRACES ➡➡ EFFECT OF SUBSTRATES AND FERTIGATION ON GROWTH AND PHOTOSYNTHETIC EFFICIENCY OF MAGUEY PULQUERO PLANTS OF MEZQUITAL VALLEY LANDRACES

Jesus Adalberto **Jimenez-Torres**, Juana **Juárez-Muñoz**, Juan **Capulín-Grande**..... 774

Food Science ➡➡ Ciencia de los Alimentos

QUALITY VARIABLES OF "HASS" AVOCADO STORED IN MODIFIED ATMOSPHERE PACKAGING ➡➡ VARIABLES DE CALIDAD DEL AGUACATE "HASS" ALMACENADO EN EMPAQUES DE ATMÓSFERA MODIFICADA

Yessica **Vázquez-López**, Rosalina **Iribe-Salazar**, Marco **Carrasco-Escalante**, Soila **Gaxiola-Camacho**, José **Caro-Corrales**..... 805

Plant Protection ➡️ Protección Vegetal

RESPONSE OF *Bemisia tabaci* Genn TO THE ASSOCIATION TOMATO-AROMATIC PLANT ➡️ RE-
SPUESTA DE *Bemisia tabaci* Genn A LA ASOCIACIÓN TOMATE-PLANTA AROMÁTICA

Angel Manuel **Herrera-Gorocica**, Esaú **Ruiz-Sánchez**, Horacio Salomón **Ballina-Gómez**, Guadalupe
Reyes-Solís, Arantza **Sánchez-Lázaro**..... 830

Socioeconomics ➡️ Socioeconomía

NITROGEN FERTILIZATION FOR MAIZE BASED ON ATTAINABLE YIELD AND SOIL ORGANIC
MATTER CONTENT ➡️ FERTILIZACIÓN NITROGENADA PARA MAÍZ CON BASE EN EL
RENDIMIENTO ALCANZABLE Y EL CONTENIDO DE MATERIA ORGÁNICA DEL SUELO

Mariana Margarita **Sánchez-Roldán**, Iván **Ortiz-Monasterio**, Víctor Hugo **Volke-Haller**, Luis **Guerra-**
Zitlalapa, Jorge Dionisio **Etchevers-Barra** 854

EVALUATION OF MACHINE LEARNING MODELS TO IDENTIFY PEACH VARIETIES BASED ON LEAF COLOR

Daniel Ayala-Niño¹, Juan Manuel González-Camacho^{1*}

¹ Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, Posgrado en Socioeconomía, Estadística e Informática-Cómputo Aplicado, Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56230.

* Corresponding author: jmgc@colpos.mx

ABSTRACT

Machine learning and deep learning approaches are applied in different areas of the agricultural sector, particularly in the digital image-based identification of characteristics of interest in crops. In this research, the performance of three machine learning classifiers was evaluated: support vector machine (SVM), random forest (RF), and multilayer perceptron (MLP). The aim was to identify four varieties of peach (*Prunus persica* L. Batsch) (CP-03-06, Oro Azteca, Oro San Juan, and Cardenal), based on the color of digital images of the upper and lower side of leaves, represented by two color spaces: RGB (red, green, blue) and HSV (hue, saturation, value). The classifiers were trained and evaluated based on six data input scenarios, defined by the combinations of the upper, lower, and both sides of the leaf with the RGB and HSV color spaces. The three machine learning classifiers (SVM, RF, and MLP) achieved their best prediction performance when they examined the color characteristics of the upper side of leaves transformed to the HSV color space. The SVM classifier outperformed RF and MLP. SVM achieved a global average correct classification accuracy of 84.1 %, *F1 macro* of 83.7 %, and area under the ROC curve (*AUC macro*) of 0.93. The Oro Azteca variety reached the highest classification rate with a *F1* score of 87.9 % and the Oro San Juan variety obtained the lowest rate with a *F1* of 71.3 %.

Keywords: random forest, support vector machine, supervised classification, *Prunus persica* L. Batsch, neural networks, artificial intelligence.

INTRODUCTION

In Mexico, the peach demand is important: 172 950 Mg were produced in 2020 (SIAP, 2020). In 2018, Mexico ranked seventh in world peach production (SADER, 2018). High productivity and quality peach varieties have high cold requirements; therefore, new peach varieties have been developed with greater productive potential, higher quality, and low cold requirements. A poorly selected variety may not flower (or flower early, during the frost period) causing a reduction or loss of the harvest; therefore, identifying peach varieties is of the utmost importance. The research and evaluation of new genotypes facilitate the selection of varieties with greater productive potential and fruit quality.

Citation: Ayala-Niño D, González-Camacho JM. 2022. Evaluation of machine learning models to identify peach varieties based on leaf color. *Agrociencia*. 56(4): 669-703. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i4.2810>

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: October 25, 2021.
Approved: March 30, 2022.
Published in Agrociencia:
June 20, 2022.

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



Leaf-based plant identification is very common because, under appropriate conditions, leaves last for months or even years (Wang *et al.*, 2016). However, leaf color is not used to identify peach varieties, because it is affected by various biotic, abiotic or phenological factors (UPOV, 2022). Leaf color is rarely used as a descriptor, as a result of the similarity between and within varieties, subject to climatic and health conditions (Wäldchen and Mäder, 2018).

In literature, different leaf-based approaches to identify plants are reported, including the extraction of the characteristics (shape, texture, color, and/or venation) to train a classifier (Cervantes *et al.*, 2018). Xiao *et al.* (2013) designed a system for the detection of pepper leaves based on templates that describe the leaf shape; these authors used active shape models (ASM) and a multilayer perceptron-ASM. The multilayer perceptron-ASM achieved an overall classification accuracy of 85.7 % (simple leaves) and 76.7 % (overlapping leaves).

Liu and Kan (2016) used leaf shape and texture to identify 220 types of leaves; they used a deep belief network (DBN), obtaining an overall classification accuracy of 93.9 %. Caglayan *et al.* (2013) used leaf shape and color to classify 32 types of plants from the Flavia data set (Wu *et al.*, 2007); their random forest classifier obtained an overall classification accuracy of 96 %. Dubey and Jalal (2012) proposed a method to classify apple fruit diseases, based on local binary patterns and a support vector machine, obtaining an overall classification accuracy of 92.6 % (HSV color space) and 88.7 % (RGB).

Leaf venation is another characteristic that has been used in digital image-based plant identification. Larese *et al.* (2014) classified different white bean, red bean, and soybean varieties with a support vector machine trained with segmented leaf venation. This model achieved an overall classification accuracy of 95.1 %. Grinblat *et al.* (2016) classified different legume varieties, based on the segmentation of different levels of leaf venation and a convolutional neural network (CNN), obtaining an overall classification accuracy of 96.9 %. Applying convolutional neural networks is relevant for plant identification. Lee *et al.* (2017) used a deconvolutional neural network (DNN) to determine the patterns that a CNN learns from leaves. They proposed a hybrid, two-input CNN model: the first input receives the leaf image, and the second, a cutting of the central part of the leaf. This approach enables an overall classification accuracy of 96.3 %. The model was trained on the Malayakew dataset, which consists of 44 plant types.

The objective of this research was to implement and evaluate the prediction performance of three machine learning classifiers: support vector machine, random forest, and multilayer perceptron. The aim was to classify four varieties of peach (*Prunus persica* L. Batsch): V1, CP-03-06; V2, Oro Azteca; V3, Oro San Juan; and V4, Cardenal, based on digital images of peach leaves (upper and lower side) transformed into two color spaces (RGB and HSV). Each classifier was trained and evaluated in prediction with six data input scenarios: upper and lower side in RGB format; upper and lower side in HSV format; upper side in RGB format; upper side in HSV format; lower side in RGB format; and lower side in HSV format.

MATERIALS AND METHODS

This section describes the steps to evaluate the prediction performance of the three machine learning classifiers: support vector machine (SVM), random forest (RF), and multilayer perceptron (MLP). The classifiers were implemented in the Python programming language (version 3.9.5). The training and evaluation of the models was carried out using the Scikit-learn program library (version 0.24.2) and they were executed in the Google Collaboratory cloud modeling platform.

Database Description

The training database was created based on 741 pairs of digital images of leaves (upper and lower side) of four peach varieties obtained from the peach dataset. The images belong to varieties V1 (CP-03-06), V2 (Oro Azteca), V3 (Oro San Juan), and V4 (Cardenal) (Figure 1). The total number of image pairs for each variety is V1 (101), V2 (207), V3 (204), and V4 (229). The database is available at: <https://bit.ly/3cvA9MF>. Each peach leaf obtained consists of a pair of images (upper and lower side). Mature peach leaves were collected from healthy trees in the experimental field of the Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. All images have a 72 ppi resolution of, with 720×480 pixels. They were saved in the JPG format. They were captured with a Canon EOS REBEL T5i camera, in a controlled environment, with artificial light and white background (Ayala *et al.*, 2020).

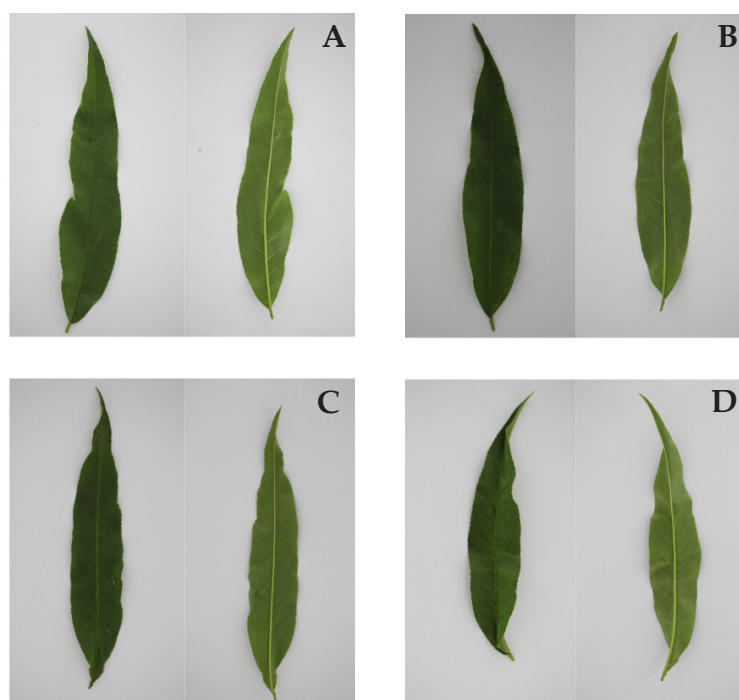


Figure 1. Upper and lower sides of the four peach varieties: A, CP-03-06 variety (V1); B, Oro Azteca (V2); C, Oro San Juan (V3); and D, Cardenal (V4).

The implementation of machine learning models was based on the following stages: dataset obtaining, image preprocessing, characteristic extraction, hyperparameter selection, and classifier prediction testing (Figure 2).

Image Preprocessing

The images were segmented with the Otsu algorithm, in order to select the object of interest (leaf) from the background of the image. This algorithm establishes an optimal threshold to separate the image from the background and delivers a binary image, with a numerical value of zero (background) and one (leaf area). Subsequently, a 5×5 Gaussian filter was applied to remove imperfections from the image of the segmented leaf. Based on the importance of leaf venation as the main identifier of plants, three samples (30×30 pixels) were extracted from each preprocessed image, in two specific leaf areas: the central nerve and the tertiary nerve (Grinblat *et al.*, 2016; Lee *et al.*, 2017). Image samples were transformed to RGB (red, green, blue) and HSV (hue, saturation, value) color spaces. Image representation in the HSV color space improves the performance of learning models (Łuszczkiewicz-Piątek, 2014; García-Mateos *et al.*, 2015). RGB is an additive color space represented by three color channels (red, green, and blue); each channel has a 0-255 variation in the discrete range. HSV is a nonlinear transformation of the RGB color space, defined by three characteristics: hue, with 0-360 values; saturation, with 0-1 values; and brightness, with 0-1 values.

Creating the Training Datasets

Six data input scenarios were developed with the triplets obtained from the two RGB and HSV color spaces and the three leaf positions (upper, lower, and both sides): E1, upper and lower side in RGB format; E2, upper and lower side in HSV format; E3,

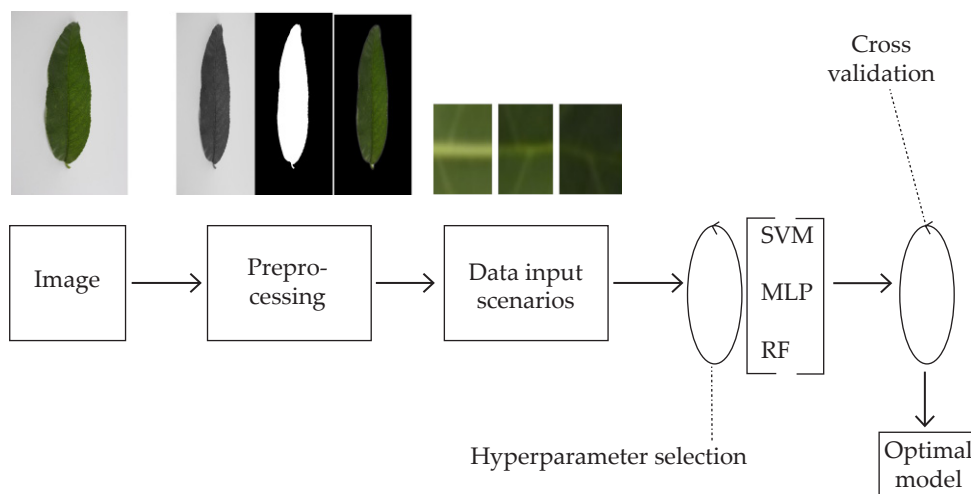


Figure 2. Stages for the implementation of machine learning support vector machine (SVM), random forest (RF), and multilayer perceptron (MLP) models.

upper side in RGB format; E4, upper side in HSV format; E5, lower side in RGB format; and E6, lower side in HSV format. The three scenarios with the RGB color space are:

E1 = [upper or lower side, R, G, B]

E3 = [upper side, R, G, B]

E5 = [lower side, R, G, B]

where E1 has four characteristics: leaf position (upper or lower side), RGB triplet (R, G, B), E3 RGB triplet (upper side), and E5 RGB triplet (lower). For the HSV space, scenarios E2, E4, and E6 are defined with the HSV triplet (H, S, V), in a similar way to E1, E3, and E5.

The datasets for each scenario were refined through the elimination of repeated records within each class (based on the leaf side). Subsequently, the same procedure was applied to eliminate repeated records between classes, in order to obtain unique values for each class.

Machine Learning Models

Multiclass Support Vector Machine

The multiclass support vector machine (SVM) classifier is a machine learning algorithm proposed by Boser *et al.* (1992). The SVM optimization finds an optimal hyperplane as a solution to the learning problem. This hyperplane defines the decision limits of the input characteristic vectors. A new sample is classified according to its distance from the hyperplane. An optimal hyperplane has the maximum distance to the data point closest to each target class; this maximum distance is known as the margin (Evgeniou and Pontil, 2001).

An optimization problem with restrictions has a dual form. That is, the Karush-Kuhn-Tucker (KKT) conditions solve two problems: the primal problem and the dual problem.

The primal problem is defined as:

$$J(w, b, \xi) = \min_{w, b, \xi} \frac{1}{2} w^T w + c \sum_{i=1}^n \xi_i$$

where the target function of SVM is to maximize the margin, which is equivalent to minimizing $\|w\|^2 = w^T w$, subject to the following restriction:

$$y_i (w_0 \phi(x_i) + b) \geq 1 - \xi_i$$

where w is the weight vector of the hyperplane; b is the bias; $\xi_i \geq 0$, $i = 1, \dots, n$ is a slack variable aimed at avoiding convergence problems in non-linearity cases; $x_i \in \mathbb{R}^p$ is the vector of p input characteristics; y_i is the target class of the i -th sample; and n is the number of samples.

The C hyperparameter controls the penalty of an erroneous classification. This hyperparameter is used to control the width of the margin.

The dual problem is defined as:

$$\min_{\alpha} \frac{1}{2} \alpha^T Q \alpha - e^T \alpha$$

Subject to: $y^T \alpha = 0$ and $0 \leq \alpha_i \leq C, i = 1, \dots, n$.

where e is a vector of ones; and Q is a positive semidefinite $n \times n$ matrix, set forth as follows:

$$Q_{ij} = y_i y_j K(x_i, x_j)$$

where $K(x_i, x_j) = \phi(x_i)^T \phi(x_j)$ is a kernel function. The response of the model optimized for a x_i sample, is defined by:

$$\hat{Y} = \sum_{i \in SV} y_i \alpha_i K(x_i, x_j) + b$$

where $K(x_i, x_j)$ is used to solve nonlinear problems. The training data are transformed to another dimension by means of a $\phi()$ function; then, SVM is trained with the new characteristics that map the new space. The Gaussian kernel (*rbf*, radial basis function) is the most common and is expressed as:

$$K(x_i, x_j) = \exp(-\gamma \|x_i - x_j\|^2)$$

where $\gamma = \frac{1}{2\sigma^2}$ is another hyperparameter to be optimized, σ is the width of the Gaussian kernel (Savas and Dövis, 2019). Linear and sigmoid kernels are also used.

Random Forest

RF is a learning algorithm based on a technique known as ensemble learning and consists of a set of decision trees (Breiman, 2001). This method is known as a hard voting classifier. This technique uses a set of classifiers to predict, based on a x_i sample; the predicted class gets most of the votes.

RF training uses the bagging resampling method, which consists of a new sampling in which the training set for each algorithm in the set is replaced (Breiman, 1996). A pasting resampling method without replacement can also be used (Breiman, 1999).

The target function of a decision tree seeks to increase the information gain (IG) at each node. Starting at the root of the tree, data are divided based on IG; that is to say, the degree of nodes with samples that belong to a single class depends on the impurity. The IG function is set forth as:

$$IG(D_p, f) = I(D_p) - \sum_{j=1}^n \frac{N_j}{N_p} I(D_j)$$

where f is the function that divides the data; D_p and D_j are the data sets of the parent node and the j -th son; I is the impurity metric; N_p is the number of samples in the parent node; N_j is the number of samples in the j -th son.

IG is higher when the impurity of the son is lower. Impurity is a criterion for the division of the data along the tree. The Gini and cross-entropy criteria are the cost or loss functions used to optimize RF. The cross-entropy criterion is defined by:

$$I_c(t) = - \sum_{i=1}^c p(i|t) \log_2 p(i|t)$$

where $p(i|t)$ is the rate of samples belonging to the i target class in the t node; and c is the total number of target classes. The entropy is zero if all the samples of the node belong to the same class and it is greater if the classes are uniformly distributed. The entropy criterion seeks to maximize the mutual information in the tree, while the Gini criterion seeks to minimize the probability of an erroneous classification, just like the entropy criterion, Gini is higher if the classes are uniformly distributed. The Gini index is defined by:

$$I_G(t) = 1 - \sum_{i=1}^c p(i|t)^2$$

RF is an ensemble method for random decision trees, which has two basic hyperparameters: the number of random trees (nar) for the algorithm and their maximum depth ($pmax$); each random tree is assigned a different sample of the data (bagging).

Multilayer Perceptron

The multilayer perceptron (MLP) classifier is a machine learning algorithm that learns from a training dataset and a $f(\cdot): \mathbb{R}^p \rightarrow \mathbb{R}^c$ function where p is the number of input characteristics and c is the total number of target classes. Given a $x \in \mathbb{R}^p$ data set and $y \in \mathbb{R}^c$ target classes, the algorithm approximates a nonlinear function in order to classify an input sample with its target classes. A standard MLP model has an input layer that represents the input variables, a hidden layer, and an output layer. The hidden layer has nm neurons (hyperparameter) and each neuron transforms the input data and weights (*i.e.*, the $w_1x_1 + w_2x_2 + \dots + w_mx_m$ linear combination), by means of an activation function. The output layer receives the values from the hidden layer and transforms them into output target classes, via another activation function. The process that takes

data from the input layer to the last output layer is known as forward propagation. The training of the MLP classifier uses the backpropagation error algorithm (Rumelhart *et al.*, 1986).

Backpropagation error consists of using the responses obtained with forward propagation in each cycle to calculate the gradients of the cost function with regard to the parameters of the last layer. This procedure is applied in the hidden layer(s). The weights are updated in each layer until the training epochs are finished (1000 in this research) or a stop condition is defined (tolerance error). The function to be optimized by means of the descending gradient is the multiclass cross-entropy cost (J) function (Ho and Wookey, 2020) which is defined as follows:

$$J = -\frac{1}{n} \sum_k^c \sum_j^n y_i^k \log(f_w(x_j))$$

where: n is the number of samples used in training, c is the number of classes, y_i^k is the class to which the i sample of the k class belongs, and f_w is the output of the MLP function that receives as input the vector of the x_j characteristics.

The following optimization procedures were used in this research: stochastic gradient descent (SGD), adam (Kingma and Ba, 2014), and L-BFGS (Limited-memory Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno).

The activation functions that were used to optimize the MLP were linear rectifier —defined as $ReLU = \max(0, x)$ — and hyperbolic tangent —defined as $\tanh(x) = \frac{e^x - e^{-x}}{e^x + e^{-x}}$ —, where x is an input data.

Performance Metrics

The metrics used to evaluate the performance of the classifiers were: overall classification accuracy (Acc), $F1$ macro, AUC macro, accuracy (P), sensitivity (S), $F1$, and area under the ROC curve (AUC). Acc is the total rate of correctly predicted samples, which in case of binary classification is obtained as follows:

$$Acc = (TP + TN) N^{-1}$$

where TP are the true positives (number of samples correctly predicted as positive); TN are the true negatives (number of samples correctly predicted as negative); and N is the total number of predicted samples.

P is the rate of true positives with respect to the total of predicted positives; it is obtained as follows:

$$P = TP (TP + FP)^{-1}$$

where FP are the false positives (number of negative samples predicted as positive). S is the rate of true positives with respect to the total number of positives observed, as defined by:

$$S = TP / (TP + FN)$$

where FN are the false negatives, number of positive samples predicted as negative. Finally, $F1$ it is the harmonic mean of P and S , which is obtained by:

$$F1 = 2(P \cdot S) / (P + S)$$

Where $F1_{macro}$ is the average of the $F1$ values obtained by target class; it is obtained as follows:

$$F1_{macro} = \frac{1}{c} \sum_{i=1}^c F1_i$$

where c is the total number of target classes; and $F1_i$ is the value of the $F1$ metric of the i class.

Values close to one of the described metrics indicate good model performance. AUC is the area under the ROC curve, which is the graph of the IP rate (IVP) versus the FP rate (TFP) for different decision thresholds; a value close to one represents an optimal model. This metric provides information on the ability of the model to discriminate between classes; the closer the area is to a given model, the model's ability to discriminate between classes improves (Fawcett, 2006). AUC_{macro} is the mean of the area under the ROC curve evaluated for each target class.

Classifier Training

The training of the SVM, RF, and MLP classifiers consists of two stages: the selection of optimal hyperparameters and the evaluation of the prediction performance ability to obtain an optimal model.

Data Standardization

The input characteristics of the six data scenarios were standardized as follows:

$$f_{ij} = \frac{x_{ij} - \mu_j}{\sigma_j}$$

where f_{ij} represents an element of the standardized characteristic matrix; $i = 1, 2, \dots, n$; n is the total number of observations or samples; $j = 1, 2, \dots, m$; m is the number of characteristics of the i -th sample; x_{ij} is the j -th characteristic of the i -th sample; σ_j is the

standard deviation of the j -th characteristic; and μ_j is the mean of the j -th characteristic. The data is standardized with $\mu = 0$ and $\sigma = 1$.

Selection of Optimal Hyperparameters

The optimal hyperparameters for each classifier (SVM, RF, and MLP) were selected through the application of the grid search method and the cross-validation (CV) procedure, with $k = 5$ random partitions of the training data subset (80 %). The CV procedure consists of subdividing the training set into k disjoint random partitions and generating k training and validation subsets. Each training subset is formed with $k - 1$ partitions, and the validation subset is formed with the remaining partition. Based on a finite set of hyperparameter values (Table 1), a combination is selected, and the model is trained k times by means of a CV, obtaining the average performance (Acc); subsequently, the combination of the values with the highest average performance of the classifier is selected.

Evaluation of the Prediction Performance of the Classifiers

The evaluation of the prediction performance of the SVM, RF, and MLP classifiers was carried out using the optimal hyperparameters, selected by means of a CV, with $k = 10$ partitions of the complete dataset. Ten training data subsets (90 %) and ten test subsets (10 %) were developed. For each test subset, the Acc , $F1$ macro, and AUC macro global performance metrics were calculated, as well as the P , S , $F1$ and AUC metrics per target class. The average prediction performance of each metric for each classifier was then obtained.

RESULTS AND DISCUSSION

Preprocessed Images

Leaf images were segmented from the background and filtered for analysis (Figure 3). From the total set of collected images, 80 pairs of images (upper and lower side)

Table 1. Hyperparameter sets and value intervals used in the grid search for the support vector machine (SVM), random forest (RF), and multilayer perceptron (MLP) models.

Models		Hyperparameters			
SVM	γ^{I}	γ^{I}		k^{S}	
	[0.0001, 0.001, 0.01, 0.1, 1.0, 10.0, 100.0]	[0.0001, 0.001, 0.01, 0.1, 1.0, 10.0, 100.0, 1000.0]		sigmoid and <i>rbf</i>	
RF	nar^{P}	$pmax^{\text{II}}$		$crit^{\text{++}}$	
	[50, 100, 150, 200]	[10, 15, 20]		Gini and entropy	
MLP	fa^{III}	opt^{SS}		nn^{bb}	
	ReLU and <i>tanh</i>	<i>sgd</i> , <i>adam</i> , L-BFGS		[50, 100, 150, 200]	α^{mm} [0.001, 0.5, 1]

γ^{I} : penalty hyperparameter; γ^{I} : gamma hyperparameter; k^{S} : kernel; nar^{P} : number of trees; $pmax^{\text{II}}$: maximum depth; $crit^{\text{++}}$: impurity criterion; fa^{III} : activation function; opt^{SS} : optimizer; nn^{bb} : number of neurons; α^{mm} : alpha hyperparameter.

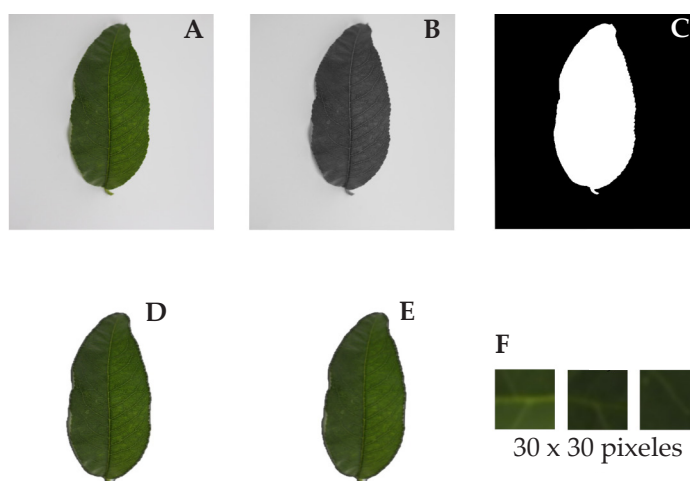


Figure 3. Image preprocessing. A: original image; B: gray scale; C: Otsu segmentation; D: object of interest; E: Gaussian filter application; and F: cuttings of areas of interest, central nerve, and secondary nerve (30 × 30 pixels each).

were randomly selected per each peach variety or target class. Three 30 × 30 pixel samples from two leaf areas (central nerve and tertiary nerve) were extracted from each image. For each target class, 480 image samples were obtained —*i.e.*, 432 000 pixels represented in three RGB or HSV color channels.

Color pixel sets were reduced to approximately 0.5 % of the original set, once repeated pixels were removed from classes and target classes. The high color similarity between the four peach varieties explained those repetitions (Table 2).

Data Input Scenarios

The datasets in each scenario varied according to the position of the leaf (upper and/or lower side) and the target class (Table 2).

Table 2. Description of the six data input scenarios and the number of color pixel samples representative of each target class (peach variety).

Clases	Data input scenarios					
	E1 [†]	E2 [‡]	E3 [§]	E4 [¶]	E5 [•]	E6 ^{††}
V1 ^{¶¶}	2778		1871		907	
V2 ^{§§}	1906		738		1168	
V3 ^{¶¶}	2285		1041		1244	
V4 ^{••}	2538		676		1862	

[†]E1: upper and lower side in RGB format; [‡]E2: upper and lower side in HSV format; [§]E3: upper side in RGB format; [¶]E4: upper side in HSV format; [•]E5: lower side in RGB format; ^{††}E6: lower side in HSV format; ^{¶¶}V1: CP-03-06 variety; ^{§§}V2: Oro Azteca variety; ^{¶¶}V3: Oro San Juan variety; ^{••}V4: Cardenal variety.

Optimal Hyperparameters

The values of the optimal hyperparameters of the SVM, RF, and MLP classifiers were selected based on the maximum average *Acc* for each classifier and input scenario; the best optimization of SVM was achieved through a Gaussian kernel (Table 3). The optimal hyperparameters of each classifier were used to evaluate the global and specific prediction performance for each peach variety.

Evaluation of the Prediction Performance

The evaluation of the prediction performance of SVM, RF, and MLP was carried out with the *Acc* and *F1 macro* average metrics for the six input scenarios. SVM outperformed RF and MLP in E4, with 84.1 % (*Acc*) and 83.7 % (*F1 macro*). The three classifiers obtained the best performance in scenario E4, upper side of the leaves transformed to the HSV color space (Table 4); these results match other color-based classification studies, including the one carried out by Dubey and Jalal (2012), where they confirm that the representation in the HSV color space (instead of RGB) improves the performance of the classifiers.

The lowest performance metrics were obtained in E5 and E6 (color of the lower side of the leaf). Including the color of the lower side did not improve performance in scenarios E1 and E2 (Table 2). The models trained with HSV color data (E2, E4, and E6) achieved better performance than models trained with RGB data (E1, E3, and E5) (Table 4). In terms of the *Acc* metric, SVM and RF performed better than MLP. The performance of the three classifiers showed a similar dispersion (Figure 4).

The discrimination performance of the SVM classifier for each peach variety or target class was obtained with the *P*, *S*, *F1*, and *AUC* metrics, in scenario E4. The V2 class

Table 3. Optimal hyperparameters of the SVM (support vector machine), random forest (RF), and multilayer perceptron (MLP) classifiers in E2^s and E4^b input scenarios.

Model	Scenario	Optimal hyperparameters			
SVM	E2 ^b	C ⁺	γ [¶]	<i>k</i> [§]	
	E4 ^u	10.0	10.0	<i>rbf</i>	
RF		1.0	10.0	<i>rbf</i>	
		<i>nar</i> ⁺⁺	<i>pmax</i> ^{¶¶}	<i>crit</i> ^{§§}	
	E2	100	20	<i>Gini</i>	
	E4	200	20	<i>Gini</i>	
MLP		<i>fa</i> ^{bb}	α ^{'''}	<i>opt</i> ⁺⁺⁺	<i>nn</i> ^{¶¶¶}
	E2	ReLU	0.001	<i>adam</i>	150
	E4	ReLU	0.001	<i>adam</i>	150

⁺C: penalty hyperparameter; [¶] γ : gamma hyperparameter; [§]*k*: kernel; ^bE2: upper and lower side, HSV; ^uE4: upper side, HSV; ⁺⁺*nar*: number of trees; ^{¶¶}*pmax*: maximum depth; ^{§§}*crit*: impurity criterion; ^{bb}*fa*: activation function; ^{'''} α : alpha hyperparameter; ⁺⁺⁺*opt*: optimizer; ^{¶¶¶}*nn*: number of neurons.

Table 4. Prediction performance metrics (average and standard deviation) of the support vector machine (SVM), random forest (RF), and multilayer perceptron (MLP) classifiers for each input scenario.

Scenario	Classifiers					
	SVM [†]		RF [‡]		MLP ^{§b}	
	Acc ^{‡‡}	F1 macro ^α	Acc	F1 macro	Acc	F1 macro
E1 ^b	0.787+/-0.010	0.787+/-0.010	0.744+/-0.010	0.744+/-0.010	0.718+/-0.016	0.719+/-0.016
E2 ^{††}	0.812+/-0.013	0.811+/-0.013	0.812+/-0.14	0.812+/-0.14	0.74+/-0.012	0.74+/-0.012
E3 ^{§§}	0.805+/-0.023	0.800+/-0.024	0.758+/-0.020	0.749+/-0.023	0.747+/-0.026	0.736+/-0.027
E4 ^{bb}	0.841+/-0.020	0.837+/-0.022	0.829+/-0.019	0.823+/-0.021	0.77+/-0.026	0.763+/-0.027
E5 [≡]	0.57+/-0.010	0.541+/-0.012	0.513+/-0.020	0.489+/-0.021	0.532+/-0.017	0.444+/-0.020
E6 ⁺⁺⁺	0.663+/-0.013	0.637+/-0.013	0.714+/-0.013	0.698+/-0.014	0.622+/-0.023	0.586+/-0.023

^bAcc: Average correct classification accuracy; ^αF1 macro; ^{††}E1: upper and lower side, RGB; ^{‡‡}E2: upper and lower side, HSV; ^{§§}E3: upper side, RGB; ^{bb}E4: upper side, HSV; [≡]E5: lower side, RGB; ⁺⁺⁺E6: lower side, HSV.

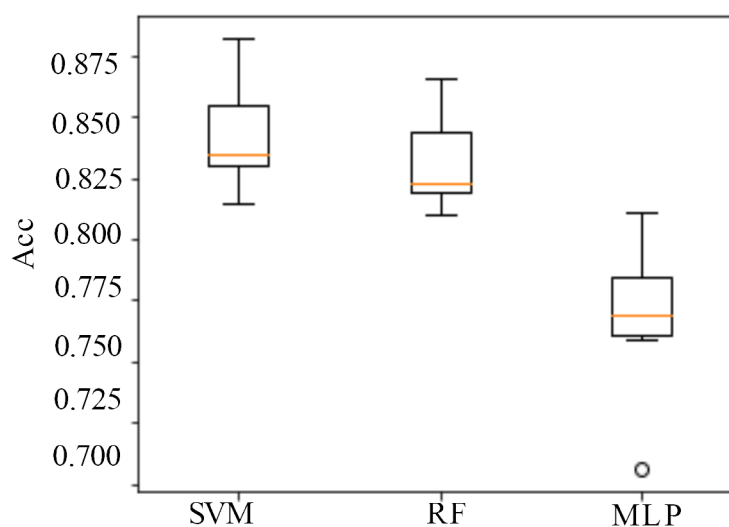


Figure 4. Comparison of the average correct classification accuracy of support vector machine (SVM), random forest (RF), and multilayer perceptron (MLP) classifiers, in input scenario E4 (upper side in HSV color space).

(Oro Azteca variety) was the best classified, with an average F1 of 87.9 %. V3 (Oro San Juan variety) obtained the lowest average F1 (74.8 %). F1 (*P* and *S* harmonic mean) is a more conservative estimator of classifier performance than *P* and *S*, with regard to the identification of each target class (Table 5).

Table 5. Performance metrics (average prediction) of the support vector machine (SVM) classifier in scenario E4, based on cross-validation ($k = 10$).

Class	P^a	S^{++}	$F1^{**}$
V1 [†]	0.855+/-0.013	0.880+/-0.017	0.867+/-0.009
V2 [‡]	0.911+/-0.025	0.849+/-0.041	0.879+/-0.020
V3 [§]	0.766+/-0.068	0.732+/-0.065	0.748+/-0.062
V4 [¶]	0.816+/-0.064	0.860+/-0.060	0.837+/-0.055

Peach varieties: [†]V1, CP-03-06; [‡]V2, Oro Azteca; [§]V3, Oro San Juan; and [¶]V4, Cardenal. ^aP: Accuracy. ⁺⁺S: Sensitivity. ^{**}F1: F1 Metric.

The SVM classifier obtained its best performance in the identification of the V2 target class (in terms of the area under the ROC curve) with AUC (95 %) and the lowest performance in the identification of V3 with AUC (87 %) (Figure 5). Both metrics ($F1$ and AUC) have the same the SVM classification ability.

In the SVM confusion matrix of in E4 scenario (Table 6), the classifier predicts V2 with greater accuracy ($P = 91.1$ %), when the classifier confuses V2 with V1 (FP = 27), with V3 (FP = 13), and with V4 (FP = 22); likewise, SVM identified V3 with lower $P = 76.6$ % and V3 with V1 (FP = 149), V2 (FP = 43), and V4 (FP = 41). These results show that color is not enough to discriminate varieties with a high performance (> 90 %), as a consequence of the color characteristics of the upper side of the leaf, which is very similar among peach varieties.

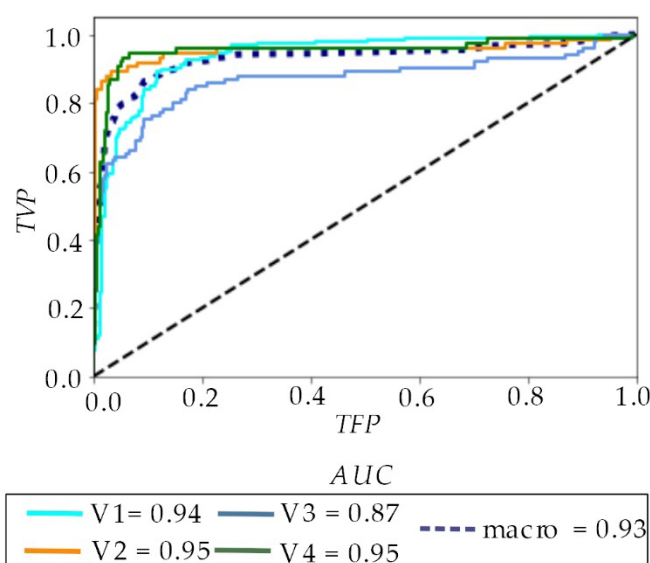


Figure 5. Area under the ROC curve (AUC) of the support vector machine (SVM) classifier obtained by CV cross-validation ($k = 10$) in the tenth iteration, scenario E4; TVP : true positive rate; TFP : false positive rate.

Table 6. Confusion matrix of peach varieties (classes), predicted *vs.* observed, support vector machine (SVM) classifier, cross-validation (CV), scenario E4 (upper side and HSV color space), k = 10 partitions (total dataset).

Class Observed	Predicted			
	V1	V2	V3	V4
V1 [†]	1647	27	149	47
V2 [‡]	40	629	43	28
V3 [§]	208	13	762	57
V4 [¶]	32	22	41	585

Peach varieties: [†]V1, CP-03-06; [‡]V2, Oro Azteca; [§]V3, Oro San Juan; [¶]V4, Cardenal.

The models that achieved the highest performance in this research were trained with data transformed to the HSV color space, in accordance with the research carried out by Dubey and Jalal (2012) and the results obtained by Łuszczkiewicz-Piątek (2014) and García-Mateos *et al.* (2015) regarding the improvement in the performance of the models in which the HSV color space is used.

The classifiers that were trained with color data from the lower side obtained a very low performance; regardless of the color space, a maximum *Acc* of 71.4 % and a minimum *Acc* of 51.3 % were obtained. The chromatic data of the lower side of the leaf did not contribute to the improvement of the performance of the models, in scenarios E1, E2, E5, and E6 (Table 4).

A limitation of color-based variety classification is data reduction after repeated pixel samples are removed; in the image samples, 99.5 % of the total pixels obtained were removed. Even with this limitation, SVM obtained an average *Acc* of 84.1 %. As suggested by Caglayan *et al.* (2013), the combination of color with shape descriptors improves the performance of classification models.

CONCLUSIONS

The support vector machine (SVM) —a supervised learning classifier— had a better prediction performance in the identification of four peaches varieties than the random forest (RF) and multilayer perceptron (MLP) classifiers. The peach varieties in question were CP-03-06 (V1), Oro Azteca (V2), Oro San Juan (V3), and Cardenal (V4). The best performance of the classifiers was obtained in input scenario E4, which consisted of using images of the upper side of the leaves transformed to the HSV color space. In this scenario, SVM achieved an average overall classification accuracy (*Acc*) of 84.1 % and an average *F1 macro* of 83.7 %. In terms of the ability of the classifier to identify a specific variety, SVM ranked higher than the Oro Azteca variety, with an average score *F1* of 87.9 % and an area under the ROC curve of 95 %.

The transformation of digital images to the HSV color space was more suitable than the RGB color space for the improvement of the prediction performance of the SVM,

RF, and MLP classifiers. Likewise, the use of the color of the upper side of the leaf was more relevant than the color of the lower side or its joint use. Consequently, the three classifiers used in this research achieved their best performance with the upper side of the leaf data transformed to HSV color space. The automatic identification of characteristics of interest in plants based on artificial intelligence techniques has a great potential application in agriculture. This research shows how it can be applied in the identification of peach varieties.

ACKNOWLEDGMENTS

This research was funded by Estancias de Investigación Especializadas COMECYT 2021, classification code EESP2021-007.

REFERENCES

- Ayala ND, Cervantes JC, García FL, Ayala de la Vega J, Calderón GZ. 2020. A hybrid convolutional neural network for complex leaves identification. *In: Huang DS, Bevilacqua V, Hussain A. (eds.); Intelligent Computing Theories and Application. ICIC 2020. Lecture Notes in Computer Science, Springer: Cham, Switzerland 12463: 291–301.* https://doi.org/10.1007/978-3-030-60799-9_25
- Boser BE, Guyon IM, Vapnik VN. 1992. A training algorithm for optimal margin classifiers. *In: Proceedings of the Fifth Annual Workshop on Computational Learning Theory. ACM: Pittsburgh, PA, USA 144–152.* <https://dx.doi.org/10.1145/130385.130401>
- Breiman L. 1996. Bagging predictors. *Machine Learning* 24: 123–140. <https://dx.doi.org/10.1023/A:1018054314350>
- Breiman L. 1999. Pasting small votes for classification in large databases and on-line. *Machine Learning* 36: 85–103. <https://dx.doi.org/10.1023/A:1007563306331>
- Breiman L. 2001. Random forests. *Machine Learning* 45: 5–32. <https://dx.doi.org/10.1023/A:1010933404324>
- Caglayan A., Guclu O, Can AB. 2013. A plant recognition approach using shape and color features in leaf Images. *In: Petrosino, A. (eds.) Image Analysis and Processing ICIAP 2013. Lecture Notes in Computer Science, Springer: Berlin, Germany 8157: 161–170.* https://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-41184-7_17
- Cervantes J, Garcia FL, Rodriguez LM, Zarco AH, Ruiz JSC. 2018. Complex Identification of Plants from Leaves. *In: Huang DS, Gromiha M, Han K, Hussain A. (eds.) Intelligent Computing Methodologies. ICIC 2018. Lecture Notes in Computer Science, Springer: Cham, Switzerland 10956: 376–387.* https://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-95957-3_41
- Dubey SR, Jalal AS. 2012. Detection and classification of apple fruit diseases using complete local binary patterns. *In: Third International Conference on Computer and Communication Technology 346–351.* <https://dx.doi.org/10.1109/ICCCT.2012.76>
- Evgeniou T, Pontil M. 2001. Support vector machines: theory and applications. *In: Paliouras G, Karkaletsis V, Spyropoulos CD. (eds.) Machine Learning and Its Applications. ACAI 1999. Lecture Notes in Computer Science, Springer: Berlin, Germany 2049: 249–257.* https://dx.doi.org/10.1007/3-540-44673-7_12
- Fawcett T. 2006. An introduction to ROC analysis. *Pattern Recognition Letters* 27 (8): 861–874. <https://dx.doi.org/10.1016/j.patrec.2005.10.010>
- García-Mateos G, Hernández-Hernández JL, Escarabajal-Henarejos D, Jaén-Terrones S, Molina-Martínez JM. 2015. Study and comparison of color models for automatic image analysis in irrigation management applications. *Agricultural Water Management* 151 (31): 158–166. <https://dx.doi.org/10.1016/j.agwat.2014.08.010>
- Grinblat GL, Uzal LC, Larese MG, Granitto PM. 2016. Deep learning for plant identification using vein morphological patterns. *Computers and Electronics in Agriculture* 127: 418–424. <https://dx.doi.org/10.1016/j.compag.2016.07.003>
- Ho Y, Wookey S. 2020. The real-world-weight cross-entropy loss function: modeling the costs of mislabeling. *IEEE Access* 8: 4806–4813. <https://dx.doi.org/10.1109/ACCESS.2019.2962617>
- Kingma DP, Ba J. 2014. Adam: a method for stochastic optimization. *arXiv: 1412.6980*.

- Larese, MG, Bayá AE, Craviotto RM, Arango MR, Gallo C, Granitto PM. 2014. Multiscale recognition of legume varieties based on leaf venation images. *Expert Systems with Applications* 41 (10): 4638–4647. <https://dx.doi.org/10.1016/j.eswa.2014.01.029>
- Lee SH, Chan CS, Mayo SJ, Remagnino P. 2017. How deep learning extracts and learns leaf features for plant classification. *Pattern Recognition* 71: 1–13. <https://dx.doi.org/10.1016/j.patcog.2017.05.015>
- Liu N, Kan J. 2016. Improved deep belief networks and multi-feature fusion for leaf identification. *Neurocomputing* 216: 460–467. <https://dx.doi.org/10.1016/j.neucom.2016.08.005>
- Łuszczkiewicz-Piątek M. 2014. Which color space should be chosen for robust color image retrieval based on mixture modeling? *In: S. Choras, R. (eds.) Image Processing and Communications Challenges 5. Advances in Intelligent Systems and Computing*. Springer: Heidelberg, Germany 233: 55–64. https://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-01622-1_7
- Rumelhart D, Hinton GE, Williams R. 1986. Learning representations by back-propagating errors. *Nature* 323: 533–536. <https://doi.org/10.1038/323533a0>
- SADER (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural). 2018. Michoacán primer lugar en producción de durazno a nivel nacional. <https://www.gob.mx/agricultura/michoacan/articulos/michoacan-primer-lugar-en-produccion-de-durazno-a-nivel-nacional?idiom=es> (Retrieved: September 2021)
- Savas C, Dövis F. 2019. The impact of different kernel functions on the performance of scintillation detection based on support vector machines. *Sensors* 19 (23). <https://doi.org/10.3390/s19235219>
- SIAP (Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera). 2020. Datos Abiertos Estadística de Producción Agrícola. <http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos.php> (Retrieved: August 2021).
- UPOV (Unión internacional para la protección de las obtenciones vegetales). 2022. Durazno/melocotonero: directrices para la ejecución del examen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad. https://www.upov.int/test_guidelines/es/list.jsp (Retrieved: April 2022)
- Wäldchen J, Mäder P. 2018. Plant species identification using computer vision techniques: a systematic literature review. *Archives of Computational Methods in Engineering* 25:507–543. <https://dx.doi.org/10.1007/s11831-016-9206-z>
- Wang Z, Sun X, Zhang Y, Ying Z, Ma Y. 2016. Leaf recognition based on PCNN. *Neural Computing and Applications* 27: 899–908. <https://dx.doi.org/10.1007/s00521-015-1904-1>
- Wu SG, Bao FS, Xu EY, Wang Y, Chang Y, Xiang Q. 2007. A leaf recognition for plant classification using probabilistic neural network. *In: IEEE International Symposium on Signal Processing and Information Technology* 11–16. <https://dx.doi.org/10.1109/ISSPIT.2007.4458016>
- Xia C, Lee J, Li Y, Song Y, Chung B, Tae-Soo Chon. 2013. Plant leaf detection using modified active shape models. *Biosystems Engineering* 116 (1): 23–35. <https://dx.doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2013.06.003>

EVALUACIÓN DE MODELOS DE APRENDIZAJE AUTOMÁTICO PARA IDENTIFICAR VARIEDADES DE DURAZNO A PARTIR DEL COLOR DE LA HOJA

Daniel Ayala-Niño¹, Juan Manuel González-Camacho^{1*}

¹ Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, Posgrado en Socioeconomía, Estadística e Informática-Cómputo Aplicado, Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56230.

* Autor para correspondencia: jmgc@colpos.mx

RESUMEN

Los enfoques de aprendizaje automático y aprendizaje profundo se aplican en diferentes campos del sector agrícola; en particular, en la identificación de características de interés en cultivos a partir de imágenes digitales. En esta investigación se evaluó el desempeño de tres clasificadores de aprendizaje automático: máquina de soporte vectorial (SVM), bosque aleatorio (RF) y perceptrón multicapa (MLP) para identificar cuatro variedades de durazno (*Prunus persica* L. Batsch): CP-03-06, Oro Azteca, Oro San Juan y Cardenal, con base en el color de imágenes digitales de hojas (haz y envés) representadas en dos espacios de color RGB (*red, green, blue*) y HSV (*hue, saturation, value*). Los clasificadores se entrenaron y evaluaron con base en seis escenarios de entrada de datos, definidos por las combinaciones del haz, envés y ambas caras de la hoja con los espacios de color RGB y HSV. Los tres clasificadores de aprendizaje automático SVM, RF, y MLP alcanzaron su mejor desempeño en predicción con base en las características de color del haz de las hojas transformadas al espacio de color HSV. El clasificador SVM superó a RF y MLP. SVM alcanzó una precisión global de clasificación correcta promedio de 84.1 %, *F1 macro* de 83.7 % y área bajo la curva ROC (*AUC macro*) de 0.93. La variedad Oro Azteca alcanzó la tasa de clasificación más alta con un puntaje *F1* de 87.9 % y la variedad Oro San Juan obtuvo la tasa más baja con *F1* de 71.3 %.

Palabras clave: Bosque aleatorio, máquina de soporte vectorial, clasificación supervisada, *Prunus persica* L. Batsch, redes neuronales, inteligencia artificial.

INTRODUCCIÓN

En México la demanda de durazno es importante, en 2020 se produjeron 172 950 Mg (SIAP, 2020). En 2018, México ocupó el séptimo lugar a nivel mundial en la producción de durazno (SADER, 2018). Las variedades de durazno de alta productividad y calidad tienen altos requerimientos de frío; por ello se han desarrollado nuevas variedades de durazno con mayor potencial productivo, calidad y con bajos requerimientos de frío. Una variedad mal seleccionada puede no florecer o hacerlo en forma anticipada durante el periodo de heladas y ocasionar una reducción o pérdida de la cosecha; por ello, resulta de interés la identificación de las variedades de durazno. El estudio y

Citation: Ayala-Niño D, González-Camacho JM. 2022. Evaluación de modelos de aprendizaje automático para identificar variedades de durazno a partir del color de la hoja.

Agrociencia. 56(4): 669-703. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i4.2810>

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: October 25, 2021.

Approved: March 30, 2022.

Published in Agrociencia:
June 20, 2022.

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



evaluación de nuevos genotipos facilita la selección de variedades con mayor potencial productivo y calidad de fruto.

La identificación de plantas por medio de las hojas es muy común, esto se debe a que la hoja bajo condiciones adecuadas dura meses o incluso años (Wang *et al.*, 2016); sin embargo, en la identificación de variedades de durazno el color de la hoja no es una característica utilizada debido a que es afectada por diversos factores bióticos, abióticos o fenológicos (UPOV, 2022). El color de la hoja se utiliza poco como descriptor debido a la similitud que existe entre variedades y dentro de una variedad sujeta a condiciones climáticas y de salud (Wäldchen y Mäder, 2018).

En la literatura se reportan diferentes enfoques para identificar plantas por medio de sus hojas. Tal como, la extracción de características (forma, textura, color y/o venación) de las hojas para entrenar un clasificador (Cervantes *et al.*, 2018).

Xia *et al.* (2013) diseñaron un sistema para la detección de hojas de pimiento a partir de plantillas que describen la forma de la hoja; estos autores utilizaron modelos de forma activa (ASM, active shape model) y perceptrón multicapa-ASM. El perceptrón multicapa-ASM obtuvo una precisión global de clasificación correcta de 85.7 % para detectar hojas simples y de 76.7 % para hojas sobrepuestas. Liu y Kan (2016) utilizaron características de forma y textura de la hoja para identificar 220 tipos de hojas; estos autores utilizaron una red de creencia profunda (DBN, deep belief network) esta red obtuvo una precisión global de clasificación correcta de 93.9 %. Caglayan *et al.* (2013) utilizaron características de forma y cromáticas de la hoja para clasificar 32 tipos de plantas del conjunto de datos Flavia (Wu *et al.*, 2007), el clasificador bosque aleatorio obtuvo una precisión global de clasificación correcta de 96 %. Dubey y Jalal (2012) propusieron un método para clasificar enfermedades en el fruto de manzana a partir de patrones binarios locales y una máquina de soporte vectorial, la cual obtuvo una precisión global de clasificación correcta de 92.6 % con el espacio de color HSV y de 88.7 % con el espacio RGB.

La venación de la hoja es otra característica que se ha utilizado en la identificación de plantas por medio de imágenes digitales. Larese *et al.* (2014) clasificaron diferentes variedades de frijol blanco, rojo y soya con una máquina de soporte vectorial entrenada con la venación de la hoja segmentada. Este modelo alcanzó una precisión global de clasificación correcta de 95.1 %. Grinblat *et al.* (2016) clasificaron diferentes variedades de legumbres, con base en la segmentación de diferentes niveles de venación de la hoja y una red neuronal convolucional (CNN, convolutional neural network) que alcanzó una precisión global de clasificación correcta de 96.9 %. La aplicación de redes neuronales convolucionales tiene relevancia en la identificación de plantas. Lee *et al.* (2017) usaron una red deconvolucional (DNN, deconvolutional neural network) para encontrar los patrones que una CNN aprende de las hojas. Estos autores propusieron un modelo CNN híbrido, con dos entradas, la primera entrada recibe la imagen de la hoja, y la segunda, un recorte de la parte central de la hoja. Con este enfoque se obtuvo una precisión global de clasificación correcta de 96.3 %. El modelo se entrenó con el conjunto de datos Malayakew, que consta de 44 tipos de plantas.

El objetivo de esta investigación fue implementar y evaluar el desempeño en predicción de tres clasificadores de aprendizaje automático: máquina de soporte vectorial, bosque aleatorio, y perceptrón multicapa para clasificar cuatro variedades de durazno (*Prunus persica* L. Batsch): V1, CP-03-06; V2, Oro Azteca; V3, Oro San Juan; y V4, Cardenal; a partir de imágenes digitales de hojas (haz y envés) de durazno transformadas a dos espacios de color RGB y HSV. Cada clasificador se entrenó y evaluó en predicción con seis escenarios de entrada de datos: i) haz y envés en formato RGB; ii) haz y envés en formato HSV; iii) haz en formato RGB; iv) haz en formato HSV; v) envés en formato RGB; y vi) envés en formato HSV.

MATERIALES Y MÉTODOS

En esta sección se describen las etapas para evaluar el desempeño en predicción de los tres clasificadores de aprendizaje automático: máquina de soporte vectorial (SVM, support vector machine), bosque aleatorio (RF, random forest) y perceptrón multicapa (MLP, multilayer perceptron). Los clasificadores se implementaron en el lenguaje de programación Python versión 3.9.5. El entrenamiento y evaluación de los modelos se realizó con la biblioteca de programas Scikit-learn versión 0.24.2 y se ejecutaron en la plataforma de modelación en la nube Google Colaboratory.

Descripción de la base de datos

La base de datos de entrenamiento se creó a partir de 741 pares de imágenes digitales de hojas (haz y envés) de cuatro variedades de durazno obtenidas del conjunto de datos peach dataset. Las imágenes corresponden a las variedades V1: CP-03-06, V2: Oro Azteca, V3: Oro San Juan, y V4: Cardenal (Figura 1). El total de pares de imágenes para cada variedad es V1 (101), V2 (207), V3 (204) y V4 (229). La base de datos está disponible en: <https://bit.ly/3cvA9MF>. Cada hoja de durazno obtenida consta de un par de imágenes (haz y envés). Las hojas de durazno maduras se colectaron de árboles sanos en el campo experimental del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Todas las imágenes tienen una resolución de 72 pixeles por pulgada; tamaño de 720 × 480 pixeles en formato JPG; y se capturaron con una cámara Canon EOS REBEL T5i, en un entorno controlado con luz artificial y fondo blanco (Ayala *et al.*, 2020).

La implementación de los modelos de aprendizaje automático se realizó con base en las siguientes etapas: obtención del conjunto de datos, preprocesamiento de datos, extracción de características, selección de hiperparámetros y prueba en predicción de los clasificadores (Figura 2).

Preprocesamiento de imágenes

Las imágenes se segmentaron con el algoritmo Otsu para seleccionar el objeto de interés (hoja) del fondo de la imagen. Este algoritmo encuentra un umbral óptimo para segmentar la imagen del fondo y retorna una imagen binaria, con valores numéricos cero para el fondo y uno para el área de la hoja. Luego, se aplicó un filtro Gaussiano de 5 × 5 para eliminar imperfecciones en la imagen de la hoja segmentada. A cada imagen preprocesada se extrajeron tres muestras (30 × 30 pixeles) en dos áreas específicas

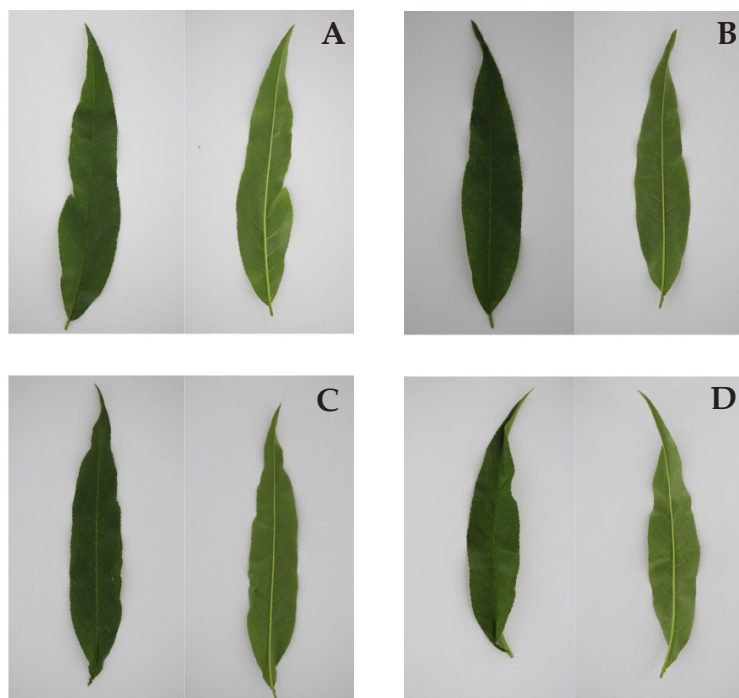


Figura 1. Haz y envés de las cuatro variedades de durazno A: variedad CP-03-06 (V1); B: Oro Azteca (V2); C: Oro San Juan (V3) y D: Cardenal (V4).

de la hoja el nervio central y el nervio terciario; esto debido a la importancia que tiene la venación de la hoja como identificador principal de las plantas (Grinblat *et al.*, 2016; Lee *et al.*, 2017).

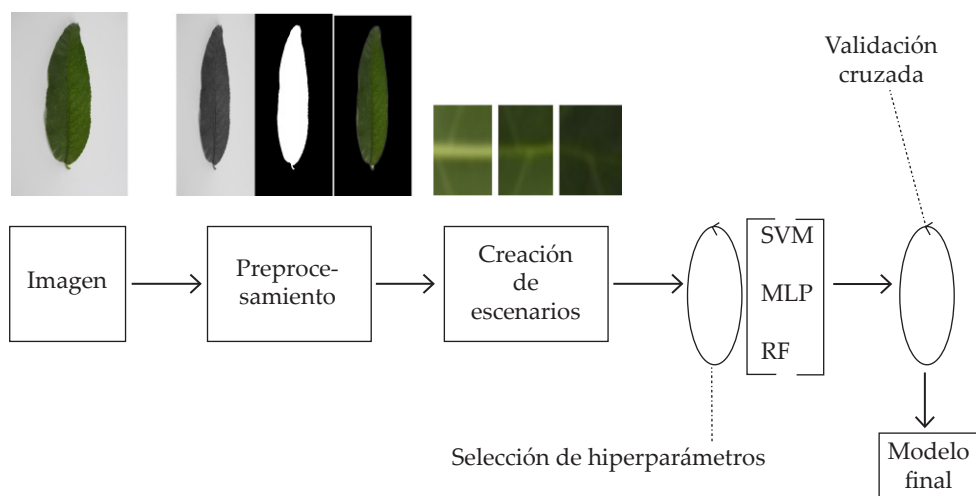


Figura 2. Etapas para la implementación de los modelos de aprendizaje automático máquina de soporte vectorial (SVM), bosque aleatorio (RF), y perceptrón multicapa (MLP).

Las muestras de imágenes se transformaron a los espacios de color RGB (red, green, blue), y HSV (*hue, saturation, value*). La representación de imágenes en el espacio de color HSV mejora el desempeño de los modelos de aprendizaje (Łuszczkiewicz-Piątek, 2014; García-Mateos *et al.*, 2015). RGB es un espacio de color aditivo que se representa por tres canales de color rojo, verde, y azul; cada canal varía en el intervalo discreto (0 - 255). HSV es una transformación no lineal del espacio de color RGB que se define con tres características i) matiz, con valores (0 - 360); ii) saturación, con valores (0 - 1); y iii) brillo con valores (0 - 1).

Creación de los conjuntos de datos de entrenamiento

Seis escenarios de entrada de datos se crearon con las tripletas obtenidas de los dos espacios de color RGB y HSV, y las tres posiciones de la hoja (haz, envés, y ambas). E1: haz y envés en formato RGB, E2: haz y envés en formato HSV, E3: haz en formato RGB, E4: haz en formato HSV, E5: envés en formato RGB, y E6: envés en formato HSV. Los tres escenarios con el espacio de color RGB son:

E1 = [haz o envés, R, G, B]

E3 = [haz, R, G, B]

E5 = [envés, R, G, B]

donde E1 consta de cuatro características, posición de la hoja (haz o envés) y la tripleta RGB (R, G, B); E3 tripleta RGB (haz) y E5 tripleta RGB (envés); para el espacio HSV los escenarios E2, E4, y E6 se definen con la tripleta HSV (H, S, V) de forma similar a E1, E3 y E5.

Los conjuntos de datos para cada escenario se depuraron por medio de la eliminación de registros repetidos dentro de cada clase según la cara de la hoja. Luego, se aplicó el mismo procedimiento para eliminar registros repetidos entre clases para obtener valores únicos en cada clase.

Modelos de aprendizaje automático

Máquina de soporte vectorial multiclase

El clasificador máquina de soporte vectorial multiclase (SVM) es un algoritmo de aprendizaje automático propuesto por Boser *et al.* (1992). La optimización de SVM consiste en encontrar un hiperplano óptimo como solución al problema de aprendizaje. Este hiperplano define los límites de decisión de los vectores de características de entrada. Una nueva muestra se clasifica según la distancia que ésta tenga con el hiperplano. Un hiperplano óptimo tiene la distancia máxima al punto de datos más cercano a cada clase objetivo, esta distancia máxima se conoce como margen (Evgeniou y Pontil, 2001).

Un problema de optimización con restricciones tiene una forma dual. Esto es, las condiciones Karush-Kuhn-Tucker (KKT) son solución para dos problemas, el problema primal y el problema dual.

El problema primal se define como:

$$J(w, b, \xi) = \min_{w, b, \xi} \frac{1}{2} w^T w + c \sum_{i=1}^n \xi_i$$

donde la función objetivo de SVM consiste en maximizar el margen, que es equivalente a minimizar $\|w\|^2 = w^T w$, sujeta a la siguiente restricción:

$$y_i (w_0 \phi(x_i) + b) \geq 1 - \xi_i$$

donde w es el vector de pesos del hiperplano; b es el sesgo; $\xi_i \geq 0$, $i = 1, \dots, n$ es una variable de holgura para evitar problemas de convergencia en casos de no linealidad; $x_i \in \mathbb{R}^p$ es el vector de p características de entrada; y_i es la clase objetivo de la i -ésima muestra; y n es el número de muestras.

El hiperparámetro C controla la penalización de una clasificación errónea. Este hiperparámetro se utiliza para controlar el ancho del margen.

El problema dual se define como:

$$\min_{\alpha} \frac{1}{2} \alpha^T Q \alpha - e^T \alpha$$

Sujeto a: $y^T \alpha = 0$ y $0 \leq \alpha_i \leq C$, $i = 1, \dots, n$.

donde e es un vector de unos; y Q es una matriz de $n \times n$ semidefinida positiva que se expresa por:

$$Q_{ij} = y_i y_j K(x_i, x_j)$$

donde $K(x_i, x_j) = \phi(x_i)^T \phi(x_j)$ es una función kernel. La respuesta del modelo optimizado para una muestra x_i se define por:

$$\hat{Y} = \sum_{i \in SV} y_i \alpha_i K(x_i, x_j) + b$$

donde $K(x_i, x_j)$ se utiliza para resolver problemas no lineales. Los datos de entrenamiento se transforman a otra dimensión por medio de una función $\phi()$; luego, SVM se entrena con las nuevas características que mapean en el nuevo espacio. El kernel Gaussiano (*rbf*, *radial basis function*) es el más común y se expresa como:

$$K(x_i, x_j) = \exp(-\gamma \|x_i - x_j\|^2)$$

donde $\gamma = \frac{1}{2\sigma^2}$ es otro hiperparámetro a optimizar, $\gamma > 0$ y σ es la amplitud o ancho del kernel Gaussiano (Savas y Dosis, 2019). Otros kernels utilizados son los kernels lineal y sigmoide.

Bosque aleatorio

RF es un algoritmo de aprendizaje que parte de una técnica llamada aprendizaje en conjunto y consiste en un conjunto de árboles de decisión (Breiman, 2001). Este método se conoce como clasificador de votación dura (*hard voting classifier*). Esta técnica utiliza un conjunto de clasificadores para predecir sobre una muestra x_j , la clase predicha es la que tiene la mayoría de los votos.

El entrenamiento de RF utiliza el método de remuestreo *bagging*, que consiste en hacer un remuestreo con remplazo del conjunto de entrenamiento para cada algoritmo del conjunto (Breiman, 1996). También se utiliza un remuestreo sin remplazo *pasting* (Breiman, 1999).

La función objetivo de un árbol de decisión busca incrementar la ganancia de información (IG, *information gain*) en cada nodo. Se inicia en la raíz del árbol, los datos se dividen en función de IG; esto es, se tienen nodos con muestras que pertenecen a una sola clase, su grado depende de la impureza. La función IG se expresa como:

$$IG(D_p, f) = I(D_p) - \sum_{j=1}^n \frac{N_j}{N_p} I(D_j)$$

donde f es la función que realiza la división de los datos; D_p y D_j son los conjuntos de datos del nodo padre y del j -ésimo hijo; I es la métrica de impureza; N_p es el número de muestras en el nodo padre; y N_j es el número de muestras en el j -ésimo hijo. IG es mayor cuando la impureza del hijo es menor. La impureza es un criterio para dividir los datos a lo largo del árbol. Las funciones de costo o pérdida utilizadas para optimizar RF son los criterios de Gini y entropía cruzada. El criterio de entropía cruzada se define por:

$$I_G(t) = - \sum_{i=1}^c p(i|t) \log_2 p(i|t)$$

donde $p(i|t)$ es la proporción de muestras que pertenecen a la clase objetivo i en el nodo t ; y c es el número total de clases objetivo. La entropía es cero si todas las muestras del nodo pertenecen a la misma clase y es mayor si las clases tienen una distribución uniforme. El criterio de entropía busca maximizar la información mutua en el árbol; mientras que, el criterio Gini busca minimizar la probabilidad de una clasificación errónea, al igual que el criterio de entropía, Gini es mayor si las clases tienen una distribución uniforme. El índice de Gini se define por:

$$I_G(t) = 1 - \sum_{i=1}^c p(i|t)^2$$

RF es un método de ensamble de árboles de decisión aleatorios, que tiene dos hiperparámetros básicos: el número de árboles (*nar*) aleatorios para el algoritmo, y su profundidad máxima (*pmax*); a cada árbol aleatorio se le asigna una muestra diferente de los datos (*bagging*).

Perceptrón Multicapa

El clasificador perceptrón multicapa (MLP) es un algoritmo de aprendizaje automático que aprende a partir de un conjunto de datos de entrenamiento y una función $f(\cdot): \mathbb{R}^p \rightarrow \mathbb{R}^c$, donde: p es el número de características de entrada y c es el número total de clases objetivo. Dado un conjunto de datos $x \in \mathbb{R}^p$ y de clases objetivo $y \in \mathbb{R}^c$, el algoritmo aproxima una función no lineal, para clasificar una muestra de entrada con su clase objetivo. Un modelo MLP estándar tiene una capa de entrada que representa las variables de entrada, una capa oculta y una capa de salida. La capa oculta tiene m neuronas (hiperparámetro), cada neurona transforma los datos de entrada y los pesos; esto es, la combinación lineal $w_1 x_1 + w_2 x_2 + \dots + w_m x_m$ por medio de una función de activación. La capa de salida recibe los valores de la capa oculta y los transforma clases objetivo de salida, por medio de otra función de activación. El proceso que lleva los datos de la capa de entrada a la última capa de salida se conoce como propagación hacia delante. El entrenamiento del clasificador MLP utiliza el algoritmo de propagación del error hacia atrás (*backpropagation error*) (Rumelhart *et al.*, 1986).

La propagación del error hacia atrás consiste en utilizar en cada ciclo, las respuestas obtenidas con la propagación hacia delante para calcular los gradientes de la función de costo con respecto a los parámetros de la última capa; este procedimiento se aplica en la capa(s) oculta(s), los pesos se actualizan en cada capa hasta que se terminen los ciclos de entrenamiento (1000 en este estudio) o se defina una condición de paro (error de tolerancia). La función a optimizar por medio del gradiente descendente es la función de costo (J) entropía cruzada multiclase (Ho y Wookey, 2020) que se define por:

$$J = -\frac{1}{n} \sum_k \sum_j y_i^k \log(f_w(x_j))$$

donde: n es el número de muestras utilizadas en el entrenamiento, c el número de clases, y_i^k es la clase a la que pertenece la muestra i de la clase k y f_w es la salida de la función MLP que recibe como entrada el vector de características x_j .

En esta investigación se utilizaron los siguientes procedimientos de optimización: gradiente descendente estocástico (SGD), adam (Kingma y Ba, 2014), y L-BFGS (Limited-memory Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno).

Las funciones de activación que se utilizaron en la optimización de MLP son rectificador lineal que se define como $ReLU = \max(0, x)$, y tangente hiperbólica que se define como $\tanh(x) = \frac{e^x - e^{-x}}{e^x + e^{-x}}$, donde x es un dato de entrada.

Métricas de desempeño

Las métricas utilizadas para evaluar el desempeño de los clasificadores fueron la precisión global de clasificación correcta (*Acc*), *F1 macro*, *AUC macro*, precisión (*P*), sensibilidad (*S*), *F1*, y área bajo la curva ROC (*AUC*). *Acc* es la proporción total de muestras predichas correctamente, en el caso de una clasificación binaria se obtiene de la siguiente manera:

$$Acc = (TP + TN) N^{-1}$$

donde *TP* son los verdaderos positivos, número de muestras predichas correctamente como positivas; *TN* son los verdaderos negativos, número de muestras predichas correctamente como negativas; y *N* es el número total de muestras predichas.

P es la proporción de positivos verdaderos con respecto al total de positivos predichos, se obtiene como:

$$P = TP (TP + FP)^{-1}$$

donde *FP* son los falsos positivos, número de muestras negativas predichas como positivas. *S* es la proporción de positivos verdaderos con respecto al total de positivos observados, se define como:

$$S = TP (TP + FN)^{-1}$$

donde *FN* son los falsos negativos, número de muestras positivas predichas como negativas.

Por último, *F1* es la media armónica de *P* y *S*, que se obtiene por:

$$F1 = 2(P \cdot S) (P + S)^{-1}$$

F1 macro es el promedio de los valores *F1* obtenidos por clase objetivo, se obtiene como:

$$F1_{macro} = \frac{1}{c} \sum_{i=1}^c F1_i$$

donde *c* es el número total de clases objetivo; y *F1_i* es el valor de la métrica *F1* de la clase *i*.

Valores cercanos a uno de las métricas descritas indican buen desempeño del modelo. *AUC* es el área bajo la curva ROC, que es la gráfica de la tasa de *IP* (*IVP*) versus la tasa de *FP* (*TFP*) para diferentes umbrales de decisión, un valor cercano a uno representa un modelo óptimo. Esta métrica brinda información sobre la capacidad del modelo

para discriminar entre clases, entre más cercana a uno es el área, mejor es el modelo para discriminar entre clases (Fawcett, 2006). *AUC macro* es el promedio aritmético del área bajo la curva ROC evaluado para cada clase objetivo.

Entrenamiento de los clasificadores

El entrenamiento de los clasificadores SVM, RF y MLP consiste en dos etapas la selección de hiperparámetros óptimos y la evaluación del desempeño en predicción para obtener un modelo óptimo.

Estandarización de los datos

Las características de entrada de los seis escenarios de datos se estandarizaron de la siguiente manera:

$$f_{ij} = \frac{x_{ij} - \mu_j}{\sigma_j}$$

donde f_{ij} representa un elemento de la matriz de características estandarizada; $i = 1, 2, \dots, n$; n es el número total de observaciones o muestras; $j = 1, 2, \dots, m$; m es el número de características de la i -ésima muestra; x_{ij} es la j -ésima característica de la i -ésima muestra; σ_j es la desviación estándar de la j -ésima característica y μ_j es la media de la j -ésima característica. Los datos se estandarizan con $\mu = 0$ y $\sigma = 1$.

Selección de hiperparámetros óptimos

La selección de los hiperparámetros óptimos para cada clasificador (SVM, RF, y MLP) consistió en aplicar el método de búsqueda por retícula y el procedimiento de validación cruzada (VC) con $k = 5$ particiones aleatorias del subconjunto de datos de entrenamiento (80 %). El procedimiento VC consiste en subdividir el conjunto de entrenamiento en k particiones aleatorias disjuntas; y generar k subconjuntos de entrenamiento y validación. Cada subconjunto de entrenamiento se forma con $k - 1$ particiones y el subconjunto de validación se forma con la partición restante.

Con base en un conjunto finito de valores de los hiperparámetros (Cuadro 1), se selecciona una combinación y se entrena el modelo k veces por medio de una VC y se obtiene el desempeño promedio (*Acc*); luego se selecciona la combinación de valores con el máximo desempeño promedio del clasificador.

Evaluación del desempeño en predicción de los clasificadores

La evaluación del desempeño en predicción de los clasificadores SVM, RF, y MLP se realizó con los hiperparámetros óptimos seleccionados, por medio de una VC ($k = 10$) particiones del conjunto total de datos. Se generaron diez subconjuntos de datos de entrenamiento (90 %) y diez subconjuntos de prueba (10 %). Para cada subconjunto de prueba, se calcularon las métricas de desempeño global *Acc*, *F1 macro*, y *AUC macro*; así como, las métricas por clase objetivo *P*, *S*, *F1* y *AUC*. Luego, se obtuvo el desempeño promedio en predicción de cada una de las métricas para cada clasificador.

Cuadro 1. Conjuntos de hiperparámetros e intervalos de valores utilizados en la búsqueda por retícula para los modelos máquina de soporte vectorial (SVM), bosque aleatorio (RF), y perceptrón multicapa (MLP).

Modelos	Hiperparámetros			
	$C^{\dagger}$	$\gamma^{\ddagger}$	$k^{\S}$	
SVM	[0.0001, 0.001, 0.01, 0.1, 1.0, 10.0, 100.0]	[0.0001, 0.001, 0.01, 0.1, 1.0, 10.0, 100.0, 1000.0]	sigmoide y <i>rbf</i>	
	nar^p	$pmax^{\pi}$	$crit^{++}$	
RF	[50, 100, 150, 200]	[10, 15, 20]	Gini y entropía	
	$fa^{\Upsilon\Upsilon}$	$opt^{\S\S}$	nn^{bb}	$\alpha^{\Xi\Xi}$
MLP	ReLU y <i>tanh</i>	<i>sgd</i> , <i>adam</i> , L-BFGS	[50, 100, 150, 200]	[0.001, 0.5, 1]

$^{\dagger}C$: hiperparámetro de penalización $^{\ddagger}\gamma$: hiperparámetro gamma; $^{\S}k$: kernel; $^p nar$: número de árboles; $^{\pi} pmax$: profundidad máxima; $^{++} crit$: criterio de impureza; $^{\Upsilon\Upsilon} fa$: función de activación; $^{\S\S} opt$: optimizador; $^{bb} nn$: número de neuronas; $^{\Xi\Xi} \alpha$: hiperparámetro alfa.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Imágenes preprocesadas

Las imágenes de hojas se segmentaron del fondo y se filtraron para su análisis (Figura 3). Del conjunto total de imágenes colectadas, se seleccionaron al azar 80 pares de imágenes (haz y envés) de cada variedad de durazno o clase objetivo. De cada imagen se extrajeron tres muestras de 30×30 píxeles en dos áreas de la hoja (nervio central y nervio terciario). Por cada clase objetivo se obtuvieron 480 muestras de imágenes, esto es 432 000 píxeles representados en tres canales de color RGB o HSV.

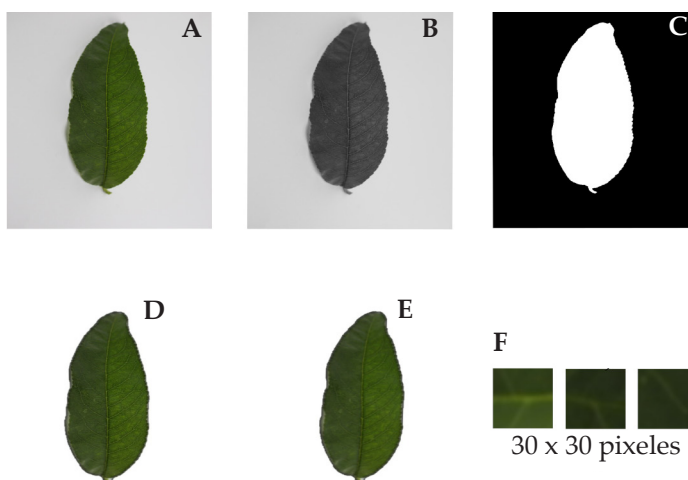


Figura 3. Preprocesamiento de imágenes, A: imagen original; B: escala de grises; C: segmentación Otsu; D: objeto de interés; E: aplicación de filtro Gaussiano; y F: recortes de áreas de interés, nervio central y nervio secundario de 30×30 píxeles cada una.

Los conjuntos de píxeles de color se redujeron a aproximadamente 0.5 % del conjunto original después de eliminar píxeles repetidos dentro de clases y entre clases objetivo, debido a la alta similitud del color entre las cuatro variedades de durazno (Cuadro 2).

Escenarios de entrada de datos

Los conjuntos de datos en cada escenario variaron según la posición de la hoja (haz y/o envés) y la clase objetivo (Cuadro 2).

Hiperparámetros óptimos

Los valores de los hiperparámetros óptimos de los clasificadores SVM, RF y MLP se seleccionaron con base en el máximo *Acc* promedio para cada clasificador y escenario de entrada, se observa que SVM se optimizó mejor con un kernel Gaussiano (Cuadro 3).

Cuadro 2. Descripción de los seis escenarios de entrada de datos y el número de muestras de píxeles de color representativos de cada clase objetivo (variedad de durazno).

Clases	Escenarios de entrada de datos					
	E1 [†]	E2 [‡]	E3 [§]	E4 [‡]	E5 [‡]	E6 ^{††}
V1 ^{¶¶}	2778		1871		907	
V2 ^{§§}	1906		738		1168	
V3 ^{‡‡}	2285		1041		1244	
V4 ^{‡‡‡}	2538		676		1862	

[†]E1: haz y envés en formato RGB; [‡]E2: haz y envés en formato HSV; [§]E3: haz en formato RGB; [‡]E4: haz en formato HSV; [‡]E5: envés en formato RGB; ^{††}E6: envés en formato HSV
^{¶¶}V1: variedad CP-03-06; ^{§§}V2: variedad Oro Azteca; ^{‡‡}V3: variedad Oro San Juan; ^{‡‡‡}V4: variedad Cardenal.

Cuadro 3. Hiperparámetros óptimos de los clasificadores SVM (máquina de soporte vectorial (SVM), bosque aleatorio (RF) y perceptrón multicapa (MLP), escenarios de entrada E2[§] y E4[‡].

Modelo	Escenario	Hiperparámetros óptimos			
SVM	E2 [‡]	C [†]	γ [‡]	k [§]	
		10.0	10.0	<i>rbf</i>	
	E4 [‡]	1.0	10.0	<i>rbf</i>	
RF	E2	<i>nar</i> ^{††}	<i>pmax</i> ^{¶¶}	<i>crit</i> ^{§§}	
		100	20	<i>Gini</i>	
	E4	200	20	<i>Gini</i>	
MLP	E2	<i>fa</i> ^{‡‡}	α ^{‡‡‡}	<i>opt</i> ^{†††}	<i>nn</i> ^{¶¶¶}
		ReLU	0.001	<i>adam</i>	150
	E4	ReLU	0.001	<i>adam</i>	150

[†]C: hiperparámetro de penalización; [‡] γ : hiperparámetro gamma; [§] k : kernel; [‡]E2: haz y envés, HSV; [‡]E4: haz, HSV; ^{††}*nar*: número de árboles; ^{¶¶}*pmax*: profundidad máxima; ^{§§}*crit*: criterio de impureza; ^{‡‡}*fa*: función de activación; ^{‡‡‡} α : hiperparámetro alfa; ^{†††}*opt*: optimizador; ^{¶¶¶}*nn*: número de neuronas.

Los hiperparámetros óptimos de cada clasificador se utilizaron para evaluar el desempeño en predicción global y específico para cada variedad de durazno.

Evaluación del desempeño en predicción

La evaluación del desempeño en predicción de SVM, RF y MLP se realizó con las métricas *Acc* y *F1 macro* promedio para los seis escenarios de entrada. SVM obtuvo el mejor desempeño que RF y MLP en E4, con *Acc* de 84.1 % y *F1 macro* de 83.7 %. Los tres clasificadores obtuvieron el mejor desempeño con el escenario E4, haz de las hojas transformadas al espacio de color HSV (Cuadro 4); estos resultados concuerdan con otros estudios de clasificación con base en color, como el reportado por Dubey y Jalal, (2012) donde constatan que la representación en el espacio de color HSV en lugar de RGB incrementa el desempeño de los clasificadores.

Las métricas de desempeño más bajas se obtuvieron en E5 y E6 (color del envés de la hoja). La inclusión del color del envés no mejoró el desempeño con los escenarios E1 y E2 (Cuadro 2). Los modelos que se entrenaron con datos de color en formato HSV (E2, E4 y E6) alcanzaron un mejor desempeño que los modelos que se entrenaron con datos en formato RGB (E1, E3 y E5) (Cuadro 4). En términos de la métrica *Acc*, SVM y RF tuvieron mejor desempeño que ML. Los tres clasificadores presentaron una dispersión similar de su desempeño (Figura 4).

El desempeño del clasificador SVM para discriminar cada variedad de durazno o clase objetivo se obtuvo con las métricas *P*, *S*, *F1*, y *AUC* con el escenario E4. La clase V2 (variedad Oro Azteca) fue la mejor clasificada con *F1* promedio de 87.9 %; en cambio V3 (variedad Oro San Juan) obtuvo el menor *F1* promedio de 74.8 %. *F1* (media armónica de *P* y *S*) es un estimador más conservador del desempeño del clasificador que *P* y *S*, para identificar cada clase objetivo (Cuadro 5).

El clasificador SVM obtuvo su mejor desempeño para identificar la clase objetivo V2 en términos del área bajo la curva ROC con *AUC* de 95 % y el menor desempeño, para

Cuadro 4. Métricas de desempeño en predicción (promedio y desviación estándar) de los clasificadores máquina de soporte vectorial (SVM), bosque aleatorio (RF), y perceptrón multicapa (MLP) para cada escenario de entrada de datos.

Escenario	Clasificadores					
	SVM [†]		RF [‡]		MLP [§]	
	<i>Acc</i> ^{¶¶}	<i>F1 macro</i> [•]	<i>Acc</i>	<i>F1 macro</i>	<i>Acc</i>	<i>F1 macro</i>
E1 ^b	0.787+/-0.010	0.787+/-0.010	0.744+/-0.010	0.744+/-0.010	0.718+/-0.016	0.719+/-0.016
E2 ^{††}	0.812+/-0.013	0.811+/-0.013	0.812+/-0.14	0.812+/-0.14	0.74+/-0.012	0.74+/-0.012
E3 ^{§§}	0.805+/-0.023	0.800+/-0.024	0.758+/-0.020	0.749+/-0.023	0.747+/-0.026	0.736+/-0.027
E4 ^{bb}	0.841+/-0.020	0.837+/-0.022	0.829+/-0.019	0.823+/-0.021	0.77+/-0.026	0.763+/-0.027
E5 ^{•••}	0.57+/-0.010	0.541+/-0.012	0.513+/-0.020	0.489+/-0.021	0.532+/-0.017	0.444+/-0.020
E6 ^{†††}	0.663+/-0.013	0.637+/-0.013	0.714+/-0.013	0.698+/-0.014	0.622+/-0.023	0.586+/-0.023

[†]*Acc*: Precisión global de clasificación correcta; [•]*F1 macro*; ^{††}E1: haz y envés, RGB; ^{‡‡}E2: haz y envés, HSV; ^{§§}E3: haz, RGB; ^{bb}E4: haz, HSV; ^{•••}E5: envés, RGB; ^{†††}E6: envés, HSV.

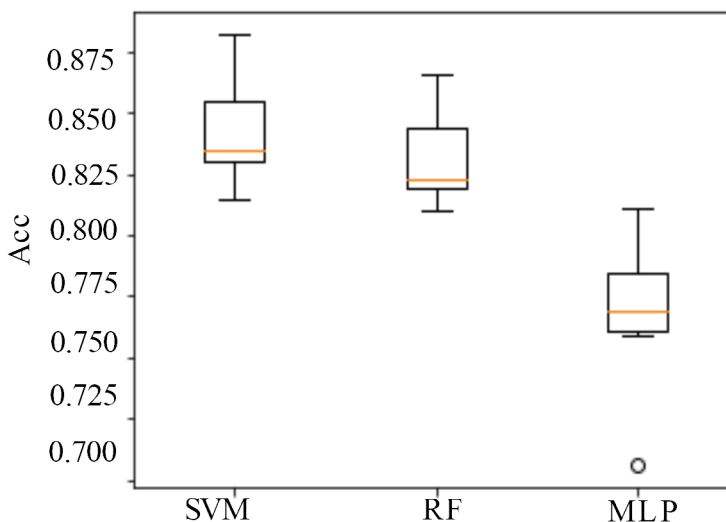


Figura 4. Comparación la precisión global de clasificación correcta *Acc* de los clasificadores máquina de soporte vectorial (SVM), bosque aleatorio (RF), y perceptrón multicapa (MLP), escenario de entrada E4 (haz en espacio de color HSV).

Cuadro 5. Métricas de desempeño en predicción promedio del clasificador máquina de soporte vectorial (SVM) obtenidas por medio de validación cruzada ($k = 10$), escenario E4.

Clases	P^a	S^{++}	$F1^{**}$
V1 [†]	0.855+/-0.013	0.880+/-0.017	0.867+/-0.009
V2 [‡]	0.911+/-0.025	0.849+/-0.041	0.879+/-0.020
V3 [§]	0.766+/-0.068	0.732+/-0.065	0.748+/-0.062
V4 ^b	0.816+/-0.064	0.860+/-0.060	0.837+/-0.055

Variedades de durazno: [†]V1: CP-03-06, [‡]V2: Oro Azteca, [§]V3: Oro San Juan, y ^bV4: Cardenal; ^aP: Precisión; ⁺⁺S: Sensibilidad; ^{**}F1: Métrica F1.

identificar V3 con *AUC* de 87 % (Figura 5). Ambas métricas *F1* y *AUC* coinciden en la capacidad de clasificación de SVM.

En la matriz de confusión de SVM con el escenario E4 (Cuadro 6), se observa que el clasificador predice con mayor precisión a V2 con $P = 91.1$ %, donde el clasificador confunde V2 con V1 (FP = 27), con V3 (FP = 13), y con V4 (FP = 22); asimismo, SVM identificó a V3 con menor $P = 76.6$ %, SVM confunde V3 con V1 (FP = 149), con V2 (FP = 43), y con V4 (FP = 41). Estos resultados muestran que el color no es suficiente para discriminar las variedades estudiadas con un alto desempeño (mayor a 90 %); esto, debido a la similitud de las características de color del haz de la hoja entre las variedades de durazno.

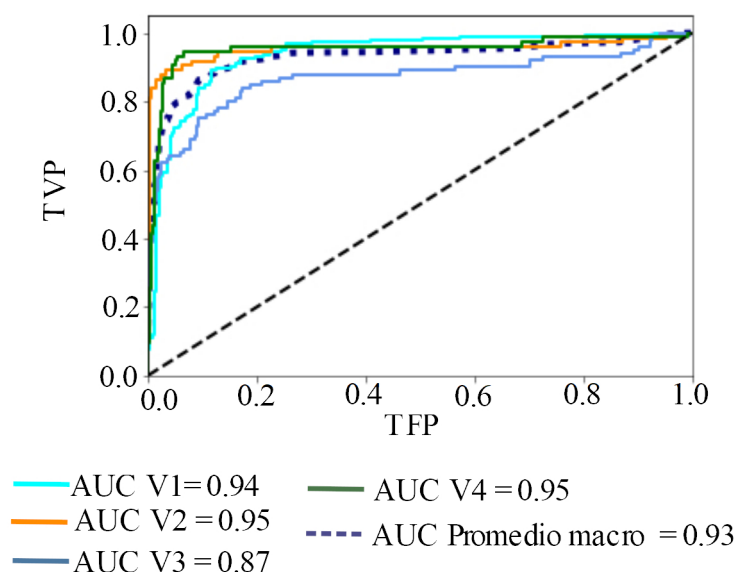


Figura 5. Área bajo la curva ROC (AUC) del clasificador máquina de soporte vectorial (SVM) obtenidas por validación cruzada VC ($k = 10$) en la décima iteración, escenario E4; TVP: tasa de verdaderos positivos; TFP: tasa de falsos positivos.

Cuadro 6. Matriz de confusión de variedades de durazno (clases) predichas *vs.* observadas del clasificador máquina de soporte vectorial (SVM), validación cruzada (VC) ($k = 10$), escenario E4 (haz y espacio de color HSV), totales de 10 particiones.

Clases Observadas	Predichas			
	V1	V2	V3	V4
V1 [†]	1647	27	149	47
V2 [‡]	40	629	43	28
V3 [§]	208	13	762	57
V4 [¶]	32	22	41	585

Variedades de durazno: [†]V1: CP-03-06, [‡]V2: Oro Azteca, [§]V3: Oro San Juan, [¶]V4: Cardenal.

En esta investigación, los modelos que alcanzaron mayor desempeño se entrenaron con datos transformados al espacio de color HSV en concordancia con la investigación de Dubey y Jalal (2012), y los resultados obtenidos por Łuszczkiewicz-Piątek (2014) y García-Mateos et al. (2015) sobre el incremento en el desempeño de los modelos cuando se utiliza el espacio de color HSV.

Los clasificadores que se entrenaron con datos de color del envés obtuvieron un desempeño muy bajo, sin importar el espacio de color se obtuvo *Acc* máximo de 71.4 % y *Acc* mínimo de 51.3 %. Los datos cromáticos del envés de la hoja no contribuyeron a la mejora del desempeño de los modelos, escenarios E1, E2, E5 y E6 (Cuadro 4).

Una limitación de la clasificación de variedades por medio del color es la reducción de datos después de eliminar muestras de píxeles repetidas; se eliminó 99.5 % del total de píxeles obtenidos en las muestras de imágenes. Aún con esta limitación SVM obtuvo una *Acc* promedio de 84.1 %. Como se sugiere en el estudio reportado por Caglayan *et al.* (2013) el uso combinado de color con descriptores de forma incrementan el desempeño de los modelos de clasificación.

CONCLUSIONES

El clasificador de aprendizaje supervisado, máquina de soporte vectorial (SVM) obtuvo mejor desempeño en predicción que los clasificadores bosque aleatorio (RF) y perceptrón multicapa (MLP) para identificar las cuatro variedades de durazno estudiadas: CP-03-06 (V1), Oro Azteca (V2), Oro San Juan (V3) y Cardenal (V4). El escenario de entrada E4 que consistió en utilizar imágenes del haz de las hojas transformadas al espacio de color HSV permitió obtener el mejor desempeño de los clasificadores. Con este escenario SVM obtuvo una precisión global de clasificación correcta (*Acc*) promedio de 84.1 % y *F1 macro* promedio de 83.7 %. En términos de la capacidad del clasificador para identificar una variedad en específico, SVM clasificó mejor la variedad Oro azteca con puntaje *F1* promedio de 87.9 % y área bajo la curva ROC de 95 %. La transformación de las imágenes digitales al espacio de color HSV resultó más apropiada que el espacio de color RGB, para mejorar el desempeño en predicción de los clasificadores SVM, RF y MLP. Asimismo, la utilización del color del haz de la hoja fue más relevante que el color del envés o su utilización conjunta. Por ello, los tres clasificadores utilizados en este estudio alcanzaron su mejor desempeño con los datos del haz de las hojas transformados al espacio de color HSV. La identificación automática de características de interés en plantas por medio de técnicas de inteligencia artificial tiene un gran potencial de aplicación en la agricultura, en este estudio se muestra una aplicación a la identificación de variedades de durazno.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada por Estancias de Investigación Especializadas COMECYT 2021, folio EESP2021-007.

REFERENCIAS

- Ayala ND, Cervantes JC, García FL, Ayala de la Vega J, Calderón GZ. 2020. A hybrid convolutional neural network for complex leaves identification. *In*: Huang DS, Bevilacqua V, Hus-sain A. (eds.); Intelligent Computing Theories and Application. ICIC 2020. Lecture Notes in Computer Science, Springer: Cham, Switzerland 12463: 291–301. https://doi.org/10.1007/978-3-030-60799-9_25
- Boser BE, Guyon IM, Vapnik VN. 1992. A training algorithm for optimal margin classifiers. *In*: Proceedings of the Fifth Annual Workshop on Computational Learning Theory. ACM: Pittsburgh, PA, USA 144–152. <https://dx.doi.org/10.1145/130385.130401>
- Breiman L. 1996. Bagging predictors. *Machine Learning* 24: 123–140. <https://dx.doi.org/10.1023/A:1018054314350>
- Breiman L. 1999. Pasting small votes for classification in large databases and on-line. *Machine Learning* 36: 85–103. <https://dx.doi.org/10.1023/A:1007563306331>
- Breiman L. 2001. Random forests. *Machine Learning* 45: 5–32. <https://dx.doi.org/10.1023/A:1010933404324>

- Caglayan A., Guclu O, Can AB. 2013. A plant recognition approach using shape and color features in leaf Images. *In: Petrosino, A. (eds.) Image Analysis and Processing ICIAP 2013. Lecture Notes in Computer Science, Springer: Berlin, Germany 8157: 161–170.* https://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-41184-7_17
- Cervantes J, Garcia FL, Rodriguez LM, Zarco AH, Ruiz JSC, 2018. Complex Identification of Plants from Leaves. *In: Huang DS, Gromiha M, Han K, Hussain A. (eds.) Intelligent Computing Methodologies. ICIC 2018. Lecture Notes in Computer Science, Springer: Cham, Switzerland 10956: 376–387.* https://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-95957-3_41
- Dubey SR, Jalal AS. 2012. Detection and classification of apple fruit diseases using complete local binary patterns. *In: Third International Conference on Computer and Communication Technology 346–351.* <https://dx.doi.org/10.1109/ICCCT.2012.76>
- Evgeniou T, Pontil M. 2001. Support vector machines: theory and applications. *In: Paliouras G, Karkaletsis V, Spyropoulos CD. (eds.) Machine Learning and Its Applications. ACAI 1999. Lecture Notes in Computer Science, Springer: Berlin, Germany 2049: 249–257.* https://dx.doi.org/10.1007/3-540-44673-7_12
- Fawcett T. 2006. An introduction to ROC analysis. *Pattern Recognition Letters 27 (8): 861–874.* <https://dx.doi.org/10.1016/j.patrec.2005.10.010>
- García-Mateos G, Hernández-Hernández JL, Escarabajal-Henarejos D, Jaén-Terrones S, Molina-Martínez JM. 2015. Study and comparison of color models for automatic image analysis in irrigation management applications. *Agricultural Water Management 151 (31): 158–166.* <https://dx.doi.org/10.1016/j.agwat.2014.08.010>
- Grinblat GL, Uzal LC, Larese MG, Granitto PM. 2016. Deep learning for plant identification using vein morphological patterns. *Computers and Electronics in Agriculture 127: 418–424.* <https://dx.doi.org/10.1016/j.compag.2016.07.003>
- Ho Y, Wookey S. 2020. The real-world-weight cross-entropy loss function: modeling the costs of mislabeling. *IEEE Access 8: 4806–4813.* <https://dx.doi.org/10.1109/ACCESS.2019.2962617>
- Kingma DP, Ba J. 2014. Adam: a method for stochastic optimization. *arXiv: 1412.6980.*
- Larese, MG, Bayá AE, Craviotto RM, Arango MR, Gallo C, Granitto PM. 2014. Multiscale recognition of legume varieties based on leaf venation images. *Expert Systems with Applications 41 (10): 4638–4647.* <https://dx.doi.org/10.1016/j.eswa.2014.01.029>
- Lee SH, Chan CS, Mayo SJ, Remagnino P. 2017. How deep learning extracts and learns leaf features for plant classification. *Pattern Recognition 71: 1–13.* <https://dx.doi.org/10.1016/j.patcog.2017.05.015>
- Liu N, Kan J. 2016. Improved deep belief networks and multi-feature fusion for leaf identification. *Neurocomputing 216: 460–467.* <https://dx.doi.org/10.1016/j.neucom.2016.08.005>
- Łuszczkiewicz-Piątek M. 2014. Which color space should be chosen for robust color image retrieval based on mixture modeling. *In: S. Choras, R. (eds.) Image Processing and Communications Challenges 5. Advances in Intelligent Systems and Computing. Springer: Heidelberg, Germany 233: 55–64.* https://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-01622-1_7
- Rumelhart D, Hinton GE, Williams R. 1986. Learning representations by back-propagating errors. *Nature 323: 533–536.* <https://doi.org/10.1038/323533a0>
- SADER (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural). 2018. Michoacán primer lugar en producción de durazno a nivel nacional. <https://www.gob.mx/agricultura/michoacan/articulos/michoacan-primer-lugar-en-produccion-de-durazno-a-nivel-nacional?idiom=es> (Recuperado: septiembre 2021)
- Savas C, Dosis F. 2019. The impact of different kernel functions on the performance of scintillation detection based on support vector machines. *Sensors 19 (23).* <https://doi.org/10.3390/s19235219>
- SIAP (Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera). 2020. Datos Abiertos Estadística de Producción Agrícola. <http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos.php> (Recuperado: agosto 2021).
- UPOV (Unión internacional para la protección de las obtenciones vegetales). 2022. Durazno/melocotonero: directrices para la ejecución del examen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad. https://www.upov.int/test_guidelines/es/list.jsp (Recuperado: abril 2022)
- Wäldchen J, Mäder P. 2018. Plant species identification using computer vision techniques: a systematic literature review. *Archives of Computational Methods in Engineering 25: 507–543.* <https://dx.doi.org/10.1007/s11831-016-9206-z>
- Wang Z, Sun X, Zhang Y, Ying Z, Ma Y. 2016. Leaf recognition based on PCNN. *Neural Computing and Applications 27: 899–908.* <https://dx.doi.org/10.1007/s00521-015-1904-1>

- Wu SG, Bao FS, Xu EY, Wang Y, Chang Y, Xiang Q. 2007. A leaf recognition for plant classification using probabilistic neural network. *In: IEEE International Symposium on Signal Processing and Information Technology* 11–16. <https://dx.doi.org/10.1109/ISSPIT.2007.4458016>
- Xia C, Lee J, Li Y, Song Y, Chung B, Tae-Soo Chon. 2013. Plant leaf detection using modified active shape models. *Biosystems Engineering* 116 (1): 23–35. <https://dx.doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2013.06.003>



OPTIMIZATION OF THE BIOMASS PRODUCTION FROM SPROUTS OF NEO-TROPICAL VEGETABLE SPECIES

Juan Fabricio **Lazcano-Escobar**¹, Nayeli Sarahí **Quiñones-Islas**^{1,2},
Sergio Rubén **Trejo-Estrada**¹, Carolina **Ramírez-López**^{1*}

¹ Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, (CIBA-IPN). Ex-Hacienda San Juan Molino, Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla 1 km 1.5, Tlaxcala, México. C. P. 90700.

² Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Tecomán. Carretera Colima-Manzanillo km 35, Tecomán, Colima, México. C. P. 28100.

* Corresponding author: caramirezl@ipn.mx

ABSTRACT

Seed germination improves the nutritional quality of plant foods; since they increase the contents and availability of essential nutrients and reduce the levels of antinutrients. A considerable number of species have been studied, but to date, there are few studies on vegetable species of the neo-tropics. The aim of this study was the evaluation and optimization of mineral nutrient solutions [Adelusi-Oseni (AO), Ruakura (Ru), Maeda (M)] and their combinations with compost extracts (EC1, EC2, and EC3) obtained from three different solvents, on the development of biomass of four neo-tropical vegetable plants in Mexico: pumpkin (*Cucurbita pepo* L.), papalo [*Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass.], pipitza (*Porophyllum linaria* Cav.), and purslane (*Portulaca oleracea* L.). The hypothesis was that biomass production achieved with the nutrient solutions would lead to the highest yield for each seed compared to the control. Germination was carried out in Petri dishes with cotton pads as substrate, adding 5 mL of nutrient solution, along with a control grown with water, in a photoperiod of 12 h; continuing germination until completing 96 h. San Cristóbal experimental design was applied to the nutrient mixtures with the greatest positive impact on the production of biomass. An ANOVA was carried out with Tukey and Dunnet means comparison tests. For pumpkin sprouts, solution EC3E2 managed to increase seedling growth by 395.2 % in comparison to the control; EC2A displayed a greater elongation in comparison with the control of 84.7 % for papal sprouts; EC2A produced an increase of 15.8 % in pipitza. In purslane, EC2A produced an increase of 53.7 %. Nutrition with compost extracts can favour the production of biomass from sprouts.

Keywords: *Cucurbita pepo* L., *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass., *Porophyllum linaria* Cav., *Portulaca oleracea* L., nutrient solutions.

Citation: Lazcano-Escobar JF, Quiñones-Islas NS, Trejo-Estrada SR, Ramírez-López C. 2022. Optimization of the biomass production from sprouts of neotropical vegetable species. *Agrociencia*. 56(4): 704-726. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i4.2812>

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: May 03, 2021.
Approved: May 15, 2022.
Published in Agrociencia:
June 21, 2022.

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



INTRODUCTION

Food production systems must be renewed to generate products with better nutritional attributes. Seed sprouts contain high levels of nutrients, as a consequence of the bioavailability of ions and biomolecules derived from physiological changes during the germination and initial growth process (Liu *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2020).

The germination process consists of a series of biochemical and physiological changes that result in the initial growth stages of a new plant. This process implies the mobilization of reserve substances inside the seed so the growing embryo uses those (Lynch *et al.*, 2012). Therefore, sprouts are a source of proteins, vitamins, and minerals, as well as glucosinolates, phenolic compounds, and compounds that contain selenium and isoflavones that aid in keeping good health (Ponce de León *et al.*, 2013).

Neotropical vegetables have a high content of vitamins, antioxidants, and dietary fibre, and the lack of lipids in their composition gives them a minor calorie content (Vera-Sánchez *et al.*, 2016). In addition, they contain phytochemicals such as phenols and carotenoids, which make them functional foods (Johns and Maundu, 2006).

Pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) is an annual plant with a creeping habit that produces a fruit that is normally consumed before reaching maturity. Seeds exhibit antidiabetic, antifungal, antibacterial, anti-inflammatory, and antioxidant properties (Rolnik and Olas, 2020). The germination of seeds improves their nutritional quality and causes an important change in biochemical and sensorial characteristics (Liu *et al.*, 2019). Germination reduces the factors responsible for flatulence, increasing digestibility, and the use of proteins and carbohydrates (Akintade *et al.*, 2019).

Papalo [*Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass.] is an herbaceous annual plant that produces edible leaves that are consumed fresh; if they were cooked, they would lose their original flavour. Papalo is also a part of the traditional medicine of original Mexican cultures (Castro-Lara *et al.*, 2018).

Pipitza (*Porophyllum linaria* Cav.) is an annual plant that produces flowers and aromatic and flavouring leaves. This species also displays anti-inflammatory and medicinal properties (Vázquez-Atanacio *et al.*, 2021). It is rich in vitamins B and C, and it provides minerals such as phosphorous, iron, and calcium (Castro-Lara *et al.*, 2018). It is mainly used as a fresh or dry spice in different regional dishes.

Purslane (*Portulaca oleracea* L.) is an herbaceous creeping plant with soft sprouts that are added to salads as vegetables or cooked. (Castro-Lara *et al.*, 2018). This species provides vitamins A, B, and C and essential minerals such as iron, magnesium, and calcium. Purslane also contains terpenes, phenolic acid, coumarins, flavonoids, and alkaloids such as oleoresins (Baradaran *et al.*, 2019), with antifungal, antiviral, neuroprotective, and anticancer effects (Meng *et al.*, 2016).

Fourteen essential elements have been defined for crop nutrition, including the macronutrients N, P, K, Ca, Mg, and S, along with the micronutrients Cl, Fe, B, Mn, Zn, Cu, Mo, and Ni. These elements can be provided to the plants via fertilizers in the soil in open-air systems, or via the nutrient solutions in hydroponic systems (Lynch *et al.*, 2012). In addition, plant nutrition may improve by contributing organic materials such as humic substances. These substances come from plant and animal wastes; they are acidic, with high molecular weights, resistant to microbial attacks, and with refractory properties (Pepper and Gentry, 2015). They have positive effects on the growth, development, and production of crops (Hayes, 1991).

Germination helps to improve nutritional values and reduces the antinutritional and undigestible factors of seeds. Additionally, germination helps increase the synthesis

and accumulation of secondary metabolites, such as vitamin C and polyphenols, which may have antioxidant, antidiabetic, and anticancer effects. The aim of applying this evaluation method to sprouts of the four species is to identify the nutrient solutions that best ensure the greatest production of biomass. The San Cristóbal design has been used to evaluate the influence of fertilizers on the yield of various crops (Myers *et al.*, 2009). The objective of applying this evaluation methodology to the sprouts of the four vegetable species is to identify the best nutritional solutions that ensure the highest biomass production. Based on this, a biomass production system was evaluated by obtaining sprouts from four species of neotropical vegetables, to optimize and evaluate the effect of nutrient solutions [Adelusi-Oseni (AO), Ruakura (Ru), and Maeda (M)], compost extracts (EC1, EC2, and EC3), and the combinations of these.

MATERIALS AND METHODS

Biological material used

This study used commercially available seeds of four neotropical species of vegetables, traditional to Mexico: pumpkin (*Cucurbita pepo* L.), papalo [*Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass.], pipitza (*Porophyllum linaria* Cav.) and purslane (*Portulaca oleracea* L.), acquired from local producers of the area in the San Andrés Cholula market, in Puebla, Mexico.

Disinfection of seeds

Seeds were disinfected following the protocol described by García *et al.* (2008). First, 50 g of seeds were washed in Tween 80 (0.25 % v/v) for 5 min. Next, the seeds were soaked in 70% ethanol for 1 min, followed by a wash in 5 % Ca(ClO)₂ plus Tween 80 (0.25 % v/v) for 20 min. Finally, they were rinsed four times for 2 min each in sterile distilled water over a drain to remove excess water.

Seed sprout

Once the seeds were cleaned and disinfected, the sprouting process began based on the method described by Chen and Chang (2015), with some modifications. The seeds were soaked in purified water for 24 h and later, ten seeds were placed as an experimental unit in each Petri dish on cotton fabric as a means of support, adding 5 mL of nutrient solution, along with control purified water, applying a 12 h photoperiod in the plant growth chamber, adjusted to a temperature of 25 °C, with a light source (SEV brand, Puebla, Mexico). Each trial was evaluated in triplicate. The sprout system was rehydrated every 24 h with 2 mL of their respective nutrient solution for 96 h, at the end of which the lengths of the sprout were determined, both in the aboveground section and the root.

Nutrient solutions and organic amendments

In each one of the three species studied, the effect of the nutrient solutions was evaluated: 1. Adelusi-Oseni (AO): used for the accumulation of photosynthetic pigments (Adelusi and Oseni, 2015); 2. Ruakura (Ru): used to increase the content of

dry matter in sprouts (Smith *et al.*1983); and 3. Maeda (M): reported to increase the yields of sprouts (Maeda, 2006).

In addition, three compost extracts were tested: compost extract 1 (EC1), compost extract 2 (EC2), and compost extract 3 (EC3) with three solvents used to extract the bio-stimulants present in the composts: detergent (D), water (A) and ethanol (E). The latter factor (ethanol) was tested at three different concentrations: 25 % (1), 50 % (2) and 75 % (3) (Table 1).

Experimental design and statistical analysis

To individually evaluate the use of compost extracts and mineral nutrient solutions, an analysis was performed on the treatments carried out on the four species studied using a randomized experimental design with three repetitions of 18 experiments plus a water control of each 10-seed experimental unit (Table 1), adding a total of 228 experimental runs. An analysis of variance (ANOVA) was carried out, and the means were compared using Dunnett's test ($p \leq 0.05$) to know if there were significant differences with the control, and Tukey's means comparison test ($p \leq 0.05$) to validate the difference between the sprouts developed with the different nutrient solutions. For these analyses, the software Microsoft Excel version 16.29 and Minitab version 18 were

Table 1. The experimental design used in seed germination.

Nutrient solution	Compost extract	Treatment number
EC1 [†]	D ^{¶¶}	1
	A ^{§§}	2
	E1 ^{bb}	3
	E2 ^{mm}	4
	E3 ⁺⁺⁺	5
EC2 [¶]	D	6
	A	7
	E1	8
	E2	9
	E3	10
EC3 [§]	D	11
	A	12
	E1	13
	E2	14
	E3	15
M ^p	-	16
AO ^a	-	17
Ru ⁺⁺	-	18
Testigo	-	19

[†]EC1= Compost extract 1, [¶]EC2= Compost extract 2, [§]EC3= Compost extract 3, ^pM= Maeda nutrient solution, ^aAO= Adelusi Oseni nutrient solution, ⁺⁺Ru= Ruakura nutrient solution, ^{¶¶}D=Detergent, ^{§§}A=Water, ^{bb}E1= 25 % ethanol solution; ^{mm}E2= 50% ethanol solution, ⁺⁺⁺E3= 75 % ethanol solution.

used. Pareto charts were used to identify the nutrient solutions that generated greater biomass in sprouts.

The San Cristóbal experimental design was then used to generate a second experiment to determine the treatments needed to value the effect of the interaction between mineral solutions and compost extracts on the length of the sprouts of the four species evaluated, compared to a control with water. This test was carried out based on the program Minitab 18, applying a compound central design with a triplicated repetition in the central point (Table 2).

RESULTS AND DISCUSSION

Germination tests for the selection of nutrient media

Figure 1 shows the difference in percentages in terms of the elongation of the aerial section of the pumpkin sprouts (subfigure 1A), papalo (subfigure 1B), pipitza (subfigure 1C), and purslane (subfigure 1D) in regard to the control (sprouts germinated using only purified water), according to the treatments described in Table 1.

Figure 1A shows that the greatest development of the pumpkin sprout was in EC3E2, a treatment in which a length of 61.90 ± 15.37 mm was reached, equivalent to an increase of 395.2% concerning the control, followed by the AO mineral solution, with a length of 43.44 ± 12.08 mm for the sprout, equivalent to an increase of 250% regarding the control, and by the compost extract named EC1A, with a length of 37.50 ± 12.32 mm, equivalent to a 200% increase regarding the control.

Table 2. Experimental design applying the San Cristóbal experimental design of the individual solutions that generated greater biomass of sprouts to evaluate the mixture of nutrient solutions in the production of sprouts of the seeds studied.

Treatment number	Nutrient solutions
1	EC2A [†] -AO [‡]
2	EC3E2 [§] -AO
3	EC2A-Ru [¶]
4	EC3E2-Ru
5	EC2A
6	EC3E2
7	AO
8	Ru
9	EC2A-EC3E2
10	Ru-AO
11	(EC3E2-Ru)-(EC2A-AO)
12	(EC2A-EC3E2)-(Ru-AO)
13	(EC3E2-AO)-(EC2A-Ru)

[†]EC2A: compost extract 2 extracted with water, [‡]AO: Adelusi Oseni nutrient solution, [§]EC3E2: compost extract 3 extracted with 50 % ethanol solution, [¶]Ru: Ruakura nutrient solution.

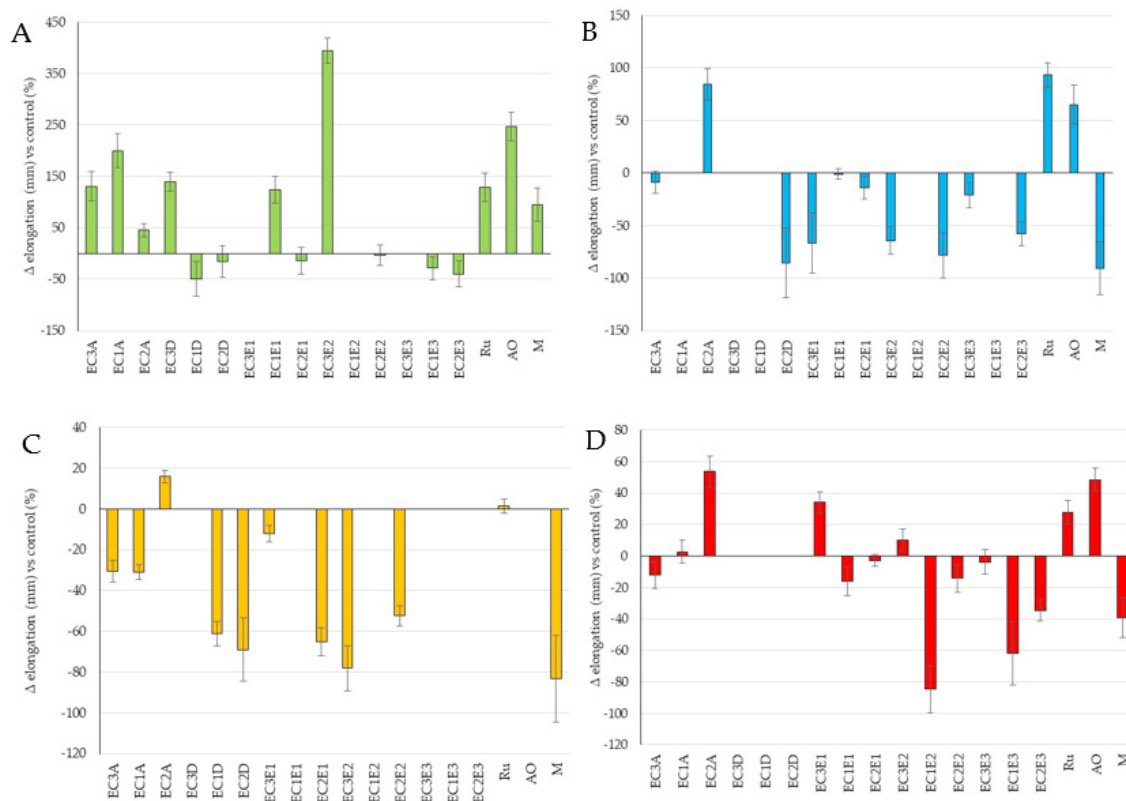


Figure 1. Percentage of difference in sprouts elongation: A: pumpkin; B: papalo; C: pipitza and D: purslane in comparison with the control sprout.

Regarding papalo, the solutions that recorded the greatest developments in the aerial section were the Ru mineral solution, with 41.04 ± 4.79 mm, which is equal to an increase of 93.2% in comparison with the control; treatment EC2A, with an aerial section measuring 39.24 ± 5.91 mm, equal to an increase of 84.7% in comparison with the control, and the AO solution, which developed 35.12 ± 6.38 mm, which is 65.3% more than the control. In the rest of the experiment, no values of much importance were observed in terms of the development of the sprout, and a lack of viability in seeds was displayed, which is why some data are not shown or a 0% is shown, considering that they are identical to the control.

The results in pipitza are shown in Figure 1C. Compost extract EC2A can be observed to have produced an elongation of 9.66 ± 3.18 mm, which represents an increase of 15.8% in comparison with the control. This was the only nutrient solution that presented a greater development in the aerial section of the sprout in pipitza seeds in comparison with the control. The other treatments reduced this variable in pipitza.

The results for purslane are shown in Figure 1D. Treatment EC2A, with a sprout length of 20.20 ± 4.41 mm, equivalent to an increase of 53.7% in comparison with the control; in AO with a length of 19.53 ± 2.38 mm and an increase of 48.6% in comparison

with the control, and EC3E1 with a length of 17.64 ± 3.79 mm and an increase of 34.2% in comparison with the control, all showed the greatest growth of the aboveground section for this species.

The evaluation of the effect of the compost extracts in the sprout and elongation of sprouts showed that each vegetable evaluated has specific requirements for its development. Therefore, the choice of nutrient solutions with the highest positive influence on the sprouts were compost extracts EC2A and EC3E2, as well as mineral solutions Ru and AO.

Based on the above results, a second experimental design was proposed (Table 2), applying the San Cristóbal design with triplicate repetition in the central point in the program Minitab 18, using individual nutrient solutions and mixtures with which a greater impact was observed on the growth of the aerial section of the pumpkin, papalo, pipitza and purslane sprouts, compared to a control with water. A total of 13 treatments were carried out in triplicate, of which those that developed sprouts with greater length were selected.

The results of this second germination are shown in Figure 2. The effect of the different treatments on the elongation of the sprouts can be seen, and they are compared with the lengths of the sprouts developed using water (controls).

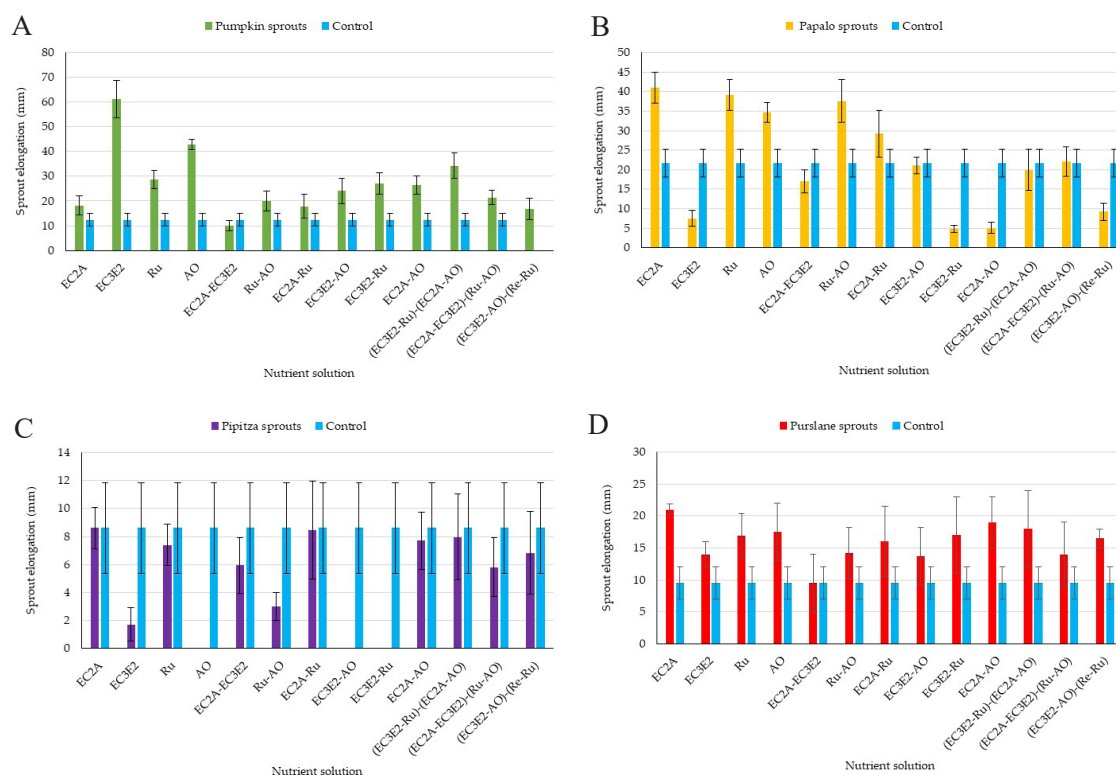


Figure 2. Sprout elongation (mm) in seeds: A: pumpkin; B: papalo; C: pipitza and D: purslane, compared with the control.

In pumpkin, the greatest length of the aerial section of the sprout was achieved in treatment EC3E2, with a length of 61.20 ± 7.57 mm, and in AO, with 42.83 ± 2.06 mm in length (Figure 2A). Dunnett's test (Table 3) indicates significant differences between the arithmetic mean of the lengths achieved with these solutions regarding the control, whereas Tukey's test (Table 3) indicates significant differences between the means of the lengths between EC3E2 and AO. This may be explained because the humic substances can form complexes with the transition metal cations, which may increase the absorption of these elements by the plant (Chen and Aviad, 1990). In addition, plants treated with humic substances have a higher water absorption efficiency than untreated plants, which they can use to produce more biomass. A similar study on basil (*Ocimum basilicum*), cilantro (*Coriandrum sativum*), and lettuce (*Lactuca sativa*)

Table 3. Tukey ($p \leq 0.05$) and Dunnett tests ($p \leq 0.05$) to compare the arithmetical means of the length of the sprouts (mm) of pumpkin, papalo, pipitza, and purslane sprouts.

Nutrient solution	Pumpkin	Papalo	Pipitza	Purslane
Control	12.33 $\pm$ 2.52 E, F [†] ; A [‡]	21.75 $\pm$ 3.53 C, D [†] ; A [‡]	8.61 $\pm$ 3.26 A [†] ; A [‡]	9.53 $\pm$ 2.58 C [†] ; A [‡]
EC2A	18.20 $\pm$ 3.90 D, E, F [†] ; A [‡]	41.01 $\pm$ 3.88 A [†] ; - [‡]	9.28 $\pm$ 1.51 A [†] ; A [‡]	21.07 $\pm$ 2.95 A [†] ; - [‡]
EC3E2	61.20 $\pm$ 7.57 A [†] ; - [‡]	7.55 $\pm$ 1.95 F, G [†] ; - [‡]	1.77 $\pm$ 1.25 B, C [†] ; - [‡]	14.17 $\pm$ 2.02 B, C [†] ; A [‡]
Ru	28.80 $\pm$ 3.70 C, D [†] ; - [‡]	39.17 $\pm$ 4.21 A, B [†] ; - [‡]	7.44 $\pm$ 1.57 A, B [†] ; A [‡]	16.93 $\pm$ 3.14 A, B [†] ; A [‡]
AO	42.83 $\pm$ 2.06 B [†] ; - [‡]	34.63 $\pm$ 2.54 A B [†] ; - [‡]	0.00 C [†] ; - [‡]	17.55 $\pm$ 4.56 A B [†] ; A [‡]
EC2A-EC3E2	10.28 $\pm$ 2.21 F [†] ; A [‡]	17.22 $\pm$ 3.16 D, E, F [†] ; A [‡]	5.93 $\pm$ 2.13 A, B, C [†] ; A [‡]	9.47 $\pm$ 3.92 C [†] ; A [‡]
Ru-AO	20.67 $\pm$ 4.12 D, E, F [†] ; A [‡]	37.61 $\pm$ 5.48 A, B [†] ; - [‡]	3.02 $\pm$ 1.03 A, B, C [†] ; - [‡]	14.23 $\pm$ 4.02 A, B, C [†] ; A [‡]
EC2A-Ru	17.83 $\pm$ 4.85 D, E, F [†] ; A [‡]	29.26 $\pm$ 6.29 B, C [†] ; A [‡]	8.48 $\pm$ 3.50 A [†] ; A [‡]	15.93 $\pm$ 5.55 A, B, C [†] ; A [‡]
EC3E2-AO	24.07 $\pm$ 5.20 C, D, E [†] ; - [‡]	5.13 $\pm$ 1.36 G [†] ; - [‡]	0.00 C [†] ; - [‡]	13.70 $\pm$ 4.51 B, C [†] ; A [‡]
EC3E2-Ru	27.03 $\pm$ 4.35 C, D [†] ; - [‡]	4.85 $\pm$ 0.98 G [†] ; - [‡]	0.00 C [†] ; - [‡]	17.12 $\pm$ 5.43 A, B [†] ; A [‡]
EC2A-AO	26.43 $\pm$ 3.65 C, D [†] ; - [‡]	21.14 $\pm$ 2.16 C, D [†] ; A [‡]	7.70 $\pm$ 2.06 A, B [†] ; A [‡]	19.08 $\pm$ 4.17 A, B [†] ; A [‡]
(EC3E2-Ru)- (EC2A-AO)	34.17 $\pm$ 5.11 B, C [†] ; - [‡]	19.93 $\pm$ 5.22 C, D, E [†] ; A [‡]	7.97 $\pm$ 3.19 A, B [†] ; A [‡]	18.03 $\pm$ 5.82 A, B [†] ; A [‡]
(EC2A-EC3E2)- (Ru-AO)	21.37 $\pm$ 2.93 D, E, F [†] ; A [‡]	22.13 $\pm$ 3.71 C, D [†] ; A [‡]	5.80 $\pm$ 2.11 A, B, C [†] ; A [‡]	14.06 $\pm$ 4.33 B, C [†] ; A [‡]
(EC3E2-AO)- (Re-Ru)	16.87 $\pm$ 4.40 D, E, F [†] ; A [‡]	9.20 $\pm$ 2.15 E, F, G [†] ; - [‡]	6.83 $\pm$ 2.76 A, B [†] ; A [‡]	16.52 $\pm$ 1.51 A, B [†] ; A [‡]

[†]Tukey's test: Means that do not share a letter are significantly different; [‡]Dunnett's test: Means not labeled with the letter A are significantly different from the mean of the control level.

treated with compost tea found the same amount of biomass was found as in those produced with Steiner mineral solution (González-Solano *et al.*, 2018).

In papalo (Figura 2B), the greatest lengths of the aerial section of the sprouts were achieved with the compost extract EC2A, with 41.01 ± 3.88 mm. Tukey's test (Table 3) showed no significant differences regarding the Ru solution, which produced 39.17 ± 4.21 mm; the AO solution, which produced 34.63 ± 2.54 mm; or the mixture of Ru-AO solutions with 37.61 ± 5.48 mm. Meanwhile, Dunnett's test (Table 3) indicated that the sprouts developed with the treatments mentioned above are statistically superior to the control. The positive effects of the humic substances were observed primarily in plant growth indicators, such as the sprout emissions and roots, and the length or weight of fresh and dry biomass (Vaughan and Malcolm, 1985).

In pipitza (Figure 2C), Dunnett's test (Table 3) indicated no significant differences between the different treatments regarding the control, the sprout of which reached a length of 8.61 ± 3.26 mm. However, treatments EC3E2 (1.77 ± 1.25 mm) and Ru-AO (3.02 ± 1.03 mm) presented less development in their sprouts in comparison with reached with the control. In the case of treatment AO, EC3E2-AO and EC3E2-Ru, it is important to note that germination was inhibited. These results corroborate that there cannot be one single nutrient solution that produces satisfactory results in all circumstances and all species evaluated (Smith *et al.*, 1983). Nutrient solutions and humic substances may affect the synthesis and transportation of phytohormones in plants. For example, humic substances may stimulate the synthesis of indole-3-acetic acid (IAA). In turn, this auxin may stimulate the germination and growth of sprouts (Amador-Alfárez *et al.*, 2013).

In purslane (Figure 2D), the greatest development of the sprout was achieved in treatment EC2A, with 21.07 ± 2.95 mm in length. Dunnett's test (Table 3) revealed that this was the only solution that displayed a significant difference from the control. An increase in N intake, which favours the growth of the aerial section, may be explained by the role played by the humic substances in the modulation of the nitrogen intake through an interaction with the cell membrane (Maggioni *et al.*, 1987; Chen and Aviad, 1990; Gulnaz *et al.*, 1999; Verlinden *et al.*, 2010). These compounds seem to increase the permeability of the cell membrane and can have an activity similar to the phytohormones named auxins, which act as plant growth regulators (Olivares *et al.*, 2017). Small fragments of humic acids may even provide nutrients for plants. On the other hand, in nutrient solutions with negative effects or with lower sprout development stimulation abilities, their components are known for presenting chemical reactions that form ion precipitates, causing them to become unavailable for the development of the plant (Trejo-Valencia *et al.*, 2015).

CONCLUSIONS

The evaluated compost extracts are an important option to increase the biomass yield in the production of sprouts. Compost extract 3, obtained with 50% ethanol (EC3E2) increased the production of pumpkin biomass production by 395.2% in comparison

with the control. Whereas the papalo sprout with the compost extract 2, obtained with water (EC2A) produced an elongation of over 84.7% in comparison with the control. In pipitza, compost extract 2, obtained with water (EC2A) produced a biomass increase of 15.8% in comparison with the control. In purslane, compost extracts 2, extracted with water (EC2A), induced an increase of 53.7% in biomass in comparison with the control.

ACKNOWLEDGEMENTS

To the National Polytechnic Institute through project SIP20220684 and to Nutravia, S.A. de C.V. for the funds granted to implement this study.

REFERENCES

- Adelusi AA, Oseni OM. 2015. Effects of nitrogen nutrient on the photosynthetic pigments accumulation and yield of *Solanum lycopersicum* Annals of West University of Timisoara. Series of Biology 18 (2): 131-138.
- Akintade AO, Awolu OO, Ifesan BO. 2019. Nutritional evaluation of fermented, germinated, and roasted pumpkin (*Cucurbita maxima*) seed flour. Acta Universitatis Cibiniensis Series E: Food Technology 23 (2): 179–186. <https://doi.org/10.2478/auct-2019-0021>
- Amador-Alferez KA, Díaz-González J, Loza-Cornejo S, Bivián-Castro, EY. 2013. Efecto de diferentes reguladores de crecimiento vegetal sobre la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de dos especies de *Ferocactus* (Cactaceae). Polibotánica 35: 109-131.
- Baradaran RV, Rakhshandeh H, Raucci F, Buono B, Shirazinia R, Samzadeh KA, Maione F, Mascolo N, Reza AV. 2019. Anti-inflammatory and anti-oxidant activity of *Portulaca oleracea* extract on LPS-Induced rat lung injury. Molecules 24 (1): 139. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24010139>
- Castro-Lara D, Bye-Boettler R, Basurto-Peña F, Mera-Ovando LM, Rodríguez-Servín J, Álvarez-Vega J, Morales de León J, Caballero-Roque A. 2018. Revalorización, conservación y promoción de quelites una tarea conjunta. Agro Productividad 7 (1): 8-12.
- Chen Y, Aviad T. 1990. Effects of humic substances on plant growth. In Humic Substances in Soil and Crop Sciences: Selected Readings. MacCarthy P, Clapp CE, Malcolm RL, Bloom PR. (eds.). American Society of Agronomy, Soil Science Society of America: Madison, Florida, United States of America. pp: 161–186. <https://doi.org/10.2136/1990.humicsubstances.c7>
- Chen Y, Chang SKC. 2015. Macronutrients, phytochemicals, and antioxidant activity of soybean sprout germinated with or without light exposure. Journal of Food Science 80 (6): 391–398. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12868>
- García JC, Hernández A, Acebo Y, Rives N. 2008. Obtención de un nuevo método de desinfección de semillas de arroz. Cultivos Tropicales 29 (4): 55–59.
- González-Solano KD, Rodríguez-Mendoza MN, Sánchez-Escudero J, Trejo-Téllez L. García-Cué JL. 2018. Uso de té de vermicompost en la producción de hortalizas de hoja. Agro Productividad 7 (6): 17-22.
- Gulnaz A, Iqbal J, Farooq S, Azam F. 1999. Seed treatment with growth regulators and crop productivity. I. 2,4-D as an inducer of salinity-tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). Plant and Soil 210 (2): 209–218. <https://doi.org/10.1023/A:1004627017883>
- Hayes MHB. 1991. Concepts of the origins, composition, and structures of humic substances. In Advances in Soil Organic Matter Research: The Impact On Agriculture and the Environment. Wilson WS. (ed.). Woodhead Publishing: Cambridge, United Kingdom. pp: 1-22.
- Johns T, Maundu P. 2006. Forest biodiversity, nutrition, and population health in market-oriented food systems. Unasyva 57 (224): 34-40.
- Liu H, Kang Y, Zhao X, Liu Y, Zhang X, Zhang S. 2019. Effects of elicitation on bioactive compounds and biological activities of sprouts. Journal of Functional Foods 53 (13): 136–145. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.12.019>
- Lynch J, Marschner P, Rengel Z. 2012. Effect of internal and external factors on root growth and development In: Marschner's mineral nutrition of higher plants. Marschner P. (ed.); Third Edition. Academic Press: Amsterdam, Netherlands. pp: 331-346. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-63043-9>

- Maeda T. 2006. Process for producing peanut sprouts. EP1683409A1. European Patent Office. <https://patents.google.com/patent/EP1683409A1/en#nplCitations>
- Maggioni A, Varanini Z, Nardi S, Pinton R. 1987. Action of soil humic matter on plant roots: Stimulation of ion uptake and effects on $(\text{Mg}^{2+} + \text{K}^{+})$ ATPase activity. *The Science of The Total Environment* 62: 355–363. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(87\)90522-5](https://doi.org/10.1016/0048-9697(87)90522-5)
- Meng Y, Ying Z, Xiang Z, Hao D, Zhang W, Zheng, Gao Y, Ying X. 2016. The anti-inflammation and pharmacokinetics of a novel alkaloid from *Portulaca oleracea* L. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 68 (3): 397–405. <https://doi.org/10.1111/jphp.12526>
- Myers RH, Montgomery DC, Anderson-Cook CM. 2009. Response surface methodology: process and product optimization using design experiments. Third Edition. John Wiley & Sons, Inc. NJ, USA. pp: 1-61.
- Olivares FL, Busato JG, de Paula AM, da Silva Lima L, Aguiar NO, Canellas LP. 2017. Plant growth promoting bacteria and humic substances: crop promotion and mechanisms of action. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* 4 (1): 1-13. <https://doi.org/10.1186/s40538-017-0112-x>
- Pepper IL, Gentry TJ. 2015. Earth Environments. *In: Environmental microbiology*. Pepper IL, Gerba CP, Maier RM. (eds.); Third Edition, Academic Press: Walthman, Massachusetts, United States of America. pp: 59-88. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394626-3.00004-1>
- Ponce de León C, Esperanza-Torrija M, Cruz-Matallana M. 2013. Utilidad en la alimentación de algunas semillas germinadas: brotes de soja y trigo. *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural. Sección biológica* 107: 47–55.
- Rolnik A, Olas B. 2020. Vegetables from the *Cucurbitaceae* family and their products: positive effect on human health. *Nutrition* 78: 110788. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2020.110788>
- Smith GS, Johnston CM, Corforth IS. 1983. Comparison of nutrient solutions for growth of plants in sand culture. *New Phytologist* 94 (4): 537–548. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1983.tb04863.x>
- Trejo-Valencia R, Preciado-Rangel P, Herrera-García RA, Fortis-Hernández M, Madero-Tamargo E, Largada-Murrieta A. 2015. Soluciones nutritivas orgánicas: una opción en la agricultura sustentable. *In: Desarrollo y Tecnología. Aportaciones a los Problemas de la Sociedad*. Santiago-Tepantlán C, Ayala-Garay AV, Almaguer-Vargas G. (eds.); Plaza y Valdes Editores: D.F. México. pp 303-313.
- Vaughan D, Malcolm RE. 1985. Influence of humic substances on growth and physiological processes. *In: Soil Organic Matter and Biological Activity. Developments in Plant and Soil Sciences*, vol 16. Vaughan D., Malcolm RE. (eds.). Springer: Dordrecht, Netherlands. pp: 37-75. https://doi.org/10.1007/978-94-009-5105-1_2
- Vázquez-Atanacio MJ, Bautista-Ávila M, Velázquez-González C, Castañeda-Ovando A, González-Cortazar M, Sosa-Gutiérrez CG, Ojeda-Ramírez D. 2021. *Porophyllum* genus compounds and pharmacological activities: A Review. *Scientia Pharmaceutica* 89 (1): 7. <https://doi.org/10.3390/scipharm89010007>
- Vera-Sánchez KS, Cadena-Iñiguez J, Latournerie-Moreno L, Santiaguillo-Hernández JF, Rodríguez-Contreras A, Basurto-Pena FA, Castro-Lara D, Rodríguez-Guzmán E, López-López P, Ríos-Santos E. 2016. Conservación y utilización sostenible de las hortalizas nativas de México. *Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas*. México. pp: 1-6.
- Verlinden G, Coussens T, De Vliegher A, Baert G, Haesaert G. 2010. Effect of humic substances on nutrient uptake by herbage and on production and nutritive value of herbage from sown grass pastures. *Grass and Forage Science* 65 (1): 133–144. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2009.00726.x>
- Zhang Q, Xing B, Sun M, Zhou B, Ren G, Qin P. 2020. Changes in bio-accessibility, polyphenol profile, and antioxidants of quinoa and djliss sprouts during in vitro simulated gastrointestinal digestion. *Food Science and Nutrition* 8 (8): 4232–4241. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1718>

OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN BIOMASA A PARTIR DE GERMINADOS DE ESPECIES HORTÍCOLAS NEOTROPICALES

Juan Fabricio Lazcano-Escobar¹, Nayeli Sarahí Quiñones-Islas^{1,2},
Sergio Rubén Trejo-Estrada¹, Carolina Ramírez-López^{1*}

¹ Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, (CIBA-IPN). Ex-Hacienda San Juan Molino, Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla 1 km 1.5, Tlaxcala, México. C. P. 90700.

² Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Tecomán. Carretera Colima-Manzanillo km 35, Tecomán, Colima, México. C. P. 28100.

* Autor para correspondencia: caramirezl@ipn.mx

RESUMEN

La germinación de semillas mejora la calidad nutrimental de alimentos de origen vegetal al incrementar los contenidos y disponibilidad de nutrientes esenciales y disminuir los niveles de antinutrientes. Se cuenta con un número considerable de especies estudiadas, aunque a la fecha hay pocos estudios sobre especies hortícolas del neotrópico. El objetivo del presente estudio consistió en la evaluación y optimización de soluciones nutritivas minerales [Adelusi-Oseni (AO), Ruakura (Ru), Maeda (M)] y combinaciones de estas con extractos provenientes de composta (EC1, EC2 y EC3) obtenidas con tres diferentes solventes, sobre el desarrollo de biomasa de cuatro semillas tradicionales en México: calabaza (*Cucurbita pepo* L.), pápalo [*Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass.], pipitza [*Porophyllum linaria* Cav.] y verdolaga (*Portulaca oleracea* L.). La hipótesis fue que la optimización de la producción de biomasa se logrará con aquellas soluciones nutritivas que conduzcan al máximo rendimiento para cada semilla, con respecto a un testigo con agua. La germinación se realizó en cajas Petri con tela de algodón como soporte, agregando 5 mL de solución nutritiva, más un testigo desarrollado con agua, con fotoperiodo de 12 h; continuando la germinación hasta las 96 h. Se aplicó el diseño experimental San Cristóbal a las mezclas de nutrientes con mayor impacto positivo sobre la producción de biomasa. Se realizó una ANOVA con comparación de medias Tukey y Dunnett. Para germinados de calabaza, la solución EC3E2 logró incrementar el crecimiento de las plántulas en 395.2 % respecto al testigo; EC2A mostró una elongación mayor respecto al testigo del 84.7 % para germinados de pápalo; EC2A produjo un incremento del 15.8 % en pipitza. En verdolaga, EC2A produjo un incremento del 53.7 %. La nutrición por medio de extractos de composta puede favorecer la producción de biomasa a partir de germinados.

Palabras clave: *Cucurbita pepo* L., *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass., *Porophyllum linaria* Cav., *Portulaca oleracea* L., soluciones nutritivas.

INTRODUCCIÓN

Los sistemas de producción de alimentos necesitan ser renovados para generar productos con mejores atributos nutrimentales. Los germinados de semillas contienen

Citation: Lazcano-Escobar JF, Quiñones-Islas NS, Trejo-Estrada SR, Ramírez-López C. 2022. Optimización de la producción biomasa a partir de germinados de especies hortícolas neotropicales. *Agrociencia*. 56(4): 704-726. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i4.2812>

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: May 03, 2021.

Approved: May 15, 2022.

Published in Agrociencia:
June 21, 2022.

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



altos niveles de nutrientes, como consecuencia de la biodisponibilidad de iones y biomoléculas que deriva de cambios fisiológicos durante el proceso de germinación y crecimiento inicial (Liu *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2020).

El proceso de germinación consiste en una serie de cambios bioquímicos y fisiológicos que dan como resultado la iniciación del crecimiento de una nueva planta. Este proceso implica la movilización de las sustancias de reserva dentro de la semilla para que el embrión en crecimiento las utilice (Lynch *et al.*, 2012). Por lo tanto, los germinados son fuentes de proteínas, vitaminas y minerales, así como glucosinolatos, compuestos fenólicos y compuestos que contienen selenio e isoflavonas, que ayudan a mantener una buena salud (Ponce de León *et al.*, 2013).

Las hortalizas neotropicales tienen un elevado contenido de vitaminas, antioxidantes y fibra dietética, carecen de lípidos en su composición, por lo que tienen un bajo contenido calórico (Vera-Sánchez *et al.*, 2016). Además, contienen fitoquímicos tales como fenoles y carotenoides, que les otorgan el carácter de alimento funcional (Johns y Maundu, 2006).

La calabaza (*Cucurbita pepo* L.) es una planta anual de hábito rastrero que produce un fruto que normalmente se consume antes de llegar a la madurez. Sus semillas muestran propiedades antidiabéticas, antifúngicas, antibacterianas, antiinflamatorias y antioxidantes (Rolnik and Olas, 2020). La germinación de las semillas mejora la calidad nutricional y provoca un cambio importante en las características bioquímicas y sensoriales de éstas (Liu *et al.*, 2019). De hecho, la germinación reduce los factores responsables de flatulencias, aumentando la digestibilidad y utilización de proteínas y carbohidratos (Akintade *et al.*, 2019).

El pápalo [*Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass.], es una herbácea anual que produce hojas comestibles y que se consume en fresco; si estas se someten a cocción, pierden su sabor original. Además, el pápalo forma parte de la medicina tradicional de las culturas originarias en México (Castro-Lara *et al.*, 2018).

La pipitza (*Porophyllum linaria* Cav.) es una planta anual, que produce flores y hojas aromáticas y saborizantes. Además, esta especie muestra propiedades antiinflamatorias y medicinales (Vázquez-Atanacio *et al.*, 2021). Es rico en vitaminas B y C, y aporta minerales como fósforo, hierro y calcio (Castro-Lara *et al.*, 2018). Se utiliza principalmente como condimento en fresco o seco para la elaboración de diferentes platillos regionales.

La verdolaga (*Portulaca oleracea* L.) es una planta herbácea rastrera, cuyos brotes tiernos se consumen en ensaladas como verdura o guisadas. (Castro-Lara *et al.*, 2018) Esta especie aporta vitaminas A, B, C y minerales esenciales como hierro, magnesio y calcio. También contiene terpenos, ácidos fenólicos y cumarinas, flavonoides y alcaloides como las oleraceínas (Baradaran *et al.*, 2019), con efectos antifúngicos, antivirales, neuroprotectores y anticancerígenos (Meng *et al.*, 2016).

Para la nutrición de cultivos se han definido 14 elementos esenciales, dentro de los que se pueden citar los macronutrientes N, P, K, Ca, Mg y S; y los micronutrientes Cl, Fe, B, Mn, Zn, Cu, Mo y Ni. Estos elementos se pueden aportar a la planta a través

de los fertilizantes al suelo en sistemas a cielo abierto, o a través de las soluciones nutritivas en sistemas hidropónicos (Lynch *et al.*, 2012). Además, la nutrición de plantas puede mejorar al hacer aportes de materiales orgánicos como las sustancias húmicas. Estas sustancias provienen de desechos de animales y plantas; son de carácter ácido, elevado peso molecular, resistentes al ataque microbiano y con propiedades refractarias (Pepper and Gentry, 2015). Tienen efectos positivos en el crecimiento, el desarrollo y la producción de cultivos (Hayes, 1991).

A través de la germinación es posible mejorar los valores nutricionales y reducir los factores antinutricionales e indigeribles de las semillas. Además, la germinación contribuye a incrementar la síntesis y acumulación de metabolitos secundarios, como la vitamina C y los polifenoles que pueden tener efectos antioxidantes, antidiabéticos y anticancerígenos. La elección de un diseño experimental realiza para minimizar costos experimentales, reducir tiempo de experimentación, y maximizar la eficiencia de estimación de la respuesta. El diseño San Cristóbal ha sido empleado para evaluar la influencia de fertilizantes en el rendimiento de diversos cultivos (Myers *et al.*, 2009). El objetivo de aplicar esta metodología de evaluación a los germinados de las cuatro especies de hortalizas es identificar las mejores soluciones nutritivas que aseguren la mayor producción de biomasa. Con base en lo anterior, se evaluó un sistema de producción de biomasa mediante la obtención de germinados de cuatro especies de hortalizas neotropicales, con el fin de optimizar y evaluar el efecto de soluciones nutritivas [Adelusi-Oseni (AO), Ruakura (Ru) y Maeda (M)], extractos provenientes de composta (EC1, EC2 y EC3), y las combinaciones de estas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico utilizado

En este estudio, se emplearon semillas comercialmente disponibles de cuatro especies de hortalizas de origen neotropical tradicionales en México: calabaza (*Cucurbita pepo* L.), pápalo [*Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass.], pipitza (*Porophyllum linaria* Cav.) y verdolaga (*Portulaca oleracea* L.), adquiridas con productores locales de la región en el mercado de San Andrés Cholula, Puebla, México.

Desinfección de semillas

La desinfección de semillas se llevó a cabo según el protocolo descrito por García *et al.* (2008). Primeramente se realizó un lavado a 50 g de semillas en Tween 80 (0.25 % v/v) durante 5 min; posteriormente se procedió a un remojo de las semillas en etanol al 70 % durante 1 min; se prosiguió con un lavado en $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ al 5 % más Tween 80 (0.25 % v/v) por 20 min. Finalmente se llevaron a cabo cuatro enjuagues de 2 min cada uno con agua destilada estéril sobre una coladera a fin de retirar el exceso de agua.

Germinación de semillas

Con las semillas limpias y desinfectadas, se inició el proceso de germinación con base en la metodología descrita por Chen y Chang (2015), con algunas modificaciones. Las

semillas se remojaron en agua purificada por 24 h, posteriormente fueron colocadas diez semillas como unidad experimental en cada caja Petri sobre tela de algodón como medio de soporte, agregando 5 mL de solución nutritiva, más un testigo con agua purificada, aplicando un fotoperiodo de 12 h en una cámara de crecimiento vegetal, ajustada a una temperatura de 25 °C, con iluminación (Marca SEV, Puebla, México). Cada ensayo se evaluó por triplicado. El sistema de germinación se rehidrató cada 24 h con 2 mL de su respectiva solución nutritiva hasta las 96 h, tiempo en el cual se determinaron las longitudes del germinado tanto de la parte aérea como de la raíz.

Soluciones nutritivas y enmiendas orgánicas

En cada una de las tres especies estudiadas, se evaluó el efecto de las soluciones nutritivas: 1) Adelusi-Oseni (AO): empleada para la acumulación de pigmentos fotosintéticos (Adelusi and Oseni, 2015); 2) Ruakura (Ru): usada para el incremento de materia seca en germinados. (Smith *et al.* 1983); y 3) Maeda (M): reportada para incrementar el rendimiento de germinados (Maeda, 2006).

Además, se probaron tres extractos de compostas: Extracto de composta 1 (EC1), Extracto de composta (EC2) y Extracto de composta (EC3) con tres disolventes, empleados con el fin de extraer los biostimulantes presentes en las compostas: Detergente (D), Agua (A) y Etanol (E). Este último factor (etanol) se probó a tres diferentes concentraciones: 25 % (1), 50 % (2) y 75 % (3) (Cuadro 1).

Diseño experimental y análisis estadístico

Para evaluar de manera individual el uso de extractos de composta y soluciones minerales nutritivas se llevó a cabo el análisis de los tratamientos realizados a las cuatro especies estudiadas mediante un diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones de 18 tratamientos más un testigo con agua de cada unidad experimental de 10 semillas (Cuadro 1), sumando un total de 228 corridas experimentales. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA), y las medias fueron comparadas por la prueba de Dunnett ($p \leq 0.05$) para saber si existieron diferencias significativas con respecto al testigo y una comparación de medias de Tukey ($p \leq 0.05$) para validar la diferencia entre los germinados desarrollados con las diferentes soluciones nutritivas. Para estos análisis se empleó el software Microsoft Excel versión 16.29 y Minitab versión 18. Se aplicaron diagramas de Pareto, para identificar las soluciones nutritivas que generaron mayor biomasa en los germinados.

Posteriormente, se aplicó el diseño experimental San Cristóbal, para generar un segundo experimento, con el fin de determinar los tratamientos necesarios para valorar el efecto de la interacción entre soluciones minerales y extractos de composta sobre la longitud de los germinados de las cuatro especies evaluadas comparadas contra un testigo desarrollado con agua. Esta prueba se efectuó con base en el programa Minitab 18, con repetición por triplicado en el punto central (Cuadro 2).

Cuadro 1. Diseño experimental empleado en la germinación de semillas.

Solución Nutritiva	Extracto concentrado	Número de tratamiento
EC1 [†]	D ^{¶¶}	1
	A ^{§§}	2
	E1 ^{ᵇᵇ}	3
	E2 ^{ᵐᵐ}	4
	E3 ⁺⁺⁺	5
EC2 [¶]	D	6
	A	7
	E1	8
	E2	9
	E3	10
EC3 [§]	D	11
	A	12
	E1	13
	E2	14
	E3	15
M ^ᵇ	-	16
AO ^ᵐ	-	17
Ru ⁺⁺	-	18
Testigo	-	19

[†]EC1=Extracto de composta 1, [¶]EC2= Extracto de composta 2, [§]EC3= Extracto de composta 3, ^ᵇM=Solución nutritiva Maeda, ^ᵐAO= Solución nutritiva Adelusi Oseni, ⁺⁺Ru= Solución nutritiva Ruakura, ^{¶¶}D=Detergente, ^{§§}A=Agua, ^{ᵇᵇ}E1=Solución de etanol al 25 %; ^{ᵐᵐ}E2=Solución de etanol al 50 %, ⁺⁺⁺E3=Solución de etanol al 75 %.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Pruebas de germinación para la selección de medios nutritivos

En la Figura 1 se muestran las diferencias porcentuales en cuanto a elongación de la parte aérea de los germinados de calabaza (subfigura 1A), pápalo (subfigura 1B), pipitza (subfigura 1C), y verdolaga (subfigura 1D), respecto al testigo (germinados realizados solamente con agua purificada), de acuerdo con los tratamientos descritos en el Cuadro 1.

En esta misma Figura 1A se observa que el mayor desarrollo del germinado de calabaza fue en EC3E2, tratamiento en el que se alcanzaron 61.90 ± 15.37 mm de longitud, lo que equivale a un 395.2 % de aumento con relación al testigo; y es secundado por la solución mineral AO, con 43.44 ± 12.08 mm de longitud del germinado, equivalente al 250 % de incremento con respecto al testigo, y por el extracto de composta denominado EC1A, con 37.50 ± 12.32 mm de longitud equivalente a un 200 % de aumento respecto al testigo.

Respecto a pápalo, las soluciones que registraron los mayores desarrollos en la parte aérea fueron la solución mineral Ru, con 41.04 ± 4.79 mm, que equivalen al 93.2 % de

Cuadro 2. Diseño experimental San Cristóbal de las soluciones individuales que generaron mayor biomasa de germinados para evaluar la mezcla de soluciones nutritivas en la producción de germinados de las semillas estudiadas.

No. de tratamiento	Soluciones nutritivas
1	EC2A [†] -AO [‡]
2	EC3E2 [§] -AO
3	EC2A-Ru ^b
4	EC3E2-Ru
5	EC2A
6	EC3E2
7	AO
8	Ru
9	EC2A-EC3E2
10	Ru-AO
11	(EC3E2-Ru)-(EC2A-AO)
12	(EC2A-EC3E2)-(Ru-AO)
13	(EC3E2-AO)-(EC2A-Ru)

[†]EC2A= Extracto de composta 2 extraído con agua, [‡]AO= Solución mineral Adelusi Oseni, [§]EC3E2= Extracto de composta 3 extraído con etanol al 50 %, ^bRu= Solución mineral Ruakura.

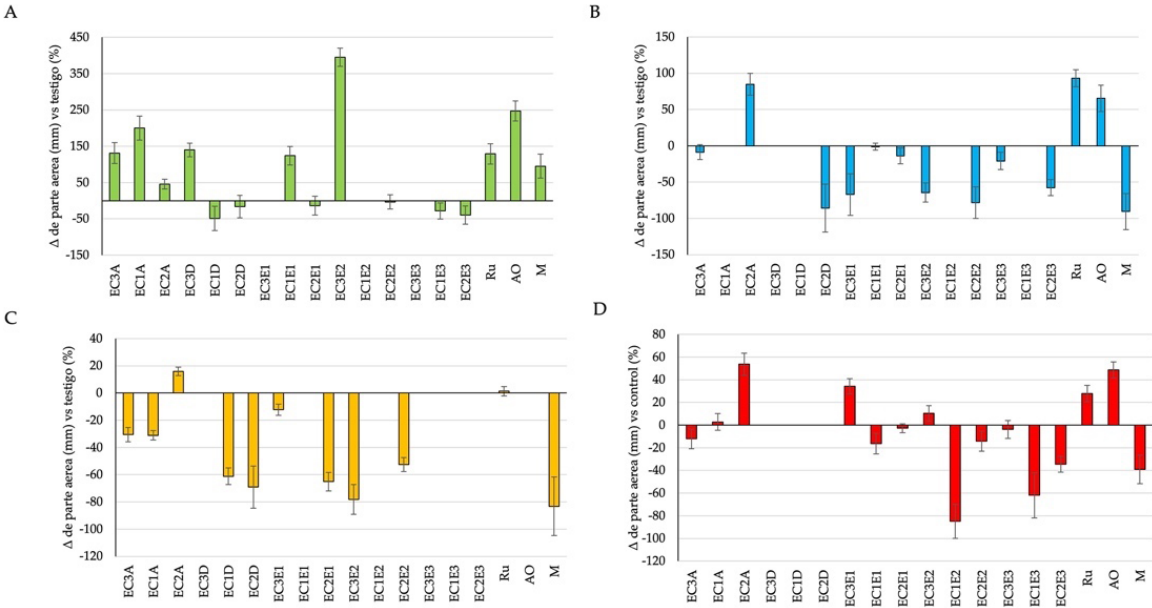


Figura 1. Porcentaje de diferencia de la longitud de la parte área del germinado de semillas: A: calabaza; B: pápalo; C: pipitza; y D: verdolaga con respecto al testigo.

aumento respecto al testigo; el tratamiento EC2A, con 39.24 ± 5.91 mm de parte aérea, equivalentes a un incremento del 84.7 % respecto al testigo, y la solución AO, que desarrolló 35.12 ± 6.38 mm, lo que representa 65.3 % más que el testigo. En el resto de los tratamientos no se observan valores de importancia en cuanto al desarrollo del germinado y aún más se presentó en algunos casos la falta de viabilidad de las semillas, razón por la cual no se observan algunos datos o se muestra un 0 %, considerando que son idénticas al testigo.

Los resultados en pipitza se muestran en la Figura 1C. Se puede observar que el extracto de composta EC2A produjo una elongación de 9.66 ± 3.18 mm, que representó 15.8 % de incremento con respecto del testigo. Esta fue la única solución nutritiva que presenta mayor desarrollo en la parte aérea del brote en semillas de pipitza con respecto al testigo. Los demás tratamientos redujeron esta variable en pipitza.

Los resultados para verdolaga se muestran en la Figura 1D. Se puede apreciar que tanto el tratamiento EC2A, con una longitud del germinado de 20.20 ± 4.41 mm, equivalente a un incremento del 53.7 % en comparación con el testigo; como AO con una longitud de 19.53 ± 2.38 mm y 48.6 % de incremento respecto al testigo, y EC3E1 con una longitud de 17.64 ± 3.79 mm y 34.2 % de incremento respecto al testigo, presentan el mayor crecimiento de la parte aérea para esta especie.

La evaluación del efecto de los extractos de composta en la germinación y elongación de germinados mostró que cada hortaliza evaluada tiene requerimientos específicos para su desarrollo. Es por lo anteriormente señalado, que la elección de las soluciones nutritivas con mayor influencia positiva en los germinados fueron los extractos de composta EC2A y EC3E2; así como las soluciones minerales Ru y AO.

Con base en los resultados anteriores, se propuso un segundo diseño experimental (Cuadro 2), aplicando el diseño San Cristóbal con repetición por triplicado en el punto central, en el programa Minitab 18 usando mezclas y soluciones individuales nutritivas con las que se observó un mayor impacto sobre el crecimiento de la parte aérea de los germinados de calabaza, pápalo, pipitza y verdolaga, comparadas contra un testigo desarrollado con agua. En total, se realizaron 13 tratamientos por triplicado, de los cuales se seleccionaron aquellos que desarrollaron germinados con mayor longitud.

Los resultados de este segundo experimento se muestran en la Figura 2. Se puede apreciar el efecto de los diferentes tratamientos en la elongación de los germinados, y se comparan con las longitudes de los germinados desarrollados con agua (testigos).

En calabaza, la mayor longitud de la parte aérea del germinado se logró con el tratamiento EC3E2, con 61.20 ± 7.57 mm de longitud, y en AO, con 42.83 ± 2.06 mm de longitud (Figura 2A). La prueba de Dunnett (Cuadro 3) indica que existen diferencias significativas entre las medias aritméticas de las longitudes alcanzadas con estas soluciones con respecto al testigo, en tanto que la prueba de Tukey (Cuadro 3) indica que existen diferencias significativas entre las medias de las longitudes entre EC3E2 y AO. Lo anterior, puede explicarse debido a que las sustancias húmicas pueden formar complejos con los cationes de metales de transición, lo que puede incrementar la absorción de estos elementos por la planta (Chen y Aviad, 1990). Además, las plantas tratadas con sustancias húmicas tienen una mayor eficiencia de absorción de agua, que

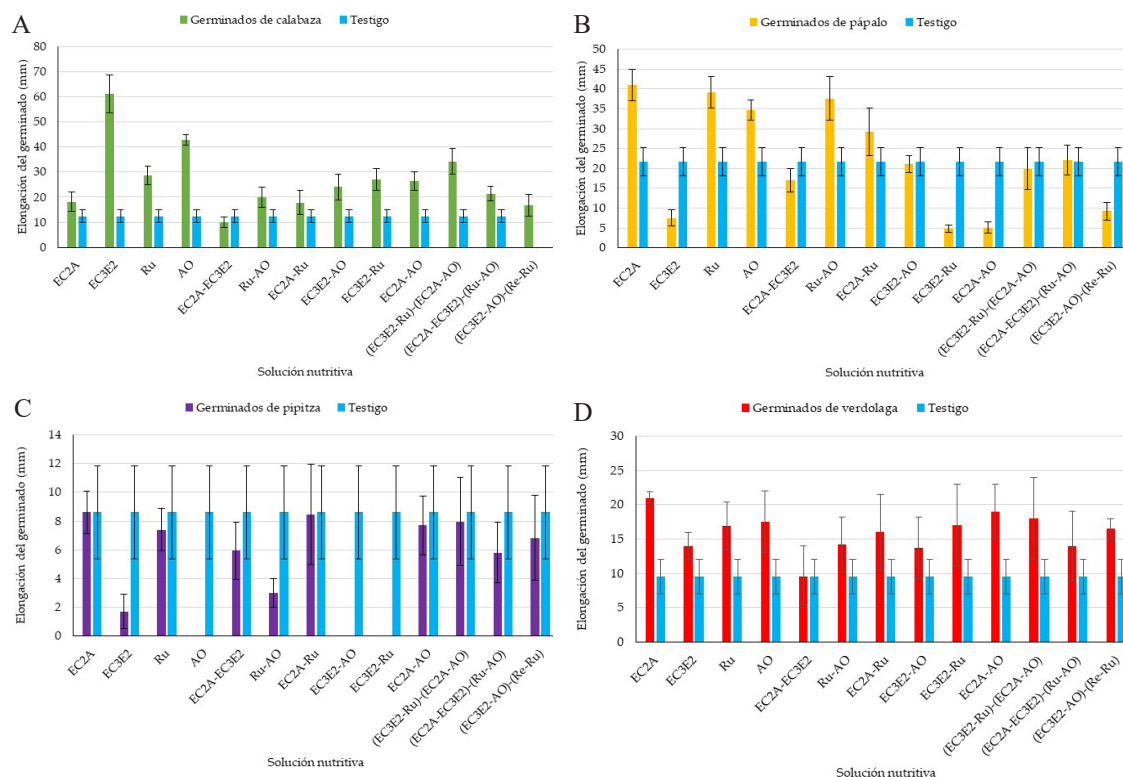


Figura 2. Elongación del germinado (mm) en semillas: A: calabaza; B: pápalo; C: pipitza y D: verdolaga comparados con el testigo.

las plantas no tratadas, con lo que pueden producir más biomasa. En un estudio similar realizado en albahaca (*Ocimum basilicum*), cilantro (*Coriandrum sativum*) y lechuga (*Lactuca sativa*) tratadas con té de composta, se observó la misma cantidad de biomasa que en las producidas con solución mineral de Steiner (González-Solano *et al.*, 2018). En pápalo (Figura 2B), las mayores longitudes de la parte aérea de los germinados se lograron con el extracto de composta EC2A, con 41.01 ± 3.88 mm. La prueba de Tukey (Cuadro 3) no mostró diferencias significativas respecto a la solución Ru que produjo 39.17 ± 4.21 mm; la solución AO que generó 34.63 ± 2.54 mm; ni con la mezcla de soluciones Ru-AO con 37.61 ± 5.48 mm. En tanto, la prueba de Dunnett (Cuadro 3) indicó que los germinados desarrollados con los tratamientos antes citados son estadísticamente superiores al testigo. Los efectos positivos de las sustancias húmicas se observan primeramente en indicadores de crecimiento de la planta, como la emisión de brote y la raíces, longitud o peso de biomasa fresca y seca (Vaughan y Malcolm, 1985). En pipitza (Figura 2C), la prueba de Dunnett (Cuadro 3) indicó que no existen diferencias significativas entre los diferentes tratamientos respecto al testigo, cuyo germinado logró 8.61 ± 3.26 mm de longitud. Sin embargo, se observó que los tratamientos EC3E2 (1.77 ± 1.25 mm) y Ru-AO (3.02 ± 1.03 mm), presentan menores desarrollos en

Cuadro 3. Prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) y Dunnett ($p \leq 0.05$) de comparación de la media aritmética de la longitud de los germinados (mm) de calabaza, pápalo, pipitza y verdolaga.

Solución nutritiva	Calabaza	Pápalo	Pipitza	Verdolaga
Testigo	12.33 ± 2.52 E, F [†] ; A [‡]	21.75 ± 3.53 C, D [†] ; A [‡]	8.61 ± 3.26 A [†] ; A [‡]	9.53 ± 2.58 C [†] ; A [‡]
EC2A	18.20 ± 3.90 D, E, F [†] ; A [‡]	41.01 ± 3.88 A [†] ; - [‡]	9.28 ± 1.51 A [†] ; A [‡]	21.07 ± 2.95 A [†] ; - [‡]
EC3E2	61.20 ± 7.57 A [†] ; - [‡]	7.55 ± 1.95 F, G [†] ; - [‡]	1.77 ± 1.25 B, C [†] ; - [‡]	14.17 ± 2.02 B, C [†] ; A [‡]
Ru	28.80 ± 3.70 C, D [†] ; - [‡]	39.17 ± 4.21 A, B [†] ; - [‡]	7.44 ± 1.57 A, B [†] ; A [‡]	16.93 ± 3.14 A, B [†] ; A [‡]
AO	42.83 ± 2.06 B [†] ; - [‡]	34.63 ± 2.54 A B [†] ; - [‡]	0.00 C [†] ; - [‡]	17.55 ± 4.56 A B [†] ; A [‡]
EC2A-EC3E2	10.28 ± 2.21 F [†] ; A [‡]	17.22 ± 3.16 D, E, F [†] ; A [‡]	5.93 ± 2.13 A, B, C [†] ; A [‡]	9.47 ± 3.92 C [†] ; A [‡]
Ru-AO	20.67 ± 4.12 D, E, F [†] ; A [‡]	37.61 ± 5.48 A, B [†] ; - [‡]	3.02 ± 1.03 A, B, C [†] ; - [‡]	14.23 ± 4.02 A, B, C [†] ; A [‡]
EC2A-Ru	17.83 ± 4.85 D, E, F [†] ; A [‡]	29.26 ± 6.29 B, C [†] ; A [‡]	8.48 ± 3.50 A [†] ; A [‡]	15.93 ± 5.55 A, B, C [†] ; A [‡]
EC3E2-AO	24.07 ± 5.20 C, D, E [†] ; - [‡]	5.13 ± 1.36 G [†] ; - [‡]	0.00 C [†] ; - [‡]	13.70 ± 4.51 B, C [†] ; A [‡]
EC3E2-Ru	27.03 ± 4.35 C, D [†] ; - [‡]	4.85 ± 0.98 G [†] ; - [‡]	0.00 C [†] ; - [‡]	17.12 ± 5.43 A, B [†] ; A [‡]
EC2A-AO	26.43 ± 3.65 C, D [†] ; - [‡]	21.14 ± 2.16 C, D [†] ; A [‡]	7.70 ± 2.06 A, B [†] ; A [‡]	19.08 ± 4.17 A, B [†] ; A [‡]
(EC3E2-Ru)- (EC2A-AO)	34.17 ± 5.11 B, C [†] ; - [‡]	19.93 ± 5.22 C, D, E [†] ; A [‡]	7.97 ± 3.19 A, B [†] ; A [‡]	18.03 ± 5.82 A, B [†] ; A [‡]
(EC2A-EC3E2)- (Ru-AO)	21.37 ± 2.93 D, E, F [†] ; A [‡]	22.13 ± 3.71 C, D [†] ; A [‡]	5.80 ± 2.11 A, B, C [†] ; A [‡]	14.06 ± 4.33 B, C [†] ; A [‡]
(EC3E2-AO)- (Re-Ru)	16.87 ± 4.40 D, E, F [†] ; A [‡]	9.20 ± 2.15 E, F, G [†] ; - [‡]	6.83 ± 2.76 A, B [†] ; A [‡]	16.52 ± 1.51 A, B [†] ; A [‡]

[†]Prueba de Tukey: Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes; [‡]Prueba de Dunnett: Las medias no etiquetadas con la letra A son significativamente diferentes de la media del nivel de control.

están correctos los símbolos??

los germinados respecto a los alcanzados en el testigo. En el caso del tratamiento AO, EC3E2-AO y EC3E2-Ru, es importante notar que la germinación fue inhibida. Estos resultados corroboran que no puede haber una única solución nutritiva que produzca resultados satisfactorios en todas las circunstancias y especies evaluadas (Smith *et al.*, 1983). Las soluciones nutritivas y las sustancias húmicas pueden afectar la síntesis y transporte de fitohormonas en las plantas. Por ejemplo, las sustancias húmicas pueden estimular la síntesis de ácido indolacético (AIA). A su vez, esta auxina puede estimular la germinación y el crecimiento de los germinados (Amador-Alfárez *et al.*, 2013). En verdolaga (Figura 2D), el mayor desarrollo de la parte aérea del germinado se logró en el tratamiento EC2A, con 21.07 ± 2.95 mm de longitud. La prueba de Dunnett

(Cuadro 3) reveló que ésta fue la única solución que presentó diferencia significativa respecto al testigo. Un aumento en la captación de N, que favorece el crecimiento de la parte aérea, puede explicarse por el papel de las sustancias húmicas en la modulación de la captación de nitrato a través de una interacción con la membrana plasmática (Maggioni *et al.*, 1987; Chen y Aviad, 1990; Gulnaz *et al.*, 1999; Verlinden *et al.*, 2010). Estos componentes parecen aumentar la permeabilidad de la membrana celular y pueden tener una actividad similar a las fitohormonas denominadas auxinas, que actúan como reguladoras del crecimiento vegetal (Olivares *et al.*, 2017). Incluso, pequeños fragmentos de ácidos húmicos posiblemente proporcionan nutrientes para las plantas. Por otra parte, en las soluciones nutritivas con efectos negativos o menor capacidad estimulante del desarrollo de los germinados, se sabe que sus componentes pueden presentar reacciones químicas que forman precipitados de iones, lo que ocasiona que éstos no estén disponibles para el desarrollo de la planta (Trejo-Valencia *et al.*, 2015).

CONCLUSIONES

Con base a los resultados obtenidos, se puede concluir que los extractos de composta son una opción importante por considerar para aumentar el rendimiento de la biomasa en la producción de germinados.

El extracto de composta 3 extraído con etanol al 50 % (EC3E2) incrementó la producción de biomasa de germinado de calabaza en 395.2 % con respecto al testigo; mientras que la biomasa de germinado de pápalo con el extracto de composta 2 obtenido con agua (EC2A) produjo una elongación mayor al 84.7 % respecto al testigo. En pipitza, el extracto de composta 2 obtenido con agua (EC2A) produjo un incremento del 15.8 % de la biomasa respecto al testigo. En verdolaga, el extracto de composta 2 extraído con agua (EC2A) indujo un incremento del 53.7 % de la biomasa con respecto al testigo.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Politécnico Nacional a través del proyecto SIP20220684 y a Nutravía, S.A. de C.V. por el financiamiento para realizar la presente investigación.

REFERENCIAS

- Adelusi AA, Oseni OM. 2015. Effects of nitrogen nutrient on the photosynthetic pigments accumulation and yield of *Solanum lycopersicum*. Annals of West University of Timisoara. Series of Biology 18 (2): 131-138.
- Akintade AO, Awolu OO, Ifesan BO. 2019. Nutritional evaluation of fermented, germinated and roasted pumpkin (*Cucurbita maxima*) seed flour. Acta Universitatis Cibiniensis Series E: Food Technology 23 (2): 179-186. <https://doi.org/10.2478/aucef-2019-0021>
- Amador-Alfárez KA, Díaz-González J, Loza-Cornejo S, Bivián-Castro, EY. 2013. Efecto de diferentes reguladores de crecimiento vegetal sobre la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de dos especies de *Ferocactus* (Cactaceae). Polibotánica 35: 109-131.
- Baradaran RV, Rakhshandeh H, Raucci F, Buono B, Shirazinia R, Samzadeh KA, Maione F, Mascolo N, Reza AV. 2019. Anti-inflammatory and anti-oxidant activity of *Portulaca oleracea* extract on LPS-Induced rat lung injury. Molecules 24 (1): 139. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24010139>
- Castro-Lara D, Bye-Boettler R, Basurto-Peña F, Mera-Ovando LM, Rodríguez-Servín J, Álvarez-Vega J, Morales de León J, Caballero-Roque A. 2018. Revalorización, conservación y promoción de quelites una tarea conjunta. Agro Productividad 7 (1): 8-12.

- Chen Y, Aviad T. 1990. Effects of humic substances on plant growth. *In* Humic Substances in Soil and Crop Sciences: Selected Readings. MacCarthy P, Clapp CE, Malcolm RL, Bloom PR. (eds.). American Society of Agronomy, Soil Science Society of America: Madison, Florida, United States of America. pp: 161–186. <https://doi.org/10.2136/1990.humicsubstances.c7>
- Chen Y, Chang SKC. 2015. Macronutrients, phytochemicals, and antioxidant activity of soybean sprout germinated with or without light exposure. *Journal of Food Science* 80 (6): 391–398. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12868>
- García JC, Hernández A, Acebo Y, Rives N. 2008. Obtención de un nuevo método de desinfección de semillas de arroz. *Cultivos Tropicales* 29 (4): 55–59.
- González-Solano KD, Rodríguez-Mendoza MN, Sánchez-Escudero J, Trejo-Téllez L, García-Cué JL. 2018. Uso de té de vermicompost en la producción de hortalizas de hoja. *Agro Productividad* 7 (6): 17–22.
- Gulnaz A, Iqbal J, Farooq S, Azam F. 1999. Seed treatment with growth regulators and crop productivity. I. 2,4-D as an inducer of salinity-tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant and Soil* 210 (2): 209–218. <https://doi.org/10.1023/A:1004627017883>
- Hayes MHB. 1991. Concepts of the origins, composition, and structures of humic substances. *In* Advances in Soil Organic Matter Research: The Impact On Agriculture and the Environment. Wilson WS. (ed.). Woodhead Publishing: Cambridge, United Kingdom. pp: 1–22.
- Johns T, Maundu P. 2006. Forest biodiversity, nutrition and population health in market-oriented food systems. *Unasylva* 57 (224): 34–40.
- Liu H, Kang Y, Zhao X, Liu Y, Zhang X, Zhang S. 2019. Effects of elicitation on bioactive compounds and biological activities of sprouts. *Journal of Functional Foods* 53 (13): 136–145. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.12.019>
- Lynch J, Marschner P, Rengel Z. 2012. Effect of internal and external factors on root growth and development *In* Marschner's mineral nutrition of higher plants. Marschner P. (ed.). Third Edition. Academic Press: Amsterdam, Netherlands. pp: 331–346. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-63043-9>
- Maeda T. 2006. Process for producing peanut sprouts. EP1683409A1. European Patent Office. <https://patents.google.com/patent/EP1683409A1/en#nplCitations>
- Maggioni A, Varanini Z, Nardi S, Pinton R. 1987. Action of soil humic matter on plant roots: Stimulation of ion uptake and effects on (Mg²⁺+K⁺) ATPase activity. *The Science of The Total Environment* 62: 355–363. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(87\)90522-5](https://doi.org/10.1016/0048-9697(87)90522-5)
- Meng Y, Ying Z, Xiang Z, Hao D, Zhang W, Zheng, Gao Y, Ying X. 2016. The anti-inflammation and pharmacokinetics of a novel alkaloid from *Portulaca oleracea* L. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 68 (3): 397–405. <https://doi.org/10.1111/jphp.12526>
- Myers RH, Montgomery DC, Anderson-Cook CM. 2009. Response surface methodology: process and product optimization using design experiments. Third Edition. John Wiley & Sons, Inc. NJ, USA. pp: 1–61.
- Olivares FL, Busato JG, de Paula AM, da Silva Lima L, Aguiar NO, Canellas LP. 2017. Plant growth promoting bacteria and humic substances: crop promotion and mechanisms of action. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* 4 (1): 1–13. <https://doi.org/10.1186/s40538-017-0112-x>
- Pepper IL, Gentry TJ. 2015. Earth Environments. *In* Environmental microbiology. Pepper IL, Gerba CP, Maier RM. (eds.). Third Edition, Academic Press: Waltham, Massachusetts, United States of America. pp: 59–88. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394626-3.00004-1>
- Ponce de León C, Esperanza-Torrija M, Cruz-Matallana M. 2013. Utilidad en la alimentación de algunas semillas germinadas: brotes de soja y trigo. *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural. Sección biológica* 107: 47–55.
- Rolnik A, Olas B. 2020. Vegetables from the *Cucurbitaceae* family and their products: positive effect on human health. *Nutrition* 78: 110788. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2020.110788>
- Smith GS, Johnston CM, Corforth IS. 1983. Comparison of nutrient solutions for growth of plants in sand culture. *New Phytologist* 94 (4): 537–548. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1983.tb04863.x>
- Trejo-Valencia R, Preciado-Rangel P, Herrera-García RA, Fortis-Hernández M, Madero-Tamargo E, Largada-Murrieta A. 2015. Soluciones nutritivas orgánicas: una opción en la agricultura sustentable. *In* Desarrollo y Tecnología. Aportaciones a los Problemas de la Sociedad. Santiago-Tepantlán C, Ayala-Garay AV, Almaguer-Vargas G. (eds.). Plaza y Valdes Editores: D.F. México. pp 303–313.

- Vaughan D, Malcolm RE. 1985. Influence of humic substances on growth and physiological processes. *In* Soil Organic Matter and Biological Activity. Developments in Plant and Soil Sciences, vol 16. Vaughan D., Malcolm RE. (eds.). Springer: Dordrecht, Netherlands. pp: 37-75. https://doi.org/10.1007/978-94-009-5105-1_2
- Vázquez-Atanacio MJ, Bautista-Ávila M, Velázquez-González C, Castañeda-Ovando A, González-Cortazar M, Sosa-Gutiérrez CG, Ojeda-Ramírez D. 2021. *Porophyllum* genus compounds and pharmacological activities: A Review. *Scientia Pharmaceutica* 89 (1): 7. <https://doi.org/10.3390/scipharm89010007>
- Vera-Sánchez KS, Cadena-Iñiguez J, Latournerie-Moreno L, Santiaguillo-Hernández JF, Rodríguez-Contreras A, Basurto-Pena FA, Castro-Lara D, Rodríguez-Guzmán E, López-López P, Ríos-Santos E. 2016. Conservación y utilización sostenible de las hortalizas nativas de México. Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas. México. pp: 1-6.
- Verlinden G, Coussens T, De Vliegher A, Baert G, Haesaert G. 2010. Effect of humic substances on nutrient uptake by herbage and on production and nutritive value of herbage from sown grass pastures. *Grass and Forage Science* 65 (1): 133–144. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2009.00726.x>
- Zhang Q, Xing B, Sun M, Zhou B, Ren G, Qin P. 2020. Changes in bio-accessibility, polyphenol profile and antioxidants of quinoa and djlulis sprouts during in vitro simulated gastrointestinal digestion. *Food Science and Nutrition* 8 (8): 4232–4241. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1718>



INTENSIFICATION OF MILPA IN THE STATE OF MEXICO: NET INCOMES, FOOD SECURITY AND LAND EQUIVALENT RATIO

Vidal Padilla-Fidencio¹, Rocio Albino-Garduño^{1*}, Horacio Santiago-Mejía¹, Antonio Turrent-Fernández², Ildefonso Ronquillo-Cedillo¹, Lorena González-Pablo¹

¹ Universidad Intercultural del Estado de México. Libramiento Francisco Villa S/N, Colonia Centro, San Felipe del Progreso, Estado de México, México. C. P. 50640.

² Campo Experimental Valle de México. INIFAP. Carretera Los Reyes-Texcoco km 13.5. Coatlinchán, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56250.

* Corresponding author: rocio.albino@uiem.edu.mx

ABSTRACT

The historical milpa has contributed to food security of small farmer families due to its biodiversity. The objective was to evaluate indicators of food access [basic food baskets (BFB), minimum wages (MW) and real food security index (RFSI)], Land Equivalent Ratio (LER), and maximum net income (NI) obtained from the polyculture of native maize-husk tomato-squash in two farm plots in the State of Mexico. The experiment was set up in San Pedro del Rosal (SPR) and San Juan Coajomulco (SJC), irrigated and rainfed, respectively, in the spring-summer cycle 2020. An experimental design in divided plots was used to evaluate two topological patterns: two rows of maize intercalated with one row of tomato and one of squash (MMTS) and one row of maize intercropped with one of husk tomato, one of maize and one of squash (MTMS). Five levels of fertilization with nitrogen, phosphorus and manure were tested. LER was evaluated with the yields of the three species in MMTS, MTMS and in monocropping at the same levels of inputs. BFB, MW, and RFSI were estimated using the regression equation that resulted in the maximum NI. In the two localities, the intercalated crops had higher LER than the monocrops. Comparing the two topological intercropping patterns, the maximum NI was obtained with MTMS in SJC and SPR (MXN \$ 113 686.30 and MXN \$ 204 649.70 ha⁻¹ y⁻¹). With the NI of the MTMS pattern in SJC and SPR, seven and 14 people, respectively, can be provided with BFB for a year. The highest daily MW were obtained with MTMS. In terms of land equivalent ratio, the highest LER were obtained with the MMTS pattern in SJC (2.78) and SPR (1.64). In economic terms, the better topological pattern is MTMS, and in function of LER, MMTS was better.

Keywords: redesign of agro-systems, milpa intercropped with fruit trees – MIFT, Mazahua milpa, *Physalis ixocarpa*, *Cucurbita pepo*, native maize.

Citation: Padilla-Fidencio V, Albino-Garduño R, Santiago-Mejía H, Turrent-Fernández A, Ronquillo-Cedillo I, González-Pablo L. 2022. Intensification of milpa in the State of Mexico: Net incomes, food security and land equivalent ratio. *Agrociencia*. 56(4): 727-751. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i4.2453>

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: November 22, 2021.
Approved: May 02, 2022.
Published in Agrociencia:
June 28, 2022.

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



INTRODUCTION

The State of Mexico is the third largest producer of maize in Mexico (Ramírez-Jaspeado *et al.*, 2020). In the study region, 75 % of the production is rainfed (SIAP, 2020), predominantly native maize (white conic) for home consumption. Between 12 and 26 % of the small farmers of the Mazahua community plant milpa together with native

maize, beans, Faba beans, peas, and squash. The rest of the farmers grow maize as monocrop (Albino-Garduño *et al.*, 2021). In the Atlacomulco district, which comprises the study region, in the 2020 agricultural cycle 147 412 ha maize, 398 ha husk tomato and 16 ha squash were cultivated (SIAP, 2020). Paulino-Flores *et al.* (2017) recognize that the ecological dimension is the greatest strength of the small farmer plots in the region, and their weaknesses are the aspects of production and lack of organization for commercialization. Other unfavourable aspects are the loss of agrobiodiversity and the small areas for food production, which fluctuate between 0.4 and 1.1 ha, and up to 5 ha in a few cases (Paulino-Flores *et al.*, 2017; Albino-Garduño *et al.*, 2021). It is estimated that 82 % of the farmers use mineral fertilizers, a mixture of manures, or a combination of both (Paulino-Flores *et al.*, 2017). Optimizing land use and fertilizers is an alternative to improve productivity of the agroecosystem.

The paradigm of intensification that guides this study is based on the optimum entry of inputs into the agro-system and the use of biodiversity (Mungai *et al.*, 2016). Polyculture is a strategy of long-term agricultural intensification (Tilman, 2020), recommended for farmers with small plots (Lulie, 2017; Cheng-Dong *et al.*, 2019). Intercropping two or more species simultaneously in the same cropping space (Francis and Porter, 2016) produces higher yields and economic incomes per unit of land and fertilizer than monocropping (Tilman, 2020). The land equivalent ratio with intercropping is between 16 % and 29 % higher than with monocrops and between 19 % and 36 % higher than with the use of fertilizers (Li *et al.*, 2020). In general, productivity of intercropping is attributed to the differences in how the distinct species acquire nutrients, moisture, and solar radiation and to the complementarity, facilitation, and exchange of resources among them (Cheng-Dong *et al.*, 2019; Nassary *et al.*, 2019).

The global meta-analysis of Li *et al.* (2020) of the productivity of intercalated crops (in 934 registers of 226 experiments in 132 publications) shows that maize (a C4 plant) is the studied species with the most positive response to intercalation with C3 plants. The average increase in yield is 2.1 ± 0.1 Mg ha⁻¹ compared with monocropping. Previous studies reported that hybrid maize responds positively to intercalation since the land equivalent ratios (LER) are above 1 when it is intercropped with beans (Nassary *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020) and squash (Mahmud *et al.*, 2018).

In the agro-system of milpa intercropped with fruit trees (MIFT), maize is intercalated with low stature species called understory crops (Turrent *et al.*, 2017). In MIFT, net incomes and LER are higher than in monocrops (Albino-Garduño *et al.*, 2015), even with native maize in small farm plots (García and Ronquillo, 2018). However, most of the combinations of intercalated species have not been studied (Lulie, 2017) despite their potential (Evers *et al.*, 2019), even in the MIFT system in small farmer plots.

The basis for achieving food security, in terms of maize, lies in production systems that provide availability, access, utilization, and stability at all times (Tanumihardjo *et al.*, 2020). One indicator is the Real Food Security Index (RFSI), which evaluates the scope of maize production systems (Damián and Toledo 2016). To estimate the RFSI, a human *per capita* maize consumption of 109.5 kg in rural areas is considered (Bourges,

2013). Another factor is the basic food basket, which is the set of foods needed to satisfy the nutrient needs of an average home. It is considered that the price of a monthly basic food basket per person is MXN \$ 1202.87 in rural areas (CONEVAL, 2021). Finally, minimum daily wages (MXN \$ 141.79) earned through agricultural activity vary in accordance with the economic zone of the country (DOF, 2021).

To attain food security, it is necessary to increase the productive potential of maize and of the species with which it is intercropped in the milpa system. However, most of the studies on maize productivity are conducted in research centres and focus on obtaining maximum yields and incomes with hybrids grown in monocrop. Few studies use native maize seed with the factors that limit productivity (Ren *et al.*, 2020) or in the context in which farmers live and produce (Cheng-Dong *et al.*, 2019). The objective of this study was to quantify the maximum net income, food security and land equivalent ratio of the intercropped milpa (maize-husk tomato-squash), in two small farmer plots, one with irrigation and the other rainfed, in the State of Mexico. The hypothesis was that the association maize-husk tomato-bush squash in two topological patterns, under the same management and in small farm plots would increase LER, relative to monocrops in two agro-systems in northern State of Mexico, Mexico.

MATERIALS AND METHODS

Description of the study site

The field experiment was conducted in two farm plots in northern State of Mexico from March to November 2020 (spring-fall crop cycle). One of the plots, in the community of San Juan Coajomulco (19° 44' 19.0" N, 99° 57' 18.7" W, elevation 2650 m), was rainfed and the other, in San Pedro del Rosal (19° 46' 42.9" N, 99° 49' 04.7" W, elevation 2600 m), was irrigated. Both sites have subhumid temperate climate with summer rains. The soil type is Luvisol. The weather station of the Atlacomulco region in 2020 recorded a mean annual temperature of 14 °C and precipitation of 917 mm (SMN, 2021). Soil analyses indicate that the soil in San Juan Coajomulco (SJC) is loam-clay-silt, pH of the arable layer is 5.5, and organic matter is 3.1%. In San Pedro del Rosal (SPR) the soil is silty, pH 5.1, and organic matter is 2.3 %. The plant material used was maize (*Zea mays* L.), native white conic, husk tomato (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm) variety "Manzano", and squash (*Cucurbita pepo* L.) variety "Grey Zuchinni", Weeds Sart®.

Experimental design and treatments

The experimental design was split plots with three replications. In the large plot, two topological planting patterns were explored (Figure 1A, B): A: two rows of maize intercalated with one of husk tomato and one of squash (MMTS) and B: one row of maize intercalated with one of husk tomato, followed by one of maize and one of squash (MTMS). These patterns of understory crops are recommended for the MIFT system (Albino-Garduño *et al.*, 2015; García and Ronquillo, 2018). In the small plot, 15 treatments of the matrix "Central Composite Design" were tested. The matrix allowed



Figure 1. Topological planting patterns tested in intercropped milpa. A: two rows of maize intercalated with one of husk tomato and one of squash (MMTS). B: one row of maize intercalated with one of husk tomato, followed by one of maize and one of squash (MTMS).

exploration of five levels of fertilization with nitrogen (N), phosphorus (P) and pre-composted cattle manure as the source of organic matter (OM). The exploration spaces were 103 to 233 kg N ha⁻¹ (with intervals of 30 units), 20 to 100 kg P₂O₅ (with intervals of 20 units) and 0 to 7200 kg MO ha⁻¹ (with intervals of 1800 kg). The dose used by farmers of the region (Albino-Garduño *et al.*, 2021) was considered the central dose of the matrix (163-60-40-3600 kg N-P-K-MO ha⁻¹), from which higher and lower doses were evaluated in the indicated intervals. The same doses of fertilization were evaluated in the three species (maize, squash, and husk tomato). An additional treatment was tested with the central dose in monocropping. Each experimental unit was 6.4 m² (2 rows 4 m long and 0.8 m wide).

Crop management

The cultural labours were ploughing, sowing, two cultivations with oxen, and manual weeding on the same dates as those used in farmer management at the study sites. Maize population density was 62 500 plants ha⁻¹ and that of squash and husk tomato was 20 800 plants ha⁻¹ each. Fertilization was applied at three times: First, ¼ of the N, all of the P and OM at planting; Second, 2/4 of the N at cultivation; and Third, ¼ of the N at tomato and squash fruit set and maize grain fill. In the experimental plot of San Pedro del Rosal, the understory crops were maintained without moisture restriction by drip irrigation during March-June. Rainfed maize (SJC) was harvested at 215 d after seeding and irrigated maize (SPR) at 254 d after seeding.

Evaluated variables

Grain yield (Ym) at 14 % moisture was estimated in 0.5 ha of the area of maize in intercropped milpa. Grain moisture was determined with a portable meter (Grain Moisture Tester John Deere 5300®). Maize residue stalks (Yr) were cut and weighed on harvest day; moisture was determined by the gravimetric method with a laboratory

drying oven (Lumiteell HTP-42®). Yield of husk tomato and squash by treatment was obtained from six plants in complete competition. Husk tomato was harvested every week at harvest maturity. To determine husk tomato yield (Yt), the number and weight of fresh mature fruits were recorded at each picking and per plant. Squash was picked every other day. To determine squash yield (Ys), the number and weight of fresh fruits per plant were recorded at each picking. Yt and Ys was calculated in 0.25 ha, the area they occupied in the intercropped milpa.

Net income (NI) was calculated with the regression equation (using the optimization program described above), with the formula $NI=TI-TC$, where TI is the total income obtained by multiplying the yield of each crop by their respective prices at a selling point and subtracting the cost of de-graining or preparation and transport to the selling point. TC is the sum of the fixed costs (FC) plus variable costs (VC). The fixed cost was MXN \$37 361.83 and MXN \$45 650.65 ha⁻¹ in SJC and SPR, respectively (Table 1). The VC of each treatment corresponded to the sum of the quantities of N, P and OM multiplied by their respective price (Table 2).

With the maximum NI of each topological pattern and community, the number of Basic Food Baskets of the Agro-system (BFBA). This indicates the number of people that could fill their basic food baskets in the rural environment with the incomes obtained from the agro-system:

$$BFBA = \frac{\text{NI of th agrosystem}}{\text{per capita value of rural food basket}}$$

Table 1. Fixed costs of the experimental topological patterns in San Juan Coajomulco (SJC) and San Pedro el Rosal (SPR), State of México, Mexico in the Spring-Summer cycle, 2020.

Concept	Price per ha (cycle) in SJC (MXN \$ ha ⁻¹)	Price per ha (cycle) in SPR (MXN \$ ha ⁻¹)
Land rent.	1000.00	1000.00
Farm insurance (12 %).	760.00	760.00
Land preparation: ploughing, harrowing, furrowing.	5400.00	4000.00
Crop management, planting and transplanting, 1 st and 2 nd cultivation, re-seeding, labor days for cultivation, manual fertilization, manual weeding, labor days for irrigation, and labor days for tutoring.	15 148.00	17 189.00
Water for auxiliary irrigation (price of water consumed L ha ⁻¹): \$ 0.12 L water, 4 L per plant per irrigation application and two auxiliary irrigations in SJC.	9999.36	650.00
Work tools. Tutoring materials. Drip irrigation in SPR (considering fuel and water pump).	4007.00	21 005.00
Maize, squash and husk tomato seed, MXN \$241.46 for 34500 maize seeds with 85% germination; 1 kg certified squash seed has 5991 seeds with 85% germination and costs MXN \$539.19; 5731 husk tomato seedlings cost MXN \$266.	1046.65	1046.65
Total	37 361.01	45 650.65

SJC= San Juan Coajomulco. SPR= San Pedro el Rosal. MXN \$ (Mexican pesos).

Table 2. Variable costs of the experimental topological patterns in San Juan Coajomulco (SJC) and San Pedro el Rosal (SPR), State of México, Mexico in Spring-Summer cycle, 2020.

Concept	Cost in SJC (MXN \$)	Costo en SPR (MXN \$)
Unit of nitrogen, considering 46% N en urea and MXN \$ 8400 per Mg [†] .	22.01	22.01
Unit of phosphorus, considering that triple calcium superphosphate has 46% P and costs MXN \$ 9300 per Mg [†] .	24.53	24.53
Unit of potassium, Potassium chloride has 60% K and costs MXN \$ 9000 per Mg [†] .	18.16	18.16
Organic matter, (\$ per kg of composted organic matter), considering MXN \$1200 per 6-ton truck and MXN \$ 750 labor d of composting for 15 d [†]	0.57	0.49
Baling and hauling (MXN \$ ha ⁻¹), Considering that 1 Mg stalks=40 bales weighing 25 kg each).	1240	1240
Maize harvesting, transport, de-graining and hauling (MXN \$ Mg ⁻¹).	2361	2361
Husk tomato picking, transport, packing and sale (MXN \$ Mg ⁻¹).	1650	1650
Squash picking, transport, packing and sale (MXN \$ Mg ⁻¹).	1985	1805

[†] Cost includes transport and interest.

LER is a comparison of the yields from polyculture with those from monocropping in the same cultural conditions. The yield generated per unit of area is compared, and LER is calculated with the following equation (Li *et al.*, 2020):

$$LER = \frac{Y_{mi}}{Y_{mm}} + \frac{Y_{ti}}{Y_{tm}} + \frac{Y_{si}}{Y_{sm}} ;$$

where: Y_{mi}, Y_{ti}, Y_{si} are the respective yields of intercropped maize, husk tomato and squash; Y_{mm}, Y_{tm}, Y_{sm} are the corresponding yields of maize monocrop, husk tomato, and squash.

The maize equivalent yield (MEY) was calculated. To this end, we considered the TI from husk tomato and squash in polyculture (in 0.5 ha that the two species occupy in the system). With this TI value, the quantity of maize that could be bought was estimated (reference: MXN \$5600.00 Mg⁻¹ of maize, regional sale price). In the intercalated milpa, the MYE from 0.5 ha and Y_m produced in 0.5 ha were summed to have a comparable estimation in 1 ha of monocropping. Thus, the yield of the intercropped species was compared with that of the species in monocrop in function of maize yield.

The RFSI was calculated from MEY; this index indicated whether food security exists in terms of the family maize supply. To calculate RFSI, we used the following mathematical expression:

$$\text{RFSI} = \frac{(\text{Y}) (\text{PA}) / \text{NMF}}{547.5^*}$$

where: RFSI = Real food security index. Y = Yield in kg ha⁻¹. PA = planted area (ha). NMF = Number of members of the farmer's family (Damián and Toledo, 2016). *Factor considering the food needs of the family are satisfied (SAF) when each member of the family has access to 109.5 kg of maize per year (Damián-Huato *et al.*, 2013). In this study we made the calculation for five people. The resulting value should be ≥ 1 if food security exists.

Data analysis

The Yg, Yr, Yt and Ys data observed were subjected to error normality tests with the Shapiro-Wilk test ($p < W$ 0.05, 204 observations) and variance homogeneity with the Bartlett test ($p > \text{ChiSq}$ 0.05, 204 observations). For each of these variables a multiple regression equation was composed with the variables N, P, OM, topological pattern and community in simple effect and interactions: "backward" (sls=0.05) to eliminate the variables that did not show important effect and "stepwise" (sls=0.05) to determine the model ($p < 0.05$, 180 observations). The equation permitted exploring the estimated yields in combinations of fertilization limits of 300-100-8000 kg N-P-MO ha⁻¹. With the resulting equation, an economic optimization program was constructed in SAS® version 9.0 (SAS Institute, Inc. Cary, N.C. USA) which rendered the fertilizer combination that yielded the maximum net income (NI) in each community and intercropped topological pattern MMTS and MTMS.

RESULTS AND DISCUSSION

Net income, basic food basket, and real food security index

In this study, under both irrigation and rainfed conditions, the highest NI was obtained in the MTMS topological pattern. Under irrigation, the highest NI (MXN \$ 204 649.70) in MTMS was achieved with the highest estimated dose, 300-100-40-8000 kg of N-P-K-MO ha⁻¹ (Table 3). The maximum net income with irrigation can obtain the equivalent of 12 and 14 rural basic food baskets with the topological patterns MMTS and MTMS, respectively. In other words, 3.3 and 3.9 minimum wages per day can be obtained. Both in SPR and in SJC, the milpa with intercropped maize, husk tomato and squash produced higher net incomes than the maize in monocrop. Mahmud *et al.* (2018) reported similar results when they grew maize intercropped with squash. The maximum NI of the rainfed intercropped milpa was lower than that under irrigation. However, the rainfed milpa with the maximum income from MTMS can supply seven people with the basic food basket per year, or four people with the MMTS topological pattern (Table 3). Daily minimum wages obtained with MMTS were 1.2 and 3.3, while with MTMS, they were 2.1 and 3.8, in SJC and SPR, respectively. These results are similar to those obtained by García and Ronquillo (2018) with rainfed intercropped maize-beans-Faba beans; they reported 1.8 and 1.2 daily minimum

Table 3. Maximum net incomes, basic food baskets, and minimum daily wages obtained from milpa with intercropped maize-husk tomato-squash in two topological patterns, evaluated in small farmer plots in the State of Mexico, Mexico.

Intercropping	N	P ₂ O ₅	OM	Maize	stalks	Husk tomato	Squash	NI [†]	BFB ^{††}	MW ^{¶¶}	LER ^{§§}	RFSI ^{bb}
	kg ha ⁻¹			(Mg 0.5 ha ⁻¹)		(Mg 0.25 ha ⁻¹)		(\$)				
MMTS [†] ^{‡§}	300	0	8000	2.6	3.5	12.2	10.2	62 813.00	4.3	1.2	11.2	4.0
MTMS [¶] ^{‡§}	300	0	8000	2.5	3.9	19.5	7.5	113 686.30	7.8	2.1	20.3	7.4
MMTS [†] ^{r^b}	300	0	50	5.6	3.0	23.8	14.4	174 467.90	12.0	3.3	31.1	11.3
MTMS [¶] ^{r^b}	300	100	8000	6.1	12.8	28.1	13.2	204 649.70	14.1	3.9	36.5	13.3

[†]MMTS: two rows of maize intercropped with one of husk tomato followed by one of squash. [‡]MTMS: one row of maize intercropped with one of husk tomato, one of maize and one of squash. [§]t: rainfed (San Juan Coajomulco). ^{r^b}: irrigation (San Pedro el Rosal). ^aNI: net income. ⁺⁺BFB: basic food baskets *per capita* acquired from the agro-system. ^{††}MW: minimum wages *per capita* earned with the intercropped milpa. ^{§§}MEY: maize equivalent yield (tons, t). ^{bb}RFSI: index of real food security expressed in number of families with five members on average that can be supplied with food.

wages, and the highest value was obtained when they intercalated one row of maize followed by one row of an understory crop. Innovation with topological patterns and maize intercropped with annual commercial species can offer a way to satisfy the food and income needs of farm families.

Acquisition of basic food baskets with NI is an analysis of the gains from intercropping with two assumptions: the entire harvest is sold and the massification of this proposal would require the participation of the government to make commercialization feasible. Regarding this Paulino-Flores *et al.* (2017) recognize that the region does not have commercialization networks for the sale of maize since most is used for home consumption, to feed animals, or for seed.

In our study, the highest net income was generated from the sale of the understory crops: squash and husk tomato (Table 3). However, the maize crop is the cornerstone of agriculture and food in the central region of Mexico (Murray-Tortarolo *et al.*, 2018). For this reason, another form of analysing the potential of polyculture was through calculating the maize equivalent yield (MEY) and the real food security index (RFSI) (Table 3). With the net income generated by the crops in each locality, MEY and RIFS were calculated. This accumulated yield of each system showed that the intercropping pattern MTMS resulted in higher yields than the MMTS pattern, both under irrigation and rainfed conditions. In MMTS, accumulated yield of the crops is equivalent to 11.2 (rainfed) and 31.1 (irrigated) Megagrams of maize. As a reference, with this topological pattern, Mahmud *et al.* (2018) calculated MEY at 18.39 tons (Megagrams) per hectare (Mg ha⁻¹) with two rows of maize intercalated with two rows of squash. With the maize yield equivalent, the RFSI was calculated in terms of maize. In both SPR and SJC, the RFSI indicates that the topological patterns MMTS and MTMS can supply the maize consumed by more than four people per year (Table 3).

The optimal estimated dose at the highest level of inputs explored, in rainfed and irrigated MTMS and in rainfed MMTS, suggest that the fertilization exploration space can be increased in future studies, attending to environmental aspects. As a reference, the optimal dose in maize (variety SY30 and HL40×YJ7) in China is 405, 135 and 135 kg ha⁻¹ N, P₂O₅ and K₂O, respectively (Li *et al.*, 2020). At the local level, ICAMEX (2021) recommends, for the high valleys, fertilization of 115-46-30 kg ha⁻¹ NPK, distributed in two applications 46-46-30 kg ha⁻¹ NPK at planting and 69-00-00 kg ha⁻¹ NPK at the second cultivation.

Land equivalent ratio

With a global meta-analysis with intercalated crops, Li *et al.* (2020) corroborated that intercropped maize systems produce average LER values of 1.29 ± 0.02 and are lower in the cases in which species other than maize are intercalated. In our study, the intercropped system that had the highest LER was MMTS (Table 4) under irrigation and rainfed conditions, 1.64 and 2.78, respectively. These LER values indicate that 1.64 and 2.78 hectares of monocropping are needed to equal the yields obtained on

Table 4. Land equivalent ratios of the three topological patterns of maize, husk tomato and squash cultivated in two communities of the State of Mexico, Mexico in the Spring-Summer cycle, 2020.

Intercropped milpa	Rainfed (SJC)			Irrigated (SPR)		
	Yield	Partial LER	Final LER	Yield	Partial LER	Final LER
Maize in MMTS ^{† y}	2.7±0.5	0.60	2.78	3.7±0.4	0.53	1.64
Maize monocrop ^u	4.5±0.5			7.1±1.2		
Stalks from MMTS ^{† b}	2.7±0.5	0.49		6.1±0.6	0.60	
Stalks from monocropping ^u	5.6±0.9			10.0±1.6		
Husk tomato MMTS ^{† §}	1.9±0.0	0.19		8.4±0.2	0.21	
Husk tomato monocrop ^u	10.1±1.5			40.5±2.4		
Squash in MMTS ^{† §}	5.9±2.5	1.51	15.1±0.3	0.30		
Squash monocrop	3.9±1.2		50.5±9.1			
Maize in MTMS ^{‡ b}	3.0±0.5	0.67	1.85	3.2±0.5	0.46	
Maize monocrop ^z	4.5±0.5			7.1±1.2		
Stalks from MTMS ^{‡ b}	4.7±1.1	0.84		4.8±0.9	0.48	
Stalks from monocropping ^u	5.6±0.9			10.0±1.6		
Husk tomato in MTMS ^{‡ §}	1.4±0.4	0.14		7.2±1.0	0.18	
Husk tomato monocrop ^u	10.1±1.5			40.5±2.4		
Squash in MTMS ^{‡ §}	0.8±0.4	0.20		11.1±1.2	0.22	
Squash monocrop ^z	3.9±1.2			50.5±9.1		

Values are the average of three replications and six sampling ± SE. SJC: San Juan Coajomulco. SPR: San Pedro el Rosal. Yields obtained with the fertilizer dose 163-60-40-3600 kg N-P-K-MO ha⁻¹. [†]MMTS: two rows of maize intercalated with one of husk tomato followed by one of squash. [‡]MTMS: one row of maize intercropped with one of husk tomato, one of maize and one of squash. [§]: yield observed in 0.25 ha. ^b: yield observed in 0.5 ha. ^u: yield observed in 1 ha. LER = land equivalent ratio.

one hectare of irrigated and rainfed intercalated MMTS, respectively. The partial LER values of maize (Table 4) in our study are lower than those obtained by Xu *et al.* (2021), who showed that the partial LER of maize oscillated between 0.78 and 0.97. Thus, the final LER obtained was above one, indicating a productive advantage of polyculture over monocropping, provided by the low stature species (husk tomato and squash). The LER in rainfed MMTS (2.78) had a contribution of 1.51 from the partial LER of squash. This means that in the pattern of two rows of tall plants (maize) and two of low plants (husk tomato adjacent to squash), squash made a greater contribution to species yield. The results are similar to those obtained by Mahmud *et al.* (2018), who showed that intercalating two rows of maize and two rows of squash has the highest land equivalent ratio (1.62), compared with other topological patterns. The lower yield of the MTMS pattern, compared with MMTS and monocrops, is attributed to competition among the species for light, water, and nutrients (Mahmud *et al.*, 2018). Albino-Garduño *et al.* (2015) report similar results for intercalating one row each of maize and beans; the low yields of the short crops are attributed to shading by the maize and the extensive distribution of maize roots.

The analysis of regression equations shows the agronomic response of the crops. The ordinates at the origin of the regression equations reveals that the yield of the three crops is higher under irrigation than under rainfed conditions (Table 5). The equations also show that under irrigation (SPR) there is a positive effect of N and P fertilization on maize grain yield in rainfed conditions (SJC); the patterns of rain can affect N

Table 5. Regression equations of yields of maize grain, husk tomato and zucchini squash intercropped in two topological patterns in small farmer plots, irrigated and rainfed, in the State of Mexico.

Crop	Agrosystem	Regression equation	R ²
Maize	MMTS [†] <i>t</i> [§]	$\hat{Y}_{g^{**}} = 2.55556$	0.855
	MTMS [‡] <i>t</i> [§]	$\hat{Y}_{g^{**}} = 2.82 + 0.11042P$	
	MMTS [†] <i>r</i> [‡]	$\hat{Y}_{g^{**}} = 5.05334 + 0.12396N$	
	MTMS [‡] <i>r</i> [‡]	$\hat{Y}_{g^{**}} = 5.31778 + 0.12396N + 0.11042P$	
Husk tomato	MMTS [†] <i>t</i> [§]	$\hat{Y}_{t^{**}} = 1.76546 + 0.50150N^2$	0.784
	MTMS [‡] <i>t</i> [§]	$\hat{Y}_{t^{**}} = 1.76546 + 0.50150N^2 + 0.48125NOM + 0.32009OM^2$	
	MMTS [†] <i>r</i> [‡]	$\hat{Y}_{t^{**}} = 7.2487 + 0.50150N^2 - 0.67188N + 0.92708POM + 0.40529P^2$	
	MTMS [‡] <i>r</i> [‡]	$\hat{Y}_{t^{**}} = 7.2487 + 0.50150N^2 - 0.67188N + 0.92708POM + 0.40529P^2 + 0.48125NOM + 0.32009OM^2$	
Squash	MMTS [†] <i>t</i> [§]	$\hat{Y}_{c^{**}} = 5.48050 + 0.81875OM + 0.46255OM^2$	0.756
	MTMS [‡] <i>t</i> [§]	$\hat{Y}_{c^{**}} = 2.7505 + 0.81875OM + 0.46255OM^2$	
	MMTS [†] <i>r</i> [‡]	$\hat{Y}_{c^{**}} = 12.8305 + 0.12917OM + 0.46255OM^2$	
	MTMS [‡] <i>r</i> [‡]	$\hat{Y}_{c^{**}} = 10.1005 + 0.12917OM + 0.46255OM^2$	

Stepwise regression (sls=0.05) to determine the model: $p < 0.05$, 180 observations. [†]MMTS: two rows of maize intercropped with one of husk tomato and one of squash [‡]MTMS: one row of maize intercropped with one of husk tomato followed by one row of maize and one of squash. [§]t: rainfed. [‡]r: irrigation. ^{**} $\hat{Y}_g$: maize grain yield estimated in 0.5 ha. ^{**} $\hat{Y}_t$ and ^{**} $\hat{Y}_c$: husk tomato and squash yields estimated in 0.25 ha; N: nitrogen. P: phosphorus. K: potassium. OM: organic matter.

uptake by the maize plant, as suggested by nitrogen fertilization models (Fletcher *et al.*, 2021). In the two study conditions husk tomato yield is higher in the topological pattern MTMS than in MMTS. In SJC this is attributed to the effect of N, OM, and the interaction of the two. In SPR, the effect of P also contributed. The topological pattern that favoured squash yield was MMTS, under both irrigation and rainfed conditions. In the two conditions, organic matter favoured yield increase.

CONCLUSIONS

Native maize in rows intercropped with husk tomato and squash generates net incomes sufficient to acquire the basic food baskets and maize required by an average farm family. These indicators, as well as the minimum daily wages that this intercropped milpa agro-system generates, are higher with intercalated maize-husk tomato-maize, squash than with maize-maize-husk tomato-squash, in both irrigation and rainfed conditions; the sale of husk tomato and squash generates higher economic incomes than maize.

Intercalating two rows of maize, followed by one of tomato and one of squash obtained higher land equivalent ratios than monocropping these species or planting adjacent rows of each species. The cultivation of native maize intercropped with husk tomato and squash is an option for small farmers who produce with irrigation or in rainfed conditions in north-western State of Mexico, Mexico.

REFERENCES

- Albino-Garduño R, Santiago-Mejía H, Avendaño-Gómez A, González-Álvarez L, Cruz-Reyes R. 2021. Peasant knowledge about maize fertilization in Mazahua (*Jñatjo*) communities of Mexico. *Agricultura, Sociedad y Desarrollo* 18 (2): 305–320. <https://doi.org/10.22231/asyd.v18i2.1002>
- Albino-Garduño R, Turrent-Fernández A, Cortés-Flores JI, Livera-Muñoz M, Mendoza-Castillo M.C. 2015. Distribución de raíces y de radiación solar en el dosel de maíz y frijol intercalados. *Agrociencia* 49: 513–531.
- Bourges HR. 2013. El maíz: su importancia en la alimentación de la población mexicana. In *El maíz en peligro ante los transgénicos. Un análisis integral sobre el caso México*. Álvarez-Buylla ER, Piñero NA (eds). UNAM/UCSS: Ciudad de México. pp: 231–248.
- Cheng-Dong HL, Quan-Qing L, Xiao-Lin, Chao-Chun Z. 2019. Effect of intercropping on maize grain yield and yield components. *Journal of Integrative Agriculture* 18: 1690–1700. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62648-1](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62648-1)
- CONEVAL (Consejo Nacional de Evaluación de la Política de Desarrollo Social). 2021. Valor de la canasta alimentaria. <https://www.coneval.org.mx/Medicion/MP/Paginas/Lineas-de-bienestar-y-canasta-basica.aspx> (Retrieved: February 2021).
- Damián HMA, Toledo VM. 2016. Utopística agroecológica innovaciones campesinas y seguridad alimentaria en maíz. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Dirección de Fomento Editorial: México.
- DOF (Diario Oficial de la Federación). 2021. Resolución de salarios mínimos aplicables a partir del 1° de enero de 2021. <https://www.gob.mx/conasami/articulos/se-publica-en-el-diario-oficial-de-la-federacion-los-salarios-minimos-que-rigen-a-partir-del-1-de-enero-de-2021?idiom=es> (Retrieved: April 2021).
- Evers JB, Van DW, Stomph JT, Bastiaans L, Anten PN. 2019. Understanding and optimizing species mixtures using functional-structural plant modelling. *Journal of Experimental Botany* 70 (9): 2381–2388. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery288>
- Fletcher DM, Ruiz A, Días ST, Chadwick R, Jones DL, Roose T. 2021. Precipitation-optimised targeting of nitrogen fertilisers in a model maize cropping system. *Science of the Total Environment* 756: 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144051>

- Francis CA, Porter P. 2016. Multicropping. In *Encyclopedia of Applied Plant Sciences* 3 (2nd Edition). Thomas B, Murray GB, Murphy DJ (eds.). Elsevier: Amsterdam, The Netherlands. pp. 29–33. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-394807-6.00024-1>
- García TL, Ronquillo CI. 2018. Fertilización mineral y orgánica en el cultivo intercalado maíz-frijol asociados y haba en un Andosol del Estado de México. *Producción Agropecuaria y Desarrollo Sostenible* 7: 29–40.
- ICAMEX (Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria, Acuicola y Forestal del Estado de México). 2021. Maíz. <https://icamex.edomex.gob.mx/maiz> (Retrieved: January 2021).
- Li C, Hoffland E, Kuypers TW, Yu Y, Zhang C, Li H, Van DW. 2020. Syndromes of production in intercropping impact yield gains. *Nature Plants* 6: 653–660. <https://doi.org/10.1038/s41477-020-0680-9>
- Lulie B. 2017. Intercropping practice as an alternative pathway for sustainable agriculture: A review. *Journal of Agricultural Science and Research* 5: 440–452. <https://doi.org/10.14662/ARJASR2017.057>
- Mahmud S, Alam M, Rahman M, Amin M, Hassan M. 2018. Productivity and economics of maize–squash intercropping at different planting systems. *Journal of the Bangladesh Agricultural University* 16: 23–26. <https://doi.org/10.3329/jbau.v16i1.36476>
- Mungai LM, Snapp S, Messina JP, Chikowo R, Smith A, Anders E, Richardson RB, Li G. 2016. Smallholder farms and the potential for sustainable intensification. *Frontiers in Plant Science* 7: 1–20. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01720>
- Murray-Tortarolo GN, Jaramillo VJ, Larsen J. 2018. Food security and climate change: the case of rainfed maize production in Mexico. *Agricultural and Forest Meteorology* 253: 124–131. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2018.02.011>
- Nassary EK, Bajjukya F, Ndakidemi PA. 2019. Productivity of intercropping with maize and common bean over five cropping seasons on smallholder farms of Tanzania. *European Journal of Agronomy* 113: 1–10 <https://doi.org/10.1016/j.eja.2019.125964>
- Paulino-Flores M, Martínez-Campos AR, Martínez-Castañeda FE, López-Orona CA, Vizcarra-Bordi I, Munguía N. 2017. Evaluation of the sustainability of hybrid and native maize production systems. *Journal of Cleaner Production* 150: 287–293. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.02.182>
- Ramírez-Jaspeado R, García-Salazar JA, García-Mata R, Garza-Bueno LE, Escalona-Maurice MJ, Portillo-Vásquez M. 2020. Determinación de las regiones más competitivas de maíz en el Estado de México en función de la producción potencial. *Interciencia* 45: 150–157.
- Ren H, Han K, Liu Y, Zhao Y, Zhang L, He Q, Li Z, Zhang J, Liu P, Wang H, Zhang J, Zhao JB. 2020. Improving smallholder farmers maize yields and economic benefits under sustainable crop intensification in the North China Plain. *Science of the Total Environment* 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143035>
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2020. Avance de siembras y cosechas, resumen por cultivo. http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/ResumenDelegacion.do (Retrieved: April 2021).
- SMN (Servicio Meteorológico Nacional). 2021. Resumen mensual de lluvia y temperatura. <https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/temperaturas-y-lluvias/resumenes-mensuales-de-temperaturas-y-lluvias> (Retrieved: April 2022).
- Tanumihardjo SA, McCulley L, Roh R, Lopez-Ridaura S, Palacios-Rojas N, Gunaratna NS. 2020. Maize agro-food systems to ensure food and nutrition security in reference to the Sustainable Development Goals. *Global Food Security* 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2019.100327>
- Tilman D. 2020. Benefits of intensive agricultural intercropping. *Nature Plants* 6: 604–605. <https://doi.org/10.1038/s41477-020-0677-4>
- Turrent FA, Cortés FJI, Espinosa CE, Hernández RE, Camas GR, Torres ZJP, Zambada MA. 2017. MasAgro o MIAF ¿Cuál es la opción para modernizar sustentablemente la agricultura tradicional de México? *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 8: 1169–1185. <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i5.116>
- Xu R, Zhao H, Liu G, You Y, Ma L, Liu N, Zhang Y. 2021. Effects of nitrogen and maize plant density on forage yield and nitrogen uptake in an alfalfa–silage maize relay intercropping system in the North China Plain. *Field Crops Research* 263: 1–12 <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2021.108068>

INTENSIFICACIÓN DE LA MILPA EN EL ESTADO DE MÉXICO: INGRESOS NETOS, SEGURIDAD ALIMENTARIA Y USO EFICIENTE DE LA TIERRA

Vidal Padilla-Fidencio¹, Rocio Albino-Garduño^{1*}, Horacio Santiago-Mejía¹, Antonio Turrent-Fernández²,
Ildefonso Ronquillo-Cedillo¹, Lorena González-Pablo¹

¹ Universidad Intercultural del Estado de México. Libramiento Francisco Villa S/N, Colonia Centro, San Felipe del Progreso, Estado de México, México. C. P. 50640.

² Campo Experimental Valle de México. INIFAP. Carretera Los Reyes-Textcoco km 13.5. Coatlinchán, Textcoco, Estado de México, México. C. P. 56250.

* Autor para correspondencia: rocio.albino@uiem.edu.mx

RESUMEN

La milpa histórica ha mostrado aportes a la seguridad alimentaria de las familias campesinas por su biodiversidad. El objetivo fue evaluar indicadores de acceso a alimentos [canastas básicas (CBA), salarios mínimos (SM) e índice de seguridad alimentaria (ISAR)], la eficiencia relativa de la tierra (ERT) y el máximo ingreso neto (IN) obtenidos en el policultivo maíz nativo-tomate-calabaza, en dos parcelas campesinas del Estado de México. El experimento se estableció en San Pedro del Rosal (SPR) y San Juan Coajomulco (SJC) en riego y temporal, respectivamente, en el ciclo P-V 2020. Se utilizó un diseño en parcelas divididas para evaluar dos arreglos topológicos: dos surcos de maíz intercalados con uno de tomate y uno de calabaza (MMTC) y un surco de maíz intercalado con uno de tomate, uno de maíz y uno de calabaza (MTMC). Se exploraron cinco niveles de fertilización de nitrógeno, fósforo y estiércol. La ERT se evaluó con los rendimientos de las tres especies en MMTC, MTMC y en cultivo único al mismo nivel de insumos. Las CBA, SM e ISAR se estimaron a partir de la ecuación de regresión que dio el máximo IN. En las dos localidades, el cultivo intercalado dio mayores ERT que los monocultivos. Al comparar los dos arreglos topológicos intercalados, el máximo IN se obtuvo con MTMC en SJC y SPR (\$113 686.30 y \$204 649.70 por ha año⁻¹). Con los IN del arreglo MTMC en SJC y SPR se podría abastecer a 7 y 14 personas de la CBA por año respectivamente. Los SM diarios más altos se dieron en MTMC. En términos de eficiencia en el uso de la tierra, las más altas ERT se obtuvieron con el arreglo MMTC en SJC (2.78) y SPR (1.64). En términos económicos el mejor arreglo topológico es MTMC y en función de la ERT es MMTC.

Palabras clave: rediseño de agrosistemas, MIAF, milpa mazahua, *Physalis ixocarpa*, *Cucurbita pepo*, maíz nativo.

Citation: Padilla-Fidencio V, Albino-Garduño R, Santiago-Mejía H, Turrent-Fernández A, Ronquillo-Cedillo I, González-Pablo L. 2022. Intensificación de la milpa en el estado de México: Ingresos netos, seguridad alimentaria y uso eficiente de la tierra. *Agrociencia*. 56(4): 727-751. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i4.2453>

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: November 22, 2021.
Approved: May 02, 2022.
Published in Agrociencia:
June 28, 2022.

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



INTRODUCCIÓN

El Estado de México es el tercer productor de maíz a nivel nacional (Ramírez-Jaspeado *et al.* 2020). En la zona de estudio, el 75 % de la producción ocurre en temporal (SIAP. 2020) predominantemente con maíz nativo (cónico blanco) para autoconsumo. Entre

el 12 y el 26 % de los campesinos, de algunas comunidades mazahua, establecen la milpa con maíz nativo, frijol, haba, chícharo y calabaza; el resto practica monocultivo de maíz (Albino-Garduño *et al.* 2021). En el distrito Atlacomulco, que comprende la zona de estudio, se cultivaron en el ciclo agrícola 2020: 147 412 ha de maíz, 398 ha de tomate y 16 ha de calabacita (SIAP. 2020). Paulino-Flores *et al.* (2017) reconocen que la dimensión ecológica es la mayor fortaleza de las parcelas campesinas en la región y su debilidad son los aspectos productivos y de organización para la comercialización. Otros aspectos desfavorables son la pérdida de agrobiodiversidad, y la poca superficie para la producción de alimentos; la cual fluctúa entre 0.4 a 1.1 ha y puede llegar a 5 ha en el menor de los casos (Paulino-Flores *et al.* 2017; Albino-Garduño *et al.* 2021). Se estima que el 82 % de los campesinos utilizan fertilizantes minerales, una mezcla con estiércoles o la combinación de ambos (Paulino-Flores *et al.* 2017). La optimización del uso de la tierra y de fertilizantes es una alternativa para mejorar la producción del agroecosistema.

El paradigma de intensificación que guía esta investigación se basa en la entrada óptima de insumos al agrosistema y el uso de la biodiversidad (Mungai *et al.* 2016). El policultivo es una estrategia de intensificación agrícola de largo plazo (Tilman 2020), recomendada para agricultores con superficies de cultivo pequeñas (Lulie 2017; Cheng-Dong *et al.* 2019). Al intercalar dos o más especies simultáneamente en el mismo espacio de cultivo (Francis and Porter 2016) se producen mayores rendimientos e ingresos económicos por unidad de tierra y fertilizante que con los cultivos únicos (Tilman 2020). La eficiencia del uso de la tierra en cultivos intercalados es entre 16 % y 29 % mayor en comparación con los monocultivos y entre 19 % y 36 % mayor con el uso de fertilizantes (Li *et al.* 2020). La productividad en general del cultivo intercalado se atribuye a las diferencias de las especies en la adquisición de nutrimentos, humedad y radiación solar; y a la complementariedad, facilitación e intercambio de recursos entre ellas (Cheng-Dong *et al.* 2019; Nassary *et al.* 2019).

El meta-análisis global de Li *et al.* (2020) a la productividad de los cultivos intercalados (en 934 registros de 226 experimentos en 132 publicaciones) muestra que el maíz (planta C4) es la especie estudiada y con más respuesta positiva al intercalado con plantas C3; y el incremento promedio del rendimiento es de $2.1 \pm 0.1 \text{ Mg ha}^{-1}$ en comparación del monocultivo. Estudios previos reportan que el maíz híbrido responde positivamente al intercalado pues los valores de eficiencia relativa de la tierra (ERT) son superiores a 1 cuando se intercala con frijol (Nassary *et al.* 2019; Li *et al.* 2020), y calabaza (Mahmud *et al.* 2018).

En el agroecosistema Milpa Intercalada con Árboles Frutales (MIAF), el maíz se intercala con especies de porte bajo llamadas sotocultivos (Turrent *et al.* 2017). En MIAF, los ingresos netos y ERT son mayores que los monocultivos (Albino-Garduño *et al.* 2015) incluso con maíz nativo en parcelas campesinas (García y Ronquillo 2018). Sin embargo, la gran mayoría de combinaciones de especies intercaladas no ha sido estudiada (Lulie 2017) a pesar de su potencial (Evers *et al.* 2019), incluso en el sistema MIAF en parcelas campesinas.

La base para lograr la seguridad alimentaria, en términos de maíz, radica en sistemas de producción que dan su disponibilidad, acceso, utilización y estabilidad en todo momento (Tanumihardjo *et al.* 2020). Un indicador es el Índice de Seguridad Alimentaria Real (ISAR) que evalúa el alcance de los sistemas de producción de maíz (Damián y Toledo 2016). Para su estimación se considera que el consumo humano de maíz per cápita es de 109.5 kg en zonas rurales (Bourges 2013). Otro es la canasta básica que se refiere al conjunto de alimentos que se necesitan para satisfacer las necesidades nutrimentales de un hogar promedio. Se considera que el precio de la canasta básica mensual por persona es de \$1,201.87 para las zonas rurales (CONEVAL 2021). Finalmente, los salarios mínimos (\$141.70 MX diarios) percibidos de la actividad agrícola que varían de acuerdo con la zona económica del país (DOF 2021).

Para conseguir la seguridad alimentaria se requiere aumentar el potencial productivo del maíz y de las especies con las que se intercala en la milpa. Sin embargo, la mayoría de los estudios sobre productividad de maíz se hacen en centros de investigación y se enfocan en obtener máximos rendimientos e ingresos con híbridos en monocultivo. Pocas investigaciones se hacen usando semillas de maíz nativo, con los factores que restringen la productividad (Ren *et al.* 2020) y en el contexto en el que viven y producen los campesinos (Cheng-Dong *et al.* 2019). El objetivo de la presente investigación fue cuantificar el máximo ingreso neto, la seguridad alimentaria y la eficiencia relativa de la tierra de la milpa intercalada (maíz-tomate-calabaza), en dos parcelas campesinas de riego y temporal en el Estado de México. La hipótesis era que la asociación maíz-tomate de cáscara-calabaza de mata en dos arreglos topológicos, bajo el mismo manejo y en parcelas campesinas aumentaría la ERT en comparación de los monocultivos en dos agrosistemas en el norte del Estado de México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del sitio de estudio

El experimento, en campo, se realizó en dos parcelas campesinas al norte del Estado de México, entre marzo y noviembre del año 2020 (ciclo primavera-otoño). Una de ellas en condición de temporal en la comunidad San Juan Coajomulco (19°44'19.0" N, 99°57'18.7" O, 2650 msnm) y la otra de riego en San Pedro del Rosal (19°46'42.9" N, 99°49'04.7" O, 2600 msnm). En ambos sitios el clima es templado subhúmedo con lluvias en verano y el tipo de suelo es luvisol. La estación meteorológica de la región Atlacomulco registró, en el año 2020, la temperatura media anual de 14 °C y la precipitación de 917 mm (SMN, 2021). Los análisis de suelo realizados indican que el suelo en San Juan Coajomulco (SJC) es franco-arcilloso-limoso, el pH de la capa arable 5.5 y la materia orgánica 3.1 %. En San Pedro del Rosal (SPR), el suelo es limoso, el pH del suelo 5.1 y la materia orgánica 2.3 %. Se cultivó maíz (*Zea mays* L.) nativo cónico blanco, tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm) variedad manzano y calabacita (*Cucurbita pepo* L.) variedad Grey Zuchinni Weeds Sart ®.

Diseño experimental y de tratamientos

El diseño experimental fue de parcelas divididas con tres repeticiones. En la parcela grande se exploraron dos arreglos topológicos de plantación (Figura 1: A y B): A) dos surcos de maíz intercalados con uno de tomate y uno de calabaza (MMTC) y B) un surco de maíz intercalado con uno de tomate, seguido por uno de maíz y uno de calabaza (MTMC). Estos patrones de sotocultivos son recomendados para el sistema MIAF (Albino-Garduño *et al.* 2015; García y Ronquillo 2018). En la parcela chica se experimentaron 15 tratamientos de la matriz “Diseño compuesto central”. La matriz permitió explorar cinco niveles de fertilización con nitrógeno (N), fósforo (P) y estiércol vacuno pre-compostado como fuente de materia orgánica (MO). Los espacios de exploración fueron de 103 a 233 kg N ha⁻¹ (con intervalos de 30 unidades), 20 a 100 kg P₂O₅ (con intervalos de 20 unidades) y 0 a 7200 kg MO ha⁻¹ (con intervalos de 1800 Kg). La dosis que utiliza el campesino en la región (Albino-Garduño *et al.* 2021) se consideró como dosis central de la matriz (163-60-40-3600 kg de N-P-K-MO ha⁻¹), a partir de la cual se evaluaron dosis altas y bajas a ella en los intervalos indicados. Las mismas dosis de fertilización se evaluaron en las tres especies (maíz-calabaza-tomate). Se probó un tratamiento adicional con la dosis central en monocultivo de las especies. Cada unidad experimental fue de 6.4 m² (2 surcos de 4 m y 0.8 m de ancho).

Manejo del cultivo

Las labores culturales fueron: barbecho, siembra, dos escardas con yunta, y el deshierbe manual de acuerdo con las fechas del manejo campesino en el sitio de estudio. La densidad de población del maíz fue de 62500 plantas por hectárea y de la calabaza y de tomate 20800 plantas por hectárea cada uno. La fertilización se dosificó en tres momentos: 1) ¼ del N, todo el P y MO en la siembra, 2) 2/4 de N durante la escarda, y 3) ¼ de N en la fructificación de tomate y calabaza y en el llenado de grano de maíz. En la parcela experimental de San Pedro del Rosal los sotocultivos se mantuvieron sin



Figura 1. Arreglos topológicos de plantación experimentados en milpa intercalada: A) dos surcos de maíz intercalados con uno de tomate y uno de calabaza (MMTC) y B) un surco de maíz intercalado con uno de tomate, seguido por uno de maíz y uno de calabaza (MTMC).

restricción de humedad mediante riego por goteo durante marzo-junio. El maíz en temporal (SJC) se cosechó a los 215 DDS y el de riego (SPR) a los 254 DDS.

Variables evaluadas

El rendimiento de grano (Y_m) al 14 % de humedad se estimó en 0.5 ha, superficie de maíz en la milpa intercalada. La humedad del grano se determinó con un medidor portátil (Grain Moisture Tester John Deere 5300®). El rastrojo del maíz se cortó y pesó el día de la cosecha; su humedad se determinó por el método gravimétrico con un horno para secado de laboratorio (Lumiteell HTP-42®). El rendimiento de rastrojo (Y_r) se expresó en 0.5 ha al 14 % de humedad. El rendimiento de tomate y calabaza se obtuvo de seis plantas en competencia completa por tratamiento. La cosecha de tomate se hizo cada semana, en madurez de corte. Para determinar el rendimiento de tomate (Y_t) se contabilizó el número y peso de los frutos frescos maduros, por corte, y planta. El corte de calabaza se hizo cada tercer día. Para determinar el rendimiento de calabaza (Y_c) se contabilizó el número y peso de los frutos frescos, en madurez de corte, de cada planta. El Y_t y Y_c se calculó en 0.25 ha, superficie que ocuparon en la milpa intercalada. El ingreso neto (IN) se calculó, a partir de la ecuación de regresión (usando el programa de optimización previamente descrito), con la fórmula: $IN = IT - CT$. Donde IT corresponde al ingreso total que se obtuvo al multiplicar el rendimiento de cada cultivo por sus respectivos precios en el punto de venta y restando el costo de desgrane o preparación y acarreo al punto de venta. El CT fue la suma del costo fijo (CF) más el variable (CV). El costo fijo fue de \$37,361.83 y \$45,650.65 ha^{-1} en SJC y en SPR, respectivamente (Cuadro 1). El CV de cada tratamiento correspondió a la suma de las cantidades de N, P y MO multiplicado por su respectivo precio (Cuadro 2).

A partir del máximo IN de cada arreglo topológico y comunidad se calculó el número de Canastas Básicas del Agrosistema (CBA). Este indica la cantidad de personas que podrían abastecer su canasta básica per cápita en el medio rural, con los ingresos obtenidos del agrosistema:

$$CBA = \frac{IN \text{ del agrosistema}}{\text{valor per cápita de la canasta alimentaria rural}}$$

La ERT es una comparación de los rendimientos del policultivo en comparación con el monocultivo en las mismas condiciones de cultivo. Se compara el rendimiento generado por unidad de superficie y se calculó con la siguiente ecuación (Li *et al.* 2020):

$$ERT = \frac{Y_{mi}}{Y_{mm}} + \frac{Y_{ti}}{Y_{tm}} + \frac{Y_{ci}}{Y_{cm}} ;$$

Donde: Y_{mi} , Y_{ti} , Y_{ci} es el rendimiento de maíz, tomate y calabaza intercalados, respectivamente; Y_{mm} , Y_{tm} , Y_{cm} es el rendimiento de maíz, tomate y calabaza en monocultivo.

Cuadro 1. Costos fijos de los arreglos topológicos experimentados en San Juan Coajomulco y San Pedro el Rosal, Estado de México. Primavera-Verano 2020.

Concepto	Precio por ha en SJC (\$ ha ciclo ⁻¹)	Precio por ha en SPR (\$ ha ciclo ⁻¹)
Renta de la tierra.	1000.00	1000.00
Seguro agrícola (12 %).	760.00	760.00
Preparación del terreno. Considerando: barbecho, rastra, surcado.	5400.00	4000.00
Manejo cultural. Considerando: siembra y trasplante, 1 ^{ra} y 2 ^{da} escarda, resiembras, jornales de escarda, fertilización manual, deshierbe manual, jornales de riego y jornales para tutorio.	15 148.00	17 189.00
Agua para riego auxiliar (precio de los litros usados ha ⁻¹). Considerando \$ 0.12 el L agua, 4L por planta por riego y dos riegos auxiliares en SJC.	9999.36	650.00
Herramientas de trabajo. Materiales de tutorio. Riego por goteo en SPR (considerando combustible y bomba de agua).	4007.00	21 005.00
Semillas de maíz-calabaza-tomate. Considerando: \$241.46 de semilla de maíz que tienen 34500 semillas con 85 % de germinación. 1 kg de semilla certificada de calabaza tiene 5991 semillas con 85 % de germinación y cuesta \$539.19. 5731 plántulas de tomate cuestan \$266.	1046.65	1046.65
Total	37 361.01	45 650.65

SJC= San Juan Coajomulco. SPR= San Pedro el Rosal. \$ pesos mexicanos.

Cuadro 2. Costos variables de los arreglos topológicos experimentados en San Juan Coajomulco y San Pedro el Rosal, Estado de México. Primavera-Verano 2020.

Concepto	Costo en SJC (MXN \$)	Costo en SPR (MXN \$)
Unidad de nitrógeno. Considerando 46 % de N en urea y \$8400 la tonelada [†] .	22.01	22.01
Unidad de fósforo. Considerando que el superfosfato de calcio triple tiene 46 % de P y \$9300 la tonelada [†] .	24.53	24.53
Unidad de potasio. El cloruro de potasio tiene 60 % de K y \$9000 la tonelada [†] .	18.16	18.16
Materia orgánica (\$ de kg de materia orgánica composteada). Considerando \$1200 camión de 6 t y \$750 jornales de composteo por 15 días [†] .	0.57	0.49
Elaboración de pacas y acarreo (\$ ha ⁻¹). Considerando que 1 t rastrojo=40 pacas de 25 kg cada una.	1240	1240
Cosecha de maíz, traslado, desgrane y acarreo (\$ Mg ⁻¹).	2361	2361
Corte de tomate, acarreo, empaque y venta (\$ Mg ⁻¹).	1650	1650
Corte de calabaza, acarreo, empaque y venta (\$ Mg ⁻¹).	1985	1805

[†] Incluye transporte e intereses.

Se calculó el rendimiento equivalente en grano de maíz (REM). Para ello se consideró el IT del tomate y calabaza en policultivo (en 0.5 ha que ocupan en el sistema las dos especies). Con este valor de IT se estimó la cantidad de maíz que podría comprarse (referencia: \$5,600.00 precio de venta regional por tonelada de maíz). En la milpa intercalada se sumó el REM de 0.5 ha y Yg producido en 0.5 ha para tener una estimación comparable en 1 ha del monocultivo. Así, se comparó el rendimiento de las especies intercaladas con el monocultivo en función del rendimiento de maíz. El ISAR se calculó a partir del REM, este índice permitió definir si existe o no seguridad alimentaria en términos del abastecimiento familiar de maíz. Para su cálculo se utilizó la siguiente expresión matemática:

$$\text{ISAR} = \frac{(R) (SS) / \text{NMF}}{547.5 *}$$

Donde: ISAR = Índice de seguridad alimentaria real. R = Rendimiento en kg ha⁻¹. SS = Superficie sembrada (ha). NMF = Número de miembros en la familia del productor (Damián y Toledo 2016). *Factor que considera que la satisfacción alimentaria familiar (SAF) se conseguirá cuando cada miembro de la familia disponga de 109.5 kilogramos de maíz al año (Damián-Huato *et al.* 2013). El cálculo en este estudio se hizo para cinco personas. El valor resultante debe ser ≥ 1 si hay seguridad alimentaria.

Análisis de los datos

Los datos observados de Yg, Yr, Yt y Yc se sujetaron a las pruebas de normalidad de los errores con la prueba de Shapiro-Wilk ($p < W$ 0.05, 204 observaciones) y homogeneidad de varianzas con la prueba de Bartlett ($p > \text{ChiSq}$ 0.05, 204 observaciones). Para cada una de estas variables se realizó una ecuación de regresión múltiple con las variables N, P, MO, arreglo topológico y comunidad en efecto simple e interacciones: “backward” (sls=0.05) para eliminar las variables que no mostraban algún efecto importante y “stepwise” (sls=0.05) para determinar el modelo ($p < 0.05$, 180 observaciones). La ecuación permitió explorar los rendimientos estimados en combinaciones de fertilización límites de 300-100-8000 kg de N-P-MO ha⁻¹. Con la ecuación resultante se hizo un programa de optimización económica (SAS 9.0[®]; SAS Institute, Inc. Cary, N.C. USA) que mostró la combinación de fertilizantes que dio el máximo ingreso neto (IN) en cada comunidad y arreglo topológico intercalado MMTC y MTMC.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ingreso neto, canastas básicas e índice de seguridad alimentaria real

En este estudio, tanto en riego como en temporal el mayor IN se obtuvo en el arreglo topológico MTMC. En riego, los mayores IN (\$204,649.70 MX) en MTMC se alcanzaron con la dosis estimada más alta, 300-100-40-8000 kg de N-P-K-MO ha⁻¹ (Cuadro 3). Con el máximo ingreso neto en riego se puede obtener lo equivalente a 12 y 14 canastas básicas para el medio rural en el arreglo topológico MMTC y MTMC, respectivamente. Visto de otra forma, se pueden obtener de 3.3 y 3.9 salarios mínimos por día.

Cuadro 3. Máximos ingresos netos, canastas básicas y salarios mínimos obtenidos de la milpa intercalada maíz-tomate-calabaza en dos arreglos topológicos evaluados en parcelas campesinas del Estado de México.

Intercalado	N	P ₂ O ₅	MO	Maíz	rastrojo	tomate	calabaza	NI ^a	CBA ⁺⁺	SM ^{¶¶}	REM ^{§§}	ISAR ^{bb}
		kg ha ⁻¹		(Mg 0.5 ha ⁻¹)		(Mg 0.25 ha ⁻¹)		(\$)				
MMTC ⁺ t ^s	300	0	8000	2.6	3.5	12.2	10.2	62 813.00	4.3	1.2	11.2	4.0
MTMC [¶] t ^s	300	0	8000	2.5	3.9	19.5	7.5	113 686.30	7.8	2.1	20.3	7.4
MMTC ⁺ r ^b	300	0	50	5.6	3.0	23.8	14.4	174 467.90	12.0	3.3	31.1	11.3
MTMC [¶] r ^b	300	100	8000	6.1	12.8	28.1	13.2	204 649.70	14.1	3.9	36.5	13.3

⁺MMTC: dos surcos de maíz intercalados con uno de tomate seguido por uno de calabaza. [¶]MTMC: un surco de maíz intercalado con uno de tomate seguido por uno de maíz con calabaza. ^ts: temporal (San Juan Coajomulco). ^rb: riego (San Pedro el Rosal). ^aNI: ingreso neto. ⁺⁺CBA: canastas básicas per cápita adquiridas del agrosistema. ^{¶¶}SM: salarios mínimos per cápita percibidos la milpa intercalada. ^{§§}REM: rendimiento equivalente de maíz (toneladas, t). ^{bb}ISAR: índice de seguridad alimentaria real, expresado en número de familias abastecidas con cinco miembros en promedio.

Tanto en SPR como en SJC, la milpa intercalada maíz, tomate y calabaza intercalados tuvieron los más altos ingresos netos que el monocultivo de las especies. Mahmud *et al.* (2018) reportan resultados similares al intercalar maíz con calabaza.

El máximo IN de la milpa intercalada en temporal fue menor que en riego. Sin embargo, en temporal con el máximo ingreso de MTMC se podría abastecer de canasta básica a siete personas al año o a cuatro con el arreglo de topológico MMTC (Cuadro 3). Los salarios mínimos diarios, obtenidos con MMTC fueron 1.2 y 3.3 y con MTMC, 2.1 y 3.9, en SJC y SPR, respectivamente, estos resultados son similares a los obtenidos por García y Ronquillo (2018) en el intercalado maíz-frijol-haba en temporal; quienes reportaron 1.8 y 1.2 salarios mínimos por día y el mayor valor al intercalar en razón un surco. La innovación a partir de arreglos topológicos y el intercalado de maíz con especies anuales comerciales puede ofrecer una vía de satisfacción alimentaria e ingresos a las familias campesinas.

La adquisición de canastas básicas a partir del IN es un análisis de la ganancia del cultivo intercalado con dos supuestos: toda la cosecha se vende y la masificación de esta propuesta requeriría la participación del Estado para hacer viable la comercialización. Al respecto, Paulino-Flores *et al.* (2017) reconocen que no se cuenta en la región con redes de comercialización para la venta del maíz, la mayor parte es usado para auto-consumo, consumo animal y como semilla.

En esta investigación, el mayor ingreso neto se generó de la venta de los sotocultivos: calabaza y tomate (Cuadro 3); sin embargo, el cultivo de maíz representa la piedra angular de la agricultura y alimentación en la región central de México (Murray-Tortarolo *et al.* 2018). Por esta razón otra forma de analizar el potencial del policultivo fue a través del rendimiento equivalente de maíz (REM) y el índice de seguridad alimentaria real (ISAR) (Cuadro 3). Con el ingreso neto generado de los cultivos, en cada localidad, se calculó el REM y el ISAR. Este rendimiento acumulado de cada sistema mostró que el intercalado MTMC tiene los rendimientos más altos en comparación

con el arreglo MMTC, tanto en riego como en temporal. En MMTC, el rendimiento acumulado de los cultivos equivale a 11.2 y 31.1 t de maíz, en temporal y riego respectivamente. Como referencia de este arreglo topológico el REM calculado por Mahmud *et al.* (2018) en el intercalado de dos surcos de maíz con dos surcos de calabaza mostró 18.39 toneladas (megagramos) por hectárea (Mg ha^{-1}). A partir del rendimiento equivalente de maíz se calculó el ISAR en términos de maíz. Tanto en SPR como en SJC, el ISAR indica que los arreglos topológicos MMTC y MTMC pueden abastecer del maíz consumido por más de cuatro personas al año (Cuadro 3).

La dosis óptima estimada en el máximo nivel de insumos explorados, de MTMC en temporal y riego y MMTC temporal, sugiere que puede aumentarse el espacio de exploración de la fertilización en futuras investigaciones, cuidando aspectos ambientales. Como referencia, la dosis óptima en maíz (variedad SY30 y HL40×YJ7), en China, es 405, 135 y 135 kg ha^{-1} de N, P_2O_5 y K_2O , respectivamente (Li *et al.* 2020). A nivel local, el ICAMEX (2021) recomienda para los valles altos una fertilización de 115-46-30 kg ha^{-1} de NPK, repartidos en dos aplicaciones: 46-46-30 kg ha^{-1} de NPK en la siembra y 69-00-00 kg ha^{-1} de NPK en la segunda escarda.

Eficiencia Relativa de la Tierra

A partir del meta-análisis global con cultivos intercalados, Li *et al.* (2020) corrobora que la ERT de los sistemas intercalados con maíz da valores promedio de 1.29 ± 0.02 y es menor en los casos en que se intercalan otras especies distintas al maíz. En esta investigación, el intercalado que dio la mayor ERT fue MMTC (Cuadro 4) en riego y temporal, 1.64 y 2.78 respectivamente. Estos valores de la ERT indican que se requieren 1.64 y 2.78 hectáreas de monocultivo para alcanzar los rendimientos obtenidos en una hectárea del intercalado MMTC en riego y temporal, respectivamente. Los valores de la ERT parcial del maíz (Cuadro 4) en esta investigación son menores a los obtenidos por Xu *et al.*, (2021) quienes mostraron que la ERT parcial del maíz osciló entre 0.78 y 0.97. Así, la ERT final obtenida mayor a uno indica una ventaja productiva del policultivo en comparación del monocultivo, proporcionada por las especies de porte bajo (tomate y calabaza).

La ERT en temporal y MMTC (2.78) tuvo aporte de 1.51 de ERT parcial de la calabaza. Esto significa que en el arreglo dos surcos de plantas de porte alto (maíz) y dos de porte bajo (tomate y calabaza contiguos), la calabaza hizo el mayor aporte en rendimiento de las especies. Los resultados son similares a los obtenidos por Mahmud *et al.* (2018) quienes mostraron que el intercalado de dos surcos de maíz más dos surcos de calabaza tienen la más alta eficiencia relativa de la tierra (1.62), en comparación de otros arreglos topológicos. El menor rendimiento del arreglo MTMC, en comparación de MMTC y los monocultivos, se atribuye a la competencia de las especies por luz, agua y nutrimentos (Mahmud *et al.*, 2018). Albino-Garduño *et al.* (2015) refieren resultados similares al intercalar maíz y frijol en razón de un surco de cada especie, donde los bajos rendimientos del cultivo de porte bajo se atribuyeron al sombreo del maíz y a la amplia distribución radical del maíz.

Cuadro 4. Valores de Eficiencia Relativa de la Tierra de tres arreglos topológicos de maíz, tomate y calabaza cultivados en dos comunidades en el Estado de México. Primavera-Verano 2020.

Intercropped milpa	Rainfed (SJC)			Irrigated (SPR)		
	Yield	Partial LER	Final LER	Yield	Partial LER	Final LER
Maíz en MMTC [†] y	2.7±0.5	0.60	2.78	3.7±0.4	0.53	1.64
Maíz en monocultivo [¤]	4.5±0.5			7.1±1.2		
Rastrojo en MMTC [†] ^b	2.7±0.5	0.49		6.1±0.6	0.60	
Rastrojo en monocultivo [¤]	5.6±0.9			10.0±1.6		
Tomate en MMTC [†] §	1.9±0.0	0.19	1.85	8.4±0.2	0.21	1.34
Tomate en monocultivo [¤]	10.1±1.5			40.5±2.4		
Calabaza en MMTC [†] §	5.9±2.5	1.51		15.1±0.3	0.30	
Calabaza en monocultivo [¤]	3.9±1.2			50.5±9.1		
Maíz en MTMC [¶] ^b	3.0±0.5	0.67	1.85	3.2±0.5	0.46	1.34
Maíz en monocultivo ^z	4.5±0.5			7.1±1.2		
Rastrojo en MTMC [¶] ^b	4.7±1.1	0.84		4.8±0.9	0.48	
Rastrojo en monocultivo [¤]	5.6±0.9			10.0±1.6		
Tomate en MTMC [¶] §	1.4±0.4	0.14		7.2±1.0	0.18	1.34
Tomate en monocultivo [¤]	10.1±1.5			40.5±2.4		
Calabaza en MTMC [¶] §	0.8±0.4	0.20		11.1±1.2	0.22	
Calabaza en monocultivo ^z	3.9±1.2			50.5±9.1		

Los valores son promedio de tres repeticiones y seis muestras ± ES. SJC: San Juan Coajomulco. SPR: San Pedro el Rosal. Rendimientos obtenidos con la dosis de fertilización 163-60-40-3600 kg de N-P-K-MO ha⁻¹. [†]MMTC: dos surcos de maíz intercalados con uno de tomate seguido por uno de calabaza. [‡]MTMC: un surco de maíz intercalado con uno de tomate seguido por uno de maíz con calabaza. [§]: rendimiento observado en 0.25 ha. ^b: rendimiento observado en 0.5 ha. [¤]: rendimiento observado en 1 ha. ERT=eficiencia relativa de la tierra.

El análisis de las ecuaciones de regresión muestra la respuesta agronómica de los cultivos. Las ordenadas al origen de las ecuaciones de regresión reflejan que el rendimiento de los tres cultivos es mayor en la condición de riego que en temporal (Cuadro 5). También las ecuaciones muestran que en la condición de riego (SPR) hay un efecto positivo en el rendimiento del grano de maíz por la fertilización con N y P. En temporal (SJC), los patrones de lluvia pueden afectar la absorción de N en la planta de maíz, tal como sugieren los modelos de fertilización nitrogenada (Fletcher *et al.* 2021). En las dos condiciones de estudio hay mayor rendimiento de tomate en el arreglo topológico MTMC que en MMTC. En SJC se atribuye al efecto del N, MO y la interacción de ambos; en SPR además contribuyó el efecto del P. El arreglo topológico que favoreció el rendimiento de la calabaza fue MMTC, tanto en riego como en temporal. En las dos condiciones la materia orgánica favoreció el incremento en el rendimiento.

Cuadro 5. Ecuaciones de regresión del rendimiento de grano de maíz, tomate de cáscara y calabaza italiana intercalados en dos arreglos topológicos en parcelas campesinas de riego y temporal del Estado de México.

Crop	Agrosystem	Regression equation	R ²
Maíz	MMTC [†] <i>t</i> [§]	$\hat{Y}_g^r = 2.55556$	0.855
	MTMC [¶] <i>t</i> [§]	$\hat{Y}_g^r = 2.82 + 0.11042P$	
	MMTC [†] <i>r</i> ^b	$\hat{Y}_g^r = 5.05334 + 0.12396N$	
	MTMC [¶] <i>r</i> ^b	$\hat{Y}_g^r = 5.31778 + 0.12396N + 0.11042P$	
Tomate	MMTC [†] <i>t</i> [§]	$\hat{Y}_t^{++} = 1.76546 + 0.50150N^2$	0.784
	MTMC [¶] <i>t</i> [§]	$\hat{Y}_t^{++} = 1.76546 + 0.50150N^2 + 0.48125NMO + 0.32009MO^2$	
	MMTC [†] <i>r</i> ^b	$\hat{Y}_t^{++} = 7.2487 + 0.50150N^2 - 0.67188N + 0.92708PMO + 0.40529P^2$	
	MTMC [¶] <i>r</i> ^b	$\hat{Y}_t^{++} = 7.2487 + 0.50150N^2 - 0.67188N + 0.92708PMO + 0.40529P^2 + 0.48125NOM + 0.32009MO^2$	
Calabaza	MMTC [†] <i>t</i> [§]	$\hat{Y}_c^{¶¶} = 5.48050 + 0.81875OM + 0.46255MO^2$	0.756
	MTMC [¶] <i>t</i> [§]	$\hat{Y}_c^{¶¶} = 2.7505 + 0.81875OM + 0.46255MO^2$	
	MMTC [†] <i>r</i> ^b	$\hat{Y}_c^{¶¶} = 12.8305 + 0.12917OM + 0.46255MO^2$	
	MTMC [¶] <i>r</i> ^b	$\hat{Y}_c^{¶¶} = 10.1005 + 0.1291OM + 0.46255MO^2$	

Regresión stepwise (sls=0.05) para determinar el modelo: $p < 0.05$, 180 observaciones. [†]MMTC: dos surcos de maíz intercalados con uno de tomate y uno de calabaza. [¶]MTMC: un surco de maíz intercalado con uno de tomate seguido de un surco de maíz y uno de calabaza. [§]t = temporal. ^br: riego. ^r $\hat{Y}_g$: rendimiento estimado de grano de maíz en 0.5 ha. ⁺⁺ $\hat{Y}_t$ y ^{¶¶} $\hat{Y}_c$: rendimiento estimado de tomate y calabaza en 0.25 ha. N: nitrógeno. P: fósforo. K: potasio. MO: materia orgánica.

CONCLUSIONES

El maíz nativo intercalado en surcos con tomate y calabaza genera ingresos netos suficientes para adquirir canastas básicas de alimentos y maíz requeridos por la familia promedio campesina. Estos indicadores, tanto como los salarios mínimos que genera este agrosistema de milpa intercalada, son mayores al intercalar maíz-tomate-maíz-calabaza que al intercalar maíz-maíz-tomate-calabaza, tanto en riego como en temporal; pues la venta de tomate y calabaza genera los mayores ingresos económicos que el maíz.

Al intercalar dos surcos de maíz seguidos por uno de tomate y uno calabaza se obtuvo mayor eficiencia en el uso de la tierra en comparación del monocultivo de las especies y el intercalado de estas en un surco contiguo de cada especie. El cultivo intercalado de maíz nativo por surco, con tomate y calabaza puede ser una alternativa productiva para la agricultura campesina de temporal y riego en el noroeste del Estado de México.

REFERENCIAS

- Albino-Garduño R, Santiago-Mejía H, Avendaño-Gómez A, González-Álvarez L, Cruz-Reyes R. 2021. Peasant knowledge about maize fertilization in Mazahua (*Jñatjo*) communities of Mexico. *Agricultura, Sociedad y Desarrollo* 18 (2): 305–320. <https://doi.org/10.22231/asyd.v18i2.1002>
- Albino-Garduño R, Turrent-Fernández A, Cortés-Flores JI, Livera-Muñoz M, Mendoza-Castillo M.C. 2015. Distribución de raíces y de radiación solar en el dosel de maíz y frijol intercalados. *Agrociencia* 49: 513–531.

- Bourges HR. 2013. El maíz: su importancia en la alimentación de la población mexicana. *In* El maíz en peligro ante los transgénicos. Un análisis integral sobre el caso México. Álvarez-Buylla ER, Piñeiro NA (eds.). UNAM/UCSS: Ciudad de México. pp: 231–248.
- Cheng-Dong HL, Quan-Qing L, Xiao-Lin, Chao-Chun Z. 2019. Effect of intercropping on maize grain yield and yield components. *Journal of Integrative Agriculture* 18: 1690–1700. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62648-1](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62648-1)
- CONEVAL (Consejo Nacional de Evaluación de la Política de Desarrollo Social). 2021. Valor de la canasta alimentaria. <https://www.coneval.org.mx/Medicion/MP/Paginas/Lineas-de-bienestar-y-canasta-basica.aspx> (Consulta: febrero 2021).
- Damián HMA, Toledo VM. 2016. Utopística agroecológica innovaciones campesinas y seguridad alimentaria en maíz. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Dirección de Fomento Editorial: México.
- DOF (Diario Oficial de la Federación). 2021. Resolución de salarios mínimos aplicables a partir del 1° de enero de 2021. <https://www.gob.mx/conasami/articulos/se-publica-en-el-diario-oficial-de-la-federacion-los-salarios-minimos-que-rigen-a-partir-del-1-de-enero-de-2021?idiom=es> (Consulta: abril 2021).
- Evers JB, Van DW, Stomph JT, Bastiaans L, Anten PN. 2019. Understanding and optimizing species mixtures using functional-structural plant modelling. *Journal of Experimental Botany* 70 (9): 2381–2388. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery288>
- Fletcher DM, Ruiz A, Dias ST, Chadwick R, Jones DL, Roose T. 2021. Precipitation-optimised targeting of nitrogen fertilisers in a model maize cropping system. *Science of the Total Environment* 756: 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144051>
- Francis CA, Porter P. 2016. Multicropping. *In* Encyclopedia of Applied Plant Sciences 3 (2nd edition). Thomas B, Murray GB, Murphy DJ (eds.). Elsevier: Amsterdam, The Netherlands. pp. 29–33. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-394807-6.00024-1>
- García TL, Ronquillo CI. 2018. Fertilización mineral y orgánica en el cultivo intercalado maíz-frijol asociados y haba en un Andosol del Estado de México. *Producción Agropecuaria y Desarrollo Sostenible* 7: 29–40.
- ICAMEX (Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria, Acuícola y Forestal del Estado de México). 2021. Maíz. <https://icamex.edomex.gob.mx/maiz> (Consulta: enero 2021).
- Li C, Hoffland E, Kuypers TW, Yu Y, Zhang C, Li H, Van DW. 2020. Syndromes of production in intercropping impact yield gains. *Nature Plants* 6: 653–660. <https://doi.org/10.1038/s41477-020-0680-9>
- Lulie B. 2017. Intercropping practice as an alternative pathway for sustainable agriculture: A review. *Journal of Agricultural Science and Research* 5: 440–452. <https://doi.org/10.14662/ARJASR2017.057>
- Mahmud S, Alam M, Rahman M, Amin M, Hassan M. 2018. Productivity and economics of maize-squash intercropping at different planting systems. *Journal of the Bangladesh Agricultural University* 16: 23–26. <https://doi.org/10.3329/jbau.v16i1.36476>
- Mungai LM, Snapp S, Messina JP, Chikowo R, Smith A, Anders E, Richardson RB, Li G. 2016. Smallholder farms and the potential for sustainable intensification. *Frontiers in Plant Science* 7: 1–20. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01720>
- Murray-Tortarolo GN, Jaramillo VJ, Larsen J. 2018. Food security and climate change: the case of rainfed maize production in Mexico. *Agricultural and Forest Meteorology* 253: 124–131. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2018.02.011>
- Nassary EK, Bajukya F, Ndakidemi PA. 2019. Productivity of intercropping with maize and common bean over five cropping seasons on smallholder farms of Tanzania. *European Journal of Agronomy* 113: 1–10 <https://doi.org/10.1016/j.eja.2019.125964>
- Paulino-Flores M, Martínez-Campos AR, Martínez-Castañeda FE, López-Orona CA, Vizcarra-Bordi I, Munguía N. 2017. Evaluation of the sustainability of hybrid and native maize production systems. *Journal of Cleaner Production* 150: 287–293. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.02.182>
- Ramírez-Jaspeado R, García-Salazar JA, García-Mata R, Garza-Bueno LE, Escalona-Maurice MJ, Portillo-Vásquez M. 2020. Determinación de las regiones más competitivas de maíz en el Estado de México en función de la producción potencial. *Interciencia* 45: 150–157.
- Ren H, Han K, Liu Y, Zhao Y, Zhang L, He Q, Li Z, Zhang J, Liu P, Wang H, Zhang J, Zhao JB. 2020. Improving smallholder farmers maize yields and economic benefits under sustainable crop intensification in the North China Plain. *Science of the Total Environment* 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143035>

- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2020. Avance de siembras y cosechas, resumen por cultivo. http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/ResumenDelegacion.do (Consulta: abril 2021).
- SMN (Servicio Meteorológico Nacional). 2021. Resumen mensual de lluvia y temperatura. <https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/temperaturas-y-lluvias/resumenes-mensuales-de-temperaturas-y-lluvias> (Consulta: abril 2022).
- Tanumihardjo SA, McCulley L, Roh R, Lopez-Ridaura S, Palacios-Rojas N, Gunaratna NS. 2020. Maize agro-food systems to ensure food and nutrition security in reference to the Sustainable Development Goals. *Global Food Security* 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2019.100327>
- Tilman D. 2020. Benefits of intensive agricultural intercropping. *Nature Plants* 6: 604–605. <https://doi.org/10.1038/s41477-020-0677-4>
- Turrent FA, Cortés FJI, Espinosa CE, Hernández RE, Camas GR, Torres ZJP, Zambada MA. 2017. MasAgro o MIAF ¿Cuál es la opción para modernizar sustentablemente la agricultura tradicional de México? *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 8: 1169–1185. <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i5.116>
- Xu R, Zhao H, Liu G, You Y, Ma L, Liu N, Zhang Y. 2021. Effects of nitrogen and maize plant density on forage yield and nitrogen uptake in an alfalfa–silage maize relay intercropping system in the North China Plain. *Field Crops Research* 263: 1–12 <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2021.108068>



EFFECT OF THREE GREEN MANURES ON THE AGRONOMIC CHARACTERISTICS OF NATIVE X'MEJEN NAAL MAIZE IN CAMPECHE, MEXICO

Gilberto Matos-Pech¹, Enrique Arcocha-Gómez¹, Mónica Beatriz López-Hernández^{1*}, Patricia Margarita Garma-Quen², Noel Antonio González-Valdivia¹, Elías de Jesús Echavarría-Góngora¹

¹ Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Chiná, Maestría en Ciencias en Agroecosistemas Sostenibles, Calle 11 s/n entre 22 y 28, Chiná, Campeche, México. C. P. 24520

² Universidad Autónoma de Campeche, Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, San Francisco de Campeche, Campeche, México. C. P. 24085.

* Corresponding author: monica.lh@china.tecnm.mx

ABSTRACT

In the agronomic management of maize (*Zea mays* L.), chemical fertilizers can be substituted for fertilizing techniques that reduce the pollutant effect of the excessive use of commercial fertilizers. The hypothesis was the green manure of legumes with or without the inoculation of microorganisms are capable of promoting agronomic characteristics of X'mején Naal maize, comparable to conventional fertilization. In order to measure the effect in the agronomic characteristics of X'mején Naal maize, an experiment was designed in complete randomized blocks in a bifactorial arrangement with four repetitions, in which three green manures were tested, with or without the inoculation of Fosfonat (endomycorrhizas, EM, plus nitrogen fixing bacteria, NFB). Treatments were Mucuna (*Mucuna pruriens*, T1=MUC), Xpelón (*Vigna unguiculata*, T2=PEL), Ibes (*Phaseolus lunatus*, T3=IBE), inoculated Mucuna (T4=MUCEM), inoculated Xpelón (T5=PELEM), inoculated Ibes (T6= IBEEM) and the control with the incorporated biomass of weeds plus the addition of 200 kg ha⁻¹ of diammonium phosphate (T7=ARDAP). Results showed that there were only differences caused by the types of green manure and their interaction with the inoculated symbionts in the fresh weight or biomass in X'mején Naal maize. IBE and ARDAP stood out in fresh weight (1162 and 1251 g), dry weight (168.6 and 163.6 g), 7.3 Mg ha⁻¹ (Megagrams per hectare) in the dry aerial biomass in the maize plants, respectively. Despite the grain yield of maize was similar among treatments, it was noticeable that the higher average yields were also observed in IBE and ARDAP with 3.5 and 3.3 Mg ha⁻¹ respectively. All yields (fodder and grain) managed to express the potential of the X'mején Naal, which is relevant to recommend the use of green manures as an agro-environmental alternative to conventional fertilization in the Luvisol soils of Campeche.

Keywords: *Zea mays* L., fertilization, agroecology, tropical soil, Yucatan Peninsula.

Citation: Matos-Pech G, Arcocha-Gómez E, López-Hernández MB, Garma-Quen PM, González-Valdivia NA, Echavarría-Góngora EDJ. 2022. Effect of three green manures on the agronomic characteristics of native X'mején Naal maize in Campeche, Mexico. *Agrociencia*. 56(4): 752-773. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i4.2400>

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: June 23, 2021.
Approved: June 03, 2022.
Published in Agrociencia:
July 11, 2022.

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



INTRODUCTION

In the state of Campeche, the nutritional management in basic crops such as maize (*Zea mays* L.) is carried out conventionally with the use of chemical fertilizers that

account for 27 % of all production costs. Diammonium phosphate (DAP) is frequently used in annual doses of 50 to 150 kg ha⁻¹, to obtain yields ranging between 3.5 and 4.0 Mg ha⁻¹ of grain between May and July (rainfed) and between 0.4 and 0.6 Mg ha⁻¹ between July and November (autumn-winter) (Medina-Méndez *et al.*, 2018). Chemical fertilization may cause damages to the environment.

Contemporary agricultural production demands the use of sustainable agronomic practices and alternative to conventional fertilization. The use of green manures is a technique that tends to be used more as a source of nutrients in the soil for crops (Castro *et al.*, 2017). In crops such as maize, the incorporation of green manures has shown a direct relationship with grain yields, biomass and nutritional content (Sosa-Rodrigues and García-Vivas, 2018).

The high costs of synthetic fertilizers and improved seeds reduce the cost effectiveness of maize for farmers (Alvarado-Teyssier *et al.*, 2018). It is therefore important to find alternate and competitive sources for the fertilization of this crop, basic for the nutrition of the Mexican population. In the light of this situation, since maize demands nitrogen throughout life cycle, green manures may be a feasible option (Karyoti *et al.*, 2018). In the state of Campeche there are few studies on the problem of fertilizers, underground pollution related to maize production; and even less on the use of green manures in the region.

The hypothesis was that the green manures of legumes, whether inoculated or not, are able to promote agronomic characteristics in native maize (X'mejen Naal) comparable to conventional fertilization. The aim of the research was to evaluate the agronomic behaviour (plant growth and development, and grain yield) of X'mejen Naal maize in response to the application of three legumes as green manures, inoculated or not with a mixture of endomycorrhizae and beneficial nitrogen fixing bacteria, with the incorporated biomass of weeds plus the addition of 200 kg ha⁻¹ of diammonium phosphate.

MATERIALS AND METHODS

Location of the study site

The experiment was established during the agricultural cycle between July and December 2020 in the Rancho Xamantún production unit of the Chiná Institute of Technology, located in the homonymous municipal area, in the state of Campeche (19° 42' N and 90° 25' W and 44 m) (González-Valdivia *et al.*, 2019). The climate in the area is warm sub-humid, with a rainfall of 900 to 1200 mm and an average annual temperature of 25.5 to 26.4 °C. The most rainfall takes place between June and October, with a dry period or *canícula* between July and the beginning of September. The soil type is ferric Luvisol, with a good productivity, a moderate depth and a calcareous origin, saturated with bases, with a high content of expandable clays of the smectic and vermiculite groups with reddish tones with ionic exchange activity (Palma-López *et al.*, 2017).

Experimental design

The experiment had a complete randomized block design in a 3×2 factorial arrangement plus the control (fertilization with 200 kg ha⁻¹ of diammonium phosphate) with four replicates. The levels of factor A were three species of green manure (*Mucuna pruriens* L., *Vigna unguiculata* L., and *Phaseolus lunatus* L.); levels of factor B were the inoculation or not of legumes with Endomycorrhizae (EM) and beneficial nitrogen fixating bacteria (BFN). Thus, a total of seven treatments were evaluated (Table 1). The experimental unit consisted of 4×8 m plots for a total of 24 experimental units, with both study factors (A and B) inside the blocks. The control treatment was fertilized with diammonium phosphate used in the region along with wild plants (considered natural competitors to the main crop) used as green manure; that is why those were not inoculated.

Planting and incorporation of green manure

The seeds of the legumes Xpelón (*Vigna unguiculata* L.), Ibes (*Phaseolus lunatus* L.) and Mucuna (*Mucuna pruriens* L.) were obtained from farmers from the region and the seeds chosen were those with the best physical and health characteristics. The seeds were divided into two lots, one to be inoculated and the other with a mixture of endomycorrhizae (EM) and beneficial nitrogen fixating bacteria (BFN). The symbiotic microorganisms were added via the Fosfonat commercial consortium, with the recommendations of the company Tecnologías Naturales Internacional, S.A de C.V. (Guanajuato, Mexico). The planting with green manures (GM) was made on April 15, 2020. A distance of 0.20 m was considered between plants and 0.80 m between rows to obtain a density of 62 500 plants ha⁻¹, for *Vigna unguiculata* and *Phaseolus lunatus* (Jara-Claudio and Alejos-Patiño 2016; Batista de Sousa *et al.*, 2020). Mucuna was planted with a distance of 0.50 m between plants and 0.80 m between rows to achieve a density of 25 000 plants ha⁻¹ (Sanclemente-Reyes *et al.*, 2013; Rojas-Molina *et al.*, 2019). During the development of the GM, the agronomic management consisted of pest and disease control, and weed management.

Table 1. Treatments with green manure (*Mucuna pruriens* L., *Vigna unguiculata* L. and *Phaseolus lunatus* L.) with and without inoculating symbiotic microorganisms in X'mejen Naal maize in Chiná, Campeche, Mexico (July - December 2020).

Treatment	Description
MUC	Mucuna (<i>Mucuna pruriens</i>) without inoculation
PEL	Xpelón (<i>Vigna unguiculata</i>) without inoculation
IBE	Ibes (<i>Phaseolus lunatus</i>) without inoculation
MUCEM	Mucuna inoculated Endomycorrhizae (EM) and Beneficial nitrogen fixating bacterias (BFN)
PELEM	Xpelón inoculated with EM and BFN
IBEEM	Ibes inoculated with EM and BFN
ARDAP	Control: fertilization with 200 kg ha ⁻¹ of diammonium phosphate, applied by hand when maize plants reached a height of 25 cm

Sixty days after planting, the green manures were cut, which coincided with the stage of the highest vegetative development and the beginning of flowering. Plant material was weathered for 19 d and left on the surface of the experimental plot to favour the decomposition of the plant biomass. Next, they were incorporated evenly into the soil with a disc harrow, avoiding the mixture of manures in each experimental unit (Rivero-Herrada *et al.*, 2016). Before the incorporation, plant tissue samples were taken from green manure the central rows of each experimental unit and they were sent to the laboratories of the company AGQ Labs to know the amount of nutrients contained in the total biomass before incorporating them into the soil.

Planting of maize

The X'mejen Naal maize, of an intermediate cycle was planted by hand on July 26, 2020, with a planting framework of 0.80 m between rows and 0.20 m between plants, for a density of 60 000 plants ha⁻¹. The control was fertilized 15 d after plantation, and the agronomic management followed the recommendations by Villalobos-González *et al.* (2019). Throughout the experiment, plants were irrigated using a spraying system.

Growth variables

Plant height (ALTP, m); value obtained at the end of the female flowering; measured from the base of the stem in the ground up to where the spike ramification begins. Stem diameter (DT, cm), ear height (AM, cm), length of the ear leaf (LHDM), width of the ear leaf (AHDM), total of leaves (TH) (Ramírez-Mandujano *et al.*, 2016). The leaf area index per plant (IAF) was estimated using the average product of length times width for each leaf in five plants, weighed by a factor 0.75 (area of the leaves of the plant, m²); then divided by the plant cover area above the soil (Castellanos-Reyes *et al.*, 2017).

Phenological variables

Days to male flowering (DFMAS), considered as the moment of sampling, when 50 % of the spikelet present in the spike of the plant displayed anthers in dehiscence and exposed outside the glumes. Days to female flowering (DFFE), determined when the plants displayed the silk or female inflorescence with the stigmas exposed. Floral asynchrony (ASF), considered as the difference between DFFE and DFMAS (Ramírez-Mandujano *et al.*, 2016).

Yield variables

Grain and ear characteristics in X'mejen Naal

Length of grain (LG, cm); grain width (AG, cm), grain thickness (GG, cm), weight of 1000 grains (P1000G); number of grains per row (NGH); number of normal grains per ear (NGNM), value obtained with the number of normal or completely formed grains after threshing a sample composed of 10 ears. Number of aborted grains per ear (NGAM), obtained by counting the number of grains that did not reach full

development on the ear. Ear length (LM, cm); ear diameter (DM, cm); number of rows per ear (NHM). Cob diameter (DOL, cm); cob weight (POL, g); and ear weight (PM, g.) (González-Martínez *et al.*, 2019; Villalobos-González *et al.*, 2019).

Fodder and grain yield variables

Fresh weight of the aerial part of the plant (PF, g); the *in situ* weight of five plants from the central rows of each experimental unit was recorded. Final aerial biomass (BAF, g m⁻²), determined after the physiological maturity when harvesting the plants in an area of 1 m² of four central rows and the total dry weight of the aerial section [leaves (blade + pod) stem, ear, bracts, cob or rachis and spike] was obtained, divided by the area harvested. Total biomass (BMT, Mg ha⁻¹) was estimated by obtaining the dry matter per plant and multiplying this value by the density of plants per hectare (Franco-Martínez *et al.*, 2015). Grain yield per plant (RG), value obtained after threshing the ears of each plant and weighing them to determine the weight of the grain per plant. Grain yield per plant (RGPH, Mg ha⁻¹), estimated with a commercial humidity adjustment at 14% of the total weight of the grains of 10 ears obtained from four central rows of the experimental unit. Harvest index (IC), calculated as the quotient between the grain yield and the final aerial biomass [(IC = RG / BM) * 100] (Zamudio-González *et al.*, 2016).

Statistical analysis

An analysis of variance was carried out for the variables studied for a complete randomized block design in a 3×2 factorial arrangement. Normality (Shapiro–Wilk test, QQ Plot graphical method) and homoscedasticity of the data (ncvTest: score test for non-constant error variance) were tested beforehand. The means comparison was carried out using Tukey's means test ($p \leq 0.05$). For the analysis of data, the statistical program R version 4.0.5 (R Studio Team, 2021) was used.

RESULTS AND DISCUSSION

Content of nutrients in the green manure before incorporation

The results of the aerial biomass nutrient contents analysis of the green manures found the highest content of nitrogen in the PELEM tissue, followed by MUC and MUCEM. The outstanding contribution of P, K, Ca and S of the green content of PELEM must be highlighted, particularly regarding contents of sulphur (Table 2). This element, due to its acidity, favours the assimilation of other macronutrients in soils with high contents of Ca (Bender *et al.*, 2013; Correndo and García, 2014). In the Yucatan Peninsula, Ca becomes antagonistic to elements such as phosphorous, which is the reason the use of this species is favoured as green manure in this region.

The contribution of nutrients by all treatments with green manures was enough to satisfy the requirements for maize, both macro and microelements (Table 2). Since it is considered that in the maize crop, the nutrients considered for fertilization formulas are N, P and K (Conceição dos Santos *et al.*, 2019). It is important to consider that the

Table 2. Contribution of nutrients by green manures (*Mucuna pruriens*, *Vigna unguiculata* and *Phaseolus lunatus*) with and without inoculation with symbiotic microorganisms in the X'mejen Naal maize crop in Chiná, Campeche, Mexico (July – December 2020).

Treat.	DM [†] (Mg ha ⁻¹)	Macronutrients (kg ha ⁻¹)						Micronutrients (kg ha ⁻¹)					
		N	P	K	Ca	Mg	S	Mo	Fe	Mn	Cu	Zn	B
MUC [‡]	3.73	83.77	11.23	83.8	73.47	11.7	6.6	0.01	2.13	0.5	0.08	0.12	0.11
PEL [§]	5.31	65.21	11.07	93.5	66.77	16.17	8.07	0.01	1.57	0.8	0.04	0.13	0.14
IBE [‖]	2.46	47.69	7.03	55.63	44.7	5.33	4.37	0.00	1.07	0.18	0.02	0.06	0.06
MUCEM [‡]	3.76	89.29	8.57	64.67	64.83	10.77	6.83	0.01	1.1	0.61	0.07	0.11	0.11
PELEM ^{††}	6.25	104.22	15.73	127.33	67.87	20.1	11.77	0.01	0.88	0.71	0.05	0.18	0.18
IBEEM ^{‡‡}	2.72	52.35	7.9	66.47	40.77	5.7	5.03	0.00	0.71	0.23	0.02	0.09	0.06
ARV ^{§§}	1.33	20.84	2.5	26.37	12.2	2.67	2.73	0.00	0.48	0.06	0.01	0.03	0.02

Treat= treatment, [†]DM= dry matter, [‡]MUC=*Mucuna pruriens*, [§]PEL= *Vigna unguiculata*, [‖]IBE= *Phaseolus lunatus* (L), [‡]MUCEM= *M. pruriens* with added EM and BFN, ^{††}PELEM= *V. unguiculata* with added EM and BFN, ^{‡‡}IBEEM= *P. lunatus* (L) with added EM and BFN, ^{§§}ARV= control with wild plants.

nutritional requirements for *Zea mays* L. in kg ha⁻¹ of macronutrients are found between 56-120 (N), 36-50 (P), 10-127 (K), 0-24 (Ca), 0-25 (Mg) and 5-21 (S) in order to reach yields of 3 to 6, Mg ha⁻¹ in grain production (Machado-Silva *et al.*, 2018; Restrepo-Díaz *et al.*, 2017). In the case of micronutrients for estimated yields of 3 to 6 Mg ha⁻¹ of grain, the nutritional requirements are found between 0.00-0.01 (Mo), 0.32-0.64 (Fe), 0.48-0.97 (Mn), 0.03-0.07 (Cu), 0.14-0.27 (Zn) and 0.05-0.10 (B) (Bender *et al.*, 2013; Correndo and García, 2014). This nutritional demand is comprised within the contribution of nutrients achieved by the green manures studied.

The high contributions of Ca in the plant biomass of the green manures did not surpass the maximum requirements near the 57 kg ha⁻¹ for high yielding maize (Machado-Silva *et al.*, 2018). The supply of microelements Fe, Cu and B remained within range of nutritional requirements for high productivity maize (9 to 12 Mg ha⁻¹), which vary from 1.12-1.28, 0.12-0.13 and 0.18-0.21 respectively (Correndo and García, 2014; Restrepo-Díaz *et al.*, 2017).

In the particular case of Fe, Stewart *et al.* (2020) mentioned that this micronutrient does not represent a problem of excess for *Zea mays* L., and there is even a deficiency of this element in calcareous soils. Due to lower solubility, originated by higher values of pH in this type of soils. This deficiency was corrected due to the contribution of Fe made by the green manures, which in every case surpassed the maximum requirements of this element for maize. In general, no sign of scarcity or phytotoxicity caused by elements was found on the field during the study.

Growth variables

There were no differences between the green manure used or regarding the inoculation management, or in the interaction between these two factors ($p>0.05$). Growth averages of those variables were as follows: ALTP (2.1 and 2.3 m), DT (2.4-2.7 cm), AM (1.3-1.4 m),

LHDM (82.3-95.8 cm), AHDM (9.5-10.3 cm), TH (12.5-14.0) and IAF (3.5-4.2). These values coincide with reports by Cázares-Sánchez *et al.* (2015) and Villalobos-González *et al.* (2019) in varieties of X'mejen Naal.

Plant height and stem diameter in X'mejen Naal are within the usual range in varieties resistant to lodging caused by rain and winds (Velázquez-Cárdelas *et al.*, 2018). The similarity between averages of growth variables ($p>0.05$) shows that the green manures studied may be used as an alternative to chemical fertilization of maize, recommended for farmers in Campeche by Medina-Méndez *et al.* (2018).

Phenological variables

These variables showed no differences between treatments for the factors studied or in their interaction ($p>0.05$), with averages of 52 to 54 for DFMS, from 54 to 56 for DFFE and between 2 and 4 d for floral asynchrony. The management of fertilization did not interfere with the expression of the phenological characteristics, which are defined by the genetic of X'mejen Naal (Villalobos-González *et al.*, 2019) and which are expressed in a stable way in the absence of abiotic stress. The green manures used in the study are comparable to the effect of ARDAP and they contributed to produce plants without any evidence of physical alteration due to being properly nourished, as Alvarado-Teyssier *et al.* (2018) also observed.

Yield variables

Green manures and interactions with the inoculation only showed differences in fodder yield ($p\leq 0.05$). The values reached with IBE and the other green manures for PF, MS, BAF and BMT (Table 3) were near to those obtained with ARDAP (1251.00 g p^{-1} , 163.6 g, 822.8 g m^2 , 8.3 Mg ha^{-1}); therefore, legumes are as efficient as chemical fertilizers. In addition, their contribution of essential nutrients stands out for the formation of plant biomass, particularly P, which participates in the development of roots and thus, in the improvement of nutrient absorption capacity for other nutrients in maize planted on calcareous soils.

All treatments obtained similar values to each other regarding the number of normal grains per ear (NGNM), except for MUC (338.6 NGNM, $p\leq 0.05$) with values between 359.7 and 405.2 NGNM. *Vigna unguiculata* and *Phaseolus lunatus* displayed their potential as green manures against *Mucuna pruriens*. Even without inoculations, they equated to ARDAP in favouring that number of normal grains per ear. Consequently, both species displayed respectively the lowest averages in numbers of aborted grains per ear (6.4 and 6.2 NGAM). These were also low in comparison with the 17 to 36 NGAM reported by Villalobos-González *et al.* (2019) for X'mejen Naal under chemical fertilization.

Treatments did not affect the averages of the variables of the grains and ear, nor were there any effects of green manure plus an inoculation with symbionts ($p>0.05$). The intervals recorded were as it follows: LG (0.9-1.1 cm), AG (0.8-0.9 cm), GG (0.4-0.4 cm), P1000G (268.5-321.3 g), NGH (26.2-30.5), LM (13.8-14.9 cm), DM (4.0-4.3 cm), NHM (12.3-13.5), DOL (2.4-3.0 cm), POL (18.7-21.8 g), y PM (101.9-120.2 g). These values

Table 3. Yield of X'mejen Naal maize with the influence of green manures (*Mucuna pruriens*, *Vigna unguiculata* and *Phaseolus lunatus*) with and without the inoculation with symbiotic microorganisms in Chiná, Campeche, Mexico (July to December 2020).

Treatment	Factor	PF (g)	MS (g)	BAF (g m ⁻²)	BMT (Mg ha ⁻¹)	PPAU	MPAU	DFPH	RG (g)	RGPH (Mg ha ⁻¹)	IC
MUC [¶]	A	779.0 b	97.4 b	536.5 b	5.4 b	109.0	79.5	51904.8	77.3	2.9	0.6
PEL [§]		942.0 b	119.1 ab	534.9 b	5.4 b	89.8	76.4	42738.0	72.5	2.7	0.5
IBE [¶]		1162.0 ab	168.6 a	653.8 ab	6.5 ab	95.3	83.3	45357.0	81.4	3.2	0.5
ARDAP ^{§§}		1251.0 a	163.6 a	822.8 a	8.3 a	105.5	85.3	50238.3	81.5	3.3	0.4
MUC [¶]	AB	779.0 b	97.4 b	513.0	5.1	114.3	81.5	54404.8	70.0	2.7	0.6
PEL [§]		942.0 ab	119.1 ab	561.0	5.6	98.0	83.0	46666.5	73.5	3.0	0.6
IBE [¶]		1162.0 a	168.6 a	725.1	7.3	93.0	87.3	44285.5	83.5	3.5	0.5
MUCEM [¶]		937.0 ab	115.7 ab	560.1	5.6	103.8	77.5	49404.8	84.5	3.1	0.6
PELEM ^{¶¶}		990.8 ab	127.5 ab	508.9	5.1	81.5	69.8	38809.5	71.4	2.4	0.5
IBEEM ^{¶¶}		935.5 ab	126.5 ab	582.5	5.8	97.5	79.3	46428.5	79.3	3.0	0.5
ARDAP ^{§§}		1251.0 a	163.6 a	822.8	8.3	105.5	85.3	50238.3	81.5	3.3	0.4

Means with different letters indicate significant differences (Tukey, $p \leq 0.05$), means without letters were not different (Tukey, $p > 0.05$), Treat: treatments, [¶]MUC: *Mucuna pruriens*, [§]PEL: *Vigna unguiculata*, [¶]IBE: *Phaseolus lunatus* (L), [¶]MUCEM: *M. pruriens* with added endomycorrhizae (EM) and beneficial nitrogen fixating bacteria (BFN), ^{¶¶}PELEM: *V. unguiculata* with added EM and BFN, ^{¶¶}IBEEM: *P. lunatus* (L) with added EM and BFN, ^{§§}ARDAP: control with incorporated weeds plus 200 kg ha⁻¹ diammonium phosphate. PF: fresh weight, MS: dry matter, BAF: final aerial biomass, BMT: total biomass, PPAU: plants per useful plot, MPAU: ears per useful plot, DFPH: final density of plants per hectare, RG: grain yield per plant, RGPH: grain yield per hectare, IC: harvest index.

coincide with those mentioned by Conceição dos Santos *et al.* (2019) in X'mejen Naal maize.

Grain yields were similar in both green manure and fertilization with ARDAP ($p > 0.05$), thus, they are efficient techniques to ensure nutrition for maize, that can replace the use of chemicals in Campeche and the Yucatan Peninsula. To develop eco-friendly alternatives that also solve the problem of maize nutrition in Campeche would help to achieve profitable and sustainable yields (Ramírez-Jaramillo *et al.*, 2018).

Medina-Méndez *et al.* (2018) and Villalobos-González *et al.* (2019) mentioned that fertilizer formulas rich in N and P (such as 92-92-00 and 110-46-00) optimize maize nutrition in Campeche with yields between 3.0 to 6.2 Mg ha⁻¹ of grain, although only 3% of farmers can afford this technology. When improved varieties and hybrids are used, Campeche state-wide yields range from 2.0 to 3.5 Mg ha⁻¹, which coincides with the results of this study with the X'mejen Naal native variety, which also has the advantage of being precocious (crop cycle is shorter than 75 d).

Regarding the nutritional management in native maize, Conceição dos Santos *et al.* (2019) chose the fertilization formula 120-80-00 and included X'mejen Naal maize, with which they obtained yields between 56.0 and 82.7 g p⁻¹. Those values were surpassed by the three green manures evaluated in this study. Yields of IBE and MUCEN are noticeable for their higher average values. Results proved the efficiency of green

manures, particularly in the case of *Vigna unguiculata* and *Phaseolus lunatus*, which are part of the *milpa* system at the local scale and are also preferred in the area, compared to *Mucuna pruriens* (Uuh-Narváez *et al.*, 2021).

The yields of fodder and grain produced and favoured by the green manures in X'mejen Naal maize are significant in terms of animal nutrition, as Cázares-Sánchez *et al.* (2015) stated this native variety also has high protein content. Therefore, fertilization with green manures may be an option for the agricultural and livestock production sectors in terms of fodder production. In addition to the reduction in the use of synthetic fertilizers, along with the environmental benefits of this agricultural practice. All of which favours the use of green manures in the ferric Luvisol soils of the state of Campeche, Mexico.

CONCLUSIONS

The agronomic characteristics measured coincided with the descriptors of X'mejen Naal maize and the green manures tested with and without the addition of symbiotic microorganisms. The green manures turned out similar to the treatment with wild plants plus the addition of 200 kg ha⁻¹ of diammonium phosphate in their effect on the variables of growth and yield.

Due to this, the green manures proved to be an alternative to fertilization when planting maize. Bean Ib (*Phaseolus lunatus*) produced higher yields than with conventional fertilization in dry matter and grain in maize and it got to be the best option, along with *Vigna unguiculata*. Both species are part of the ancient Mayan *milpa* culture.

ACKNOWLEDGEMENTS

To the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT – Mexico) for the scholarship granted to the main author. To the Tecnológico Nacional de México for funding the study through the Project num. 8724.20-P, “Efecto de abonos verdes sobre las características agronómicas del maíz nativo X'mejen Naal en Luvisoles férricos de Campeche, México” (The effect of green manure on the agronomic characteristics of native X'mejen Naal maize in ferric Luvisols in Campeche, Mexico). Last but not least, to the Sustainable Organic Agroecology and Agriculture Department of the Chiná Institute of Technology for all the assistance provided.

REFERENCES

- Alvarado-Teyssier R, Aceves-Ruiz E, Guerrero-Rodríguez JDD, Olvera-Hernández JI, Bustamante-González Á, Vargas-López S, Hernández-Salgado JH. 2018. Respuesta de variedades de maíz (*Zea mays* L.) a diferentes fuentes de fertilización en el Valle de Puebla. *Terra Latinoamericana* 36 (1): 49–59. <https://doi.org/10.28940/terra.v36i1.309>
- Batista de Sousa AMC, Brito-Da Silva V, Almeida-Lopes AC, Ferreira-Gomes RL, Branco-Carvalho LC. 2020. Prediction of grain yield, adaptability, and stability in landrace varieties of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.). *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 20 (1): 1–7. <https://doi.org/10.1590/1984-70332020v20n1a15>
- Bender RR, Haegele JW, Ruffo ML, Below FE. 2013. Nutrient Uptake, Partitioning, and Remobilization in Modern, Transgenic Insect-Protected Maize Hybrids. *Agronomy Journal* 105 (1): 161–170. <https://doi.org/10.2134/agronj2012.0352>
- Castellanos-Reyes MA, Valdés-Carmenate R, López-Gómez A, Guridi-Izquierdo F. 2017. Mediciones de índices de verdor relacionadas con área foliar y productividad de híbrido de maíz. *Cultivos Tropicales* 38 (3): 112–116. <https://doi.org/10.1234/ct.v38i3.1392>

- Castro RE, Sierra A, Mojica JE, Carulla JE, Lascano CE. 2017. Efecto de especies y manejo de abonos verdes de leguminosas en la producción y calidad de un cultivo forrajero utilizado en sistemas ganaderos del trópico seco. *Archivos de Zootecnia* 66 (253): 99–106. <https://doi.org/10.21071/az.v66i253.2131>
- Cázares-Sánchez E, Chávez-Servia JL, Salinas-Moreno Y, Castillo-González F, Ramírez-Vallejo P. 2015. Variación en la composición del grano entre poblaciones de maíz (*Zea mays* L.) nativas de Yucatán, México. *Agrociencia* 49 (1): 15–30.
- Conceição dos Santos LF, Garruña R, Andueza-Noh RH, Latournerie-Moreno L, Mijangos-Cortés JO, Pineda-Doperto A. 2019. Comportamiento agronómico y fisiológico de maíces nativos del sureste de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 10 (6): 1247–1258. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i6.908>
- Correndo AA, García FO. 2014. Bases de la nutrición del cultivo de maíz IPNI Cono Sur. In: *Maíz: Técnicas probadas para una producción rentable*. Asociación Argentina de Consorcios Regionales de Experimentación Agrícola (AACREA). International Plant Nutrition Institute (IPNI). Buenos Aires, Argentina. Capítulo 6 pp: 37–44.
- Franco-Martínez JRP, González-Huerta A, Pérez-López DDJ, González-Ronquillo M. 2015. Caracterización fenotípica de híbridos y variedades de maíz forrajero en Valles Altos del Estado de México, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 6 (8): 1915–1927. <https://doi.org/10.29312/remexca.v6i8.529>
- González-Martínez J, Vanoye-Eligio V, Chacón-Hernández JC, Rocandio-Rodríguez M. 2019. Diversidad y caracterización de maíces nativos de la Reserva de la Biósfera “El Cielo”, Tamaulipas, México. *CienciaUAT* 14 (1): 6–17. <https://doi.org/10.29059/cienciauat.v14i1.1246>
- González-Valdivia NA, Cauich-Cauich JR, Pérez-Molina SH, Burgos-Campos MA, Arcocha-Gómez E. 2019. Control de *Melanaphis sacchari* (Hemiptera: Aphididae) con entomopatógenos, *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae), en sorgo, Campeche, México. *Acta Agrícola y Pecuaria* 5: E0051005. <https://doi.org/10.30973/aap/2019.5.0051005>
- Jara-Claudio FR, Alejos-Patiño IW. 2016. Efecto de la densidad de siembra y abonamiento orgánico en el rendimiento de frejol castilla (*Vigna unguiculata* L.) en condiciones agroecológicas de Cayhuayna. *Investigación Valdizana* 10 (3): 123–128.
- Karyoti A, Bartzialis D, Sakellariou-Makrantonaki M, Danalatos N. 2018. Effects of irrigation and green manure on corn (*Zea mays* L.) biomass and grain yield. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 18 (3): 820–832. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162018005002401>
- Machado-Silva CG, De Resende ÁV, Martínez-Gutiérrez A, Guimarães-Moreira SG, Borghi E, Oliveira-Almeida G. 2018. Macronutrient uptake and export in transgenic corn under two levels of fertilization. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 53: 1363–1372. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2018001200009>
- Medina-Méndez AJ, Alejo-Santiago G, Soto-Rocha JM, Hernández-Pérez M. 2018. Rendimiento de maíz grano con y sin fertilización en el estado de Campeche. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 21: 4306–4316. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i21.1532>
- Palma-López DJ, Zavala-Cruz J, Bautista-Zúñiga F, Morales-Garduza MA, López-Castañeda A, Shirma-Torres ED, Sánchez-Hernández R, Peña-Peña AJ, Tinal-Ortiz S. 2017. Clasificación y cartografía de suelos del estado de Campeche, México. *AgroProductividad* 10 (12): 71–78.
- Ramírez-Jaramillo G, Lozano-Contreras MG, Ramírez-Silva JH. 2018. Zonificación productiva para maíz de temporal en la península de Yucatán. *Revista del Centro de Graduados e Investigación. Instituto Tecnológico de Mérida* 33 (75): 123–128.
- Ramírez-Mandujano CA, González-Cortés JC, Ávila-Bautista A, Hernández-Esquivel AA. 2016. Eficiencia de selección indirecta en maíz para ambiente futuro por cambio climático. *Revista Biológico Agropecuaria Tuxpan* 4 (1): 88–93. <https://doi.org/10.47808/revistabioagro.v4i1.23>
- Restrepo-Díaz H, Lifarreto-Moreno GA, Sánchez-Reinoso AD. 2017. Manejo de la nutrición en el cultivo del maíz. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agrarias. pp: 9–10. https://www.researchgate.net/profile/Alefsi-Sanchez-Reinoso/publication/338112846_Manejo_de_la_nutricion_en_el_cultivo_del_maiz/links/5dffbabc892851c836493b075/Manejo-de-la-nutricion-en-el-cultivo-del-maiz.pdf (Retrieved: June 2021).
- Rivero-Herrada M, Plaza-Zambrano PM, Gaibor-Fernández RR, Mozena-Leandro W, De Brito-Ferreira EP. 2016. Abonos verdes y su influencia en el crecimiento y rendimiento del frijol (*Phaseolus vulgaris* L), en condiciones agroecológicas. *Biotecnia* 18 (1): 59–64. <https://doi.org/10.18633/bt.v18i1.245>

- Rojas-Molina ML, Zúñiga-Orozco A, Peña-Cordero W, Montero-Jara K. 2019. Efecto de la incorporación de *Mucuna sp.* En el cultivo de maíz en un área urbana de Costa Rica. *Repertorio Científico* 21 (1): 28–34. <https://doi.org/10.22458/rc.v21i1.2389>
- RStudio Team. (2021). RStudio: Integrated Development Environment for R. RStudio, PBC, Boston, MA, USA. <http://www.rstudio.com/> (Retrieved: March 2021).
- Sanclemente-Reyes OE, Prager-MOsquera M, Beltrán-Acevedo LR. 2013. Aporte de Nitrógeno al suelo por *Mucuna pruriens* y su efecto sobre el rendimiento de maíz dulce (*Zea mays* L.). *Revista de Investigación Agraria y Ambiental* 4 (2): 149–155. <https://doi.org/10.22490/21456453.978>
- Sosa-Rodriguez BA, García-Vivas YS. 2018. Eficiencia de uso del nitrógeno en maíz fertilizado de forma orgánica y mineral. *Agronomía Mesoamericana* 29 (1): 207–219. <https://doi.org/10.15517/ma.v29i1.27127>
- Stewart ZP, Paparozzi ET, Wortmann CS, Jha PK, Shapiro CA. 2020. Foliar Micronutrient Application for High-Yield Maize. *Agronomy* 10 (12): 1946. <https://doi.org/10.3390/agronomy10121946>
- Uuh-Narváez, JJ, González-Tamayo MA, Segura-Campos MR. 2021. A study on nutritional and functional study properties of Mayan plant foods as a new proposal for type 2 diabetes prevention. *Food Chemistry* 341 (1): 128247. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128247>
- Velázquez-Cárdelas GA., González-Huerta A, Pérez-López DDJ, Castillo-González F. 2018. Comportamiento de mestizos de maíz en tres localidades del centro de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 9 (6): 1217–1230. <https://doi.org/10.29312/remexca.v9i6.1586>
- Villalobos-González A, López-Hernández MB, Valdivia-González NA, Arcocha-Gómez E, Medina-Méndez J. 2019. Variabilidad genética de características morfológicas de maíz nativo (*Zea mays* L.) en la Península de Yucatán, México. *AgroProductividad* 12 (11): 15–20. <https://doi.org/10.32854/agrop.vi0.1486>
- Zamudio-González B, Tadeo-Robledo M, Espinosa-Calderón A, Martínez-Rodríguez N, Turrent-Fernández A. 2016. Índice de cosecha con macro-nutrientes en grano de maíz. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 7 (5): 1077–1089. <https://doi.org/10.29312/remexca.v7i5.233>

EFFECTO DE TRES ABONOS VERDES EN LAS CARACTERÍSTICAS AGRONÓMICAS DEL MAÍZ NATIVO X'MEJEN NAAL EN CAMPECHE, MÉXICO

Gilberto Matos-Pech¹, Enrique Arcocha-Gómez¹, Mónica Beatriz López-Hernández^{1*}, Patricia Margarita Garma-Quen², Noel Antonio González-Valdivia¹, Elías de Jesús Echavarría-Góngora¹

¹ Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Chiná, Maestría en Ciencias en Agroecosistemas Sostenibles, Calle 11 s/n entre 22 y 28, Chiná, Campeche, México. C. P. 24520

² Universidad Autónoma de Campeche, Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, San Francisco de Campeche, Campeche, México. C. P. 24085.

* Autor para correspondencia: monica.lh@china.tecnm.mx

RESUMEN

En el manejo agronómico del maíz (*Zea mays* L.) se pueden sustituir los fertilizantes químicos por técnicas de abonado que disminuyan el efecto contaminante del excesivo uso de los primeros. La hipótesis fue que los abonos verdes de leguminosas con o sin la inoculación de microorganismos, son capaces de promover características agronómicas del maíz X'mején Naal, equiparables con la fertilización convencional. Con el objetivo de medir el efecto en las características agronómicas del maíz X'mején Naal, se diseñó un experimento en bloques completos al azar en un arreglo bifactorial con cuatro repeticiones, en el cual se probaron tres abonos verdes con o sin inoculación con Fosfonat (endomicorizas, EM, más bacterias benéficas fijadoras de nitrógeno, BFN). Los tratamientos fueron: Mucuna (*Mucuna pruriens*, T1=MUC), Xpelón (*Vigna unguiculata*, T2=PEL), Ibes (*Phaseolus lunatus*, T3=IBE), Mucuna inoculada (T4=MUCEM), Xpelón inoculado (T5=PELEM), Ibes inoculado (T6=IBEEM) y el testigo con biomasa incorporada de arvenses más la adición de 200 kg ha⁻¹ de Fosfato diamónico (T7=ARDAP). Los resultados evidenciaron que sólo hubo diferencias debidas al tipo de abono verde y a la interacción de estos con los simbiontes inoculados, en el peso o biomasa fresca y seca en maíz X'mején Naal. Destacaron IBE y ARDAP en peso fresco (1162 y 1251 g), materia seca (168.6 y 163.6 g), 7.3 Mg ha⁻¹ (Mega gramos por hectárea) en biomasa aérea seca del maíz, respectivamente. Aunque los rendimientos de grano de maíz fueron semejantes entre tratamientos fue notorio que los rendimientos promedios numéricamente más altos también se observaron en IBE y ARDAP con 3.5 y 3.3 Mg ha⁻¹ respectivamente. Todos los rendimientos (forraje y grano) alcanzaron a expresar el potencial del X'mején Naal, lo que resulta relevante para incentivar el uso de los abonos verdes como alternativa agroecológica a la fertilización convencional en suelos luvisoles de Campeche.

Palabras clave: *Zea mays* L., fertilización y abonado, agroecología, suelos tropicales, Península de Yucatán.

Citation: Matos-Pech G, Arcocha-Gómez E, López-Hernández MB, Garma-Quen PM, González-Valdivia NA, Echavarría-Góngora EDJ. 2022. Efecto de tres abonos verdes en las características agronómicas del maíz nativo X'mején Naal en Campeche, México. *Agrociencia*. 56(4): 752-773. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i4.2400>

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: June 23, 2021.
Approved: June 03, 2022.
Published in *Agrociencia*:
July 11, 2022.

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



INTRODUCCIÓN

En el estado de Campeche, el manejo de la nutrición en cultivos básicos como el maíz (*Zea mays* L.) se realiza de manera convencional con el uso de fertilizantes químicos que representan el 27 % de los costos de producción. Con frecuencia se utiliza fosfato diamónico (DAP) con dosis anuales entre los 50 a 150 kg ha⁻¹, para obtener rendimientos de 3.5 a 4.0 Mg ha⁻¹ de grano de mayo a julio (temporal) y de 0.4 a 0.6 Mg ha⁻¹ de julio a noviembre (otoño-invierno) (Medina-Méndez *et al.*, 2018). La fertilización química puede provocar daños al ambiente.

La producción agrícola contemporánea exige adoptar prácticas agronómicas sustentables y alternativas a la fertilización convencional. El uso de abonos verdes es una técnica que tiende a utilizarse más como fuente de nutrimentos en el suelo para los cultivos (Castro *et al.*, 2017). En cultivos como el maíz, la incorporación de abonos verdes ha mostrado una relación directa con los rendimientos de grano, biomasa y contenido nutricional (Sosa-Rodrigues y García-Vivas., 2018).

Los costos altos de los fertilizantes sintéticos y de semillas mejoradas disminuyen la rentabilidad del cultivo de maíz para los productores (Alvarado-Teyssier *et al.*, 2018). Por lo tanto, es importante hallar fuentes alternas y competitivas para la fertilización de este cultivo básico en la alimentación de la población en México. Ante esta situación, como el maíz demanda nitrógeno durante su ciclo de vida, los abonos verdes pueden ser una opción factible (Karyoti *et al.*, 2018). En el estado de Campeche, existen pocos estudios relacionados con la problemática de los fertilizantes, la contaminación del subsuelo y la producción de maíz, y menos se conocen del uso de abonos verdes en la región.

La hipótesis fue que los abonos verdes de leguminosas inoculadas o no, son capaces de promover características agronómicas en el maíz nativo (X'mejen Naal), equiparables con la fertilización convencional. El objetivo de la investigación fue estudiar el comportamiento agronómico (crecimiento, desarrollo y rendimiento) del maíz X'mejen Naal, en respuesta a la aplicación de tres leguminosas como abonos verdes, tanto inoculadas como no inoculadas con una mezcla de endomicorrizas y bacterias benéficas fijadoras de nitrógeno, con la biomasa incorporada de arvenses más la adición de 200 kg ha⁻¹ de fosfato diamónico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del área de estudio

El experimento se estableció durante el ciclo agrícola comprendido de julio a diciembre de 2020, en la unidad de producción Rancho Xamantún, del Instituto Tecnológico de Chiná, ubicado en la localidad homónima, en el estado de Campeche (19° 42' N y 90° 25' O y 44 msnm) (González-Valdivia *et al.*, 2019). El clima de la zona es cálido subhúmedo, con precipitación de 900 a 1200 mm y temperatura media anual de 25.5 a 26.4°C. La mayor proporción de precipitación se presenta de junio a octubre, con un periodo seco o canícula entre los meses de julio, agosto y principios de septiembre. El suelo es de tipo luvisol férrico, con buena productividad, profundidad moderada

y origen calcáreo, saturados de bases, con alto contenido de arcillas expandibles de los grupos de las esmética y vermiculita de tonalidades rojizas con alta actividad de intercambio iónico (Palma-López *et al.*, 2017).

Diseño experimental

El diseño utilizado fue bloques completos al azar en arreglo factorial 3×2 más el control (fertilización con 200 kg ha⁻¹ de Fosfato diamónico) con cuatro repeticiones. Los niveles del factor A: tres especies de abonos verdes (*Mucuna pruriens* L., *Vigna unguiculata* L., y *Phaseolus lunatus* L.), y como niveles del factor B: la inoculación o no de las leguminosas con Endomicorrizas (EM) y Bacterias benéficas fijadoras de nitrógeno (BFN). Se evaluaron siete tratamientos en total (Cuadro 1), la unidad experimental consistió en lotes de 4 × 8 m, con 24 unidades experimentales en total, con ambos factores de estudio (A y B) dentro de los bloques. Para el tratamiento testigo, se consideró la fertilización química con Fosfato diamónico, usado en la región más el aprovechamiento de las arvenses, (o malezas, plantas silvestres que compiten con el cultivo principal por luz y nutrientes) como abonos verdes naturales, motivo por cual estas no recibieron inóculo.

Siembra e incorporación de abonos verdes

Las semillas de leguminosas Xpelón (*Vigna unguiculata* L.), Ibes (*Phaseolus lunatus* L.), y Mucuna (*Mucuna pruriens* L.) se obtuvieron de productores de la región, y se seleccionaron las que reunían las mejores características físicas y sanitarias. Las semillas se dividieron en dos lotes, uno para ser inoculado y otro no, con una mezcla de endomicorrizas (EM) y bacterias benéficas fijadoras de nitrógeno (BFN). Los microorganismos simbióticos se adicionaron por medio del consorcio comercial Fosfonat, con las recomendaciones de la empresa Tecnologías Naturales Internacional, S.A de C.V. La siembra de los abonos verdes (AV) se realizó el 15 de abril de 2020. Se consideró una distancia de 0.20 m entre plantas y 0.80 m entre hileras para obtener una densidad de

Cuadro 1. Tratamientos con abonos verdes (*Mucuna pruriens* L., *Vigna unguiculata* L., y *Phaseolus lunatus* L.) con y sin inoculación con microorganismos simbióticos, en cultivo de maíz X'mején Naal en Chiná, Campeche, México (julio - diciembre 2020).

Tratamiento	Descripción
MUC	Mucuna (<i>Mucuna pruriens</i>) sin inoculación
PEL	Xpelón (<i>Vigna unguiculata</i>) sin inoculación
IBE	Ibes (<i>Phaseolus lunatus</i>) sin inoculación
MUCEM	Mucuna inoculada Endomicorrizas (EM) y Bacterias benéficas fijadoras de nitrógeno (BFN)
PELEM	Xpelón inoculado con EM y BFN
IBEEM	Ibes inoculado con EM y BFN
ARDAP	Testigo: fertilización con 200 kg ha ⁻¹ de Fosfato diamónico, aplicado de forma manual cuando las plantas de maíz alcanzaron los 25 cm de altura.

62 500 plantas ha^{-1} , para *Vigna unguiculata* y *Phaseolus lunatus* (Jara-Claudio y Alejos-Patiño 2016; Batista de Sousa *et al.*, 2020). *Mucuna* se sembró con una distancia de 0.50 m entre plantas y 0.80 m entre surcos para para lograr una densidad de 25,000 plantas ha^{-1} (Sanclemente-Reyes *et al.*, 2013; Rojas-Molina *et al.*, 2019). Durante el desarrollo de los AV se brindó el manejo agronómico con respecto al control de plagas, enfermedades y manejo de arvenses (malezas).

Después de 60 días de la siembra los abonos verdes se cortaron lo cual coincidió con la etapa de mayor desarrollo vegetativo e inicio de floración, cada material cortado se intemperizó durante 19 días, y se dejó sobre la superficie de la parcela experimental para favorecer su descomposición de la biomasa vegetal. Después se incorporaron de modo uniforme al suelo con un pase de arado de discos, y se tuvo cuidado de no mezclar los abonos de cada unidad experimental (Rivero-Herrada *et al.*, 2016). Antes de la incorporación se tomaron muestras de tejido vegetal de los abonos verdes, de los surcos centrales de cada unidad experimental, estas se enviaron al laboratorio de la empresa AGQ Labs, para conocer la cantidad de nutrimentos contenidos en la biomasa total, antes de su incorporación al suelo.

Siembra del maíz

El maíz X'mejen Naal de ciclo intermedio se sembró manualmente el 26 de julio de 2020, con un marco de siembra de 0.80 m entre surcos y de 0.20 m entre plantas, para una densidad de 60 000 plantas ha^{-1} . La fertilización del testigo se realizó a los 15 dds, y el manejo agronómico siguió la recomendación de (Villalobos-González *et al.*, 2019). En todo el experimento se irrigó complementariamente mediante un sistema de riego por aspersión.

Variables de estudio

Variables de crecimiento

Altura de planta (ALTP, m); valor obtenido al finalizar la floración femenina; medido desde la base del tallo en el suelo, hasta donde empieza la ramificación de la espiga. Diámetro de tallo (DT, cm), altura de la mazorca (AM, cm), largo de hoja de la mazorca (LHDM), ancho de hoja de la mazorca (AHDM), total de hojas (TH) (Ramírez-Mandujano *et al.*, 2016). Índice de área foliar por planta (IAF); se estimó por el promedio del producto de largo por ancho de cada hoja en cinco plantas, afectadas por el factor 0.75 (área de las hojas de la planta, en m^2) entre el área del suelo que esta ocupaba (Castellanos-Reyes *et al.*, 2017).

Variables fenológicas

Días a floración masculina (DFMAS); se consideró el momento de muestreo cuando el 50 % de las espiguillas presentes en la espiga de la planta, presentaban anteras en dehiscencia y expuestas fuera de las glumas. Días a floración femenina (DFFE); se determinó cuando las plantas presentaron el jilote o inflorescencia femenina con los estigmas expuestos. Asincronía floral (ASF); se consideró como la diferencia entre DFFE y DFMAS (Ramírez-Mandujano *et al.*, 2016).

Características de grano y mazorca en X'mejen Naal

Longitud del grano (LG, cm); ancho de grano (AG, cm), grosor de grano (GG, cm), peso de 1000 granos (P1000G), número de granos por hilera (NGH), número de granos normales por mazorca (NGNM); valor obtenido con el conteo del número de granos normales o completamente formados, después de desgranar una muestra compuesta de 10 mazorcas. Número de granos abortados por mazorca (NGAM); se obtuvo al contar el número de granos que no alcanzaron su desarrollo completo en la mazorca. Longitud de la mazorca (LM, cm), diámetro de la mazorca (DM, cm), número de hileras por mazorca (NHM). Diámetro del olote o bakal (DOL, cm), peso del olote (POL, g), y peso de la mazorca (PM, g.) (González-Martínez *et al.*, 2019; Villalobos-González *et al.*, 2019).

Variables de rendimiento de forraje y grano

Peso fresco de la parte aérea de la planta (PF, g) se registró el peso *in situ* de cinco plantas de los surcos centrales de cada unidad experimental. Biomasa aérea final (BAF, g m⁻²); se determinó después de la madurez fisiológica al cosechar las plantas presentes en un área de 1 m² de cuatro surcos centrales, se obtuvo el peso seco total de la parte aérea [hojas (lámina + vaina) tallo, mazorca, brácteas, olote o raquis y espiga], dividido entre el área cosechada. Biomasa total (BMT, Mg ha⁻¹), se estimó al obtener la materia seca por planta y multiplicar este valor por la densidad de plantas por hectárea (Franco-Martínez *et al.*, 2015). Rendimiento de grano por planta (RG); valor obtenido después de desgranar las mazorcas de cada planta y pesarlo, para determinar el peso del grano por planta. Rendimiento de grano por hectárea (RGPH, Mg ha⁻¹), se estimó con un ajuste de humedad comercial al 14 % del peso total del grano de 10 mazorcas, obtenidas de los surcos centrales de la unidad experimental. Índice de cosecha (IC); calculado como el cociente entre el rendimiento del grano y la biomasa aérea final [(IC = RG / BM) * 100] (Zamudio-González *et al.*, 2016).

Análisis estadístico

Un análisis de varianza se realizó para las variables estudiadas para un diseño de bloques completos al azar en arreglo factorial 3×2. Antes se realizaron pruebas de normalidad (prueba de Shapiro–Wilk, método gráfico QQ Plot) y homocedasticidad de los datos (ncvTest: prueba de puntuación para varianza de error no constante). La comparación de medias se realizó con la prueba de medias de Tukey (p≤0.05). Para el análisis de datos se utilizó el programa estadístico R versión 4.0.5 (R Studio Team, 2021).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido de nutrimentos en los abonos verdes antes de la incorporación

Los resultados de los análisis del contenido de nutrimentos en la biomasa aérea de los abonos verdes ubicaron el contenido mayor de nitrógeno en el tejido PELEM, seguido por MUC y MUCEM. El aporte sobresaliente de P, K, Ca y S del abono verde de PELEM debe resaltarse, en especial de los contenidos de azufre (Cuadro 2). Elemento que

Cuadro 2. Aporte de nutrimentos por abonos verdes (*Mucuna pruriens*, *Vigna unguiculata* y *Phaseolus lunatus*) con y sin inoculación con microorganismos simbióticos, en cultivo de maíz X'mején Naal en Chiná, Campeche, México (julio - diciembre 2020).

Trat.	MS ⁺ (Mg ha ⁻¹)	Macronutrimentos (kg ha ⁻¹)						Micronutrimentos (kg ha ⁻¹)					
		N	P	K	Ca	Mg	S	Mo	Fe	Mn	Cu	Zn	B
MUC [¶]	3.73	83.77	11.23	83.8	73.47	11.7	6.6	0.01	2.13	0.5	0.08	0.12	0.11
PEL [§]	5.31	65.21	11.07	93.5	66.77	16.17	8.07	0.01	1.57	0.8	0.04	0.13	0.14
IBE [¶]	2.46	47.69	7.03	55.63	44.7	5.33	4.37	0.00	1.07	0.18	0.02	0.06	0.06
MUCEM [¶]	3.76	89.29	8.57	64.67	64.83	10.77	6.83	0.01	1.1	0.61	0.07	0.11	0.11
PELEM ^{††}	6.25	104.22	15.73	127.33	67.87	20.1	11.77	0.01	0.88	0.71	0.05	0.18	0.18
IBEEM ^{¶¶}	2.72	52.35	7.9	66.47	40.77	5.7	5.03	0.00	0.71	0.23	0.02	0.09	0.06
ARV ^{§§}	1.33	20.84	2.5	26.37	12.2	2.67	2.73	0.00	0.48	0.06	0.01	0.03	0.02

Trat= tratamiento, ⁺MS= Materia seca, [¶]MUC=*Mucuna pruriens*, [§]PEL= *Vigna unguiculata*, [¶]IBE= *Phaseolus lunatus* (L), [¶]MUCEM= *M. pruriens* adicionada con EM y BFN, ^{††}PELEM= *V. unguiculata* adicionada con EM y BFN, ^{¶¶}IBEEM= *P. lunatus* (L) adicionado con EM y BFN, ^{§§}ARV= Testigo con arvenses.

por su acidez favorece la asimilación de otros macronutrimentos en suelos con contenidos altos de Ca (Bender *et al.*, 2013; Correndo y García, 2014). En la Península de Yucatán, el Ca se vuelve antagónico de elementos como el fósforo; por ello se favorece el uso de esta especie como abono verde en esta región.

El aporte de nutrimentos por todos los tratamientos con abonos verdes fue suficiente para satisfacer los requerimientos en macro y microelementos del maíz (Cuadro 2), al considerar que en el cultivo del maíz los nutrimentos que se consideran en las fórmulas de fertilización son el N, P y K (Conceição dos Santos *et al.*, 2019). Importante es considerar que los requerimientos nutricionales de *Zea mays* L. en kg ha⁻¹ de macronutrimentos se encuentran entre 56-120 (N), 36-50 (P), 10-127 (K), 0-24 (Ca), 0-25 (Mg) y 5-21 (S), para alcanzar rendimientos de 3 a 6 Mg ha⁻¹ en producción de grano (Machado-Silva *et al.*, 2018; Restrepo-Díaz *et al.*, 2017). En el caso de los micronutrimentos para rendimientos estimados de 3 a 6 Mg ha⁻¹ de grano, los requerimientos nutricionales se encuentran entre 0.00-0.01 (Mo), 0.32-0.64 (Fe), 0.48-0.97 (Mn), 0.03-0.07 (Cu), 0.14-0.27 (Zn) y 0.05-0.10 (B) (Bender *et al.*, 2013; Correndo y García, 2014). Esta demanda nutricional está comprendida dentro del aporte de nutrimentos logrado por los abonos verdes estudiados.

Los altos aportes de Ca en la biomasa vegetal de los abonos verdes no rebasaron los requerimientos máximos cercanos a los de 57 kg ha⁻¹ para el maíz de alto rendimiento (Machado-Silva *et al.*, 2018). El suministro de microelementos Fe, Cu y B, quedó dentro del ámbito de necesidades nutrimentales para el maíz de alta productividad (9 a 12 Mg ha⁻¹), que van de 1.12-1.28, 0.12-0.13 y 0.18-0.21 respectivamente (Correndo y García, 2014; Restrepo-Díaz *et al.*, 2017).

En el caso particular del Fe, Stewart *et al.* (2020) mencionaron que este micronutriente no representa problemas de exceso para el *Zea mays* L., incluso se presenta deficiencia de este elemento en suelos calcáreos. Por la solubilidad baja, generada por valores altos de pH en este tipo de suelos. Esta deficiencia pudo corregirse, con el aporte de

Fe que proporcionaron los abonos verdes, los cuales en todos los casos superaron al máximo de requerimientos de este elemento para el maíz. En general, ningún signo de carencia o fitotoxicidad por elementos se detectó en campo, durante el estudio.

Variables de crecimiento

No hubo diferencia en los abonos verdes utilizados o respecto al manejo de la inoculación, ni en la interacción entre estos dos factores ($p>0.05$). Los promedios de crecimiento estuvieron comprendidos para las distintas variables como se describe a continuación: ALTP (2.1 y 2.3 m), DT (2.4-2.7 cm), AM (1.3-1.4 m), LHDM (82.3-95.8 cm), AHDM (9.5-10.3 cm), TH (12.5-14.0) e IAF (3.5-4.2). Estos valores coinciden con lo reportado por Cázares-Sánchez *et al.* (2015) y Villalobos-González *et al.* (2019) en las variedades de X'mejen Naal.

La altura de planta y el diámetro de tallo en X'mejen Naal se encuentran dentro de los ámbitos frecuentes en variedades resistentes al acame causado por la lluvia y vientos (Velázquez-Cárdelas *et al.*, 2018). La semejanza entre los promedios de las variables de crecimiento ($p>0.05$), demuestran que los abonos verdes estudiados, pueden utilizarse como alternativa a la fertilización química del maíz, recomendada para productores en Campeche por Medina-Méndez *et al.* (2018).

Variables fenológicas

Estas no registraron diferencias en los tratamientos, para los factores estudiados ni en interacción de los mismos ($p>0.05$), con promedios de 52 a 54 para DFMAS, de 54 a 56 para DFFE y de 2 a 4 días para la asincronía floral. El manejo de la fertilización no interfirió con la expresión de las características fenológicas, mismas que están definidas por la genética de X'mejen Naal (Villalobos-González *et al.*, 2019) y que se expresan de manera estable en ausencia de estrés abiótico. Los abonos verdes utilizados en el estudio resultan equiparables al efecto de ARDAP y produjeron plantas sin evidencia de alteración fisiológica por estar bien nutridas; como también observó Alvarado-Teyssier *et al.* (2018).

Variables de rendimiento

Los abonos verdes y la interacción con la inoculación únicamente mostraron diferencias en el rendimiento de forraje ($p\leq 0.05$). Los valores alcanzados con IBE y los demás abonos verdes para las variables PF, MS, BAF y BMT (Cuadro 3), estuvieron cercanos a los conseguidos con ARDAP (1251.00 g p^{-1} , 163.6 g, 822.8 g m^2 , 8.3 Mg ha^{-1}) y por tanto las leguminosas son tan eficientes como los fertilizantes químicos. Además, su aporte de nutrimentos esenciales destaca para la formación de biomasa vegetal; en particular P que participa en el desarrollo de raíces y por tanto en la mejora de la capacidad de absorción de los demás nutrimentos, en maíz cultivado en suelos calcáreos.

Todos los tratamientos obtuvieron valores semejantes entre sí respecto al número de granos normales por mazorca (NGNM), excepto MUC (338.6 NGNM, $p\leq 0.05$) con valores comprendidos entre 359.7 a 405.2 NGNM. *Vigna unguiculata* y *Phaseolus lunatus*, evidenciaron su potencial como abonos verdes frente a *Mucuna pruriens*, pues aún sin

Cuadro 3. Rendimiento del maíz X'mejen Naal con influencia de abonos verdes (*Mucuna pruriens*, *Vigna unguiculata* y *Phaseolus lunatus*) con y sin inoculación con microorganismos simbióticos en Chiná, Campeche, México (julio a diciembre 2020).

Tratamiento	Factor	PF (g)	MS (g)	BAF (g m ⁻²)	BMT (Mg ha ⁻¹)	PPAU	MPAU	DFPH	RG (g)	RGPH (Mg ha ⁻¹)	IC
MUC [¶]	A	779.0 b	97.4 b	536.5 b	5.4 b	109.0	79.5	51904.8	77.3	2.9	0.6
PEL [§]		942.0 b	119.1 ab	534.9 b	5.4 b	89.8	76.4	42738.0	72.5	2.7	0.5
IBE [¶]		1162.0 ab	168.6 a	653.8 ab	6.5 ab	95.3	83.3	45357.0	81.4	3.2	0.5
ARDAP ^{§§}		1251.0 a	163.6 a	822.8 a	8.3 a	105.5	85.3	50238.3	81.5	3.3	0.4
MUC [¶]	AB	779.0 b	97.4 b	513.0	5.1	114.3	81.5	54404.8	70.0	2.7	0.6
PEL [§]		942.0 ab	119.1 ab	561.0	5.6	98.0	83.0	46666.5	73.5	3.0	0.6
IBE [¶]		1162.0 a	168.6 a	725.1	7.3	93.0	87.3	44285.5	83.5	3.5	0.5
MUCEM [¶]		937.0 ab	115.7 ab	560.1	5.6	103.8	77.5	49404.8	84.5	3.1	0.6
PELEM ^{¶¶}		990.8 ab	127.5 ab	508.9	5.1	81.5	69.8	38809.5	71.4	2.4	0.5
IBEEM ^{¶¶}		935.5 ab	126.5 ab	582.5	5.8	97.5	79.3	46428.5	79.3	3.0	0.5
ARDAP ^{§§}		1251.0 a	163.6 a	822.8	8.3	105.5	85.3	50238.3	81.5	3.3	0.4

Medias con letras diferentes presentaron diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$), medias sin letra no difieren entre sí (Tukey, $p > 0.05$), Trat= Tratamientos, [¶]MUC=*Mucuna pruriens*, [§]PEL= *Vigna unguiculata*, [¶]IBE= *Phaseolus lunatus* (L), [¶]MUCEM= *M. pruriens* adicionada con Endomicorizas (EM) y Bacterias benéficas fijadoras de nitrógeno (BFN), ^{¶¶}PELEM= *V. unguiculata* adicionada con EM y BFN, ^{¶¶}IBEEM= *P. lunatus* (L) adicionado con EM y BFN, ^{§§}ARDAP= Testigo con incorporación de arvenses más 200 kg ha⁻¹ fosfato diamónico. PF= peso fresco, MS = materia seca, BAF= Biomasa área final, BMT=biomasa total, PPAU= plantas por parcela útil, MPAU= mazorcas por parcela útil, (DFPH) = densidad de final de plantas por hectárea, RG= rendimiento de grano por planta, RGPH= rendimiento de grano por hectárea, IC= índice de cosecha.

inoculación se equipararon para esta variable al ARDAP y del mismo modo ambas especies presentaron los promedios menores en números granos abortados por mazorca (6.4 y 6.2 NGAM) respectivamente. Mismos que fueron bajos en comparación con los 17 a 36 NGAM reportados por Villalobos-González *et al.*, (2019), en X'mejen Naal bajo fertilización química.

Los tratamientos no afectaron los promedios de las distintas variables del grano y la mazorca; tampoco hubo efecto de abonos verdes más inoculación con simbioses ($p > 0.05$). Las amplitudes registradas fueron las siguientes: LG (0.9-1.1 cm), AG (0.8-0.9 cm), GG (0.4-0.4 cm), P1000G (268.5-321.3 g), NGH (26.2-30.5), LM (13.8-14.9 cm), DM (4.0-4.3 cm), NHM (12.3-13.5), DOL (2.4-3.0 cm), POL (18.7-21.8 g), y PM (101.9-120.2 g). Estos coinciden con los mencionados por Conceição dos Santos *et al.* (2019) en el maíz X'mejen Naal.

Los rendimientos de grano fueron semejantes entre los abonos verdes y la fertilización con ARDAP ($p > 0.05$), por tanto, constituyen técnicas eficientes para garantizar la nutrición del maíz que pueden sustituir el uso de químicos en el cultivo en Campeche y en la Península de Yucatán. Contar con alternativas ambientalmente amigables y que además solucionen el problema de la nutrición del maíz en Campeche, permitirá lograr rendimientos rentables y sustentables (Ramírez-Jaramillo *et al.*, 2018).

Medina-Méndez *et al.* (2018) y Villalobos-González *et al.* (2019) mencionaron que las fórmulas de fertilizantes ricas en N y P (como 92-92-00 y 110-46-00) optimizan la

nutrición del maíz en Campeche con rendimientos entre 3.0 a 6.2 Mg ha⁻¹ de grano, pero solo el 3 % de los productores puede financiar esta tecnología. Los rendimientos estatales cuando se utilizan variedades mejoradas e híbridos están entre 2.0 a 3.5 Mg ha⁻¹, lo cual coincide con los resultados del estudio con la variedad nativa X'mejen Naal que además tiene la ventaja de ser precoz (ciclo menor a 75 días).

Respecto al manejo nutrimental en maíces nativos, Conceição dos Santos *et al.* (2019) eligieron la fórmula de fertilización 120-80-00, e incluyeron al maíz X'mejen Naal con el cual obtuvieron rendimientos de 56.0 a 82.7 g p⁻¹, valores que fueron superados por los tres abonos verdes evaluados en este estudio. Los rendimientos de IBE y MUCEN, destacan numéricamente por su promedio más alto. Los resultados, demuestran la eficiencia de los abonos verdes, sobre todo el caso de *Vigna unguiculata* y *Phaseolus lunatus*, especies que a escala local forman parte del sistema milpa y que además se prefieren en la región, comparadas con *Mucuna pruriens* (Uuh-Narváez *et al.*, 2021).

Los rendimientos de forraje y grano producidos por los abonos verdes en el maíz X'mejen Naal son significativos en términos de la nutrición animal, pues como señaló Cázares-Sánchez *et al.* (2015) esta variedad nativa presenta además un contenido de proteína alto. De tal modo que la fertilización con abonos verdes puede representar una opción para el sector agrícola y ganadero en términos de la producción de forraje. Además de promover una disminución en el uso de fertilizantes sintéticos, sumado al beneficio ambiental de este manejo agrícola. Todo lo anterior favorece el uso de abonos verdes en los luvisoles férricos del estado de Campeche.

CONCLUSIONES

Las características agronómicas medidas coincidieron con los descriptores del maíz X'mejen Naal y los abonos verdes probados con y sin adición de microorganismos simbióticos. Los abonos verdes resultaron semejantes al tratamiento con arvenses más la adición de 200 kg ha⁻¹ de Fosfato diamónico en su efecto sobre las variables de crecimiento y rendimiento.

Por esa razón, los abonos verdes probaron ser una alternativa de fertilización en el cultivo de maíz. El frijol Ib (*Phaseolus lunatus*) produjo rendimientos superiores a la fertilización convencional en materia seca y grano en el maíz y destacó como la mejor opción, junto con *Vigna unguiculata*. Ambas especies forman parte del cultivo de la milpa maya ancestral.

AGRADECIMIENTOS

Al CONACYT, por la beca otorgada al primer autor. Al Tecnológico Nacional de México, por financiar el estudio a través del proyecto (8724.20-P) "Efecto de abonos verdes sobre las características agronómicas del maíz nativo X'mejen Naal en Luvisoles férricos de Campeche, México". Al Laboratorio de Agroecología y Agricultura Orgánica Sustentable del Instituto Tecnológico de Chiná por las facilidades otorgadas.

REFERENCIAS

- Alvarado-Teyssier R, Aceves-Ruiz E, Guerrero-Rodríguez JDD, Olvera-Hernández JI, Bustamante-González Á, Vargas-López S, Hernández-Salgado JH. 2018. Respuesta de variedades de maíz (*Zea mays* L.) a diferentes fuentes de fertilización en el Valle de Puebla. *Terra Latinoamericana* 36 (1): 49–59. <https://doi.org/10.28940/terra.v36i1.309>
- Batista de Sousa AMC, Brito-Da Silva V, Almeida-Lopes AC, Ferreira-Gomes RL, Branco-Carvalho LC. 2020. Prediction of grain yield, adaptability, and stability in landrace varieties of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.). *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 20 (1): 1–7. <https://doi.org/10.1590/1984-70332020v20n1a15>
- Bender RR, Haegle JW, Ruffo ML, Below FE. 2013. Nutrient Uptake, Partitioning, and Remobilization in Modern, Transgenic Insect-Protected Maize Hybrids. *Agronomy Journal* 105 (1): 161–170. <https://doi.org/10.2134/agronj2012.0352>
- Castellanos-Reyes MA, Valdés-Carmenate R, López-Gómez A, Guridi-Izquierdo F. 2017. Mediciones de índices de verdor relacionadas con área foliar y productividad de híbrido de maíz. *Cultivos Tropicales* 38 (3): 112–116. <https://doi.org/10.1234/ct.v38i3.1392>
- Castro RE, Sierra A, Mojica JE, Carulla JE, Lascano CE. 2017. Efecto de especies y manejo de abonos verdes de leguminosas en la producción y calidad de un cultivo forrajero utilizado en sistemas ganaderos del trópico seco. *Archivos de Zootecnia* 66 (253): 99–106. <https://doi.org/10.21071/az.v66i253.2131>
- Cázares-Sánchez E, Chávez-Servia JL, Salinas-Moreno Y, Castillo-González F, Ramírez-Vallejo P. 2015. Variación en la composición del grano entre poblaciones de maíz (*Zea mays* L.) nativas de Yucatán, México. *Agrociencia* 49 (1): 15–30.
- Conceição dos Santos LF, Garruña R, Andueza-Noh RH, Latournerie-Moreno L, Mijangos-Cortés JO, Pineda-Doporto A. 2019. Comportamiento agronómico y fisiológico de maíces nativos del sureste de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 10 (6): 1247–1258. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i6.908>
- Correndo AA, García FO. 2014. Bases de la nutrición del cultivo de maíz. IPNI Cono Sur. 6. En: Maíz: Técnicas probadas para una producción rentable. Primera Edición. AACREA. International Plant Nutrition Institute pp: 37–44.
- Franco-Martínez JRP, González-Huerta A, Pérez-López DDJ, González-Ronquillo M. 2015. Caracterización fenotípica de híbridos y variedades de maíz forrajero en Valles Altos del Estado de México, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 6 (8): 1915–1927. <https://doi.org/10.29312/remexca.v6i8.529>
- González-Martínez J, Vanoye-Eligio V, Chacón-Hernández JC, Rocandio-Rodríguez M. 2019. Diversidad y caracterización de maíces nativos de la Reserva de la Biósfera “El Cielo”, Tamaulipas, México. *CienciaUAT* 14 (1): 6–17. <https://doi.org/10.29059/cienciauat.v14i1.1246>
- González-Valdivia NA, Cauich-Cauich JR, Pérez-Molina SH, Burgos-Campos MA, Arcocha-Gómez E. 2019. Control de *Melanaphis sacchari* (Hemiptera: Aphididae) con entomopatógenos, *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae), en sorgo, Campeche, México. *Acta Agrícola y Pecuaria* 5: E0051005. <https://doi.org/10.30973/aap/2019.5.0051005>
- Jara-Claudio FR, Alejos-Patiño IW. 2016. Efecto de la densidad de siembra y abonamiento orgánico en el rendimiento de frejol castilla (*Vigna unguiculata* L.) en condiciones agroecológicas de Cayhuayna. *Investigación Valdizana* 10 (3): 123–128.
- Karyoti A, Bartzialis D, Sakellariou-Makrantonaki M, Danalatos N. 2018. Effects of irrigation and green manure on corn (*Zea mays* L.) biomass and grain yield. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 18 (3): 820–832. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162018005002401>
- Machado-Silva CG, De Resende ÁV, Martínez-Gutiérrez A, Guimarães-Moreira SG, Borghi E, Oliveira-Almeida G. 2018. Macronutrient uptake and export in transgenic corn under two levels of fertilization. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 53: 1363–1372. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2018001200009>
- Medina-Méndez AJ, Alejo-Santiago G, Soto-Rocha JM, Hernández-Pérez M. 2018. Rendimiento de maíz grano con y sin fertilización en el estado de Campeche. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 21: 4306–4316. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i21.1532>
- Palma-López DJ, Zavala-Cruz J, Bautista-Zúñiga F, Morales-Garduza MA, López-Castañeda A, Shirma-Torres ED, Sánchez-Hernández R, Peña-Peña AJ, Tinal-Ortiz S. 2017. Clasificación y cartografía de suelos del estado de Campeche, México. *AgroProductividad* 10 (12): 71–78.
- Ramírez-Jaramillo G, Lozano-Contreras MG, Ramírez-Silva JH. 2018. Zonificación productiva para maíz de temporal en la península de Yucatán. *Revista del Centro de Graduados e Investigación. Instituto Tecnológico de Mérida* 33 (75): 123–128.

- Ramírez-Mandujano CA, González-Cortés JC, Ávila-Bautista A, Hernández-Esquivel AA. 2016. Eficiencia de selección indirecta en maíz para ambiente futuro por cambio climático. *Revista Biológico Agropecuaria Tuxpan* 4 (1): 88–93. <https://doi.org/10.47808/revistabioagro.v4i1.23>
- Restrepo-Díaz H, Lifarreto-Moreno GA, Sánchez-Reinoso AD. 2017. Manejo de la nutrición en el cultivo del maíz (Primera Edición). Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agrarias. pp: 9-10. https://www.researchgate.net/profile/Alefsi-Sanchez-Reinoso/publication/338112846_Manejo_de_la_nutricion_en_el_cultivo_del_maiz/links/5dffbabc892851c836493b075/Manejo-de-la-nutricion-en-el-cultivo-del-maiz.pdf (Retrieved: June 2021).
- Rivero-Herrada M, Plaza-Zambrano PM, Gaibor-Fernández RR, Mozena-Leandro W, De Brito-Ferreira EP. 2016. Abonos verdes y su influencia en el crecimiento y rendimiento del frijol (*Phaseolus vulgaris* L), en condiciones agroecológicas. *Biotechnia* 18 (1): 59–64. <https://doi.org/10.18633/bt.v18i1.245>
- Rojas-Molina ML, Zúñiga-Orozco A, Peña-Cordero W, Montero-Jara K. 2019. Efecto de la incorporación de *Mucuna* sp. En el cultivo de maíz en un área urbana de Costa Rica. *Repertorio Científico* 21 (1): 28–34. <https://doi.org/10.22458/rc.v21i1.2389>
- RStudio Team. (2021). RStudio: Integrated Development Environment for R. RStudio, PBC, Boston, Ma. <http://www.rstudio.com/>. (Retrieved: March 2021).
- Sanclemente-Reyes OE, Prager-MOsquera M, Beltrán-Acevedo LR. 2013. Aporte de Nitrógeno al suelo por *Mucuna pruriens* y su efecto sobre el rendimiento de maíz dulce (*Zea mays* L.). *Revista de Investigación Agraria y Ambiental* 4 (2): 149–155. <https://doi.org/10.22490/21456453.978>
- Sosa-Rodriguez BA, García-Vivas YS. 2018. Eficiencia de uso del nitrógeno en maíz fertilizado de forma orgánica y mineral. *Agronomía Mesoamericana* 29 (1): 207–219. <https://doi.org/10.15517/ma.v29i1.27127>
- Stewart ZP, Paparozzi ET, Wortmann CS, Jha PK, Shapiro CA. 2020. Foliar Micronutrient Application for High-Yield Maize. *Agronomy* 10 (12): 1946. <https://doi.org/10.3390/agronomy10121946>
- Uuh-Narváez, JJ, González-Tamayo MA, Segura-Campos MR. 2021. A study on nutritional and functional study properties of Mayan plant foods as a new proposal for type 2 diabetes prevention. *Food Chemistry* 341 (1): 128247. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128247>
- Velázquez-Cárdelas GA., González-Huerta A, Pérez-López DDJ, Castillo-González F. 2018. Comportamiento de mestizos de maíz en tres localidades del centro de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 9 (6): 1217–1230. <https://doi.org/10.29312/remexca.v9i6.1586>
- Villalobos-González A, López-Hernández MB, Valdivia-González NA, Arcocha-Gómez E, Medina-Méndez J. 2019. Variabilidad genética de características morfológicas de maíz nativo (*Zea mays* L.) en la Península de Yucatán, México. *AgroProductividad* 12 (11): 15–20. <https://doi.org/10.32854/agrop.vi0.1486>
- Zamudio-González B, Tadeo-Robledo M, Espinosa-Calderón A, Martínez-Rodríguez N, Turrent-Fernández A. 2016. Índice de cosecha con macro-nutrientes en grano de maíz. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 7 (5): 1077–1089. <https://doi.org/10.29312/remexca.v7i5.233>

EFFECT OF SUBSTRATES AND FERTIGATION ON GROWTH AND PHOTOSYNTHETIC EFFICIENCY OF MAGUEY PULQUERO PLANTS OF MEZQUITAL VALLEY LANDRACES

Jesus Adalberto Jimenez-Torres^{1*}, Juana Juárez-Muñoz², Juan Capulín-Grande²

¹ Universidad Autónoma de Yucatán. Facultad de Ingeniería. Ave. Industrias No Contaminantes S/N, Cordemex. Merida, Yucatán, México. C. P. 97302.

² Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Instituto de Ciencias Agropecuarias. Ave. Universidad km 1, Rancho Universitario, Tulancingo, Hidalgo, México. C. P. 43600.

* Corresponding author: tlacametl@gmail.com

ABSTRACT

Maguey pulquero (*Agave spp.*) seedling cultivation is an emerging alternative capable of supply the demand of its diverse products. This research aimed to evaluate the growth and maximum quantum yield of Photosystem II (Fv/Fm) of three landraces of maguey pulquero young plants (10 months-old) germinated from seeds, growing under greenhouse within interaction effect of four substrates and four concentration levels of nutrient solution. The hypothesis was that phenotypic variation of young maguey pulquero landraces growing under greenhouse conditions could help to identify genotypes ideal for commercial production and to elucidate its nutrient and substrate requirements. The variables evaluated were: Fv/Fm, number of leaves, length and width (cm) of biggest leaf, and plant dry biomass (g), the results were analyzed by a two-way ANOVA and means comparison by Tukey's test. The results demonstrated that Penca larga landrace (*Agave mapisaga* Trel.) had the highest values in all the growth variables evaluated compared to Manso and Xamini landraces (both *A. salmiana* Otto ex Salm-Dyck). Penca larga exhibited similar growth in the substrate agricultural soil and volcanic scoria mixture (SVM), and substrate agricultural soil alone (S) regardless of the nutrient solution concentration used, while both *A. salmiana* landraces exhibited total biomass reduction in the maximum nutrient concentration added in the S substrate (S+L4 treatment) compared to their respective effect on SVM substrate without nutrient addition (SVM+L1 treatment). All landraces exhibited growth inhibition in the commercial substrate mixture (CSM) and volcanic scoria alone (VS) without nutrient addition (CSM+L1 and VS+L1), while growth increase of all landraces in those substrates was relative to the increasing nutrient concentration. Photoinhibition was observed in all landraces in the treatment VS+L1. The growth variations observed across the landraces were helpful to identify potential genotypes ideal for commercial production and to set adequate substrates and nutrient requirements for agave cultivation.

Keywords: *Agave mapisaga*, *Agave salmiana*, andesite scoria, Cardonal, nutrient toxicity, photoinhibition.

Citation: Jimenez-Torres JA, Juárez Muñoz J, Capulín Grande J. 2022. Effect of substrates and fertigation on growth and photosynthetic efficiency of maguey pulquero plants of Mezquital Valley Landraces.

Agrociencia. 56(4): 774-804. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i4.2576>

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: January 15, 2022.

Approved: May 25, 2022.

Published in Agrociencia:
July 07, 2022.

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



INTRODUCTION

The genus *Agave* possess the crassulacean acid metabolism (CAM) and other physiological modifications that increase its water use efficiency and adaptation to limiting abiotic conditions, these features can facilitate the productivity in marginal lands where traditional crops cannot prosper (Garcia-Moya *et al.*, 2011). The “maguey pulquero” term incorporates the species *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck., *A. mapisaga* Trel., *A. americana* L., *A. atrovirens* Karw. ex Salm-Dyck. distributed in Central Mexico (Gentry, 1982; Mora-Lopez *et al.*, 2011); these plants are traditionally used for sap extraction to produce a low-alcohol fermented beverage called “pulque”, and the leaves are highly demanded in the Mexican traditional cuisine (Reyes-Aguero *et al.*, 2019).

Maguey pulquero plantations and wild populations in Central Mexico have been declining due to overexploitation and urban expansion; asexual shoot cultivation is the traditional propagation method that has not meet the increasing demand of maguey pulquero products, which has encouraged to research on the cultivation requirements of maguey pulquero seedlings in order to comply the market needs (Cruz-Vasconcelos *et al.*, 2020). Another advantage of seedling propagation is genetic diversification and the opportunity to select ideal genotypes for specific purposes (Aspinwall *et al.*, 2015). Several maguey pulquero landraces are distributed in the convergence of the Mexican Central Plateau and the Trans-Mexican Neo Volcanic Belt, where the influence of abiotic elements and the humanization-domestication process have been shaping the maguey pulquero morphology and genotype (Mora-Lopez *et al.*, 2011; Alfaro *et al.*, 2007). Within that area exists ecoregions with contrasting microclimates and soils where maguey pulquero is traditionally cultivated, that ecological diversity represents a pool of genetic richness propitious for performing the assessment of phenotypic variation to identify and select maguey pulquero genotypes ideal for commercial production; for which plant biomass accumulation under abiotic limiting conditions is a phenotypic trait that could reveal tolerance mechanisms to stress (Jimenez-Torres *et al.*, 2021).

Fertilization requirements and fertilizer delivery for *Agave* plants may differ to traditional crops because CAM plants have slower growth rate relative to C3 and C4 plants; although, favorable growing conditions in the most cultivated *Agave* species, *A. tequilana* Weber, *A. salmiana*, *A. mapisaga*, can let yields comparable to some C3 or C4 crops (Nobel *et al.*, 1991). Studies of nutrient requirements for maguey pulquero plants since the early growing stages are limited (Arrazola-Cardenas *et al.*, 2020), but with the studies available it can be inferred that nutrient requirement is proportional to the age, influenced by substrate type and growing conditions. In early growth stages of agave plants ($\leq$ one-year-old), fertilization can be unnecessary or minimum depending on substrate used (Diaz *et al.*, 2011; Arrazola-Cardenas *et al.*, 2020), this can respond due to the effect of agave endophytes that can provide nutrients to the plant with greater efficiency than mineral fertilization (Beltran-Garcia *et al.*, 2014); when agricultural soils are used for agave seedling growth evaluation, it can be present free-living nitrogen

fixing bacteria that can promote plant growth (Bautista-Cruz and Martinez-Gallegos, 2020), in contrast to pure mineral substrates where microbial activity might be inferior that increases the dependence on fertilization (Arrazola-Cardenas *et al.*, 2020). Maguey pulquero and agave plants older than one year can respond adequately to fertilization schemes (Cruz-Vasconcelos *et al.*, 2020); however, it is still required to evaluate agave growth under standardized conditions to elucidate the actual element requirements and to differentiate the effect of the interaction of side treatments applied during nutrient evaluations (Martinez *et al.*, 2012; Garcia-Martinez *et al.*, 2020).

Photoinhibition is the reduced functionality of the light-harvesting complexes situated in the chloroplast caused by light saturation, it can result momentarily as a natural response by high light exposure alone, or as a chronic condition because the combined effect with other stresses, it can be measured *in vivo* by the maximum quantum yield efficiency of Photosystem II with the ratio Fv/Fm (Morales *et al.*, 2008). Nutrient deficiency can reduce the biosynthesis of active photosynthetic organelles or substances related with photochemical processes, as the iron (Fe) deficiency can reduce the number and quality of photosynthetic membranes; nitrogen (N) deficiency can reduce considerably the leaf area and the photosynthetic productivity (Morales *et al.*, 2008).

Ecoregions where traditional crops have been reducing the expected productivity due to climatic and abiotic factors such as drought and soil quality loss, maguey pulquero plants can be an alternative crop thanks to its adaptability to poor soils, high water use efficiency and potential use for bioethanol production (Garcia-Moya *et al.*, 2011). The genetic richness of the maguey pulquero landraces can support breeding programs, while more studies on the cultivation requirements for maguey pulquero seedlings are required. Taking into consideration the need of supply the increasing demand of maguey pulquero products and its potential use as bioethanol feedstock in marginal lands, while is still required to determine the adequate growing parameters of maguey pulquero seedlings for commercial production.

Based on the above, the hypothesis of the study was that the evaluation of phenotypic variation of maguey pulquero landraces growing under greenhouse conditions could help to identify genotypes ideal for commercial production and to elucidate its nutrient and substrate requirements. Therefore, the objective was to evaluate the effect of four substrates combined with four concentrations of Douglas nutrient solution on the growth and maximum quantum yield from the Photosystem II, of three landraces of *Agave mapisaga* and *A. salmiana* under greenhouse conditions.

MATERIALS AND METHODS

Biological material and substrates

Seeds of *Agave mapisaga* (Penca larga landrace) and *A. salmiana* (Manso and Xamini landraces) were collected from inflorescences in the Cardonal, Hidalgo, Mexico (20° 37' N and 99° 7' W); located in the Mezquital Valley, where the predominant soils are Leptosols dominated by calcareous rocks as parent material (INEGI, 1992). Both

species belongs to Salmianae group of the *Agave* subgenus (Gentry, 1982). Seeds were placed into petri dishes with watered paper and germinated in growth chamber at 28 °C and 16 h / 8 h light / dark period. After 5 days when the maximum accumulated germination was reached, the seedlings were transplanted to the substrates under greenhouse conditions with a 50 % shade during two months; thereafter, shade was removed. All the seedlings were watered daily with tap-water for one month; thereafter, nutrient solution treatments started.

Four substrates were used; first, commercial substrate mixture (CSM) peat moss: agrolite: vermiculite 2:1:1; second, agricultural soil: volcanic scoria mixture (SVM) 1:1; third, agricultural soil (S) alone; and fourth, volcanic scoria (VS) alone. The soil was collected from agricultural fields from Tlajomulco, Zempoala, Hidalgo which is located at 19° 54' 14" N and 98° 33' 04" W, in the Trans-Mexican Neovolcanic Belt region. The location has occurrence of cultivated maguey pulquero (*Agave salmiana*) plants and wild populations of *Agave* spp. The dominant soil's parent material was volcanic andesitic tephra with intrusive material of sedimentary calcareous rocks; the soil was classified as Andosol (IUSS 2015). The andesite volcanic scoria was collected from a quarry in Tlajomulco location as well, with average particle size of ≤ 5 mm. Containers used were 30 × 30 cm plastic bags with 5 L capacity. Physical and chemical characteristics of each substrate were evaluated per triplicate from sub-samples collected randomly.

Substrates physical characteristics

Apparent density (AD w/v) was evaluated with the test-tube method, dry substrate was put into the test-tube and hit softly until no volume reduction was observed (100 mL), then the substrate was weighted, and AD calculated according to the weight/volume g mL^{-1} . Porosity was evaluated with gravimetric method according to Landis *et al.* (1990) the substrates were placed into 130 mL plastic containers, and slowly saturated with water. The water added represented the total porosity (TP %): $[\text{water used (mL)} / \text{container volume (mL)}] \times 100$. Thereafter, the container was freely drained, and the water collected represented the air porosity (AP %): $[\text{water drained (mL)} / \text{container volume (mL)}] \times 100$. Finally, the water holding capacity (WH %): was calculated with total porosity (%) - air porosity (%).

Substrates chemical characteristics

Substrate pH was measured with pH meter (Hanna Instruments, HI991301 Romania) in a suspension soil: distilled water, ratio 1: 2. Organic matter (OM) content was evaluated based on the redox Walkley and Black method, substrates were sieved to size particle ≤ 0.3 mm, and weighted 0.1 g for commercial substrate CSM, and 0.5 g for the rest of the substrates, the procedure and OM calculations were performed according to Aguilar *et al.* (1987). Total nitrogen content (NC) of the substrates was determined with micro-Kjeldahl method, substrates were sieved to size particle ≤ 0.212 mm, then were weighted 0.1 g of CSM, 2.5 g of VS and 1 g of S and SVM. The NC

was calculated according to Aguilar *et al.* (1987). The cation exchange capacity (CEC) (cmol kg^{-1}) of the substrates was determined with ammonium acetate 1 N method according to Aguilar *et al.* (1987), the substrates were sieved to size particle ≤ 2 mm, then weighted 2 g of CSM, 6 g of VS, 5 g of S and SVM.

Watering and fertilization

The modified Douglas (1976) base nutrient solution was formulated according to the required element concentration given by the following compounds: 500 ppm of N from $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ and KNO_3 , this latter provided 300 ppm of K, 100 ppm of P from $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ and H_3PO_4 , 300 ppm of Ca from $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ and calcium nitrate used for N, 150 ppm of Mg from $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 6 ppm of Fe from $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.1 ppm of Cu from $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 1 ppm of B from H_3BO_3 , 1 ppm of Mn from $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.1 ppm of Zn from $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, and 200 ppm of S given by all the compounds with it.

To prevent possible nutrient toxicity the base nutrient solution was diluted through four stages, in each stage respective dilutions of the base nutrient solution used were performed according to the nutrient solution treatments L1 = 0 %, L2 = 25 %, L3 = 50 % and L4 = 100 % applied. First stage, during first month the plants were watered with tap water daily no nutrient solution was used. Second stage, from 2nd to 3rd month the base nutrient solution was at 25 % of concentration. Third stage, from 4th to 8th month base nutrient solution was at 75 % concentration; during the above-mentioned stages the nutrient solution applied was 83 mL per plant once per week, and all plants were watered three times per week with tap water. Fourth stage, from 8th to 10th month base nutrient solution was at 100 % concentration, in this last stage nutrient solution was applied 125 mL per plant two times per week and watered three times per week with tap water.

Growth, biomass accumulation and fluorescence evaluation

After ten months of growth, the maximum quantum yield efficiency of Photosystem II of the biggest leaf was evaluated *in vivo* using a Handy PEA (Hansatech Instruments Ltd, Norfolk UK). Plants were incubated in darkness for 20 minutes subsequently irradiated with red light pulse (640 nm) at 600 W m^{-2} (Morales *et al.*, 2008); with the values obtained the variable considered was the Fv/Fm ratio measured per triplicate in different spots of the same leaf. Thereafter, plants were harvested, root rinsed with tap water, and the maximum leaf longitude and maximum leaf width were evaluated from the biggest leaf of the plant with a micrometer (Mitutoyo, Japan). It was counted all the unfolded leaves, excluding the apical meristem (central spike). Thereafter, the plant biomass was dried in electrical oven (70°C) until constant weight, the root, shoot and total dry biomass accumulation was weighted on analytical balance (Sartorius, Germany).

Experimental design

The experiment was set in completely randomized design, one plant was the experimental unit of the respective three maguey pulquero landraces Penca Larga

(*A. mapisaga*), Manso and Xamini (both *A. salmiana*) under the interaction effect of substrates (four levels) and nutrient solution concentration (four levels) which in total composed 16 treatments, and five replications per treatment were used ($n = 5$). The results were assessed by a two-way ANOVA and by the interaction substrate'nutrient solution concentration (16 treatments), it was performed a means comparison by Tukey's test ($p \leq 0.05$) using SAS v. 6.12. Where appropriate, a multivariate analysis of hierarchical dendrogram (complete linkage) with city block distance and standardized data was performed using the software Statgraphics 19.

RESULTS AND DISCUSSION

Leaf size and biomass allocation

According to the two-way ANOVA of the results, the landrace Penca larga (*A. mapisaga*) showed the highest values in all the growth variables evaluated, except for the fact that all landraces had similar average values of 5 leaves released from the apical meristem; while, both of the *A. salmiana* landraces, Manso and Xamini, exhibited similar intermediate results in all the variables evaluated (Table 1). The substrates evaluated exhibited an increase in all growth variables of the maguey

Table 1. Effect of substrates and nutrient solution concentrations on growth and photosynthetic efficiency of maguey pulquero plants propagated from Mezquital Valley landraces Penca larga (*Agave mapisaga*), and Manso and Xamini (both *A. salmiana*).

Factors	Biggest leaf			Dry biomass			PSII
Levels	L [†]	W [‡]	NL [§]	R [‡]	S [‡]	T ^{††}	Fv/Fm ^{¶¶}
		(cm)			(g)		
Landrace							
Penca l.	4.35 a	1.46 a	5.02 a	1 a	3.11 a	4.12 a	0.79 a
Manso	3.72 c	1.33 b	5.04 a	0.72 b	2.17 b	2.9 b	0.76 b
Shamini	4.1 b	1.28 b	4.9 a	0.71 b	2.36 b	3.08 b	0.75 b
Substrate							
CSM ^{§§}	3.41 c	1.24 c	4.58 c	0.56 c	1.81 c	2.37 c	0.75 b
SVM ^{‡‡b}	5.29 a	1.63 a	5.75 a	1.31 a	3.99 a	5.3 a	0.8 a
S ^{‡‡‡}	4.66 b	1.43 b	5.43 b	0.94 b	2.98 b	3.92 b	0.78 a
VS ^{†††}	2.87 d	1.13 d	4.18 d	0.45 c	1.43 c	1.89 c	0.73 b
Nut. sol.							
L1 ^{¶¶¶}	3.38 c	1.16 c	4.11 c	0.7 ab	1.88 b	2.58 b	0.7 b
L2 ^{§§§}	4.02 b	1.31 b	5.06 b	0.76 ab	2.3 b	3.07 b	0.78 a
L3 ^{b‡‡b}	4.25 b	1.41 b	5.35 a	0.9 a	2.9 a	3.8 a	0.78 a
L4 ^{‡‡‡‡}	4.57 a	1.56 a	5.42 a	0.88 ab	3.08 a	3.96 a	0.79 a

Response variables evaluated [†]L: length; [‡]W: width; [§]NL: number of leaves; [‡]R: root; [‡]S: shoot; ⁺⁺T: total; ^{¶¶}Fv/Fm: maximum quantum yield of Photosystem II. Substrates used were ^{§§}CSM: commercial substrate mixture peat moss-based; ^{‡‡}SVM: agricultural soil and volcanic scoria mixture; ^{‡‡‡}S: agricultural soil alone; ⁺⁺⁺VS: volcanic scoria alone. Nutrient solution concentrations used were ^{¶¶¶}L1: 0 %; ^{§§§}L2: 25 %; ^{‡‡‡}L3: 50 %; and ^{‡‡‡‡}L4: 100 %. Mean values within the column per factor with different letters are statistically different according to Tukey's test ($p \leq 0.05$).

pulquero landraces proportional to the following order: agricultural soil and volcanic scoria mixture (SVM) > agricultural soil alone (S) > commercial substrate mixture (CSM) > volcanic scoria alone (VS) (Table 1). The highest concentration of the nutrient solution (L4 = 100 %) exhibited the greatest values of all growth variables, except for root biomass which no differences were observed (Table 1).

The interaction analysis of substrate' nutrient solution concentration (16 treatments) showed a growth trend in Penca larga for biomass allocation variables. In the substrates SVM and S Penca Larga exhibited similar elevated biomass values regardless of the nutrient solution concentration used from L1 to L4 (Table 2). In contrast, for Manso and Xamini (both *A. salmiana* landraces) the absence of nutrient solution in SVM substrate (SVM+L1) allowed greater total biomass accumulation in comparison to a total biomass reduction occurred in their respective S+L4 treatment (Table 2). These results suggested that the maximum concentration of the nutrient solution L4 (100 %) applied to agricultural soil alone (S) might cause nutrient toxicity to both *A. salmiana* landraces. On the other hand the effect of S+L4 on *A. mapisaga* doubled the shoot and total biomass accumulated respect to both landraces within *A. salmiana* (Table 2).

Manso and Xamini exhibited optimum biomass allocation across the interaction of SVM and all nutrient solution concentrations, in this substrate the content of agricultural soil was halved by the volcanic scoria added, which consequently halved the CEC and reduced the water holding capacity compared to S (Table 3). Therefore, less cation retention and greater water infiltration on SVM diminished nutrient accumulation and the risks of potential nutrient toxicity at L4 for both *A. salmiana* landraces.

Table 2. Effect of substrates and nutrient solution concentrations on dry root (R), shoot (S) and total (T) biomass accumulation (g) of maguey pulquero plants propagated from Mezquital Valley landraces Penca larga (*Agave mapisaga*), Manso and Xamini (both of *A. salmiana*).

Treatment	Penca larga			Manso			Xamini		
	R [†]	S [‡]	T [§]	R [†]	S [‡]	T [§]	R [†]	S [‡]	T [§]
CSM ^b +L1 ^{§§}	0.16 ef	0.45 f	0.6 e	0.21 b	0.39 ef	0.6 fg	0.13 c	0.38 e	0.51 e
CSM+L2 ^{b‡}	0.44 def	1.12 ef	1.56 de	0.66 b	1.69 cdef	2.34 cdefg	0.55 abc	1.66 cde	2.21 cde
CSM+L3 ^{‡‡}	0.64 cdef	2.18 cdef	2.82 bcde	0.81 b	2.64 abcd	3.46 abcd	0.76 abc	2.55 bcd	3.35 abcde
CSM+L4 ^{†††}	0.84 bcdef	3.59 abcde	4.43 abcd	0.49 b	2.05 bcdef	2.54 bcdefg	0.98 ab	2.92 abcd	3.9 abcd
SVM+L1	1.89 a	4.54 abc	6.43 a	2.17 a	3.75 ab	5.91 a	1.37 a	4.65 a	6.18 a
SVM+L2	1.61 abc	4.98 ab	6.59 a	1.02 b	3.4 abc	4.41 abc	1.05 ab	3.32 abc	4.37 abc
SVM+L3	1.7 ab	6.04 a	7.75 a	0.7 b	2.18 abcde	2.89 bcdefg	1.35 a	4.11 ab	5.46 ab
SVM+L4	1.46 abcd	4.24 abc	5.7 ab	0.97 b	4.06 a	5.03 ab	0.81 abc	3.27 abc	4.83 abcd
S ^{††} +L1	1.16 abcde	3.98 abcd	5.14 abc	0.96 b	2.98 abc	3.94 abcd	0.63 abc	2.28 bcde	2.92 bcde
S+L2	1.11 abcde	3.34 bcde	4.45 abcd	0.81 b	2.92 abc	3.73 abcd	0.85 abc	2.35 bcde	3.2 bcde
S+L3	1.47 abcd	4.27 abc	5.74 ab	0.73 b	2.46 abcd	3.19 bcdef	1.04 ab	3.49 abc	4.53 abc
S+L4	1.55 abc	3.98 abcd	5.53 ab	0.59 b	1.96 bcdef	2.55 bcdefg	0.42 bc	1.86 cde	2.28 cde
VS ^{‡‡} +L1	0.05 f	0.24 f	0.29 e	0.06 b	0.16 f	0.22 g	0.13 c	0.39 e	0.52 e
VS+L2	0.46 def	1.35 def	1.81 cde	0.33 b	0.73 def	1.05 efg	0.38 bc	0.97 de	1.34 de
VS+L3	0.75 bcdef	2.1 cdef	2.85 bcde	0.36 b	0.94 def	1.3 defg	0.48 bc	1.46 cde	1.94 cde
VS+L4	1.13 abcde	4.26 abc	5.39 ab	0.83 b	2.45 abcd	3.28 abcd	0.6 abc	2.44 bcde	3.44 bcde

Table 3. Evaluation of substrates physical characteristics: apparent density (g cm^{-3}), total, air porosity (%) and water holding capacity (WHC) (%); and substrates chemical characteristics: total organic matter (%), total nitrogen (%), cation exchange capacity (CEC) (cmol kg^{-1}) and pH.

Physical	CSM [†]	SVM [‡]	S [§]	VS [¶]
App. Density	0.187 ± 0.013	1.07 ± 0.23	0.91 ± 0.244	1.15 ± 0.18
Total Porosity	76.92 ± 1.28	50.19 ± 1.37	54.87 ± 2.64	51.15 ± 0.88
Air Porosity	14.61 ± 1.34	9.23 ± 0.85	7.69 ± 2.57	17.34 ± 0.57
WHC	62.31 ± 0.63	40.96 ± 1.86	47.18 ± 0.92	33.8 ± 0.85
Chemical	CSM	SVM	S	VS
Organic Matter	20.1 ± 1.77	3.75 ± 1.11	5.5 ± 1.11	0.59 ± 0.14
Total Nitrogen	2.7 ± 0.71	0.27 ± 0.07	0.32 ± 0.19	0.02 ± 0.01
CEC	73.2 ± 4.16	26.1 ± 2.99	49.1 ± 5.75	8.7 ± 2.9
pH	6.5 ± 0.52	8.1 ± 0.37	7.9 ± 0.4	8.05 ± 0.36

[†]CSM: commercial substrate mixture; [‡]SVM: agricultural soil and volcanic scoria mixture; [§]S: agricultural soil alone; [¶]VS: volcanic scoria alone. Mean values ($n = 3$) $\pm$ standard deviation.

The growth of all landraces in CSM and VS was proportional to the increasing concentration of the nutrient solution applied, which absence of nutrient solution (L1) in both substrates restricted plant growth (Table 2). Even though CSM possessed better chemical characteristics than the other substrates, such as greater organic matter content, total nitrogen content and high CEC (Table 3), ion imbalance might occur in CSM substrate that reduced the total biomass mean values of all the landraces relative to the respective effect on S and SVM substrates (Table 1).

Substrates based on peat moss tend to accumulate NH_4^+ due to elevated raw organic matter (OM), which its decomposition tend to acidify the media, these conditions are suitable for fungi proliferation while ongoing acidification and microorganisms antagonism can reduce the occurrence of nitrifying bacteria; additionally, acidic conditions might promote the reduction of oxidized forms (NO_3^-) added by nutrient solution to a reduced form (NH^+) (Landis *et al.*, 1990). N reduced forms can be phytotoxic under certain conditions; however, peat moss characteristics are tolerated and adequate for temperate forest species (Landis *et al.*, 1990). In this work, the CSM was composed of 50% peat moss and the rest was innocuous mineral material, according to the effect caused by the CSM on the plants of all landraces, as biomass reduction (Table 1) in function of nutrient solution absence (Table 2), indicated that CSM hindered the growth of the plants evaluated. The CSM had the highest CEC across the substrates evaluated (Table 3), which inferred greater cation retention, including NH_4^+ ; although, peat moss use for Agave commercial production seems unsuitable due to its high costs and incompatibility with Agave's growth requirements and dependence on nutrient solution addition, the evaluation of CSM was helpful to elucidate the potential sensitivity of the evaluated landraces from the Cardonal region to the potential ion imbalance caused by this substrate.

The growth trend observed in all the landraces across the VS substrate treatments demonstrated that VS restricted plant growth as consequence of poor physical and chemical characteristics that let inferior water holding capacity and reduced nutrient retention due to low CEC (Table 3). The mixture of agricultural soil and volcanic scoria (SVM) improved the chemical and physical characteristics, compared to the individual effects of each substrate. The use of agricultural soil for maguey pulquero nursery using containers can be adverse as might promote soil extraction which would reduce arable land, eventually. On the other hand, the use of volcanic scoria in Mexico as substrate for hydroponic production is widely extended due to its high availability and low costs, to this date (Gutierrez-Castorena *et al.*, 2011); therefore, volcanic scoria can support and reduce the costs of maguey pulquero nursery production.

The results of this research suggested that the nutrient delivery form used in the experiment was inadequate for VS, as high-water infiltration and poor nutrient retention restricted plant growth; it is possible that slow-release fertilizers would be a better option for that substrate. Also, the physical and chemical characteristics of volcanic scoria can be improved using amendments, such as agroindustrial residues or other organic materials (Gutierrez-Castorena *et al.*, 2011). Despite the limiting conditions of VS for the growth of maguey pulquero plants evaluated in this study, Penca larga exhibited greater total biomass allocation across the nutrient solution concentrations from L2 to L4 relative to Manso and Xamini (Table 2).

According to their morphological traits the *A. mapisaga* landraces have been described as highly homogeneous due to intense artificial selection, in comparison to those highly variable of *A. salmiana* (Mora-Lopez *et al.*, 2011). DNA analyses have shown potential genetic flow among some populations of *A. salmiana* and *A. mapisaga* landraces, which infers that human influence might let hybridization between both species, while specific abiotic elements of a region/microhabitat and high plasticity that is characteristic of agave plants can shape the morphological divergences/similarities (Alfaro *et al.*, 2007; Trejo *et al.*, 2020). The underlying genetic richness of *A. mapisaga* able to overcome stress can be underestimated by its homogeneous morphological traits that could suppose low genetic variation; in this regard, studies performed on five month-old maguey pulquero plants (*A. mapisaga* and *A. salmiana*) propagated from seeds collected in same provenance Metepec, Hidalgo, located in the maguey pulquero region, demonstrated that *A. mapisaga* accumulated greater total dry biomass in comparison to *A. salmiana*, both were subjected for 30 days to a temperature treatment of 45 °C applied from 11 am to 3 pm within a temperature regime of 25/15 °C for 12/12 h (Jimenez-Torres *et al.*, 2021). Taking into consideration the humanization process of *A. mapisaga* that has favoured the selection of bigger plants (Mora-Lopez *et al.*, 2011) and its physiological adaptation to stressing temperatures (Jimenez-Torres *et al.*, 2021), those traits might influence on the responses observed in this work, as *A. mapisaga* exhibited optimum growth across the treatments relative to the *A. salmiana* landraces (Table 1).

The growth differences of the *A. salmiana* landraces observed in this work can be associated to the humanization process as well. Manso is one of the most used landraces

of *A. salmiana* and widely distributed in the maguey pulquero region in Central Mexico (Mora-Lopez *et al.*, 2011), it is characterized by big sized plants with small teeth and smooth leaf margin, these traits are appreciated by maguey pulquero producers, who tend to introduce cultivated and/or wild plants from an ecoregion to another in order to fulfil their plantation requirements; therefore, plant commerce and introduction of Manso plants from different ecoregions might enhance morphological and genetic variability of Manso landrace (Alfaro *et al.*, 2007; Mora-Lopez *et al.*, 2011; Trejo *et al.*, 2020); while sexual reproduction boost the genetic pool and morphological diversity (Cruz-Vasconcelos *et al.*, 2020). In this work, a multivariate hierarchical dendrogram analysis was performed using the variables width and length of the biggest leaf of all the plants under S+L1 treatment, the Manso individuals were randomly scattered within different groups (Figure 1), which inferred less aggrupation of Manso individuals, meaning greater leaf morphological diversity growing under the S+L1 treatment. In the other hand, Xamini individuals exhibited a clear aggrupation within the dendrogram under the S+L1 treatment (Figure 1) and S+L4 (Figure 2), which inferred less morphological variation of Xamini plants comparing to Penca Larga and Manso, regardless of the nutrient solution dosing differences. That can be explained as the Xamini landrace has been mostly cultivated in the Mezquital Valley, it is a smaller plant with lower sap production and leaves with bigger teeth, and those are undesirable traits for most maguey pulquero producers. Therefore, the interest to introduce Xamini to other locations beyond the Mezquital Valley appears to be limited. This landrace, then, has been adapted to Mezquital Valley through several generations, Xamini has been traditionally used by Otomi communities in the Cardonal location (Reyes-Aguero *et al.*, 2019), which has arid climate, dominated by Leptosols soils originated from sedimentary calcareous rocks (INEGI, 1992).

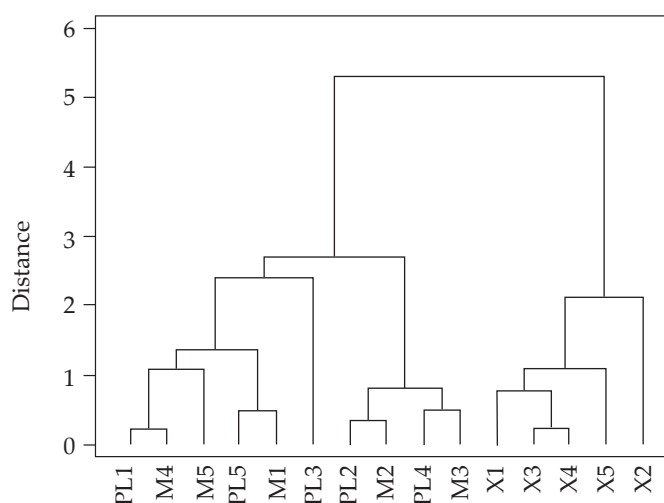


Figure 1. Dendrogram constructed with the variables length and width of biggest leaf from landraces Penca larga (PL) *Agave mapisaga*, Manso (M) and Xamini (X), both *A. salmiana*, under treatment agricultural soil alone without nutrient solution (S+L1). Numbers next to each landrace acronym correspond to the respective replicate.

The adaptation of Xamini parent plants to the abiotic elements of the Cardonal, can help to explain the growth variation observed in this work. The substrates SVM and S were composed by an agricultural soil, where in SVM+L1 (halved soil without nutrient solution) exhibited better growing conditions for Xamini than in S+L1 (100 % agricultural soil) where reduced its shoot and total biomass (Table 2). It was used an Andosol type agricultural soil as S substrate, with dominant parent material of volcanic andesitic tephra. Andosols possess abundant aluminium and iron oxy-hydroxides minerals, that confer high anion retention capacity and soil organic matter stabilization (IUSS, 2015); also, the agricultural management might enhance microstructure loss, due to continuous tillage which leads to compaction (Naderi-Boldaji and Keller, 2016). In contrast, Leptosols from arid regions are shallow gravel-rich with low-forming soil processes (IUSS, 2015), characteristics that confer low water holding capacity, inferior nutrient retention capacity and loose structure. In this work, the chemical and physical characteristics of S in combination with a higher fertigation regime, might constrain Xamini shoot and total biomass accumulation, which were attenuated in SVM substrate.

In this regard, the maximum nutrient solution concentration (L4) addition in S (S+L4) let a clear aggrupation of the individuals within its respective landrace (Figure 2). The maximum nutrient solution concentration (L4) in S substrate significantly reduced the length of the biggest leaf in both *A. salmiana* landraces in comparison to their respective treatment without nutrient solution (S+L1); similarly, shoot and total biomass reduction was observed on Xamini under S+L4 (Table 2). These results suggested that the potential stress exerted by the highest nutrient concentration in S could trigger

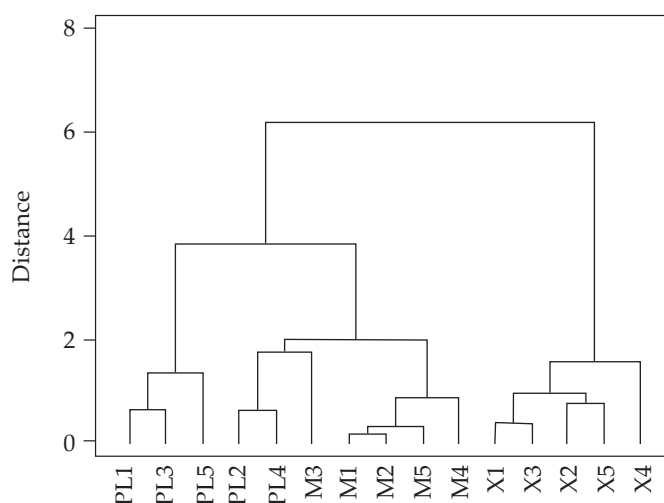


Figure 2. Dendrogram constructed with the variables length and width of biggest leaf from landraces Penca larga (PL) *Agave mapisaga*, Manso (M) and Xamini (X), both *A. salmiana*, under treatment agricultural soil alone with 100 % nutrient solution concentration (S+L4). Numbers next to each landrace acronym correspond to the respective replicate.

physiological responses specific to each landrace letting similar phenotypic variation as leaf size reduction (Jimenez-Torres *et al.*, 2021)

Results in this study can help to elucidate the nutrient requirements of maguey pulquero seedlings according to substrate used and the age of the plants. Fertilization schemes on substrates S and SVM was unnecessary, as the agricultural soil would provide the nutrients required for optimum growth in all the landraces evaluated; the slower growth of CAM plants than C3 or C4 might reduce the nutrient requirements of maguey pulquero young plants in early growth stages (Nobel *et al.*, 1991).

Taking into consideration the physical and chemical characteristics of the agricultural soil used in this work (Table 3); also, the potential presence of beneficial soil microorganisms and *Agave* endophytes that promote plant growth (Beltran-Garcia *et al.*, 2014; Bautista-Cruz and Martinez-Gallegos, 2020), those characteristics provided the optimum conditions for the growth of 10-month-old plants of all landraces.

In this regard, a nitrogen fertilization study performed in bulbils of *Agave cocui* under greenhouse conditions using soil as substrate, the *A. cocui* bulbils did not show statistical differences in fresh biomass accumulation and leaf longitude between control treatment 0 and 0.5 g of ammonium nitrate fertilization, which demonstrated adequate growth in soil regardless of nitrogen addition (Diaz *et al.*, 2011). On the other hand, nitrogen excess can affect plant development at that early growth stage; in that same study the application of 1 g ammonium nitrate showed toxicity and plant growth inhibition (Diaz *et al.*, 2011).

In this work, the total biomass accumulation of all landraces on VS was improved with mineral fertilization, reaching higher biomass in the 100% nutrient solution concentration (Table 2); although, physical and chemical characteristics of VS that let high water infiltration and restricted nutrient retention (Table 3) might overestimate the nutrient requirements at the age evaluated. Studies performed on seedlings of Xamini (*A. salmiana*) landrace from Cardonal growing on perlite, demonstrated that after 168 days, the total biomass accumulation and leaf growth were similar in the lowest nutrient concentration treatment of Steiner solution at 25 %, compared to 100 % concentration (both treatments were applied once every 3 days), which suggested that 25 % concentration was adequate for Xamini growth (Arrazola-Cardenas *et al.*, 2020).

Photosystem II fluorescence (Fv/Fm)

The two-way ANOVA showed that Penca larga (*A. mapisaga*) landrace exhibited the highest maximum quantum yield efficiency of Photosystem II (Fv/Fm); similarly, the substrates composed by agricultural soil, SVM and S, let greater Fv/Fm values compared to CSM and VS. In contrast, the absence of the nutrient solution (L1) showed the least Fv/Fm results, while the maximum nutrient solution concentration (L4) had the highest Fv/Fm values (Table 1). The interaction among substrate' nutrient solution concentration in VS+L1 treatment caused the least Fv/Fm values of all the landraces evaluated (Table 4). Those inferior Fv/Fm results in all the landraces were indicative of photoinhibition, as a consequence of nutrient deficiency caused by VS-L1 treatment (Table 4), since volcanic scoria and tap water did not provide enough nutrients for

Table 4. Effect of substrates and nutrient solution concentrations on maximum quantum yield of Photosystem II (Fv/Fm) of biggest leaf of young maguey pulquero plants from landraces: Penca larga (*Agave mapisaga*), Manso and Xamini (both of *Agave salmiana*).

Treatment Substrate* Nut.Sol.	Penca larga Fv/Fm	Manso Fv/Fm	Xamini Fv/Fm
CSM [†] +L1 [‡]	0.73 b	0.74 ab	0.62 bc
CSM+L2 ^{††}	0.8 ab	0.79 ab	0.74 ab
CSM+L3 ^{†††}	0.78 ab	0.79 ab	0.76 ab
CSM+L4 ^{††††}	0.78 ab	0.79 ab	0.76 ab
SVM [‡] +L1	0.81 a	0.79 a	0.82 a
SVM+L2	0.81 a	0.79 ab	0.79 a
SVM+L3	0.83 a	0.78 ab	0.8 a
SVM+L4	0.84 a	0.79 ab	0.79 a
S [§] +L1	0.81 a	0.79 ab	0.73 abc
S+L2	0.81 a	0.77 ab	0.78 a
S+L3	0.84 a	0.8 a	0.75 ab
S+L4	0.83 a	0.78 ab	0.75 ab
VS [‡] +L1	0.6 c	0.54 c	0.59 c
VS+L2	0.8 ab	0.79 ab	0.79 a
VS+L3	0.8 ab	0.7 b	0.83 a
VS+L4	0.84 a	0.79 a	0.81 a

Substrates used were [†]CSM: commercial substrate mixture; [‡]SVM: agricultural soil and volcanic scoria mixture; [§]S: agricultural soil alone; and [‡]VS: volcanic scoria alone. Nutrient solution concentrations used were [‡]L1: 0 %; ^{††}L2: 25 %; ^{†††}L3: 50 %; and ^{††††}L4: 100 %. Mean values within the column with different letters are statistically different according to Tukey's test ($p \leq 0.05$).

plant development. Nutrient deficiency can affect the leaf elongation and biosynthesis of photosynthetic organelles directly related to photosynthetic productivity (Morales *et al.*, 2008).

In this study, Penca larga and Xamini exhibited reduced Fv/Fm values on CSM+L1 as consequence of potential ion imbalance and nutrient deficiency. However, those results were statistically similar to rest of their respective treatments on CSM (Table 4), which indicated the functionality of the electron harvest complex regardless of the nutrients deficiency on CSM. In this regard, the *Agave* plants exhibit acclimatation of the photochemical system to stress, young *A. salmiana* plants (one-year-old) exposed to severe drought over 115 days of water withholding, after rehydration maintained the photon light harvest functionality, which demonstrated resilience to this stress by photo-protective mechanisms (Campos *et al.*, 2014).

CONCLUSIONS

The Penca larga landrace (*Agave mapisaga*) exhibited superior growth relative to Manso and Xamini (landraces of *A. salmiana*), under most of the treatments applied,

except the absence of nutrient solution in commercial substrate mixture (CSM) and volcanic scoria (VS) which restricted plant growth in all the landraces. The physical and chemical characteristics of the substrate agricultural soil alone (S) in combination with maximum nutrient concentration 100 % (L4), affected shoot and total biomass accumulation of both Manso and Xamini landraces.

Volcanic scoria used for maguey pulquero commercial production may be suitable due to high availability and low costs in the maguey pulquero region of Central Mexico within the Trans Mexican Volcanic Belt. Nevertheless, it is suggested to improve the chemical and physical characteristics of the volcanic scoria by adding an organic amendment.

ACKNOWLEDGEMENTS

To Zurisadai Monroy González for her valuable support on greenhouse maintenance and laboratory analysis.

REFERENCES

- Aguilar SA, Etchevers JD, Castellanos JZ. 1987. Análisis químico para evaluar la fertilidad del suelo. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. 214 p.
- Alfaro RG, Legaria SJP, Rodríguez PJE. 2007. Diversidad genética en poblaciones de agaves pulqueros *Agave* spp del nororiente del Estado de México. Revista Fitotecnica Mexicana 30: 1–12.
- Arrazola-Cardenas L, Garcia-Nava JR, Robledo-Paz A, Ybarra-Moncada MC, Muratalla-Lua A. 2020. Substrates and doses of fertigation in the accumulation of total sugars and growth of *Agave salmiana* (Asparagaceae). Polibotanica 50: 109–118. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.50.8>
- Aspinwall MJ, Loik ME, Resco de DV, Tjoelker MG, Payton PR, Tissue DT. 2015. Utilizing intraspecific variation in phenotypic plasticity to bolster agricultural and forest productivity under climate change: phenotypic plasticity in agriculture and forestry. Plant Cell and Environment 38(9): 1752–1764. <https://doi.org/10.1111/pce.12424>
- Bautista-Cruz A, and Martínez-Gallegos V. 2020. *Agave potatorum* Zucc. growth promotion by free-living nitrogen-fixing bacteria. Terra Latinoamericana 38: 555–567. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i3.647>
- Beltran-Garcia MJ, White JFJ, Prado FM, Prieto KR, Yamaguchi LF, Torres MS, Kato MJ, Medeiros HG, Di Mascio P. 2014. Nitrogen acquisition in *Agave tequilana* from degradation of endophytic bacteria. Scientific Reports 4: 6938. <https://doi.org/10.1038/srep06938>
- Campos H, Trejo C, Peña-Valdivia CB, Garcia-Nava R, Conde-Martínez V, Cruz-Ortega M. 2014. Photosynthetic acclimation to drought stress in *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck seedlings: is largely dependent on thermal dissipation and enhanced electron flux to photosystem I. Photosynthesis Research <https://doi.org/10.1007/s11120-014-0008-6>
- Cruz-Vasconcelos ST, Ruiz-Posadas L del M, Garcia-Moya E, Sandoval-Villa M, Cruz-Huerta N. 2020. Growth and CO₂ exchange rate of maguey pulquero (*Agave salmiana*) obtained by seed. Agrociencia 54: 911–926. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v54i7.2242>
- Díaz JG, Rojas G, Him de FY, Hernández N, Torrealba E, Rodríguez Z. 2011. Efecto de la fertilización nitrogenada sobre el crecimiento en vivero de Cocuy (*Agave cocui* Trelease). Revista Facultad de Agronomía (LUZ) 28 (1): 264–272.
- Douglas J. 1976. Advanced guide to hydroponics. Drake Publishers, NY, USA, 333 pp.
- García-Martínez LI, Sánchez-Mendoza S, Bautista-Cruz A. 2020. Combination of mycorrhizal fungi and phosphorus fertilization in the growth of two wild agaves. Terra Latinoamericana 38: 771–780. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i4.702>
- García-Moya E, Romero-Manzanares A, Nobel PS. 2011. Highlights for *Agave* productivity. GCB Bioenergy 3: 4–14. <https://doi.org/10.1111/j.1757-1707.2010.01078.x>
- Gentry HS. 1982. Agaves of continental North America. The University of Arizona: Tucson, AZ, USA. 670 p.

- Gutiérrez-Castorena MC, Hernández EJ, Ortiz-Solorio CA, Anicua SR, Hernández LME. 2011. Porosity–water retention relationship in substrate mixtures and its effect on response variables in lettuce seedlings. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 17: 183–196.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática). 1992. Síntesis geográfica del Estado de Hidalgo, Aguascalientes, México. https://www.inegi.org.mx/contenido/productos/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/historicos/2104/702825220945/702825220945_1.pdf (Retrieved: October 2021)
- IUSS (International Union of Soil Science). 2015. World reference base for soil resources 2014, actualization 2015. FAO: Rome, Italy. 203 p. <https://www.fao.org/3/i3794en/i3794en.pdf> (Retrieved: December 2021)
- Jimenez-Torres JA, Peña-Valdivia CB, Padilla-Chacon D, Garcia-Nava R. 2021. Physiological and biochemical responses of *Agave* to temperature and climate of their native environment. *Flora* 278: 151797. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2021.151797>
- Landis D, Tinus W, McDonald E, Barnett P. 1990. The Container Tree Nursery Manual. Department of Agriculture-Forest Service, USA 2: 41–89. https://www.fs.fed.us/rm/pubs_series/wo/wo_ah674_7.pdf
- Martínez RS, Trinidad SA, Robles C, Spinola GA, Hernández MTM, Santizo RJA, Bautista SG, Pedro SEC. 2012. Crecimiento y sólidos solubles de *Agave potatorum* Zucc. Inducidos por riego y fertilización. *Revista Fitotecnia Mexicana* 35: 61–68.
- Morales F, Abadía A, Abadía J. 2008. Photoinhibition and Photoprotection under nutrient deficiencies, drought and salinity. In Demming-Adams B., Adams III W.W., Mattoo A.K. (Eds) Photoprotection, photoinhibition, gene regulation and environment, Springer: Heidelberg, Germany, pp. 65–85.
- Mora-Lopez LJ, Reyes-Aguero AJ, Flores-Flores LJ, Peña-Valdivia CB, Aguirre- Rivera RJ. 2011. Morphological variation and humanization of *Agave* genus, Salmianae section. *Agrociencia* 45: 465–477.
- Naderi-Boldaji M, Keller T. 2016. Degree of soil compactness is highly correlated with the soil physical quality index. *Soil Tillage Research* 159: 41–46. <https://doi.org/10.1016/j.still.2016.01.010>
- Nobel PS. 1991. Achievable productivities of certain CAM plants: basis for high values compared with C₃ and C₄ plants. *New Phytologist* 119: 183–205. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1991.tb01022.x>
- Reyes-Aguero JA, Peña-Valdivia CB, Aguirre-Rivera JR, Mora-Lopez JL. 2019. Intraspecific variation of *Agave mapisaga* Trel. and *A. salmiana* Otto ex Salm-Dyck. (Asparagaceae) related to ancestral usages at the Hnahnú region in Central Mexico. *Agrociencia* 53: 563–579.
- Trejo L, Reyes M, Cortes-Toto D, Romano-Grande E, Muñoz-Camacho LL. 2020. Morphological diversity and genetic relationships in pulque production agaves in Tlaxcala, Mexico, by means of unsupervised learning and gene sequencing analysis. *Frontiers in Plant Science* 11: 524812. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.524812>

EFFECTO DE LOS SUSTRATOS Y FERTIRRIGACIÓN EN EL CRECIMIENTO Y LA EFICIENCIA FOTOSINTÉTICA EN VARIEDADES DE MAGUEY PULQUERO DEL VALLE DEL MEZQUITAL

Jesús Adalberto Jiménez-Torres^{1*}, Juana Juárez-Muñoz², Juan Capulín-Grande²

¹ Universidad Autónoma de Yucatán. Facultad de Ingeniería. Ave. Industrias No Contaminantes S/N, Cordemex. Mérida, Yucatán, México. C. P. 97302.

² Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Instituto de Ciencias Agropecuarias. Ave. Universidad km 1, Rancho Universitario, Tulancingo, Hidalgo, México. C. P. 43600.

* Autor para correspondencia: tlacametl@gmail.com

RESUMEN

El cultivo de plántulas de maguey pulquero (*Agave spp.*) es una alternativa emergente capaz de abastecer la demanda de sus diversos productos. Esta investigación tuvo como objetivo evaluar el crecimiento y rendimiento cuántico máximo del Fotosistema II (Fv/Fm) de tres variedades de plantas de agave. La hipótesis fue que la variación fenotípica de las plantas jóvenes de variedades de maguey pulquero que crecen en condiciones de invernadero podría ayudar a identificar los genotipos ideales para la producción comercial y dilucidar sus requerimientos de nutrientes y sustratos. Las variables evaluadas fueron: Fv/Fm, número de hojas, longitud y anchura (cm) de la hoja más grande, y biomasa seca vegetal (g); los resultados fueron analizados por un ANOVA bidireccional y la comparación de medias por la prueba de Tukey. Los resultados demostraron que la variedad Penca larga de *Agave mapisaga* Trel. obtuvo los valores más altos en todas las variables de crecimiento evaluadas en comparación con las variedades Manso y Xamini (ambas *A. salmiana* Otto ex Salm-Dyck). Penca larga exhibió un crecimiento similar en el sustrato del suelo agrícola con mezcla de escoria volcánica (SVM), y el sustrato de solo suelo agrícola (S), independientemente de la concentración de solución nutritiva utilizada; mientras que ambas variedades de *A. salmiana* exhibieron una reducción de la biomasa total en la concentración máxima de nutrientes agregada en el sustrato S (tratamiento S+L4) en comparación con su respectivo efecto en el sustrato SVM sin adición de nutrientes (tratamiento SVM+L1). Todas las plantas mostraron una inhibición del crecimiento en la mezcla de sustrato comercial (CSM) y en la escoria volcánica sola (VS), sin adición de nutrientes (CSM+L1 y VS+L1), mientras que el aumento del crecimiento en esos sustratos fue relativo al incremento de la concentración de nutrientes. Se observó fotoinhibición en todas las plantas en el tratamiento VS+L1. Las variaciones de crecimiento observadas fueron útiles para identificar posibles genotipos ideales para la producción comercial y establecer los requerimientos de sustratos y nutrientes adecuados para el cultivo de agave.

Palabras clave: *Agave mapisaga*, *Agave salmiana*, Cardonal (Hidalgo) México, escoria andesítica, toxicidad de nutrientes, fotoinhibición.

Citation: Jiménez-Torres JA, Juárez Muñoz J, Capulín Grande J. 2022. Efecto de los sustratos y fertirrigación en el crecimiento y la eficiencia fotosintética en variedades de maguey pulquero del Valle del Mezquital.

Agrociencia. 56(4): 774-804.
<https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i4.2576>

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: January 15, 2022.

Approved: May 25, 2022.

Published in Agrociencia:
July 07, 2022.

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



INTRODUCCIÓN

El género *Agave* posee el metabolismo ácido crasuláceo (CAM) y otras modificaciones fisiológicas que aumentan su eficiencia en el uso del agua y su adaptación a condiciones abióticas limitantes, estas características pueden facilitar la productividad en tierras marginales donde los cultivos tradicionales no pueden prosperar (García-Moya *et al.*, 2011). El término “maguey pulquero” incorpora las especies *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck., *A. mapisaga* Trel., *A. americana* L., *A. atrovirens* Karw. ex Salm-Dyck. distribuidas en el centro de México (Gentry, 1982; Mora-Lopez *et al.*, 2011); estas plantas se utilizan tradicionalmente para la extracción de savia para producir una bebida fermentada de baja graduación alcohólica llamada “pulque”, y las hojas son muy apreciadas en la cocina tradicional mexicana (Reyes-Aguero *et al.*, 2019).

Las plantaciones de maguey pulquero y las poblaciones silvestres en el centro de México han ido disminuyendo debido a la sobreexplotación y la expansión urbana. El cultivo de brotes asexuales es el método de propagación tradicional que no ha cubierto la creciente demanda de productos de maguey pulquero. Esto ha impulsado la investigación sobre los requerimientos de cultivo de las plántulas de maguey pulquero para cumplir con las necesidades del mercado (Cruz-Vasconcelos *et al.*, 2020). Otra ventaja de la propagación de plántulas es la diversificación genética y la oportunidad de seleccionar genotipos ideales para fines específicos (Aspinwall *et al.*, 2015).

Numerosas variedades de maguey pulquero se distribuyen en México en la convergencia de la Meseta Central y el Eje Neovolcánico Transversal, donde la influencia de elementos abióticos y el proceso de humanización-domesticación han ido moldeando la morfología y el genotipo del maguey pulquero (Mora-López *et al.*, 2011; Alfaro *et al.*, 2007). Dentro de esa zona hay ecorregiones con microclimas y suelos diversos donde se cultiva tradicionalmente el maguey pulquero. Esa diversidad ecológica representa un acervo de riqueza genética propicio para evaluar la variación fenotípica e identificar y seleccionar genotipos de maguey pulquero ideales para la producción comercial. La acumulación de biomasa vegetal en condiciones abióticas limitantes es un rasgo fenotípico que podría revelar mecanismos de tolerancia al estrés (Jiménez-Torres *et al.*, 2021).

Los requisitos de fertilización y el suministro de fertilizantes para las plantas de *Agave* pueden diferir de los cultivos tradicionales porque las plantas CAM tienen una tasa de crecimiento más lenta en relación con las plantas C3 y C4. Aunque condiciones de cultivo favorables en las especies de *Agave* más cultivadas, *A. tequilana* Weber, *A. salmiana*, *A. mapisaga*, pueden tener rendimientos comparables con algunos cultivos C3 o C4 (Nobel *et al.*, 1991). Son pocos los estudios que hay sobre los requerimientos nutrimentales para las plantas de maguey pulquero desde las primeras etapas de crecimiento (Arrazola-Cardenas *et al.*, 2020). Pero con los estudios disponibles se puede deducir que las necesidades de nutrientes son proporcionales a la edad, influidas por el tipo de sustrato y las condiciones de cultivo.

En las primeras etapas de crecimiento de las plantas de agave ($\leq$ un año), la fertilización puede ser innecesaria o mínima dependiendo del sustrato utilizado (Díaz *et al.*,

2011; Arrazola-Cárdenas *et al.*, 2020). Esto puede deberse al efecto de los endófitos del agave que pueden aportar nutrimentos a la planta con mayor eficiencia que la fertilización mineral (Beltrán-García *et al.*, 2014). Cuando se utilizan suelos agrícolas para la evaluación del crecimiento de las plántulas de agave, pueden estar presentes bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre que pueden promover el crecimiento de la planta (Bautista-Cruz y Martínez-Gallegos, 2020). Por el contrario, en sustratos minerales puros donde la actividad microbiana puede ser inferior, la dependencia a la fertilización aumenta (Arrazola-Cardenas *et al.*, 2020). Las plantas de maguey pulquero y agave de más de un año pueden responder adecuadamente a los esquemas de fertilización (Cruz-Vasconcelos *et al.*, 2020). Sin embargo, aún se requiere evaluar el crecimiento del agave en condiciones estandarizadas para determinar los requerimientos reales de elementos y diferenciar el efecto de la interacción de los tratamientos secundarios aplicados durante las evaluaciones de nutrimentos (Martínez *et al.*, 2012; García-Martínez *et al.*, 2020).

La fotoinhibición es la reducción de la funcionalidad de los complejos cosechadores de luz situados en el cloroplasto causada por la saturación de luz, y puede resultar momentáneamente como una respuesta natural a la alta exposición a la luz solamente, o como una condición crónica por el efecto combinado con otros factores de estrés, y puede medirse *in vivo* por la máxima eficiencia del rendimiento cuántico del Fotosistema II con la relación F_v/F_m (Morales *et al.*, 2008). La deficiencia de nutrimentos puede reducir la biosíntesis de los organelos fotosintéticos activos o de las sustancias relacionadas con los procesos fotoquímicos, como la deficiencia de hierro (Fe) puede reducir el número y calidad de las membranas fotosintéticas; la deficiencia de nitrógeno (N) puede reducir considerablemente el área foliar y la productividad fotosintética (Morales *et al.*, 2008).

Las ecorregiones donde los cultivos tradicionales han reducido la productividad esperada debido a factores climáticos y abióticos como la sequía y la pérdida de calidad del suelo, las plantas de maguey pulquero pueden ser una alternativa de cultivo gracias a su adaptabilidad a suelos pobres, su alta eficiencia en el uso del agua y su uso potencial para la producción de bioetanol (García-Moya *et al.*, 2011). La riqueza genética de las variedades de maguey pulquero puede servir de apoyo a los programas de mejoramiento genético. A la vez que se requieren más estudios sobre los requisitos de cultivo de las plántulas de maguey pulquero, si se considera la necesidad de satisfacer la demanda creciente de productos de maguey pulquero y su uso potencial como materia prima para producción de bioetanol en tierras marginales. Aún se requiere determinar los parámetros adecuados de crecimiento de plántulas de maguey pulquero para su producción comercial.

Con base en lo anterior, la hipótesis de este estudio fue que la evaluación de la variación fenotípica de las variedades de maguey pulquero que crecen en condiciones de invernadero podría ayudar a identificar genotipos ideales para la producción comercial y a determinar sus requerimientos de nutrimentos y sustratos. Por lo tanto, el objetivo fue evaluar el efecto de cuatro sustratos combinados con cuatro concentraciones

de solución nutritiva Douglas en el crecimiento y el rendimiento cuántico máximo del Fotosistema II de tres variedades de maguey (*Agave mapisaga* – una; y *A. salmiana* – dos) en condiciones de invernadero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico y sustratos

Las semillas de *Agave mapisaga* (variedad Penca larga) y *A. salmiana* (variedades Manso y Xamini) fueron recolectadas de inflorescencias en el Cardonal, Hidalgo, México (20° 37' N y 99° 7' O), ubicado en el Valle del Mezquital, donde los suelos predominantes son Leptosoles con gran abundancia de rocas calcáreas como material parental (INEGI, 1992). Ambas especies del subgénero *Agave* pertenecen al grupo Salmianae (Gentry, 1982). Las semillas se colocaron en cajas Petri con papel humedecido; se germinaron en una cámara de crecimiento a 28 °C y con un periodo de luz y oscuridad de 16 h / 8 h. Al cabo de cinco días, cuando se alcanzó la máxima germinación acumulada, las plántulas se trasplantaron a los sustratos en condiciones de invernadero, con una sombra de 50% durante dos meses; posteriormente, se eliminó la sombra. Todas las plántulas se regaron diariamente con agua potable durante un mes; a partir de entonces, se iniciaron los tratamientos con solución nutritiva.

Se utilizaron cuatro sustratos. Primero, mezcla de sustrato comercial (CSM) musgo de turba: agrolita: vermiculita 2:1:1; segundo, mezcla de suelo agrícola con escoria volcánica (SVM) 1:1; tercero, sólo suelo agrícola (S); y cuarto, sólo escoria volcánica (VS). El suelo se recolectó de campos agrícolas de Tlajomulco, Zempoala, Hidalgo, que se encuentran a 19° 54' 14" N y 98° 33' 04" O, en la región del Eje Neovolcánico Transversal Mexicano. En el lugar hay plantas cultivadas de maguey pulquero (*Agave salmiana*) y poblaciones silvestres de *Agave* spp. El material parental predominante del suelo fue toba volcánica andesítica con material intrusivo de rocas sedimentarias calcáreas; el suelo se clasificó como Andosol (IUSS 2015). La escoria volcánica andesítica se recolectó de una cantera en la misma localidad de Tlajomulco, con un tamaño de partícula promedio de ≤ 5 mm. Los recipientes utilizados fueron bolsas de plástico de 30 × 30 cm, con 5 L de capacidad. Las características físicas y químicas de cada sustrato se evaluaron por triplicado a partir de submuestras colectadas al azar.

Características físicas de los sustratos

La densidad aparente (AD p/v) se evaluó con el método de la probeta; se introdujo sustrato seco en la probeta y se golpeó suavemente hasta que no se observó ninguna reducción de volumen (100 mL); luego se pesó el sustrato y se calculó la AD según el peso/volumen g mL^{-1} . La porosidad se evaluó con el método gravimétrico según Landis *et al.* (1990), los sustratos se colocaron en recipientes de plástico de 130 mL y se saturaron lentamente con agua. El agua añadida representó la porosidad total (TP %): $[\text{agua utilizada (mL)} / \text{volumen del recipiente (mL)}] \times 100$. Luego, el recipiente se drenó y el agua recogida representó la porosidad del aire (AP %): $[\text{agua drenada (mL)} / \text{volumen del recipiente (mL)}] \times 100$. Por último, la capacidad de retención de agua (WH %) se calculó con la porosidad total (%) - la porosidad del aire (%).

Características químicas de los sustratos

El pH de los sustratos se midió con un medidor de pH (Hanna Instruments, HI991301 Rumanía) en una suspensión de suelo: agua destilada, relación 1: 2. El contenido de materia orgánica (OM) se evaluó con base en el método redox de Walkley y Black; los sustratos se tamizaron hasta un tamaño de partícula de ≤ 0.3 mm, y se pesaron 0.1 g para el sustrato comercial CSM, y 0.5 g para el resto de los sustratos; el procedimiento y los cálculos de la OM se realizaron según Aguilar *et al.* (1987). El contenido de nitrógeno total (NC) de los sustratos se determinó con el método micro-Kjeldahl, los sustratos se tamizaron hasta un tamaño de partícula ≤ 0.212 mm, luego se pesaron 0.1 g de CSM, 2.5 g de VS y 1 g de S y SVM. El NC se calculó según Aguilar *et al.* (1987). La capacidad de intercambio catiónico (CEC) (cmol kg^{-1}) de los sustratos se determinó con el método de acetato de amonio 1 N, según Aguilar *et al.* (1987); los sustratos se tamizaron hasta un tamaño de partícula de ≤ 2 mm, luego se pesaron 2 g de CSM, 6 g de VS, 5 g de S y SVM.

Riego y fertilización

La solución nutritiva base modificada de Douglas (1976) se formuló de acuerdo con la concentración de elementos requeridos, dada por los siguientes compuestos: 500 ppm de N de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ y KNO_3 . Este último proporcionó 300 ppm de K, 100 ppm de P de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ y H_3PO_4 , 300 ppm de Ca de $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y nitrato de calcio utilizado para el N, 150 ppm de Mg de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 6 ppm de Fe de $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.1 ppm de Cu a partir de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 1 ppm de B a partir de H_3BO_3 , 1 ppm de Mn a partir de $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.1 ppm de Zn a partir de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, y 200 ppm de S que aportan todos los compuestos.

Para evitar toxicidad por los nutrientes, la solución nutritiva base se diluyó en cuatro etapas, en cada una de las cuales se realizaron las respectivas diluciones de la solución nutritiva base utilizada según los tratamientos de solución nutritiva L1 = 0 %, L2 = 25 %, L3 = 50 % y L4 = 100 % aplicados. Primera etapa: durante el primer mes las plantas se regaron con agua potable diariamente y no se utilizó ninguna solución nutritiva. Segunda etapa: del segundo al tercer mes la solución nutritiva base estuvo con un 25 % de concentración. En la tercera etapa, del cuarto al octavo mes, la solución nutritiva base estuvo a una concentración de 75 %; durante las etapas mencionadas, la solución nutritiva aplicada fue de 83 mL por planta una vez por semana, y todas las plantas se regaron tres veces por semana con agua potable. La cuarta etapa, del 8º al 10º mes, la solución nutritiva base estuvo a una concentración de 100%; en esta última etapa la solución nutritiva que se aplicó fue de 125 mL por planta dos veces por semana y se regó tres veces por semana con agua potable.

Crecimiento, acumulación de biomasa y evaluación de la fluorescencia

Después de diez meses de crecimiento, se evaluó *in vivo* la eficiencia máxima del rendimiento cuántico del Fotosistema II de la hoja mayor utilizando un Handy PEA (Hansatech Instruments Ltd, Norfolk UK). Las plantas fueron incubadas en la oscuri-

dad durante 20 minutos y después irradiadas con un pulso de luz roja (640 nm) a 600 W m^{-2} (Morales *et al.*, 2008). Con los valores obtenidos, la variable considerada fue la relación F_v/F_m medida por triplicado en diferentes puntos de la misma hoja. Luego, se cosecharon las plantas, se enjuagó la raíz con agua potable y se evaluó la longitud y anchura máximas de la hoja más grande de la planta con un micrómetro (Mitutoyo, Japón). Se contaron todas las hojas desplegadas, se excluyó el meristemo apical (espiga central). Luego, se secó la biomasa vegetal en un horno eléctrico (70°C) hasta alcanzar un peso constante; la biomasa seca total, de raíces y de la parte aérea se pesaron en una balanza analítica (Sartorius, Alemania).

Diseño experimental

El experimento se estableció en un diseño completamente al azar, una planta fue la unidad experimental de los tipos evaluados, Penca Larga (*A. mapisaga*), Manso y Xamini (ambas *A. salmiana*) bajo el efecto de interacción de los sustratos (cuatro niveles) y la concentración de la solución nutritiva (cuatro niveles), esta interacción consistió en 16 tratamientos y se utilizaron cinco réplicas por tratamiento ($n = 5$). Los resultados se evaluaron con ANVA de dos vías y por la interacción de sustrato $\times$ concentración de solución nutritiva (16 tratamientos). Se realizó una comparación de medias con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) en SAS v. 6.12. Cuando se consideró oportuno, se realizó un análisis multivariante con dendrograma jerárquico (enlace completo) con distancia de bloque habitacional y datos estandarizados en el paquete estadístico Statgraphics 19.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tamaño de la hoja y asignación de biomasa

De acuerdo con el ANVA de dos vías de los resultados, Penca larga (*A. mapisaga*) mostró los valores más altos en todas las variables de crecimiento evaluadas, excepto por el hecho de que todas las variedades tuvieron valores promedio similares en cinco hojas liberadas del meristemo apical. Mientras que las dos variedades de *A. salmiana*, Manso y Xamini mostraron resultados intermedios similares en todas las variables evaluadas (Cuadro 1). Los sustratos evaluados mostraron un incremento en todas las variables de crecimiento de las variedades de maguey pulquero proporcional al siguiente orden: mezcla de suelo agrícola y escoria volcánica (SVM) $>$ solo suelo agrícola (S) $>$ mezcla de sustrato comercial (CSM) $>$ solo escoria volcánica (VS) (Cuadro 1). La concentración más alta de la solución nutritiva (L4 = 100 %) presentó los mayores valores de todas las variables de crecimiento, excepto la biomasa de las raíces, en la que no se observaron diferencias (Cuadro 1).

El análisis de interacción de los sustratos $\times$ concentración de la solución de nutrientes (16 tratamientos) mostró una tendencia de crecimiento en Penca larga para las variables de asignación de biomasa. En los sustratos SVM y S, Penca Larga mostró valores elevados de biomasa similares, independientemente de la concentración de la solución nutritiva utilizada de L1 a L4 (Cuadro 2). Por el contrario, para Manso y Xamini (ambas variedades de *A. salmiana*) la ausencia de solución nutritiva en el sustrato

Cuadro 1. Efecto de los sustratos y las concentraciones de la solución nutritiva en el crecimiento y la eficiencia fotosintética de las plantas de maguey pulquero propagadas a partir de las variedades Penca larga (de *Agave mapisaga*), y Manso y Xamini (ambas de *A. salmiana*) del Valle del Mezquital.

Factores	Hoja más grande			Biomasa seca			PSII
Niveles	L [†]	W [‡] (cm)	NL [§]	R [¶]	S [‡] (g)	T ⁺⁺	Fv/Fm ^{¶¶}
Variedad							
Penca l.	4.35 a	1.46 a	5.02 a	1 a	3.11 a	4.12 a	0.79 a
Manso	3.72 c	1.33 b	5.04 a	0.72 b	2.17 b	2.9 b	0.76 b
Shamini	4.1 b	1.28 b	4.9 a	0.71 b	2.36 b	3.08 b	0.75 b
Sustrato							
CSM ^{§§}	3.41 c	1.24 c	4.58 c	0.56 c	1.81 c	2.37 c	0.75 b
SVM ^{b¶}	5.29 a	1.63 a	5.75 a	1.31 a	3.99 a	5.3 a	0.8 a
S ^{***}	4.66 b	1.43 b	5.43 b	0.94 b	2.98 b	3.92 b	0.78 a
VS ⁺⁺⁺	2.87 d	1.13 d	4.18 d	0.45 c	1.43 c	1.89 c	0.73 b
Sol. nut.							
L1 ^{¶¶¶}	3.38 c	1.16 c	4.11 c	0.7 ab	1.88 b	2.58 b	0.7 b
L2 ^{§§§}	4.02 b	1.31 b	5.06 b	0.76 ab	2.3 b	3.07 b	0.78 a
L3 ^{b¶¶}	4.25 b	1.41 b	5.35 a	0.9 a	2.9 a	3.8 a	0.78 a
L4 ^{****}	4.57 a	1.56 a	5.42 a	0.88 ab	3.08 a	3.96 a	0.79 a

Variables de respuesta evaluadas [†]L: longitud; [‡]W: anchura; [§]NL: número de hojas; [¶]R: raíz; [‡]S: parte aérea; ⁺⁺T: total; ^{¶¶}Fv/Fm: rendimiento cuántico máximo del Fotosistema II. Los sustratos utilizados fueron ^{§§}CSM: mezcla de sustrato comercial a base de musgo de turba; ^{¶¶}SVM: mezcla de suelo agrícola y escoria volcánica; ^{***}S: solo suelo agrícola; ⁺⁺⁺VS: solo escoria volcánica. Las concentraciones de la solución nutritiva utilizadas fueron ^{¶¶¶}L1: 0 %; ^{§§§}L2: 25 %; ^{¶¶¶}L3: 50 %; y ^{****}L4: 100 %. Los valores medios dentro de la columna por factor con letras diferentes son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

SVM (SVM+L1) permitió una mayor acumulación de biomasa total en comparación con la reducción de biomasa total ocurrida en su respectivo tratamiento S+L4 (Cuadro 2). Estos resultados sugieren que la concentración máxima de la solución nutritiva L4 (100 %) aplicada al suelo agrícola solo (S) causó toxicidad por nutrientes a las dos variedades de *A. salmiana*; por otro lado, el efecto de S+L4 en *A. mapisaga* duplicó la parte aérea y la biomasa total acumulada respecto a ambas variedades de *A. salmiana* (Cuadro 2).

Manso y Xamini mostraron una asignación óptima de biomasa a través de la interacción de SVM y todas las concentraciones de solución nutritiva, en este sustrato, el contenido de suelo agrícola se redujo a la mitad por la escoria volcánica añadida, lo que consecuentemente redujo la CEC a la mitad y la capacidad de retención de agua en comparación con S (Cuadro 3). Por lo tanto, una menor retención de cationes y una mayor infiltración de agua en SVM disminuyeron la acumulación de nutrientes y los riesgos de una potencial toxicidad de nutrientes en L4 para ambas variedades de *A. salmiana*.

Cuadro 2. Efecto de los sustratos y de las concentraciones de la solución nutritiva en la acumulación de biomasa (g) seca de raíces (R), parte aérea (S) y total (T) de plantas de maguey pulquero propagadas a partir de las variedades de Penca larga (*Agave mapisaga*), Manso y Xamini (ambas de *A. salmiana*) del Valle del Mezquital.

Tratamiento	Penca larga			Manso			Xamini		
	R [†]	S [‡]	T [§]	R [†]	S [‡]	T [§]	R [†]	S [‡]	T [§]
CSM ^b +L1 ^{§§}	0.16 ef	0.45 f	0.6 e	0.21 b	0.39 ef	0.6 fg	0.13 c	0.38 e	0.51 e
CSM+L2 ^{bp}	0.44 def	1.12 ef	1.56 de	0.66 b	1.69 cdef	2.34 cdefg	0.55 abc	1.66 cde	2.21 cde
CSM+L3 ^{mm}	0.64 cdef	2.18 cdef	2.82 bcde	0.81 b	2.64 abcd	3.46 abcd	0.76 abc	2.55 bcd	3.35 abcde
CSM+L4 ⁺⁺⁺	0.84 bcdef	3.59 abcde	4.43 abcd	0.49 b	2.05 bcdef	2.54 bcdefg	0.98 ab	2.92 abcd	3.9 abcd
SVM ^c +L1	1.89 a	4.54 abc	6.43 a	2.17 a	3.75 ab	5.91 a	1.37 a	4.65 a	6.18 a
SVM+L2	1.61 abc	4.98 ab	6.59 a	1.02 b	3.4 abc	4.41 abc	1.05 ab	3.32 abc	4.37 abc
SVM+L3	1.7 ab	6.04 a	7.75 a	0.7 b	2.18 abcde	2.89 bcdefg	1.35 a	4.11 ab	5.46 ab
SVM+L4	1.46 abcd	4.24 abc	5.7 ab	0.97 b	4.06 a	5.03 ab	0.81 abc	3.27 abc	4.83 abcd
S ⁺⁺ +L1	1.16 abcde	3.98 abcd	5.14 abc	0.96 b	2.98 abc	3.94 abcd	0.63 abc	2.28 bcde	2.92 bcde
S+L2	1.11 abcde	3.34 bcde	4.45 abcd	0.81 b	2.92 abc	3.73 abcd	0.85 abc	2.35 bcde	3.2 bcde
S+L3	1.47 abcd	4.27 abc	5.74 ab	0.73 b	2.46 abcd	3.19 bcdef	1.04 ab	3.49 abc	4.53 abc
S+L4	1.55 abc	3.98 abcd	5.53 ab	0.59 b	1.96 bcdef	2.55 bcdefg	0.42 bc	1.86 cde	2.28 cde
VS ^{¶¶} +L1	0.05 f	0.24 f	0.29 e	0.06 b	0.16 f	0.22 g	0.13 c	0.39 e	0.52 e
VS+L2	0.46 def	1.35 def	1.81 cde	0.33 b	0.73 def	1.05 efg	0.38 bc	0.97 de	1.34 de
VS+L3	0.75 bcdef	2.1 cdef	2.85 bcde	0.36 b	0.94 def	1.3 defg	0.48 bc	1.46 cde	1.94 cde
VS+L4	1.13 abcde	4.26 abc	5.39 ab	0.83 b	2.45 abcd	3.28 abcd	0.6 abc	2.44 bcde	3.44 bcde

El crecimiento de todas las variedades en CSM y VS fue proporcional al incremento de la concentración de la solución nutritiva aplicada, mientras que la ausencia de solución nutritiva (L1) en ambos sustratos restringió el crecimiento de las plantas (Cuadro 2). A pesar de que el CSM poseía mejores características químicas que los otros sustratos,

Cuadro 3. Evaluación de las características físicas de los sustratos: densidad aparente (g cm⁻³), total, porosidad del aire (%) y capacidad de retención de agua (WHC) (%); y características químicas de los sustratos: materia orgánica total (%), nitrógeno total (%), capacidad de intercambio catiónico (CEC) (cmol kg⁻¹) y pH.

Físicas	CSM [†]	SVM [‡]	S [§]	VS ^b
Densidad aparente	0.187 ± 0.013	1.07 ± 0.23	0.91 ± 0.244	1.15 ± 0.18
Porosidad total	76.92 ± 1.28	50.19 ± 1.37	54.87 ± 2.64	51.15 ± 0.88
Porosidad del aire	14.61 ± 1.34	9.23 ± 0.85	7.69 ± 2.57	17.34 ± 0.57
WHC	62.31 ± 0.63	40.96 ± 1.86	47.18 ± 0.92	33.8 ± 0.85
Químicas	CSM	SVM	S	VS
Materia orgánica	20.1 ± 1.77	3.75 ± 1.11	5.5 ± 1.11	0.59 ± 0.14
Nitrógeno total	2.7 ± 0.71	0.27 ± 0.07	0.32 ± 0.19	0.02 ± 0.01
CEC	73.2 ± 4.16	26.1 ± 2.99	49.1 ± 5.75	8.7 ± 2.9
pH	6.5 ± 0.52	8.1 ± 0.37	7.9 ± 0.4	8.05 ± 0.36

[†]CSM: mezcla de sustrato comercial; [‡]SVM: mezcla de suelo agrícola y escoria volcánica; [§]S: solo suelo agrícola; ^bVS: solo escoria volcánica. Valores medios (n = 3) ± desviación estándar.

como un mayor contenido de materia orgánica, contenido total de nitrógeno y una alta CEC (Cuadro 3), el desequilibrio iónico pudo ocurrir en el sustrato CSM, el cual redujo los valores medios de la biomasa total de todas las variedades en relación con el respectivo efecto en los sustratos S y SVM (Cuadro 1).

Los sustratos basados en musgo de turba tienden a acumular NH_4^+ debido a la elevada materia orgánica cruda (OM), cuya descomposición tiende a acidificar el medio. Estas condiciones son adecuadas para la proliferación de hongos, mientras continúe la acidificación y el antagonismo entre los microorganismos, pueden reducir la permanencia de bacterias nitrificantes. Además, las condiciones ácidas podrían promover la reducción de las formas oxidadas (NO_3^-) añadidas por la solución nutritiva a una forma reducida (NH^+) (Landis *et al.*, 1990). Las formas reducidas de N pueden ser fitotóxicas bajo ciertas condiciones; sin embargo, las características del musgo de turba son toleradas y adecuadas para las especies de bosque templado (Landis *et al.*, 1990). En este estudio, el CSM estaba compuesto por un 50 % de musgo de turba y el resto era material mineral inocuo, según el efecto causado por el CSM en las plantas de todas las variedades, como la reducción de la biomasa (Cuadro 1) en función de la ausencia de solución nutritiva (Cuadro 2), indicó que el CSM dificultó el crecimiento de las plantas evaluadas. El CSM tuvo la CEC más alta en todos los sustratos evaluados (Cuadro 3), de lo que se infiere una mayor retención de cationes, incluyendo el NH_4^+ . Aun cuando el uso de musgo de turba para la producción comercial de Agave parece inadecuado debido a sus altos costos e incompatibilidad con los requerimientos de crecimiento del Agave y la dependencia de la adición de solución nutritiva, la evaluación del CSM fue útil para dilucidar la potencial sensibilidad de las variedades evaluadas de la región del Cardonal al potencial desequilibrio iónico causado por este sustrato.

La tendencia de crecimiento observada en todas las variedades a través de los tratamientos del sustrato VS demostró que éste restringió el crecimiento de las plantas como consecuencia de las deficientes características físicas y químicas que permitieron una capacidad de retención de agua inferior y una retención menor de nutrimentos debido a la baja CEC (Cuadro 3). La mezcla de suelo agrícola y escoria volcánica (SVM) mejoró las características químicas y físicas, en comparación con los efectos individuales de cada sustrato. El uso de suelo agrícola para producción en vivero del maguey pulquero en contenedores puede ser adverso, ya que podría promover la extracción de suelo, lo que eventualmente reduciría la tierra cultivable. Por otro lado, el uso de escoria volcánica en México como sustrato para la producción hidropónica está ampliamente extendido debido a su disponibilidad alta y costos bajos hasta el momento (Gutiérrez-Castorena *et al.*, 2011). Por lo tanto, la escoria volcánica puede apoyar y reducir los costos de producción de maguey pulquero en vivero.

Los resultados de esta investigación sugieren que la forma de suministro de nutrientes utilizada en el experimento fue inadecuada para la VS, ya que la alta infiltración de agua y la escasa retención de nutrientes restringieron el crecimiento de las plantas. Es posible que los fertilizantes de liberación lenta sean una opción mejor para ese sustrato. Además, las características físicas y químicas de la escoria volcánica pueden ser

mejoradas a través de enmiendas, como residuos agroindustriales u otros materiales orgánicos (Gutiérrez-Castorena *et al.*, 2011). A pesar de las condiciones limitantes de la VS para el crecimiento de las plantas de maguey pulquero evaluadas en este estudio, Penca larga exhibió una mayor asignación de biomasa total en las concentraciones de la solución nutritiva de L2 a L4, respecto a Manso y Xamini (Cuadro 2).

Según los rasgos morfológicos de las variedades de *A. mapisaga*, han sido descritas como altamente homogéneas debido a una intensa selección artificial, en comparación con las variedades altamente diversas de *A. salmiana* (Mora-López *et al.*, 2011). Los análisis de ADN han mostrado un potencial flujo genético entre algunas poblaciones de *A. salmiana* y las variedades de *A. mapisaga*, de lo que se infiere que la influencia humana podría permitir la hibridación entre ambas especies, mientras que los elementos abióticos específicos de una región/microhábitat y la alta plasticidad que caracteriza a las plantas de agave pueden conformar las divergencias/similitudes morfológicas (Alfaro *et al.*, 2007; Trejo *et al.*, 2020). La riqueza genética subyacente de *A. mapisaga*, capaz de superar el estrés, puede ser subestimada por sus rasgos morfológicos homogéneos que podrían suponer una baja variación genética.

Estudios realizados en plantas de maguey pulquero de cinco meses de edad (*A. mapisaga* y *A. salmiana*) a partir de semillas recolectadas en el mismo sitio de Metepec, Hidalgo, en la región del maguey pulquero, mostraron que *A. mapisaga* acumuló mayor biomasa seca total en comparación con *A. salmiana*, ambos fueron sometidos durante 30 días a un tratamiento de temperatura de 45 °C aplicado desde las 11 am a las 3 pm horas bajo un régimen de temperaturas de 25/15 °C durante 12/12 h (Jiménez-Torres *et al.*, 2021). Tomando en consideración el proceso de humanización de *A. mapisaga* que ha favorecido la selección de plantas de mayor tamaño (Mora-López *et al.*, 2011) y su adaptación fisiológica a temperaturas de estrés (Jiménez-Torres *et al.*, 2021); estos rasgos podrían influir en las respuestas observadas en este estudio, ya que *A. mapisaga* mostró un crecimiento óptimo en todos los tratamientos en relación con las variedades de *A. salmiana* (Cuadro 1).

Las diferencias de crecimiento de las variedades de *A. salmiana* observadas en este estudio pueden asociarse también al proceso de humanización. Manso es una de las variedades más utilizadas de *A. salmiana* y ampliamente distribuida en la región del maguey pulquero en el centro de México (Mora-López *et al.*, 2011). Se caracteriza por plantas de gran tamaño con dientes pequeños y margen de la hoja liso; estos rasgos son apreciados por los productores de maguey pulquero, quienes suelen introducir plantas cultivadas o silvestres de una ecorregión a otra para cumplir con sus requerimientos de plantación. Por lo tanto, el comercio de plantas y la introducción de plantas de Manso de diferentes ecorregiones podría aumentar la variabilidad morfológica y genética de la variedad Manso (Alfaro *et al.*, 2007; Mora-López *et al.*, 2011; Trejo *et al.*, 2020); mientras que la reproducción sexual aumenta el acervo genético y la diversidad morfológica (Cruz-Vasconcelos *et al.*, 2020). En este estudio, se realizó un análisis multivariante de dendrograma jerárquico, a partir de las variables anchura y longitud de la hoja más grande de todas las plantas bajo el tratamiento S+L1; los individuos

de Manso se encontraban dispersos aleatoriamente dentro de los diferentes grupos (Figura 1), de lo cual se dedujo que el agrupamiento de los individuos de Manso era menor. Esto significa una mayor diversidad morfológica foliar y de crecimiento bajo el tratamiento S+L1.

Por otro lado, los individuos de Xamini mostraron un claro agrupamiento dentro del dendrograma bajo el tratamiento S+L1 (Figura 1) y S+L4 (Figura 2), lo cual permite deducir que existió menor variación morfológica de las plantas de Xamini en comparación con Penca larga y Manso, independientemente de las diferencias de dosificación de la solución nutritiva. Esto puede explicarse porque la variante Xamini se ha cultivado principalmente en el Valle del Mezquital; es una planta más pequeña, con menor producción de savia y hojas con dientes más grandes, y esos son rasgos indeseables para la mayoría de los productores de maguey pulquero. Por lo tanto, el interés de introducir Xamini en otros lugares más allá del Valle del Mezquital es aparentemente reducido. Esta variedad, entonces, se ha adaptado al Valle del Mezquital a través de varias generaciones. Las comunidades otomíes de la localidad de Cardonal han utilizado la variedad Xamini tradicionalmente (Reyes-Aguero *et al.*, 2019), región con clima árido, y suelos Leptosoles originados por rocas sedimentarias calcáreas (INEGI, 1992).

La adaptación de las plantas progenitoras de Xamini a los elementos abióticos del Cardonal puede ayudar a explicar la variación de crecimiento observada en este estudio. Los sustratos SVM y S estaban compuestos por un suelo agrícola, donde en SVM+L1 (mitad de suelo sin solución nutritiva) exhibió mejores condiciones de crecimiento para Xamini que en S+L1 (100 % suelo agrícola) donde redujo su biomasa total y de

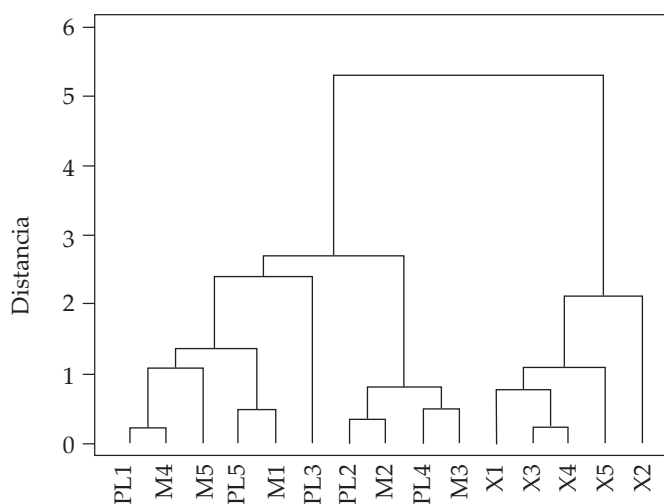


Figura 1. Dendrograma construido con las variables longitud y anchura de la hoja más grande de las variedades Penca larga (PL) *Agave mapisaga*, Manso (M) y Xamini (X) ambas *A. salmiana*, bajo el tratamiento de suelo agrícola solo, sin solución nutritiva (S+L1). Los números que aparecen junto a las siglas de cada variedad corresponden a la réplica respectiva.

la parte aérea (Cuadro 2). Se utilizó un suelo agrícola tipo Andosol como sustrato S, con material parental dominante de toba volcánica andesítica. Los andosoles poseen abundantes minerales óxido-hidróxidos de aluminio y de hierro, que confieren una alta capacidad de retención de aniones y estabilización de la materia orgánica del suelo (IUSS, 2015); además, el manejo agrícola podría aumentar la pérdida de microestructura, debido a la labranza continua que conduce a la compactación (Naderi-Boldaji y Keller, 2016). Por el contrario, los Leptosoles de las regiones áridas son ricos en gravas poco profundas con procesos de baja formación edáfica (IUSS, 2015); características que confieren baja capacidad de retención de agua, menor capacidad de retención de nutrientes y estructura suelta. En este estudio, las características químicas y físicas del sustrato S en combinación con un mayor régimen de fertirrigación, pudieron limitar la acumulación de biomasa total y de la parte aérea de Xamini, que se atenuaron en el sustrato SVM.

La adición de la máxima concentración de solución nutritiva (L4) en el sustrato S (S+L4) permitió una clara agrupación de los individuos dentro de sus respectivas variedades (Figura 2). La máxima concentración de solución nutritiva (L4) en el sustrato S redujo significativamente la longitud de la hoja más grande en ambas variedades de *A. salmiana* en comparación con sus respectivos tratamientos sin solución nutritiva (S+L1); asimismo, se observó una reducción de la biomasa total y de la parte aérea en Xamini bajo S+L4 (Cuadro 2). Estos resultados sugieren que el estrés potencial ejercido por la mayor concentración de nutrientes en S podría desencadenar respuestas fisiológicas específicas en cada variedad, con la consecuente variación fenotípica, como la reducción del tamaño de la hoja (Jiménez-Torres *et al.*, 2021).

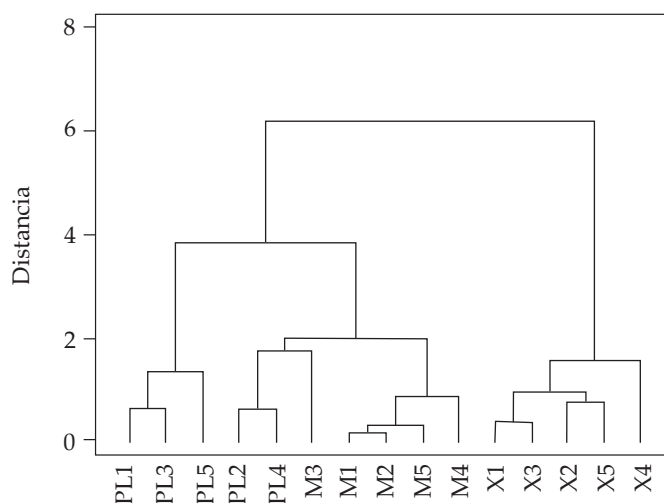


Figura 2. Dendrograma construido con las variables longitud y anchura de la hoja más grande de las variedades Penca larga (PL) *Agave mapisaga*, Manso (M) y Xamini (X) ambas *A. salmiana*, bajo el tratamiento de suelo agrícola solo, con 100 % de concentración de solución nutritiva (S+L4). Los números que aparecen junto a las siglas de cada variedad corresponden a la réplica respectiva.

Los resultados de este estudio pueden ayudar a identificar los requerimientos de nutrientes de las plántulas de maguey pulquero según el sustrato utilizado y la edad de las plantas. Los programas de fertilización en los sustratos S y SVM fueron innecesarios, ya que el suelo agrícola proporcionaría los nutrimentos requeridos para un crecimiento óptimo en todas las variedades evaluadas. El crecimiento más lento de las plantas CAM respecto a las C3 o C4 podría reducir los requerimientos nutrimentales de las plantas jóvenes de maguey pulquero en las primeras etapas de crecimiento (Nobel *et al.*, 1991).

Si se tienen en cuenta las características físicas y químicas del suelo agrícola utilizado en este estudio (Cuadro 3) y además la potencial presencia de microorganismos benéficos del suelo y de endófitos de *Agave* que promueven el crecimiento de la planta (Beltrán-García *et al.*, 2014; Bautista-Cruz y Martínez-Gallegos, 2020), se infiere que dichas características proporcionaron las condiciones óptimas para el crecimiento de las plantas de 10 meses de edad de todas las variedades.

En un estudio de fertilización nitrogenada realizada en bulbillos de *Agave cocui* en condiciones de invernadero con suelo como sustrato, estos bulbillos no mostraron diferencias estadísticas en la acumulación de biomasa fresca y en la longitud de las hojas entre el tratamiento control 0 y 0.5 g de fertilización con nitrato de amonio, lo que demostró un adecuado crecimiento en el suelo independientemente de la adición de nitrógeno (Díaz *et al.*, 2011). Por otro lado, el exceso de nitrógeno puede afectar el desarrollo de la planta en esa etapa temprana de crecimiento; en ese mismo estudio la aplicación de 1 g de nitrato de amonio mostró toxicidad e inhibición del crecimiento de la planta (Díaz *et al.*, 2011).

En este estudio, la acumulación de biomasa total de todas las variedades en VS mejoró con la fertilización mineral, y se alcanzó una mayor biomasa en la concentración del 100% de la solución nutritiva (Cuadro 2). No obstante, las características físicas y químicas de la VS, que permitieron una alta infiltración de agua y una retención restringida de nutrimentos (Cuadro 3), pudieron sobreestimar los requerimientos nutrimentales a la edad evaluada. En el mismo sentido, estudios realizados en plántulas de la variedad Xamini (*A. salmiana*) de Cardonal que crecieron en perlita, mostraron que después de 168 días la acumulación de biomasa total y el crecimiento de las hojas, fue similar en el tratamiento de menor concentración de nutrimentos de la solución Steiner al 25 % en comparación con la concentración del 100 % (ambos tratamientos se aplicaron una vez cada tres días), esto sugirió que la concentración del 25 % era la adecuada para el crecimiento de Xamini (Arrazola-Cardenas *et al.*, 2020).

Fluorescencia del Fotosistema II (Fv/Fm)

El ANVA de dos vías mostró que la variante Penca larga (*A. mapisaga*) exhibió la mayor eficiencia de rendimiento cuántico del Fotosistema II (Fv/Fm); asimismo, los sustratos compuestos por suelo agrícola, SVM y S, registraron mayores valores de Fv/Fm en comparación con CSM y VS. Por el contrario, la ausencia de la solución nutritiva (L1) mostró los menores resultados de Fv/Fm, mientras que la concentración máxima

de solución nutritiva (L4) tuvo los valores mayores de Fv/Fm (Cuadro 1). La interacción entre sustrato x concentración de la solución de nutrientes del tratamiento VS+L1 generó los valores más bajos de Fv/Fm en todas las variedades evaluadas (Cuadro 4). Estos resultados inferiores de Fv/Fm en todas las variedades indicaron que había una fotoinhibición, como consecuencia de la deficiencia nutrimental causada por el tratamiento VS-L1 (Cuadro 4), ya que la escoria volcánica y el agua no proporcionaron nutrimentos suficientes para el desarrollo de la planta. La deficiencia nutrimental puede afectar la elongación de la hoja y la biosíntesis de los organelos fotosintéticos directamente relacionados con la productividad fotosintética (Morales *et al.*, 2008). En este estudio, Penca larga y Xamini mostraron valores reducidos de Fv/Fm en CSM+L1 como consecuencia del potencial desequilibrio iónico y la deficiencia de nutrientes. Sin embargo, estos resultados fueron estadísticamente similares al resto de los tratamientos respectivos en CSM (Cuadro 4), lo cual indicó la funcionalidad del complejo de recolección de electrones, independientemente de la deficiencia de nutrimentos en CSM. Las plantas de Agave exhiben aclimatación del sistema fotoquímico

Cuadro 4. Efecto de los sustratos y las concentraciones de la solución nutritiva sobre el rendimiento cuántico máximo del Fotosistema II (Fv/Fm) de la hoja más grande de las plantas jóvenes de maguey pulquero de las variedades Penca larga (de *Agave mapi-saga*), Manso y Xamini (ambas de *Agave salmiana*).

Tratamiento Sustrato* Sol. Nut.	Penca larga Fv/Fm	Manso Fv/Fm	Xamini Fv/Fm
CSM [†] +L1 [‡]	0.73 b	0.74 ab	0.62 bc
CSM+L2 ^{††}	0.8 ab	0.79 ab	0.74 ab
CSM+L3 ^{†††}	0.78 ab	0.79 ab	0.76 ab
CSM+L4 ^{§§}	0.78 ab	0.79 ab	0.76 ab
SVM [¶] +L1	0.81 a	0.79 a	0.82 a
SVM+L2	0.81 a	0.79 ab	0.79 a
SVM+L3	0.83 a	0.78 ab	0.8 a
SVM+L4	0.84 a	0.79 ab	0.79 a
S [§] +L1	0.81 a	0.79 ab	0.73 abc
S+L2	0.81 a	0.77 ab	0.78 a
S+L3	0.84 a	0.8 a	0.75 ab
S+L4	0.83 a	0.78 ab	0.75 ab
VS [‡] +L1	0.6 c	0.54 c	0.59 c
VS+L2	0.8 ab	0.79 ab	0.79 a
VS+L3	0.8 ab	0.7 b	0.83 a
VS+L4	0.84 a	0.79 a	0.81 a

Los sustratos utilizados fueron [†]CSM: mezcla de sustrato comercial; [¶]SVM: mezcla de suelo agrícola y escoria volcánica; [§]S: solo suelo agrícola; y [‡]VS: solo escoria volcánica. Las concentraciones de solución de nutrientes utilizadas fueron [‡]L1: 0 %; ^{††}L2: 25 %; ^{†††}L3: 50 %; y ^{§§}L4: 100 %. Los valores medios por columna con letras diferentes son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

al estrés; las plantas jóvenes de *A. salmiana* (de un año) expuestas a sequía severa durante 115 días de suspensión de riego, después de rehidratación mantuvieron la funcionalidad de cosecha de fotones de luz, lo cual demostró la resiliencia a este estrés por medio de mecanismos de fotoprotección (Campos *et al.*, 2014).

CONCLUSIONES

La variedad Penca larga (de *Agave mapisaga*) mostró un crecimiento superior al de Manso y Xamini (variedades de *A. salmiana*) en la mayoría de los tratamientos aplicados; excepto bajo la ausencia de solución nutritiva en la mezcla de sustrato comercial (CSM) y la escoria volcánica (VS), que restringió el crecimiento de las plantas en todas las variedades. Las características físicas y químicas del sustrato de sólo suelo agrícola (S), en combinación con la concentración máxima de nutrientes al 100 % (L4), afectaron la acumulación de biomasa total y de la parte aérea de las variedades Manso y Xamini. La escoria volcánica utilizada para la producción comercial de maguey pulquero puede ser adecuada debido a su disponibilidad alta y costo bajo en la región del maguey pulquero del centro de México, dentro del Eje Neovolcánico Transversal. Sin embargo, se sugiere mejorar las características químicas y físicas de la escoria volcánica por medio de la adición de una enmienda orgánica.

AGRADECIMIENTOS

A Zurisadai Monroy González por su valioso apoyo en el mantenimiento del invernadero y en los análisis de laboratorio.

REFERENCIAS

- Aguilar SA, Etchevers JD, Castellanos JZ. 1987. Análisis químico para evaluar la fertilidad del suelo. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. 214 p.
- Alfaro RG, Legaria SJP, Rodríguez PJE. 2007. Diversidad genética en poblaciones de agaves pulqueros *Agave* spp. del nororiente del Estado de México. Revista Fitotecnia Mexicana 30: 1–12.
- Arrazola-Cardenas L, Garcia-Nava JR, Robledo-Paz A, Ybarra-Moncada MC, Muratalla-Lua A. 2020. Substrates and doses of fertigation in the accumulation of total sugars and growth of *Agave salmiana* (Asparagaceae). Polibotanica 50: 109–118. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.50.8>
- Aspinwall MJ, Loik ME, Resco de DV, Tjoelker MG, Payton PR, Tissue DT. 2015. Utilizing intraspecific variation in phenotypic plasticity to bolster agricultural and forest productivity under climate change: phenotypic plasticity in agriculture and forestry. Plant Cell and Environment 38(9): 1752–1764. <https://doi.org/10.1111/pce.12424>
- Bautista-Cruz A, and Martinez-Gallegos V. 2020. *Agave potatorum* Zucc. growth promotion by free-living nitrogen-fixing bacteria. Terra Latinoamericana 38: 555–567. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i3.647>
- Beltran-Garcia MJ, White JFJ, Prado FM, Prieto KR, Yamaguchi LF, Torres MS, Kato MJ, Medeiros HG, Di Mascio P. 2014. Nitrogen acquisition in *Agave tequilana* from degradation of endophytic bacteria. Scientific Reports 4: 6938. <https://doi.org/10.1038/srep06938>
- Campos H, Trejo C, Peña-Valdivia CB, Garcia-Nava R, Conde-Martinez V, Cruz-Ortega M. 2014. Photosynthetic acclimation to drought stress in *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck seedlings is largely dependent on thermal dissipation and enhanced electron flux to photosystem I. Photosynthesis Research <https://doi.org/10.1007/s11120-014-0008-6>
- Cruz-Vasconcelos ST, Ruiz-Posadas L del M, Garcia-Moya E, Sandoval-Villa M, Cruz-Huerta N. 2020. Growth and CO₂ exchange rate of maguey pulquero (*Agave salmiana*) obtained by seed. Agrociencia 54: 911–926. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v54i7.2242>

- Díaz JG, Rojas G, Him de FY, Hernández N, Torrealba E, Rodríguez Z. 2011. Efecto de la fertilización nitrogenada sobre el crecimiento en vivero de Cocuy (*Agave cocui* Trelease). Revista Facultad de Agronomía (LUZ) 28 (1): 264–272.
- Douglas J. 1976. Advanced guide to hydroponics. Drake Publishers, NY, USA, 333 pp.
- García-Martínez LJ, Sánchez-Mendoza S, Bautista-Cruz A. 2020. Combination of mycorrhizal fungi and phosphorus fertilization in the growth of two wild agaves. Terra Latinoamericana 38: 771–780. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i4.702>
- García-Moya E, Romero-Manzanares A, Nobel PS. 2011. Highlights for *Agave* productivity. GCB Bioenergy 3: 4–14. <https://doi.org/10.1111/j.1757-1707.2010.01078.x>
- Gentry HS. 1982. Agaves of continental North America. The University of Arizona: Tucson, AZ, USA. 670 p.
- Gutiérrez-Castorena MC, Hernández EJ, Ortiz-Solorio CA, Anicua SR, Hernández LME. 2011. Porosity–water retention relationship in substrate mixtures and its effect on response variables in lettuce seedlings. Revista Chapingo Serie Horticultura 17: 183–196.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática). 1992. Síntesis geográfica del Estado de Hidalgo, Aguascalientes, México. https://www.inegi.org.mx/contenido/productos/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/historicos/2104/702825220945/702825220945_1.pdf (Recuperado: octubre 2021).
- IUSS (International Union of Soil Science). 2015. World reference base for soil resources 2014, actualization 2015. FAO: Rome, Italy. 203 p. <https://www.fao.org/3/i3794en/i3794en.pdf> (Recuperado: diciembre 2021).
- Jiménez-Torres JA, Peña-Valdivia CB, Padilla-Chacon D, García-Nava R. 2021. Physiological and biochemical responses of *Agave* to temperature and climate of their native environment. Flora 278: 151797. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2021.151797>
- Landis D, Tinus W, McDonald E, Barnett P. 1990. The Container Tree Nursery Manual. Department of Agriculture-Forest Service, USA 2: 41–89. https://www.fs.fed.us/rm/pubs_series/wo/wo_ah674_7.pdf
- Martínez RS, Trinidad SA, Robles C, Spinola GA, Hernández MTM, Santizo RJA, Bautista SG, Pedro SEC. 2012. Crecimiento y sólidos solubles de *Agave potatorum* Zucc. Inducidos por riego y fertilización. Revista Fitotecnica Mexicana 35: 61–68.
- Morales F, Abadía A, Abadía J. 2008. Photoinhibition and Photoprotection under nutrient deficiencies, drought and salinity. In: Photoprotection, photoinhibition, gene regulation and environment. Demming-Adams B., Adams III W.W., Mattoo A.K. (eds.); Springer: Heidelberg, Germany pp: 65–85.
- Mora-Lopez LJ, Reyes-Agüero AJ, Flores-Flores LJ, Peña-Valdivia CB, Aguirre- Rivera RJ. 2011. Morphological variation and humanization of *Agave* genus, Salmianae section. Agrociencia 45: 465–477.
- Naderi-Boldaji M, Keller T. 2016. Degree of soil compactness is highly correlated with the soil physical quality index. Soil Tillage Research 159: 41–46. <https://doi.org/10.1016/j.still.2016.01.010>
- Nobel PS. 1991. Achievable productivities of certain CAM plants: basis for high values compared with C_3 and C_4 plants. New Phytologist 119: 183–205. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1991.tb01022.x>
- Reyes-Aguero JA, Peña-Valdivia CB, Aguirre-Rivera JR, Mora-Lopez JL. 2019. Intraspecific variation of *Agave mapisaga* Trel. and *A. salmiana* Otto ex Salm-Dyck. (Asparagaceae) related to ancestral usages at the Hnahnú region in Central Mexico. Agrociencia 53: 563–579.
- Trejo L, Reyes M, Cortes-Toto D, Romano-Grande E, Muñoz-Camacho LL. 2020. Morphological diversity and genetic relationships in pulque production agaves in Tlaxcala, Mexico, by means of unsupervised learning and gene sequencing analysis. Frontiers in Plant Science 11: 524812. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.524812>



QUALITY VARIABLES OF “HASS” AVOCADO STORED IN MODIFIED ATMOSPHERE PACKAGING

Yessica Vázquez-López¹, Rosalina Iribe-Salazar², Marco Carrasco-Escalante²,
Soila Gaxiola-Camacho¹, José Caro-Corrales^{2*}

¹ Universidad Autónoma de Sinaloa. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Posgrado en Ciencias Agropecuarias. Boulevard San Ángel No. 3886, Fraccionamiento San Benito, Culiacán, Sinaloa, México. C. P. 80260.

² Universidad Autónoma de Sinaloa. Facultad de Ciencias Químico Biológicas. Posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Calzada de las Américas Norte No. 2771, Burócrata, Culiacán, Sinaloa, México. C. P. 80013.

* Corresponding author: josecaro@uas.edu.mx

ABSTRACT

Modified atmosphere packaging (MAP) and refrigeration of fruits and vegetables are used to extend their shelf life. The hypothesis of this study is that quality attributes of avocados stored in MAP at 8 °C can be preserved for a longer period, compared to room temperature (RT) or refrigeration (REF) storage; however, during post-storage ripening (PSR), these quality variables approach those of refrigeration or room temperature in a brief time. The objective of this research was to evaluate quality variables in avocado (*Persea americana* Mill.) cv. “Hass” during storage in MAP at 8 °C and PSR at 21 °C and contrast them to those obtained during storage at RT or REF. Fruits at physiological maturity and MAP bags were used. A completely randomized design was used; factors were type of storage (RT 21 °C, REF 8 °C, and MAP 8 °C), storage time (0, 8, 16, 24, and 32 d), and PSR time at 21 °C (0, 2, 4, and 6 d). Quality variables were firmness (penetration force), total colour difference (ΔE) in exocarp and mesocarp (colorimeter), pH (potentiometry), and total soluble solids (TSS, refractometry). Avocados stored in MAP retained firmness, which was higher compared to REF and RT during the storage period. Firmness retention for avocados at RT, REF, and MAP, at day 16, was 5.7, 32.6, and 87.2 %, and at day 32, it was 0 (no reading), 9.5, and 78.2 %, respectively. Total colour difference in exocarp and mesocarp, pH, and TSS ranged from 3.8 to 25.6, 3.2 to 20.3, 6.7 to 7.1, and 5.3 to 7.7 °Brix, respectively. During the storage period, fruits stored at MAP showed a firmness, ΔE of exocarp and mesocarp similar to those of fresh fruit. Type of storage showed no effect on pH and TSS, during the storage period. Modified atmosphere at 8 °C allows to extend the shelf life of “Hass” avocado for a period twice as long as that at room temperature, based on the changes in firmness and colour are reduced, properties that are important quality benchmarks.

Keywords: *Persea americana* Mill., avocado, modified atmosphere, postharvest, refrigeration.

INTRODUCTION

Avocado (*Persea americana* Mill.) is a very important fruit for the economy of México (Arana-Coronado *et al.*, 2012). In 2019, the world production was estimated at 7.3 million Mg; México was the main producer, generated 2.3 million Mg and exported 1.2

Citation: Vázquez-López Y, Iribe-Salazar R, Carrasco-Escalante M, Gaxiola-Camacho S, Caro-Corrales J. 2022. Quality variables of “Hass” avocado stored in modified atmosphere packaging. *Agrociencia*. 56(4): 805-829. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i4.2460>

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: October 23, 2021.

Approved: May 18, 2022.

Published in Agrociencia:
June 24, 2022.

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



million Mg (FAO, 2019). In México, Michoacán is the state that generates the highest production of this fruit; in 2020, it harvested 1.7 million Mg (SIAP, 2020).

Postharvest handling is very important to preserve the quality of fruits and vegetables (Espinosa-Moreno *et al.*, 2018); improper management causes economic losses. The fruits at harvest maturity continue with the ripening process after harvesting. Ripening is the process that starts from the last stages of growth and development of the fruit until the first stages of senescence. Therefore, the ripening process is an important phase to preserve quality attributes. Some of the modifications associated with the ripening process are changes in colour, firmness, sugar content, production of volatile compounds, respiratory metabolism, and ethylene production (Pech *et al.*, 2018).

Refrigeration is one of the most widely used technologies to preserve avocado fruit. Commercially, avocado is stored between 5 and 6 °C; if storage is performed at a lower temperature, it can cause chilling injury (Bill *et al.*, 2014).

Modified atmosphere packaging for fruits and vegetables is used to extend their shelf life by reducing the respiration rate, and consequently, its degradation rate; this reduction is achieved by modifying the atmosphere inside the package (Vázquez-López *et al.*, 2020). The positive effects of the atmosphere can be verified mainly by measuring the firmness and colour of the fruits which are properties that depend on the conversion of carbohydrates from cell walls into sugars and on the degradation of chlorophyll in the peel. The modified atmosphere can be created by injection into the package with a gas mixture of desired composition (active atmosphere) or from product respiration (passive atmosphere).

The active modified atmosphere is created with a continuous flow of the gaseous mixture to replace the air. The passive atmosphere is achieved with the O₂ consumption and CO₂ production, generated by the fruit inside the package. In both cases, the permeability of the packing material is important to allow the diffusion of the gases between the package and the outside, until reaching the stable modified atmosphere. Russo *et al.* (2014) reported that a modified atmosphere of 7.0 % CO₂ and 4.0 % O₂ at 10 °C was the most effective method of storage to minimize weight loss and CO₂ production in “Fuerte” avocado.

The avocado fruits are packed mainly in cardboard boxes during storage. Nowadays, bags for modified atmosphere are offered in the market to extend the shelf life of fruits and vegetables during storage. However, these packages are not always used; sometimes, they are used in generic form for diverse fruits, and there are few packages for a specific fruit; these, in some cases, do not meet the requirements to generate the optimum atmosphere, maximize preservation, and maintain the appropriate quality. Modified atmosphere packaging (MAP) storage slows down metabolic processes; however, when the fruit is removed from the bag, these processes increase, and after a few days the quality variables are closer to those of the control fruit (Nakhasi *et al.*, 1991). The hypothesis of this study is that avocados stored in MAP at 8 °C have better quality variables than those stored in refrigeration (REF) or room temperature (RT). In addition, once avocados are kept out of MAP, at 21 °C, during post-storage ripening, these quality variables approach those of refrigeration or room temperature

in a short period. The objective of this research was to evaluate quality variables in “Hass” avocado during storage in AG Fresh® bags for modified atmosphere at 8 ± 1 °C and post-storage ripening at 21 °C, contrasting them with those obtained during storage at refrigeration or room temperature.

MATERIALS AND METHODS

“Hass” avocados (*Persea americana* Mill.) were harvested 35 weeks after flowering, at physiological maturity stage, were selected based on size (220.4 ± 11.8 g) and colour ($L^* = 36.5 \pm 2.1$, $a^* = -13.2 \pm 2.1$, and $b^* = 18.0 \pm 3.1$). Avocados came from Tacámbaro, Michoacán, México. Fruits were sanitized with a 1 % sodium hypochlorite solution for 20 min (Russo *et al.*, 2014). They were stored in three lots: (1) room temperature at 21 ± 1 °C (RT-21), (2) refrigeration at 8 ± 1 °C (REF-8), and (3) modified atmosphere at 8 ± 1 °C (MAP-8) in bags (AG Fresh® Liner Box) made from a commercial plastic film (Low Density Polyethylene/Ethylene vinyl alcohol/Low Density Polyethylene) with a thickness of 0.20 mm (8 mil) and dimensions of 73.7×66 cm. Initial concentrations of O₂ and CO₂ were those of normal atmosphere, 21 and 0.03 % mol, respectively. The bags were closed with plastic ties and fruit respiration generated a passive modified atmosphere.

Statistical Analysis

A completely randomized design was used. The response variables were firmness, total colour difference in exocarp and mesocarp, pH, and total soluble solids. Three factors were selected: (1) type of storage (room temperature at 21 °C, refrigeration at 8 °C, and modified atmosphere at 8 °C), (2) storage time (0, 8, 16, 24, and 32 d) and (3) post-storage ripening time at 21 °C (0, 2, 4, and 6 d). In each treatment, the experimental unit consisted of three fruits. Six replicates were performed. This throws a total of 1080 avocados. For avocados from MAP at 8 °C, after each storage time, 72 fruits were removed from the bags, kept at 21 °C in normal atmosphere (air), and 18 of them (3 fruits per unit, 6 replicates) evaluated during each post-storage ripening time (0 to 6 days). Differences were evaluated using Fisher’s means difference test at $p \leq 0.05$.

Physical analysis

Firmness

Firmness was evaluated with a digital force gauge (Chatillon, DFE 100, Scientific Co., Chicago Il., USA) with a spherical tip 11 mm in diameter, which deformed the pulp up to 5 mm deep at a rate of 50 mm min^{-1} . Six replications were taken with three readings in each experimental unit. Firmness was expressed as the maximum compression force (N).

Total colour difference in exocarp and mesocarp ($\Delta E_{\text{exocarp}}$ and $\Delta E_{\text{mesocarp}}$)

Colour variables in exocarp and mesocarp were determined with a portable colorimeter (Minolta CR-210, Osaka, Japan) according to the methodology reported by Barriada-

Bernal *et al.* (2018). Six replications were taken with three readings in each experimental unit. The total colour difference was calculated with the following equation:

$$\Delta E = \left[(a^* - a_i^*)^2 + (b^* - b_i^*)^2 + (L^* - L_i^*)^2 \right]^{1/2}$$

L_i^* , a_i^* , and b_i^* variables before treatments were taken as reference.

Chemical analysis

pH

The pH was evaluated according to method 981.12 of AOAC (AOAC, 2012). A solution with 10 g of pulp and 20 mL of neutral water (pH 7) was prepared and mixed for 30 s with a homogenizer (Ultra-Turrax IKA, T18 basic S1, Germany). Subsequently, the filtered solution was placed into a 100 mL graduated flask and made up to the mark with neutral water. An aliquot of 20 mL was taken, and the pH was determined with a potentiometer (520-A, Orion Research Inc., Boston, USA). Six replications were taken with three reading in each experimental unit.

Total soluble solids (TSS)

The total soluble solids were evaluated according to Terán-Erazo *et al.* (2019). A refractometer (300001, Sper Scientific) was used and drops of the pulp extract were placed in the prism. The results were expressed in °Brix. Six replications were taken with three reading in each experimental unit.

RESULTS AND DISCUSSION

Physical analysis

Firmness

The initial firmness of avocados was 96.6, 86.5, and 93.7 N for RT-21, REF-8, and MAP-8, respectively (Figure 1). Comparing among types of storage ($p > 0.05$), during the storage period, avocados stored in MAP-8 retained firmness which was higher ($p \leq 0.05$) compared to RT-21 and REF-8. At 16 d of storage, firmness retention of avocados at RT-21, REF-8, and MAP-8 was 5.7, 32.6, and 87.2 %, respectively. Firmness for fruits at RT-21 was only possible to be measured up to day 16, where the lowest firmness retention was obtained; after 18 d, fruits were in poor condition (spoiled). This condition made the experimental design became unbalanced. Firmness evaluation showed that avocados in MAP-8 delayed softening, since at 32 d of storage, firmness retention was 78.2 %, while fruits at REF-8 retained only 9.5 % of initial firmness. The combination of low temperature and modified atmosphere packaging (MAP-8) exerted a higher positive effect on firmness retention compared to REF-8. After each storage time, avocados from MAP-8 were removed from the bags, kept at 21 °C, and continued the post-storage ripening (PSR) process in air at normal atmosphere (MAP-21PSR). The equilibrium atmosphere generated in MAP-8 during storage avoided drastically decreasing firmness at the first two days of post-storage ripening at 21 °C in normal atmosphere (air), MAP-21PSR (10, 18, 26, and 34 days) with 60.3 %

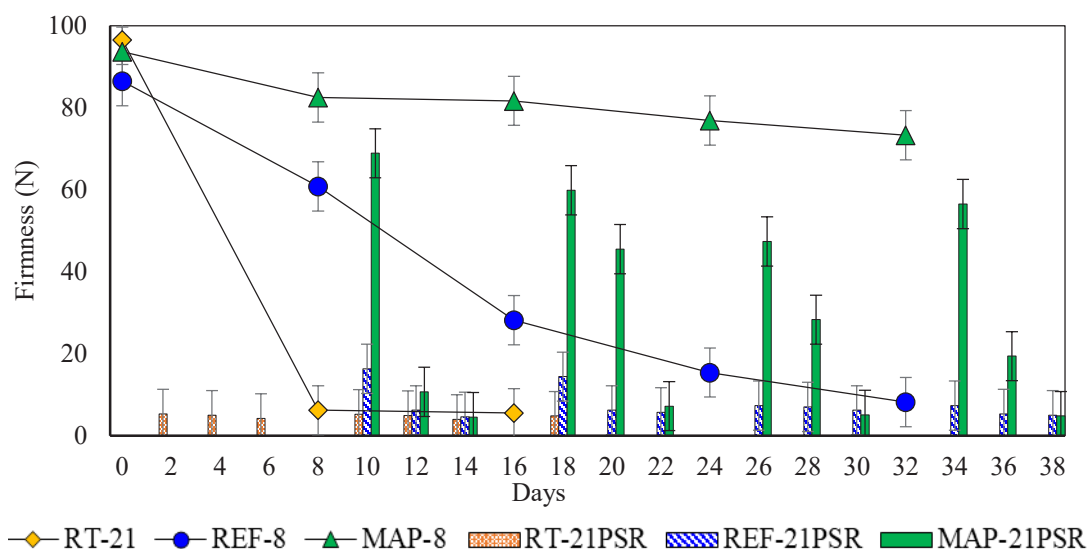


Figure 1. Firmness of “Hass” avocado during storage at room temperature at 21 °C (RT-21), refrigeration at 8 °C (REF-8), and modified atmosphere packaging at 8 °C (MAP-8) for 8, 16, 24, and 32 days and post-storage ripening (PSR) at 21 °C for 2, 4, and 6 days. Vertical bars represent LSD = 12 N (Fisher, $p \leq 0.05$).

of firmness retention at day 34; while for REF-21PSR it was 8.4 %. At six days of post-storage ripening (14, 22, 30, and 38 days), firmness of fruit from MAP-21PSR reached that of REF-21PSR or RT-21PSR.

Firmness is the most representative variable of the ripening process of “Hass” avocado and is considered an important criterion to evaluate the postharvest life. In general, these results coincide with those reported by Espinoza-Cruz *et al.* (2014), who concluded that the use of microperforated bags for “Hass” avocado allows to maintain a better firmness in relation to fruits stored in normal atmosphere. Valle-Guadarrama *et al.* (2013) evaluated the effect of changing the O_2 concentration on “Hass” avocado fruits stored in normal atmosphere (21 mol % O_2) and controlled atmosphere (5.3 mol % O_2) at 20 °C. Those researchers found a firmness retention of 7 % in fruits stored at normal atmosphere after 11 days of storage and 30 % for fruits at controlled atmosphere. In comparison, in the present study, at day 16 of storage firmness retention was 87.2 % for fruits in MAP at 8 °C (MAP-8). The decrease of firmness can be attributed to the activity of polygalacturonase (Magallanes-López *et al.*, 2020) and pectin methylesterase (Defilippi *et al.*, 2018). Pectin methylesterase removes methoxyl groups from the pectic constituents of the cell wall, which are subsequently depolymerized by polygalacturonase, reducing cell wall turgidity, structure, and composition (Uscanga-Sosa *et al.*, 2019).

On the other hand, temperature influences the rate of metabolic reactions; as temperature increases, enzymatic processes are accelerated, until senescence is reached. The better firmness retention in modified atmosphere is mainly due to the O_2 and CO_2 concentrations generated inside the package and to low temperature.

A reduction in oxygen concentration causes a decrease in respiration rates, slowing down ripening.

Total colour difference in exocarp ($\Delta E_{\text{exocarp}}$)

Total colour difference in peel of avocado ranged from 3.8 to 25.6. For fruit in MAP-8 ranged from 3.8 to 5.6 (Figure 2). Avocados in MAP-8 retained ($p > 0.05$) the proper colour for a longer period (32 d) compared to those at RT-21 (24 days), showing the positive effect of low temperature and modified atmosphere packaging during storage. Change in exocarp colour at days eight and 16 at RT-21 was higher ($p < 0.05$) than that at REF-8 or MAP-8; while these last two storage methods did not cause a difference ($p > 0.05$). External colour of avocado stored at MAP-8 did not change ($p > 0.05$) during the storage period; this indicates they had a colour more similar to that at day 0, compared to the other two types of storage. Additionally, the a^* colour coordinate, during storage at RT-21 from the first day to day 16, increased from -13.0 to -2.0 , while L^* and b^* colour variables decreased from 36.2 to 26.7 and 17.7 to 3.0 , respectively. This implies that avocados at RT-21 showed a change in peel colour from dark green to dark gray.

The post-storage ripening process of avocado from MAP-8 was accomplished in normal atmosphere at 21°C (MAP-21PSR). As expected, total colour difference showed an increase for the three storage methods during ripening after storage. In addition, the effect of type of storage on colour attributes in the fruit is appreciable, since fruit from MAP showed smaller total colour differences (MAP-21PSR). At two days of ripening

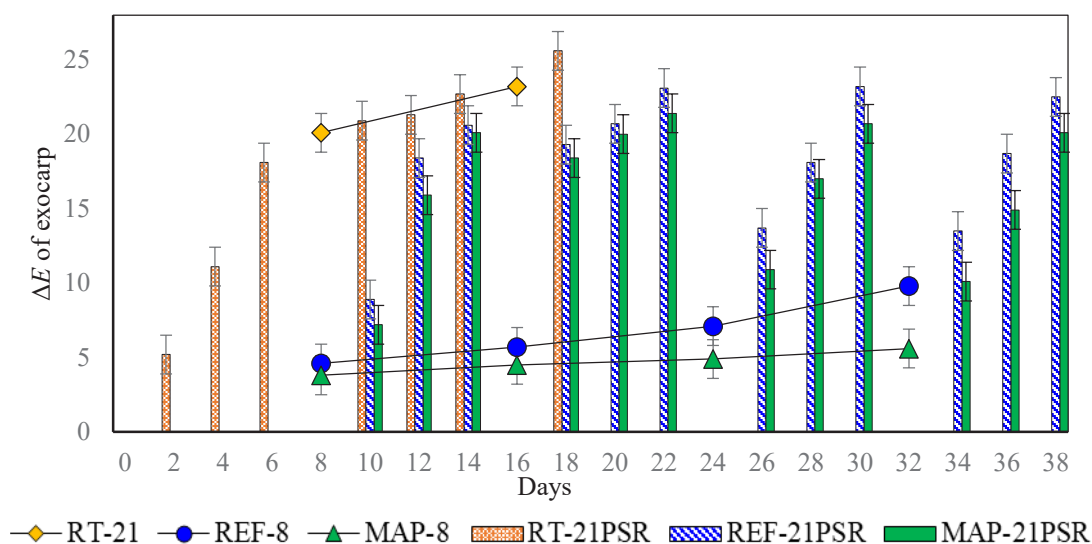


Figure 2. Total colour difference in exocarp of “Hass” avocado during storage at room temperature at 21°C (RT-21), refrigeration at 8°C (REF-8), and modified atmosphere packaging at 8°C (MAP-8) for 8, 16, 24, and 32 days and post-storage ripening (PSR) at 21°C for 2, 4, and 6 days. Vertical bars represent LSD = 2.6 (Fisher, $p \leq 0.05$).

in normal atmosphere at 21 °C (MAP-21PSR) plus eight days in MAP-8 (day 10), fruit maintained 34 % of total colour difference, respect to those at RT-21PSR. On the other hand, from day 10 to day 14, and day 18, fruit at RT-21PSR showed an advanced degree of ripening (black/dark), while those from REF-21PSR or MAP-21PSR still had dark green areas. At the final stage of analysis, specifically during days 34 and 36, the storage method had an effect on fruit external colour. Fruits from MAP-21PSR at day 36 showed the smallest changes in exocarp colour, compared to fruit from REF-21PSR. However, after 6 d of post-storage ripening (day 38), fruit external colour reached that of REF-21PSR or RT-21PSR.

Skin blackening is one of the features directly related to the degree of ripening in "Hass" avocado. The obtained evolution of colour coordinates agrees with the behaviour reported by Marquez *et al.* (2014) [a^* (-6 to 2), b^* (14 to 2), and L^* (36 to 25)] when studying the peel colour change during the postharvest period at 20 °C in "Hass" avocado. Tropical fruits stored in normal atmosphere (air) lose their green colour faster than those stored in MAP; this effect is attributed to a desynchronization of the ripening process. The variation of total colour difference during ripening of fruit is visually associated with a decrease in the bright green to dark/black colour, a distinctive colour of a ripened avocado. The presence of chlorophyllide and phytol, due to the degradation of chlorophyll *b* by enzymatic action, are probably responsible for colour variations; as well as, by the degradation of carotenoids producing an apparent increase in anthocyanins.

Total colour difference in mesocarp ($\Delta E_{\text{mesocarp}}$)

Total colour difference in pulp ranged from 3.2 to 20.3. For fruit stored in MAP-8, it ranged from 4.0 to 4.9 (Figure 3). There was no difference ($p > 0.05$) in ΔE for RT-21, REF-8, and MAP-8, when compared at day eight. Moreover, the internal colour of fruits stored in REF-8 or MAP-8 did not show difference ($p > 0.05$) for any level of storage time, ranging from 4.0 to 6.2. In addition, during storage the only condition that exerted an effect was RT-21 at day 16, showing a ΔE of 16.6. The latter can be attributed to the excessive ripening of the fruits, since flesh of avocados turned to brown colourations, mainly affecting the behaviour of L^* and b^* variables. The b^* variable for RT-21 was 30.5 when evaluated at day 16, while at day 32, REF-8 and MAP-8 showed similar b^* variables (35.4 and 38.2, respectively), corresponding to a light yellow-green colour ($L^* = 80$ and $a^* = -12$). On the other hand, the L^* variable showed an analogous behaviour, since avocados at day 16 for RT-21 had the lowest luminosity (66.8), while L^* at REF-8 and MAP-8 at day 32 remained around 80. The post-storage ripening process of avocados from MAP-8 was carried out at 21 °C in air (MAP-21PSR). In concordance to the ΔE behaviour of exocarp, this variable showed an increase for the three storage methods when evaluated in the mesocarp of the fruits. The highest colour variation was obtained at day 18 for the RT-21PSR condition (20.3). In contrast, avocados stored at MAP-21PSR for 32 days at 8 °C plus two and four days at 21 °C in air (days 34 and 36) had a closer colour (ΔE of 5.2 and 8.0) to the fresh fruits,

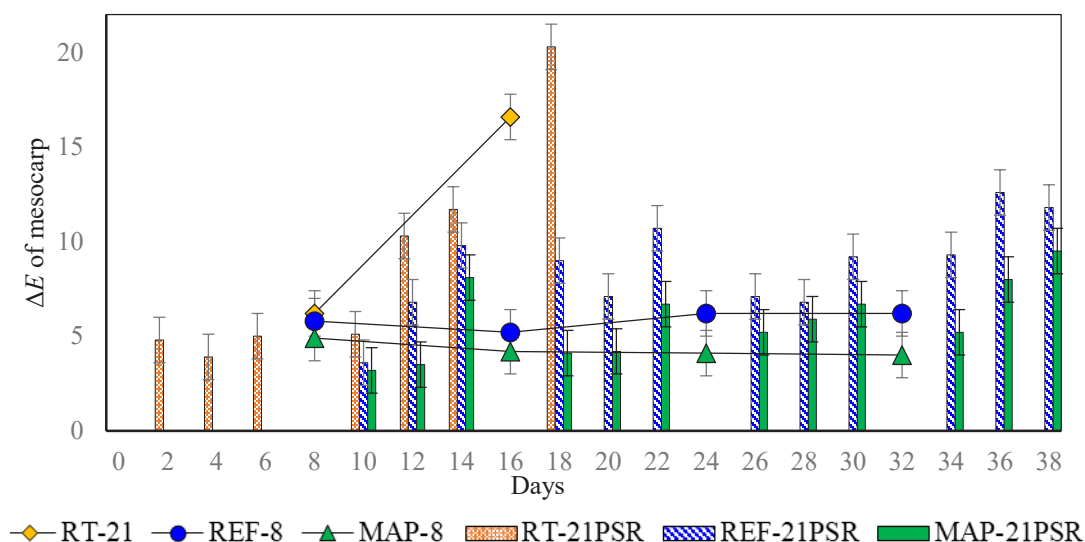


Figure 3. Total colour difference in mesocarp of “Hass” avocado during storage at room temperature at 21 °C (RT-21), refrigeration at 8 °C (REF-8), and modified atmosphere packaging at 8 °C (MAP-8) for 8, 16, 24, and 32 days and post-storage ripening (PSR) at 21 °C for 2, 4, and 6 days. Vertical bars represent LSD = 2.4 (Fisher, $p \leq 0.05$).

when compared to those at RT-21PSR stored for 14 days (ΔE of 11.7). On the other hand, after 8 d in MAP at 8 °C and 6 d in air at 21 °C, at day 14, fruit internal colour for MAP21-PSR was closer to fresh avocado pulp colour (ΔE of 8.1) than that of RT-21PSR (11.7). Avocados stored in MAP-21PSR showed the smallest ΔE (3.5 to 8.0) compared to those at REF-21PSR (6.8 to 12.6) at days 12, 18, 20, 22, 30, 34, and 36.

Regarding to the MAP-21PSR condition, fruits after two days of ripening (days 10, 18, 26, and 34) exhibited no increase ($p > 0.05$) in total colour difference. Moreover, the evolution of the colour coordinates was similar to that reported by Marquez *et al.* (2014) [b^* (35 to 45) and L^* (62 to 82)] in “Hass” avocado during the postharvest period at 20 °C. Furthermore, this behaviour was also similar to that reported by Zapata *et al.* (2016) in “Hass” avocado: immature [b^* (37.4) and L^* (79.9)] and ripened [b^* (36.9) and L^* (79.6)].

Chemical analysis

pH

During storage, pH ranged from 6.7 to 7.1. Comparing among types of storage, at days 8 and 16, pH of the fruit for RT-21, REF-8, and MAP-8 was not different ($p > 0.05$) (Figure 4). During the storage period, at each day of evaluation, pH of avocados for MAP-8 was not different from that for REF-8. Among days of storage, the pH of the fruits in MAP-8 did not change from days 0 to 16; however, at days 24 and 32 (pH of 7.0), it increased slightly ($p < 0.05$) compared to the initial day (pH of 6.7). In fruits

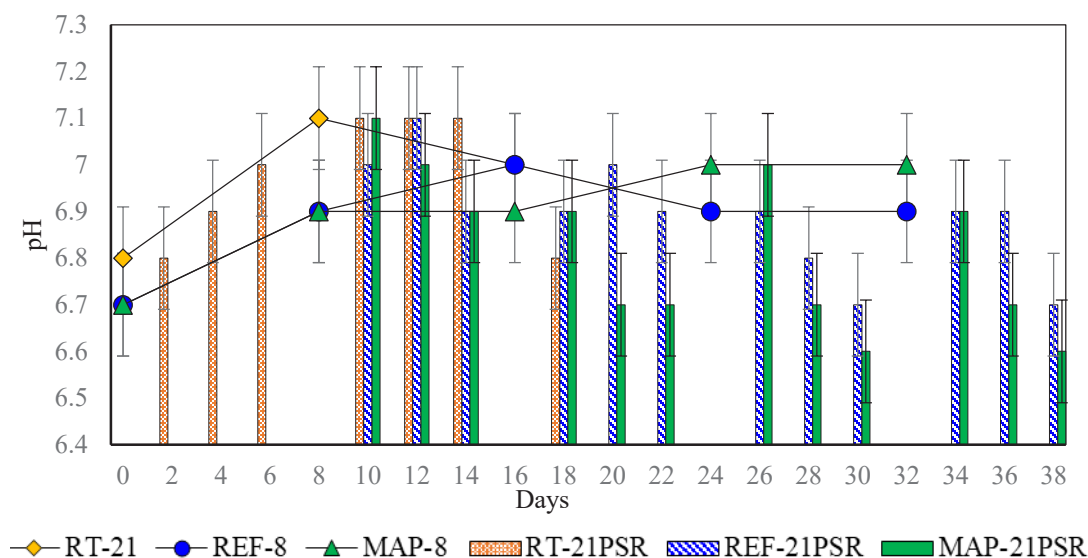


Figure 4. pH of “Hass” avocado during storage at room temperature at 21 °C (RT-21), refrigeration at 8 °C (REF-8), and modified atmosphere packaging at 8 °C (MAP-8) for 8, 16, 24, and 32 days and post-storage ripening (PSR) at 21 °C for 2, 4, and 6 days. Vertical bars represent LSD = 0.22 (Fisher, $p \leq 0.05$).

stored at RT-21, there was an increase in pH at 8 days of storage, compared to the initial pH. For REF-8, day 16 of storage, the pH also increased slightly, compared to the initial day.

During the post-storage ripening time of the fruit at 21 °C, a pH from 6.6 to 7.1 was found. Fruits with zero days of storage plus two, four, and six days of post-storage ripening are the control for RT. The pH for fruits with zero days of storage in REF-21PSR or MAP-21PSR are not shown, because it would be equivalent to zero days for both types of storage. For fruit stored in MAP-21PSR during eight days at 8 °C and four days at 21 °C in air (day 12) and for 24 days at 8 °C plus two days at 21 °C in normal atmosphere (day 26), an increase in 0.3 pH units was obtained, compared to day 0; although, not among them. At four and six days at PSR, after 16, 24, and 32 days in MAP-8 (days 20, 22, 28, 30, 36, and 38) the pH of fruits remained constant. Generally, during ripening of fruits, an increase in pH is observed because of the decrease in acidity. Astudillo-Ordóñez and Rodríguez (2018) studied quality variables related to the food quality and reported pH ranged from 6.6 to 7.1. In addition, they observed an increase in pH during the first days of storage, as well as a decrease after the third week of evaluation. This behaviour was also observed by Marquez *et al.* (2014) who reported an increase in pH after passing the postharvest days in “Hass” avocado fruit. The pH for fruits of two different municipalities (Carmen de Viboral and El Retiro) ranged from 6.4 to 6.6 and from 6.4 to 6.5, respectively. This agrees with reports from Torres *et al.* (2013) who determined the influence of the ripening state on the physicochemical properties of tropical fruits (mango, passion fruit, and papaya);

they found pH increased slightly with the increase in the state of ripening. Russo *et al.* (2014) evaluated the effect of the modified atmosphere on the activity and quality of “Fuerte” avocado; the effect of the atmosphere had a slight influence on the pH variation, they reported a pH from 6.4 to 7.1 during the 25 days of evaluation. During the ripening process, a pH decrease is characteristic; this is attributed to the degradation of the cell wall by pectin methylesterase on galacturonic acid chains, increasing the number of free carboxyl groups. Subsequently, the polygalacturonase acts on the segments that have been demethylated by the pectin methylesterase, increasing the carboxyl groups.

Total soluble solids (TSS)

In the storage of avocado at RT-21, REF-8, and MAP-8, no differences ($p > 0.05$) were found among methods (Figure 5). Furthermore, storage time in MAP-8 had no effect on TSS. Franco-Gaytán *et al.* (2018) reported a similar behaviour for TSS during storage in MAP. The total soluble solids ranged from 6.3 to 6.9 and 5.3 to 7.7 °Brix during storage and post-storage ripening, respectively. For RT-21 storage at eight days plus four days of post-storage ripening (day 12), an increase of 18.5 % in total soluble solids was observed in regard to the second day of ripening (day 2). On the other hand, the TSS of fruits from RT-21PSR at day 12 (7.7 °Brix) was different ($p < 0.05$) respect to REF-21PSR and MAP-21PSR after 32 days at 8 °C plus six days at 21 °C (day 38), showing a decrease of about 22 % in both storage methods. Total soluble solids of fruits in REF-21PSR and MAP-21PSR showed no difference ($p > 0.05$) between days 14 and 38. This shows the benefit of using REF or MAP as preservation methods.

Russo *et al.* (2014) evaluated the effect of modified atmospheres on the activity and quality of “Fuerte” avocado; the effect of the atmosphere had a slight influence on the

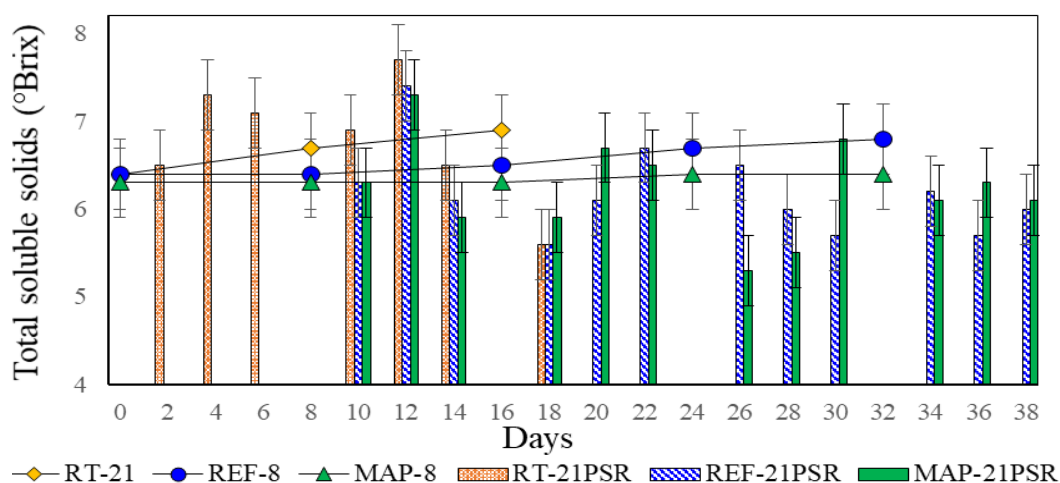


Figure 5. Total soluble solids of “Hass” avocado during storage at room temperature at 21 °C (RT-21), refrigeration at 8 °C (REF-8), and modified atmosphere packaging at 8 °C (MAP-8) for 8, 16, 24, and 32 days and post-storage ripening (PSR) at 21 °C for 2, 4, and 6 days. Vertical bars represent LSD = 0.8 °Brix (Fisher, $p \leq 0.05$).

variation of the total soluble solids. They reported, during the 25 days of evaluation, an interval from 5.9 to 7.9 °Brix. In addition, results of the present study are similar to those reported by Astudillo-Ordóñez and Rodríguez (2018) who found TSS from 5.1 to 7.3 °Brix; also, those researchers observed an increase in total soluble solids during the first four weeks. The physical and chemical variables in a fruit depend on both internal (cultivar and state of ripening) and external (environmental and storage conditions) factors. The increase of the total soluble solids obtained in this study can be explained because during ripening, starch is hydrolysed to organic acids, soluble pectin, and simple sugars; the latter constituting most of the total soluble solids. Total soluble solids decrease when the starch reserves are finished as a result of respiration.

CONCLUSIONS

“Hass” avocado stored in a modified atmosphere at 8 °C showed a firmness similar to that of the fresh fruit during the entire 32 d of storage. In contrast, fruits stored at room temperature showed a marked reduction in firmness during the first days of storage. In refrigeration, avocados showed a considerable reduction in firmness during the first eight days of storage.

Avocado stored in refrigeration or modified atmosphere at 8 °C showed a colour more similar to that of fresh avocado, with less total colour differences in exocarp and mesocarp, compared to those stored at room temperature. After storage at 8 °C in MAP, when avocados were transferred to normal atmosphere at 21 °C, firmness and external colour reached those of refrigeration or room temperature after six days of post-storage ripening. Avocado fruits stored at 8 °C in MAP should then be consumed in less than six days after disrupting the package.

The type of storage had no effect on pH and total soluble solids during storage for 8, 16, 24, and 32 d. The evaluated quality variables in “Hass” avocado during storage indicated that the use at 8 °C of AG Fresh® modified atmosphere packaging is a viable alternative in the preservation of these fruits. These storage conditions allow to extend the useful life of avocado for a period twice as long as that at room temperature, due to the firmness retention and lesser colour changes, properties that are important referents of quality.

REFERENCES

- AOAC. Official methods of analysis of AOAC International. 2012. AOAC International. Washington, DC. USA. 1500 p.
- Arana-Coronado JJ, Bijman J, Omta O, Oude-Lansink A. 2012. Inter-firm coordination in the Mexican avocado (*Persea americana*) industry: The Packer–Buyer Relationship. *Agrociencia* 46: 189–203.
- Astudillo-Ordóñez CE, Rodríguez P. 2018. Parámetros fisicoquímicos del aguacate *Persea americana* Mill. cv. Hass (Lauraceae) producido en Antioquia (Colombia) para exportación. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 19: 383–392. https://doi.org/10.21930/rcta.vol19_num2_art:694
- Barriada-Bernal LG, Aquino-González L, Méndez-Lagunas LL, Rodríguez-Ramírez J, Sandoval-Torres S. 2018. Physical and nutritional characterization of yucca fruits (*Yucca mixteca*). *Agrociencia* 52: 347–359.

- Bill M, Sivakumar D, Thompson AK, Korsten L. 2014. Avocado fruit quality management during the postharvest supply chain. *Food Reviews International* 30: 169–202. <https://doi.org/10.1080/087559129.2014.907304>
- Defilippi BG, Ejsmentewicz T, Covarrubias MP, Gudenschwager O, Campos-Vargas R. 2018. Changes in cell wall pectins and their relation to postharvest mesocarp softening of “Hass” avocados (*Persea americana* Mill.). *Plant Physiology and Biochemistry* 128: 142–151. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.05.018>
- Espinosa-Cruz CC, Valle-Guadarrama S, Ybarra-Moncada M, Martínez-Damián MT. 2014. Comportamiento postcosecha de frutos de aguacate ‘Hass’ afectado por temperatura y atmósfera modificada con microperforado. *Revista Fitotecnia Mexicana* 37: 235–242.
- Espinosa-Moreno J, Centurión-Hidalgo D, Mayo-Mosqueda A, García-Correa C, Martínez-Morales A, García-Alamilla P, Lagunes-Gálvez LM. 2018. Flour quality of three banana cultivars (*Musa* spp.) resistant to black sigatoka disease in tabasco. *Agrociencia* 52: 217–229.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 2019. FAOSTAT. FAO Database on food and agriculture. United Nations Food and Agriculture Organization. Rome, Italy. <https://www.fao.org/faostat/es/#home> (Retrieved: June 2021).
- Franco-Gaytán I, Saucedo-Veloz C, Calderón-Zavala G, Cruz-Huerta N, Teliz-Ortiz D, Galicia-Cabrera RM. 2018. Quality and shelf life of three strawberry (*Fragaria ananassa*) cultivars treated with high concentrations of CO₂ for short period. *Agrociencia* 52: 393–406.
- Magallanes-López AM, Martínez-Damián MT, Sahagún-Castellanos J, Pérez-Flores LJ, Marín-Montes IM, Rodríguez-Pérez JE. 2020. Post-harvest quality of 40 collections of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) native of Mexico. *Agrociencia* 54: 779–795. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v54i6.2184>
- Marquez CJ, Yepes D, Sánchez L, Osorio JA. 2014. Cambios físico-químicos del aguacate (*Persea americana* Mill. cv. “Hass”) en poscosecha para dos municipios de Antioquia. *Temas Agrarios* 19: 34–49.
- Nakhasi S, Schlimme D, Solomos T. 1991. Storage potential of tomatoes harvested at the breaker stage using modified atmosphere packaging. *Journal of Food Science* 56 (1): 55–59.
- Pech JC, Purgatto E, Bouzayen M, Latché A. 2018. Ethylene and Fruit Ripening. In *Annual Plant Reviews online*, Roberts, JA (Ed.). John Wiley and Sons: Hoboken, NJ, USA. pp. 275–304. <https://doi.org/10.1002/9781119312994.apr0483>
- Russo VC, Daiuto ER, Vietes RL, Smith RE. 2014. Postharvest parameters of the “Fuerte” avocado when refrigerated in different modified atmospheres. *Journal of Food Processing and Preservation* 38: 2006–2013. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12177>
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2020. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Ciudad de México, México. https://nube.siap.gob.mx/avance_agricola (Retrieved: June 2021).
- Terán-Erazo B, Alia-Tejcal I, Ballois-Morales R, Juárez-López P, López-Guzmán GG, Pérez-Arias GA, Núñez-Colín CA. 2019. Physical, chemical, and morphological fruit characterization of soursoup (*Annona muricata* L.). *Agrociencia* 53: 1013–1027.
- Torres R, Montes EJ, Pérez OA, Andrade RD. 2013. Relación del color y del estado de madurez con las propiedades fisicoquímicas de frutas tropicales. *Información Tecnológica* 24(3): 51–56. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642013000300007>
- Uscanga-Sosa DP, Pérez-Gago MB, Hernández-Cázares AS, Herrera-Corredor JA, Gómez-Merino FC, Contreras-Oliva AJA. 2019. Effect of antioxidants and pH on the quality and polyphenol oxidase activity of minimally processed eggplant (*Solanum melongena* L.). *Agrociencia* 53: 175–189.
- Valle-Guadarrama S, Morales-Cabrera M, Peña-Valdivia CB, Mora-Rodríguez B, Alia-Tejcal I, Corrales-García J, Gómez-Cruz A. 2013. Oxidative/fermentative behavior in the flesh of “Hass” avocado fruits under natural and controlled atmosphere conditions. *Food and Bioprocess Technology* 6: 272–282. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0747-8>
- Vázquez-López Y, Caro-Corrales J, Gaxiola-Camacho S, Iribe-Salazar R, Carrasco-Escalante M, Portillo-Loera J, Rodríguez-Gaxiola M. 2020. Permeability estimation of modified atmosphere package for “Hass” avocado storage. *Agrociencia* 54: 471–490. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v54i4.2045>
- Zapata JE, Restrepo-Suárez AM, Arias L. 2016. Cinética de la deshidratación osmótica del aguacate (*Persea americana*), y optimización del color por medio de superficies de respuesta. *Información Tecnológica* 27: 17–32. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642016000400003>

VARIABLES DE CALIDAD DEL AGUACATE “HASS” ALMACENADO EN EMPAQUES DE ATMÓSFERA MODIFICADA

Yessica Vázquez-López¹, Rosalina Iribe-Salazar², Marco Carrasco-Escalante²,
Soila Gaxiola-Camacho¹, José Caro-Corrales^{2*}

¹ Universidad Autónoma de Sinaloa. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Posgrado en Ciencias Agropecuarias. Boulevard San Ángel No. 3886, Fraccionamiento San Benito, Culiacán, Sinaloa, México. C. P. 80260.

² Universidad Autónoma de Sinaloa. Facultad de Ciencias Químico Biológicas. Posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Calzada de las Américas Norte No. 2771, Burócrata, Culiacán, Sinaloa, México. C. P. 80013.

* Autor para correspondencia: josecaro@uas.edu.mx

RESUMEN

El empaque de atmósfera modificada (MAP) y la refrigeración de frutas y hortalizas se utilizan para prolongar su vida útil. La hipótesis de este estudio es que los atributos de calidad de los aguacates almacenados en MAP a 8 °C pueden conservarse durante más tiempo, en comparación con el almacenamiento a temperatura ambiente (RT) o en refrigeración (REF). Sin embargo, durante la maduración post-almacenamiento (PSR), estas variables de calidad se acercan a las de la refrigeración o a las de la temperatura ambiente en un tiempo breve. El objetivo de esta investigación fue evaluar las variables de calidad del aguacate (*Persea americana* Mill.) cv. “Hass” durante el almacenamiento en MAP a 8 °C y PSR a 21 °C, y contrastarlas con las obtenidas durante el almacenamiento a RT o en REF. Se utilizaron frutos en su madurez fisiológica y bolsas MAP. Se aplicó un diseño completamente aleatorio; los factores fueron: tipo de almacenamiento (RT 21 °C, REF 8 °C y MAP 8 °C), tiempo de almacenamiento (0, 8, 16, 24 y 32 d), y tiempo de PSR a 21 °C (0, 2, 4 y 6 d). Las variables de calidad fueron la firmeza (fuerza de penetración), la diferencia total de color (ΔE) en el exocarpio y el mesocarpio (colorímetro), el pH (potenciometría) y los sólidos solubles totales (TSS, refractometría). Los aguacates almacenados en MAP conservaron la firmeza, que fue mayor en comparación con REF y RT durante el período de almacenamiento. La conservación de firmeza para los aguacates en RT, REF y MAP, en el día 16 fue de 5.7, 32.6 y 87.2 %, y en el día 32, fue de 0 (sin lectura), 9.5 y 78.2 %, respectivamente. La diferencia total de color en el exocarpio y el mesocarpio, el pH y los TSS oscilaron entre 3.8 y 25.6, 3.2 y 20.3, 6.7 y 7.1, y 5.3 y 7.7 °Brix, respectivamente. Durante el periodo de almacenamiento, los frutos almacenados en MAP mostraron firmeza, ΔE del exocarpio y del mesocarpio similares a los de los frutos frescos. El tipo de almacenamiento no mostró ningún efecto sobre el pH y sobre los TSS durante el período de almacenamiento. El empaque de atmósfera modificada a 8 °C permitió prolongar la vida útil del aguacate “Hass” durante un periodo dos veces mayor que a temperatura ambiente, con base en que se redujeron los cambios de firmeza y color, propiedades que son puntos de referencia importantes para la calidad.

Palabras clave: *Persea americana* Mill., aguacate, atmósfera modificada, poscosecha, refrigeración.

Citation: Vázquez-López Y, Iribe-Salazar R, Carrasco-Escalante M, Gaxiola-Camacho S, Caro-Corrales J. 2022. Variables de calidad del aguacate “Hass” almacenado en empaques de atmósfera modificada.

Agrociencia. 56(4): 805-829. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i4.2460>

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: October 23, 2021.

Approved: May 18, 2022.

Published in Agrociencia:
June 24, 2022.

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



INTRODUCCIÓN

El aguacate (*Persea americana* Mill.) es un fruto muy importante para la economía de México (Arana-Coronado *et al.*, 2012). En 2019, la producción mundial se estimó en 7.3 millones de toneladas (Megagramos, Mg). México fue el productor principal, generó 2.3 millones de Mg y exportó 1.2 millones de Mg (FAO, 2019). Michoacán, México, es el estado que registra la mayor producción de este fruto; en 2020, cosechó 1.7 millones de Mg (SIAP, 2020).

El manejo poscosecha es muy importante para conservar la calidad de las frutas y hortalizas (Espinosa-Moreno *et al.*, 2018); un manejo inadecuado provoca pérdidas económicas. Los frutos en madurez fisiológica continúan con el proceso de maduración para consumo después de la cosecha. La maduración es el proceso que se inicia desde las últimas fases de crecimiento y desarrollo del fruto hasta las primeras fases de senescencia. Por lo tanto, el proceso de maduración es una fase importante para conservar los atributos de calidad. Algunas de las modificaciones asociadas con el proceso de maduración son los cambios en el color, la firmeza, el contenido de azúcares, la producción de compuestos volátiles, el metabolismo respiratorio y la producción de etileno (Pech *et al.*, 2018).

La refrigeración es una de las tecnologías más utilizadas para conservar los frutos de aguacate. En escala comercial, el aguacate se almacena entre 5 y 6 °C; si el almacenamiento se realiza a una temperatura inferior, puede causar daño por frío (Bill *et al.*, 2014).

El empaque de atmósfera modificada para frutas y hortalizas se utiliza para prolongar su vida útil al reducir la velocidad de respiración y en consecuencia su velocidad de deterioro; la reducción se consigue al modificar la atmósfera dentro del empaque (Vázquez-López *et al.*, 2020). Los efectos positivos de la atmósfera se pueden comprobar principalmente al medir la firmeza y el color de los frutos, propiedades que dependen de la conversión de los carbohidratos de las paredes celulares en azúcares y de la degradación de la clorofila en la cáscara. La atmósfera modificada puede crearse por medio de la inyección en el empaque de una mezcla de gases de composición deseada (atmósfera activa) o a partir de la respiración del producto (atmósfera pasiva).

La atmósfera modificada activa se crea con un flujo continuo de la mezcla gaseosa para sustituir el aire. La atmósfera pasiva se consigue con el consumo de O₂ y la producción de CO₂, generados por el fruto dentro del empaque. En ambos casos, la permeabilidad del material de empaque es importante para permitir la difusión de los gases entre este empaque y el exterior, hasta alcanzar la atmósfera modificada estable. Russo *et al.* (2014) informaron que una atmósfera modificada de 7.0 % de CO₂ y 4.0 % de O₂ a 10 °C fue el método más eficaz de almacenamiento para minimizar la pérdida de peso y la producción de CO₂ en el aguacate cv. "Fuerte".

Los frutos del aguacate de manera regular se empacan en cajas de cartón durante su almacenamiento. Hoy en día, se ofrecen en el mercado bolsas de atmósfera modificada, que prolongan la vida útil de las frutas y hortalizas durante su almacenamiento. Sin embargo, estos empaques no siempre se utilizan, o a veces se usan de forma genérica

para diversas frutas. Hay pocos empaques para un fruto específico; y en algunos casos no cumplen los requisitos para generar la atmósfera óptima, maximizar la conservación y mantener la calidad adecuada.

El empaque de atmósfera modificada (MAP) ralentiza los procesos metabólicos; sin embargo, cuando se retira el fruto de la bolsa, estos procesos aumentan, y al cabo de unos días las variables de calidad se acercan a las del fruto de control (Nakhasi *et al.*, 1991). La hipótesis de este estudio es que los aguacates almacenados en MAP a 8 °C tienen mejores variables de calidad que los almacenados en refrigeración (REF) o temperatura ambiente (RT). Aunque, una vez que los aguacates se mantienen fuera del MAP a 21 °C, durante la maduración post-almacenamiento, las variables de calidad se acercan a las de la refrigeración o a las de la temperatura ambiente en un corto período. El objetivo de esta investigación fue evaluar las variables de calidad del aguacate “Hass” durante el almacenamiento en bolsas AG Fresh® de atmósfera modificada a 8 ± 1 °C y la maduración post-almacenamiento a 21 °C, y contrastarlas con las obtenidas durante almacenamiento en refrigeración o a temperatura ambiente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los aguacates “Hass” (*Persea americana* Mill.) se cosecharon 35 semanas después de la floración, en estado de madurez fisiológica, y se seleccionaron en función del tamaño (220.4 ± 11.8 g) y el color ($L^* = 36.5 \pm 2.1$, $a^* = -13.2 \pm 2.1$ y $b^* = 18.0 \pm 3.1$). Los aguacates procedían de Tacámbaro, Michoacán, México. Los frutos se higienizaron con una solución de hipoclorito de sodio al 1 % durante 20 min (Russo *et al.*, 2014). Se almacenaron en tres lotes: 1: temperatura ambiente a 21 ± 1 °C (RT-21), 2: refrigeración a 8 ± 1 °C (REF-8), y 3: atmósfera modificada (MAP-8) en bolsas (AG Fresh® Liner Box) fabricadas con una película de plástico comercial (polietileno de baja densidad/alcohol vinílico de etileno/polietileno de baja densidad) con un espesor de 0.20 mm (8 mil) y dimensiones de 73.7×66 cm a 8 ± 1 °C. Las concentraciones iniciales de O₂ y CO₂ fueron las de la atmósfera normal, 21 y 0.03 % mol, respectivamente. Las bolsas se cerraron con bridas de plástico y la respiración de los frutos generó una atmósfera modificada pasiva.

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente aleatorio. Las variables de respuesta fueron la firmeza, la diferencia total de color en el exocarpio y el mesocarpio, el pH y los sólidos solubles totales. Se seleccionaron tres factores, 1: tipo de almacenamiento (temperatura ambiente a 21 °C, refrigeración a 8 °C y atmósfera modificada a 8 °C); 2: tiempo de almacenamiento (0, 8, 16, 24 y 32 d); y 3: tiempo de maduración post-almacenamiento a 21 °C (0, 2, 4 y 6 d). En cada tratamiento, la unidad experimental consistió en tres frutos. Se realizaron seis réplicas, para un total de 1080 aguacates. En el caso de los aguacates en MAP a 8 °C, después de cada tiempo de almacenamiento, se retiraron 72 frutos de las bolsas, se mantuvieron a 21 °C en atmósfera normal (aire) y se evaluaron 18 de ellos (3 frutos por unidad, 6 réplicas) durante cada tiempo de maduración post-

almacenamiento (0 a 6 días). Las diferencias se evaluaron con la prueba de comparación de medias de Fisher, $p \leq 0.05$.

Análisis físico

Firmeza

La firmeza se evaluó con un medidor de fuerza digital (Chatillon, DFE 100, Scientific Co., Chicago Il., EE. UU.) con una punta esférica de 11 mm de diámetro que deformó la pulpa hasta 5 mm de profundidad, a una velocidad de 50 mm por minuto. Se realizaron seis réplicas con tres lecturas en cada unidad experimental. La firmeza se expresó como la máxima fuerza de compresión (N).

Diferencia total de color en el exocarpio y el mesocarpio ($\Delta E_{\text{exocarpio}}$ y $\Delta E_{\text{mesocarpio}}$)

Las variables de color en el exocarpio y el mesocarpio se determinaron con un colorímetro portátil (Minolta CR-210, Osaka, Japón), según la metodología reportada por Barriada-Bernal *et al.* (2018). Se realizaron seis réplicas con tres lecturas en cada unidad experimental. La diferencia total de color se calculó con la siguiente ecuación:

$$\Delta E = \left[(a^* - a_i^*)^2 + (b^* - b_i^*)^2 + (L^* - L_i^*)^2 \right]^{1/2}$$

Las variables L_i^* , a_i^* y b_i^* antes de los tratamientos se tomaron como referencia.

Análisis químico

pH

El pH se evaluó según el método 981.12 de la AOAC (AOAC, 2012). Se preparó una solución con 10 g de pulpa y 20 mL de agua neutra (pH 7) y se mezcló durante 30 s con un homogeneizador (Ultra-Turrax IKA, T18 basic S1, Alemania). Después, la solución filtrada se introdujo en un matraz aforado de 100 mL y se enrasó con agua neutra. Se tomó una alícuota de 20 mL y se determinó el pH con un potenciómetro (520-A, Orion Research Inc., Boston, EE. UU.) Se realizaron seis réplicas con tres lecturas en cada unidad experimental.

Sólidos solubles totales (TSS)

Los sólidos solubles totales se evaluaron de acuerdo con Terán-Erazo *et al.* (2019). Se utilizó un refractómetro (300001, Sper Scientific) y se colocaron gotas del extracto de pulpa en el prisma. Los resultados se expresaron en °Brix. Se hicieron seis réplicas, con tres lecturas en cada unidad experimental.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis físico

Firmeza

La firmeza inicial de los aguacates fue de 96.6, 86.5 y 93.7 N para RT-21, REF-8 y MAP-8, respectivamente (Figura 1). Al comparar los tipos de almacenamiento, durante el

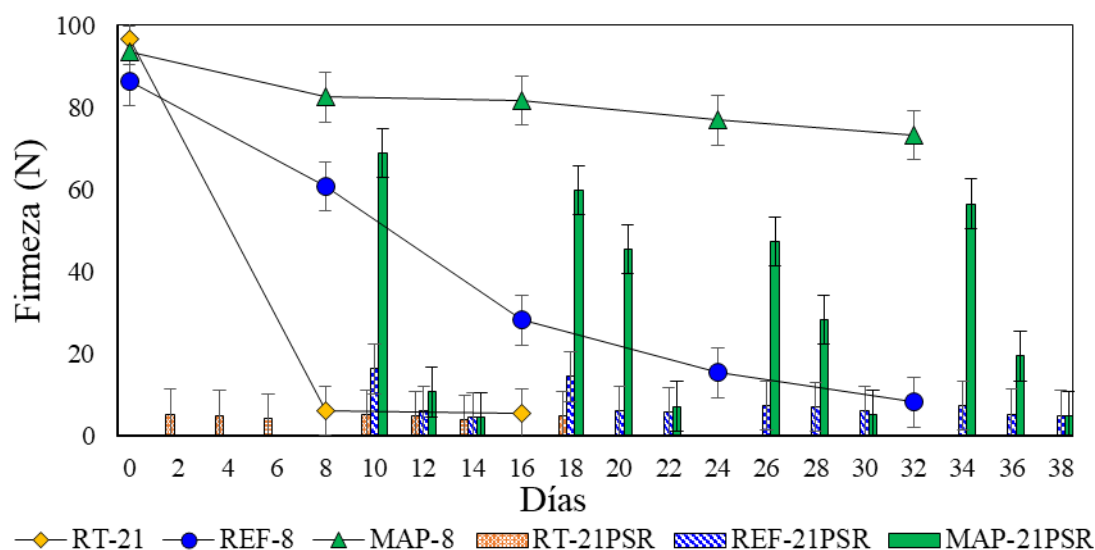


Figura 1. Firmeza del aguacate “Hass” durante el almacenamiento a temperatura ambiente a 21 °C (RT-21), refrigeración a 8 °C (REF-8), y empaque en atmósfera modificada a 8 °C (MAP-8) durante 8, 16, 24 y 32 días, y maduración post-almacenamiento (PSR) a 21 °C durante 2, 4 y 6 días. Las barras verticales representan DMS = 12 N (Fisher, $p \leq 0.05$).

período de almacenamiento ($p > 0.05$), los aguacates almacenados en MAP-8 conservaron la firmeza que fue mayor ($p \leq 0.05$) en comparación con RT-21 y REF-8. A los 16 días de almacenamiento, la retención de firmeza de los aguacates en RT-21, REF-8 y MAP-8 fue de 5.7, 32.6 y 87.2 %, respectivamente. La firmeza de los frutos a RT-21 sólo se pudo medir hasta el día 16, donde se obtuvo la menor retención de firmeza; después de 18 d, los frutos estaban en mal estado (en descomposición). Esta condición hizo que el diseño experimental fuera no balanceado. La evaluación de la firmeza mostró que los aguacates en el MAP-8 retrasaron el ablandamiento ya que, a los 32 d de almacenamiento, la firmeza fue del 78.2 %, mientras que los frutos en el REF-8 sólo conservaron el 9.5 % de la firmeza inicial. La combinación de baja temperatura y envasado en atmósfera modificada (MAP-8) ejerció un mayor efecto positivo en la conservación de la firmeza en comparación con REF-8. Después de cada tiempo de almacenamiento, los aguacates del MAP-8 se retiraron de las bolsas, se mantuvieron a 21 °C y continuaron el proceso de maduración post-almacenamiento (PSR) al aire, a atmósfera normal (MAP-21PSR). La atmósfera de equilibrio generada en MAP-8 durante el almacenamiento evitó la disminución drástica de la firmeza en los primeros dos días de maduración post-almacenamiento a 21 °C en atmósfera normal (aire), MAP-21PSR (10, 18, 26 y 34 d), con 60.3 % de conservación de la firmeza en el día 34; mientras que para REF-21PSR fue del 8.4 %. A los seis días de maduración post-almacenamiento (14, 22, 30 y 38 d), la firmeza de los frutos de MAP-21PSR alcanzó la de REF-21PSR o RT-21PSR.

La firmeza es la variable más representativa del proceso de maduración del aguacate “Hass” y se considera un criterio importante para evaluar la vida posterior a la

cosecha. En general, estos resultados coinciden con los reportados por Espinoza-Cruz *et al.* (2014), quienes concluyeron que el uso de bolsas microperforadas para aguacate “Hass” permite mantener una mejor firmeza comparada con los frutos almacenados en atmósfera normal. Valle-Guadarrama *et al.* (2013) evaluaron el efecto de cambiar la concentración de O_2 en frutos de aguacate “Hass” almacenados en atmósfera normal (21 % mol de O_2) y en atmósfera controlada (5.3 % mol de O_2) a 20 °C. Estos investigadores encontraron una conservación de la firmeza del 7 % en los frutos almacenados en atmósfera normal después de 11 días de almacenamiento y de 30 % para los frutos en atmósfera controlada. Como comparación, en el día 16 de almacenamiento en esta investigación, la firmeza fue del 87.2 % para los frutos en MAP a 8 °C (MAP-8). La disminución de la firmeza en estudios anteriores puede atribuirse a la actividad de la poligalacturonasa (Magallanes-López *et al.*, 2020) y de la pectin-metilesterasa (Defilippi *et al.*, 2018). La pectin-metilesterasa elimina los grupos metoxilos de los constituyentes pécticos de la pared celular que luego son despolimerizados por la poligalacturonasa; esto reduce la turgencia, la estructura y la composición de la pared celular (Uscanga-Sosa *et al.*, 2019).

Por otro lado, la temperatura influye en el ritmo de las reacciones metabólicas. A medida que aumenta la temperatura los procesos enzimáticos se aceleran, hasta que se alcanza la senescencia. La mejor conservación de la firmeza en atmósfera modificada se debe principalmente a las concentraciones de O_2 y CO_2 generadas en el interior del empaque y a la baja temperatura. Una reducción en la concentración de oxígeno provoca una disminución de las velocidades de respiración, lo que ralentiza la maduración.

Diferencia total de color en el exocarpio ($\Delta E_{\text{exocarpio}}$)

La diferencia total de color en la cáscara de aguacate osciló entre 3.8 y 25.6. Para los frutos en MAP-8 varió de 3.8 a 5.6 (Figura 2). Los aguacates en MAP-8 conservaron ($p > 0.05$) el color adecuado durante un período más largo (32 d) en comparación con los que estaban en RT-21 (24 d). Esto demuestra el efecto positivo del empaque a baja temperatura y en atmósfera modificada durante el almacenamiento. El cambio de color del exocarpio en los días 8 y 16 en RT-21 fue mayor ($p \leq 0.05$) que en REF-8 o MAP-8; mientras que estos últimos dos métodos de almacenamiento no causaron ninguna diferencia ($p > 0.05$). El color externo del aguacate almacenado en el MAP-8 no cambió ($p > 0.05$) durante el período de almacenamiento; esto indica que tenían un color más similar al del día 0, en comparación con los otros dos tipos de almacenamiento. Además, la coordenada de color a^* , durante el almacenamiento a RT-21 desde el primer día hasta el día 16, aumentó de -13.0 a -2.0, mientras que las variables de color L^* y b^* disminuyeron de 36.2 a 26.7 y de 17.7 a 3.0, respectivamente. Esto implica que los aguacates a RT-21 mostraron un cambio en el color de la cáscara de verde oscuro a gris oscuro. El proceso de maduración post-almacenamiento del aguacate del MAP-8 se realizó en atmósfera normal a 21 °C (MAP-21PSR). Como se esperaba, la diferencia total de color mostró un aumento para los tres métodos de almacenamiento durante la maduración

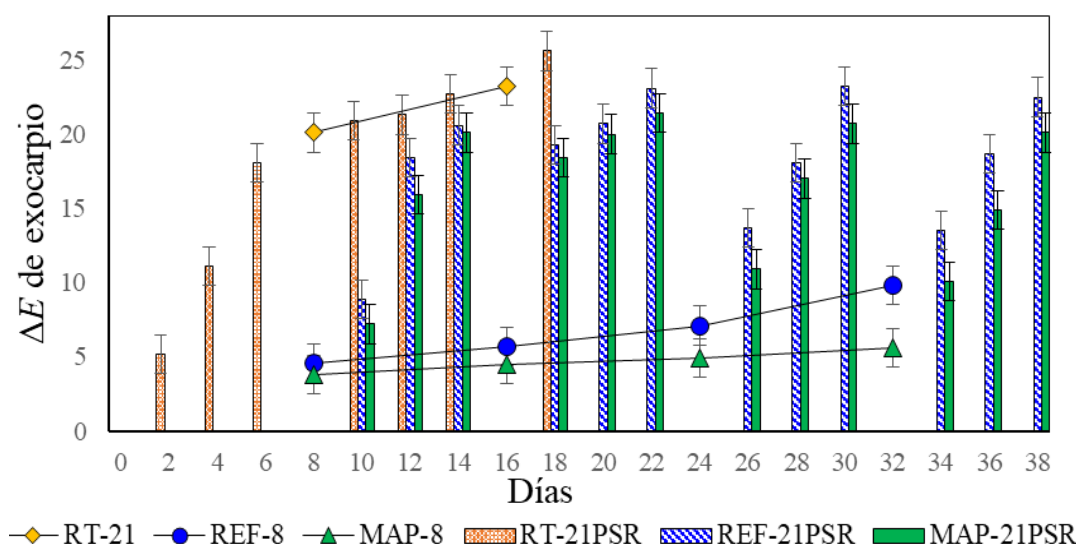


Figura 2. Diferencia total de color en el exocarpio del aguacate “Hass” durante el almacenamiento a temperatura ambiente a 21 °C (RT-21), refrigeración a 8 °C (REF-8) y empaque en atmósfera modificada a 8 °C (MAP-8) durante 8, 16, 24 y 32 días y maduración post-almacenamiento (PSR) a 21 °C durante 2, 4 y 6 días. Las barras verticales representan $DMS = 2.6$ (Fisher, $p \leq 0.05$).

después del almacenamiento. Además, el efecto del tipo de almacenamiento sobre los atributos de color en el fruto es apreciable, ya que los frutos procedentes de MAP mostraron menores diferencias totales de color (MAP-21PSR). Tras dos días de maduración en atmósfera normal a 21 °C (MAP-21PSR), más ocho días en MAP-8 (día 10), los frutos mantuvieron un 34 % en la diferencia total de color, en comparación con los de RT-21PSR. Por otra parte, desde el día 10 hasta el día 14, y el día 18, los frutos en RT-21PSR mostraron un grado avanzado de maduración (negro/oscur), mientras que los de REF-21PSR o MAP-21PSR todavía tenían zonas verdes oscuras. En la fase final del análisis, concretamente durante los días 34 y 36, el método de almacenamiento tuvo un efecto sobre el color externo del fruto. Los frutos de MAP-21PSR en el día 36 mostraron los menores cambios en el color del exocarpio, en comparación con los frutos de REF-21PSR. Sin embargo, después de 6 días de maduración post-almacenamiento (día 38), el color externo del fruto alcanzó el de REF-21PSR o RT-21PSR.

El ennegrecimiento de la cáscara es una de las características directamente relacionadas con el grado de maduración en el aguacate “Hass”. La evolución obtenida de las coordenadas de color coincide con el comportamiento reportado por Márquez *et al.* (2014) [a^* (-6 a 2), b^* (14 a 2) y L^* (36 a 25)] al estudiar el cambio de color de la cáscara durante el periodo de poscosecha, a 20 °C en el aguacate “Hass”. Los frutos tropicales almacenados en atmósfera normal (aire) pierden su color verde más rápidamente que los almacenados en MAP; este efecto se atribuye a una desincronización del proceso de maduración. La variación de la diferencia total de color durante la maduración de

los frutos se asocia visualmente con una disminución del color verde brillante a oscuro/negro, color distintivo de un aguacate maduro. La presencia de clorofila *b* y fitol debido a la degradación de la clorofila *b*, por acción enzimática, son probablemente responsables de las variaciones de color; así como por la degradación de carotenoides que produce un aumento aparente de las antocianinas.

Diferencia total de color en el mesocarpio ($\Delta E_{\text{mesocarpio}}$)

La diferencia total de color en la pulpa osciló entre 3.2 y 20.3. Para los frutos almacenados en MAP-8, osciló entre 4.0 y 4.9 (Figura 3). No hubo diferencias ($p > 0.05$) en ΔE para RT-21, REF-8 y MAP-8, cuando se compararon en el octavo día. Además, el color interno de los frutos almacenados en REF-8 o MAP-8 no mostró diferencias ($p > 0.05$) para ningún nivel de tiempo de almacenamiento, que osciló entre 4.0 y 6.2. Además, durante el almacenamiento la única condición que ejerció un efecto fue el RT-21 en el día 16, que mostró una ΔE de 16.6. Esto último puede atribuirse a la excesiva maduración de los frutos, ya que la pulpa de los aguacates pasó a tener coloraciones marrones, lo que afectó principalmente el comportamiento de las variables L^* y b^* . La variable b^* para RT-21 fue de 30.5 cuando se evaluó en el día 16, mientras que en el día 32, REF-8 y MAP-8 mostraron variables b^* similares (35.4 y 38.2, respectivamente), correspondientes a un color amarillo-verde claro ($L^* = 80$ y $a^* = -12$). Por otro lado, la variable L^* mostró un comportamiento análogo, ya que los aguacates en el día 16 a RT-21 tuvieron la menor luminosidad (66.8), mientras que L^* en REF-8 y MAP-8 en el día 32 se mantuvo alrededor de 80.

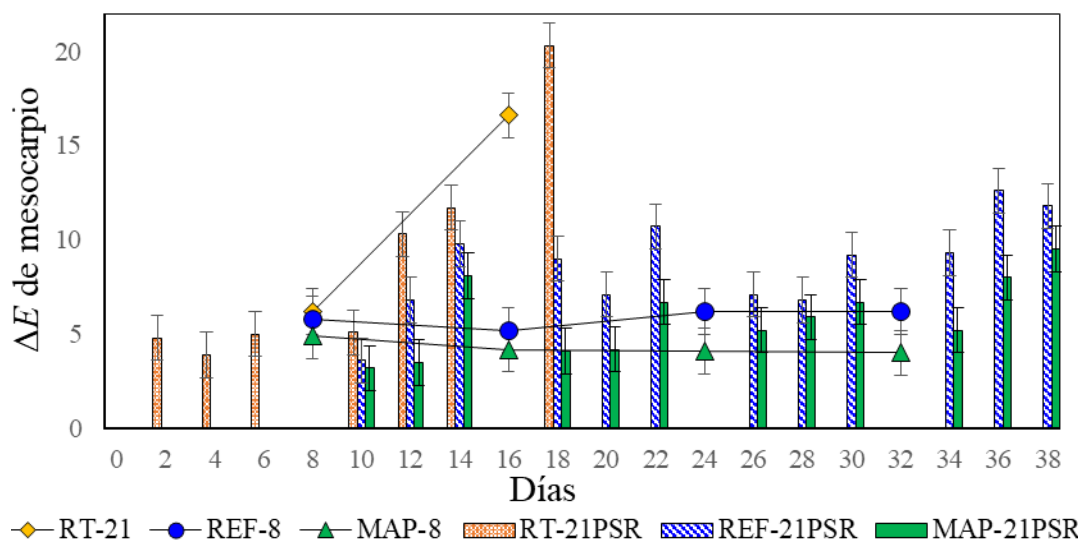


Figura 3. Diferencia total de color en el mesocarpio del aguacate “Hass” durante el almacenamiento a temperatura ambiente a 21 °C (RT-21), refrigeración a 8 °C (REF-8) y empaque en atmósfera modificada a 8 °C (MAP-8) durante 8, 16, 24 y 32 días y maduración post-almacenamiento (PSR) a 21 °C durante 2, 4 y 6 días. Las barras verticales representan $DM S = 2.4$ (Fisher, $p \leq 0.05$).

El proceso de maduración post-almacenamiento de los aguacates del MAP-8 se realizó a 21 °C en aire (MAP-21PSR). En concordancia con el comportamiento de la ΔE del exocarpio, esta variable mostró un incremento para los tres métodos de almacenamiento cuando se evaluó en el mesocarpio de los frutos. La mayor variación de color se obtuvo en el día 18 para la condición RT-21PSR (20.3). Por el contrario, los aguacates almacenados en MAP-21PSR durante 32 días a 8 °C más dos y cuatro días a 21 °C en aire (días 34 y 36) tuvieron un color más cercano (ΔE de 5.2 y 8.0) a los frutos frescos, en comparación con los de RT-21PSR almacenados durante 14 d (ΔE de 11.7). Por otro lado, después de 8 d en MAP a 8 °C y 6 d en aire a 21 °C, en el día 14, el color interno del fruto para MAP21-PSR estuvo más cerca del color de la pulpa del aguacate en fresco (ΔE de 8.1) que el de RT-21PSR (11.7). Los aguacates almacenados en MAP-21PSR mostraron la menor ΔE (3.5 a 8.0) en comparación con los de REF-21PSR (6.8 a 12.6) en los días 12, 18, 20, 22, 30, 34 y 36.

En cuanto a la condición MAP-21PSR, los frutos después de dos días de maduración (días 10, 18, 26 y 34) no mostraron ningún aumento ($p > 0.05$) en la diferencia total de color. Además, la evolución de las coordenadas de color fue similar a la reportada por Márquez *et al.* (2014) [b^* (35 a 45) y L^* (62 a 82)] en el aguacate “Hass”, durante el periodo de poscosecha, a 20 °C. Asimismo, este comportamiento también fue similar al reportado por Zapata *et al.* (2016) en el aguacate “Hass”: inmaduro [b^* (37.4) y L^* (79.9)] y maduro [b^* (36.9) y L^* (79.6)].

Análisis químico

pH

Durante el almacenamiento, el pH osciló entre 6.7 y 7.1. Al comparar los tipos de almacenamiento, en los días 8 y 16, el pH de los frutos para RT-21, REF-8 y MAP-8 no fue diferente ($p > 0.05$) (Figura 4). Durante el periodo de almacenamiento, en cada día de evaluación, el pH de los aguacates para MAP-8 no fue diferente al de REF-8. En los días de almacenamiento, el pH de los frutos en el MAP-8 no cambió en los días 0 a 16; sin embargo, en los días 24 y 32 (pH de 7.0), aumentó ligeramente ($p < 0.05$) en comparación con el día inicial (pH de 6.7). En los frutos almacenados a RT-21, se produjo un aumento del pH a los 8 días de almacenamiento, en comparación con el pH inicial. En el caso de REF-8, el día 16 de almacenamiento el pH también aumentó ligeramente, en comparación con el día inicial.

Durante el tiempo de maduración post-almacenamiento de los frutos a 21 °C, se encontró un pH de 6.6 a 7.1. Los frutos con cero días de almacenamiento más dos, cuatro y seis días de maduración post-almacenamiento fueron el control en RT. No se muestra el pH para los frutos con cero días de almacenamiento en REF-21PSR o MAP-21PSR, porque sería equivalente a cero días para ambos tipos de almacenamiento. Para los frutos almacenados en MAP-21PSR durante ocho días a 8 °C y cuatro días a 21 °C en aire (día 12) y durante 24 días a 8 °C, más dos días a 21 °C en atmósfera normal (día 26), se obtuvo un aumento de 0.3 unidades de pH, en comparación con el día 0; aunque no entre ellos. A los cuatro y seis días en PSR, después de 16, 24 y 32 días en MAP-8 (días 20, 22, 28, 30, 36 y 38) el pH de los frutos se mantuvo constante.

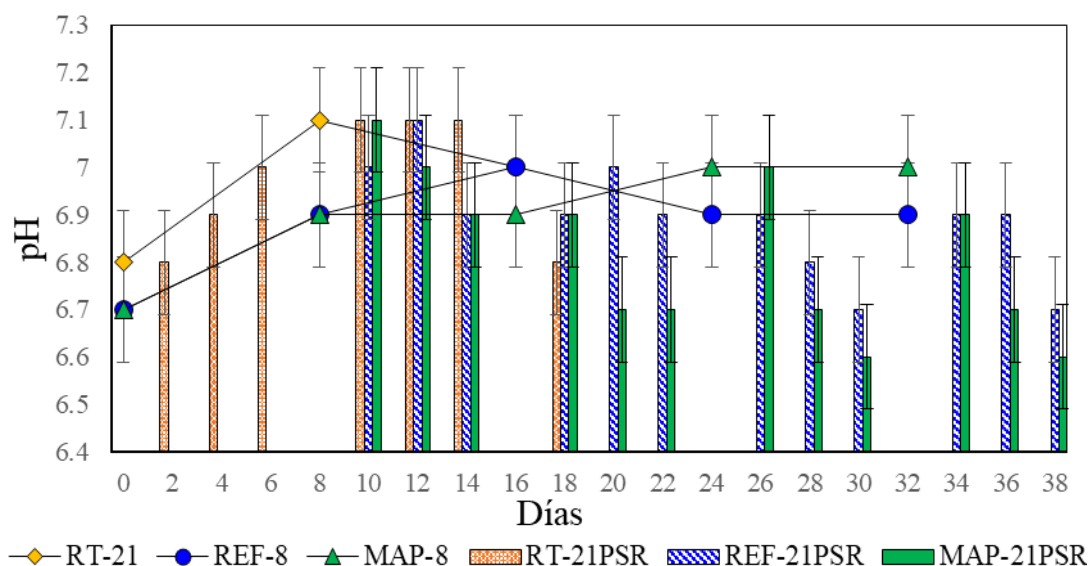


Figura 4. pH del aguacate “Hass” durante el almacenamiento a temperatura ambiente a 21 °C (RT-21), refrigeración a 8 °C (REF-8), y empaque en atmósfera modificada a 8 °C (MAP-8) durante 8, 16, 24 y 32 días y maduración post-almacenamiento (PSR) a 21 °C durante 2, 4 y 6 días. Las barras verticales representan DMS = 0.22 (Fisher, $p \leq 0.05$).

Generalmente, durante la maduración de los frutos se observa un aumento del pH debido a la disminución de la acidez. Astudillo-Ordóñez y Rodríguez (2018) estudiaron variables cualitativas relacionadas con la calidad de los alimentos e informaron que el pH oscilaba entre 6.6 y 7.1. Además, observaron un aumento del pH durante los primeros días de almacenamiento, así como una disminución después de la tercera semana de evaluación. Este comportamiento también fue observado por Márquez *et al.* (2014) quienes reportaron un aumento del pH después de haber transcurrido los días posteriores a la cosecha en el fruto del aguacate “Hass”. El pH para los frutos de dos municipios diferentes (Carmen de Viboral y El Retiro) osciló entre 6.4 y 6.6 y entre 6.4 y 6.5, respectivamente. Esto coincide con lo reportado por Torres *et al.* (2013) quienes determinaron la influencia del estado de maduración en las propiedades fisicoquímicas de frutos tropicales (mango, maracuyá y papaya); encontraron que el pH aumentó ligeramente con el aumento del estado de maduración. Russo *et al.* (2014) evaluaron el efecto de la atmósfera modificada en la actividad y calidad del aguacate “Fuerte”; el efecto de la atmósfera tuvo una ligera influencia en la variación del pH: reportaron un pH de 6.4 a 7.1 durante los 25 días de evaluación.

Durante el proceso de maduración, hay un descenso del pH; esto se atribuye a la degradación de la pared celular por parte de la pectin-metilesterasa sobre las cadenas de ácido galacturónico, lo cual aumenta el número de grupos carboxilo libres. Después, la poligalacturonasa actúa sobre los segmentos que han sido desmetilados por la pectin-metilesterasa, y aumentan los grupos carboxilo.

Sólidos solubles totales (TSS)

En el almacenamiento del aguacate en RT-21, REF-8 y MAP-8, no se encontraron diferencias ($p > 0.05$) entre los métodos (Figura 5). Además, el tiempo de almacenamiento en MAP-8 no tuvo efecto sobre los TSS. Franco-Gaytán *et al.* (2018) reportaron un comportamiento similar para los TSS durante el almacenamiento en MAP. Los sólidos solubles totales oscilaron entre 6.3 y 6.9 y 5.3 a 7.7 °Brix durante el almacenamiento y la maduración post-almacenamiento, respectivamente. Para el almacenamiento RT-21 a ocho días más cuatro días de maduración post-almacenamiento (día 12), se observó un aumento del 18.5 % en los sólidos solubles totales con respecto al segundo día de maduración (día 2). Por otro lado, los TSS de los frutos de RT-21PSR en el día 12 (7.7 °Brix) fueron diferentes ($p \leq 0.05$) respecto a REF-21PSR y MAP-21PSR después de 32 d a 8 °C, más seis días a 21 °C (día 38), al mostrar una disminución de aproximadamente 22 % en ambos métodos de almacenamiento. Los sólidos solubles totales de los frutos en REF-21PSR y MAP-21PSR no mostraron diferencias ($p > 0.05$) entre los días 14 y 38. Esto demuestra el beneficio de utilizar REF o MAP como métodos de conservación. Russo *et al.* (2014) evaluaron el efecto de las atmósferas modificadas en la actividad y calidad del aguacate “Fuerte”; el efecto de la atmósfera tuvo una ligera influencia en la variación de los sólidos solubles totales. Esos autores registraron un intervalo de 5.9 a 7.9 °Brix durante los 25 días de evaluación. Los resultados de esta investigación son similares a los reportados por Astudillo-Ordóñez y Rodríguez (2018) quienes encontraron TSS de 5.1 a 7.3 °Brix y un incremento de los sólidos solubles totales durante las primeras cuatro semanas. Las variables físicas y químicas de un fruto dependen de factores internos (cultivar y estado de maduración) y externos (condiciones ambientales

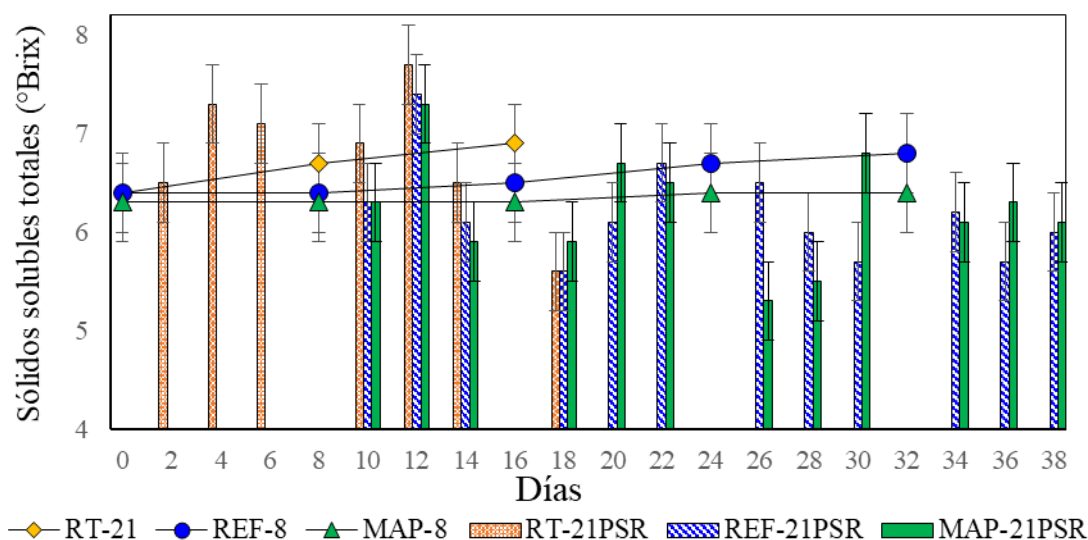


Figura 5. Sólidos solubles totales del aguacate “Hass” durante el almacenamiento a temperatura ambiente a 21 °C (RT-21), refrigeración a 8 °C (REF-8) y empaque en atmósfera modificada a 8 °C (MAP-8) durante 8, 16, 24 y 32 días y maduración post-almacenamiento (PSR) a 21 °C durante 2, 4 y 6 días. Las barras verticales representan DMS = 0.8 °Brix (Fisher, $p \leq 0.05$).

y de almacenamiento). El aumento de los sólidos solubles totales obtenido en este estudio se puede explicar porque durante la maduración, la hidrólisis del almidón genera ácidos orgánicos, pectinas solubles y azúcares simples; estos últimos constituyen la mayor parte de los sólidos solubles totales. Los sólidos solubles totales disminuyen cuando las reservas de almidón se agotan como resultado de la respiración.

CONCLUSIONES

El aguacate “Hass” almacenado a 8 °C en empaques de atmósfera modificada mostró una firmeza similar a la de los frutos frescos durante los 32 días de almacenamiento. En cambio, frutos almacenados a temperatura ambiente mostraron una marcada reducción de la firmeza desde los primeros días de almacenamiento. En refrigeración, los aguacates mostraron una considerable reducción de la firmeza durante los primeros ocho días de almacenamiento.

La refrigeración y las bolsas de atmósfera modificada a 8 °C mostraron un color más similar al del aguacate fresco; con menor diferencia total de color en el exocarpio y el mesocarpio, en comparación con frutos almacenados a temperatura ambiente. Al transferir los aguacates a atmósfera normal a 21 °C, después de empacados en bolsas de atmósfera modificada a 8 °C, la firmeza y el color externo de los frutos alcanzaron valores similares a los de refrigeración o temperatura ambiente, después de seis días de maduración post-almacenamiento. Entonces, el aguacate almacenado a 8 °C en bolsas de atmósfera modificada debe consumirse menos de seis días después de abrir el empaque.

El tipo de almacenamiento no tuvo efecto sobre el pH y los sólidos solubles totales durante el almacenamiento durante 8, 16, 24 y 32 días. Las variables de calidad evaluadas en el aguacate “Hass” durante el almacenamiento a 8 °C indicaron que el uso del empaque de atmósfera modificada AG Fresh® es una alternativa viable en la conservación de estos frutos. Estas condiciones de almacenamiento permiten alargar la vida útil del aguacate por un periodo dos veces mayor que a temperatura ambiente, debido a la conservación de la firmeza y a cambios menores en el color, propiedades que son referentes importantes para calidad.

REFERENCIAS

- AOAC. Official methods of analysis of AOAC International. 2012. AOAC International. Washington, DC. USA. 1500 p.
- Arana-Coronado JJ, Bijman J, Omta O, Oude-Lansink A. 2012. Inter-firm Coordination in the Mexican Avocado (*Persea americana*) Industry: The Packer–Buyer Relationship. *Agrociencia* 46: 189–203.
- Astudillo-Ordóñez CE, Rodríguez P. 2018. Parámetros fisicoquímicos del aguacate *Persea americana* Mill. cv. Hass (Lauraceae) producido en Antioquia (Colombia) para exportación. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 19: 383–392. https://doi.org/10.21930/rcta.vol19_num2_art:694
- Barriada-Bernal LG, Aquino-González L, Méndez-Lagunas LL, Rodríguez-Ramírez J, Sandoval-Torres S. 2018. Physical and nutritional characterization of yucca fruits (*Yucca mixteca*). *Agrociencia* 52: 347–359.
- Bill M, Sivakumar D, Thompson AK, Korsten L. 2014. Avocado fruit quality management during the postharvest supply chain. *Food Reviews International* 30: 169–202. <https://doi.org/10.1080/87559129.2014.907304>

- Defilippi BG, Ejsmentewicz T, Covarrubias MP, Gudenschwager O, Campos-Vargas R. 2018. Changes in cell wall pectins and their relation to postharvest mesocarp softening of "Hass" avocados (*Persea americana* Mill.). *Plant Physiology and Biochemistry* 128: 142–151. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.05.018>
- Espinosa-Cruz CC, Valle-Guadarrama S, Ybarra-Moncada M, Martínez-Damián MT. 2014. Comportamiento postcosecha de frutos de aguacate 'Hass' afectado por temperatura y atmósfera modificada con microperforado. *Revista Fitotecnia Mexicana* 37: 235–242.
- Espinosa-Moreno J, Centurión-Hidalgo D, Mayo-Mosqueda A, García-Correa C, Martínez-Morales A, García-Alamilla P, Lagunes-Gálvez LM. 2018. Flour quality of three banana cultivars (*Musa* spp.) resistant to black sigatoka disease in tabasco. *Agrociencia* 52: 217–229.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 2019. FAOSTAT. FAO Database on food and agriculture. United Nations Food and Agriculture Organization. Rome, Italy. <https://www.fao.org/faostat/es/#home> (Recuperado: junio 2021).
- Franco-Gaytán I, Saucedo-Veloz C, Calderón-Zavala G, Cruz-Huerta N, Téliz-Ortiz D, Galicia-Cabrera RM. 2018. Quality and shelf life of three strawberry (*Fragaria ananassa*) cultivars treated with high concentrations of CO₂ for short period. *Agrociencia* 52: 393–406.
- Magallanes-López AM, Martínez-Damián MT, Sahagún-Castellanos J, Pérez-Flores LJ, Marín-Montes IM, Rodríguez-Pérez JE. 2020. Post-harvest quality of 40 collections of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) native of Mexico. *Agrociencia* 54: 779–795. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v54i6.2184>
- Marquez CJ, Yepes D, Sánchez L, Osorio JA. 2014. Cambios físico-químicos del aguacate (*Persea americana* Mill. cv. "Hass") en poscosecha para dos municipios de Antioquia. *Temas Agrarios* 19: 34–49.
- Nakhasi S, Schlimme D, Solomos T. 1991. Storage potential of tomatoes harvested at the breaker stage using modified atmosphere packaging. *Journal of Food Science* 56 (1): 55–59.
- Pech JC, Purgatto E, Bouzayen M, Latché A. 2018. Ethylene and Fruit Ripening. *In* Annual Plant Reviews online, Roberts, JA (Ed.). John Wiley and Sons: Hoboken, NJ, USA. pp. 275–304. <https://doi.org/10.1002/9781119312994.apr0483>
- Russo VC, Daiuto ER, Vietes RL, Smith RE. 2014. Postharvest parameters of the "Fuerte" avocado when refrigerated in different modified atmospheres. *Journal of Food Processing and Preservation* 38: 2006–2013. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12177>
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2020. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Ciudad de México, México. https://nube.siap.gob.mx/avance_agricola (Recuperado: junio 2021).
- Terán-Erazo B, Alia-Tejagal I, Balois-Morales R, Juárez-López P, López-Guzmán GG, Pérez-Arias GA, Núñez-Colín CA. 2019. Physical, chemical, and morphological fruit characterization of soursoup (*Annona muricata* L.). *Agrociencia* 53: 1013–1027.
- Torres R, Montes EJ, Pérez OA, Andrade RD. 2013. Relación del color y del estado de madurez con las propiedades fisicoquímicas de frutas tropicales. *Información Tecnológica* 24 (3): 51–56. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642013000300007>
- Uscanga-Sosa DP, Pérez-Gago MB, Hernández-Cázares AS, Herrera-Corredor JA, Gómez-Merino FC, Contreras-Oliva AJA. 2019. Effect of antioxidants and pH on the quality and polyphenol oxidase activity of minimally processed eggplant (*Solanum melongena* L.). *Agrociencia* 53: 175–189.
- Valle-Guadarrama S, Morales-Cabrera M, Peña-Valdivia CB, Mora-Rodríguez B, Alia-Tejagal I, Corrales-García J, Gómez-Cruz A. 2013. Oxidative/fermentative behavior in the flesh of "Hass" avocado fruits under natural and controlled atmosphere conditions. *Food and Bioprocess Technology* 6: 272–282. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0747-8>
- Vázquez-López Y, Caro-Corrales J, Gaxiola-Camacho S, Iribe-Salazar R, Carrasco-Escalante M, Portillo-Loera J, Rodríguez-Gaxiola M. 2020. Permeability estimation of modified atmosphere package for "Hass" avocado storage. *Agrociencia* 54: 471–490. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v54i4.2045>
- Zapata JE, Restrepo-Suárez AM, Arias L. 2016. Cinética de la deshidratación osmótica del aguacate (*Persea americana*), y optimización del color por medio de superficies de respuesta. *Información Tecnológica* 27: 17–32. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642016000400003>



RESPONSE OF *Bemisia tabaci* Genn TO THE ASSOCIATION TOMATO-AROMATIC PLANT

Angel Manuel **Herrera-Gorocica**¹, Esaú **Ruiz-Sánchez**^{1*}, Horacio Salomón **Ballina-Gómez**¹,
Guadalupe **Reyes-Solís**², Arantza **Sánchez-Lázaro**¹

¹ Tecnológico Nacional de México. Instituto Tecnológico de Conkal. Avenida Tecnológico S/N, Conkal, Yucatán, México. C. P. 97345.

² Universidad Autónoma de Yucatán. Centro de Investigaciones Regionales Dr. Hideyo Noguchi. Avenida Itzáes No. 490 x Calle 59, Col. Centro, Mérida, Yucatán, México. C. P. 97000.

* Corresponding author: esau.rs@conkal.tecnm.mx

ABSTRACT

The silverleaf whitefly (*Bemisia tabaci*) is the most harmful pest for vegetables in tropical zones. One alternative for its ecological management is the use of repellent aromatic plants. The hypothesis of this study is that the aromatic plants that diminish the attraction of *B. tabaci* to tomato have the capacity to prevent the infestation of this pest in the tomato crop when an intercropping system of tomato-aromatic plant is established. The objective of this study was to evaluate by means of the technique of olfactometry, the response of *B. tabaci* to the volatiles emitted by the crushed leaves of tomato and by the combination tomato + aromatic plant. The aromatic plants with highest activity in the olfactometry tests were intercropped in a tomato crop in the field. In the bioassays of olfactometry, a significant decrease was observed in the attraction of *B. tabaci* to crushed leaves of tomato + some aromatic plants compared with the attraction to tomato alone. The repellence indices (IR) showed that the aromatics *Lavandula angustifolia* Mill. (IR, 0.1), *Petiveria alliacea* L. (IR, 0.48), *Petroselinum crispum* Mill. (IR, 0.28) and *Thymus vulgaris* (IR, 0.5) had the greatest effect as repellent of adults. By integrating these aromatic species through intercropping in the tomato field crop, no significant difference was observed in the population density of eggs and adults of *B. tabaci* in the tomato foliage in regard to what was observed in the control (only tomato). The incidence and severity of viral symptoms did not decrease from the presence of the aromatic species intercropped in the tomato crop.

Keywords: insect repellence, associated crop, tomato pests, biorational management.

INTRODUCTION

One of the limitations in tomato production is the damage caused by the whitefly *Bemisia tabaci* Genn. (Hemiptera: Aleyrodidae), which not only causes damage when it feeds on the sap of the plants, but also efficiently transmits more than 100 viruses of the begomovirus group (Khatun *et al.*, 2020). This pest is distributed worldwide and is distinguished by a wide range of hosts, high fertility, and high capacity for virus transmission (Islam *et al.*, 2018). Furthermore, *B. tabaci* has potential for developing resistance to chemical insecticides (Grávalos *et al.*, 2015; Rosen *et al.*, 2015).

Citation: Herrera-Gorocica AM, Ruiz-Sánchez E, Ballina-Gómez HS, Reyes-Solís G, Sánchez-Lázaro A. 2022. Response of *Bemisia tabaci* Genn to the association tomato-aromatic plant. *Agrociencia*. 56(4): 830-853. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i4.2809>

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: June 23, 2021.
Approved: May 02, 2022.
Published in Agrociencia:
June 17, 2022.

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



In the interaction *B. tabaci* – host plant, the visual attraction and aroma of the plants is determinant in the infestation process (Tsueda *et al.*, 2014). On the other hand, it is also known that the release of volatiles of some plant species interferes with the attraction and establishment of *B. tabaci* in host plants (Tosh and Brogan, 2015). Some aromatic species have been successfully used as pest repellent plants. These plants generally emit a set of volatile organic compounds (VOC) with adverse effects against the phytophagous insects; which include repellence, anti-alimentary activity, growth retardation and lower fertility of the pest insects (Cook *et al.*, 2007; Sujayanand *et al.*, 2015).

The aromatic plants intercropped with the crop of interest can affect the capacity of the pest insects to discriminate between the volatiles of the host plants and those of the aromatic plants, which affects the establishment and colonization of the phytophage (Cook *et al.*, 2007). In specific studies on the management of *B. tabaci* in vegetables by means of intercropping aromatic plants, a reduction has been observed in the population of *B. tabaci*, along with a decrease in incidence and severity of begomovirus and improvement in fruit yields (Sujayanand *et al.*, 2015). For example, the tomato crop intercropped with *Coriandrum sativum* reduced the number of adults of *B. tabaci*, delayed the appearance of the tomato yellow spot virus (Toymov), diminished the severity of the disease, and improved the yields (Cook *et al.*, 2007).

Carvalho *et al.* (2017) found that the tomato crop intercropped with aromatic plants of *Ocimum basilicum* and *Coriandrum sativum* reduces the incidence of *Bemisia tabaci*. The use of VOC of aromatic plants has even been reported against *B. tabaci* through assays of repellence and dissuasion, such as the use of essential oils of *Litsea cubeba* Lour (Wagan *et al.*, 2017). This suggests that the aromatic plants not only have great potential for direct use, intercropped with the plants of interest, but also as a source of compounds which can be used in the future as plant-based insecticides.

This study was established with the hypothesis that the aromatic plants that diminish the attraction of *B. tabaci* to tomato, have the capacity to prevent the infestation of this pest in the tomato crop when it is established in an intercropped system of tomato-aromatic plant. Therefore, the objective of the study was to evaluate the response of *B. tabaci* to 18 species of aromatic plants through laboratory bioassays by means of an olfactometer, to later evaluate the inclusion of intercropped aromatic plants on the populational suppression of eggs and adults of *B. tabaci* in the tomato crop on the field.

MATERIALS AND METHODS

Study sites and obtainment of aromatic plants

The study of response of *Bemisia tabaci* to aromatic plants by olfactometry was conducted in the laboratory of agricultural pests of the Conkal Technological Institute. The field study where evaluation was done of the effect of aromatic plants intercropped with tomato was established in the community of Chenche del las Torres, in Temax, Yucatan, Mexico (21.3° N, 88.98° W at 12 m altitude).

Plant material for the laboratory tests was obtained from aromatic plants in vegetative development cultivated in the greenhouse in plastic bags of 2 L. The aromatic plants

evaluated (Table 1) were maintained in the greenhouse under natural conditions, with constant irrigation, and did not receive fertilization or application of pesticides.

Evaluation of attraction in olfactometer

The evaluations of attraction were done using samples of crushed foliage (4 g) as aroma source. The foliage was obtained from tomato plants of 40 d after emergence and aromatic plants (AP) in vegetative development. The adults of *B. tabaci* biotype B used in the experiments were obtained from a colony established in the greenhouse in eggplant. Originally the colony was obtained from crops of habanero chili (Ballina-Gómez *et al.*, 2013).

In order to compare the responses of the adult insects to the tomato and to the combination of tomato + aromatic plants, two assays were established. In the first assay the comparison of attraction was done between 1: humidified air and 2: attraction to only tomato or attraction to the combination tomato + aromatic plant. In the second assay the comparison was done of attraction to only tomato and attraction to the combination tomato + aromatic plant.

The experiments were carried out in an olfactometer of two arms of high- density polyethylene. The sections of the olfactometer have the following dimensions: intermediate chamber, 3 cm height; entrances of air and a stopper, 1.5 cm thickness; circular central orifice, 8 mm at the base of the chamber to introduce the insects to be evaluated (Shao-Jian *et al.*, 2014). The air of entrance to the olfactometer was propelled with a pump and was purified by being passed through a jar which contained activated

Table 1. List of aromatic species studied with their identification codes.

Common name	Scientific name	Code
Thyme	<i>Thymus vulgaris</i> L.	TM
Chives	<i>Allium schoenoprasum</i> L.	CB
Oreganon	<i>Plectranthus amboinicus</i> Lour.	ON
Basil	<i>Ocimum basilicum minimum</i> L.	ALHC
Lavander	<i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	LV
Citronella	<i>Pelargonium citrosum</i> Van.	CN
Rosemary	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	RM
Bush basil	<i>Ocimum micranthum</i> Willd.	XK
Epazote	<i>Dysphania ambrosioides</i> L.	EZ
Rue	<i>Ruta graveolens</i> L.	RD
Melissa	<i>Melissa officinalis</i> L.	TR
Coriander	<i>Coriandrum sativum</i> L.	CL
Mexican oregano	<i>Lippia graveolens</i> Kunth.	ORM
Wild skunk	<i>Petiveria alliacea</i> L.	PY
Peppermint	<i>Mentha spicata</i> L.	HB
Neem	<i>Azadirachta indica</i> A. Juss.	NM
Lemon grass	<i>Cymbopogon citratus</i> DC.	ZL
Parsley	<i>Petroselinum crispum</i> Mill.	PJ

carbon and an Erlenmeyer flask filled with water. Prior to the entrance of the air to the spaces containing the aroma sources (glass tubes of 50 mL), a flowmeter was placed to maintain the airflow at 1 L min⁻¹.

In the assays the procedure described by Shao-Jian *et al.* (2014) was followed. The adults of *B. tabaci* were placed in a glass vial of 5 mL in the arm of entrance to the chamber. The air flow was maintained for 5 minutes and then was turned off for 2 min, which permitted the insects to move toward the arm that contained the preferred stimulus (aroma source). Positive response was recorded when the insect moved to one of the arms containing the aroma source. The insects that did not respond were those that remained immobile, or which did not head completely to one of the arms during the 2 min of test. Each assay consisted of the individual evaluation of 20 insects. Each assay was replicated five times (replications) for each aroma source (aromatic plant).

After each assay, the chambers were cleaned allowing air to circulate through the entrance chamber where a piece of cotton impregnated with acetone was placed. After 5 minutes of air circulation, all of the components of the olfactometer where the air circulates in the interior of the equipment were washed with distilled water (Carvalho *et al.*, 2017).

Establishment of the tomato crop in the field

The tomato seedlings of 25 d were transplanted in rows intercropped with plants of each one of the four aromatic species: lavender (*Lavandula angustifolia*), wild guinea hen weed (*Petiveria alliacea*), parsley (*Petroselinum crispum*) and thyme (*Thymus vulgaris*). The experimental plots consisted of three rows of tomato intercropped with four rows of aromatic plants. The rows were established with 1 m separation between them. Within the row, the tomato plants were established at 0.3 m distance and the aromatic plants at 0.7 m distance. The experiment was established under a design of complete randomized blocks with three replications. The blocks were separated from each other by a strip of 4 m. In the control plots only tomato plants were established without intercropping lines of aromatic species.

Seven days after transplanting (dat), imidacloprid (Confidor 350 SC, at a dose of 1 L ha⁻¹, Bayer®) was applied to the neck of the plant to insure protection of the crop the first 15 d after establishment. For the prevention of fungal diseases, fungicidal applications were done every 10 d alternating copper sulphate pentahydrate (Mastercop at doses of 1 L ha⁻¹, Adama®) and chlorothalonil (Daconil 2787 at doses of 2 kg ha⁻¹, Syngenta®) from day 30 to day 90 after transplant. Weed management was manual. The fertilization (kg ha⁻¹) with N:P:K was in a proportion of 140:150:150 for the period of vegetative development to fruit development, based on the recommendation for Leptosols of Yucatan (Montejo-Canul *et al.*, 2019).

Evaluation of population density of *B. tabaci*

The evaluation of density of *B. tabaci* was carried out at intervals of 14 d, during the period from 14 to 70 dat. The means of each sampling date were taken and averaged to integrate a single general average per treatment.

For the sampling of *B. tabaci* in the tomato leaves, nine tomato plants were selected from the centre of each experimental plot. For the morning of 7:00–8:00 am, when the white fly is least active, the adult insects were counted visually turning the leaf carefully to observe the abaxial surface of the leaf of the middle third of each plant (Góngora-Gamboa *et al.*, 2020). Afterwards, the sampled leaves were collected to count in the laboratory the number of eggs and nymphs per cm², with the help of a frame of paper of 1 cm² as sampling frame.

Evaluation of incidence and severity of viral infection in the field

The incidence and severity of the typical viral symptoms associated with begomovirus (plant stunting, yellowing of the leaves, leaf curl, atrophied plants, deformation of leaves) was recorded every 14 d, during the period of day 28 to day 70 dat. For the incidence, the number of plants with viral symptoms was counted in the total of the plants of the experimental plots. The percentage of plants with symptoms was obtained with the following formula: Incidence = [(Number of plants with symptoms) *100] / Total of observed plants.

The degree of damage was determined by means of using six level categoric scale, modified by Caballero *et al.* (2015): level 1, asymptomatic; level 2, slight yellowing of the leaves; level 3, moderate to severe yellowing of the leaves but without the presence of foliar distortion; level 4, severe yellowing of the leaves and slight foliar distortion; level 5, severe yellowing of the leaves and severe foliar distortion; level 6, severe yellowing of the leaves, severe foliar distortion and malformation of the plant. With this data curves were constructed of the progress of the disease (ABCPE) through the method of trapezoidal integration with the formula $ABCPE = n-1 \sum (x_i + x_{i+1}) / 2 \times (t_{i+1} - t_i)$, where x_i = degree of damage in each i -th evaluation; $t_{i+1} - t_i$ = days between two evaluations, and n = the total number of observations (Agostinetto *et al.*, 2015).

To confirm the presence of begomovirus in symptomatic plants, samples were taken of leaves with characteristic symptoms in an experimental plot of each treatment. The DNA was extracted, and the genes were amplified for the detection of begomovirus using the following universal primers: Pav324 (50-GCCYATRTAYAGRAAGCCMAG-30) and Ac1154 (50-CTSAAYTTCMAAGTYTGGACG-30).

Data analysis

For the data of olfactometry an X^2 test was done with R studio comparing in each case the aroma source *vs.* control. The index of repellence (Kogan and Goeden, 1970) was determined using the formula $IR = 2G / (G + P)$, where G is the number of insects in the treatment, and P is the number of insects in the control. The values of IR varied from 0 to 2: $IR = 1$: neutral (the aroma source is indifferent); $IR > 1$: attracting (the aroma source is attractive), and $IR < 1$: repellent. The confidence intervals (IC of 95%) were calculated for the values of IR (response of nullity = 1). The calculation of the IR indices was done for the 10 aromatic species with highest activity in the test of the olfactometer. The data were analysed with generalized linear models (GLM), using the Gaussian family function of identity linkage, with the comparison of means of Bonferroni test.

The data generated in the field crop were analysed through GLM with the family and function of specific link for each variable. For the variables of population density of *B. tabaci* in the tomato leaves, the family Gaussian was used with function of Identity link; for the variables of area below the progress curve of the incidence and severity of begomovirus, the Gamma family was used with function link log; and for the variable of final incidence, the Poisson family was used with function link log. In all of the analyses the Bonferroni comparison of means was done (Belay *et al.*, 2012). The variable of final severity was analysed with the non-parametric test of Kruskal Wallis. All of the analyses were done using the software Infostat version 2020 (Di Rienzo *et al.*, 2018).

RESULTS AND DISCUSSION

Evaluation of attraction in olfactometer

A greater attraction ($p \leq 0.05$) of *Bemisia tabaci* was observed from the source of tomato aroma than from the humidified air (82.5%, $X^2=36.36$). However, the attraction of *B. tabaci* decreased significantly to the source of aroma tomato + aromatic plant in comparison with the humidified air in the following cases: TM+T (25%, $X^2= 50$), RM+T (38%, $X^2= 11.52$), PJ+T (14%, $X^2= 103.78$), PY+T (10%, $X^2=128$), LV+T (3%, $X^2=176.72$) and EZ+T (28%, $X^2=38.72$) (Figure 1A).

When comparing the attraction of *B. tabaci* to the tomato aroma source alone against the attraction to tomato + aromatic plant, it was observed that the attraction of *B. tabaci* to tomato decreased significantly when it was associated to the aromatic species: *Lavandula angustifolia* (5%, $X^2= 162$), *Petiveria alliacea* (24%, $X^2= 54.08$) and *Petroselinum crispum* (14%, $X^2=103.78$) in Figure 1B, which suggests clear repellent effects of these aromatic species.

The repellence index (RI) was calculated for the 10 aromatic species that presented the greatest effects in the attraction of *B. tabaci* when combined with tomato (Table 2). Significant repellent activity was observed in *L. angustifolia* (IR, 0.1); however, *P. alliacea* (IR, 0.48), *P. crispum* (IR, 0.28) and *Thymus vulgaris* (IR, 0.5) also presented strong repellent tendencies (Table 2).

L. angustifolia, *P. Alliaceae* and *P. crispum* were the aroma sources which showed greatest repellent activity against *B. tabaci* based on the assays of olfactometry. These species have not been consigned previously as repellents against *B. tabaci*. In a previous study of the effect of aromatic species on *B. tabaci*, it was observed that *C. sativum*, *O. basilicum* and *Cymbopogon citratus* were highly repellent (Carvalho *et al.*, 2017). A degree of repellent activity has also been found in *Apium graveolens*, *Lactuca sativa* and *Gynura cusimbua* (Zhao *et al.*, 2014). Of the species evaluated in these studies, three were evaluated in this study, *C. sativum*, *O. minimum* and *C. citratus*, but none of them showed repellent effects. *P. crispum* and *L. angustifolia* were outstanding in their repellent effect. These species have VOC such as the terpenoids in their essential oils, which have shown effects against *B. tabaci* (Kim *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2014). The presence of these compounds may have caused, in part, the repellent effect in the laboratory bioassays in this study.

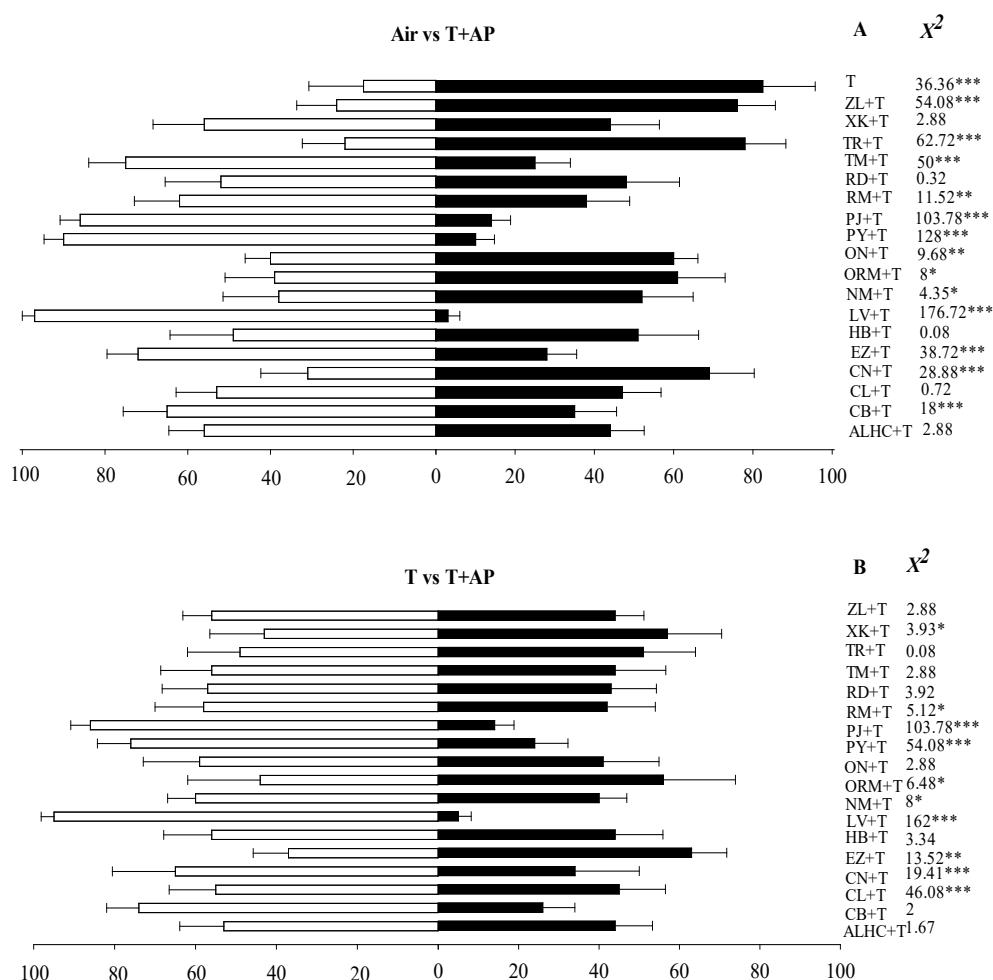


Figure 1. Percentage of the response of *Bemisia tabaci* to the odor source: (Panel A) tomato + aromatic plant (T + AP) relative to the humidified air, (Panel B) sole tomato (T) relative to tomato + aromatic species (T + AP). The assessment was carried out by olfactometry under laboratory conditions. Tests of X^2 : * < 0.05; ** < 0.01 *** < 0.001. ZL, lemon grass; XK, wild basil; TR, lemon balm; TM, thyme; RD, rue; RM, rosemary; PJ, parsley; PY, guinea hen weed; ON, oregano; ORM, Mexican oregano; NM, neem; LV, lavender; HB, spearmint; EZ, epazote; CN, citronella; CL, cilantro; CB, chives; ALHC, common basil.

Population density of *B. tabaci* in the field

The tomato crop showed no significant difference in the field regarding population density of adults ($X^2_{(4, 650)} = 0.39, p = 0.862$) and of eggs ($X^2_{(4, 648)} = 1.45, p = 0.21$) of *B. tabaci* among the treatments (tomato intercropped with aromatic species) and the control (tomato alone). However, a tendency was observed of a lower population density of *B. tabaci* in the tomato intercropped with the aromatic species *L. angustifolia* and *P. crispum* (Figure 2A; 2B).

Table 2. Index of repellence (IR) measured through the response of adults of *Bemisia tabaci* to the odor source of crushed tomato leaves and tomato + aromatic plant in bioassays of olfactometry under laboratory conditions.

Aromatic species	T vs T+PA RI $\pm$ EE
<i>T. vulgaris</i> (TM)	0.88 $\pm$ 0.25 ab
<i>L. angustifolia</i> (LV)	0.10 $\pm$ 0.06 a
<i>P. citrosum</i> (CN)	0.68 $\pm$ 0.31 ab
<i>R. officinalis</i> (RM)	0.84 $\pm$ 0.24 ab
<i>O. micranthum</i> (XK)	1.14 $\pm$ 0.26 ab
<i>D. ambrosioides</i> (EZ)	1.26 $\pm$ 0.17 b
<i>C. sativum</i> (CL)	0.9 $\pm$ 0.23 ab
<i>P. alliacea</i> (PY)	0.48 $\pm$ 0.16 ab
<i>A. indica</i> (NM)	0.8 $\pm$ 0.13 ab
<i>P. crispum</i> (PJ)	0.28 $\pm$ 0.09 ab

Means ($\pm$ SE) with different letters indicate statistical differences (GLM, Bonferroni $p \leq 0.05$).

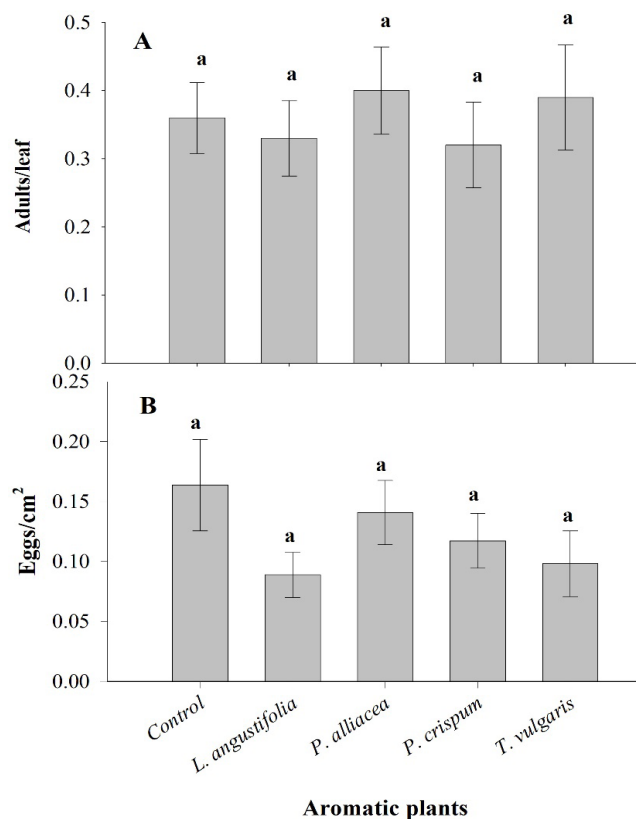


Figure 2. Average number of adults of *Bemisia tabaci* per tomato leaf (A) and number of eggs of *B. tabaci* per cm² of leaves (B) of tomato intercropped with *Lavandula angustifolia*, *Petiveria alliacea*, *Petroselinum crispum* or *Thymus vulgaris*. The bars indicate averages $\pm$ standard error. Different letters over the bars indicate statistical difference (GLM, Bonferroni, $p \leq 0.05$).

Although the presence of aromatic plants intercropped with the tomato did not have significant effects, a clear tendency was observed of the effect of *L. angustifolia* and *P. crispum* in reducing the density of eggs and adults. Phytochemical studies show that the organic volatiles of *L. angustifolia* present a high amount of terpenoids, which have repellent effects against various species of phytophagous insects (Zhang *et al.*, 2014; Han *et al.*, 2020).

In this study, the density and distribution of the aromatic plants in the tomato crop was due in part to aspects of crop management and the intensity of labour for maintenance of the agroecosystem; since the established aromatic plants also require care, such as weeding and irrigation. The lack of effect of the aromatic plants was possibly due to a low planting density compared to the tomato. It has been reported that the density and distribution of the aromatic plants influence their effect on the communities of phytophagous insects (Ben Issa *et al.*, 2016). Crops with aromatic plants intercropped in a proportion higher than 50% generate greater effects of repellence to the pests (Li *et al.*, 2021). Furthermore, the aromatic species included in the field experiment are shorter in height and with lower growth velocity than the tomato plants, which also could have affected the efficiency of the aromatic plants as emitters of volatiles and consequently in the repellence of adults of *B. tabaci*. It has also been reported that the production of VOC in the aromatic plants is related to the amount and intensity of light (Ascrizzi *et al.*, 2018; Thakur and Kumar, 2020).

Viral infection of tomato

The presence of begomovirus was confirmed through the obtainment of DNA samples from leaves corresponding to plants with viral symptoms in all of the treatments. The electrophoresis in gel of the products obtained from the PCR confirmed the presence of begomovirus in the plants sampled.

In general, the incidence and severity of begomovirus was low in all of the treatments (Table 3). Although there was no significant difference among treatments ($X^2_{(4, 10)} = 0.17$, $p = 0.95$) in the area below the progress curve of incidence, the final incidence tended to be lower in the tomato intercropped with *L. angustifolia* (21±2 %) compared with the tomato without intercropping of aromatic plants (29.5±2.7%).

Table 3. Means (±standard error) of the area under the progress curve (AUPC) of the incidence and severity, final incidence and final severity of viral symptoms associated with the presence of *Bemisia tabaci* in the tomato intercropped with different aromatic species.

Aromatic Species	Incidence AUPC	Final incidence	Severity AUPC	Final severity
Control	714.8 ±194.4a	29.5±2.7ab	116.6±9.3a	3.5±0.1a
<i>L. angustifolia</i>	715.7±224.8a	21.0±2.7b	103.7±9.5a	3.4±0.1a
<i>P. alliacea</i>	910.0±285.8a	37.7±3.5a	116.9±10.8a	3.6±0.2a
<i>P. crispum</i>	855.7± 268.8a	28.0±3.1ab	103.0±9.5a	2.3±1.2a
<i>T. vulgaris</i>	665 ± 255.8a	28.8±3.7ab	72.7±8.2a	2.9±0.9a

Different letters within the same column indicate statistical difference (GLM, Bonferroni $p \leq 0.05$).

In regard to the severity of the symptoms in all of the treatments, the plants manifested degrees of damage between 2.3 to 3.6. There was no significant statistical difference among treatments in the area below the progress curve of severity ($X^2_{(4, 10)} = 3.45$, $p = 0.05$) or in the final severity ($df = 4$, $H = 2.13$, $p = 0.7$).

The incidence (less than 40 %) and severity of viral symptoms (grade 3 to 4 of damage) were low in the tomato crop. Nevertheless, a tendency to reduce the damage from virosis was observed in the effect of *L. angustifolia*, which suggests that despite the absence of significant results, the repellent effect of *L. angustifolia* was observed in the reduction of mobility of *B. tabaci* and consequently in the decrease of symptoms associated with the virus (Erland *et al.*, 2016; Ghosh and Ghanim, 2021). The presence of VOC in the environment can alter not only the capacity of *B. tabaci* to colonize their host, but also can affect the capacity to transmit the virus. In this regard, it has been documented that the alteration in the feeding behaviour of the vectors of phytopathogenic virus mediates the acquisition and inoculation of virus (Zhou *et al.*, 2018).

One important aspect to consider in crops where intercropped aromatic plants are established to repel phytophagous insects is to know well the conditions and growth dynamic of the aromatic species to be included in the agroecosystem, due to the fact that they present problems of adaptation, as slow growth, or damage from phytoparasites, in the area of the crop. This would affect the amount of VOC emitted and consequently their efficiency as repellent of phytophagous insects (Chi *et al.*, 2021).

CONCLUSIONS

In the laboratory tests with the use of bioassays in olfactometer, the volatiles emitted by crushed leaves of lavender (*Lavandula angustifolia*), guinea hen weed (*Petiveria alliacea*), parsley (*Petroselinum crispum*) and thyme (*Thymus vulgaris*) caused significant reduction in the attraction of *Bemisia tabaci* to tomato.

Although these aromatic species did not have significant effects, a tendency of the effect of lavender (*L. angustifolia*) was observed in the suppression of population density of adults and eggs of *B. tabaci* in the tomato crop on the field. As well as the final incidence of viral symptoms associated with the presence of begomovirus according to the molecular analysis carried out on the symptomatic plants.

ACKNOWLEDGEMENTS

To the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) for the Master scholarship awarded to Angel Manuel Herrera Gorocica.

REFERENCES

- Agostinetto L, Casa RT, Bogo A, Sachs C, Souza CA, Reis EM, da Cunha IC. 2015. Barley spot blotch intensity, damage, and control response to foliar fungicide application in southern Brazil. Crop Protection 67: 7–12. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.09.012>
- Ascrizzi R, Fraternali D, Flamini G. 2018. Photochemical response of parsley (*Petroselinum crispum* (Mill.) Fuss) grown under red light: The effect on the essential oil composition and yield. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 185: 185–191. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.06.006>

- Ballina-Gómez H, Ruiz-Sánchez E, Chan-Cupul W, Latournerie-Moreno L, Hernández-Alvarado L, Islas-Flores I, Zuñiga-Aguilar JJ. 2013. Response of *Bemisia tabaci* Genn. (Hemiptera: Aleyrodidae) Biotype B to Genotypes of Pepper *Capsicum annuum* (Solanales: Solanaceae). Neotropical Entomology 42: 205–210. <https://doi.org/10.1007/s13744-012-0106-0>
- Belay DK, Huckaba RM, Ramirez AM, Rodrigues JCV, Foster JE. 2012. Insecticidal control of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) transmitting Carlavirus on soybeans and detection of the virus in alternate hosts. Crop Protection 35: 53–57. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.12.020>
- Ben Issa R, Gautier H, Gomez L. 2016a. Influence of neighbouring companion plants on the performance of aphid populations on sweet pepper plants under greenhouse conditions. Agricultural and Forest Entomology 19: 181–191. <https://doi.org/10.1111/afe.12199>
- Ben Issa Caballero R, Schuster DJ, Peres NA, Mangandi J, Hasing T, Trexler F, Kalb S, Portillo HE, Marçon PC, Annan IB. 2015. Effectiveness of Cyantraniliprole for Managing *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) and Interfering with Transmission of Tomato Yellow Leaf Curl Virus on Tomato. Journal of Economic Entomology 108: 894–903. <https://doi.org/10.1093/jee/tou034>
- Carvalho MG, Bortolotto OC, Ventura MU. 2017. Aromatic plants affect the selection of host tomato plants by *Bemisia tabaci* biotype B. Entomologia Experimentalis et Applicata 162: 86–92. <https://doi.org/10.1111/eea.12534>
- Chi B, Zhang D, Dong H. 2021. Control of cotton pests and diseases by intercropping: A review. Journal of Integrative Agriculture 20: 3089–3100. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(20\)63318-4](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(20)63318-4)
- Cook SM, Khan ZR, Pickett JA. 2007. The use of ‘push–pull’ strategies in integrated pest management. Annual Review of Entomology 52: 375–400. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.52.110405.091407>
- Di Rienzo JA, Casanoves F, Gonzalez LA, Tablada EM, Díaz MP, Robledo CW, Balzarini MG, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina 2018. InfoStat ver. 2020. Grupo InfoStat, FCA.
- Erland AE, Mahmoud SS. 2016. Lavender (*Lavandula angustifolia*) Oils. In: Preedy V.R. (ed.). Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety. Academic Press. pp. 501–508. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00057-2>
- Góngora-Gamboa CJ, Ruiz-Sánchez E, Ballina-Gómez HS, González-Moreno A. 2020. Efecto de insecticidas biorracionales y neonicotinoides en las poblaciones de *Bemisia tabaci* y rendimiento de fruto en tomate. Tropical and Subtropical Agroecosystems 23: 1–9.
- Grávalos C, Fernández E, Belando A, Moreno I, Ros C, Bielza P. 2015. Cross-resistance and baseline susceptibility of Mediterranean strains of *Bemisia tabaci* to cyantraniliprole. Pest Management Science 71: 1030–1036. <https://doi.org/10.1002/ps.3885>
- Ghosh S, Ghanim M. 2021. Factors Determining Transmission of Persistent Viruses by *Bemisia tabaci* and Emergence of New Virus–Vector Relationships. Viruses. 13: 1–13. <https://doi.org/10.3390/v13091808>
- Han S, Wang M, Wang Y, Wang Y, Cui L, Han B. 2020. Exploiting push-pull strategy to combat the tea green leafhopper based on volatiles of *Lavandula angustifolia* and *Flemingia macrophylla*. Journal of Integrative Agriculture 19: 193–203. [https://doi.org/10.1016/s2095-3119\(19\)62778-4](https://doi.org/10.1016/s2095-3119(19)62778-4)
- Islam W, Akutse KS, Qasim M, Khan KA, Ghramh HA, Idrees A, Latif S. 2018. *Bemisia tabaci* – mediated facilitation in diversity of begomoviruses: Evidence from recent molecular studies. Microbial Pathogenesis 123: 162–168. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.07.008>
- Khatun MF, Hwang HS, Shim JK, Kil EJ, Lee S, Lee KY. 2020. Identification of begomoviruses from different cryptic species of *Bemisia tabaci* in Bangladesh. Microbial Pathogenesis 142: 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104069>
- Kim SI, Chae SH, Youn HS, Yeon SH, Ahn YJ. 2011. Contact and fumigant toxicity of plant essential oils and efficacy of spray formulations containing the oils against B- and Q- biotypes of *Bemisia tabaci*. Pest Management Science 67: 1093–1099. <https://doi.org/10.1002/ps.2152>
- Kogan M, Goeden RD 1970. The host-plant range of *Lema trilineata daturaphila* (Coleoptera: Chrysomelidae). Annals of the Entomological Society of America 63: 1175–1180. <https://doi.org/10.1093/aesa/63.4.1175>
- Montejo-Canul E, Aguiñaga-Bravo A, Ruiz-Sánchez E, Ballina-Gómez H, González-Moreno A, Latournerie-Moreno L, Martín-Mex R, Garruña-Hernández R. 2019. Effects of the inclusion of biorational insecticides for pest management on phytophagous insects, fruit yield, and bee abundance in tomato and tomatillo. Archives of Phytopathology and Plant Protection 52: 1239–1254. <https://doi.org/10.1080/03235408.2019.1703300>

- Rosen R, Kanakala S, Kliot A, Cathrin Pakkianathan B, Farich BA, Santana Magal N, Ganim M. 2015. Persistent, circulative transmission of begomoviruses by whitefly vectors. *Current Opinion in Virology* 15: 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2015.06.008>
- Shao-Jian L, Su-Li R, Xia X, Shun-Xiang R, Cuthbertson AGS, Dam NMV, Bao-Li Q. 2014. Efficiency of plant induced volatiles in attracting *Encarsia Formosa* and *Serangium japonicum*, two dominant natural enemies of whitefly *Bemisia tabaci* in China. *Pest Management Science* 70: 1604–1610. <https://doi.org/10.1002/ps.3749>
- Sujayanand GK, Sharma RK, Shankarganesh K, Saha S, Tomar RS. 2015. Crop Diversification for Sustainable Insect Pest Management in Eggplant (Solanales: Solanaceae). *Florida Entomologist* 98: 305–314. <https://doi.org/10.1653/024.098.0149>
- Thakur M, Kumar R. 2020. Microclimatic buffering on medicinal and aromatic plants: A review. *Industrial Crops and Products* 160: 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113144>
- Tosh CR Brogan B. 2015. Control of tomato whiteflies using the confusion effect of plant odours. *Agronomy for Sustainable Development* 35: 183–193. <https://doi.org/10.1007/s13593-014-0219-4>
- Tsueda H, Tsuduki T, Tsuchida K. 2014. Factors that affect the selection of tomato leaflets by two whiteflies, *Trialeurodes vaporariorum* and *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Applied Entomology Zoology* 49: 561–570. <https://doi.org/10.1007/s13355-014-0287-6>
- Wagan TA, He YP, Long M, Chakira H, Zhao J, Hua HX. 2017. Effectiveness of aromatic plant species for repelling and preventing oviposition of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). *Journal of Applied Entomology* 142: 287–295. <https://doi.org/10.1111/jen.12471>
- Li X, Lu X, Zhang Z, Huang J, Zhang J, Wang L, Hafeez M, Fernández-Grandon GM, Lu Y. 2021. Intercropping Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) with Sweet Pepper (*Capsicum annum*) Reduces Major Pest Population Densities without Impacting Natural Enemy Populations. *Insects* 12: 1–13. <https://doi.org/10.3390/insects12010074>
- Zhang, Z, Luo Z, Gao Y, Bian L, Sun X, Chen Z 2014. Volatiles from non-host aromatic plants repel tea green leafhopper *Empoasca vitis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 153: 156–169. <https://doi.org/10.1111/eea.12236>
- Zhou JS, Drucker M, Ng JC. 2018. Direct and indirect influences of virus–insect vector–plant interactions on non-circulative, semi-persistent virus transmission. *Current Opinion in Virology* 33: 129–136. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2018.08.004>

RESPUESTA DE *Bemisia tabaci* Genn A LA ASOCIACIÓN TOMATE-PLANTA AROMÁTICA

Angel Manuel **Herrera-Gorocica**¹, Esaú **Ruiz-Sánchez**^{1*}, Horacio Salomón **Ballina-Gómez**¹,
Guadalupe **Reyes-Solís**², Arantza **Sánchez-Lázaro**¹

¹ Tecnológico Nacional de México. Instituto Tecnológico de Conkal. Avenida Tecnológico S/N, Conkal, Yucatán, México. C. P. 97345.

² Universidad Autónoma de Yucatán. Centro de Investigaciones Regionales Dr. Hideyo Noguchi. Avenida Itzáes No. 490 x Calle 59, Col. Centro, Mérida, Yucatán, México. C. P. 97000.

* Autor para correspondencia: esau.rs@conkal.tecnm.mx

RESUMEN

La mosquita blanca (*Bemisia tabaci*) es la plaga más dañina para las hortalizas en zonas tropicales. Una alternativa para su manejo ecológico es el uso de plantas aromáticas repelentes. La hipótesis de este estudio es que las plantas aromáticas que disminuyen la atracción de *B. tabaci* al tomate, tienen la capacidad de prevenir la infestación de esta plaga en el cultivo de tomate cuando se establece en un sistema de cultivo intercalado tomate-planta aromática. El objetivo de este trabajo fue evaluar mediante la técnica de olfatometría, la respuesta de *B. tabaci* a los volátiles emitidos por las hojas trituradas de tomate y de la combinación tomate + planta aromática. Las plantas aromáticas con actividad mayor en las pruebas de olfatometría se sembraron de forma intercalada en un cultivo de tomate en campo. En los bioensayos de olfatometría se observó disminución significativa en la atracción de *B. tabaci* a hojas trituradas de tomate + algunas plantas aromáticas comparado con la atracción a sólo tomate. Los índices de repelencia (IR) mostraron que las aromáticas *Lavandula angustifolia* Mill. (IR, 0.1), *Petiveria alliacea* L. (IR, 0.48), *Petroselinum crispum* Mill. (IR, 0.28) y *Thymus vulgaris* (IR, 0.5) tuvieron el mayor efecto como repelente de adultos. Al integrar estas especies aromáticas de forma intercalada en el cultivo de tomate en campo, no se observó diferencia significativa en la densidad poblacional de huevos y adultos de *B. tabaci* en el follaje de tomate en comparación con lo observado en el testigo (tomate sólo). La incidencia y severidad de síntomas de virales no disminuyó por la presencia de las especies aromáticas intercaladas en el cultivo de tomate.

Palabras clave: Repelencia de insectos, Cultivo asociado, Plagas de tomate, Manejo biorracional.

INTRODUCCIÓN

Una de las limitantes en la producción de tomate es el daño producido por la mosquita blanca *Bemisia tabaci* Genn. (Hemiptera: Aleyrodidae), que no sólo causa daño cuando se alimenta de la savia de las plantas, sino que transmite de manera eficiente más de 100 virus del grupo begomovirus (Khatun *et al.*, 2020). Esta plaga se distribuye a nivel mundial y se distingue por su amplio rango de hospederos, fecundidad alta y capacidad alta de transmisión de virus (Islam *et al.*, 2018). Además, *B. tabaci* tiene potencial

Citation: Herrera-Gorocica AM, Ruiz-Sánchez E, Ballina-Gómez HS, Reyes-Solís G, Sánchez-Lázaro A. 2022. Respuesta de *Bemisia tabaci* Genn a la asociación tomate-planta aromática. *Agrociencia*. 56(4): 830-853. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i4.2809>

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: June 23, 2021.
Approved: May 02, 2022.
Published in Agrociencia:
June 17, 2022.

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



para desarrollar resistencia a los insecticidas químicos (Grávalos *et al.*, 2015; Rosen *et al.*, 2015).

En la interacción *B. tabaci* – planta hospedera, el atractivo visual y el olor de las plantas es determinante en el proceso de infestación (Tsueda *et al.*, 2014). Por otro lado, también se sabe que la liberación de volátiles de algunas especies de plantas interfiere con la atracción y establecimiento de *B. tabaci* en plantas hospederas (Tosh y Brogan, 2015). Algunas especies aromáticas se han utilizado con éxito como plantas repelentes de plagas. Estas plantas generalmente emiten un conjunto de compuestos orgánicos volátiles (COVs) con efectos adversos contra los insectos fitófagos; los cuales incluyen repelencia, actividad antialimentaria, retraso del crecimiento y fecundidad menor de los insectos plaga (Cook *et al.*, 2007; Sujayanand *et al.*, 2015).

Las plantas aromáticas intercaladas con el cultivo de interés pueden afectar la capacidad de los insectos plaga para discriminar entre los volátiles de las plantas hospederas y los volátiles de las plantas aromáticas, lo cual afecta el establecimiento y colonización del fitófago (Cook *et al.*, 2007). En estudios específicos sobre el manejo de *B. tabaci* en hortalizas por medio del intercalado de plantas aromáticas, se ha observado reducción en la población de *B. tabaci*, disminución de incidencia y severidad de begomovirus y mejora en los rendimientos de fruto (Sujayanand *et al.*, 2015). Por ejemplo, el cultivo de tomate intercalado con *Coriandrum sativum* redujo el número de adultos de *B. tabaci*, retrasó la aparición del virus moteado amarillo del tomate (ToyMov), disminuyó la gravedad de la enfermedad y mejoró los rendimientos (Cook *et al.*, 2007).

Carvalho *et al.* (2017) encontró que el cultivo de tomate intercalado con plantas aromáticas de *Ocimum basilicum* y *Coriandrum sativum* reduce la incidencia de *Bemisia tabaci*. Incluso se ha reportado la utilización de los COVs de plantas aromáticas contra *B. tabaci* mediante ensayos de repelencia y disuasión, como el uso de aceites esenciales de *Litsea cubeba* Lour (Wagan *et al.*, 2017). Esto sugiere que las plantas aromáticas no sólo cuentan con gran potencial para usarse de forma directa, intercaladas con los cultivos, sino también como fuente de compuestos que a futuro puedan utilizarse como insecticidas vegetales.

El presente trabajo se estableció con la hipótesis de que las plantas aromáticas que disminuyen la atracción de *B. tabaci* al tomate, tienen la capacidad de prevenir la infestación de esta plaga en el cultivo de tomate cuando se establece en un sistema de cultivo intercalado tomate-planta aromática. Por lo tanto, el objetivo fue evaluar la respuesta de *B. tabaci* a 18 especies de plantas aromáticas a través de bioensayos de laboratorio por medio de un olfatómetro, para después evaluar el efecto de la inclusión de plantas aromáticas intercaladas en la supresión poblacional de huevos y adultos de *B. tabaci* en el cultivo de tomate bajo condiciones de campo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitios de estudio y obtención de plantas aromáticas

El estudio de respuesta de *B. tabaci* a plantas aromáticas por olfatometría se llevó a cabo en el laboratorio de plagas agrícolas del Instituto Tecnológico de Conkal. El estudio de campo donde se evaluó el efecto de plantas aromáticas intercaladas con el

cultivo de tomate se realizó en la comunidad de Chenché de las Torres, en Temax, Yucatán, México (21.3°N, 88.98°W a 12 m.s.n.m.).

El material vegetal para las pruebas de laboratorio se obtuvo de plantas aromáticas en desarrollo vegetativo cultivadas en invernadero en bolsas plásticas de 2 L. Las plantas aromáticas evaluadas (Cuadro 1) se mantuvieron en invernadero bajo condiciones naturales, con riego constante, y no recibieron fertilización ni aplicación de plaguicidas.

Evaluación de atracción en olfatómetro

Las evaluaciones de atracción se realizaron usando muestras de follaje triturado (4 g) como fuente de olor. El follaje se obtuvo de plantas de tomate de 40 días posteriores a la emergencia y plantas aromáticas (PA) en desarrollo vegetativo. Los adultos de *B. tabaci* biotipo B usados en los experimentos se obtuvieron de una colonia establecida en invernadero en plantas de berenjena. Originalmente la colonia se obtuvo de cultivos de chile habanero (Ballina-Gómez *et al.*, 2013).

Para comparar las respuestas de los insectos adultos al tomate y a la combinación de tomate + plantas aromáticas se establecieron dos ensayos. En el primer ensayo se realizó la comparación de atracción entre aire 1) humidificado y 2) atracción a sólo tomate o atracción a la combinación tomate + planta aromática. En el segundo ensayo se realizó la comparación de atracción entre sólo tomate y atracción a la combinación tomate + planta aromática.

Los experimentos se llevaron a cabo en un olfatómetro de dos brazos de polietileno de alta densidad. Las partes del olfatómetro tenían las siguientes medidas: cámara intermedia, 3 cm de altura; entradas de aire y una tapa, 1.5 cm de espesor; orificio circular

Cuadro 1. Lista de especies aromáticas estudiadas con sus claves de identificación.

Nombre común	Nombre científico	Clave
Tomillo	<i>Thymus vulgaris</i> L.	TM
Cebollina	<i>Allium schoenoprasum</i> L.	CB
Oreganón	<i>Plectranthus amboinicus</i> Lour.	ON
Albahaca común	<i>Ocimum basilicum minimum</i> L.	ALHC
Lavanda	<i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	LV
Citronela	<i>Pelargonium citrosum</i> Van.	CN
Romero	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	RM
Albahaca de monte	<i>Ocimum micranthum</i> Willd.	XK
Epazote	<i>Dysphania ambrosioides</i> L.	EZ
Ruda	<i>Ruta graveolens</i> L.	RD
Toronjil	<i>Melissa officinalis</i> L.	TR
Cilantro	<i>Coriandrum sativum</i> L.	CL
Orégano mexicano	<i>Lippia graveolens</i> Kunth.	ORM
Zorrillo silvestre	<i>Petiveria alliacea</i> L.	PY
Hierbabuena	<i>Mentha spicata</i> L.	HB
Neem	<i>Azadirachta indica</i> A. Juss.	NM
Zacate limón	<i>Cymbopogon citratus</i> DC.	ZL
Perejil	<i>Petroselinum crispum</i> Mill.	PJ

central, 8 mm en la base de la cámara para introducir los insectos a evaluar (Shao-Jian *et al.*, 2014). El aire de entrada al olfatómetro se impulsó con una bomba y se purificó mediante el paso de éste por un frasco que contenía carbón activado y un matraz Erlenmeyer lleno de agua. Previo a la entrada del aire a los espacios que contenían las fuentes de olor (tubos de vidrio de 50 ml), se colocó un caudalímetro para mantener el flujo de aire a $8 \text{ ft}^3 \text{ s}^{-1}$.

En los ensayos se siguió el procedimiento descrito por Shao-Jian *et al.* (2014). Se colocaron los adultos de *B. tabaci* en un vial de vidrio de 5 ml en el brazo de entrada a la cámara. El flujo de aire se mantuvo durante 5 minutos y después se apagó durante 2 min, lo que permitió a los insectos moverse hacia el brazo que contenía el estímulo preferido (fuente de olor). Se tomó como respuesta positiva el movimiento del insecto a alguno de los brazos que contenía la fuente de olor. Los insectos que no respondieron fueron aquellos que permanecieron inmóviles o no se dirigieron completamente a alguno de los brazos durante los 2 min de prueba. Cada ensayo consistió en la evaluación individual de 20 insectos. Cada ensayo se replicó cinco veces (repeticiones) para cada fuente de olor (planta aromática).

Después de cada ensayo, las cámaras se limpiaron permitiendo circular aire por la cámara de entrada donde se colocó un algodón impregnado con acetona. Después de 5 minutos de circular de aire, todos los componentes del olfatómetro por donde circula el aire en el interior del equipo se lavaron con agua destilada (Carvalho *et al.*, 2017).

Establecimiento del cultivo de tomate en campo

Las plántulas de tomate de 25 días fueron trasplantadas en líneas intercaladas con plantas de cada una de las cuatro especies aromáticas: lavanda (*Lavandula angustifolia*), zorrillo silvestre (*Petiveria alliacea*), perejil (*Petroselinum crispum*) y tomillo (*Thymus vulgaris*). Las parcelas experimentales consistieron en tres líneas de tomate intercaladas con cuatro líneas de plantas aromáticas. Las líneas se establecieron con separación de 1 m entre ellas. Dentro de la línea, las plantas de tomate se establecieron a 0.3 m de distancia y las aromáticas a 0.7 m de distancia. El experimento se estableció bajo un diseño en bloques completos al azar con tres repeticiones. Los bloques se separaron entre ellos por una franja de 4 m. En las parcelas control sólo se establecieron plantas de tomate sin líneas intercaladas con especies aromáticas.

A los siete días después del trasplante (ddt), se aplicó imidacloprid (Confidor 350 SC a dosis de 1 L ha^{-1} , Bayer®) al cuello de la planta para asegurar protección del cultivo los primeros 15 días posteriores al establecimiento. Para la prevención de enfermedades fungosas se aplicó cada 10 días de forma alternada sulfato de cobre pentahidratado (MasterCop a dosis de 1 L ha^{-1} , Adama®) y clorotalonil (Daconil 2787 a dosis de 2 kg ha^{-1} , Syngenta®) del día 30 al día 90 después del trasplante. El manejo de la maleza fue manual. La fertilización (kg ha^{-1}) con N:P:K fue en proporción 140:150:150 para el periodo de desarrollo vegetativo a desarrollo de frutos, con base en la recomendación para suelos leptosoles de Yucatán (Montejo-Canul *et al.*, 2019).

Evaluación de la densidad poblacional de *B. tabaci*

La evaluación de densidad de *B. tabaci* se llevó a cabo a intervalos de 14 d, durante el periodo del 14 al 70 ddt. Se tomaron las medias de cada fecha de muestreo y se promediaron para integrar un solo promedio general por tratamiento.

Para el muestreo de *B. tabaci* en las hojas de tomate se eligieron nueve plantas de tomate del centro de cada parcela experimental. Por la mañana de 7:00-8:00am, cuando la mosquita está menos activa, se contabilizaron los insectos adultos a simple vista girando la hoja cuidadosamente para ver la superficie abaxial de la hoja del tercio medio de cada planta (Góngora-Gamboa *et al.*, 2020). Posteriormente se colectaron las hojas muestreadas para contabilizar en laboratorio el número de huevos y ninfas por cm², con ayuda de un marco de papel de 1 cm² como marco de muestreo.

Evaluación de incidencia y severidad de virosis en campo

La incidencia y severidad de los síntomas virales típicos asociados a begomovirus (achaparramiento de la planta, amarillamiento de las hojas, enrollamiento de hojas, plantas atrofiadas, deformación de hojas) se registró cada 14 días, durante el periodo del día 28 al día 70 ddt. Para la incidencia se contabilizó el número de plantas con síntomas virales en el total de las plantas de las parcelas experimentales. El porcentaje de plantas enfermas se obtuvo mediante la fórmula: Incidencia= [(Número de plantas o partes enfermas) *100)] / Total de plantas observadas.

El grado de daño se determinó por medio del uso de la escala categórica de seis niveles, modificada de Caballero *et al.* (2015): nivel 1, asintomático; nivel 2, amarillamiento ligero en las hojas; nivel 3, amarillamiento moderado a severo en las hojas pero sin presencia de distorsión foliar; nivel 4, amarillamiento severo de las hojas y distorsión foliar ligera; nivel 5, amarillamiento severo de las hojas y distorsión foliar severa; nivel 6, amarillamiento severo en las hojas, distorsión foliar severa y malformación de la planta. Con estos datos se construyeron curvas del progreso de la enfermedad (ABCPE) mediante el método de integración trapezoidal con la fórmula $ABCPE = n-1 \sum (x_i + x_{i+1}) / 2 \times (t_{i+1} - t_i)$, donde x_i = grado de daño en cada iésima evaluación; $t_{i+1} - t_i$ = días entre dos evaluaciones, y n = el número total de observaciones (Agostinetto *et al.*, 2015)

Para confirmar la presencia de begomovirus en plantas sintomáticas se tomaron muestras de hojas con síntomas característicos en una parcela experimental de cada tratamiento. Se extrajo el DNA y se amplificaron los genes para detección de begomovirus usando los siguientes iniciadores universales: pAV324 (50-GCCYATRTAYAGRAAGC-CMAG-30) y Ac1154 (50-CTSAAYTTCMAAGTYTGGACG-30).

Análisis de datos

Para los datos de olfatometría se realizó una prueba X^2 con R studio comparando en cada caso la fuente de olor vs su control. El índice de repelencia (Kogan y Goeden, 1970) se determinó mediante la fórmula $IR = 2G / (G + P)$, donde G es el número de insectos en el tratamiento, y P es el número de insectos en el control. Los valores de

IR variaron de 0 a 2: IR = 1: neutro (la fuente de olor es indiferente); IR > 1: atrayente (la fuente de olor es atractiva), y IR < 1: repelente. Los intervalos de confianza (IC del 95%) se calcularon para los valores de IR (respuesta de nulidad = 1). El cálculo de los índices IR se realizó para las 10 especies aromáticas con mayor actividad en la prueba del olfatómetro. Los datos se analizaron con modelos lineales generalizados (MLG), usando la familia Gaussiana y función de enlace de Identidad, con prueba de comparación de medias Bonferroni.

Los datos generados en el cultivo de campo se analizaron mediante MLG con la familia y función de enlace específico para cada variable. Para las variables de densidad poblacional de *B. tabaci* en las hojas de tomate se utilizó la familia Gaussiana con función enlace de Identidad; para las variables de área bajo la curva del progreso de la incidencia y severidad de begomovirus se utilizó la familia Gamma con función enlace log; y para la variable de incidencia final se utilizó la familia Poisson con función enlace log. En todos los análisis se realizó la comparación de medias Bonferroni (Belay *et al.*, 2012). La variable de severidad final se analizó mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis. Todos los análisis se realizaron con el software Infostat versión 2020 (Di Rienzo *et al.* 2018).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación de atracción en olfatómetro

Una mayor atracción ($p \leq 0.05$) de *B. tabaci* se observó por la fuente de olor tomate que por el aire humidificado (82.5%, $X^2 = 36.36$). Sin embargo, la atracción de *B. tabaci* disminuyó significativamente a la fuente de olor tomate + planta aromática en comparación con el aire humidificado en los casos siguientes: TM+T (25%, $X^2 = 50$), RM+T (38%, $X^2 = 11.52$), PJ+T (14%, $X^2 = 103.78$), PY+T (10%, $X^2 = 128$), LV+T (3%, $X^2 = 176.72$) y EZ+T (28%, $X^2 = 38.72$) (Figura 1A).

Al comparar la atracción de *B. tabaci* a la fuente de olor tomate sólo contra la atracción a tomate + planta aromática, se observó que la atracción de *B. tabaci* a tomate disminuyó significativamente al asociarlo a las especies aromáticas: *L. angustifolia* (5%, $X^2 = 162$), *P. alliacea* (24%, $X^2 = 54.08$) y *P. crispum* (14%, $X^2 = 103.78$) (Figura 1B), lo que sugiere claros efectos repelentes de estas especies aromáticas.

Se calculó el índice de repelencia (IR) para las 10 especies aromáticas que presentaron mayores efectos en la atracción de *B. tabaci* al combinarlo con tomate (Cuadro 2). Se observó actividad repelente significativa en *L. angustifolia* (IR, 0.1), sin embargo, *P. alliacea* (IR, 0.48), *P. crispum* (IR, 0.28) y *T. vulgaris* (IR, 0.5) también presentaron fuertes tendencias repelentes (Cuadro 2).

L. angustifolia, *P. alliacea* y *P. crispum* fueron las fuentes de olor que mostraron actividad repelente mayor contra *B. tabaci* con base en los ensayos de olfatometría. Estas especies no se han consignado antes como repelentes contra *B. tabaci*. En un estudio previo sobre efecto de especies aromáticas en *B. tabaci*, se observó que *C. sativum*, *O. basilicum* y *Cymbopogon citratus* fueron altamente repelentes (Carvalho *et al.*, 2017). También se ha encontrado grado de actividad repelente en *Apium graveolens*, *Lactuca sativa* y *Gynura cusimbua* (Zhao *et al.*, 2014). De las especies evaluadas en esos estudios,

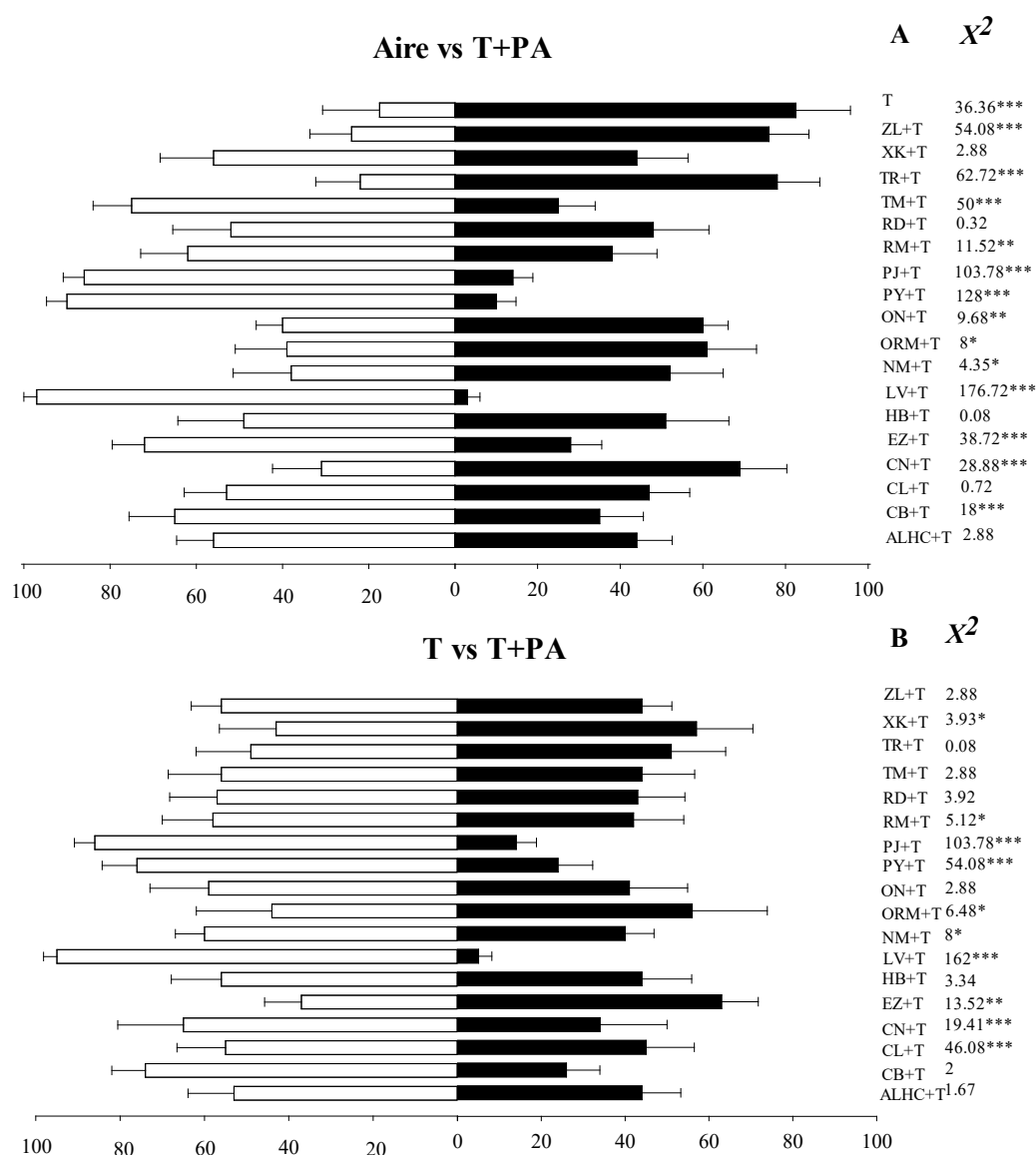


Figura 1. Porcentaje promedio de respuestas de *Bemisia tabaci* a la fuente de olor: (A) tomate + planta aromática (T + PA) relativo al aire humidificado, así como (B) al tomate (T) contra el tomate + especie aromática (T + PA). Las pruebas se realizaron por olfatometría bajo condiciones de laboratorio. Pruebas de X^2 : * < 0.5; ** < 0.01 *** < 0.001. ZL, zacate limón; XK, albahaca de monte; TR, toronjil; TM, tomillo; RD, ruda; RM, romero; PJ, perejil; PY, zorrillo silvestre; ON, oreganón; ORM, orégano mexicano; NM, neem; LV, lavanda; HB, hierbabuena; EZ, epazote; CN, citronela; CL, cilantro; CB, cebollina; ALHC, albahaca común.

tres se evaluaron en este estudio, *C. sativum*, *O. minimum* y *C. citratus*, pero ninguna de éstas mostró efectos repelentes. También *P. crispum*, y *L. angustifolia* sobresalieron por su actividad repelente. Estas especies tienen COVs como los terpenoides en sus aceites

esenciales, los cuales han mostrado efectos contra *B. tabaci* (Kim *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2014). La presencia de estos compuestos pudo haber causado, en parte, el efecto de repelente en los bioensayos de laboratorio en este estudio.

Densidad de población de *B. tabaci* en campo

En el cultivo de tomate en campo no se encontró diferencia significativa en la densidad poblacional de adultos ($X^2_{(4,650)} = 0.39, p = 0.862$) y de huevos ($X^2_{(4,648)} = 1.45, p = 0.21$) de *B. tabaci* entre los tratamientos (tomate intercalado con especies aromáticas) y el control (tomate sólo). Sin embargo, se observó tendencia a menor densidad poblacional de *B. tabaci* en el cultivo de tomate intercalado de las especies aromáticas *L. angustifolia* y *P. crispum* (Figura 2A; 2B).

Aunque la presencia de plantas aromáticas intercaladas en el cultivo de tomate no tuvo efectos significativos, se observó una clara tendencia del efecto de *L. angustifolia* y *P. crispum* en disminuir la densidad de huevos y adultos. Estudios de fitoquímica

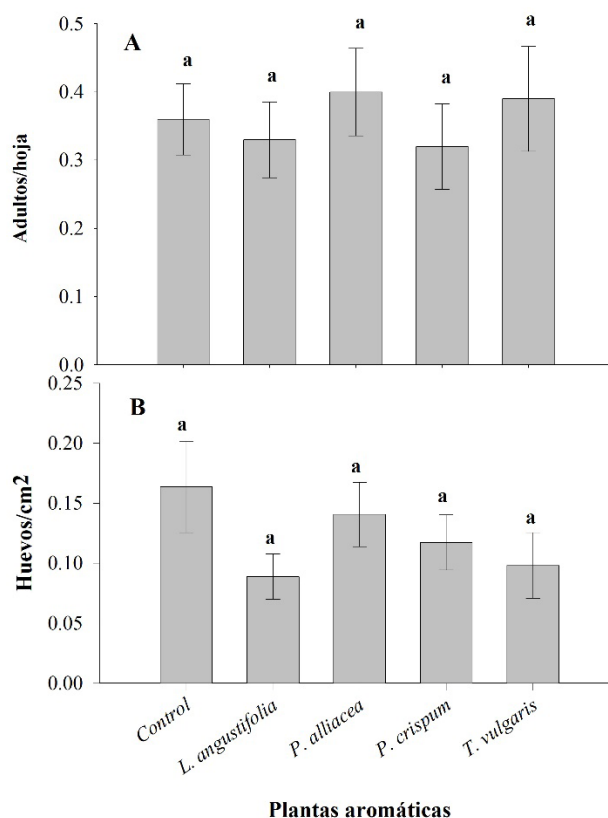


Figura 2. A) Número promedio de adultos de *B. tabaci* por hoja de tomate y B) Número promedio de huevos de *B. tabaci* por cm² de hojas de tomate en cultivo intercalado con *L. angustifolia*, *P. alliacea*, *P. crispum* o *T. vulgaris*. Las barras indican promedios $\pm$ error estándar. Literales idénticas sobre las columnas de cada figura indican medias sin diferencia estadística significativa (MLG, Bonferroni, $p > 0.05$).

Cuadro 2. Índice de repelencia (IR) medido a través de la respuesta de adultos de *B. tabaci* a la fuente de olor hojas trituradas de tomate y tomate + planta aromática en bioensayos de olfatometría bajo condiciones de laboratorio.

Especie aromática	T vs T+PA IR $\pm$ EE
<i>T. vulgaris</i> (TM)	0.88 $\pm$ 0.25 ab
<i>L. angustifolia</i> (LV)	0.10 $\pm$ 0.06 a
<i>P. citrosum</i> (CN)	0.68 $\pm$ 0.31 ab
<i>R. officinalis</i> (RM)	0.84 $\pm$ 0.24 ab
<i>O. micranthum</i> (XK)	1.14 $\pm$ 0.26 ab
<i>D. ambrosioides</i> (EZ)	1.26 $\pm$ 0.17 b
<i>C. sativum</i> (CL)	0.9 $\pm$ 0.23 ab
<i>P. alliacea</i> (PY)	0.48 $\pm$ 0.16 ab
<i>A. indica</i> (NM)	0.8 $\pm$ 0.13 ab
<i>P. crispum</i> (PJ)	0.28 $\pm$ 0.09 ab

Literales diferentes en una misma columna indican diferencia estadística significativa (glm, Bonferroni $p \leq 0.05$).

muestran que los volátiles orgánicos de *L. angustifolia* presentan una alta cantidad de terpenoides, los cuales tienen efectos repelentes contra varias especies de insectos fitófagos (Han *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2014).

En el presente estudio, la densidad y distribución de las plantas aromáticas en el cultivo del tomate obedeció, en parte, a aspectos de manejo del cultivo y de intensidad de labor para mantenimiento del agroecosistema, ya que las plantas aromáticas establecidas también requieren cuidados, como desmalezado y riego. La falta de efecto de las plantas aromáticas se debió posiblemente a una baja densidad de plantación en comparación con el tomate, ya que se ha reportado que la densidad y distribución de las plantas aromáticas influyen el efecto de éstas sobre las comunidades de insectos fitófagos (Ben Issa *et al.*, 2016). Cultivos con plantas aromáticas intercaladas en una proporción mayor al 50 % generan mayores efectos repelentes a las plagas (Li *et al.*, 2021). Además, las especies aromáticas incluidas en el experimento de campo son de porte bajo y de menor velocidad de crecimiento que las plantas de tomate, lo cual también pudo haber afectado la eficiencia de las plantas aromáticas como emisores de volátiles y en consecuencia en la repelencia de adultos de *B. tabaci*, puesto que se ha reportado que la producción de COVs en las plantas aromáticas está relacionada con la cantidad e intensidad lumínica (Thakur y Kumar, 2020; Ascrizzi *et al.*, 2018).

Virosis del tomate

La presencia de begomovirus fue confirmada a través de la obtención de muestras de ADN de hojas correspondientes a plantas con síntomas virales en todos los tratamientos. La electroforesis en gel de los productos obtenidos de la PCR confirmó la presencia de begomovirus en las plantas muestras.

En general, la incidencia y severidad de begomovirus fue baja en todos los tratamientos (Cuadro 3). Aunque no hubo diferencia significativa entre tratamientos ($X^2_{(4,10)} = 0.17$, $p = 0.95$) en el área bajo la curva del progreso de la incidencia, la incidencia final tuvo tendencia a ser menor en el cultivo de tomate intercalado con *L. angustifolia* (21 ± 2 %) comparado con el cultivo de tomate sin intercalar plantas aromáticas (29.5 ± 2.7 %). Respecto a la severidad de los síntomas, en todos los tratamientos las plantas manifestaron grados de daños entre 2.3 a 3.6. No existió diferencia estadística significativa entre tratamientos en el área bajo la curva del progreso de la severidad ($X^2_{(4,10)} = 3.45$, $p = 0.05$) o en la severidad final ($gl = 4$, $H = 2.13$, $p = 0.7$).

La incidencia (menor al 40%) y severidad de síntomas virales (grado 3 a 4 de daño) fueron bajas en el cultivo de tomate. Aun así, pudo verse una tendencia a reducir el daño por virosis en el efecto de *L. angustifolia*, esto sugiere que, a pesar de no haber presentado resultados significativos, se observó el efecto repelente de *L. angustifolia* en la reducción de la movilidad de *B. tabaci* y por ende en la disminución de la presencia de síntomas asociados a los virus (Erland *et al.*, 2016; Ghosh y Ghanim 2021). La presencia de COVs en el ambiente puede alterar no sólo la capacidad de *B. tabaci* para colonizar a su hospedero, sino también puede afectar su capacidad de transmitir virus, pues se ha documentado que la alteración en el comportamiento de alimentación de los vectores de virus fitopatógenos media la adquisición e inoculación de virus (Zhou *et al.*, 2018).

Un aspecto importante por considerar en los cultivos donde se establecen plantas aromáticas intercaladas para repeler insectos fitófagos, es conocer bien las condiciones y dinámica de crecimiento de las especies aromáticas a incluir en el agroecosistema, debido a que si éstas presentan problemas de adaptación (lento crecimiento y daños por fitoparásitos) en el área del cultivo, esto afectará la cantidad de COVs emitidos y por ende su eficiencia como repelente de insectos fitófagos (Chi *et al.*, 2021).

CONCLUSIONES

En las pruebas de laboratorio con el uso de bioensayos en olfatómetro, los volátiles emitidos por hojas trituradas de lavanda (*Lavandula angustifolia*), zorrillo silvestre

Cuadro 3. Comparación de medias ($\pm$ error estándar) del área bajo la curva de progreso (ABCP) de la incidencia y severidad, así como la incidencia y severidad final de síntomas virales asociados a la presencia de *B. tabaci* en el cultivo de tomate intercalado con diferentes especies aromáticas.

Especies aromáticas	ABCP Incidencia	Incidencia Final	ABCP Severidad	Severidad final
Control	714.8 $\pm$ 194.4a	29.5 $\pm$ 2.7ab	116.6 $\pm$ 9.3a	3.5 $\pm$ 0.1a
<i>L. angustifolia</i>	715.7 $\pm$ 224.8a	21.0 $\pm$ 2.7b	103.7 $\pm$ 9.5a	3.4 $\pm$ 0.1a
<i>P. alliacea</i>	910.0 $\pm$ 285.8a	37.7 $\pm$ 3.5a	116.9 $\pm$ 10.8a	3.6 $\pm$ 0.2a
<i>P. crispum</i>	855.7 $\pm$ 268.8a	28.0 $\pm$ 3.1ab	103.0 $\pm$ 9.5a	2.3 $\pm$ 1.2a
<i>T. vulgaris</i>	665 $\pm$ 255.8a	28.8 $\pm$ 3.7ab	72.7 $\pm$ 8.2a	2.9 $\pm$ 0.9a

Literales distintas en una misma columna indican diferencia estadística significativa (MLG, Bonferroni $p \leq 0.05$).

(*Petiveria alliacea*), perejil (*Petroselinum crispum*) y tomillo (*Thymus vulgaris*) causaron disminución significativa en la atracción de *B. tabaci* a tomate.

Aunque estas especies aromáticas no tuvieron efectos significativos, se observó tendencia del efecto de lavanda (*Lavandula angustifolia*) en la supresión de la densidad poblacional de adultos y huevos de *B. tabaci* en el cultivo de tomate en campo, así como en la incidencia final de síntomas virales asociados con la presencia de begomovirus de acuerdo al análisis molecular realizado a las plantas sintomáticas.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca de maestría otorgada a Angel Manuel Herrera Gorocica.

REFERENCIAS

- Agostinetto L, Casa RT, Bogo A, Sachs C, Souza CA, Reis EM, da Cunha IC. 2015. Barley spot blotch intensity, damage, and control response to foliar fungicide application in southern Brazil. *Crop Protection* 67: 7–12. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.09.012>
- Ascrizzi R, Fraternale D, Flamini G. 2018. Photochemical response of parsley (*Petroselinum crispum* (Mill.) Fuss) grown under red light: The effect on the essential oil composition and yield. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 185: 185–191. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.06.006>
- Ballina-Gómez H, Ruiz-Sánchez E, Chan-Cupul W, Latournerie-Moreno L, Hernández-Alvarado L, Islas-Flores I, Zuñiga-Aguilar JJ. 2013. Response of *Bemisia tabaci* Genn. (Hemiptera: Aleyrodidae) Biotype B to Genotypes of Pepper *Capsicum annuum* (Solanales: Solanaceae). *Neotropical Entomology* 42: 205–210. <https://doi.org/10.1007/s13744-012-0106-0>
- Belay DK, Huckaba RM, Ramirez AM, Rodrigues JCV, Foster JE. 2012. Insecticidal control of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) transmitting Carlavirus on soybeans and detection of the virus in alternate hosts. *Crop Protection* 35: 53–57. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.12.020>
- Ben Issa R, Gautier H, Gomez L. 2016a. Influence of neighbouring companion plants on the performance of aphid populations on sweet pepper plants under greenhouse conditions. *Agricultural and Forest Entomology* 19: 181–191. <https://doi.org/10.1111/afe.12199>
- Ben Issa Caballero R, Schuster DJ, Peres NA, Mangandi J, Hasing T, Trexler F, Kalb S, Portillo HE, Marçon PC, Annan IB. 2015. Effectiveness of Cyantraniliprole for Managing *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) and Interfering with Transmission of Tomato Yellow Leaf Curl Virus on Tomato. *Journal of Economic Entomology* 108: 894–903. <https://doi.org/10.1093/jeet/tou034>
- Carvalho MG, Bortolotto OC, Ventura MU. 2017. Aromatic plants affect the selection of host tomato plants by *Bemisia tabaci* biotype B. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 162: 86–92. <https://doi.org/10.1111/eea.12534>
- Chi B, Zhang D, Dong H. 2021. Control of cotton pests and diseases by intercropping: A review. *Journal of Integrative Agriculture* 20: 3089–3100. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(20\)63318-4](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(20)63318-4)
- Cook SM, Khan ZR, Pickett JA. 2007. The use of ‘push-pull’ strategies in integrated pest management. *Annual Review of Entomology* 52: 375–400. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.52.110405.091407>
- Di Rienzo JA, Casanoves F, Gonzalez LA, Tablada EM, Díaz MP, Robledo CW, Balzarini MG, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina 2018. InfoStat ver. 2020. Grupo InfoStat, FCA.
- Erland AE, Mahmoud SS. 2016. Lavender (*Lavandula angustifolia*) Oils. In: Preedy V.R. (ed.). *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. Academic Press. pp. 501–508. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00057-2>
- Góngora-Gamboa CJ, Ruiz-Sánchez E, Ballina-Gómez HS, González-Moreno A. 2020. Efecto de insecticidas biorracionales y neonicotinoides en las poblaciones de *Bemisia tabaci* y rendimiento de fruto en tomate. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 23: 1–9.

- Grávalos C, Fernández E, Belando A, Moreno I, Ros C, Bielza P. 2015. Cross-resistance and baseline susceptibility of Mediterranean strains of *Bemisia tabaci* to cyantraniliprole. *Pest Management Science* 71: 1030–1036. <https://doi.org/10.1002/ps.3885>
- Ghosh S, Ghanim M. 2021. Factors Determining Transmission of Persistent Viruses by *Bemisia tabaci* and Emergence of New Virus–Vector Relationships. *Viruses*. 13: 1–13. <https://doi.org/10.3390/v13091808>
- Han S, Wang M, Wang Y, Wang Y, Cui L, Han B. 2020. Exploiting push-pull strategy to combat the tea green leafhopper based on volatiles of *Lavandula angustifolia* and *Flemingia macrophylla*. *Journal of Integrative Agriculture* 19: 193–203. [https://doi.org/10.1016/s2095-3119\(19\)62778-4](https://doi.org/10.1016/s2095-3119(19)62778-4)
- Islam W, Akutse KS, Qasim M, Khan KA, Ghramh HA, Idrees A, Latif S. 2018. *Bemisia tabaci* – mediated facilitation in diversity of begomoviruses: Evidence from recent molecular studies. *Microbial Pathogenesis* 123: 162–168. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.07.008>
- Khatun MF, Hwang HS, Shim JK, Kil EJ, Lee S, Lee KY. 2020. Identification of begomoviruses from different cryptic species of *Bemisia tabaci* in Bangladesh. *Microbial Pathogenesis* 142: 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104069>
- Kim SI, Chae SH, Youn HS, Yeon SH, Ahn YJ. 2011. Contact and fumigant toxicity of plant essential oils and efficacy of spray formulations containing the oils against B-and Q- biotypes of *Bemisia tabaci*. *Pest Management Science* 67: 1093–1099. <https://doi.org/10.1002/ps.2152>
- Kogan M, Goeden RD 1970. The host-plant range of *Lema trilineata daturaphila* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Annals of the Entomological Society of America* 63: 1175–1180. <https://doi.org/10.1093/aesa/63.4.1175>
- Montejo-Canul E, Aguiñaga-Bravo A, Ruiz- Sánchez E, Ballina-Gómez H, González-Moreno A, Latournerie-Moreno L, Martín-Mex R, Garruña-Hernández R. 2019. Effects of the inclusion of biorational insecticides for pest management on phytophagous insects, fruit yield, and bee abundance in tomato and tomatillo. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 52: 1239–1254. <https://doi.org/10.1080/03235408.2019.1703300>
- Rosen R, Kanakala S, Kliot A, Cathrin Pakkianathan B, Farich BA, Santana Magal N, Ganim M. 2015. Persistent, circulative transmission of begomoviruses by whitefly vectors. *Current Opinion in Virology* 15: 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2015.06.008>
- Shao-Jian L, Su-Li R, Xia X, Shun-Xiang R, Cuthbertson AGS, Dam NMV, Bao-Li Q. 2014. Efficiency of plant induced volatiles in attracting *Encarsia Formosa* and *Serangium japonicum*, two dominant natural enemies of whitefly *Bemisia tabaci* in China. *Pest Management Science* 70: 1604–1610. <https://doi.org/10.1002/ps.3749>
- Sujayanand GK, Sharma RK, Shankarganesh K, Saha S, Tomar RS. 2015. Crop Diversification for Sustainable Insect Pest Management in Eggplant (Solanales: Solanaceae). *Florida Entomologist* 98: 305–314. <https://doi.org/10.1653/024.098.0149>
- Thakur M, Kumar R. 2020. Microclimatic buffering on medicinal and aromatic plants: A review. *Industrial Crops and Products* 160: 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113144>
- Tosh CR Brogan B. 2015. Control of tomato whiteflies using the confusion effect of plant odours. *Agronomy for Sustainable Development* 35: 183–193. <https://doi.org/10.1007/s13593-014-0219-4>
- Tsueda H, Tsuduki T, Tsuchida K. 2014. Factors that affect the selection of tomato leaflets by two whiteflies, *Trialeurodes vaporariorum* and *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Applied Entomology Zoology* 49: 561–570. <https://doi.org/10.1007/s13355-014-0287-6>
- Wagan TA, He YP, Long M, Chakira H, Zhao J, Hua HX. 2017. Effectiveness of aromatic plant species for repelling and preventing oviposition of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). *Journal of Applied Entomology* 142: 287–295. <https://doi.org/10.1111/jen.12471>
- Li X, Lu X, Zhang Z, Huang J, Zhang J, Wang L, Hafeez M, Fernández-Grandon GM, Lu Y. 2021. Intercropping Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) with Sweet Pepper (*Capsicum annum*) Reduces Major Pest Population Densities without Impacting Natural Enemy Populations. *Insects* 12: 1–13. <https://doi.org/10.3390/insects12010074>
- Zhang, Z, Luo Z, Gao Y, Bian L, Sun X, Chen Z 2014. Volatiles from non-host aromatic plants repel tea green leafhopper *Empoasca vitis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 153: 156–169. <https://doi.org/10.1111/eea.12236>
- Zhou JS, Drucker M, Ng JC. 2018. Direct and indirect influences of virus–insect vector–plant interactions on non-circulative, semi-persistent virus transmission. *Current Opinion in Virology* 33: 129–136. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2018.08.004>

NITROGEN FERTILIZATION FOR MAIZE BASED ON ATTAINABLE YIELD AND SOIL ORGANIC MATTER CONTENT

Mariana Margarita **Sánchez-Roldán**¹, Iván **Ortiz-Monasterio**², Víctor Hugo **Volke-Haller**^{3*}
Luis **Guerra-Zitlalapa**², Jorge Dionisio **Etchevers-Barra**³

¹ PARAMÉTRICA GLPS. Tercera Cerrada de Benito Juárez No. 5, San Bernardino, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56260.

² Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. Carretera México-Veracruz km 45, El Batán, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56237.

³ Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Postgrado en Edafología. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56230.

*Corresponding author: vvolke@colpos.mx

ABSTRACT

Agricultural soils generally do not provide enough N to satisfy crop needs, so it is necessary to apply it as fertilizer. This supply can be estimated by chemical analysis of the soil and, based on this and the needs of the plant, nitrogen fertilization recommendations are made for the crops. The objective of this study was to determine economic optimum N rates for maize (*Zea mays* L.), based on attainable yield and soil organic matter content as an estimator of soil N supply, with the current and increased N/maize price ratio, to reduce economic optimum N rates and fertilization costs, as well as N losses and environmental pollution. In 2011, 2012, and 2013, 67 experiments on maize response to N were distributed and conducted in five edaphoclimatic regions of Mexico, with native and improved maize in rainfed and irrigation conditions. The treatments were: (1) fertilization with N, P, and K; (2) omission of each nutrient; and (3) no fertilization. The experimental design was a randomized complete block design, without replications. Production functions were estimated for rainfed and irrigation conditions in edaphoclimatic regions, for yield as a function of attainable yield classes, amount of N applied, and soil organic matter content. The production functions were used to estimate economic optimum N rates, with: (1) the current N/maíz price ratio for the attainable yield classes and soil organic matter contents, as well as economic optimum yields and net income, for rainfed and irrigated conditions, in the edaphoclimatic regions; and (2) the increased N/maize price ratio, that reduced the economic optimum N rates and fertilization costs, without significantly decrease of the economic optimum yields and the net income; this also reduces N losses and environmental pollution.

Keywords: *Zea mays* L., production function, N/maize price ratio, economic optimum nitrogen rate, economic optimum yield, net income.

Citation: Sánchez-Roldán MM, Ortiz-Monasterio I, Volke-Haller VV, Guerra-Zitlalapa L, Etchevers-Barra JD. 2022. Nitrogen fertilization for maize based on attainable yield and soil organic matter content. *Agrociencia*. 56(4): 854-884. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i4.2808>

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: July 05, 2021.

Approved: May 02, 2022.

Published in Agrociencia:
June 17, 2022.

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



INTRODUCTION

In Mexico, maize is grown on approximately 7.5×10^6 ha, of which about 21.5 % is irrigated and 78.5 % rainfed. Agricultural and Livestock and Fisheries Information and Statistics Service (SIAP) estimated in 2018 a national average yield of 1870 kg

ha⁻¹ in rainfed crops and 8760 kg ha⁻¹ under irrigation, with variations among maize-producing states between 580 and 6470 kg ha⁻¹, and between 2490 and 11460 kg ha⁻¹, respectively (SIAP, 2018). This information does not indicate the causes of the low yields obtained. This can be attributed, in addition to possible deficient crop management, to limiting soil and climate conditions in rainfed, and to the shortage of water in irrigation conditions, without excluding the fact that limiting climate conditions can also occur.

Crop management includes several technological components, among which fertilization is one of the most important when the soil does not have sufficient capacity to meet the nutrient requirements of the crop. Thus, as is generally known, on the one hand, low fertilization will cause lower crop yields than potentially possible, and lower farmer incomes; on the other, over-fertilization will result in higher production costs and lower farmer incomes, as well as higher environmental pollution.

Among the nutrients normally supplied to crops by fertilization, N stands out in importance because of the amount required by them (Ciampitti and Vyn, 2014; Bak *et al.*, 2016), and because of the losses that occur in its use, which for maize are estimated on average between 35 and 65 % (Morris *et al.*, 2018). These losses occur through leaching (as N-NO₃), volatilization (as NH₃), denitrification (as N₂, N₂O), and surface runoff (Grajeda-Cabrera *et al.*, 2011; Morris *et al.*, 2018), of which N₂O is a strong greenhouse gas (McLellan *et al.*, 2018; Millar *et al.*, 2018). Factors affecting losses are soil and weather conditions, and the chemical form and management practices of the fertilizer, but one practice that increases losses is the application of high and excessive amounts of N to crops (Wortmann *et al.*, 2011; McLellan *et al.*, 2018).

Different approaches have been used to determine the amount of N to be applied as fertilizer to maize (Morris *et al.*, 2018). One is based on the attainable crop yield, considering or not the supply of N by the soil and the production system (Morris *et al.* 2018). And another one is based on field experiments of crop response to two or more N rates, in which economic optimum N rates are estimated, and associated with N supply by soil and the production system, or recommendations are generated for similar soil and climate units and production systems (Moreno-Ramos *et al.*, 2014; Morris *et al.*, 2018).

One way to estimate the N supply by the soil is as soil analysis when properly calibrated, for which there are different methods of chemical analysis. The values determined by the analysis method are an approximate indicator of the soil capacity to supply a certain amount of a nutrient to the crop, since various factors (soil, climate, production system) can modify its expression. For N, among soil analyses, the following have been considered: available N (N-NO₃+N-NH₄) (Hartmann *et al.*, 2014; Morris *et al.*, 2018), potentially mineralizable N (Sharifi *et al.*, 2007; Murphy *et al.*, 2009), total N (Wang *et al.*, 2012; Ren *et al.*, 2015) and organic matter (OM) (Janssen *et al.*, 1990; Morris *et al.*, 2018). Among these, OM has the advantage of being determined within a routine soil analysis (SEMARNAT, 2002), though its mineralization is affected by several factors. Organic matter mineralization depends on soil (pH, texture) and climate (precipitation, temperature) conditions, type of OM (C/N ratio), presence of irrigation, and the

production system (crops and their management) (Clivot *et al.*, 2017; Crzyb *et al.*, 2020). This implies that the relationship between crop response to N and the N supply by OM must be estimated under different soil and climatic conditions and production systems (Moreno-Ramos *et al.*, 2014; Morris *et al.*, 2018).

In the optimization to determine economic optimum rates of a nutrient, the economic criterion of maximization of net income per hectare has been used. This economic criterion determines the maximum economically optimum rates, and since high N rates increase N losses (Dobermann *et al.*, 2011; Morris *et al.*, 2018), it is associated with higher N losses. One way to decrease the economic optimum N rates determined by this economic criterion is with an increase in the N/maize price ratio in economic optimization (Chen *et al.*, 2011; Dobermann *et al.*, 2011; Morris *et al.*, 2018), but provided that yields and net returns do not decrease significantly.

The objective of this study was to determine economic optimum N rates for maize in edaphoclimatic regions of Mexico, based on attainable yield and soil OM content as an estimator of soil N supply, with the current and increased N/maize price ratios, to reduce economic optimum N rates and fertilization costs, as well as N losses and environmental pollution.

MATERIALS AND METHODS

The information was obtained from 67 experiments on maize response to N, conducted by the MasAgro Program of the International Maize and Wheat Improvement Centre (CIMMYT), in 2011, 2012, and 2013 in Mexico. The experiments were located in fields of local farmers and maize-maize production systems. Treatments consisted of fertilization with N, P, and K (complete fertilization), the omission of each nutrient, and a control treatment with no fertilization (Wang *et al.*, 2012; Ren *et al.*, 2015). The experiments were distributed in five edaphoclimatic regions, as follows: 16 in Bajío (Guanajuato, Jalisco, Michoacan, Queretaro), 19 in Tropico (Chiapas, Guerrero, Oaxaca, Quintana Roo), 22 in Valles Altos (Mexico, Hidalgo, Puebla, Tlaxcala), eight in Pacífico (Sinaloa, Sonora), and two in Intermedia (San Luis Potosí). Seventeen experiments were established under irrigated conditions and 50 under rainfed conditions. In irrigated conditions, improved maize was sown, while in rainfed conditions, native (21) and improved (29) maize were sown. In the edaphoclimatic regions, there are differences in altitude and soil and climate types, which affect crop yields, while in the Pacífico region and some states, production is carried out with irrigation. The predominant agricultural soils are classified as Phaeozems, Vertisols, Cambisols, and Luvisols, with textures ranging from loamy to clayey, and there are sandy textures in some states (Puebla, Tlaxcala) due to volcanic eruptions (INEGI, 2007). The types of climate present are associated with latitude, altitude, relief, and distance from the coasts. So, warm climates predominate in the coastal plains, dry in the north, sub-humid to humid in the south of the country, and temperate climates predominate in the highlands, sub-humid and dry, depending on the distance from the coasts (INEGI, 2018). The rainfall regime is in summer, going from May/June to September/October

(INEGI, 2018). The altitude of maize sowings and mean annual precipitations in the edaphoclimatic regions are shown in Table 1 (SAGARPA *et al.*, 2015; INEGI, 2018).

The N, P, and K rates of the experiments were determined according to an estimation of the expected yield, based on information obtained by the personnel who participated in the field experimentation. These ranged from 30 to 350 kg N ha⁻¹, 16 to 260 kg P₂O₅ ha⁻¹, and 30 to 230 kg K₂O ha⁻¹, in the form of urea (46 % N), triple Ca superphosphate (46 % P₂O₅) and K chloride (60 % K₂O), respectively. Nitrogen application time was determined according to the expected yield: for yields less than 4000 kg ha⁻¹, one-third was applied at sowing and the rest in the first tillage, and for yields greater than 4000 kg ha⁻¹, the whole N was applied in the first tillage. P and K were applied at sowing. Stocking density, weed, pest, and disease control were carried out according to the recommendations given by the National Institute of Forestry, Agricultural and Livestock Research of Mexico (INIFAP) for the states of the edaphoclimatic regions (SAGARPA, 2015). The experimental design was a randomized complete block, without replications. The experimental units were plots of 5.6 × 8.0 m, with six furrows of maize, separated by 0.80 m.

At each experimental site, soil sampling was carried out at a depth of 20 cm, taking 10 subsamples to obtain a composite sample. The determinations were OM, by wet combustion with a mixture of K₂Cr₂O₇ and H₂SO₄; P, by the Olsen method (assuming that the pH value in some soils was greater than 7.0), and colorimetry with molybdenum blue; and exchangeable K, with 1 N ammonium acetate at pH 7, and quantified by flame emission spectrometry. All chemical procedures were performed according to the Mexican Official Standard (SEMARNAT, 2002). The mean value and range of the determined properties were as follows OM, 2.05 %, 0.34-4.0 %; P Olsen, 28 mg kg⁻¹, 6-103 mg kg⁻¹; and, exchangeable K, 384 mg kg⁻¹, 57-1624 mg kg⁻¹.

Because the maximum maize yields observed (treatment with complete fertilization) varied between and within edaphoclimatic regions, yield classes were established as an estimate of attainable yields: in rainfed conditions, depending on the soil and climatic factors present, and under irrigation, depending on an assumed irrigation intensity, all of which have not been determined. These classes were: (1) rainfed, <1750,

Table 1. The altitude of maize sowings and mean annual precipitation in edaphoclimatic regions.

Region	Altitude (m)	Precipitation [†] (mm)
Pacifico	< 40	250-450, 300-500, 500-800
Bajío	<1600-2600	400-1000, 1000-1500
Valles Altos	1600-2600	400-1000
Tropico	< 2300	350-750, 600-1000, 1000-1500
Intermedia	< 2100	300-500, 550-700

[†]By subregion.

1750-3000, 3000-4250, 4250-5500, 5500-6750, 6750-8000, and 8000-9250 kg ha⁻¹; and (2) irrigated, 8000-10000, 10000-13000, and 13000-16000 kg ha⁻¹, in the Pacific region, and irrigated maize in the Bajío and Tropic regions.

The information was analysed by regression to obtain a production function of maize yield as a function of applied N and soil OM content as an estimator of soil N supply, and other factors considered, both for rainfed and irrigation. These factors were: (1) years, as an auxiliary variable; (2) Olsen P and exchangeable K content of the soil, as estimators of the contribution of P and K by the soil; (3) amounts of N, P and K applied as inorganic fertilizers; and (4) attainable yield classes, which were considered as a numerical variable, of 1, 2, 3, 4, 5, 6, and 7 for rainfed, and 2, 3 and 4 for irrigation. In rainfed, native and improved maizes were considered together, and under irrigation conditions, only the improved maize was considered. The regression procedure used to perform the analysis and obtain the production functions was that proposed by Volke (2008), which consisted of: (1) specifying an initial regression model for N, as indicated by the graphical relationship of crop response to N application, and for some other factor that had an observable effect on yield; (2) the model underwent the PROC REG procedure of SAS (Statistic Analysis System), and the R INFLUENCE option (Freund and Littell, 2000), in order to observe the presence of possible atypical observations (outliers), which in such case were eliminated ($p=0.01$) (Myers, 1990; Freund and Littell, 2000); (3) the R INFLUENCE option allows to graphically observe the fit to the model of the factors already included in it, as well as the model for factors not yet included, whose inclusion will be tested; (4) among the variables to be tested are the interactions between factors, depending on the phenomenon; and (5) the final model was the one with the lowest mean square of the error, and interpretable in terms of the phenomenon.

With the production function and the N/maize price ratio (calculated from the total cost of N and the net price of the product), the economic optimum N rates were calculated for the yield classes of rainfed and irrigation conditions, and the soil OM contents (1.0, 2.0 and 3.0 %). For this purpose, a SAS optimization program was used, which in addition to the economic optimum N rates, allows calculating the economic optimum yields, and if fixed costs are considered, the net income and benefit/cost ratios can also be estimated (Briones *et al.*, 2009).

The total cost per N unit was 1.19 USD kg⁻¹, which includes the market price and transportation, application and interest on invested capital costs, and was an average of the ammonium sulphate and urea sources most frequently used by producers. The net price of maize was 0.167 USD kg⁻¹, which corresponds to the market price minus the costs of harvesting, transportation, and interest on invested capital. Based on the N and maize prices, the N/maize price ratio was 7.14. The fixed production costs considered in each production condition and attainable yield class are shown in the tables. The economic criterion used for the calculation of economic optimum N rates was “the maximization of net incomes per area (hectare)” (Chen *et al.*, 2011; Morris *et al.*, 2018; Velázquez-Xochimil and Portillo, 2018). Economic optimization was carried

out with the current N/maize price ratio and increased by 25, 50, 75, and 100 %, to evaluate the effect of such an increase on the decrease of the economic optimum N rates, the cost of N, the economic optimum yields and net incomes, and on the decrease of N losses and environmental pollution.

RESULTS AND DISCUSSION

Production functions

The production functions generated for rainfed and irrigated maize are the following:

$$Y_{\text{rainfed}} = 65.458 + 7.063 NT - 0.01257 N^2 T + 636.314 M^{0.75} T^{0.75} - 0.8900 NMT$$

(Pr. F = 0.01, CME = 962 852, $R^2 = 0.839$)

$$Y_{\text{irrigation}} = 4588.040 + 34.454 N^{0.75} R - 0.00609 N^2 R + 578.424 M^{0.75} R - 1.563 N M$$

(Pr. F = 0.01, CME = 651 551, $R^2 = 0.939$)

where: Y = maize yield (kg ha⁻¹), N = nitrogen applied (kg N ha⁻¹), T = yield rainfed class (scale 1, 2, 3, 4, 5, 6 and 7), R = yield irrigation class (scale of 2, 3 and 4), M = soil OM content (%).

The production functions included the following factors: applied nitrogen rates, attainable yield class, and soil OM content, for which economic optimization will be carried out. However, the following factors were not included: year, Olsen P and soil exchangeable K, and treatments without P and K applied. In the case of years, this implies that the within-year variation was greater than the between-year variation, and for P and K it would mean that there were no significant effects, which is not in agreement with what was expected.

Economic optimum nitrogen rates for rainfed and irrigated maize

Economic optimum N rates (EONR) were determined for the mean yields of the attainable yield classes of the edaphoclimatic regions, with different soil and climatic conditions; therefore, in rainfed conditions, it is assumed that the same attainable yield is possible to obtain in different soil and climatic conditions, depending on how these are. On the other hand, it is also assumed that N concentration in the plant is relatively constant, and therefore, N extraction by the crop was based only on yield. Attainable yield has been considered in countries such as the USA, in almost all subsystems of N recommendation generation, in the period from 1970 to 2005 (Morris *et al.*, 2018), and in China, where it continues to be used (Wang *et al.*, 2012; Ren *et al.*, 2015), countries that are the largest maize producers in the world. However, in the USA, since 2005, the generation of N recommendations based on economic maximum return criteria is being promoted (Morris *et al.*, 2018).

For the EONR on the function of soil OM contents, even when dealing with maize-maize production systems, it can be assumed that the different soil and climate

conditions observed in the edaphoclimatic regions could have caused differences in soil OM mineralization, and thus N soil supply (Tremblay *et al.*, 2012). This means that the obtained EONR will correspond to mean values for such varying soil and climate conditions.

For the rainfed condition, native and improved maize crops were considered together. Improved maize has increased yields over time in relation to unimproved maize, and at the same time diminished plant N concentration; thus, their increased N requirements may not be of a significant magnitude (Woli *et al.*, 2016). Accordingly, if the improved maize is placed in a higher attainable yield class, it may have a higher N recommendation than the correct one.

Soil OM contents varied between and within edaphoclimatic regions, according to the following mean value and range: Pacifico, 2.46 %, 1.2-4.0 %; Bajío, 2.60 %, 1.6-3.9 %; Valles Altos, 1.68 %, 0.34-2.7 %; Tropico, 1.97 %, 1.1-4.0 %; and Intermedia, 1.35, 1.2-1.5 %. The economic optimization was done for soil OM contents of 1.0, 2.0, and 3.0 %, valid as mean contents for the Pacifico, Bajío, and Tropico regions. For the Valles Altos and Intermedia regions, such economic optimization should be done for the contents of 0.5, 1.5, and 2.5 % in the former and 1.5 % in the latter, which was not done in this study.

The economic optimum yields (EOY), net income (NI), and N/MPR for attainable yield classes and soil OM contents of 1.0, 2.0, and 3.0 %, plus the amount of fixed costs, are presented in Tables 2 and 3; for native and improved rainfed maize in the Bajío, and Tropico regions (Table 2), and irrigated improved maize in the Pacifico region (Table 3).

In rainfed conditions, lower yields are associated with the presence of a limiting rainy season due to shortage and poor distribution of rainfall, and soil limitations (texture, depth, etc.); in irrigated conditions, it is assumed that yields would be mainly associated with irrigation intensity. On the other hand, in both moisture conditions, soil OM content increased yield only slightly with the attainable yield classes, on average between 325 and 450 kg ha⁻¹ in rainfed conditions and between 200 and 825 kg ha⁻¹ in irrigation conditions.

The EOY and EONR were higher in irrigated than in rainfed conditions, and EONR increased with higher yield and decreased with higher soil OM. This result is congruent with these considerations: (1) the higher the grain yield and therefore biomass, the higher the N demand (Wortmann *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2020); and (2) the higher the soil OM content, the higher the N supply to the crop (Morris *et al.*, 2018). Therefore, EONR will increase and decrease, respectively.

When relating EOY to EONR, for a soil OM content of 2.0 % (Figure 1), different trends are observed in rainfed (positive curvilinear) and irrigated (practically positive linear) conditions. In rainfed conditions, the increase in EOY becomes relatively greater than that in EONR at values greater than 100 kg N ha⁻¹. This situation could indicate that higher yields increase the efficiency of applied N utilization (Feng *et al.*, 2016; Sifuentes *et al.*, 2018).

Table 2. Economic optimum nitrogen rates for attainable yield classes of rainfed maize, soil organic matter contents, and associated variables.

Yield class (kg ha ⁻¹)	Soil organic matter (%)	Economic optimum N rate (kg ha ⁻¹)	Economic optimum yield (kg ha ⁻¹)	Net income (USD ha ⁻¹)	Benefit/ cost ratio	Fixed costs (USD ha ⁻¹)
<1750	1	0	701	0	0	166.7
	2	0	1135	22.6	0.14	
	3	0	1516	86.0	0.52	
1750-3000	1	105	2154	43.7	0.14	190.5
	2	70	2481	139.8	0.51	
	3	35	2781	231.4	1.00	
3000-4250	1	150	3445	181.4	0.46	214.3
	2	115	3828	286.9	0.82	
	3	80	4184	387.9	1.25	
4250-5500	1	175	4646	326.0	0.74	238.1
	2	140	5065	439.4	1.09	
	3	105	5488	546.7	1.51	
5500-6750	1	185	5752	476.5	0.99	261.9
	2	150	6191	591.5	1.34	
	3	115	6610	702.9	1.76	
6750-8000	1	200	6895	601.5	1.10	309.5
	2	165	7345	718.2	1.42	
	3	125	7742	832.0	1.81	
8000-9250	1	205	7964	726.1	1.21	357.0
	2	170	8414	842.8	1.51	
	3	135	8855	957.9	1.85	

Table 3. Economic optimum nitrogen rates for attainable yield classes of irrigated improved maize and soil organic matter contents, and associated variables.

Yield class (kg ha ⁻¹)	Soil organic matter (%)	Economic optimum N rate (kg ha ⁻¹)	Economic optimum yield (kg ha ⁻¹)	Net income (USD ha ⁻¹)	Benefit/ cost ratio	Fixed costs (USD ha ⁻¹)
8000-10000	1	210	8680	791.9	1.21	404.7
	2	170	8894	875.2	1.44	
	3	135	9099	951.0	1.68	
10000-13000	1	280	11528	1135.6	1.44	452.4
	2	250	12081	1263.5	1.68	
	3	225	12568	1374.4	1.91	
13000-16000	1	325	14369	1469.9	1.70	476.2
	2	300	15283	1666.2	2.00	
	3	275	16036	1821.6	2.27	

The decrease in EONR with increasing soil OM, from 1.0, 2.0 to 3.0%, in the different attainable yield classes was: (1) in rainfed conditions, 35 kg N ha⁻¹; and (2) under irrigated conditions, between 25 and 30 kg N ha⁻¹ for the 10000-13000 and 13000-16000 kg ha⁻¹

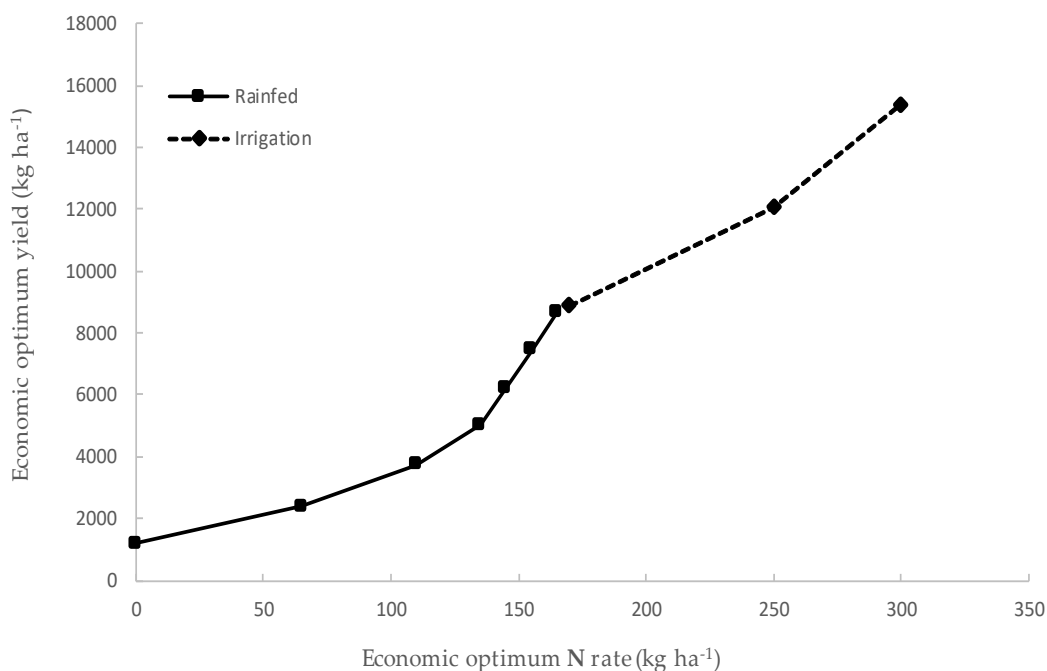


Figure 1. Relationship between economic optimum yield and economic optimum nitrogen rate, at 2.0 % soil organic matter content.

yield classes, and between 35 and 40 kg N ha⁻¹ for the 8000-10000 kg ha⁻¹ yield class. These values would correspond to the N supply made by soil OM; however, they are higher values compared to those indicated by some literature (Morris *et al.*, 2018).

The NI and B/CR increased with the increment of maize yield and soil OM content, to a greater extent NI in the irrigated condition. In the case of OM, its greatest effect was due to the EONR decrease it caused. Although the B/CR may vary among farmers, due to their variable and fixed costs, from an economic point of view a ratio lower than 0.50 would not be profitable for commercial production, though it would be justified if the objective is self-consumption.

The use of soil OM as a tool to generate N recommendations for maize, for different attainable yields associated with climate and soil conditions, and production systems, may allow for greater accuracy in this task. However, it would be interesting to know the effect of not complying with the recommendations according to the OM content of the soil. In this sense, if we take as an example the attainable yield class of 5500-6750 kg ha⁻¹ in rainfed conditions (Table 2), this effect is manifested in two ways. The first, for 1.0 % OM, if instead of 185 kg N ha⁻¹, 150 kg N ha⁻¹ is applied, there would be a 6.0 % decline in yield (343 kg ha⁻¹) and only a 3.3 % decrease of NI (15.57 USD ha⁻¹), and at the same time a drop in N cost of 41.67 USD ha⁻¹; if only 115 kg N ha⁻¹ is applied, the decline in yield would be 14.6 % (841 kg ha⁻¹) and 11.8 % of NI (56.33 USD ha⁻¹), but the decrease in N cost would be 83.33 USD ha⁻¹; thus, it would be more important

and economical to reduce the cost of N acquisition than the impact on yield reduction and NI. The second, for 3.0 % OM, if instead of 115 kg N ha⁻¹, 150 kg N ha⁻¹ is applied, the yield would increase by 2.8 % (186 kg ha⁻¹) and NI decreased by 1.5 % (10.71 USD ha⁻¹), with an increment in N cost of 41.67 USD ha⁻¹; if 185 kg N ha⁻¹ are applied, maize yield would increase by 3.3 % (217 kg ha⁻¹), and NI decreased by 6.7 % (47.10 USD ha⁻¹), with an increase in N cost of 83.33 USD ha⁻¹; therefore, using higher rates according to what would correspond to the OM content of the soil implied that the N applied underwent a rise between 30 and 65 kg N ha⁻¹, respectively, which to a large extent will end up causing environmental pollution; this shows the importance of not using N rates higher than what the soil analysis suggests.

The practical use of EONR generated by the procedure followed in this study requires the farmer to specify the yield that can be obtained under his production conditions, either with native or improved maize, although this yield may be affected by the deficient use of management components, which will have to be considered; and, to determine the OM content of the soil there are two options: (1) if soil test is not available, propose a probable percentage based on soil colour; and (2) if soil test is available, consider the recommendation for the OM content present in the land of the farmer.

Economic optimization with increased N/maize price ratios

The economic criterion of maximizing net income per area (MNIA) used in this study generates the maximum EONR, as well as the greatest yields and associated costs. This economic criterion can be used with increased (in percent) N/maize price ratios (N/MPR) (Dobermann *et al.*, 2011; Morris *et al.*, 2018), to obtain EONR lower than the economic maximum. Then, for responses of decreasing marginal returns, calculated with a quadratic or similar model as in this study, it is important to establish the effect of decreasing EONR on yields, fertilization costs, and net incomes. As an example, this situation is presented for yield attainable classes 4250-5500 and 6750-8000 kg ha⁻¹ in rainfed maize and 10000-13000 kg ha⁻¹ in irrigated maize, in soil with 2.0 % OM (Table 4).

As the N/MPR increased, the EONR decreased, and consequently their cost, as well as EOY and NI. Considering as an example a N/MPR increased by 75 %, the effect of decreasing EONR, EOY, N cost and NI is on yield classes: (1) 4250-5500 kg ha⁻¹ in rainfed, of 55 kg N ha⁻¹, 540 kg ha⁻¹, 65.48 USD ha⁻¹, and 24.52 USD ha⁻¹, respectively; (2) 6750-8000 kg ha⁻¹ in rainfed, of 40 kg N ha⁻¹, 394 kg ha⁻¹, 47.61 USD ha⁻¹, and 18.10 USD ha⁻¹, respectively; and (3) 10000-13000 in irrigation, of 85 kg N ha⁻¹, 830 kg ha⁻¹, 101.19 USD ha⁻¹, and 36.70 USD ha⁻¹, respectively.

From an economic point of view, it would be justified to diminish the EONR in this case using the N/MPR, without significantly decreasing the EOY and NI, within certain limits. This is worth considering when N rates are being generated with the MNIA economic criterion; such is the case, for example, in the USA, the largest maize producer worldwide, where the use of this economic criterion is being promoted since 2005 (Morris *et al.*, 2018).

Table 4. Economic optimization with increased N/maize price ratios, in attainable yield classes of rainfed and irrigated maize, and 2.0 % soil organic matter[†].

Yield class (kg ha ⁻¹)	Increased N/MPR (%)	EONR (kg ha ⁻¹)	EOY (kg ha ⁻¹)	N cost (USD ha ⁻¹)	NI (USD ha ⁻¹)
Rainfed					
4250-5500	0	140	5065	166.7	439.4
	25	120	4904	142.8	436.4
	50	100	4702	119.0	426.6
	75	85	4525	101.2	414.9
	100	70	4325	83.3	399.4
6750-8000	0	165	7345	196.4	718.2
	25	150	7225	178.6	716.6
	50	140	7127	166.7	711.6
	75	125	6951	148.8	700.1
	100	115	6815	136.9	689.4
Irrigation					
10000-13000	0	250	12081	297.6	1263.5
	25	220	11838	261.9	1258.7
	50	190	11542	226.2	1245.1
	75	165	11251	196.4	1226.8
	100	140	10917	166.7	1200.4

[†]N/MPR = N/maize price ratio, EONR = economic optimum nitrogen rate, EOY = economic optimum yield, NI = net income.

The incorporation of N/MPR into the MNIA economic criteria, with the lower EONR it causes, reduces N losses associated with greater N applications and, consequently, environmental pollution. In this regard, Table 5 provides an estimate of what the decrease in applied N losses (EONR) would be with the use of N/MPR in the economic optimization with the MNIA economic criterion.

Final remarks

Nutrient extraction by crops at a given yield comes from soil supply, and when this is not sufficient, fertilizers provide what is needed. If the nutrients extracted are not adequately replenished in the soil, deficiencies will occur at some point, affecting the sustainability of the production system. One way to estimate soil nutrient reserves is through soil analysis, which in turn allows for more accurate fertilizer recommendations, as indicated by the abundant literature on the subject. However, its use by farmers is not widespread, even in the most developed or major grain-producing countries. On the other hand, in various countries, it is common to observe farmers applying excessive amounts of nitrogen fertilizers to crops, which will eventually cause an increase in groundwater pollution and the generation of greenhouse gases. The increased production of greenhouse gases has originated in

Table 5. Estimated nitrogen losses from the use of N/maize price ratios in economic optimization, in rainfed and irrigation attainable yield classes, and 2.0 % soil organic matter[†].

Yield class (kg ha ⁻¹)	N/MPR (%)	EONR (kg ha ⁻¹)	N saving (kg ha ⁻¹)
Rainfed			
4250-5500	0	140	0
	25	120	20
	50	100	40
	75	85	55
	100	70	70
6750-8000	0	165	0
	25	150	15
	50	140	25
	75	125	40
	100	115	50
Irrigation			
10000-13000	0	250	0
	25	220	30
	50	190	60
	75	165	85
	100	140	110

[†]N/MPR = N/maize price ratio, EONR = economic optimum N rate.

the last decades a greater interest of researchers to generate more precise optimum N rates through different approaches, to diminish the high and excessive rates applied by many farmers (Chen *et al.*, 2011; Huang *et al.*, 2012; Millar *et al.*, 2018; Flores-Sánchez *et al.*, 2019).

With the same purpose, researchers such as Chen *et al.* (2011), have developed in parallel to the concept of economic optimum rates, the concept of ecological optimum rate, which is determined at the point where the marginal nutrient uptake is equal to the marginal nutrient loss. In this way, it was possible to reduce the amount of N to be applied and its loss by 22-53 kg N ha⁻¹ in rice varieties, with a yield reduction of less than 10.0 %. Another way to decrease the EONR is the use of N/MPR in optimization with the economic criterion of maximizing net incomes per area, which is the one developed in this study. This approach requires working with yield production functions, as the function of crop response to nutrients, soil analysis, such as organic matter, and yields attainable by the producer, according to soil and climate conditions, and production system, considering non-limiting management. With this approach, it was possible to reduce optimal N rates and fertilization cost, and therefore N losses and environmental pollution, without significantly reducing yields and net incomes. In Mexico, fertilizer application, particularly nitrogen fertilizer, differs between rainfed and irrigated conditions. In rainfed conditions, the adoption of fertilizer

recommendations has depended on the edaphoclimatic and socioeconomic conditions of the farmers. The use of high and excessive rates of fertilizers is not frequently observed among farmers. In irrigation, the situation is different; for example, in the El Bajío area, up to 554 kg N ha⁻¹ have been applied in maize, with an average of 309 kg N ha⁻¹ (Flores-Sánchez *et al.*, 2019), and in the Valle del Yaqui, the average N application in wheat has been 300 kg N ha⁻¹, which is around twice the economic optimum rates (Millar *et al.*, 2018). Considering the results of this study, the next challenge is how to demonstrate and convince farmers that with lower N rates and the consequent lower costs, it is possible to obtain yields and incomes similar to those obtained with excessive rates, and thus reduce environmental pollution.

CONCLUSIONS

Economic optimum N recommendations were generated for rainfed and irrigated maize, for different attainable maize yields and soil organic matter content as an estimator of soil N supply to the crop. The organic matter content present in the first 20 cm of the soil can be an indicator of the average N availability of different soils and climatic conditions.

The use of N/maize price ratios in the economic optimization, with the economic criterion of maximizing net income per area, caused the economic optimum N rates and associated costs to decrease, without excessively reducing the economic optimum yields and net incomes. This shows that N/maize price ratios can be a way to reduce N use and the resulting environmental pollution.

ACKNOWLEDGEMENTS

To the MasAgro Program of the International Maize and Wheat Improvement Centre (Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, CIMMYT) for providing the data for the experiments on maize response to nitrogen.

REFERENCES

- Bak B, Gaj R, Budka A. 2016. Accumulation of nitrogen, phosphorus, and potassium in mature maize under variable rates of mineral fertilization. *Fragmenta Agronomica* 33 (1):7-19.
- Briones Encinia F, Castro Nava S, López Santillán JA, Trinidad Santos A. 2009. Óptimos analíticos y económicos de modelos aplicados en experimentación agrícola. *Agricultura Técnica en México* 35 (1): 89-95.
- Chen J, Huang Y, Tang Y. 2011. Quantifying economically and ecologically optimum nitrogen rates for rice production in south-eastern China. *Agriculture, Ecosystems & Environmental*. 142 (3-4): 195-204. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2011.05.005>
- Ciampitti IA, Vyn TJ. 2014. Nutrient sufficiency concepts for modern maize hybrids: Impacts of management practices and yield levels. *Crop Management* 13 (13):1-7. <https://doi.org/10.2134/CM-2013-0022-RS>
- Clivot H, Mary B, Valé M, Cohan JP, Champolivier L, Piraux F, Laurent F, Justes E. 2017. Quantifying *in situ* and modeling net nitrogen mineralization from soil organic matter in arable cropping systems. *Soil Biology and Biochemistry* 111: 44-59. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.03.010>
- Dobermann A, Wortmann CS, Ferguson RB, Hergert GW, Shapiro CA, Tarkalson DD, Walters DT. 2011. Nitrogen response and economic for irrigated maize in Nebraska. *Agronomy Journal* 103 (1): 67-75. <https://doi.org/10.2134/agronj2010.0179>

- Feng G, Zhang Y, Chen Y, Li Q, Chen F, Gao U, Mi G. 2016. Effects of nitrogen application on root length and grain yield of rain-fed maize under different soil types. *Agronomy Journal* 108 (4): 1656-1665. <https://doi.org/10.2134/agronj2015.0367>
- Flores-Sánchez D, Navarro-Garza H, Pérez-Olvera MA. 2019. Nutrient balance in maize cropping systems and challenges for their sustainability. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas* 11 (2): 97-109. <https://doi.com/10.5154/r.inagbi.2017.11.017>
- Freund RJ, Littell RC. 2000. SAS System for Regression. (3rd. ed.). SAS Institute Inc.: Cary, NC, USA.
- Grajeda-Cabrera OA, Vera-Núñez JA, Aguilar-Acuña JL, Macías-Rodríguez L, Aguado-Santacruz GA, Peña-Cabriaes JJ. 2011. Fertilizer dynamic in different tillage and crop systems in a Vertisol Central Mexico. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 89 (1): 125-134.
- Grzyb A, Wolna-Maruwka A, Niewiadomska A. 2020. Environmental factor affecting the mineralization of crops residues. *Agronomy* 2020, 10 (12): 1951. <https://doi.org/10.3390/agronomy10121951>
- Hartmann TE, Yue S, Schulz R, Chen X, Zhang F, Müller T. 2014. Nitrogen dynamics, apparent mineralization and balance calculations in a maize-wheat double cropping system of the North China Plain. *Field Crops Research* 160: 22-30. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2014.02.014>
- Huang J, Xiang C, Jia X, Hu R. 2012. Impact of training on farmers' nitrogen use in maize production in Shandong, China. *Journal of Soil and Water Conservation* 67 (4): 321-327. <https://doi:10.2489/jswc.67.4.321>
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática). 2007. Conjunto de Datos Vectorial Edafológico, escala 1:250000, Serie II (Continuo Nacional). Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Aguascalientes, México. <https://www.inegi.org.mx>app>biblioteca>ficha> (Retrieved: January 2021).
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática). 2018. Climas de México. Distribución por tipos de climas y Estados. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. <https://paratodomexico.com>Geografía de México> (Retrieved: January 2021).
- Janssen BH, Guiking FCT, van der Eigk D, Smaling EMA, Wolf J, van Reuler H. 1990. A system for quantitative evaluation of the fertility of tropical soils (QUEFTS). *Geoderma* 46 (4): 299-318.
- McLellan EL, Cassman KG, Eagle AJ, Woodbury PB, Sela S, Tonitto C, Marjerison RD, van Es HM. 2018. The nitrogen balancing act: Tracking the environmental performance of food production. *BioScience* 68 (3): 194-203. <https://doi:10.1093/biosci/bix164>
- Millar N, Urrea A, Kahmark K, Shcherbak I, Roberson GP, Ortiz-Monasterio I. 2018. Nitrous oxide (N₂O) responds exponentially to nitrogen fertilizer in irrigated wheat in the Yaqui Valley. México. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 261: 125-132. <https://doi.org/10.1016/j.gee.2018.04.003>
- Moreno-Ramos OH, Herrera-Andrade MH, Cruz-Medina IR, Turrent-Fernández A. 2014. Study on the production of wheat technology per agrosystem, for pointing out needs of information. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 5 (8): 1351-1363.
- Morris TF, Murrel TS, Beegle DB, Camberato JJ, Ferguson RB, Grove J, Ketterings Q, Kyveryga PM, Laboski CAM, McGrath JM, et al. 2018. Strengths and limitations of nitrogen rate recommendations for maize and opportunities for improvement. *Agronomy Journal* 110 (1): 1-37. <https://doi:10.2134/agronj2017.02.0112>
- Murphy D, Osman M, Russell CA, Darmawanto S, Hoyle FC. 2009. Potentially mineralisable nitrogen: Relationship to crop production and spatial mapping using infrared reflectance spectroscopy. *Australian Journal of Soil Research* 47 (7): 737-741. <https://doi.org/10.1071/SR08096>
- Myers RH. 1990. Classical and Modern Regression with Applications. (2nd. ed.) PWS-KENT Publishing Company: Boston, USA.
- Ren T, Zou J, Lu J, Chen F, Wu J, Li X. 2015. On-farm trials of optimal fertilizer recommendations for maintenance of high seed yields in winter oilseed rape (*Brassica napus* L.) production. *Soil Science and Plant Nutrition* 61 (3): 528-540. <https://doi:10.1080/00380768.2014.1003964>
- SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2015. Agenda Técnica Agrícola de (Estado). (2a.. ed.). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México, D.F. México. <https://issuu.com>senasica>stacks> (Retrieved: January 2021).
- SEMARNAT (Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2002. Norma Oficial Mexicana NOM-921-REC NAT 2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad

- y clasificación de suelo. Estudio, muestreo y análisis. Diario Oficial (Segunda Sección), 31 de diciembre de 2002. México, D.F., México. ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/wo69255 (Retrieved: January 2021).
- SIAP (Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera). 2019. Producción Agrícola. Maíz. SAGARPA. México. http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/ResumenDelegacion.do (Retrieved: January 2021).
- Sharifi B, Sebarth BJ, Burton DF, Grant CA, Cooper JM. 2007. Evaluation of some indices of potentially mineralizable nitrogen in soil. *Soil Science Society of America Journal* 71 (4): 1233-1239. <https://doi.org/10.2136/sssaj2006.0265>
- Sifuentes Ibarra E, Macías Cervantes J, Ruelas Islas JR, Preciado Rangel P, Ojeda Bustamante W, Inzunza Ibarra MA, Samaniego Gaxiola JA. 2015. Mejoramiento del grado de uso del nitrógeno en maíz mediante técnicas parcelarias de riego por superficie. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 6 (8): 1903-1914.
- Tremblay N, Bouroubi YM, Belec C, Mullen RW, Kitchen NR, Thomason WE, Ebelhar S, Mengel DB, Raun WR, Francis DD, *et al.* 2012. Maize response to nitrogen is influenced by soil texture and weather. *Agronomy Journal* 104 (6): 1658-1671. <https://doi.org/10.2134/agronj2012.0184>
- Velázquez-Xochimil HG, Portillo Velásquez M. 2018. Determinación del óptimo técnico y económico en maíz (*Zea mays* L.) modalidad temporal del estado de México. *Agroproductividad* 11 (1): 15-21.
- Volke Haller VH. 2008. Estimación de Funciones de Respuesta para Información de Tipo no Experimental, mediante Regresión. Colegio de Postgraduados: Montecillo, Estado de México, México.
- Wang W, Lu J, Ren T, Li X, Su W, Lu M. 2012. Evaluating regional mean optima nitrogen rates in combination with nitrogen supply for rice production. *Field Crops Research* 137 (1): 37-48. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2012.08.10>
- Wang X, Miao Y, Dong R, Chen T, Kusnierek K, Mi G, Mulla D. 2020. Economic optimal nitrogen rate variability of maize in response to soil and weather conditions: Implications for site-specific nitrogen management. *Agronomy* 10:1237. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091237>
- Woli KP, Boyer MJ, Elmore RW, Sawyer JE, Abendroth LJ, Barker DW. 2016. Maize era hybrid response to nitrogen fertilization. *Agronomy Journal* 108(4):473-486. <https://doi.org/10.2134/agronj15.0314>
- Wortmann CS, Tarkalson DD, Shapiro CA, Dobermann AR, Ferguson RB, Hergert GW, Walters D. 2011. Nitrogen use efficiency of irrigated maize for three cropping systems in Nebraska. *Agronomy Journal* 103 (1): 76-84. <https://doi.org/10.2134/agronj2010.0189>

FERTILIZACIÓN NITROGENADA PARA MAÍZ CON BASE EN EL RENDIMIENTO ALCANZABLE Y EL CONTENIDO DE MATERIA ORGÁNICA DEL SUELO

Mariana Margarita **Sánchez-Roldán**¹, Iván **Ortiz-Monasterio**², Víctor Hugo **Volke-Haller**^{3*}

Luis **Guerra-Zitlalapa**², Jorge Dionisio **Etchevers-Barra**³

¹ PARAMÉTRICA GLPS. Tercera Cerrada de Benito Juárez No. 5, San Bernardino, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56260.

² Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. Carretera México-Veracruz km 45, El Batán, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56237.

³ Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Postgrado en Edafología. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56230.

*Autor para correspondencia: vvolke@colpos.mx

RESUMEN

Por lo general, los suelos agrícolas no aportan la cantidad suficiente de N para satisfacer las necesidades de los cultivos, de manera que se requiere aplicarlo como fertilizante. Este aporte se puede estimar mediante un análisis químico del suelo y, con base en él y las necesidades de la planta, se hacen recomendaciones de fertilización nitrogenada para los cultivos. El objetivo del presente estudio fue determinar dosis óptimas económicas de N para maíz (*Zea mays* L.), con base en el rendimiento alcanzable y el contenido de materia orgánica del suelo como estimador del aporte de N por éste, con la relación de precios N/maíz vigente y aumentadas, a fin de disminuir las dosis óptimas económicas de N y reducir el costo de la fertilización, las pérdidas de N y la contaminación ambiental. En 2011, 2012 y 2013 se establecieron 67 experimentos de respuesta del maíz a N, distribuidos en cinco regiones edafoclimáticas de México, con maíces criollos y mejorados, en condiciones de temporal y riego. Los tratamientos fueron: (1) fertilización con N, P y K; (2) la omisión de cada nutriente; y, (3) sin fertilización. El diseño experimental fue de bloques completos al azar, sin repeticiones. Se generaron funciones de producción para las condiciones de temporal y riego, del rendimiento como función de clases de rendimiento alcanzable, cantidad de N aplicado y contenido de materia orgánica del suelo. A partir de éstas, se determinaron estimó dosis óptimas económicas de N con: (1) la relación de precios N/maíz vigente, para clases de rendimiento alcanzable y contenidos de materia orgánica del suelo, así como los rendimientos óptimos económicos y los ingresos netos, para condiciones de temporal y riego, en las regiones edafoclimáticas; y (2) relaciones de precios N/maíz aumentadas, que disminuyen las dosis óptimas económicas de N y los costos de la fertilización, sin reducir significativamente los rendimientos óptimos económicos y los ingresos netos; esto también reduce las pérdidas de nitrógeno y la contaminación ambiental.

Palabras clave: *Zea mays* L., función de producción, relación de precios N/maíz, dosis óptima económica de nitrógeno, rendimiento óptimo económico, ingreso neto.

Citation: Sánchez-Roldán MM, Ortiz-Monasterio I, Volke-Haller VV, Guerra-Zitlalapa L, Etchevers-Barra JD. 2022. Fertilización nitrogenada para maíz con base en el rendimiento alcanzable y el contenido de materia orgánica del suelo.

Agrociencia. 56(4): 854-884. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i4.2808>

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: July 05, 2021.

Approved: May 02, 2022.

Published in Agrociencia:
June 17, 2022.

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



INTRODUCCIÓN

En México se cultivan aproximadamente en 7.5×10^6 ha con maíz, de las cuales alrededor de 21.5 % es con riego y 78.5 % en temporal. El Servicio de Información y Estadística Agropecuaria y Pesquera estimó en 2018 un rendimiento medio nacional de 1.87 Mg ha^{-1} en temporal y 8.76 Mg ha^{-1} con riego, con una variación entre estados productores de maíz entre 0.58 y 6.47 Mg ha^{-1} y entre 2.49 y 11.46 Mg ha^{-1} , respectivamente (SIAP, 2018). Esta información no hace referencia a las causas de los rendimientos bajos que se obtienen. Ellas pueden atribuirse, además de un posible manejo deficiente del cultivo, en temporal, a condiciones limitativas de suelo y clima, y en riego, a restricciones por escasez de agua de riego, sin excluir que también pueden presentarse condiciones limitativas de clima.

El manejo de un cultivo comprende diversos componentes tecnológicos, entre los cuales destaca la fertilización cuando el suelo no tiene la capacidad suficiente para satisfacer los requerimientos de nutrientes de los cultivos. De tal manera que, como es del conocimiento general, por una parte, una fertilización escasa causa menores rendimientos de los cultivos que los potenciales y menores ingresos de los agricultores, y, por otra, una fertilización excesiva origina mayores costos de producción y también menores ingresos de los agricultores, a la vez que mayor contaminación ambiental.

Entre los nutrientes que normalmente se aportan a los cultivos mediante fertilización destaca en importancia el N, por la cantidad que ellos requieren (Cimpiatti y Vyn, 2014; Bak *et al.*, 2016), y por las pérdidas que ocurren en su uso, que para maíz se estiman en promedio entre 35 y 65 % (Morris *et al.*, 2018). Estas pérdidas ocurren por lixiviación (como N-NO_3), volatilización (como NH_3), denitrificación (como N_2 , N_2O) y escurrimiento superficial (Grajeda-Cabrera *et al.*, 2011; Morris *et al.*, 2018), entre las cuales, el N_2O es un gas con fuerte efecto invernadero (McLellan *et al.*, 2018; Millar *et al.*, 2018). Factores que inciden en las pérdidas son condiciones de suelo y clima, y la forma química y prácticas de manejo del fertilizante, pero una práctica que incrementa las pérdidas es la aplicación de cantidades elevadas y excesivas de N a los cultivos (Wortmann *et al.*, 2011; McLellan *et al.*, 2018).

Para determinar la cantidad de N que se debe aplicar como fertilizante al maíz se han usado diferentes enfoques (Morris *et al.*, 2018). Uno se basa en el rendimiento alcanzable del cultivo, considerando o no el aporte de N por el suelo y el sistema de producción (Morris *et al.* 2018); y, otro tiene su base en experimentos de campo de respuesta del cultivo a dos o más dosis de N, en los cuales se estiman dosis óptimas económicas de N, las que se asocian con el aporte de N por el suelo y el sistema de producción, o se generan recomendaciones para unidades similares en suelo y clima, y sistemas de producción (Moreno-Ramos *et al.*, 2014; Morris *et al.*, 2018).

Una forma de estimar el aporte de N por el suelo es mediante un análisis de suelo, cuando está debidamente calibrado, para lo cual existen distintos métodos de análisis químicos. Los valores determinados por el método de análisis son un indicador aproximado de la capacidad del suelo de suministrar cierta cantidad de un nutriente al cultivo, ya que diversos factores, de suelo, clima y manejo, pueden modificar su

expresión. Para el N, entre los análisis de suelo se han considerado: el N disponible ($\text{N-NO}_3 + \text{N-NH}_4$) (Hartmann *et al.*, 2014; Morris *et al.*, 2018), el N potencialmente mineralizable (Sharifi *et al.*, 2007; Murphy *et al.*, 2009), el N total (Wang *et al.*, 2012; Ren *et al.*, 2015) y la materia orgánica (MO) (Janssen *et al.*, 1990; Morris *et al.*, 2018). Entre éstos, la MO tiene la ventaja de que su determinación es un análisis rutinario del suelo (SEMARNAT, 2002), sin embargo, su mineralización es afectada por diversos factores. La mineralización de la MO depende de condiciones del suelo (pH, textura) y clima (precipitación, temperatura), tipo de materia orgánica (relación C/N), presencia de riego y del sistema de producción (cultivos y su manejo) (Clivot *et al.*, 2017; Crzyb *et al.*, 2020). Esto implica que la relación entre la respuesta del cultivo al N y el aporte de N que hace la MO deba estimarse en las diferentes condiciones de suelo y clima, y sistemas de producción (Moreno-Ramos *et al.*, 2014; Morris *et al.*, 2018).

En la optimización económica para determinar dosis óptimas económicas de un nutriente se ha usado el criterio económico de maximización de los ingresos netos por superficie (hectárea). Este criterio económico determina las máximas dosis óptimas en términos económicos, y puesto que dosis elevadas de N incrementan las pérdidas de este nutriente (Dobermann *et al.*, 2011; Morris *et al.*, 2018), se asocia con mayores pérdidas de N. Una manera de disminuir las dosis óptimas económicas de N determinadas por este criterio económico es con un incremento de la relación de precios N/maíz en la optimización económica (Chen *et al.*, 2011; Dobermann *et al.*, 2011; Morris *et al.*, 2018), a condición de que no disminuyan significativamente los rendimientos y los ingresos netos.

El objetivo del presente estudio fue determinar dosis óptimas económicas de N para maíz en regiones edafoclimáticas de México, con base en el rendimiento alcanzable y el contenido de MO del suelo como estimador del aporte de N por éste, con la relación de precios N/maíz vigente y aumentadas, a fin de disminuir las dosis óptimas económicas y reducir el costo de la fertilización, las pérdidas de N y la contaminación ambiental.

MATERIALES Y MÉTODOS

La información utilizada fue de 67 experimentos de respuesta del maíz al N, realizados por el Programa MasAgro del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), en 2011, 2012 y 2013 en México. Los experimentos se ubicaron en campos de agricultores y sistema de producción maíz-maíz. Los tratamientos consistieron en una fertilización con N, P y K (fertilización completa), la omisión de cada nutriente, y un tratamiento testigo sin fertilización (Wang *et al.*, 2012; Ren *et al.*, 2015). Los experimentos se distribuyeron en cinco regiones agroclimáticas, como: 16 en Bajío (Guanajuato, Jalisco, Michoacán, Querétaro), 19 en Trópico (Chiapas, Guerrero, Oaxaca, Quintana Roo), 22 en Valles Altos (México, Hidalgo, Puebla, Tlaxcala), ocho en Pacífico (Sinaloa, Sonora) y dos en Intermedia (San Luis Potosí). Diecisiete experimentos se establecieron en condiciones de riego y 50 en condiciones de temporal. Con riego se sembraron maíces mejorados, en tanto que en temporal se sembraron maíces criollos

(21) y mejorados (29). En las regiones edafoclimáticas se presentan diferencias en altitud y tipos de suelo y de clima, que inciden en los rendimientos de los cultivos, a la vez que en la región Pacífico y localidades de algunos estados la producción se realiza con riego. Los suelos agrícolas predominantes se clasifican como Phaeozems, Vertisoles, Cambisoles y Luvisoles, y presentan texturas francas a arcillosas, con presencia de texturas arenosas en algunos estados (Puebla, Tlaxcala) por efecto de erupciones volcánicas (INEGI, 2007). Los tipos de clima presentes se encuentran asociados con la latitud, altitud, relieve y lejanía de las costas. De tal manera que, en las llanuras costeras predominan climas cálidos, secos en el norte y subhúmedos a húmedos en el sur del país, y en las zonas altas predominan climas templados, subhúmedos y secos según la lejanía de las costas (INEGI, 2018). El régimen de precipitaciones es de verano, y va de mayo/junio a septiembre/octubre (INEGI, 2018). En el Cuadro 1 se presentan las altitudes de las siembras de maíz y la precipitación media anual en las regiones edafoclimáticas (SAGARPA *et al.*, 2015; INEGI, 2018).

Las dosis de N, P y K de los experimentos se determinaron según una estimación del rendimiento esperado, de acuerdo con información obtenida por el personal que participó en la experimentación de campo. Estas variaron entre 30 y 350 kg N ha⁻¹, 16 y 260 kg P₂O₅ ha⁻¹ y 30 y 230 kg K₂O ha⁻¹, en forma de urea (46 % N), superfosfato de Ca triple (46 % P₂O₅) y cloruro de K (60 % K₂O), respectivamente. La oportunidad de aplicación del N se determinó en función del rendimiento esperado: para rendimientos menores a 4000 kg ha⁻¹, se aplicó una tercera parte con la siembra y el resto en la primera labor del cultivo; y, para rendimientos mayores a 4000 kg ha⁻¹, todo el N se aplicó en la primera labor del cultivo. El P y el K se aplicaron al momento de la siembra. La densidad de población, el control de maleza, plagas y enfermedades se realizó según las recomendaciones dadas por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) para los estados de las regiones edafoclimáticas (SAGARPA, 2015). El diseño experimental fue de bloque completos al azar, sin repeticiones. Las unidades experimentales fueron parcelas de 5.6 x 8.0 m, con seis surcos de maíz, separados a 0.80 m.

En cada sitio experimental se realizó un muestreo de suelos, a 20 cm de profundidad, tomando 10 submuestras, para obtener una muestra compuesta. Los análisis realiza-

Cuadro 1. Altitud de las siembras de maíz y precipitación media anual en las regiones edafoclimáticas.

Región	Altitud (m)	Precipitación [†] (mm)
Pacífico	< 40	250-450, 300-500, 500-800
Bajío	<1600-2600	400-1000, 1000-1500
Valles Altos	1600-2600	400-1000
Trópico	< 2300	350-750, 600-1000, 1000-1500
Intermedia	< 2100	300-500, 550-700

[†]Según subregión.

dos fueron: MO, por combustión húmeda con mezcla de $K_2Cr_2O_7$ y H_2SO_4 ; P, por el método Olsen (previando que existían suelos con pH mayor de 7.0), y colorimetría con azul de molibdeno; y, K intercambiable, con acetato de amonio 1 N a pH 7 y cuantificado por espectrometría de emisión de llama. Todos los procedimientos químicos se ejecutaron según la Norma Oficial Mexicana (SEMARNAT, 2002). El valor medio y rango de las propiedades determinadas fueron los siguientes: MO, 2.05 %, 0.34-4.0 %; P Olsen, 28 mg kg⁻¹, 6-103 mg kg⁻¹; y, K intercambiable, 384 mg kg⁻¹, 57-1624 mg kg⁻¹. Debido a que los rendimientos máximos observados (tratamiento con fertilización completa) variaron entre y dentro de las regiones edafoclimáticas, se establecieron clases de rendimiento, como una estimación del rendimiento alcanzable: en temporal, según los factores de suelo y clima presentes, y, con riego, según una asumida intensidad del riego, sin que todo ello se haya determinado. Estas clases fueron: (1) en temporal, <1750, 1750-3000, 3000-4250, 4250-5500, 5500-6750, 6750-8000 y 8000-9250 kg ha⁻¹; y, (2) con riego, 8000-10000, 10000-13000 y 13000-16000 kg ha⁻¹, en la región Pacífico y siembras con riego en las regiones Bajío y Trópico.

La información se analizó mediante regresión, para obtener una función de producción del rendimiento como función del N aplicado y el contenido de MO del suelo como estimador del aporte de N por el suelo, y otros factores considerados, tanto para temporal como para riego. Estos factores fueron: (1) años, como una variable auxiliar; (2) contenido de P Olsen y K intercambiable del suelo, como estimadores del aporte de P y K por el suelo; (3) cantidades de N, P y K aplicados como fertilizantes inorgánicos; y, (4) clases de rendimiento alcanzable, que se consideraron como una variable numérica, de 1, 2, 3, 4, 5, 6, y 7 para temporal y de 2, 3 y 4 para riego. En temporal, los maíces criollos y mejorados se consideraron en conjunto, y con riego, los maíces fueron mejorados. El procedimiento de regresión empleado para realizar el análisis y obtener las funciones de producción fue el propuesto por Volke (2008), que consistió en: (1) Especificar un modelo inicial de regresión para N, según lo indicase la relación gráfica de la respuesta del cultivo a la aplicación de éste, y para algún otro factor que presentase un efecto observable sobre el rendimiento. (2) El modelo se trabajó con el procedimiento PROC REG de SAS (Statistic Analysis System) y la opción R INFLUENCE (Freund y Littell, 2000), a fin de observar la presencia de posibles observaciones atípicas, que, en su caso, se eliminaron ($p=0.01$) (Myers, 1990; Freund y Littell, 2000). (3) La opción R INFLUENCE permite observar gráficamente el ajuste al modelo de los factores ya incluidos en él, así como el modelo para factores aun no incluidos, cuya inclusión se probará. (4) Entre las variables a probar están las interacciones entre factores, según el fenómeno. (5) El modelo final fue aquel con el menor cuadrado medio del error e interpretable en términos del fenómeno.

Con la función de producción, y el costo total del N y el precio neto del producto, y la respectiva relación de precios N/maíz, se calcularon las dosis óptimas económicas de N para las clases de rendimiento del tipo de temporal y condición de riego establecidas, y los contenidos de MO de suelo, de 1.0, 2.0 y 3.0 %. Con esta finalidad se usó un programa de optimización SAS, que permite calcular, además de las dosis óptimas

económicas, los rendimientos óptimos económicos, y si se consideran los costos fijos, los ingresos netos y las relaciones beneficio/costo (Briones *et al.*, 2009). El costo total de la unidad de N fue 25 pesos kg^{-1} , que incluye el precio de mercado y los costos por transporte, aplicación e interés del capital invertido, y fue un promedio de las fuentes sulfato de amonio y urea, usadas con mayor frecuencia por los productores. El precio neto del maíz fue de 3.5 pesos kg^{-1} , que corresponde al precio de mercado menos los costos de cosecha, transporte e interés del capital invertido. Con los precios del N y del grano de maíz considerados, la relación de precios N/maíz fue de 7.14. Los costos fijos de producción considerados en cada condición de producción y clase de rendimiento alcanzable se indican en los cuadros de resultados. El criterio económico empleado para el cálculo de las dosis óptimas económicas de N fue el de "maximización del ingreso neto por superficie (hectárea)" (Chen *et al.*, 2011; Morris *et al.*, 2018; Velázquez-Xochimil y Portillo, 2018). La optimización económica se realizó con la relación de precios N/maíz vigente y aumentadas en 25, 50, 75 y 100 %, con la finalidad de observar lo que implica tal incremento en la disminución de las dosis óptimas económicas de N, y el consecuente costo, de los rendimientos óptimos económicos e ingresos netos, y de la disminución de las pérdidas de nitrógeno y la contaminación ambiental.

RESULTADOS Y DISCUSION

Las funciones de producción

Las funciones de producción generadas para el cultivo de maíz de temporal y con riego son las siguientes:

$$Y_{\text{temporal}} = 65.458 + 7.063 N T - 0.01257 N^2 T + 636.314 M^{0.75} T^{0.75} - 0.8900 N M T$$

(Pr. F = 0.01, CME = 962 852, $R^2 = 0.839$)

$$Y_{\text{riego}} = 4588.040 + 34.454 N^{0.75} R - 0.00609 N^2 R + 578.424 M^{0.75} R - 1.563 N M$$

(Pr. F = 0.01, CME = 651 551, $R^2 = 0.939$)

Donde: Y = rendimiento de grano (kg ha^{-1}), N = nitrógeno aplicado (kg N ha^{-1}), T = clase de rendimiento del tipo de temporal (escala 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7), R = clase de rendimiento de la condición de riego (escala de 2, 3 y 4), M = contenido de MO del suelo (%).

En las funciones de producción quedaron incluidos los factores: nitrógeno aplicado, clase de rendimiento alcanzable y contenido de MO del suelo, para los cuales se hará la optimización económica. En cambio, no quedaron incluidos los factores: año, el P Olsen y el K intercambiable del suelo, y los tratamientos sin P y K aplicados. En el caso de años, ello implica que la variación dentro de año fue mayor que la variación entre años, y para P y K querría decir que no hubo efectos significativos, lo cual no concuerda con lo esperado.

Dosis óptimas económicas de nitrógeno para maíz en temporal y con riego

Las dosis óptimas económicas (DOE) de N se determinaron para los rendimientos medios de las clases de rendimientos alcanzables de las regiones edafoclimáticas, con

condiciones de suelo y clima diferentes, de manera que, en temporal, se asume que un mismo rendimiento alcanzable es posible de obtener en diferentes condiciones de suelo y clima, según sean estas. Por otra parte, también se asume que concentración de N en la planta es relativamente constante y, por tanto, que la extracción de N por el cultivo se basó sólo en el rendimiento.

El rendimiento alcanzable ha sido considerado en países como Estados Unidos de Norteamérica, en casi todos los subsistemas de la generación de recomendaciones de N en el período de 1970 a 2005 (Morris *et al.*, 2018), y China, donde se continúa utilizando (Wang *et al.*, 2012; Ren *et al.*, 2015), países que son los mayores productores de maíz en el mundo. Sin embargo, en Estados Unidos de Norteamérica desde 2005 se está promoviendo la generación de recomendaciones de N con base en criterio de maximización de los retornos económicos (Morris *et al.*, 2018).

Para las DOE de N en función de los contenidos de MO del suelo, aun cuando se trata de sistemas de producción maíz-maíz, es de suponer que las distintas condiciones de suelo y clima que se observan en las regiones edafoclimáticas pudieron causar diferencias en la mineralización de la MO del suelo, y, por tanto, aporte de N (Tremblay *et al.*, 2012), de tal manera que las DOE de N obtenidas corresponderán a valores medios para dichas condiciones de suelo y clima variables.

Para la condición de temporal, los maíces criollos y mejorados se consideraron en conjunto. Los maíces mejorados han ido incrementando los rendimientos en el tiempo en relación con los maíces no mejorados, a la vez que disminuyendo la concentración de N en la planta, de tal modo que sus mayores requerimientos de N pueden no ser de una magnitud significativa (Woli *et al.*, 2016). Según esto, si los maíces mejorados quedan ubicados en una clase de rendimiento alcanzable más alta, podría existir para ellos la posibilidad de una recomendación de N mayor que la correcta.

Los contenidos de MO del suelo variaron entre y dentro de las regiones edafoclimáticas, según el valor medio y rango siguientes: Pacífico, 2.46, 1.2-4.0 %; Bajío, 2.60, 1.6-3.9 %; Valles Altos, 1.68, 0.34-2.7 %; Trópico, 1.97, 1.1-4.0 %; e, Intermedia, 1.35, 1.2-1.5 %. La optimización económica se hizo para los contenidos de MO de 1.0, 2.0 y 3.0 %, válidos como contenidos medios para las regiones de Pacífico, Bajío y Trópico. Para las regiones de Valles Altos e Intermedia, correspondería hacer tal optimización económica para contenidos como 0.5, 1.5 y 2.5 % en la primera y 1.5 % en la segunda, lo cual no se hizo en el presente estudio.

Los rendimientos óptimos económicos (ROE), los ingresos netos (IN) y las RPN/M para las clases de rendimiento alcanzable y contenidos de 1.0, 2.0 y 3.0 % de MO del suelo, así como el monto de los costos fijos, se presentan en los Cuadros 2 y 3 para maíz criollo y mejorado de temporal en las regiones Bajío y Trópico (Cuadro 2), y para maíz mejorado con riego en la región Pacífico (Cuadro 3).

En condiciones de temporal, se considera que los menores rendimientos se asocian con la presencia de un temporal limitativo, por escasez y deficiente distribución de las precipitaciones y limitantes de suelo (textura, profundidad, etc.); en condiciones de riego, se asume que los rendimientos se asociarían principalmente con la intensidad

Cuadro 2. Dosis óptimas económicas de nitrógeno para clases de rendimiento alcanzable de maíz en temporal y contenidos de materia orgánica del suelo, y variables asociadas.

Clase de rendimiento (kg ha ⁻¹)	Materia orgánica (%)	Dosis óptima de N (kg ha ⁻¹)	Rendimiento óptimo (kg ha ⁻¹)	Ingreso neto (\$ ha ⁻¹)	Relación benéfico/costo	Costos fijos (\$ ha ⁻¹)
<1750	1	0	701	0	0	3500
	2	0	1135	475	0.14	
	3	0	1516	1806	0.52	
1750-3000	1	105	2154	917	0.14	4000
	2	70	2481	2936	0.51	
	3	35	2781	4860	1.00	
3000-4250	1	150	3445	3809	0.46	4500
	2	115	3828	6026	0.82	
	3	80	4184	8147	1.25	
4250-5500	1	175	4646	6888	0.74	5000
	2	140	5065	9228	1.09	
	3	105	5488	11481	1.51	
5500-6750	1	185	5752	10007	0.99	5500
	2	150	6191	12421	1.34	
	3	115	6610	14761	1.76	
6750-8000	1	200	6895	12632	1.10	6500
	2	165	7345	15082	1.42	
	3	125	7742	17472	1.81	
8000-9250	1	205	7964	15249	1.21	7500
	2	170	8414	17699	1.51	
	3	135	8855	20117	1.85	

Cuadro 3. Dosis óptimas económicas de nitrógeno para clases de rendimiento alcanzable de maíz mejorado con riego y contenidos de materia orgánica del suelo, y variables asociadas.

Clase de rendimiento (kg ha ⁻¹)	Materia orgánica (%)	Dosis óptima de N (kg ha ⁻¹)	Rendimiento óptimo (kg ha ⁻¹)	Ingreso neto (\$ ha ⁻¹)	Relación beneficio/costo	Costos fijos (\$ ha ⁻¹)
8000-10000	1	210	8680	16630	1.21	8500
	2	170	8894	18379	1.44	
	3	135	9099	19971	1.68	
10000-13000	1	280	11528	23848	1.44	9500
	2	250	12081	28863	1.68	
	3	225	12568	28863	1.91	
13000-16000	1	325	14369	30868	1.70	10000
	2	300	15283	34990	2.00	
	3	275	16036	38254	2.27	

del riego. Por otra parte, en ambas condiciones de humedad, el contenido de MO del suelo incrementó sólo ligeramente el rendimiento con las clases de rendimiento alcanzable, en promedio entre de 325 y 450 kg ha⁻¹ en temporal y entre 200 y 825 kg ha⁻¹.

Los ROE y las DOE de N fueron mayores en las siembras con riego que en las siembras de temporal, y las DOE de N aumentaron con el incremento del rendimiento y disminuyeron con el incremento de la MO del suelo. Este resultado es congruente con la consideración de que: (1) a mayor rendimiento de grano, y por consiguiente de biomasa, es mayor la demanda de N (Wortmann *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2020); y, (2) a un mayor contenido de MO en el suelo hay mayor aporte de N al cultivo (Morris *et al.*, 2018); por tanto, aumentarán y disminuirán las DOE de N, respectivamente.

Al relacionar los ROE con las DOE de N, para un contenido de 2.0 % de MO del suelo (Figura 1), se observan tendencias diferentes en temporal (curvilínea positiva) y con riego (prácticamente lineal positiva). En condiciones de temporal, el incremento de los ROE se va haciendo relativamente mayor que el incremento de las DOE a valores mayores de 100 kg N ha⁻¹. Esta situación podría ser reflejo de que mayores rendimientos incrementan la eficiencia de aprovechamiento del N aplicado (Feng *et al.*, 2016; Sifuentes *et al.*, 2018).

La disminución de la DOE de N con el incremento de la MO del suelo, de 1.0, 2.0 a 3.0%, en las distintas clases de rendimiento alcanzable, fue: (1) en condiciones de temporal, de 35 kg N ha⁻¹; y, (2) en condiciones de riego, entre 25 y 30 kg N ha⁻¹ para las clases de rendimiento de 10000-13000 y 13000-16000 kg ha⁻¹ y entre 35 y 40 kg N ha⁻¹ para la clase de rendimiento de 8000-10000 kg ha⁻¹. Estos valores corresponderían al aporte de N que hace la MO del suelo; sin embargo, son valores más elevados comparados con los que indica alguna literatura al respecto (Morris *et al.*, 2018).

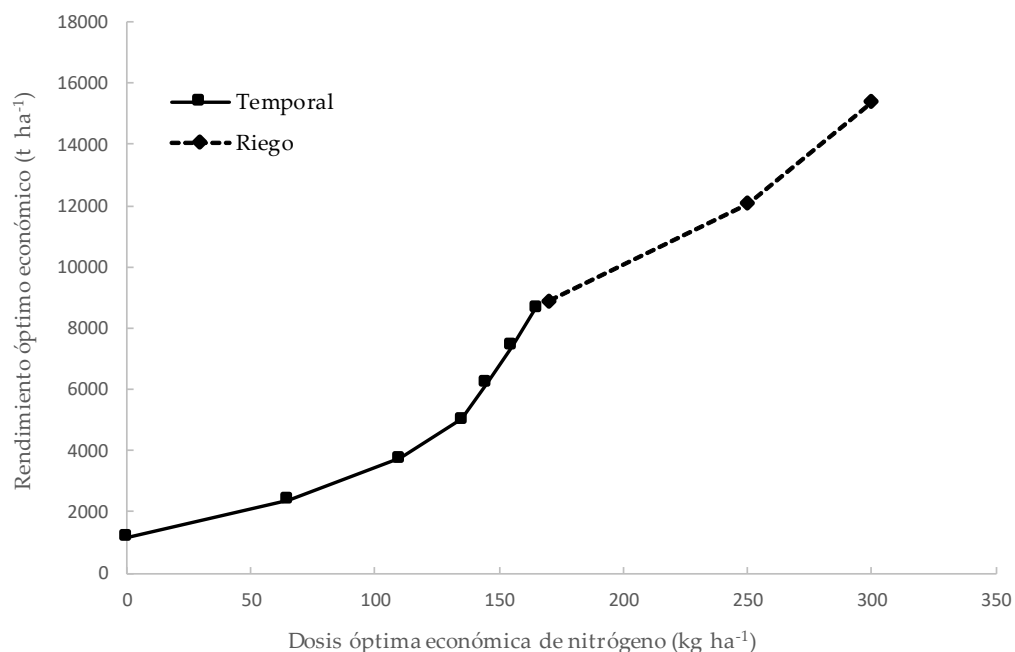


Figura 1. Relación entre el rendimiento óptimo económico y la dosis óptima económica de nitrógeno, a un contenido de 2.0 % de materia orgánica del suelo.

Los IN y las RBC aumentaron con el incremento del rendimiento de maíz y el contenido de MO del suelo, en mayor magnitud en la condición de riego. En el caso de la MO, su mayor efecto se debe a la disminución de las DOE de N que causó. Si bien la RBC puede variar entre agricultores, debido a los propios costos variables y fijos, desde un punto de vista económico una relación menor a 0.50 no resultaría rentable para producir comercialmente, aunque se justificaría si el objetivo es el autoconsumo. El uso de la MO del suelo como herramienta para generar recomendaciones de N para el maíz, para distintos rendimientos alcanzables asociados con las condiciones de clima y suelo, y sistema de producción, puede permitir mayor precisión de las recomendaciones; sin embargo, resultaría interesante conocer el efecto de no ajustarse a las recomendaciones según el contenido de MO del suelo. Al respecto, si se toma como ejemplo la clase de rendimiento de 5500-6750 kg ha⁻¹ en temporal (Cuadro 2), este efecto se manifiesta en dos sentidos: (1) Para 1.0 % de MO, si en vez de 185 kg N ha⁻¹, se aplican 150 kg N ha⁻¹, habría una disminución de 6.0 % del rendimiento (343 kg ha⁻¹) y de sólo 3.3 % del IN (327 pesos ha⁻¹), a la vez que una disminución del costo del N de 875 pesos ha⁻¹; ahora, si solo se aplican 115 kg N ha⁻¹, la disminución del rendimiento sería 14.6 % (841 kg ha⁻¹) y la del IN 11.8 % (1183 pesos ha⁻¹), pero la disminución del costo del N sería de 1750 pesos ha⁻¹; de tal manera que resultará más importante y económico reducir el gasto de adquisición de N que el impacto en reducción del rendimiento e IN. (2) Para 3.0 % de MO, si en vez de 115 kg N ha⁻¹ se aplican 150 kg N ha⁻¹, el rendimiento aumenta en 2.8 % (186 kg ha⁻¹) y el IN disminuye en 1.5 % (225 pesos ha⁻¹), con un incremento del costo del N de 875 pesos ha⁻¹; ahora, si se aplican 185 kg N ha⁻¹, el rendimiento del maíz aumenta 3.3 % (217 kg ha⁻¹) y el IN disminuye 6.7 % (989 pesos ha⁻¹), con un incremento del costo del N de 1750 pesos ha⁻¹; y por tanto, el usar dosis más elevadas según lo que correspondería al contenido de MO del suelo implicó que se ha aumentado el N aplicado entre 30 y 65 kg N ha⁻¹, respectivamente, que en gran medida terminará causando contaminación ambiental; esto demuestra la importancia que tiene el no usar dosis de N más elevadas que lo que sugiere el análisis de suelo.

El uso práctico de las DOE de N generadas por el procedimiento seguido en el presente estudio, requiere que el agricultor precise el rendimiento que puede obtener en sus condiciones de producción, ya sea con maíz criollo o mejorado, aunque este rendimiento puede estar afectado por el uso deficiente de componentes de manejo, lo que habrá que considerar, y para determinar el contenido de MO del suelo existen dos opciones: (1) si no se dispone del análisis de suelo, proponer un porcentaje probable con base en el color del suelo; y (2) si se dispone del análisis de suelo, considerar la recomendación para el contenido de MO presente en el suelo del agricultor.

Optimización económica con relaciones de precios N/maíz aumentadas

El criterio económico de maximización de los ingresos netos por superficie (MINS) utilizado en el presente estudio, genera las DOE máximas, a la vez que también, los mayores rendimientos y costos asociados. Este criterio económico se puede utilizar

con relaciones de precios N/maíz (RPN/M) aumentadas (en porcentaje) (Dobermann *et al.*, 2011; Morris *et al.*, 2018), afín de obtener DOE menores que las máximas económicas, por lo que, para respuestas de rendimientos marginales decrecientes, calculadas con un modelo cuadrático o similar como en el presente caso, interesa establecer el efecto de la disminución de las DOE en los rendimientos, costos de la fertilización e ingresos netos. Como ejemplo, en el Cuadro 4 se presenta esta situación para las clases de rendimiento de 4250-5500 y 6750-8000 kg ha⁻¹ en temporal y de 10000-13000 kg ha⁻¹ en riego, en un suelo con 2.0 % de MO.

Al incrementar las RPN/M disminuyeron las DOE de N y, en consecuencia, el costo de las mismas, así como los ROE y los IN. Si se considera como ejemplo una RPN/M aumentada en 75 %, el efecto de disminución de la DOE, ROE, costo del N e IN es en las clases de rendimiento: (1) 4250-5500 kg ha⁻¹ en temporal, de 55 kg N ha⁻¹, 540 kg ha⁻¹, 1375 pesos ha⁻¹ y 515 pesos ha⁻¹, respectivamente; (2) 6750-8000 kg ha⁻¹ en temporal, de 40 kg N ha⁻¹, 394 kg ha⁻¹, 1000 pesos ha⁻¹ y 379 pesos ha⁻¹, respectivamente; y, (3) 10000-13000 en riego, de 85 kg N ha⁻¹, 830 kg ha⁻¹, 2125 pesos ha⁻¹ y 780 pesos ha⁻¹, respectivamente.

Desde un punto de vista económico se justificaría disminuir las DOE de N, en este caso mediante el uso de RPN/M, sin que, dentro de ciertos límites, disminuyan

Cuadro 4. Optimización económica con relaciones de precios N/maíz aumentadas, en clases de rendimiento alcanzable de maíz en temporal y riego, y 2.0 % de materia orgánica del suelo[†].

Clase de rendimiento (kg ha ⁻¹)	RPN/M aumentada (%)	DOE de N (kg ha ⁻¹)	ROE (kg ha ⁻¹)	Costo del N (\$ ha ⁻¹)	IN (\$ ha ⁻¹)
Temporal					
4250-5500	0	140	5065	3500	9228
	25	120	4904	3000	9164
	50	100	4702	2500	8959
	75	85	4525	2125	8713
	100	70	4325	1750	8388
6750-8000	0	165	7345	4125	15082
	25	150	7225	3750	15037
	50	140	7127	3500	14944
	75	125	6951	3125	14703
	100	115	6815	2875	14477
Riego					
10000-13000	0	250	12081	6250	26533
	25	220	11838	5500	26433
	50	190	11542	4750	26147
	75	165	11251	4125	25753
	100	140	10917	3500	25209

[†]RPN/M = relación de precios N/maíz, DOE = dosis óptima económica, ROE = rendimiento óptimo económico, IN = ingreso neto.

significativamente los ROE e IN. Esto resulta interesante de considerar cuando las dosis de N se estén generando con el criterio económico de MINS, como es, por ejemplo, en Estados Unidos de Norteamérica, el mayor productor de maíz a nivel mundial, que desde 2005 se está promoviendo el uso de este criterio económico (Morris *et al.*, 2018). La incorporación de RPN/M al criterio económico de MINS, con las menores DOE de N que causa, permite disminuir las pérdidas de N, asociadas a las aplicaciones más elevadas de N, y consecuentemente, la contaminación ambiental. Al respecto, en el Cuadro 5 se hace una estimación acerca de la que sería la disminución de las pérdidas del N aplicado (DOE) con el uso de RPN/M en la optimización económica con el criterio económico de MINS.

De esta forma, resulta interesante observar que el uso de RPN/M para disminuir las dosis óptimas de N permitiría reducir las pérdidas de N, que contribuyen de manera importante a la contaminación ambiental (Wortmann *et al.*, 2011; McLellan *et al.*, 2018).

Consideraciones finales

La extracción de nutrientes que hacen los cultivos a un rendimiento dado, proviene de lo que aporta el suelo y, cuando este aporte no es suficiente, también de los fertilizantes. Si los nutrientes extraídos no se reponen adecuadamente al suelo, en algún

Cuadro 5. Estimación de las pérdidas de nitrógeno por el uso de relaciones de precios N/maíz en la optimización económica, en clases de rendimiento alcanzable en temporal y riego, y 2.0 % de materia orgánica del suelo[†].

Clase de rendimiento (kg ha ⁻¹)	RPN/M (%)	DOE de N (kg ha ⁻¹)	Ahorro de N (kg ha ⁻¹)
Temporal			
4250-5500	0	140	0
	25	120	20
	50	100	40
	75	85	55
	100	70	70
6750-8000	0	165	0
	25	150	15
	50	140	25
	75	125	40
	100	115	50
Riego			
10000-13000	0	250	0
	25	220	30
	50	190	60
	75	165	85
	100	140	110

[†]RPN/M = relación de precios N/maíz, DOE = dosis optima económica.

momento se producirán deficiencias de ellos, y afectarán la sostenibilidad del sistema de producción. Una manera de estimar las reservas de nutrientes del suelo es mediante el análisis de suelo, que a la vez permite generar recomendaciones de fertilizantes más precisas, como lo indica la numerosa literatura al respecto. Sin embargo, su uso por los agricultores no es algo generalizado, incluso en los países más desarrollados o mayores productores de cereales. Por otra parte, en distintos países es común observar que hay agricultores que aplican cantidades excesivas de fertilizantes nitrogenados a los cultivos, lo que causará finalmente un incremento de la contaminación de los mantos freáticos y producción de gases con efecto invernadero. El incremento de la producción de gases con efecto invernadero, ha originado en las últimas décadas un aumento del interés de investigadores por generar dosis óptimas de N más precisas, mediante distintas aproximaciones, para disminuir las dosis elevadas y excesivas que aplican muchos agricultores (Chen *et al.*, 2011; Huang *et al.*, 2012; Millar *et al.*, 2018; Flores-Sánchez *et al.*, 2019).

Con la misma finalidad, investigadores como Chen *et al.* (2011), han desarrollado paralelamente al concepto de dosis óptimas económicas, el de dosis óptima ecológica, que queda determinada en el punto en que la absorción marginal del nutriente es igual a la pérdida marginal del mismo. De esta manera se logró disminuir cantidad de N a aplicar y su pérdida en 22-53 kg N ha⁻¹, en variedades de arroz, con una disminución del rendimiento menor a 10.0 %.

Otra vía para disminuir las DOE de N es el uso de las relaciones de precios insumo/producto en la optimización con el criterio económico de maximización de los ingresos netos por superficie, que es la que se desarrolló en el presente estudio. Esta aproximación requiere trabajar con funciones de producción del rendimiento como función de la respuesta del cultivo a los nutrientes, al análisis de suelo, como fue de materia orgánica en el presente caso, y a los rendimientos alcanzables para el productor, según sus condiciones de suelo y clima, y sistema de producción, considerando un manejo no limitativo de este. Con esta aproximación fue posible reducir las dosis óptimas de N y el costo de la fertilización, y por tanto, las pérdidas de N y la contaminación ambiental, sin que disminuyan significativamente los rendimientos y los ingresos netos.

En México, la aplicación de fertilizantes, particularmente el nitrogenado, difiere si la condición es de temporal o de riego. En temporal, la adopción de las recomendaciones de fertilización ha dependido de las condiciones edafoclimáticas y socioeconómicas de los agricultores, y no es común observar agricultores que usen altas y excesivas dosis de fertilizantes. En riego, la situación es distinta; por ejemplo, en la zona de El Bajío se han llegado a aplicar hasta 554 kg N ha⁻¹ en maíz, con una media de 309 kg N ha⁻¹ (Flores-Sánchez *et al.*, 2019), y, en el Valle del Yaqui, la media de aplicación de N en trigo ha sido de 300 kg N ha⁻¹, que resulta ser el doble de las dosis óptimas económicas (Millar *et al.*, 2018). Considerando los resultados del presente estudio, el siguiente reto es cómo demostrar y convencer a los agricultores que con dosis menores de N y los consecuentes menores costos, se pueden obtener rendimientos e ingresos similares a los que se obtienen con dosis excesivas, y con ello, disminuir la contaminación ambiental.

CONCLUSIONES

Se generaron recomendaciones óptimas económicas de N para maíz de temporal y con riego, para distintos rendimientos alcanzables de maíz y contenidos de materia orgánica del suelo como estimador del aporte de N que hace el suelo al cultivo. El contenido de materia orgánica presente en los primeros 20 cm del suelo, puede ser indicador de la disponibilidad media de N de distintas condiciones de suelo y clima. El uso de relaciones de precios N/maíz en la optimización económica con el criterio económico de maximización de los ingresos netos por superficie, originó que las dosis óptimas económicas de N y los costos asociados disminuyeran, sin que, dentro de ciertos límites, lo hicieran de manera significativa los rendimientos óptimos económicos e ingresos netos. Lo anterior muestra que las relaciones de precios N/maíz puede ser una vía para disminuir el uso de N y la contaminación ambiental derivada.

AGRADECIMIENTOS

Los autores de este estudio agradecen al Programa MasAgro del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), por haber proporcionado la información de los experimentos de respuesta del maíz al nitrógeno.

LITERATURA CITADA

- Bak B, Gaj R, Budka A. 2016. Accumulation of nitrogen, phosphorus, and potassium in mature maize under variable rates of mineral fertilization. *Fragmenta Agronomica* 33 (1): 7-19.
- Briones Encinia F, Castro Nava S, López Santillán JA, Trinidad Santos A. 2009. Óptimos analíticos y económicos de modelos aplicados en experimentación agrícola. *Agricultura Técnica en México* 35 (1): 89-95.
- Chen J, Huang Y, Tang Y. 2011. Quantifying economically and ecologically optimum nitrogen rates for rice production in south-eastern China. *Agriculture, Ecosystems & Environmental*. 142 (3-4): 195-204. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2011.05.005>
- Cinmpatti IA, Vyn TJ. 2014. Nutrient sufficiency concepts for modern corn hybrids: Impacts of management practices and yield levels. *Crop Management* 13 (13): 1-7. <https://doi.org/10.2134/CM-2013-0022-RS>
- Clivot H, Mary B, Valé M, Cohan JP, Champolivier L, Piraux F, Laurent F, Justes E. 2017. Quantifying *in situ* and modeling net nitrogen mineralization from soil organic matter in arable cropping systems. *Soil Biology and Biochemistry* 111: 44-59. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.03.010>
- Dobermann A, Wortmann CS, Ferguson RB, Hergert GW, Shapiro CA, Tarkalson DD, Walters DT. 2011. Nitrogen response and economic for irrigated corn in Nebraska. *Agronomy Journal* 103 (1): 67-75. <https://doi.org/10.2134/agronj2010.0179>
- Feng G, Zhang Y, Chen Y, Li Q, Chen F, Gao U, Mi G. 2016. Effects of nitrogen application on root length and grain yield of rain-fed maize under different soil types. *Agronomy Journal* 108 (4): 1656-1665. <https://doi.org/10.2134/agronj2015.0367>
- Flores-Sánchez D, Navarro-Garza H, Pérez-Olvera MA. 2019. Nutrient balance in maize cropping systems and challenges for their sustainability. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas* 11 (2): 97-109. <https://doi.org/10.5154/r.inagbi.2017.11.017>
- Freund RJ, Littell RC. 2000. SAS System for Regression. (3rd. ed.). SAS Institute Inc.: Cary, NC, USA.
- Grajeda-Cabrera OA, Vera-Núñez JA, Aguilar-Acuña JL, Macías-Rodríguez L, Aguado-Santacruz GA, Peña-Cabriales JJ. 2011. Fertilizer dynamic in different tillage and crop systems in a Vertisol Central Mexico. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 89 (1): 125-134.
- Grzyb A, Wolna-Maruwka A, Niewiadomska A. 2020. Environmental factor affecting the mineralization of crops residues. *Agronomy* 2020, 10 (12): 1951. <https://doi.org/10.3390/agronomy10121951>

- Hartmann TE, Yue S, Schulz R, Chen X, Zhang F, Müller T. 2014. Nitrogen dynamics, apparent mineralization and balance calculations in a maize-wheat double cropping system of the North China Plain. *Field Crops Research* 160: 22-30. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2014.02.014>
- Huang J, Xiang C, Jia X, Hu R. 2012. Impact of training on farmers' nitrogen use in maize production in Shandong, China. *Journal of Soil and Water Conservation* 67 (4): 321-327. <https://doi.org/10.2489/jswc.67.4.321>
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática). 2007. Conjunto de Datos Vectorial Edafológico, escala 1:250000, Serie II (Continuo Nacional). Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Aguascalientes, México. <https://www.inegi.org.mx/app/biblioteca/ficha> (Recuperado: Enero 2021).
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática). 2018. Climas de México. Distribución por tipos de climas y Estados. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. [https://paratodomexico.com/Geografia de México](https://paratodomexico.com/Geografia%20de%20Mexico) (Recuperado: Enero 2021).
- Janssen BH, Guiking FCT, van der Eijk D, Smaling EMA, Wolf J, van Reuler H. 1990. A system for quantitative evaluation of the fertility of tropical soils (QUEFTS). *Geoderma* 46 (4): 299-318.
- McLellan EL, Cassman KG, Eagle AJ, Woodbury PB, Sela S, Tonitto C, Marjerison RD, van Es HM. 2018. The nitrogen balancing act: Tracking the environmental performance of food production. *BioScience* 68 (3): 194-203. <https://doi.org/10.1093/biosci/bix164>
- Millar N, Urrea A, Kahmark K, Shcherbak I, Roberson GP, Ortíz-Monasterio I. 2018. Nitrous oxide (N₂O) responds exponentially to nitrogen fertilizer in irrigated wheat in the Yaqui Valley, México. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 261: 125-132. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.04.003>
- Moreno-Ramos OH, Herrera-Andrade MH, Cruz-Medina IR, Turrent-Fernández A. 2014. Study on the production of wheat technology per agro-system, for pointing out needs of information. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 5 (8): 1351-1363.
- Morris TF, Murrell TS, Beegle DB, Camberato JJ, Ferguson RB, Grove J, Ketterings Q, Kyveryga PM, Laboski CAM, McGrath JM, et al. 2018. Strengths and limitations of nitrogen rate recommendations for corn and opportunities for improvement. *Agronomy Journal* 110 (1): 1-37. <https://doi.org/10.2134/agronj2017.02.0112>
- Murphy D, Osman M, Russell CA, Darmawanto S, Hoyle FC. 2009. Potentially mineralisable nitrogen: Relationship to crop production and spatial mapping using infrared reflectance spectroscopy. *Australian Journal of Soil Research* 47 (7): 737-741. <https://doi.org/10.1071/SR08096>
- Myers RH. 1990. Classical and Modern Regression with Applications. (2nd. ed.) PWS-KENT Publishing Company: Boston, USA.
- Ren T, Zou J, Lu J, Chen F, Wu J, Li X. 2015. On-farm trials of optimal fertilizer recommendations for maintenance of high seed yields in winter oilseed rape (*Brassica napus* L.) production. *Soil Science and Plant Nutrition* 61 (3): 528-540. <https://doi.org/10.1080/00380768.2014.1003964>
- SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2015. Agenda Técnica Agrícola de (Estado). (2a. ed.). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México, D.F. México. <https://issuu.com/senasica/stacks> (Recuperado: enero 2021).
- SEMARNAT (Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2002. Norma Oficial Mexicana NOM-921-RECNAT 2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelo. Estudio, muestreo y análisis. Diario Oficial (Segunda Sección), 31 de diciembre de 2002. México, D.F., México. ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/wo69255 (Recuperado: enero 2021).
- SIAP (Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera). 2019. Producción Agrícola. Maíz. SAGARPA. México. http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/ResumenDelegacion.do (Recuperado: enero 2021).
- Sharifi B, Sebarth BJ, Burton DF, Grant CA, Cooper JM. 2007. Evaluation of some indices of potentially mineralizable nitrogen in soil. *Soil Science Society of America Journal* 71 (4): 1233-1239. <https://doi.org/10.2136/sssaj2006.0265>
- Sifuentes Ibarra E, Macías Cervantes J, Ruelas Islas JR, Preciado Rangel P, Ojeda Bustamante W, Inzunza Ibarra MA, Samaniego Gaxiola JA. 2015. Mejoramiento del grado de uso del nitrógeno en maíz mediante técnicas parcelarias de riego por superficie. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 6 (8): 1903-1914.

- Tremblay N, Bouroubi YM, Belec C, Mullen RW, Kitchen NR, Thomason WE, Ebelhar S, Mengel DB, Raun WR, Francis DD, *et al.* 2012. Corn response to nitrogen is influenced by soil texture and weather. *Agronomy Journal* 104 (6): 1658-1671. <https://doi.org/10.2134/agronj2012.0184>
- Velázquez-Xochimil HG, Portillo Velásquez M. 2018. Determinación del óptimo técnico y económico en maíz (*Zea mays* L.) modalidad temporal del estado de México. *Agroproductividad* 11 (1): 15-21.
- Volke Haller VH. 2008. Estimación de Funciones de Respuesta para Información de Tipo no Experimental, mediante Regresión. Colegio de Postgraduados: Montecillo, Estado de México, México.
- Wang W, Lu J, Ren T, Li X, Su W, Lu M. 2012. Evaluating regional mean optima nitrogen rates in combination with nitrogen supply for rice production. *Field Crops Research* 137 (1): 37-48. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2012.08.10>
- Wang X, Miao Y, Dong R, Chen T, Kusnierek K, Mi G, Mulla D. 2020. Economic optimal nitrogen rate variability of maize in response to soil and weather conditions: Implications for site-specific nitrogen management. *Agronomy* 10: 1237. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091237>
- Woli KP, Boyer MJ, Elmore RW, Sawyer JE, Abendroth LJ, Barker DW. 2016. Corn era hybrid response to nitrogen fertilization. *Agronomy Journal* 108(4):473-486. <https://doi.org/10.2134/agronj15.0314>
- Wortmann CS, Tarkalson DD, Shapiro CA, Dobermann AR, Ferguson RB, Hergert GW, Walters D. 2011. Nitrogen use efficiency of irrigated corn for three cropping systems in Nebraska. *Agronomy Journal* 103 (1): 76-84. <https://doi.org/10.2134/agronj2010.0189>



Agrociencia

Volumen 56, Número 4

16 de mayo - 30 de junio, 2022